

34  
24.



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

## FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES  
FAC. DE QUIMICA

### MANUAL DE MICOLOGIA PARA LA CARRERA DE QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO

### Trabajo Monográfico de Actualización

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO  
P R E S E N T A:

Norma Angélica Falcón Ferrusca



México, D. F.

1998

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

2586 96



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

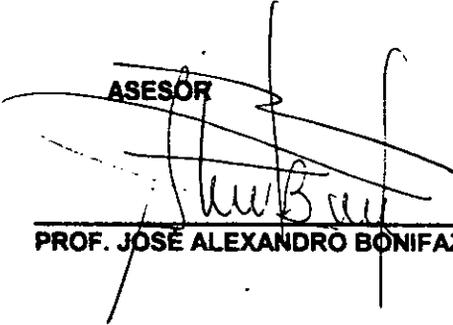
**JURADO ASIGNADO :**

**PRESIDENTE :** GUTIÉRREZ RAMOS ABEL.  
**VOCAL :** BONIFAZ TRUJILLO JOSÉ ALEXANDRO.  
**SECRETARIO :** GONZÁLEZ IBARRA MISAEL.  
**1er. SUPLENTE :** CASTELLANOS CHÁVEZ NORMA ANGÉLICA.  
**2do. SUPLENTE :** HERNÁNDEZ GÓMEZ LUCIANO.

**SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA :**

**BIBLIOTECA DE LA FACULTAD DE MEDICINA.  
BIBLIOTECA DE LA FACULTAD DE QUÍMICA.  
BIBLIOTECA DEL HOSPITAL GENERAL.  
BIBLIOTECA DEL INSTITUTO DE BIOMÉDICAS.**

**ASESOR**

  
**PROF. JOSÉ ALEXANDRO BONIFAZ TRUJILLO**

**SUSTENTANTE**

  
**NORMA ANGÉLICA FALCÓN FERRUSCA**

## ÍNDICE

PARTE	A) Micología Básica.	
	-Introducción, clasificaciones, formas de reproducción, tipos de micelio y fenómenos fúngicos. . . . .	1
	- Hongos filamentosos contaminantes.. . . .	7
	1) Exámenes en fresco.	
	2) Microcultivos.	
	3) Macro-morfología colonial.	
	4) Tinciones (Actinomicetos).	
	- Hongos levaduriformes. . . . .	23
	1) Exámenes en fresco.	
	2) Pruebas bioquímicas.	
3) Pruebas biológicas.		
PARTE	B) Micosis subcutáneas.	
	1) Dermatofitosis o tiñas. . . . .	34
	2) Pitiriasis versicolor. . . . .	47
	3) Tiña negra (Feoanelomicosis). . . . .	52
	-Pseudomicosis	
	1)Tricomicosis. . . . .	56
	2) Eritrasma.	
3) Queratólisis puntata.		
PARTE	C) Micosis subcutáneas.	
	1) Micetoma. . . . .	64
	2) Esporotricosis.. . . .	73
	3) Cromomicosis.. . . .	77
PARTE	D) Micosis profundas o sistémicas	
	1) Coccidiomicosis. . . . .	83
	2) Histoplasmosis.. . . .	88
	3) Paracoccidiomicosis. . . . .	92

<b>PARTE</b>	<b>E) Micosis por hongos oportunistas.</b>	
	1) Candidosis. . . . .	96
	2) Criptococosis. . . . .	106
	3) Aspergilosis. . . . .	111
	4) Mucormicosis. . . . .	118
<b>PARTE</b>	<b>F) Apéndice</b>	
	- Reactivos. . . . .	124
	- Medios de Cultivo. . . . .	126
<b>PARTE</b>	<b>G) Bibliografía. . . . .</b>	<b>129</b>

## CONTENIDO DEL MANUAL

### 1.- Resiembra de los hongos filamentosos más frecuentes :

#### a) Hongo dematiáceos.

- Cladosporium sp.
- Helminthosporium sp.
- Alternaria sp.
- Curvularia sp.

#### b) Hialinos.

- Penicillium sp.
- Aspergillus niger.
- Aspergillus clavatus.
- Aspergillus fumigatus.
- Aspergillus flavus.
- Fusarium sp.
- Cephalosporium sp.
- Scopulariopsis sp.
- Monilia sp.
- Geotrichum sp.

#### c) Zigomicetos.

- Mucor sp.
- Rhizopus sp.
- Adsidia sp.
- Cunninghamella sp.

#### d) Actinomicetos

- Streptomyces sp.
- Nocardia brasiliensis.
- Nocardia asteroides.
- Nocardia otitis - caviarum
- Actynomadure madurae
- Actynomadure pelletieri

### 2.- Hongos levaduriformes.

- Microcultivos.

- Exámenes en fresco.
- Macroscopía.
- Pruebas biológicas.
- Pruebas bioquímicas.

- Candida albicans.  
tropicalis.  
krusei.  
parapsilopsis.  
utilis.
- Rhodotorula sp.  
cereviceae.
- Saccharomyces  
bayanus.
- Hansenula sp.
- Cryptococcus neoformans.

### 3.- Micosis Superficiales.

- Resiembra.
- Macroscopía
- Microcultivos.
- Muestras parasitadas.

### Dermatofitos.

- Trichophyton rubrum.  
mentagropytes.  
tonsurans.  
concentricum.
- Microsporum canis.  
gypseum.
- E. floccosum

4.- Pitiriasis versicolor.

- Muestras parasitadas.
- Cultivos de P. ovale.

5.- Tiña negra (Phaeoannellomyces werneckii).

- Macroscopía.
- Microscopía.
- Microcultivo.

6.- Pseudomicosis (Tricomicosis axilar)

- Muestras parasitas.
- Cultivo (C. tenuis).

7.- Micetoma.

- |                      |                   |
|----------------------|-------------------|
| - Actinomicético.    | - Eumicético.     |
| - Gram.              | - Microscopía.    |
| - Macroscopía.       | - Macroscopía.    |
| - Pbas. Bioquímicas. | - Pbas. térmicas. |

8.- Esporotricosis.

- Microcultivo.
- Macroscopía en Sabouraud.  
BHI / Gelosa sangre.
- Microscopía.

9.- Cromomicosis.

- Muestras parasitadas. ( biopsias)
- Microscopía.
- Macroscopía.
- Microcultivo. F. pedrosoi.
- P. verrucosa.
- C. carrioni.

10.- Coccidioidomicosis, histoplasmosis y paracoccidioidomicosis.

- Observación : Biopsias o muestras parasitadas.  
Hongo en fase infectante.

11.- Candidosis.  
- Muestras parasitadas.

12.- Criptococosis.

13.- Aspergilosis.

14.- Mucormicosis.

## **INTRODUCCIÓN Y OBJETIVO**

El objetivo de este trabajo es realizar un manual de prácticas, dirigidas específicamente a la carrera de Q.F.B. - Bioquímico Clínico, el cual aporte un conocimiento básico de cada una de las prácticas y que le otorgue al alumno información que realizará, y le dé una fuente bibliográfica de consulta e incluso le permita una rápida evaluación. La manera de como está estructurado nuestro trabajo permite también que este manual se convierta en una fuente de información y consulta para el profesionalista de laboratorio en general, debido a que la información sobre una serie de metodología y técnica para el diagnóstico de las micosis más frecuentes en nuestro medio.

La elaboración de este manual tiene como objetivo secundario ayudar en cada una de las prácticas que elabora el alumno.

Contiene una secuencia lógica y dirigida al aprendizaje de la micología general y médica. Este manual pretende también generar un aumento en los conocimientos de la micología debido a que ha existido un declive en esta área ; así nos permite otorgar información actualizada para el futuro QFB.

## INTRODUCCION.

La mayoría de los hongos tienen como principal hábitat natural el suelo, donde juegan un papel importante en la degradación de la materia orgánica, como hongos saprófitos algunos de ellos son capaces de invadir plantas causando enfermedades, otros se encuentran en el aire y pueden generar graves problemas de contaminación, alergias respiratorias (rinitis y asma), en la industria alimentaria, del papel, farmacéutica, de cosméticos, etc. Existen otros hongos que se comportan como patógenos, pueden implantarse en los tejidos humanos o de animales, por medio de traumatismos a través de diferentes vías como respiratoria, digestiva ó cutánea.

Es importante el estudio e identificación de los diversos tipos de hongos, la cual se basa en las características coloniales y morfología microscópica utilizando medios y técnicas especiales de cultivo, así como pruebas bioquímicas y biológicas.

Un primer requisito para llevar a cabo un buen diagnóstico de laboratorio es tomar una muestra y seleccionarla del sitio donde se encuentran las lesiones activas.

En las micosis superficiales, los agentes causales afectan la piel y sus anexos, de ellos los principales son: los dermatofitos y levaduras del tipo Candida y Malassezia furfur; en estas debe tomarse en cuenta la localización y tipo de las lesiones, en seguida tomar la muestra clínica para la observación microscópica en fresco o tinción y cultivo de la mismas.

En el caso de micosis profundas coccidioidomicosis, histoplasmosis; las muestras pueden ser: expectoración, sangre, líquido cefalorraquídeo, lavado bronquial o biopsia.

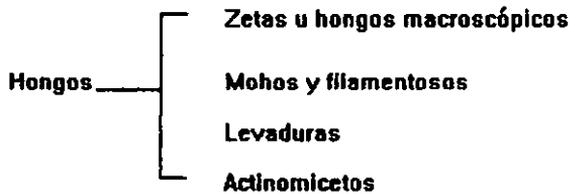
Cualquier muestra deberá ser sometida a observación en fresco o tinción y cultivo. Estas técnicas servirán para poder identificar el agente etiológico y generalmente son suficientes para dar el diagnóstico. Dependiendo de la muestra clínica, la observación microscópica se realiza mediante un examen en fresco con KOH al 20%, cloral lactofenol, lugol o tinta china, además con tinciones como la de Gram, Ziehl Neelsen, Wright o Giemsa. Si se trata de una biopsia, las técnicas más frecuentes usadas son la de hematoxilina-eosina y la del ácido peryódico de Schiff (PAS)

Por último algunos hongos patógenos Sporothrix schenckii, Cryptococcus neoformans, Coccidioides immitis provocan reacciones de tipo inmunológico que permite hacer el diagnóstico de la micosis. Estas

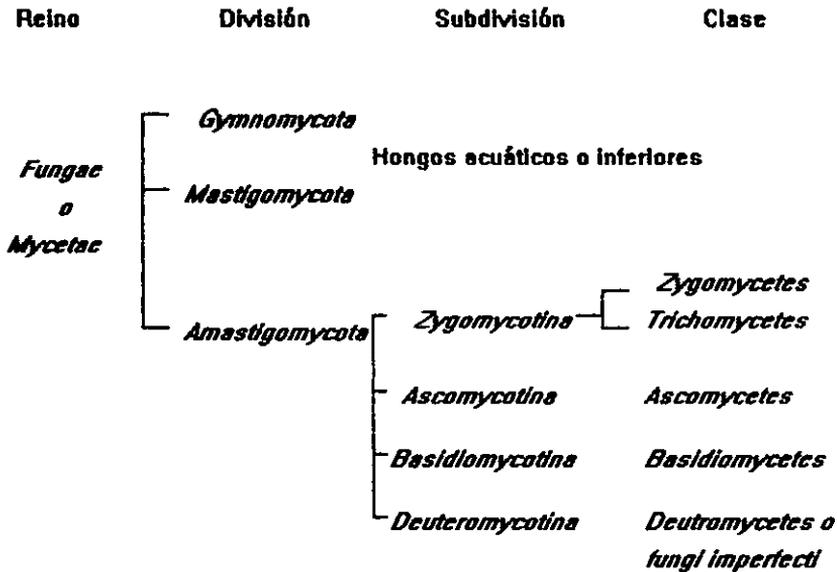
reacciones son: introdermorreacción, aglutinación, precipitación, fijación de complemento, entre otras.

### CLASIFICACIÓN.

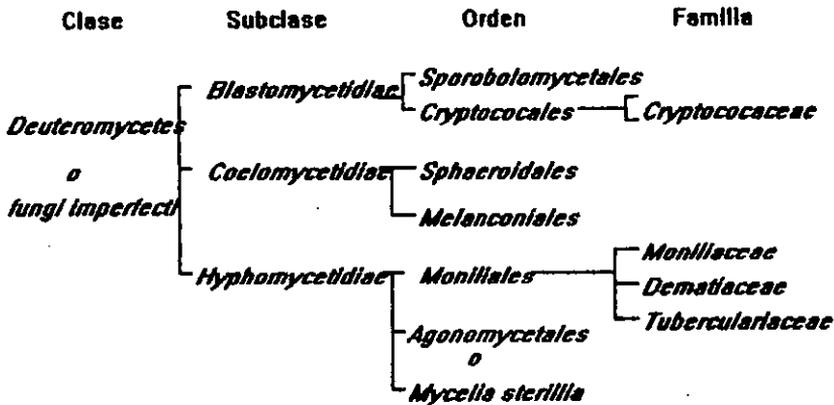
La primera clasificación que surgió fue la empírica, que divide a los hongos en 4 grupos de acuerdo al aspecto macroscópico que presentan:



Alexopoulos y Mims, en su tercera edición (1979) y de acuerdo a las reglas internacionales, proponen la siguiente clasificación que es la actual del reino Fungae :



En la clasificación anterior únicamente hacemos énfasis en la división Amastigomycota, que equivale a la anteriormente llamada Eumycota, debido a que aquí se incluyen los grupos de hongos de interés médico, los más importantes para nosotros son los Deuteromycetes u hongos imperfectos cuya clasificación es la siguiente:



## MORFOLOGIA COLONIAL Y MICROSCOPIA.(TIPOS DE MICELIO)

Para la identificación de los hongos es fundamental conocer la morfología colonial macro y microscópica, para la observación de la primera se toman en cuenta los siguientes criterios:

a)Tiempo de crecimiento, el cual varía de 24 horas hasta 3 semanas dependiendo del género del hongo en estudio.

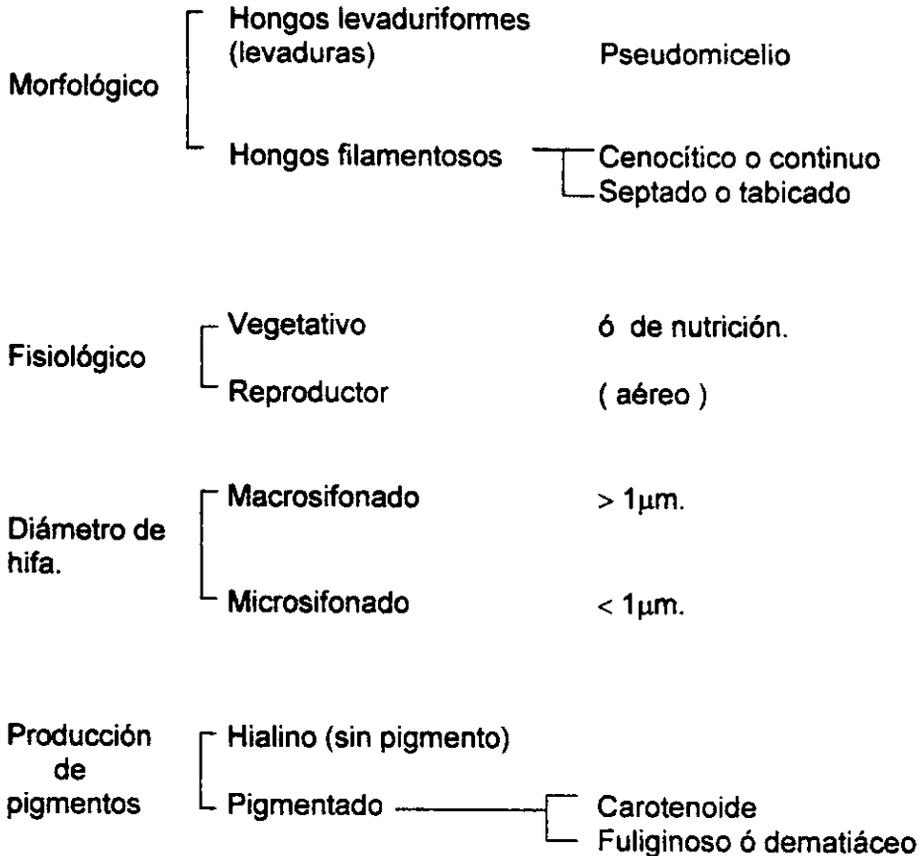
b)Medio de cultivo en que se desarrollan, que pueden ser ricos conteniendo base nitrogenada (peptona), carbohidratos (glucosa,maltosa etc.), vitaminas y pH ligeramente ácido (5.6-6.8) ó pobres en nutrientes.

c)Temperatura la mayoría de los hongos crecen entre 0 y 55°C, teniendo un rango de temperatura óptimo entre 20 y 30°C. Los hongos oportunistas patógenos pueden crecer entre 35 y 40°C.

d)Aspecto, que puede ser: aterciopelado, pulverulento, velloso, algodonoso , liso, rugoso, plegado, crateriforme.

e)Pigmentación: al reverso de la colonia se observa el pigmento del hongo; el color superficial de la colonia es variable debido al pigmento del micelio o de las esporas, además algunos hongos producen pigmento que difunde al medio.

El micelio puede clasificarse de acuerdo a diversos criterios como a continuación se describe



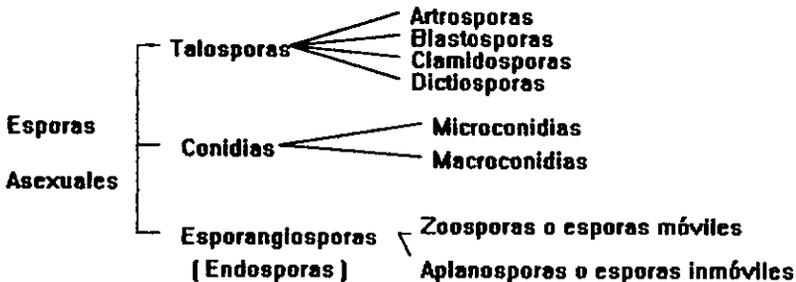
## FORMAS DE REPRODUCCION

Una de las características más importantes de los hongos, es que siempre se reproducen por esporas que son sexuales y conidias que son asexuales, la diferencia de ambas es que en la primera existen células y órganos sexuales diferenciados, que pueden llevar a cabo la fusión de dos núcleos y por lo tanto hay intercambio de material genético, con la posibilidad de que aparezcan nuevas propiedades.

Debido a la gran cantidad de esporas asexuales que presentan los hongos no se ha podido unificar criterios para hacer una clasificación que comprenda todos los aspectos que las caracterizan. Por esta razón existen varias clasificaciones de las esporas basándose en diferentes criterios como son:

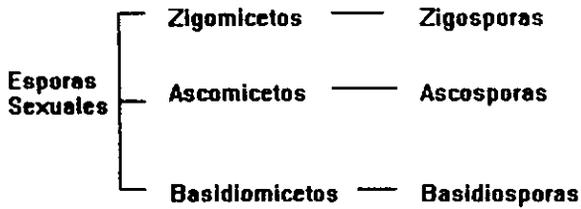
origen, tamaño, disposición en la hifa, número y posición de los septos, etc. Sin embargo, para el objetivo del curso se propone la siguiente clasificación:

### CLASIFICACIÓN MORFOLÓGICA TRADICIONAL



### REPRODUCCIÓN SEXUAL

Los hongos se mantienen en la naturaleza mediante su reproducción asexual, pero bajo ciertas condiciones de laboratorio o ambientales se reproducen sexualmente dando como resultado las esporas sexuales:



Actualmente hay una nueva clasificación, que se basa en nombrar como esporas solamente a las formas sexuales y conidias a la reproducción asexual ó imperfecta, de manera que se tienen dos grupos:

1)Esporas  
(Sexuales)

Basidiosporas  
Ascosporas  
Zigosporas

2)Conidios  
(Asexuales)

Artroconidios  
Blastoconidios  
Clamidoconidios  
Dictoconidios  
Aleuroconidios  
Microconidios  
Macroconidios  
Esporangioconidios (Endosporas)

## **HONGOS FILAMENTOSOS CONTAMINANTES**

### **INTRODUCCIÓN.**

La Micología es la rama de la biología, que se dedica al estudio de los hongos tanto microscópicos como macroscópicos (zetas), en este curso nos dedicaremos únicamente al estudio de los primeros como contaminantes patógenos.

Los hongos tienen características particulares, que los hacen clasificar en un reino independientemente ; las más importantes son :

- Microorganismos heterótrofos (quimiorganótrofos) por lo que tienen que alimentarse de materia orgánica preformada que utilizan como fuente de energía y de carbono.

- Eucariontes, es decir presentan un núcleo diferenciado con sistema endomembranoso bien definido.

- Tienen una pared celular formada por quitina, glucanas, mananas, derivados celuloideos, etc. ; esta pared es rígida, por lo que no pueden fagocitar alimentos sino que los hongos absorben los nutrientes simples y solubles que obtienen al desintegrarse polímeros mediante enzimas extracelulares llamadas despolimerasas.

- La estructura fúngica consta de un complejo llamado talo o micelio, que a su vez está constituido por múltiples filamentos o hifas, estructura tubular ramificada de 2 a 10 micrómetros de diámetro.

### **OBJETIVO.**

Que el alumno adquiera el conocimiento necesario para el manejo é identificación de los hongos filamentosos, que son de interés como hongos contaminantes de diversas industrias, como hongos oportunistas y alérgicos.

## MATERIAL.

Cepa : Clamidosporium sp.  
Helminthosporium sp.  
Alternaria sp.  
Curvularia sp.  
Penicillium sp.  
Aspergillus niger.  
Aspergillus fumigatus.  
Aspergillus clavatus.  
Aspergillus flavus.  
Fusarium sp.  
Cephalosporium sp.  
Scopulariopsis sp.  
Monilia sp.  
Geotrichum sp.  
Mucor sp.  
Rhizopus sp.  
Absidia sp.  
Cunnighamella sp.  
Streptomyces sp.  
Tubos de gelosa inclinada.  
Cajas con Sabouraud dextrosa.  
Cajas para microcultivo.  
Matraz con glicerol al 10% (esteril)  
Colorantes para tinción de actinomicetos.  
Eritrocina.  
Bálsamo de Canadá.  
Xilol.  
Acetona y Alcohol etílico.  
Asa micológica.  
Bisturí, pinzas y tijeras.  
Portaobjetos y cubreobjetos.  
Mechero.  
Microscópio.

## TÉCNICA.

1.\_ Realizar la resiembra de las cepas tomando un fragmento de la colonia ó masas filamentosas, con el asa de alambre, esterilizada previamente a la flama y colocando por medio de picadura.

2.\_ Hacer los microcultivos siguiendo la técnica :

-Fragmentar con la ayuda de un bisturi el medio de cultivo en cuadros de aproximadamente 1.5 x 1.5 cm.

-Colocar 1 o 2 "cubos" del medio fragmentado sobre uno de los portaobjetos.

-Sembrar el hongo a estudiar por los cuatro lados del medio de cultivo.

.Agregar a la caja de Petri de 10 a 15 ml. De agua glicerinada estéril al 10%.

-Sellar la caja de Petri con cinta adhesiva.

-Incubar dependiendo del hongo a estudiar. Realizar tinción especial para microcultivo.

3.\_ Realizar exámenes en fresco de cada hongo.

4.\_ Descripción de la macroscopía de las colonias de los hongos.

## RESULTADOS.

### A) MACROMORFOLOGÍA.

#### A.1) Clamidosporium sp.

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO.Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

#### A.2) Helminthosporium sp.

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO.Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

**A.3) Alternaria sp.**

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO.Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**A.4) Curvularia sp.**

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO.Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**A.5) Penicillium sp.**

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO.Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**A.6) Aspergillus niger.**

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO.Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

A.7) Aspergillus fumigatus.

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO.Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

A.8) Aspergillus clavatus.

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO.Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

A.9) Aspergillus flavus.

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO.Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

A.10) Fusarium sp.

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO.Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

A.11) Cephalosporium sp.

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO.Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

A.12) Scopulariopsis sp.

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO.Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

A.13) Monilia sp.

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO.Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

A.14) Geotrichum sp.

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO.Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

A.15) Mucor sp.

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO.Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

A.16) Rhizopus sp.

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO.Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

A.17) Absidia sp.

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO.Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

A.18) Cunninghamella sp.

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO.Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

A. 19) Streptomyces sp.

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

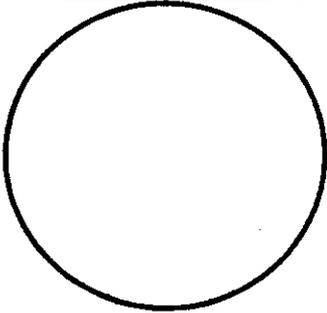
Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

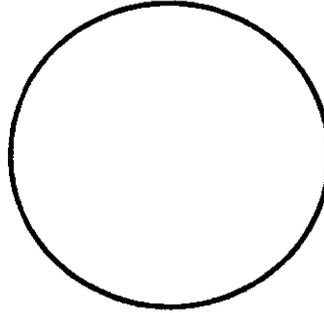
REVERSO. \_\_\_\_\_

B) MICROMORFOLOGÍA.

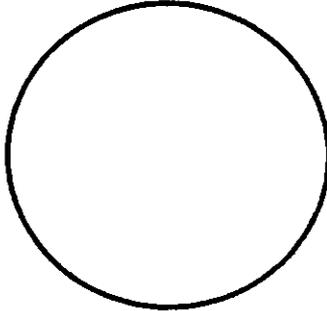
B.1) Clamidosporium sp.



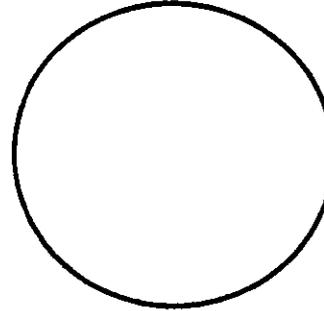
B.2) Helminthosporium sp.



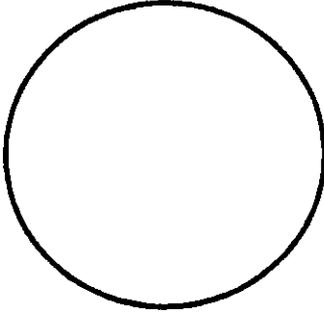
B.3) Alternaria sp.



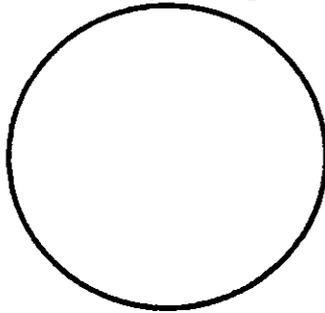
B.4) Curvularia sp.



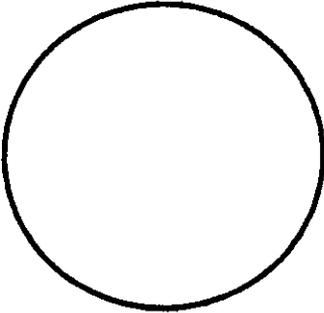
B.5) Penicillium sp.



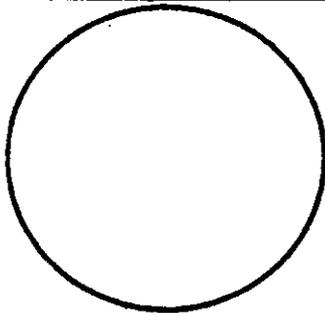
B.6) Aspergillus niger.



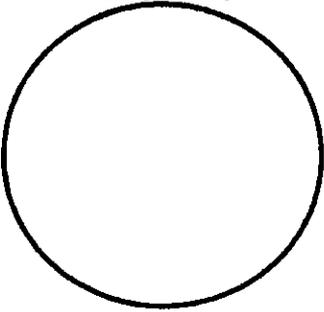
B.7) Aspergillus fumigatus.



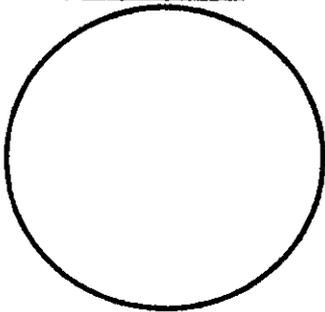
B.8) Aspergillus clavatus.



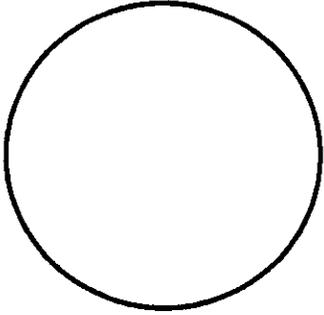
B.9) Aspergillus flavus.



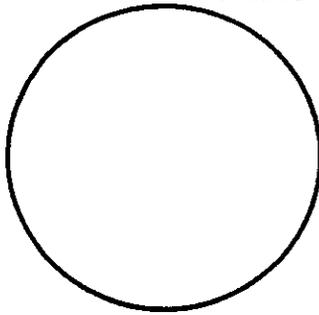
B.10) Fusarium sp.



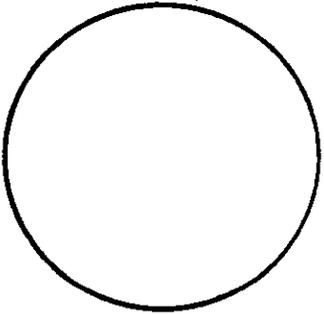
B.11) Cephalosporium sp.



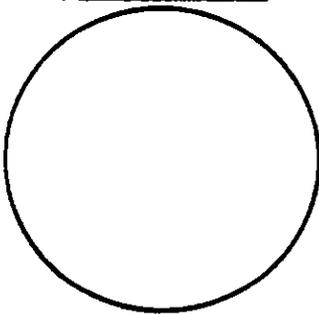
B.12) Scopulariopsis sp.



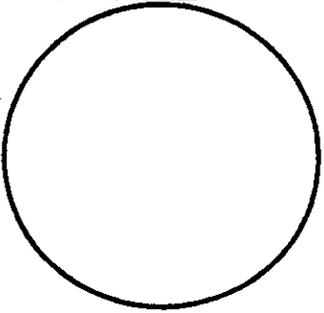
B.13) Monilia sp.



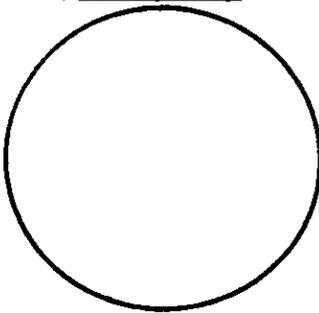
B.14) Geotrichum sp.



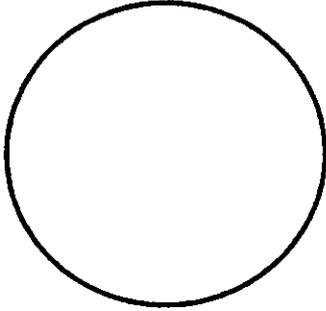
B.15) Mucor sp.



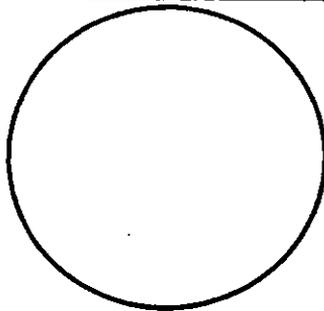
B.16) Rhizopus sp.



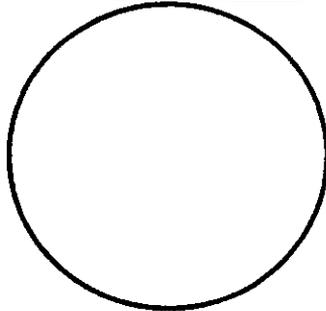
B.17) Absidia sp.



B.18) Cunninghamella sp.

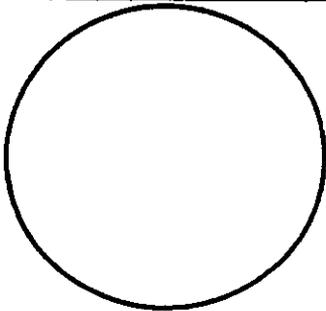


B.19) Streptomyces sp.

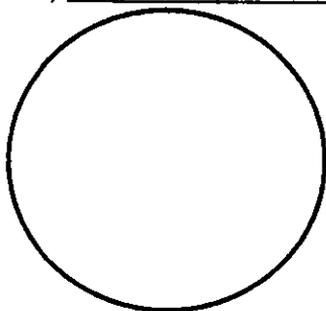


Observación de los resultados de los exámenes en fresco.

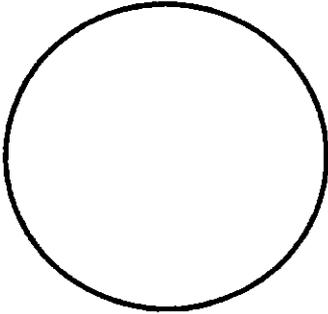
B.1) Clamidosporium sp.



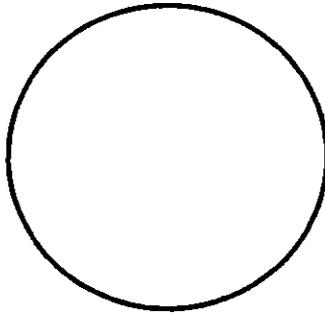
B.2) Helminthosporium sp.



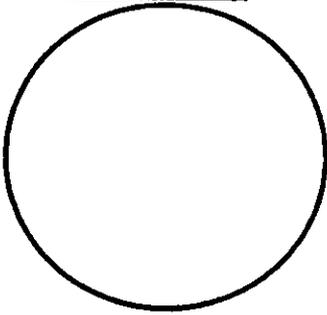
B.3) Alternaria sp.



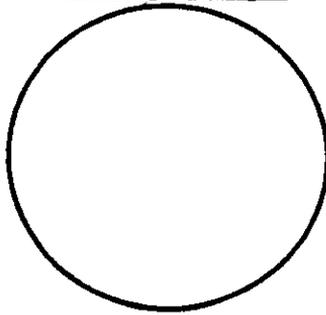
B.4) Curvularia sp.



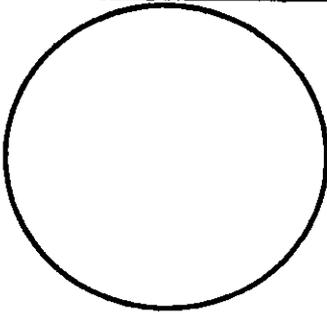
B.5) Penicillium sp.



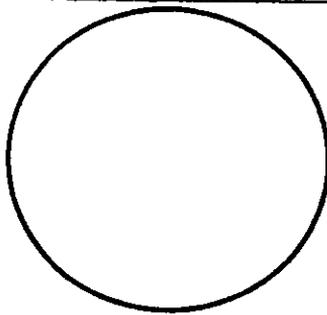
B.6) Aspergillus niger.



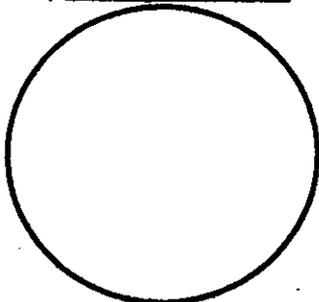
B.7) Aspergillus fumigatus.



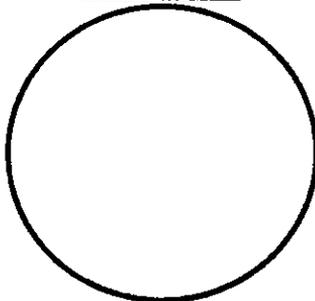
B.8) Aspergillus clavatus.



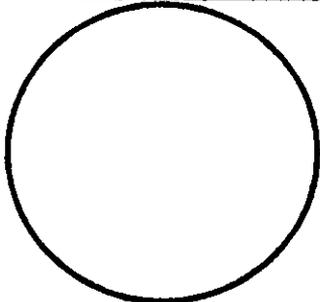
B.9) Aspergillus flavus.



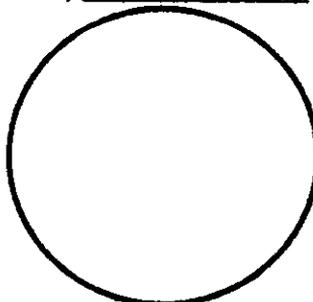
B.10) Fusarium sp.



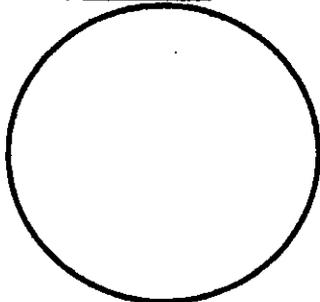
B.11) Cephalosporium sp.



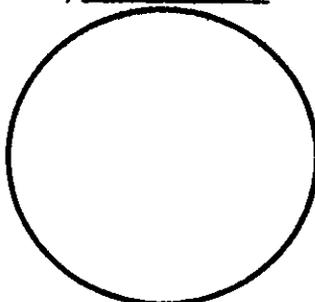
B.12) Scopulariopsis sp.



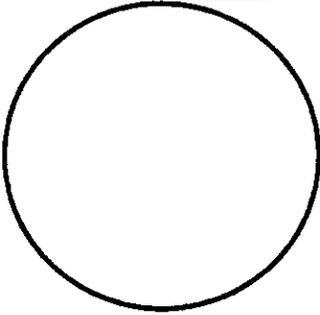
B.13) Monilia sp.



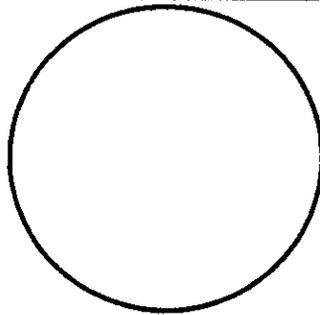
B.14) Geotrichum sp.



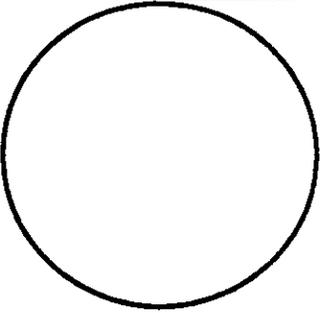
B.15) Mucor sp.



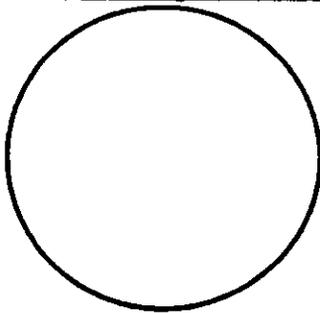
B.16) Rhizopus sp.



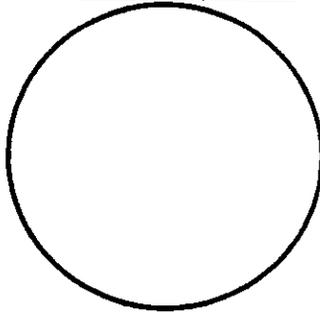
B.17) Absidia sp.



B.18) Cunninghamella sp.



B.19) Streptomyces sp.



## CONCLUSIONES.

### PREGUNTAS.

1. \_De los hongos mencione :
  - a) Forma de nutrición.
  - b) Componentes que forman la pared celular.
  - c) Unidad básica (micelio)
2. \_Mencione la división en la que incluye la mayor parte de hongos de importancia médica.
3. \_Mencione qué es un hongo dematiáceo y de 3 ejemplos.
4. \_Del género de Aspergillus describa tipo de micelio y estructuras especializadas.
5. \_Mencione 5 diferencias entre hongo verdadero y un actinomiceto.
6. \_Mencione las formas de reproducción asexual de los hongos.
7. \_Indique la función de las modalidades de micelio.
8. \_Ponga 3 ejemplos de hongos indicando el tipo de reproducción :

Nombre del hongo	Forma de reproducción sexual.	Forma de reproducción asexual.

## BIBLIOGRAFÍA.

Alexopoulos, C.J. y Mims, C.W. (1979). *Introductory Mycology*, 3a.ed. Edit. John Wiley and Sons.

McGinnis, M. Ajello, L. y Schell, W. (1985). *Mycotic diseases. A proposed nomenclature*. *Int. J. Dermatol.*,24 :9-25

Talbot, P.H. (1971). *Principles of fungal Taxonomy*. St. Martin's Press. New York USA.

## HONGOS LEVADURIFORMES

### INTRODUCCION.

En la práctica anterior se dio a conocer las características fundamentales de los hongos. Pero cabe mencionar que los hongos levaduriformes son microorganismos unicelulares mono, bi o poligermantes; se reproducen sexualmente (forma perfecta), por ascosporas o asexualmente (forma imperfecta) por blastoconidios. Su macromorfología es la de colonias de aspecto mucoso de color blanco, crema, beige a naranja.

### REPRODUCCION ASEXUAL

Esta forma se obtiene adecuadamente en los medios de Sabouraud agar, gelosa sangre, agar de cerebro-corazón, a temperatura ambiente y se lleva a cabo de dos maneras:

A).- ESQUIZOGENESIS O BIPARTICION. En este caso se forma un tabique transversal, ejm. Schizosaccharomyces sp.

B).- GEMACION. El protoplasma de las células se forma a partir de un pequeño crecimiento externo de la pared, llamado "brote", crece y alcanza el tamaño de la célula madre; la mayor parte se reproducen así.

### REPRODUCCION SEXUAL

Esta forma se obtiene en medios generalmente pobres tales como el V-8, zanahoria, gis, madera, gelatina. Gorodkova; dos factores determinan la formación de ascosporas:

-La carencia de nutrientes como en el medio de gis o periódico.

-Nutrientes especiales y acumulación de metabolitos tóxicos como en el V-8, zanahoria.

El ciclo perfecto se lleva a cabo en tres fases: 1a. Haplontes, 2a. Diplontes y 3a. Haplonte en esta última se lleva a cabo la formación de ascas; que

pueden encontrarse dentro de cuerpos de fructificación llamados ascocarpos.

La clasificación estrictamente taxonómica de hongos levaduriformes se encuentra en dos subdivisiones; sin embargo, una clasificación más sencilla es la adoptado por Lodder y Kregervand Rij (1967). En las que las divide en tres grupos de importancia:

- a) Levaduras ascosporadas: se refiere a las que se reproducen por blastoconidios y ascosporas (Ascomycotina) vg. Hansenulla, Pichia, Saccharomyces, etc.
- b) Levaduras basidiosporadas (balitosporas): un ejemplo claro es el Cryptococcus neoformans, que sexualmente se reproduce por basidiosporas y asexualmente por blatoconidios encapsulados.
- c) Levaduras anascosporadas: se refiere a las que únicamente se reproducen por blastoconidios. La familia Cryptococaceae (clase blastomycetes), es la de importancia médica.

Los hongos levaduriformes no pueden ser identificados en su género/especie micromorfológicamente, salvo algunas excepciones, como el Cryptococcus sp. (por la presencia de cápsula), ya que en todos los géneros se observan formas unicelulares, por lo que para su identificación correcta nos apoyamos en pruebas biológicas como: inoculación de animales, fisiológicas, bioquímicas y algunas inmunológicas.

En el caso particular de Candida y Cryptococcus, las pruebas de inmunofluorecencia, ELISA y recientemente la aglutinación directa en partículas de latex recubiertas con anticuerpos monoclonales anti-manana (Candida) y anti-glucoronoxilomanana (anti-GXM, Cryptococcus), están siendo utilizadas. En esta última se cuantifican los antígenos circulantes en muestras de suero o LCR de pacientes con sospecha de estas micosis oportunista

## OBJETIVO.

Conocer los procedimientos básicos para la identificación de hongos levaduriformes, tomando en cuenta las características coloniales y microscópicas; así como las pruebas biológicas y bioquímicas.

## **MATERIAL.**

**Cepa: Candida albicans.**

**C.tropicalis.**

**C. krusei.**

**C. parapsilopsis.**

**Saccharomyces cereviceae.**

**S. bayanus.**

**Cryptococcus neoformans.**

**Rhodotorula.**

**Hansenulla.**

**Tubos de gelosa Sabouraud inclinada.**

**Juego de colorantes para tinción de Gram  
y tinta China.**

**Juego de colorantes para tinción de Ziehl-Neelsen.**

**Medio de Biggy-Nickersson.**

**Medio de Corn-meal (Harina de maíz) + tween 80 (1%).**

**Medio agar alpiste negro ( Guizotia abyssinica ).**

**Suero humano.**

**Serie de carbohidratos para realizar pruebas  
bioquímicas.**

**Asa micológica.**

**Mechero.**

**Microscopio.**

## TECNICA.

1.\_ Realizar la resiembra de las cepas tomando un fragmento de la colonia, con el asa de alambre, esterilizada previamente a la flama y colocando por medio de picadura en el tubo de gelosa Sabouraud inclinado. Se incuba a 28°C. durante 48-72 horas.

2.\_ Descripción de la macroscopía de los hongos proporcionados.

3.\_ Realizar exámenes directos de cada hongo así como las tinciones correspondientes; en donde se observará grandes acúmulos de blastoconidias de aproximadamente 2-4 micrómetros de diámetro y pseudomicelio cortos o largos.

4.\_ Llevar a cabo las pruebas biológicas utilizando el suero humano para la formación de tubo germinativo (2-3 hrs. a 37°C) y el medio Corn-meal + tween 80 (1%) para la formación de clamidoconidios.

5.\_ Llevar a cabo las pruebas bioquímicas utilizando la serie de carbohidratos.

## RESULTADOS.

### A)MACROMORFOLOGIA.

#### A.1) Candida albicans

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO.Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract.especial \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**A.2) Candida tropicalis.**

**Medio de cultivo** \_\_\_\_\_

**ANVERSO.Tamaño** \_\_\_\_\_

**Color** \_\_\_\_\_

**Forma** \_\_\_\_\_

**Caract.especial** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**REVERSO.** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**A.3) Candida krusei.**

**Medio de cultivo** \_\_\_\_\_

**ANVERSO.Tamaño** \_\_\_\_\_

**Color** \_\_\_\_\_

**Forma** \_\_\_\_\_

**Caract.especial** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**REVERSO.** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**A.4) Candida parapsilopsis.**

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO.Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract.especial \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**A.5) Saccharomyces cereviceae.**

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO.Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract.especial \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**A.6) Saccharomyces bayanus.**

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO.Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract.especial \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**A.7) Cryptococcus neoformans.**

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO.Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract.especial \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**A.8) Rhodotorula sp.**

**Medio de cultivo** \_\_\_\_\_

**ANVERSO.Tamaño** \_\_\_\_\_

**Color** \_\_\_\_\_

**Forma** \_\_\_\_\_

**Caract.especial** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**REVERSO.** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**A.9) Hansenulla sp.**

**Medio de cultivo** \_\_\_\_\_

**ANVERSO.Tamaño** \_\_\_\_\_

**Color** \_\_\_\_\_

**Forma** \_\_\_\_\_

**Caract.especial** \_\_\_\_\_

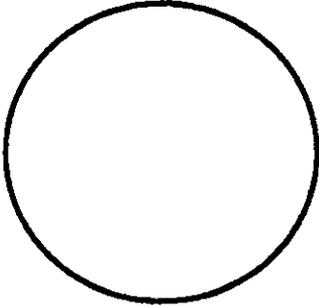
\_\_\_\_\_

**REVERSO.** \_\_\_\_\_

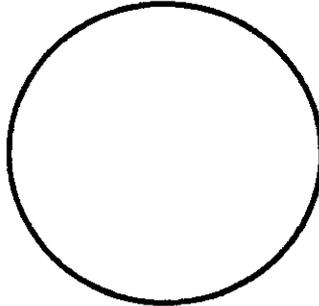
\_\_\_\_\_

B) MICROMORFOLOGIA.

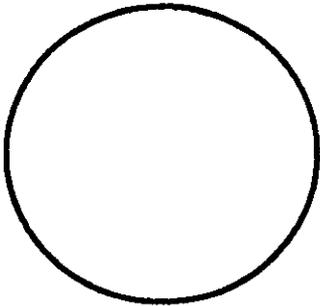
B.1) Candida albicans.



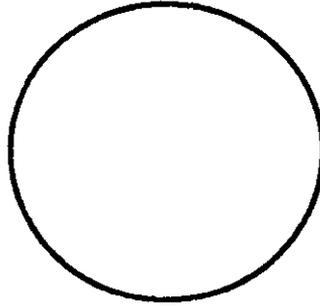
B.2) Candida tropicalis.



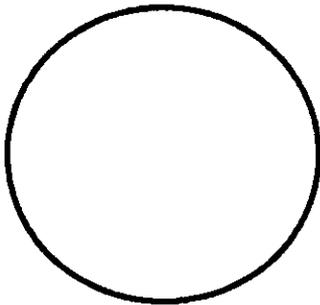
B.3) Candida krusei.



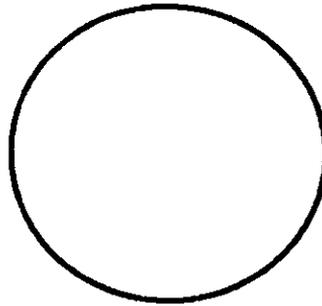
B.4) Candida parapsilopsis.



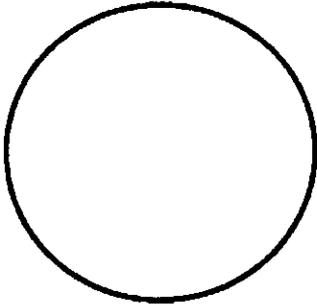
B.5) Saccharomyces cereviceae.



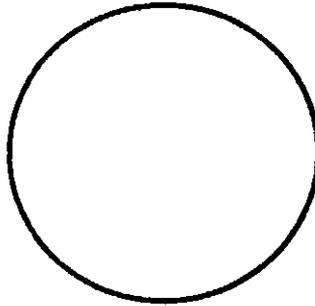
B.6) Saccharomyces bayanus.



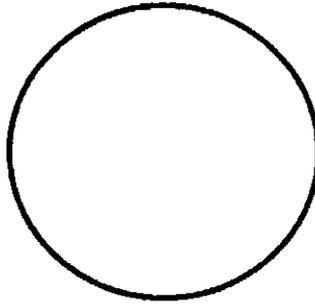
B.7)Cryptococcus neoformans.



B.8)Rhodotorula sp.



B.9)Hansenulla sp.



**Resultados de las pruebas biológicas y bioquímicas realizadas.**

## CONCLUSIONES.

## PREGUNTAS.

- 1.\_ Mencione 5 géneros de hongos levaduriformes que se reproducen por ascosporas.
- 2.\_ Indique los criterios biológicos para tipificar a C. albicans.
- 3.\_ Mencione 4 diferencias entre C. neoformans y C. albicans.
- 4.\_ Mencione 4 diferencias entre S. cereviceae y C. albicans.
- 5.\_ Explique el fundamento de la prueba de aglutinación de Ag Criptococósico.
- 6.\_ Explique el fundamento de la utilización del medio alpiste agar negro.

## BIBLIOGRAFIA.

- Alexopoulos, C. J. y Mims, C. W. (1979). *Introductory Mycology*, 3a. ed. Edit. John Wiley and Sons.
- Bonifaz, A. *Criptocosis*. En: *Micología Médica Básica*. 1a. ed. Méndez Editores, S. A. de C. V., México, pp:305-317.
- Loder, J. (1970): *The yeast*. 2a. ed. North Holland Pub., Amsterdam.
- Mc Ginnis, M. R. y Ajello, L. et al. (1984): *Taxonomic and nomenclatural evaluation of the genera Candida and Torulopsis*. J. Clin. Microbiol., 20:813-814.
- Sobel, J. (1985): *Epidemiology and pathogenesis of recurrent vulvovaginal candidiasis*. Am. J. Obstet Gynecol., 152:924-935.

## DERMATOFITOSIS

### INTRODUCCION.

Las dermatofitosis o comúnmente llamadas tiñas, son un conjunto de micosis superficiales que afecta la piel y sus anexos (uñas y pelos); los agentes etiológicos son los hongos, parásitos de la queratina denominados dermatofitos que están comprendidos en los géneros: Microsporum, Trichophyton, Epidermophyton.

Se caracterizan por presentar filamentos ramificados y arthroconidias en estado parasitario los cuales ayudan al diagnóstico de las tiñas por el examen en fresco.

Los dermatofitos son altamente ubicuos y pueden desarrollarse con distintos tipos de nutrientes, desde escasos hasta muy elaborados lo que se sugiere 3 tipos de hábitat, clasificándose en :

- Geofílicos. dermatofitos que regularmente viven en la tierra y en raras ocasiones atacan al hombre y a los animales. La especie más frecuente es M. gypseum, que produce tiñas de la cabeza, cuerpo y uñas.

- Zoofílicos. Son dermatofitos que regularmente atacan a los animales y ocasionalmente al hombre. Este tipo de hongos podemos dividirlo en 2 grupos: el primero afecta a los animales domésticos-urbanos, que provocan la mayor cantidad de tiñas en el hombre por su constante contacto; sobre sale M. canis que tiene como reservorio natural a gatos y perros y, es el causante de un 40% de las tiñas de la cabeza y cuerpo en México.

- Antropofílicos. Son dermatofitos que atacan al hombre y excepcionalmente a los animales.

Las dermatofitosis o tiñas se dividen dependiendo de la región anatómica en donde se presenta teniendo:

### TIÑAS:

-De la cabeza  
o tinea capitis

Es una infección o parasitación del pelo,  
piel cabelluda y anexos ( cejas y pestañas).

- De la barba o bigote o tinea barbae      Dermatofitosis crónica que afecta cara y cuello, sobre todo en las áreas pilosas.
- Del cuerpo o corporis      Dermatofitosis superficial que afecta la piel tinea lampiña, que se caracteriza por dar placas eritemato-escamosas y pruriginosas.
- De la ingle o cruris      Dermatofitosis superficial, que afecta la región inguino-crural, periné y en raras ocasiones genitales.
- De los pies o pedis      Dermatofitosis superficial que afecta los pies, tinea sobre todo en pliegues interdigitales, plantas y esporádicamente el dorso.

La tiña de los pies generalmente se presenta de tres formas o variedades.

- 1.\_ Intertriginosa.
- 2.\_ Vesiculosa.
- 3.\_ Hiperqueratósica.

- De las manos o tinea manuum      Dermatofitosis superficial que afecta las palmas y dorsos de las manos. En un inicio comienza con pequeñas vesículas, ligeramente eritematosas, que se localizan en la palma de la mano, son muy pruriginosas y por el rascado se rompen dando paso a placas eritemato-escamosas; en este estadio es importante diferenciarlas de (dermatofitides y candidides).
- De las uñas o onychomycosis      Dermatofitosis que afecta las uñas de los pies tinea y manos. Se inicia por el borde libre o distal, avanzando hacia la base de la uña; excepcionalmente puede comenzar de la cutícula.

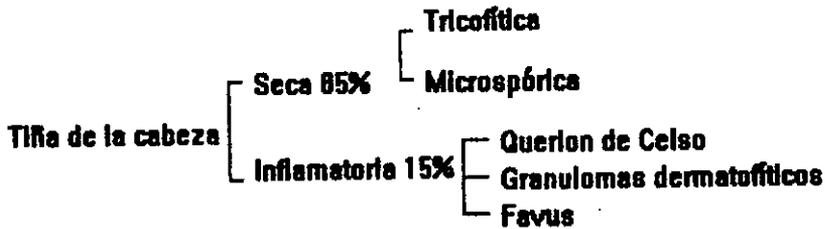
-tiña generalizada

Las dermatofitosis pueden generalizarse en algunos pacientes con desórdenes inmunológicos (inmunidad celular o factor sérico antidermatofítico) y por lo tanto afectar cabeza, cuerpo, uñas, etc.

-tiña imbricada o Tokelau

Dermatofitosis superficial crónica, que afecta la piel lampiña y es causada exclusivamente por: T. concentricum, que se caracteriza dando lesiones eritemato-escamosas, dispuestas de manera concéntrica o imbricada.

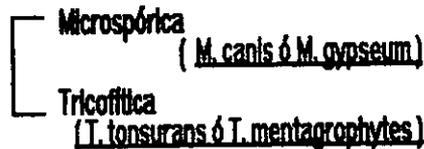
## TIPOS DE PARASITACION DEL PELO



Tiña de barba y bigote.

Es similar a la tiña del cuerpo (pero se presenta de manera inversa).

Tiña del cuerpo



Grupo	Tipo de Parasitación	Agente Etiológico
<b>ENDOTRIX</b>		
a) Tricofítico	Abundantes conideas de 8 a 12 micras de diámetro.	<u>T. tonsurans.</u> <u>T. violaceum.</u>
b) Fávico	Hifas anchas, con burbujas de aire sin conidias.	<u>T. schoenleinii.</u>
<b>ECTO-ENDOTRIX</b>		
a) Microspórico	Abundantes microconidias de 2-6 micras con predominio ectótrix	<u>M. canis.</u> <u>M. nanum.</u> <u>M. gypseum.</u>
b) Megospórico	Abundantes conidias dispuestas en fila, arrosariadas de 5-8 micras con predominio ectótrix	<u>T. ochraceum.</u> <u>T. equinum.</u>
c) Microide	Abundantes conidias de 3-5 micras dispuestas en fila e hifas	<u>T. mentagrophytes</u> <u>T. rubrum</u> (excepcional)

En el caso de las tiñas tricofíticas, por lo regular se presenta una sola placa y cuando está en pliegues como ingles, interdigitales y submamaros, se extienden a través de las líneas de éstos y no en forma concéntrica. En cambio en la tiñas microspóricas se presentan varias placas, o anillos bien delimitados.

El diagnóstico de laboratorio, se realiza por medio de exámenes directos que nos revelan la parasitación del hongo; los cultivos son confirmatorios. Las biopsias y pruebas inmunológicas (IDR) solamente se deben hacer en casos de tiñas profundas.

#### **TOMAS DE MUESTRA:**

A) Para la tiña de la piel cabelluda se deben recolectar los pelos cortos, con ayuda de una lupa y pinza de depilar, se coloca entre dos portaobjetos

B) y se dividen en dos partes para su observación y cultivo; cuando no existen pelos, se pueden tomar escamas y/o pus.

B) Para la piel lampiña, se recolectan las escamas raspando por medio de dos portaobjetos en el límite de la placa escamosa (borde activo).

C) Para las uñas se toma con un bisturí el polvo y fragmentos obtenidos, los cuales se colocan entre dos portaobjetos; se sugiere tomar de las partes más internas de la uña.

D) En las tiñas profundas, son sumamente útiles los fragmentos de biopsia, los cuales se maceran con solución salina y se dividen en dos partes para su observación y cultivo.

La luz de Wood, resulta ser un recurso más para el diagnóstico, particularmente en áreas pilosas de parasitación ectótrix la información se resume en la siguiente tabla:

Dermatofito	Fluorescencia (Luz de Wood) (color)
T.schoenleinii	Gris-verdoso
M.canis	Verde-brillante
M.audouinii	Verde-brillante
M.gypseum	Verde claro
T.tonsurans	
T.mentagrophytes	
T.violaceum	No fluorescen
T.ochraceum	

#### OBJETIVO.

Reconocer que la morfología macro y microscópica de los agentes causales de estas enfermedades es fundamental y auxiliar en el diagnóstico.

## MATERIAL.

Se divide en dos partes:

1) Muestras Biológicas.

Cepa: Trichophyton rubrum.

mentagrophytes.

tonsurans.

concentricum.

Microsporum canis.

gypseum.

Epidermophyton floccosum.

2) Muestras recolectadas por los alumnos de escamas de pies y uñas.

Tubos de Sabouraud y Micosel.

Medio de Sabouraud.

Medio PZ ( papa-zanahoria).

Medio PZ + 1% de dextrosa.

Medio PZ + 1% de peptona.

Medio PZ + 1% de almidón.

Medio PZ + 1% de peptona + 1% de almidón.

Cajas con Sabouraud dextrosa.

Cajas para microcultivo.

Matraz con glicerol al 10% (estéril).

Solución de KOH al 20%.

Bisturí, pinzas y tijeras.

Portaobjetos y cubreobjetos.

Asa micológica.

Mechero.

Microscopio.

## TECNICA.

1. Realizar la resiembra de las cepas tomando un fragmento de la costra o filamento, con el asa de alambre, esterilizada previamente a la flama y colocando por medio de picadura en el tubo de Sabouraud y Micosel respectivamente. Se incuban de 10 a 15 días a temperatura de 25-28°C.

2. Observar y anotar las características macroscópicas de las cepas proporcionadas y sembrarlas de la siguiente forma:

CEPA	MEDIO(de conservación).
<u>T. rubrum</u>	PZ +1% de dextrosa.
<u>T. mentagrophytes</u>	
<u>E. floccosum.</u>	
<u>T. tonsurans</u>	PZ + 1% de peptona.
<u>M. gypseum</u>	
<u>T. concentricum.</u>	Sabouraud.
<u>M. canis</u>	PZ + 1% de almidón + 1% de peptona.

3. Hacer un microcultivo, para cada cepa siguiendo la técnica ya mencionada anteriormente.

4. Observar al microscopio las muestras recolectadas por alumnos (escamas de pies y uñas ); realizar un examen directo. a) Pelos.- se colocan con la ayuda de una aguja de disección entre porta y cubre objetos con una gota de KOH al 20%, la preparación se debe calentar ligeramente, aunque no en exceso, o bien se aconseja dejarlo con KOH de 15 a 20 min. (sin calentamiento).

b) Escamas.- las escamas provenientes de la tiña del cuerpo o uñas, se colocan entre porta y cubreobjetos con KOH al 20%; si son muy grandes se deben fragmentar con bisturí; la preparación se calienta directamente al mechero para acelerar el aclaramiento. Por último realizar el microcultivo en medio PZ.

RESULTADOS.

A)MACROMORFOLOGIA.

A.1)Trichophyton rubrum

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract.especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

A.2)Trichophyton mentagrophytes

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract.especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

A.3)Trichophyton tonsurans

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract.especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

**A.4) Trichophyton concentricum**

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract.especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

**A.5) Microsporum canis**

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract.especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

**A.6) Microsporum gypseum**

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract.especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

**A.7) Epidermophyton floccosum**

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract.especial \_\_\_\_\_

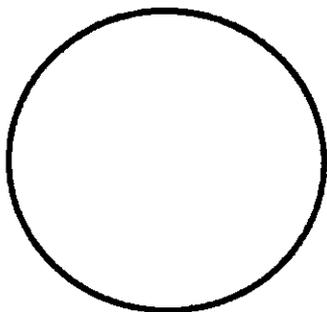
REVERSO. \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

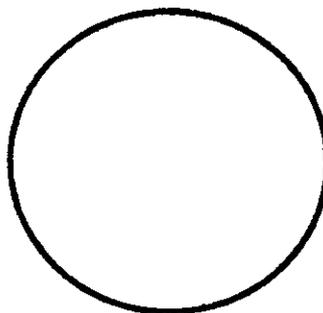
**B) MICROMORFOLOGIA**

Observación de los resultados de microcultivos.

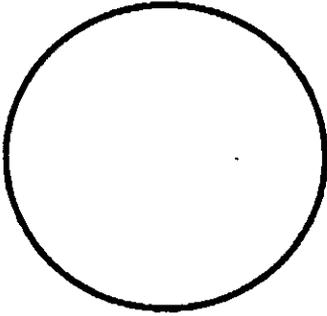
**B.1) Trichophyton rubrum**



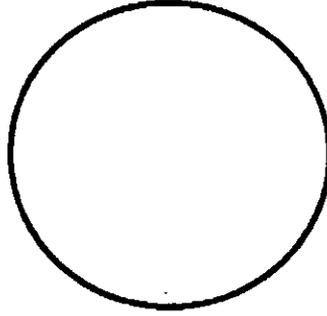
**B.2) Trichophyton mentagrophytes**



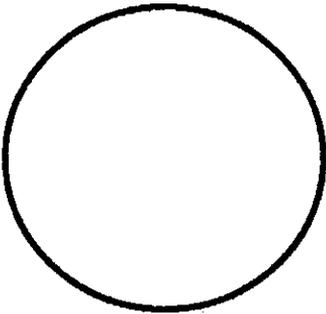
B.3) Trichophyton tonsurans



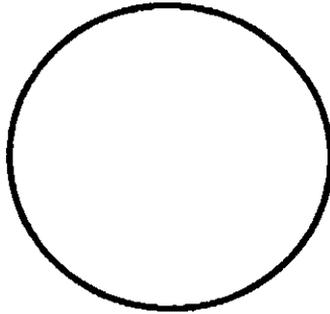
B.4) Trichophyton concentricum



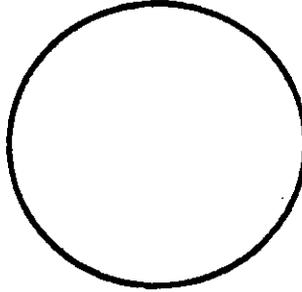
B.5) Microsporum canis



B.6) Microsporum gypseum

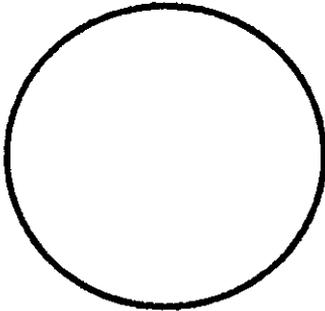


**B.7) Epidermophyton floccosum**

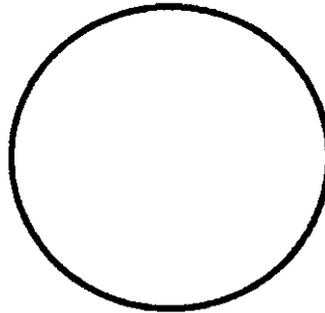


**Resultados de la observación de pelos y escamas recolectadas por los alumnos.**

**Escamas**



**Pelos**



**CONCLUSIONES.**

## PREGUNTAS.

- 1.\_ Mencione las diferencias y formas de reproducción de los 3 géneros de dermatofitos.
- 2.\_ Los 2 principales agentes etiológicos de la cabeza en México son:
- 3.\_ Los 2 principales agentes etiológicos de la piel lampiña en México son:
- 4.\_ Mencione las formas de reproducción sexuada de los dermatofitos.
- 5.\_ De un examen directo de las siguientes tiñas, indique que se observa:
  - a) tiña microspórica de la cabeza
  - b) tiña tricofítica de la cabeza
  - c) tiña de las uñas
  - d) tiña del cuerpo
- 6.\_ Mencione las 3 variedades clínicas de tiña de los pies.

## BIBLIOGRAFIA.

- Badillet,G. (1977): *Les Dermatophytes*. Ed. Varia, París.
- Bonifaz,A. (1988): *Aspectos micológicos de las micosis más frecuentes en México*. *Medicine*, 19:2380-2385.
- González-Ochoa,A. (1974): *Frequency of principal dermatophytoses and their causative agents observed in México city*. *Int. J. Dermatol.*, 13:303-309.
- Herbert,A. (1988): *Tinea capitis. Current concepts*. *Arch. Dermatol.*, 124:1554-1556.

## PITIRIASIS VERSICOLOR

### INTRODUCCION.

Es una micosis superficial cuyo agente causal es un hongo levaduriforme y lipofílico denominado Malassezia furfur (Pityrosporum furfur), se caracteriza por la aparición de máculas descamativas de color variable del blanco hasta el café oscuro o violeta, dependiendo de la pigmentación normal de la piel del paciente, exposición al sol y la severidad de la enfermedad. Cabe mencionar que existen dos variedades clínicas: la pitiriasis versicolor hipocromiante que se presenta con una clara disminución en la producción de la melanina , y la hiperchromiante que se presenta al parecer por un incremento del tamaño del melanosoma y a cambios en la distribución de la epidermis.

Las lesiones se localizan principalmente en el tronco, brazos, cuello, cara y ocasionalmente en muslos, axilas e ingle. Su distribución es mundial pero se presenta más frecuentemente en climas tropicales y templados. No se puede cultivar fácilmente en el laboratorio, por lo tanto el diagnóstico de la enfermedad se basa principalmente en las características clínicas y en el examen en fresco de las escamas de la lesión, buscando filamentos curvados y levaduras en racimo que miden de 3 a 8 micrómetros de diámetro.

### OBJETIVO.

Reconocer la morfología microscópica del agente etiológico para realizar el diagnóstico de la enfermedad; ya que esta micosis es muy frecuente.

## MATERIAL.

Cepa: P. ovale.

M. furfur.

Muestras de escamas de piel de pacientes con pitiriasis.

KOH al 10%.

Tinta azul " Parker ".

Tubos con Micosel agar + 10-15% de ácidos grasos.

Tubos con Micosel agar + aceite de oliva al 5 %.

Pinzas, bisturí y tijeras.

Portaobjetos y cubreobjetos.

Asa micológica.

Mechero.

Microscopio.

### TECNICA. a) Para Pitiriasis versicolor.

1.\_ Observar al microscopio las muestras parasitadas proporcionadas por el profesor; en las cuales se observará acúmulos de blastoconidios (blastosporas) y filamentos cortos, a los que nemotécnicamente se a denominado "albóndigas con espagueti".

2.\_ Se reasizará el cultivo de P. ovale en medio de cultivo Micosel agar + aceite de oliva al 5%, incubando a 25-37°C. durante 8 días que al microscopio presentan la forma de levadura típica.

### b) Para Dermatitis seborrémica.

1.\_ Fijación del sebo; raspar la zona afectada con la ayuda de un bisturí dividiendola en dos partes, una para tinción de Gram en la que se observará blastosporas pequeñas, que miden entre 1 y 2 micrómetros, con gemas de la mitad de su tamaño; y la otra para su cultivo.

2.\_ Realizar el cultivo en Micosel agar, adicionado de 10-15% de ácidos grasos (ácido oleico). Se incuban a 28°C. Las colonias se desarrollan de 3 a 4 días, de aspecto cremoso, brillante, limitada y de color blanco amarillento.

**RESULTADOS.**

**A)MACROMORFOLOGIA.**

**A.1)P. ovale**

**Medio de cultivo Micosel agar + aceite de olivo al 5%.**

**ANVERSO. Tamaño** \_\_\_\_\_

**Color** \_\_\_\_\_

**Forma** \_\_\_\_\_

**Caract. especial** \_\_\_\_\_

**REVERSO.** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**Medio de cultivo Micosel agar + 10-15% de ácidos grasos.**

**ANVERSO. Tamaño** \_\_\_\_\_

**Color** \_\_\_\_\_

**Forma** \_\_\_\_\_

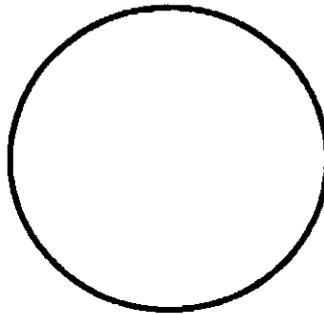
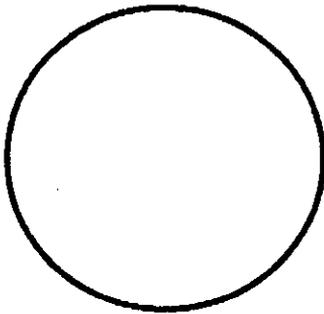
**Caract. especial** \_\_\_\_\_

**REVERSO.** \_\_\_\_\_

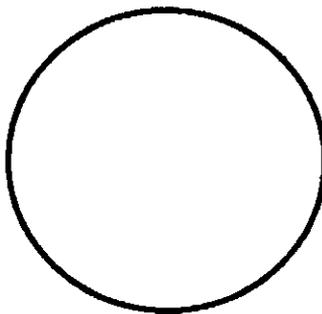
\_\_\_\_\_

**B) MICROMORFOLOGIA.**

**B.1) Malassezia furfur en escamas B.2) Levaduras típicas de P. ovale de piel (preparación en fresco con (del cultivo). KOH al 10%) .**



**B.3) Levaduras típicas de P. ovale (en áreas seborréicas del alumno).**



## CONCLUSIONES.

### PREGUNTAS.

- 1.\_ Mencione el nombre del agente etiológico de la pitiriasis versicolor en su estado saprofitico y parasitario.
- 2.\_ Nutricionalmente ¿de qué depende el agente etiológico de la pitiriasis versicolor?
- 3.\_ En la imagen microscópica parasitaria de la pitiriasis versicolor se observan:
- 4.\_ Las dos variedades clínicas de la pitiriasis versicolor son:

### BIBLIOGRAFIA.

- Degreef, H. (1978): *Clinical aspects of pityriasis versicolor*. Mykosen, 1:146-149.
- Estrada, R. (1987): *Itraconazole in pityriasis versicolor*. Rev. Infect. Dis., 9:127-130.
- Faergemann, J. y Frederikson, T. (1982): *Some new aspects on etiology, pathogenesis and treatment*. J. Invest. Dermatol., 21:8-11.
- Macotela, E. et al. (1987): *Papel patógeno de Pityrosporum ovale en la dermatitis seborréica y pitiriasis versicolor*. Rev. Med. IMSS, Mex., 25:367-372.

## TIÑA NEGRA (Feoanelomicosis).

### INTRODUCCION.

La tiña negra es una micosis superficial causada por un hongo levaduriforme dematiáceo, denominado Phaeoannellomyces werneckii, es una infección asintomática de curso crónico y se caracteriza por la formación de manchas hiperpigmentadas, preferentemente en las palmas de las manos.

Aunque no hay comunicaciones de aislamiento de Phaeoannellomyces werneckii de la naturaleza, se cree que su hábitat es el suelo, los detritus vegetales y la madera de zonas tropicales. La vía de entrada quizás es a través de pequeños traumatismos con material contaminado, esto explica el por qué la región palmar de la mano es la topografía más frecuente, generalmente asimétrica. Existen reportes de otras localizaciones como planta de los pies, brazos, piernas, cuello y tronco.

La tiña negra se presenta como manchas hiperpigmentadas de color café oscuro o negro, irregulares, de bordes bien definidos, cubiertas con fina escama y sin eritema. El curso de la enfermedad es crónico y asintomático, muy pocos pacientes presentan prurito y existe una alta probabilidad de curación espontánea. Al examen directo se observan numerosas estructuras fúngicas pigmentadas, de color café, por lo que no se requiere de colorante de contraste, estas estructuras están formadas por hifas tabicadas, ramificadas y en ocasiones con clamidoconidias (clamidosporas), más acúmulos de blastoconidias (blastosporas).

### OBJETIVO.

En la práctica el alumno conocerá las características de este hongo, mediante las cuales se podrá diferenciar de una pitiriasis hiperpigmentada de otras hiperpigmentaciones cutáneas; ya que las dos micosis producen la formación de manchas con pigmentación.

## MATERIAL.

Cepa: Phaeoannellomyces werneckii.  
Cajas con Sabouraud dextrosa.  
Cajas para microcultivo  
Matraz con glicerol al 10%.  
Asa micológica.  
Bisturí, tijeras y pinzas.  
Portaobjetos y cubreobjetos.  
Microscopio.

## TECNICA.

- 1.\_ Descripción de la macroscopía de las colonias de Phaeoannellomyces werneckii.
- 2.\_ Hacer microcultivo de Phaeoannellomyces werneckii.
- 3.\_ Observar la microscopía de Phaeoannellomyces werneckii, mediante exámenes directos y microcultivo; en las cuales aparecieran estructuras formadas por hifas tabicadas, ramificadas y en ocasiones con clamidoconidias (clamidosporas), más acúmulos de blastoconidias (blastosporas).

## RESULTADOS.

### A) MACROMORFOLOGIA.

#### A.1) Phaeoannellomyces werneckii.

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

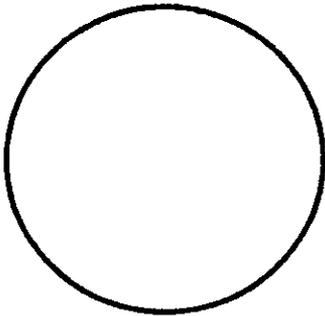
Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

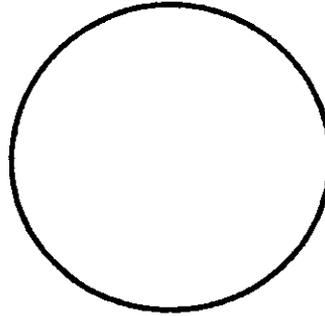
\_\_\_\_\_

## B)MICROMORFOLOGIA.

B.1)Phaeoannellomyces werneckii;  
medio Saboraud a 28°C después de  
3 días de incubación.



B.2)Phaeoannellomyces werneckii;  
medio Saboraud a 28°C después de  
12 días de incubación.



CONCLUSIONES.

## PREGUNTAS.

- 1.\_ Explique el polimorfismo de Phaeoannellomyces werneckii.
- 2.\_ Mencione 2 enfermedades diferenciales con la tiña negra.
- 3.\_ Diferencia entre el examen directo de una tiña vulgar y la tiña negra.

## BIBLIOGRAFIA.

- Arenas, R. y Woo, G. (1981): *Hongos negros. Panorama Actual*. Dermatología, Rev. Mex., 25:243-254.
- Chang-Way, P. y Arenas, R. (1983): *Tiña negra palmar tratada con ketaconazol*. Dermatología, Rev. Mex., 27:218-219.
- Marks, J. et al. (1980): *Treatment of tinea nigra palmaris with miconazol topically*. Arch. Dermatol., 116:321-322.

## TRICOMICOSIS AXILAR

### INTRODUCCION.

A pesar de que el término de "tricomicosis" no es el adecuado para nombrar a la enfermedad, debido a que no se trata de una infección micótica, sino bacteriana (por microorganismos), lo utilizaremos porque es el más conocido. La tricomicosis es una infección superficial asintomática, causada por un actinomiceto denominado Corynebacterium tenuis, que afecta principalmente los pelos axilares y en raras ocasiones los púbicos, escrotales e interglúteos; se caracteriza por la formación de nódulos y concreciones alrededor del pelo, en un inicio no son visibles y sólo se siente un ligero engrosamiento piloso a la palpación. Existen tres variedades clínicas, la más frecuente es la variedad amarilla o flava (98%) cuyo agente etiológico es C. tenuis; esporádicamente se presenta la roja (rubra por Micrococcus castellani) y negra (nigra por Micrococcus nigricans). Al inicio del padecimiento, los nódulos o masas bacterianas se mantiene aislados o independientes; conforme el cuadro se hace crónico, las concreciones se extienden a través de todo el pelo hasta formar una vaina, por lo que el pelo se engruesa, se torna amarillento, rojo o negro, presenta un aspecto cremoso, opaco y blando. Es importante mencionar que la raíz y el folículo piloso no se dañan, y la piel circundante nunca sufre cambios. C. tenuis no se ha aislado de la naturaleza, únicamente de vellos humanos infectados. La enfermedad es propia de climas húmedos y tropicales y se ha reportado prácticamente en todo el mundo; siendo una enfermedad de adultos, sobre todo de adolescentes y jóvenes. El diagnóstico es sumamente sencillo de establecer con sólo observar la parasitación de los pelos al microscopio. Los cultivos deben realizarse en medios de cultivo ricos, como BHI agar, extracto de levadura o gelosa sangre; cuando los pelos provienen de la variedad flava, se obtienen colonias pequeñas rugosas, opacas, de aproximadamente 2 mm. de tamaño y de color blanco amarillento. La temperatura óptima de crecimiento es de 37°C; al microscopio se observa numerosas formas cocoides y diferoides, grampositivas, similares a pequeños "palitos de tambor".

Aparte de la tricomicosis axilar existen otras pseudomicosis las cuales son:

#### ERITRASMA.

Infección superficial crónica causada por un actinomiceto coriniforme, denominado Corynebacterium minutissimum, que afecta principalmente los grandes pliegues (axilas, ingles) y espacios interdigitales, en forma de placas eritemato-escamosas.

#### QUERATOLISIS PUNTATA.

Infección superficial crónica, asintomática, causada por diversas bacterias filamentosas grampositivas, como: Corynebacterium sp, Dermatophilus congolensis y Micrococcus sedentarius; que afectan primordialmente la planta de los pies en forma de depresiones puntiformes (hoyuelos) y erosiones superficiales.

#### OBJETIVO.

El alumno deberá conocer las características morfológicas y microscópicas de una infección bacteriana, ya que a diferencia de las demás prácticas no se trata de una infección micótica; cuyo diagnóstico es fácil basta con observar al microscopio la formación de nódulos y concreciones alrededor del pelo.

#### PSEUDOMICOSIS.

Es importante distinguir estas pseudomicosis de las demás infecciones micóticas; ya que estas son principalmente bacterianas de fácil diagnóstico.

#### MATERIAL.

Cepa: Corynebacterium tenuis

Medio de cultivo BHI agar.

Preparaciones de muestras parasitadas.

Reactivos para tinción de Gram.  
Asa micológica.  
Mechero.  
Microscopio.

### PSEUDOMICOSIS.

Cepa: Corynebacterium minutissimum  
Corynebacterium sp.  
Dermatophilus congolensis  
Micrococcus sedentarius

Medio de cultivo BHI agar.

Medio de cultivo BHI agar + 20% de suero bovino.

### TECNICA.

1.\_ Observar al microscopio las muestras parasitadas proporcionadas por el profesor; en las cuales se observará nódulos y concreciones alrededor del pelo.

2.\_ Se realizará el cultivo de C. tenuis en medio de cultivo BHI agar, incubando 37°C durante 8 días que al observar por el microscopio presenta numerosas formas cocoides y difteroides, grampositivas, similares a pequeños "palitos de tambor".

### PSEUDOMICOSIS

1.\_ Las zonas eritemato-escamosa o base de los hoyuelos se raspan con ayuda de un bisturí o espátula, la muestra se divide en dos partes para su observación y cultivo. No se deben realizar exámenes directos ya que es difícil distinguir los elementos parasitarios.

2.\_ Con la muestra obtenida, se realiza un frotis y se tiñe con Gram o Giemsa para observar al microscopio filamentos grampositivos, microsifonados, con acúmulos de formas difteroides y bacilares.

3.\_ El cultivo debe realizarse en medios de cultivo ricos, como son gelosa sangre, gelosa chocolate o BHI agar, pero el porcentaje de aislamiento se incrementa, cuando a los medios se les adiciona 20% de suero bovino.

La temperatura óptima de crecimiento es de 37°C., las colonias se desarrollan entre 24-48 hr., son limitadas 2-3mm, redondas, brillantes, conexas y de color blanco y cuando se ponen bajo la luz de Wood generan fluorescencia de color rojo coral.

RESULTADOS.

A) MACROMORFOLOGIA

A.1) C. tenuis

Medio de cultivo Sabouraud agar.

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_  
Color \_\_\_\_\_  
Forma \_\_\_\_\_  
Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Medio de cultivo BHI agar

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_  
Color \_\_\_\_\_  
Forma \_\_\_\_\_  
Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

PSEUDOMICOSIS.

A.1) Corynebacterium minutissimum.

Medio de cultivo BHI agar

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_  
Color \_\_\_\_\_  
Forma \_\_\_\_\_  
Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

A.2) Corynebacterium sp.

Medio de cultivo BHI agar

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_  
Color \_\_\_\_\_  
Forma \_\_\_\_\_  
Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

A.3) Dermatophilus congolensis.

Medio de cultivo BHI agar

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_  
Color \_\_\_\_\_  
Forma \_\_\_\_\_  
Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

A.4) Micrococcus sedentarius.

Medio de cultivo BHI agar

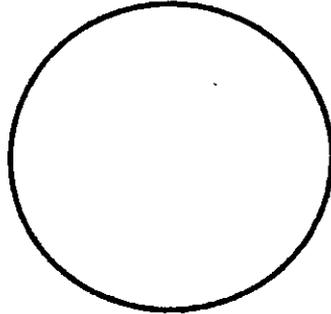
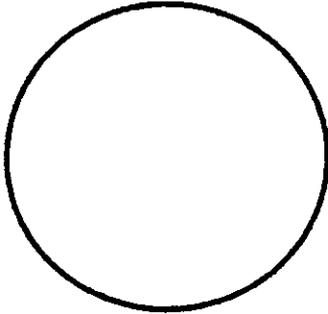
ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_  
Color \_\_\_\_\_  
Forma \_\_\_\_\_  
Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

## B) MICROMORFOLOGIA

B.1) Muestra parasitada con nódulos y concreciones alrededor del pelo.

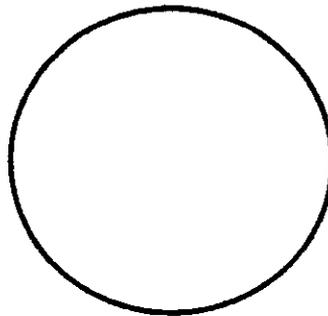
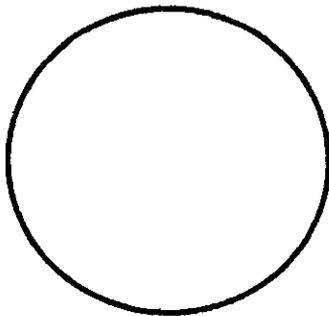
B.2) Gram de las colonias del cultivo BHI agar a 37° C, con formas cocoides y difteroides.



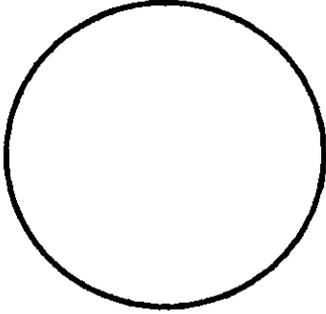
## PSEUDOMICOSIS.

A.1) Corynebacterium minutissimum.

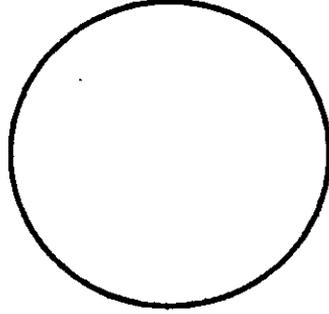
A.2) Corynebacterium sp.



A.3) Dermatophilus congolonesis.



A.4) Micrococcus sedentarius.



**CONCLUSIONES.**

## PREGUNTAS.

- 1.\_ Al examen directo mencione las diferencias entre la parasitación de tricomicosis axilar y una tiña de la cabeza.
- 2.\_ Explique el tropismo del agente etiológico de la tricomicosis axilar.
- 3.\_ Mencione las tres variedades clínicas con sus agentes etiológicos respectivos.

## BIBLIOGRAFIA.

Bonifaz, A. (1986): *Tricomicosis axilar*. *Infectología*, 6:513-514.

Levit, F. (1988): *Trichomyces axillaris: A different view*. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 18:778-779.

Montes, L.T. et al (1963): *Electron microscopic study of infected hair in trichomycosis axillaris*. *J. Invest. Dermatol.*, 40:273-278.

Rippon, W. J. (1988): *Erythrasma in "Medical Mycology, the pathogenic Fungi and the Pathogenic actinomycetes"*. 3a. ed. W.B. Saunders Co., Philadelphia, USA, pp:68-71.

Conti Díaz, I., et al. (1987): *Queratólisis en hoyuelos (Pitted keratolysis). Forma hiperqueratósica y aislamiento del agente etiológico: Corynebacterium sp.* *Med. Cut. ILA*, 25:157-160.

## MICETOMA

### INTRODUCCION.

Es un síndrome anatomoclínico de tipo inflamatorio crónico, constituido por aumento de volúmen, deformación de la región que afecta y con lesiones de aspecto nodular, fistulizadas de donde drena un exudado filante, que contiene las formas parasitarias denominadas "granos". Se presenta principalmente en pies y otros sitios como espalda, gluteos y cara. Las lesiones son localizadas, indoloras, deformantes de tipo tumoral con tractos sinuosos que involucran tejidos (cutáneo, subcutáneo), músculos hasta huesos.

Según su etiología los micetomas pueden ser de dos tipos:

1. Micetoma eumicósico (eumicetoma). Ocasionado por hongos verdaderos.

Pseudoallescheria boydii.

Madurella mycetomatis.

Madurella grisea.

2. Micetoma actinomicósico (actinomicetoma). Ocasionado por actinomicetos aerobios.

Nocardia asteroides.

Nocardia brasiliensis. (85%)

Nocardia otitis-caviarum. (caviae).

Actinomadura madurae. (10%)

Actinomadura pelletieri.

Streptomyces somaliensis.

Existen reportes de micetoma en diferentes partes del mundo pero las zonas endémicas más importantes de eumicetoma están en Africa y Asia y de actinomicetoma en América, siendo México uno de los principales países. Ya que el 65% presenta micetoma; aunque no es un problema de salud pública, es importante porque puede generar invalidez del miembro

que afecta, y cuando se presenta en localizaciones torácicas o craneales provoca severas complicaciones e inclusive la muerte.

Para el diagnóstico existen varios métodos que nos permiten hacer la identificación de microorganismos a nivel de género y especie, los más adecuados a nivel de laboratorio son:

1. Estudio de la morfología macroscópica.
2. Estudio de la morfología microscópica: para orientar en la etiología en base al tamaño, color y fragmentación del micelio.
3. Pruebas fisiológicas: digestión de la caseína, hidrólisis de la gelatina, peptonización de la leche tornasolada.

Debido a que el tratamiento para cada tipo de micetoma es diferente es importante diferenciar los granos así como aislar e identificar el agente etiológico.

#### OBJETIVO.

El alumno deberá reconocer por medio de granos algunos de los agentes causales de micetoma, y establecerá la diferencia entre las especies del género Nocardia mediante la utilización de pruebas bioquímicas.

#### MATERIAL.

Cepas de:

Nocardia brasiliensis

N. asteroides.

N. caviae.

Actinomadura madurae.

A. pelletieri.

Streptomyces sp

Cajas con agar caseína.

Tubos con medio de gelatina al 0.4%.

Cajas con Sabouraud dextrosa.  
Cajas para microcultivo.  
Colorantes para tinción de Gram.  
Matraz con glicerol al 10%  
Preparaciones fijas de fase parasitaria.  
Pruebas bioquímicas.  
Bisturí, pinzas y tijeras.  
Portaobjetos y cubreobjetos.  
Asa micológica.  
Mechero.  
Microscopio.

## TECNICA.

### A) Para Actinomicetos.

- 1.\_Observar y anotar las características macroscópicas de las cepas proporcionadas.
- 2.\_Hacer un microcultivo y después de desarrollado teñir con la técnica de Gram para identificar actinomicetos.
- 3.\_Observar al microscopio las preparaciones fijas de cortes histológicos proporcionados por el profesor.
- 4.\_Realizar las pruebas bioquímicas para la diferenciación hasta especie de los actinomicetos.

### B) Para Eumicetos.

- 1.\_Realizar un examen directo anotando características macroscópicas y microscópicas.
- 2.\_Llevar acabo las pruebas térmicas que acontinuación se muestran:

**DIFERENCIAS FISIOLÓGICAS Y TÉRMICAS  
DE LOS GÉNEROS MADURELLA.**

Propiedades	<i>M. mycetomatis.</i>	<i>M. grisea.</i>
Glucosa	+	+
Maltosa	+	+
Lactosa	+	-
Sacarosa	-	+
Crecimiento a 37° C.	+++	+
Crecimiento a 28° C.	+	+++
+Positivo; -Negativo; +++ Abundante		

**RESULTADOS.**

**A) MACROMORFOLOGÍA DE ACTINOMICETOS.**

**A.1) Nocardia asteroides.**

Medio de cultivo

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_  
 Color \_\_\_\_\_  
 Forma \_\_\_\_\_  
 Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

**A.2) N. brasiliensis.**

Medio de cultivo

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_  
 Color \_\_\_\_\_  
 Forma \_\_\_\_\_  
 Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

A.3) N. caviae.

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

A.4) Actinomadura madurae.

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

A.5) A. pelletieri.

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

A.6) Streptomyces sp.

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

**A.7) Madurella mycetomatis.**

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

**A.8) M. grisea.**

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

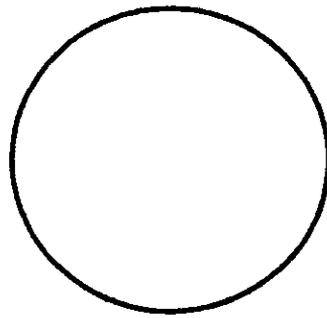
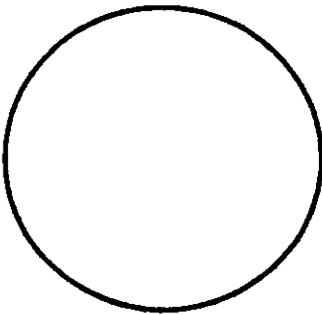
REVERSO. \_\_\_\_\_

**RESULTADOS.**

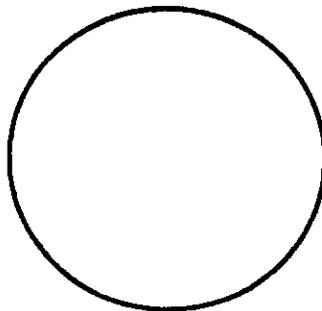
**B) MORFOLOGIA MICROSCOPICA DE ACTINOMICETOS.**

**B.1) Nocardia sp.**

**B.2) Actinomadura sp.**

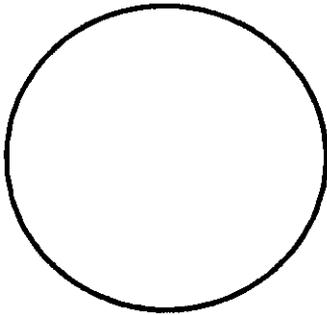


**B.3) Streptomyces sp.**

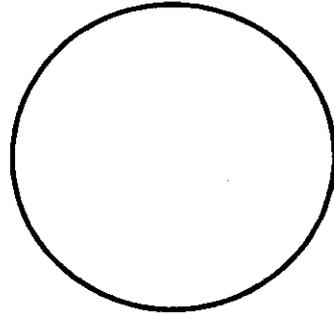


**B) MORFOLOGIA MICROSCOPICA DE EUMICETOS.**

**B.1) Madurella grisea.**



**B.2) Madurella mycetomatis.**



**CONCLUSIONES.**

## PREGUNTAS.

1. \_ ¿Cuáles son las zonas endémicas del micetoma en México?
2. \_ ¿Cuáles son los dos principales agentes etiológicos del micetoma en México?
3. \_ ¿Cuáles son las diferencias entre un grano eumicético y uno actinomicético?
4. \_ ¿Cuál es la micromorfología de una cepa de Nocardia sp.?
5. \_ ¿Cuáles son las dos topografías clínicas del micetoma en México?

## BIBLIOGRAFIA.

Macotela-Ruiz, E. (1979) : *Los micetomas ; en desarrollo y estado actual de la micología médica en México*. Ed. Syntex, pp : 41 - 53.

Magaña, M. y Magaña, García, M. (1989) : *Mycetoma Dermatol. Clinic. 7* : 203 - 217.

Mahgoub, E.S. y Murray. I. (1973) : *Mycetoma*. London W. Heinemann Publish.

## ESPOROTRICOSIS

### INTRODUCCION.

La esporotricosis es una micosis subcutánea o profunda, producida por un hongo dimórfico denominado Sporothrix schenckii, de curso subagudo o crónico. Primordialmente afecta piel y linfáticos en forma de lesiones gomosas y en raras ocasiones se presenta en huesos, articulaciones y otros órganos (vísceras y pulmones).

El diagnóstico de la esporotricosis se basa en el cultivo del exudado purulento de las lesiones en medios de agar Sabouraud a 28°C.; y en la aplicación de la intradermoreacción con esporotricina M en donde se puede presentar una respuesta inmediata (5-10 min.) caracterizada por eritema y prurito. La prueba confirmatoria se obtiene entre 24-48 hrs., formándose una zona indurada, eritematosa y dolorosa, más de 5 mm. de diámetro se considera positiva.

En cuanto al cultivo después de 4-6 días de incubación se desarrollan colonias membranosas de color blanco sucio y algunas toman un color café oscuro transformándose en negras conforme envejecen.

Microscópicamente el hongo presenta un micelio delgado, y hialino y tabicado, con microconidias piriformes sésiles dispuestas a lo largo de la hifa y en forma de roseta sobre un conidióforo corto. En el examen directo del pus generalmente no se visualiza el hongo en su fase parasitaria, sólo ocasionalmente puede observarse en biopsias teñidas por el método de Grocott como una levadura en forma de "puro" de 2-5 micrómetros que rara vez muestran gemación. Esta morfología se puede obtener "in vitro" sembrando la fase micelial en medios enriquecidos tales como Gelosa sangre, Cerebro corazón e incubando a 37°C.

### OBJETIVO.

Que el alumno conozca tanto las características macroscópicas y microscópicas del agente etiológico de micosis subcutáneas y profundas; estableciendo su dimorfismo mediante la transformación de la fase micelial que presenta en medios de cultivo

simple, así como la fase levaduriforme en el huésped en el que se encuentra o en medios enriquecidos e incubados a 37°C.

#### MATERIAL.

Cepa: Sporothrix schenckii.  
Tubos con BHI inclinado.  
Tubos con Sabouraud dextrosa agar.  
Cajas para microcultivo.  
Matraz con glicerol al 10%. (estéril)  
Colorantes para tinción de Gram.  
Bisturí, pinzas y tijeras.  
Portaobjetos y cubreobjetos.  
Asa micológica.  
Mechero.  
Microscopio.

#### TECNICA.

1. Descripción de la macroscopía de las colonias de Sporothrix schenckii.
2. Hacer un microcultivo de S. schenckii.
3. Obtener el dimorfismo de S. schenckii, sembrando en Sabouraud agar a 28°C. y BHI incubando a 37°C. durante 5-8 días.
4. Observar la microscopía de S. schenckii en su fase micelial y levaduriforme respectivamente, mediante exámenes directos y microcultivo.
5. Observar al microscopio las preparaciones obtenidas de los microcultivos y buscar las estructuras que identifican a S. schenckii en su fase vegetativa

**RESULTADOS.**

**A) MACROMORFOLOGIA**

**A.1) Fase micelial.**

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**A.2) Fase levaduriforme.**

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

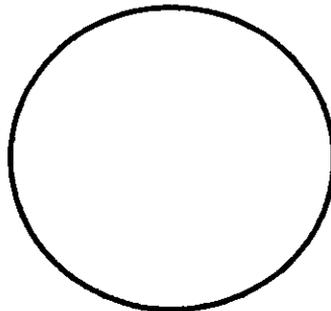
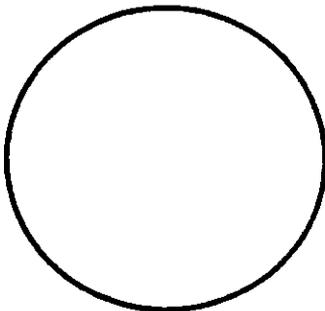
Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**B) MICROMORFOLOGIA.**

B.1) Forma micelial de S.schenckii en agar Sabouraud a 28°C. B.2) Forma levaduriforme de S.schenckii en BHI a 37°C.



## CONCLUSIONES.

## PREGUNTAS.

1. ¿Cuáles son las dos pruebas para diagnosticar la esporotricosis?
2. ¿De qué depende el dimorfismo de S. schenckii?
3. ¿Qué se observa en un microcultivo de S. schenckii en Sabouraud a 28°C.?
4. ¿Cuáles son las zonas geográficas de la esporotricosis en México?
5. ¿Cuáles son las topografías clínicas más frecuentes de la esporotricosis infantil?

## BIBLIOGRAFIA.

La valle, P. y Mariat, F. (1983): *Sporotrichosis*. Bull. Inst. Pasteur, 81:295-322.

Carrada-Bravo, T. (1988): *Esporotricosis infantil*, Bol. Méd. Hosp. Inf. Méx., 45: 124-131.

Saúl, A. (1988): *Sporotrichosis*. In : Antifungal Drug Therapy. (En prensa).

## CROMOMICOSIS

### INTRODUCCION.

La Cromomicosis también llamada Cromoblastomicosis es causada por hongos negros o dematiáceos de los géneros Fonsecae, Phialopora y Cladosporium, la enfermedad se caracteriza por la formación de nódulos verrugosos cutáneos, los cuales se desarrollan muy lentamente y tienden a ulcerarse. Generalmente las lesiones se presentan en pie o piernas pero pueden aparecer en cualquier parte del cuerpo; la lesión es consecutiva a la inoculación del hongo a través de una herida con material contaminado como suelo, madera o productos vegetales. Este padecimiento ha sido reportado en casi todo el mundo, pero es más frecuente en áreas tropicales y subtropicales.

Los agentes etiológicos cuando están parasitando los tejidos se presentan como formas redondas de color café oscuro, en ocasiones tabicadas llamadas células fumagoides; la observación de estas formas al microscopio es fundamental para el diagnóstico; ya que presentan 3 tipos diferentes de esporulación:

- 1.- Tipo Phialopora : Se caracteriza por la formación de fiálides que son pequeñas estructuras en forma de botella que producen esporas en su interior, las cuales son expulsadas por el cuello de la fiálide dando aspecto de florero.
- 2.- Tipo Cladosporium: Que se caracteriza por la formación de conidióforos ramificados que llevan conidios ovales y en cadenas cortas o largas.
- 3.- Tipo Acroteca: Se caracteriza por presentar un conidióforo alargado con las conidias que son de igual forma y tamaño dispuestas lateralmente y/o terminales.

### OBJETIVO.

Que el alumno aprenda a reconocer las diferentes especies productoras de Cromomicosis basándose en sus formas de reproducción.

## MATERIAL.

Cepas: Fonsecae pedrosoi  
Phialophora verrucosa  
Cladosporium carrionii  
Cajas para microcultivo.  
Cajas con agar Sabouraud dextrosa.  
Matraz con Glicerol al 10%. (estéril)  
KOH al 20%.  
Colorante azul algodón lactofenol.  
Asa micológica.  
Portaobjetos y cubreobjetos.  
Pinzas, bisturí y tijeras.  
Mechero.  
Microscopio.

## TECNICA.

- 1.\_ Observar y anotar las características macroscópicas y microscópicas de los agentes etiológicos de la Cromomicosis.
- 2.\_ Montar preparaciones por la técnica en fresco con KOH al 20% a partir de las escamas proporcionadas.
- 3.\_ Buscar la forma parasitaria (celúlas fumagoides) en las preparaciones en fresco, así como en las preparaciones fijas proporcionadas por el profesor.
- 4.\_ Hacer microcultivos de las cepas productoras de cromomicosis

RESULTADOS.

A) MACROMORFOLOGIA

A.1) Fonsecae pedrosoi.

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO.Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

A.2) Phialophora verrucosa

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO.Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

A.3) Cladosporium carrionii

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO.Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

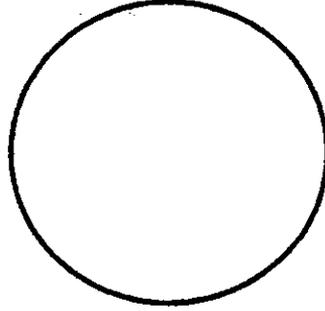
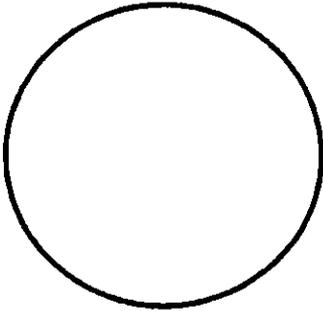
Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

## B) MICROMORFOLOGIA

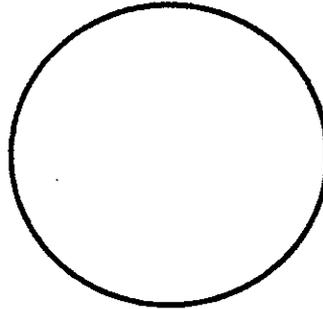
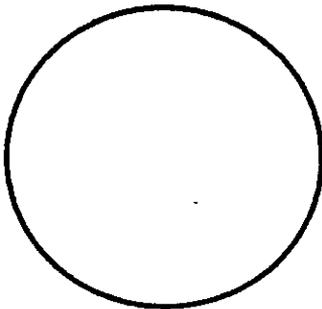
B.1) Preparación en fresco con KOH (Células fumagoides).

B.2) Corte histológico de piel con cromomicosis.

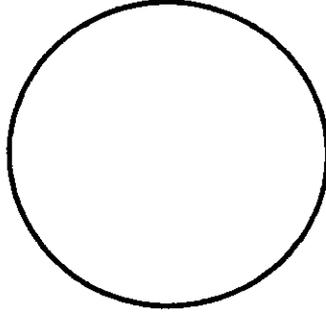


B.3) Fonsecae pedrosoi

B.4) Phialophora verrucosa



B.5) Cladosporium carrionii



CONCLUSIONES.

## PREGUNTAS.

- 1.\_En México ¿cuál es el agente etiológico más frecuente de cromomicosis?
- 2.\_ Mencione las formas de reproducción de F.pedrosoi y P. verrucosa.
- 3.\_¿Qué se observa en un examen directo de las escamas de cromomicosis?
- 4.\_Con qué material se hace la preparación para un examen directo de cromomicosis y ¿por qué?

## BIBLIOGRAFIA.

- Lavalle,P. (1980): *Chromoblastomycosis in México*. Proc. V Int. Conf. Mycoses, PAHO, 396:235-247.
- Mc.Ginnis, M.R. (1983): *Chromoblastomycosis and Phaeohyphomycosis : New concepts diagnosis and micology*. J. Am. Acad. Dermat., 8:1-16.

## COCCIDIOIDOMICOSIS

### INTRODUCCION.

La coccidioidomicosis es producida por un hongo bifásico denominado Coccidioides immitis cuyo hábitat natural son principalmente los suelos desérticos, de ahí que las regiones comprendidas en el Sur y Suroeste de Estados Unidos de Norteamérica, el Norte de nuestro país se consideren como zonas de alta endemicidad; además se han reportado otras zonas endémicas en la región septentrional de México.

Esta micosis, en su fase primaria o pulmonar puede ser sintomática ó no. En la coccidioidomicosis diseminada cuando ocurre invasión de la piel, tejido subcutáneo, huesos, articulaciones, cerebro, meninges y otros órganos, la sintomatología no es característica y fácilmente puede confundirse con enfermedades producidas por otros microorganismos (hongos o bacterias).

C. immitis en su estado vegetativo presenta micelio filamentosos, ramificado, septado, hialino y abundantes artrosporas en cadenas o asilados. Es característico observar que entre las artrosporas se encuentran espacios claros cuando están formando cadenas.

La fase parasitaria se encuentra en los tejidos, corresponde a esférulas de paredes gruesas, de 20-60 micrómetros de diámetro llenas de pequeñas endosporas de 2-5 micrómetros de diámetro.

La presencia de estas formas en las muestras clínicas nos da el diagnóstico.

Además de las pruebas de laboratorio de rutina: la observación microscópica en fresco de la muestra clínica, y cultivo, existen pruebas auxiliares de diagnóstico tales como: inoculación en animales y reacciones inmunológicas que pueden ser: fijación de complemento, precipitación e intradermoreacción que se emplea de manera similar al PPD, aplicando una décima de antígeno (coccidioidina), la lectura se realiza a las 36 horas y se considera positivo cuando se presenta induración y eritema mayor de 5mm. Las dos primeras tienen valor diagnóstico y pronóstico, la última es de gran utilidad en estudios epidemiológicos donde sólo nos indica si un individuo ha estado o no en

contacto con el hongo; sin embargo esta prueba tiene utilidad en el diagnóstico cuando se trata de pacientes con poca edad o adultos cuya reactividad a la coccidioidina era conocida como negativa.

#### OBJETIVO.

Como es un hongo bifásico el alumno deberá identificar la forma infectante (artroconidios) y la forma parasitaria (esférulas); ya que es una de las micosis más grave debido a que el mecanismo de infección es la inhalación de esporas, siendo las primeras manifestaciones clínicas de tipo respiratorio.

#### MATERIAL.

Preparaciones de biopsias ó muestras parasitadas con C. immitis.  
Microscopio.

#### TECNICA.

- 1.\_ Describir las características macroscópicas de C. immitis.
- 2.\_ Buscar la forma parasitaria (esférulas) y la forma infectante (artroconidios) de C. immitis; en las preparaciones proporcionadas por el profesor.

**RESULTADOS.**

**A) MACROMORFOLOGIA.**

**A.1) C. immitis.**

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

**ANVERSO.** Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

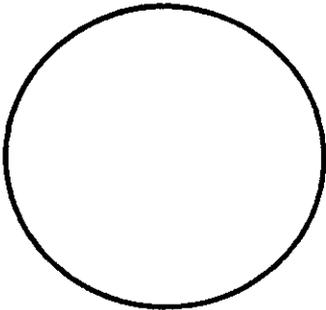
Caract. especial \_\_\_\_\_

**REVERSO.** \_\_\_\_\_

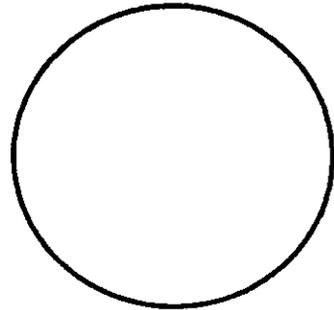
\_\_\_\_\_

**B) MICROMORFOLOGIA.**

**B.1) Fase parasitaria.  
(esférulas)**



**B.2) Fase infectante  
(artrosporas)**



## CONCLUSIONES.

## PREGUNTAS.

- 1.\_ ¿Cuál es la zona endémica de coccidioidomicosis en México?
- 2.\_ ¿De donde se toman muestras para hacer el diagnóstico de laboratorio?
- 3.\_ ¿Cuáles son las dos pruebas inmunológicas que se emplean?
- 4.\_ Indique cual es la fase infectante y parasitaria de C. immitis.
- 5.\_ ¿Cómo clasifica un caso grave de coccidioidomicosis en base a las pruebas de laboratorio?

## BIBLIOGRAFIA.

Cicero,R. (1979): *Micosis pulmonares en medicina crítica. Consideraciones generales.* En: *Desarrollo y estado actual de la Micología Médica en México.* Syntex, (Ed.). México, D. F. pp:73-84.

Huppert,M. (1970): *Serology of coccidioidomycosis.* *Mycopathología*, 41:107-113.

Rodríguez,M. (1979): *La coccidioidomycosis.* En:*Desarrollo y estado actual de la micología médica en México.* Simposio Syntex, México. pp:63-71.

Wright,E. y Winer,L. (1971): *The natural history of experimental Coccidioides immitis infection.* *Int. J. Dermatol.*, 10:17-23.

# HISTOPLASMOSIS

## INTRODUCCION.

La histoplasmosis es producida por el hongo dimórfico Histoplasma capsulatum, cuyo hábitat natural es el suelo contaminando con guano de murciélago dentro de cuevas o minas abandonadas por lo que existen zonas endémicas importantes en México. Este hongo también se ha aislado de suelos contaminados con excremento de otras aves como gallinas, palomas, etc., hecho que se ha demostrado en algunos sitios del Sureste de E. U. A. Usualmente esta micosis se adquiere por vía respiratoria y puede presentarse como una enfermedad pulmonar asintomática benigna, aguda y crónica o diseminada y fatal, en la cual se involucran órganos del sistema retículo endotelial como hígado, bazo, linfáticos, etc. El hongo en estos órganos se encuentra como pequeñas levaduras gemantes intracelulares, principalmente dentro de histiocitos; estas estructuras no son fácilmente observables en las muestras clínicas para ello se requiere de técnicas de coloración como las de Wright o Giemsa.

El hongo en su fase filamentosa se obtiene en medios de cultivo como Sabouraud, Micosel y PDA. Se incuba a 25° C durante 1 ó 2 semanas observándose colonias con micelio delgado, tabicado y hialino. De las hifas nacen directamente pequeñas microconidias o aleuriosporas piriformes, de aproximadamente 2 micrómetros y macroconidias que nacen de un conidióforo, son de doble membrana, espiculadas, dando el aspecto de las "rondanas de reloj", y miden entre 8 y 15 micrómetro de diámetro. Si se siembran en medios ricos como Gelosa sangre o BHI, y se incuban a 37° C durante 3 a 5 días, se obtienen colonias levaduriformes, limitadas, húmedas, de color blanco o blanco sucio. Al examen directo o tinción, se observan abundantes células levaduriformes ovales de 1 a 4 micrómetros de tamaño y con gemas de la mitad.

Al igual que en la Coccidioidomicosis, existen pruebas de laboratorio auxiliares para el diagnóstico como inoculación de animales, reacción de fijación de complemento y precipitación, que tienen valor pronóstico.

La intradermoreacción con histoplasmina es útil en estudios epidemiológicos en adultos, ya que sólo indican si un individuo ha estado en contacto con el hongo y en niños puede ser utilizada como prueba diagnóstica.

#### OBJETIVO.

Mediante la observación del dimorfismo; fase filamentosa (infectante) y fase levaduriforme (parasitaria), se identificará al agente etiológico de la histoplasmosis cuyo interés clínico es importante principalmente para los grupos de alto riesgo (míneros, espeleólogo, etc.) .

#### MATERIAL.

Preparaciones de biopsias o muestras parasitadas con Histoplasma capsulatum.  
Microscopio.

#### TECNICA.

- 1.\_ Describir las características macroscópicas de Histoplasma capsulatum .
- 2.\_ Buscar la forma parasitaria (levaduras intracelulares) y la forma infectante (macroconidias) de H. capsulatum; en las preparaciones proporcionadas por el profesor.

**RESULTADOS.**

**A) MACROMORFOLOGIA.**

NOTA: La cepa proporcionada, debe estar sellada e inactivada).

**A.1) Histoplasma capsulatum.**

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO. Tamafo \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

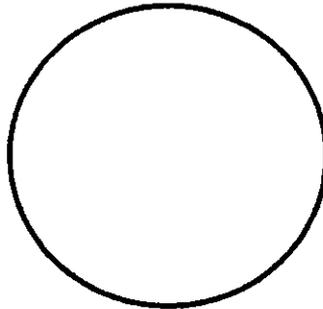
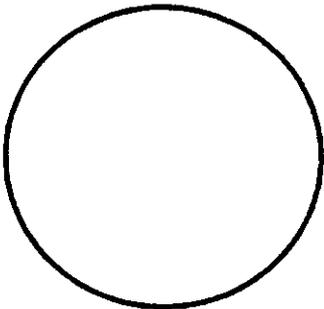
\_\_\_\_\_

**B) MICROMORFOLOGIA.**

B.1) Fase filamentosa (infectante) B.2) Fase levaduriforme (parasitaria)

Medio Sabouraud a 28°C.

Medio Gelosa sangre a 37°C



## CONCLUSIONES.

### PREGUNTAS.

- 1.\_ ¿ Qué se observa en la muestra teñida de un paciente con histoplasmosis pulmonar?
- 2.\_ ¿Cómo se debe manejar un cultivo de H. capsulatum?
- 3.\_ ¿Cómo comprueba el dimorfismo de H. capsulatum?
- 4.\_ Mencione las dos pruebas inmunológicas para el diagnóstico de histoplasmosis.
- 5.\_ ¿Cuáles son los vectores indirectos del H. capsulatum?

### BIBLIOGRAFIA.

Ajello,L. (1971): *Coccidioidomycosis and histoplasmosis. A review of their epidemiology and geographic distribution.* Mycopathología, 45:221-230.

González-Ochoa,A. (1979): *Peculiaridades de la histoplasmosis en México.* En: *Desarrollo y estado actual de la micología en México.* Simposio Syntex, México, D. F., pp: 139-149.

Negróni,R. (1987): *Histoplasmosis.* En: *Micosis que afectan piel y mucosas .* Edit. Doyma. Barcelona, pp:106-114

## PARACOCCIDIOIDOMICOSIS

### INTRODUCCION.

La paracoccidioidomycosis es producida por el hongo dimórfico Paracoccidioides brasiliensis, cuyo hábitat natural es el suelo y vegetales. Es una enfermedad crónica granulomatosa que se caracteriza por producir una infección pulmonar primaria frecuentemente inaparente y que puede diseminarse a mucosa bucal, nasal y gastrointestinal en forma ulcerativa granulomatosa.

Esta micosis es endémica en el Sur de Latinoamérica y la mayor incidencia se presenta en Brasil, Colombia y Venezuela, disminuyendo en los países Centroamericanos y México.

P. brasiliensis en su fase parasitaria se presenta como células levaduriformes de 12 a 14 micrómetros de diámetro, rodeadas de pequeñas gemas comunicadas a la célula madre por cuellos estrechos dando la apariencia de "timón de barco" .

La observación de células sin gemación o con gemación única, pueden crear confusión con las fases parasitarias de otros hongos, por lo tanto es necesario observar las formas de gemación múltiple para la identificación correcta; en su fase vegetativa produce clamidosporas y conidias piriformes sésiles, que fácilmente se puede confundir con otros hongos; por lo tanto, la presencia de las levaduras multigemantes en la muestra clínica y la obtención de las colonias características en agar Sabouraud y Micosel, así como su conversión a fase levaduriformes en BHI a 37° C son necesarias para el diagnóstico de la enfermedad e identificación del hongo. Las pruebas inmunológicas tales como fijación de complemento y precipitación no son de mucha utilidad en estas micosis.

## OBJETIVO.

El alumno identificará mediante el dimorfismo al agente etiológico de la paracoccidioidomicosis, ya que es una micosis sistémica de curso agudo, subagudo ó crónico, que se caracteriza por presentar lesiones pulmonares primarias casi siempre asintomáticas.

## MATERIAL.

Preparaciones de biopsias o muestras con P. brasiliensis.  
Microscopio.

## TECNICA.

- 1.\_ Describir las características macroscópicas de P. brasiliensis.
- 2.\_ Identificar la forma parasitaria (levaduras multigemantes) y la forma infectante; en las preparaciones proporcionadas por el profesor.

**RESULTADOS.**

**A) MACROMORFOLOGIA.**

**NOTA:** La cepa proporcionada, debe estar sellada e inactivada.

**A.1) P. brasiliensis.**

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

**ANVERSO.** Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

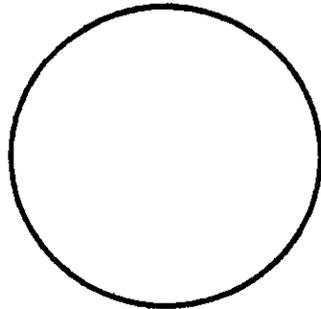
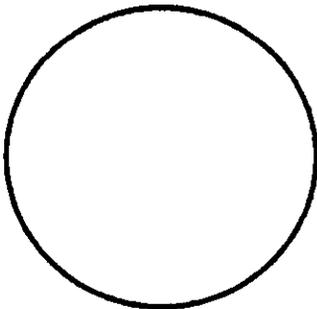
**REVERSO.** \_\_\_\_\_

**B) MICROMORFOLOGIA.**

**B.1) Fase filamentosa (infectante). B.2) Fase levaduriforme**

**Medio Sabouraud a 28°C**

**(parasitaria). Medio BHI a 37°C**



## CONCLUSIONES.

### PREGUNTAS.

1. ¿Cuáles son los estados de la república donde se presenta la paracoccidioidomicosis?
2. ¿Con qué enfermedad se confunde la paracoccidioidomicosis?
3. Mencione la diferencia entre las fases parasitarias de H. capsulatum y P. brasiliensis.

### BIBLIOGRAFIA.

Albornoz, M. B. et al. (1986): *Relación clínica y diagnóstico inmunológico en histoplasmosis, paracoccidioidomicosis y coccidioidomicosis. Las micosis en Venezuela.* Bol. Inform. 6:23-24.

Negróni, R. (1987): *Paracoccidioidomicosis.* En: *Micosis que afectan la piel y mucosas.* Edit Doyma, Barcelona, pp:99-106.

Restropo, M.A., Greer, D. et al. (1973): *Paracoccidioidomycosis: a review.* Sabouraudia, 8:97-123.

# CANDIDOSIS

## INTRODUCCION.

Es una enfermedad causada por hongos levaduriformes del género Candida, caracterizadas por presentar forma redonda u oval con medidas aproximadas de 4 a 6 por 6 a 10 micrómetros y por producir pseudomicelio.

Candida albicans es el agente etiológico que se presenta con mayor frecuencia en casos de candidosis, pero existen otras especies capaces de producir enfermedad en el hombre como: C. krusei, C. parapsilopsis, C. tropicalis, etc.

El hecho de aislar estas levaduras de piel y mucosas (bucal, faríngea, tracto digestivo, vagina y uretral) de personas normales, sugiere que la candidosis tiene origen endógeno y se manifiesta cuando existen cambios o desviaciones del estado normal del organismo, causando lesiones en boca, piel, vagina, uñas, bronquios, pulmones y ocasionalmente cuadros de endocarditis, glomerulonefritis, meningitis y septicemia. Para realizar un diagnóstico de candidosis, la toma de muestra es variable, ya que puede presentarse en todas partes del cuerpo; así que los productos que se recolectan pueden ser: exudados, escamas, sangre, esputo, orina, LCR, etc. Con el material obtenido y un aclarante KOH al 10%, se pueden realizar exámenes directos o tinciones como Gram, Wright, Giemsa, PAS e inclusive Papanicolaou. La observación al microscopio con los exámenes directos o tinciones presentan grandes acúmulos de blastoconidias (blastosporas) de aproximadamente 2 a 4 micrómetros de diámetro y pseudomicelio corto o largo, éste determina el estado patógeno y virulento de la levadura y nos afirman el diagnóstico. La intradermorreacción a la candidina, puede ser monovalente o polivalente, ambas nos indican únicamente primocontacto y por lo regular es positivo en todo tipo de personas disminuyendo la ayuda diagnóstica, por lo tanto sólo mide inmunidad celular.

Para la candidosis los antígenos principales son las mananas, enolasas (antígenos citoplásmicos) y glicoproteínas, liberados por la mayoría de las especies Candida.

Las mananas pueden ser detectadas en muestras de orina, suero y LCR, en pacientes con candidosis ocultas o candidemia por medio de partículas de látex cubiertas con anticuerpos IgG monoclonales (anti-mananas). Las muestras deben ser tratadas con pronasa para inactivar el FR ; niveles altos de creatinina suelen dar falsos positivos.

Al igual que el GXM, esta prueba es de utilidad para monitorear la respuesta a la terapia antifúngica (pronóstico). Aglutinación positiva > 1 : 8, indica pronóstico pobre.

La especificidad es de 98.6% y la sensibilidad del 52.6% en candidosis invasivas.

Limitaciones :

- Presencia de anticuerpos IgG formadores de complejos inmunes con mananas circulantes.

#### OBJETIVO.

Que el alumno llegue a la indentificación plena de Candida albicans, así como de otras especies por medio de las diferentes pruebas de laboratorio,

#### MATERIAL.

Cepas del género Candida.

Cajas con Gelosa sangre.

Cajas con agar Sabouraud dextrosa.

Cajas con medio Biggy (Nickerson) y Micosel.

Cajas con agar TTC (Pagano-Levine)

Cajas con harina-maíz + Tween 80 al 1% (Corn-meal)

Tubos con suero humano.

Tubos con tapón de rosca con medio para asimilación de carbohidratos.

Serie de carbohidratos API- Yeast 20

Bisturí, pinzas y tijeras.

Portaobjetos y cubreobjetos.

Bulbos de goma.

Gradilla  
Mechero  
Microscópio

**TECNICA.**

Realizar el siguiente esquema para la tipificación del género Candida.

- 1.\_ Examen directo con KOH al 20%      ] Observación de acúmulos de  
2.\_ Tinción de Gram      ] levaduras y/o pseudohifas

3.\_ Cultivos de primoaislamiento

Selectivos: Biggy-Nickerson (orientadora del género Candida sp.) y Micosel.

No Selectivos: Gelosa sangre y Sabouraud.

Tomar muestra

- 4.\_ Prueba de TTC (Reducción de sales de tetrazolio)  
para diferenciar C. albicans de C. tropicalis.
- 5.\_ Tubos germinativos en suero humano a 37° C. durante 3 horas.  
(prueba orientadora de C. albicans)
- 6.\_ Formación de pseudomicelio y clamidoconidias (clamidosporas)  
en Corn. meal + tween 80 al 1% (prueba confirmatoria de C. albicans)
- 7.\_ Zimograma y Auxonograma  
(Pruebas confirmatorias para todas las especies de Candida)

RESULTADOS.

A) MACROMORFOLOGIA

A.1) C. albicans

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial. \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

A.2) C. tropicalis.

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial. \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

A.3) C. krusei.

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial. \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

A.4) C. parapsilopsis.

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

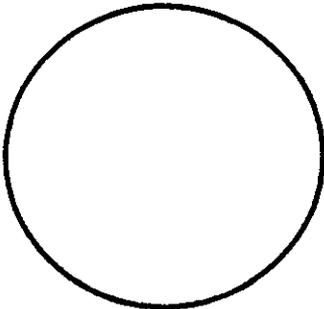
Caract. especial. \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

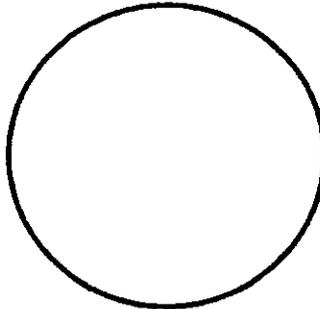
## B) MICROMORFOLOGIA

Observación de resultados de examen directo.

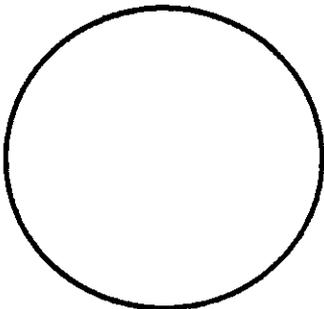
A.1) C. albicans.



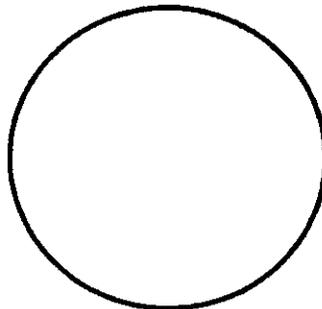
A.2) C. tropicalis.



A.3) C. krusei.



A.4) C. parapsilopsis



Reporte de Gram.

A.1) C. albicans.

A.2) C. tropicalis.

A.3) C. krusei.

A.4) C. parapsilopsis.

Descripción morfológica de las colonias en medios:

HONGOS	Biggy-Nickerson	Micosei
<u>C.albicans</u>		
<u>C. tropicalis</u>		
<u>C.parapsilopsis</u>		
<u>C. krusei</u>		
	Gelosa sangre	Sabouraud
<u>C. albicans</u>		
<u>C. tropicalis</u>		
<u>C. parapsilopsis</u>		
<u>C. krusei</u>		

TTC

<u>C.albicans</u>	
<u>C.tropicalis</u>	
<u>C.parapsilopsis</u>	
<u>C. krusei</u>	

Especies	Producción de pseudomicelio	Filamentación en suero. (37°C 3 h)
<u>C. albicans</u>		
<u>C. tropicalis</u>		
<u>C. krusei</u>		
<u>C. parapsilopsis</u>		

### ZIMOGRAMA Y AUXONOGRAMA DEL GENERO CANDIDA

Especies	Glucosa	Galactosa	Manosa	Sacarosa	Lactosa	Rafinosa
<u>C. albicans</u>						
<u>C. tropicalis</u>						
<u>C. krusei</u>						
<u>C. parapsilopsis</u>						

Especies	Glucosa	Galactosa	Manosa	Sacarosa	Lactosa	Rafinosa
<u>C. albicans</u>						
<u>C. tropicalis</u>						
<u>C. krusei</u>						
<u>C. parapsilopsis</u>						

## CONCLUSIONES.

### PREGUNTAS.

- 1.\_Mencione tres factores predisponentes para la candidosis oral.
- 2.\_En exámenes directos de candidosis ungueal y vaginal ¿qué se observa?
- 3.\_¿Cuál es la prueba biológica confirmatoria de C. albicans?
- 4.\_¿Qué utilidad tiene el medio Biggy-Nickerson?
- 5.\_Mencione dos enfermedades con que confunda la candidosis vaginal.

### BIBLIOGRAFIA.

Feo,M. (1978): *Candida albicans: studies on the production of Chlamydozoospores*. Proc. IV Int. Conf. on Mycoses, PAHO, 356:235-236.

Mc.Ginnis, M.R. y Ajello, L. et.al. (1984): *Taxonomic and nomenclatural evaluation of the genera Candida and Torulopsis*. J. Clin. Microbiol.,20:813-814.

Torres-Rodríguez, J.M. et.al. (1987): *Candidosis cutaneomucosas*. En: Micosis que afectan piel y mucosas. Edit. Doyma. Barcelona,pp: 56-73.

Burghes,G., Holley H.P., Virella, G. (1983) : *Circulating immune complexes en patients with Candida albicans infections* Clin. Exp. Immunil 53 :165-174.

Bailey, I. W., Soda, E., Bross, C., Bennet, J. E. (1985) :  
*Diagnosis of systemic candidosis by latex agglutination for serum antigen. J. Clin. Microb. 21 :749-752.*

Gentry, L. O., Wilkinson, I. D., Lea, A. S., Price, M. F.  
(1983) : *Latex agglutination test for detection of Candida antigen in patients with disseminated disease. Eur. J. Clin. Microb. Infect. Dis. 2 :122-128.*

# CRIPTOCOCOSIS.

## INTRODUCCION.

Es una micosis de curso subagudo o crónico de distribución mundial que afecta tanto al hombre como a los animales.

Puede diseminarse en diversos órganos como pulmón, piel y otras partes del cuerpo, pero con predilección manifiesta por cerebro y meninges. Producida por Cryptococcus neoformans, que es una levadura capsulada monomórfica, esférica que mide de 3.5 a 7 micrómetros por 3.7 a 8 micrómetros y cuyo hábitat principal es el excremento de palomas y otras aves. Generalmente la puerta de entrada de esta levadura al organismo humano es la respiratoria, presentándose la infección primaria.

Durante mucho tiempo, se consideró un padecimiento raro, sin embargo en la actualidad su frecuencia es mayor ya que se presentan casos de cryptococosis asociados con enfermedades debilitantes como leucemias, diabetes mellitus, linfomas, síndrome de inmunodeficiencia adquirida y en pacientes tratados con esteroides.

El diagnóstico de esta micosis se establece por la observación en las muestras clínicas de las levaduras capsuladas y/o el aislamiento en cultivo de éstas a partir de la muestra. En caso de ser negativas se recurre a la inoculación en ratones jóvenes por vía intracerebral. Existen pruebas de laboratorio para diferenciar el género Cryptococcus de otras levaduras patógenas como son: presencia de cápsula, forma de la célula, aspecto de la colonia y producción de ureasa. Por otro lado las pruebas para identificar las especies del género Cryptococcus son: crecimiento a 37° C, asimilación de nitratos, asimilación de carbohidratos y patogenicidad para el ratón debido a que C. neoformans es la especie más oportunista del género, y en raras ocasiones han sido reportadas otras. La prueba inmunológica más eficiente para el diagnóstico y pronóstico es la aglutinación directa con partículas de látex, para detectar antígeno circulante.

## INMUNOMICOLOGIA

Detección y cuantificación de antígenos fúngicos circulantes.

El Glucoronoxilomanana (GXN), principal componente de la cápsula de Cryptococcus, el cual puede detectarse en muestras de suero, LCR, orina y lavado broncoalveolar de pacientes con cryptocosis meníngea o

diseminada. La prueba principal es la aglutinación con partículas de látex cubiertas con anticuerpos IgG monoclonales (anti-GXM de conejo).

Las muestras deben ser tratadas previamente con pronasa para inactivar el factor reumatoide. Esta prueba valora el curso de la enfermedad (pronóstico), cuantificando el GXM por diluciones.

Aglutinación positiva a diluciones bajas (1 : 1000 - 1 : 1000,000) durante el tratamiento, indicando el pronóstico. La prueba tiene una especificidad del 95% debido a reacciones cruzadas con antígenos de Trichosporum beigeli y algunas bacterias.

Limitaciones :

- Infecciones por Cryptococcus de poca cápsula.
- Diseminación limitada.
- Infección por Cryptococcus neoformans serotipo C.
- Infección por Cryptococcus laurentii

## OBJETIVO.

El alumno conocerá e identificará Cryptococcus neoformans por ser una infección subaguda o crónica de distribución mundial y que tiene como predilección afectar cerebro y meninges.

## MATERIAL.

Cepa: Cryptococcus neoformans.

Portaobjetos y cubreobjetos.

Tinta China o nigrosina.

Cajas con agar Sabouraud dextrosa.

Medio de cultivo agar alpiste negro (Guizotia abyssinica).

Cajas para microcultivo.

Matraz con glicerol al 10% (estéril)

Reactivos para tinción de Gram.

Pinzas, tijeras y bisturí

Asa micológica.

Microscopio.

**TECNICA.**

- 1.\_ Describir las características macroscópicas de Cryptococcus neoformans.
- 2.\_ Buscar levaduras capsuladas de L.C.R. en los frotis realizados con tinta China.
- 3.\_ Realizar cultivos en medio Sabouraud y agar alpiste negro, observación de éstos y tinciones de Gram y tinta China.

**RESULTADOS.**

**A) MACROMORFOLOGIA.**

**A.1) C. neoformans.**

Medio de cultivo agar sabouraud.

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_  
Color \_\_\_\_\_  
Forma \_\_\_\_\_  
Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

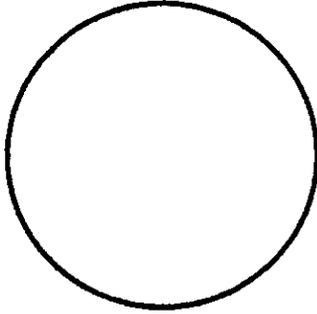
Medio de cultivo agar alpiste negro.

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_  
Color \_\_\_\_\_  
Forma \_\_\_\_\_  
Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

## B) MICROMORFOLOGIA.

B.1) Observación de la cápsula en frotis con tinta China.



## CONCLUSIONES.

## PREGUNTAS.

1. ¿Cuál es la variedad clínica más frecuente de criptococosis?
2. ¿A qué tipo de paciente ataca C. neoformans?
3. ¿A qué se debe el neurotropismo de C. neoformans?
4. ¿Cuál es la técnica inmunológica para el diagnóstico de criptococosis?
5. ¿Cuál es el medio de cultivo diferencial y selectivo para C. neoformans ¿y porque?
6. ¿A qué tipo de paciente ataca C. neoformans?

## BIBLIOGRAFIA.

Loaiza-Loeza, M. S. ( 1988 ) : *Criptococosis*.  
Infectología, 8: 387-395.

Salkin, I. F. ( 1979 ) : *Futher simplification of the Guiziotia abyssinica seed medium for identification of C. neoformans and C. bacillisporus*. Can. J. Microbiol., 25: 1116-1118.

Bonifaz, A., Flores Romero, M.P. y Araiza, J. (1996):  
*Criptococosis y su diagnóstico de laboratorio*. Lab. Acta, 8: 37-43.

Cherniok, R. (1988) : *Saluble polysocchorides of Cryptococcus neoformans*. In : *Current topics in medical Mgcolog*. Vol. 2. M. Mc Ginnis, De. Springler- Verloz. New York pp. 40-54.

Bennet, JE. Hasenclever, HF. (1965) : *Cryptococcus neoformans polysocchiride : studies of serological properties and role in infection*. J. Immunol. 94 (6) : 916-920.

Temsted, A. Roux. P. et al (1992) : *Evolution of monoclonal antibody - based latex agglutination test for diagnosis of cryptococosis : comparation with two test using policlonal anti bodies*. J. Clin. Microbial. 30 (10) :2544-2550.

Kaufman, L. (1992) : *Laboratory methods for the diagnosis and confirmation of systemic mycosis*. Clin. Infect. Dis. 14 (suppl. I) : 523-29.

Boom WH, Piper DJ., Ruoff KL ., Ferraro MJ (1985)  
*New Cause for false - positive results with the cryptococcol antigen test by latex agglutination*, J. Clin , Microb. 22(5) : 856-857

Ikeda, R., Shinoda,T., Fukosawa, Y. , Kaufman L. (1982) : *Antigenic characterization of Cryptococcus neoformans serotypes and its applications to serotyping of clinical isolates*. J. Clin. Microb. 16 :22-29.

## ASPERGILOSIS.

### INTRODUCCION.

La aspergilosis se define como daño a los tejidos provocado por hongos filamentosos del género Aspergillus por varios mecanismos: alérgicos, colonización de cavidades e invasión de tejidos.

Las especies A. fumigatus y A. niger son las que se aíslan en la mayoría de las infecciones, pero otras especies también han sido reportadas tales como: A. flavus, A. clavatus, A. nidulans, A. niger, A. terreus, A. glaucus los cuales son habitantes comunes tanto del suelo como de una gran variedad de materia orgánica en descomposición. La inhalación de esporas presentes en el medio ambiente es la forma de infección más frecuente en el hombre, por lo tanto los pulmones son los órganos más comúnmente dañados. Esto puede originar diversos tipos de aspergilosis en el huésped comprometido y los factores predisponentes van a determinar la severidad de la enfermedad. Las formas clínicas de aspergilosis pulmonar más comunes son las alérgicas conocidas como asma, alveolitis extrínseca y la broncopulmonar, siguiéndole en importancia el aspergiloma o colonización de una cavidad pulmonar preexistente y la aspergilosis invasiva que involucra todo el tejido pulmonar.

Otras formas de aspergilosis son: diseminada, del sistema nervioso central, cutánea, iatrogénica y de fosas nasales.

Entre las pruebas de laboratorio que se utilizan para el diagnóstico de esta micosis, se encuentran: la observación directa de la muestra clínica (expectoración, biopsia, etc.) , el cultivo y las pruebas serológicas dentro de las cuales se utilizan principalmente la inmunodifusión y entre las más sensibles radioinmunoensayo, contrainmunolectroforesis y ELISA. La selección de la prueba de laboratorio se realiza tomando en cuenta el tipo clínico de aspergilosis que el paciente presente.

Los resultados de las pruebas de laboratorio para el diagnóstico de aspergilosis son de difícil interpretación debido a que los agentes causales pueden aislarse como contaminantes comunes, tanto de personas enfermas como sanas.

## OBJETIVO.

Existe un grupo de hongos considerados saprófitos que bajo ciertas condiciones predisponentes del individuo pueden producir enfermedad; por lo que es indispensable que el alumno conozca e identifique agentes productores de micosis oportunistas.

## MATERIAL.

Cepas de:

Aspergillus fumigatus

clavatus

terreus

flavus

niger

Cajas para microcultivo.

Matraz con glicerol al 10% (estéril).

Cajas con agar Sabouraud dextrosa.

Preparaciones de biopsias o muestras parasitadas.

Asa micológica.

Bisturí, tijeras y pinzas.

Mechero.

Microscopio.

## TECNICA.

- 1.\_ Observar las muestras parasitadas proporcionadas por el profesor.
- 2.\_ Realizar cultivo, observación de éste y microcultivo.

RESULTADOS.

A) MACROMORFOLOGIA.

A.1) A. fumigatus.

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

A.2) A. clavatus.

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

A.3) A. terreus.

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

A.4) A. flavus.

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

A.5) A. niger.

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

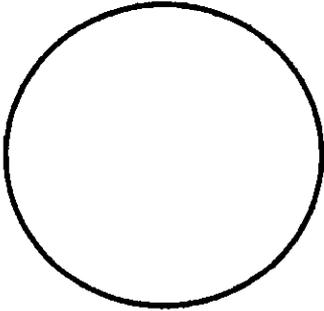
Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

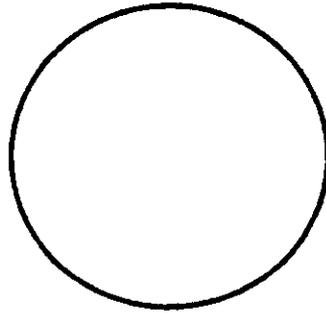
\_\_\_\_\_

B) MICROMORFOLOGIA.

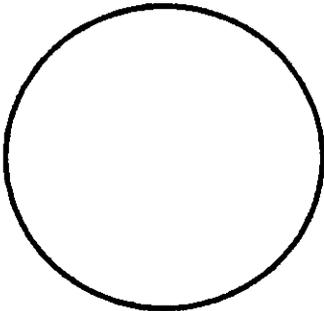
B.1) A. fumigatus



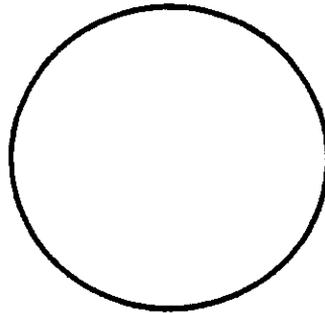
B.2) A. clavatus



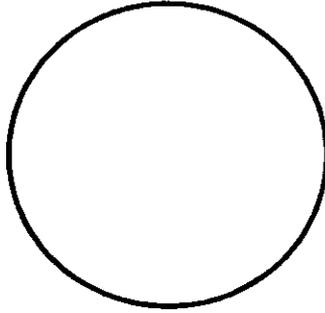
B.3) A. terreus



B.4) A. flavus



B.5) A niger



CONCLUSIONES.

PREGUNTAS.

1. ¿Cómo explica la variedad alérgica de aspergilosis?
2. ¿Cómo diferencia A. fumigatus de A. niger y A. clavatus?
3. ¿Qué criterio tiene un cultivo de expectoración?
4. ¿Mencione 2 pruebas inmunológicas para la aspergilosis.

**BIBLIOGRAFIA.**

Goldstein, M. F. et al. (1985): *Allergic Aspergillus sinusitis*. J.Allergy Clin. Immunol. 76:515-524.

Rippon, J. W. (1988): *Aspergilosis*. In: *Medical Mycology*. 3a. ed. W. B. Saunders Co. Philadelphia, pp. 618-651.

Walker, J. E. y Jones, R. (1968): *Serologic test in diagnosis of Aspergillosis*. Dis. Chest., 53:729-735.

## MUCORMICOSIS

### INTRODUCCION.

La mucormicosis es una infección aguda, progresiva, rara vez crónica que se presenta en pacientes inmunocomprometidos; es causada por varios géneros y especies de hongos filamentosos de la familia Mucoraceae, orden Mucoral, los cuales se encuentran distribuidos en la naturaleza principalmente en suelo, aire y materia orgánica en descomposición. Entre los agentes etiológicos involucrados en esta micosis, se encuentran los géneros:

Rhizopus, Mucor, Absidia, Rhizomucor, etc.

Al igual que en aspergilosis, se presentan varios cuadros clínicos los cuales dependen de los factores predisponentes del huésped.

Las principales formas clínicas de la mucormicosis en orden de importancia son: rinocerebral, torácica, abdominal-pélvica, gástrica y la forma cutánea.

Todas las manifestaciones clínicas de la mucormicosis son de evolución rápida y fatal, usualmente de 10 a 70 días.

Los agentes etiológicos tienen predilección por pacientes diabéticos descompensados y secundariamente en leucémicos, linfomatosos, etc; en estos pacientes los mucorales invaden vasos, principalmente arterias, provocando embolias y necrosis del tejido circundante.

El diagnóstico de la mucormicosis, al igual que en otras micosis oportunistas, resulta difícil por la interpretación de los resultados, ya que los agentes etiológicos son de hongos que fácilmente se aíslan del medio ambiente; por lo tanto, es indispensable tener en cuenta características inherentes a la enfermedad y al paciente. En la mayoría de los casos de mucormicosis, no es posible demostrar al hongo directamente en la muestra clínica, ni aislarlo en medios de cultivo, por lo tanto se recomienda el estudio histopatológico utilizando la técnica de Gomori-Grocott.

En la observación microscópica de las muestras clínicas, se deben buscar hifas cenocíticas poco ramificadas y muy anchas.

Aún no hay procedimientos serológicos de importancia diagnóstica para la mucormicosis, por los diversos cruces inmunológicos.

## OBJETIVO.

Por medio de las diferentes preparaciones proporcionadas por el profesor de muestras parasitadas, el alumno identificara las hifas cenocíticas características de los agentes etiológicos de mucormicosis.

## MATERIAL.

Cepas de: Mucor sp.  
Rhizopus sp.  
Absidia sp.  
Syncephalastrum sp.  
Cunninghamella sp.

Cajas para microcultivo.  
Matraz con glicerol al 10% (estéril).  
Cajas con agar Sabouraud dextrosa.  
Preparaciones de biopsias o muestras parasitadas.  
Bisturí, tijeras y pinzas.  
Mechero  
Microscopio.

## TECNICA.

- 1.\_ Observar las muestras parasitadas proporcionadas por el profesor.
- 2.\_ Realizar cultivo, observación de éste y microcultivo.

## RESULTADOS.

### A) MACROMORFOLOGIA.

#### A.1) Mucor sp.

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

A.2) Rhizopus sp.

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

A.3) Absidia sp.

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

A.4) Syncephalastrum sp.

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

REVERSO. \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

A.5) Cunninghamella sp.

Medio de cultivo \_\_\_\_\_

ANVERSO. Tamaño \_\_\_\_\_

Color \_\_\_\_\_

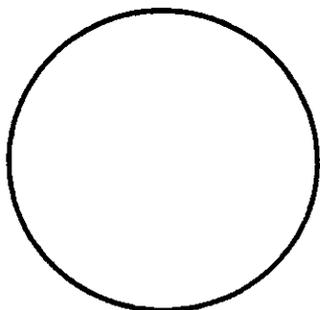
Forma \_\_\_\_\_

Caract. especial \_\_\_\_\_

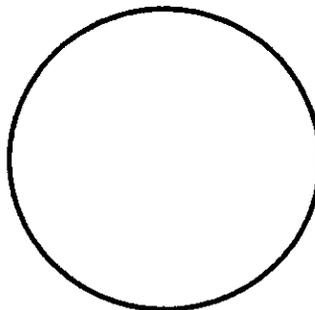
REVERSO. \_\_\_\_\_

B) MICROMORFOLOGIA.

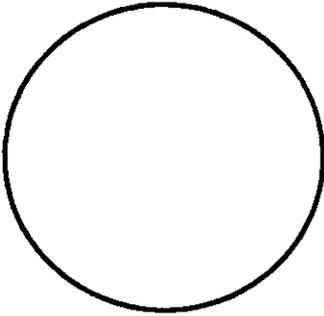
B.1) Mucor sp.



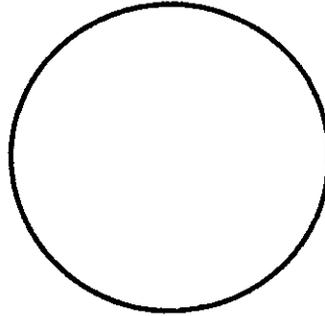
B.2) Rhizopus sp.



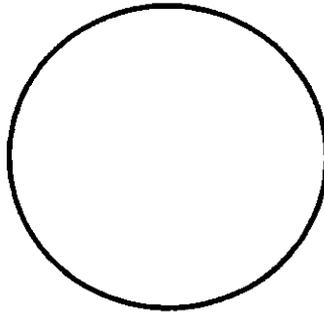
B.3) Absidia sp.



B.4) Syncephalastrum sp.



B.5) Cunninghamella sp.



CONCLUSIONES.

## PREGUNTAS.

1. ¿Cuál es la variedad clínica más frecuente de la mucormicosis?
2. Explique porque los mucorales prefieren a los pacientes diabéticos descompensados.
3. ¿Qué criterio tiene obtener un cultivo positivo de un mucoral?
4. ¿Cómo diferencia Rhizopus sp de Mucor sp?
5. ¿Cuáles son las pruebas confirmatorias de una mucormicosis?

## BIBLIOGRAFIA.

- Bhaduri, S. y Durle, E. (1983): *Mucormycosis in the immunocompromised host*. Infection, 11:170-172.
- Bonifaz, A. y Gómez-Herrera, M. (1988): *Mucormicosis*. Bioquímica, 13:12-18.
- Del Real-Mora, O. et al. (1983): *Mucormicosis*: Informe de 14 casos. Rev. Invest. Clín. (Méx.) , 35:237-240.
- Lehrer, R. I. et al. (1980): *Mucormycosis*. Ann. Int. Med., 93:93-108.

## REACTIVOS Y COLORANTES

- **Reactivos.**

1.\_ **Hidróxido de potasio al 10%:** Hidróxido de potasio (KOH)  
10 g. Agua destilada 90 ml.

2.\_ **Hidróxido de potasio-azul Parker:** Hidróxido de potasio al 10% 90 ml.  
Tinta azul de Parker 10 ml.

3.\_ **Lugol:** Yoduro de potasio (KI) 1g. Cristales de yodo (I<sup>0</sup>) 1.5g. Agua destilada 100 ml.

- **Colorantes.**

1.\_ **Azul algodón acético:** Azul de algodón 0.5g. Acido acético  
3 ml. Agua destilada 97 ml.

2.\_ **Azul de lacto-fenol:** Azul de algodón (de anilina) 0.05g. Glicerol 40 ml.  
Fenol (cristales) 20g. Acido láctico 20 ml. Agua destilada 20 ml.

Preparación: disolver el fenol en ácido láctico, posteriormente se agrega agua y glicerol, calentando ligeramente; por último se adiciona el azul de algodón.

3.\_ **Alcohol ácido (modificado de Ziehl-Neelsen):** Acido sulfúrico 0.5 ml.  
Agua destilada 99.5 ml.

4.\_ **Solución de cristal violeta:** **Solución A:** Cristal violeta 2g. Alcohol etílico (95%) 20 ml. **Solución B:** Oxalato de amonio 0.9g. Agua destilada 80 ml.

Preparación: mezclar la solución A y B y dejar reposar por 24 h; filtrar.

5.\_ **Eritrocina:** Eritrocina 1g. Alcohol etílico 1 ml. Agua destilada 98 ml.  
Preparación: disolver el colorante en el alcohol etílico, posteriormente agregar el agua destilada.

6.\_ **Fucsina básica o carbón fucsina:** **Solución A:** Fucsina básica 4g. Alcohol etílico 20 ml. **Solución B:** Fenol (cristales) 8 ml. Agua destilada 100 ml.

Preparación: obtenga la solución A, deje reposar 24h, posteriormente agregue la solución B y filtre en papel.

7.\_ **Solución de Giemsa:** Giemsa 1g. Glicerol 66 ml. Alcohol metílico absoluto 66 ml.

Preparación: disolver el colorante en glicerol, calentar durante 1h a 60°C, posteriormente agregar el metanol y filtrar.

8.\_ **Colorante de Wright:** Colorante de Wright 0.30g. Glicerol 3 ml. Alcohol metílico absoluto 97 ml.

Preparación: mezclar el colorante en glicerol y posteriormente agregar el alcohol metílico.

## TINCIONES

### 1.\_ **Tinción de microcultivos con azul de algodón ácido.**

- Retirar el exceso de agar con la ayuda de un bisturí.
- Fijar la preparación con metanol hasta evaporación.
- Teñir con azul de algodón ácido por 15 minutos.
- Lavar ligeramente con agua destilada.
- Lavado con alcohol del 96%.
- Lavado con alcohol absoluto.
- Baño en xilol durante 5 minutos.
- Montar la laminilla con bálsamo de Canadá.

## MEDIOS DE CULTIVO

1.\_ **Medio de alpiste negro agar:** Alpiste negro o niger (pulverizado) 70g. Cloramfenicol 50 mg. Agar bacteriológico 20g. Agua destilada 1000 ml.

Preparación. remojar el alpiste negro en 1L de agua, hervir durante 30 minutos; posteriormente filtrar en gasa y papel filtro. Aforar a 1L de agua. Esterilizar en autoclave a 110°C por 15 minutos.

2.\_ **Arroz agar:** Arroz blanco molido 8g. Agua destilada 25 ml.

Preparación: Poner los ingredientes en matraz Erlenmeyer y esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

3.\_ **Agar para producción de ascosporas:** Acetato de potasio 10g. Extracto de levadura 2.5g. Dextrosa 1g. Agar 20g. Agua destilada 1000 ml.

Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

4.\_ **Biggy agar:** Citrato de bismuto amónico 5g. Sulfito de sodio 3g. Dextrosa 10g. Extracto de levadura 1g. Glicina 10g. Cloramfenicol 0.5g. Agar 20g. Agua destilada 1000 ml.

Preparación: hervir el medio por 5 minutos y repartir en cajas de Petri o tubos. No se debe esterilizar en autoclave.

5.\_ **Medio Borelli (Lactrimel):** Harina de trigo 14g. Leche en polvo 14g. Miel 7g. Agar 20g. Agua destilada 1000 ml.

Esterilizar en autoclave a 110°C durante 10 minutos.

6.\_ **Medio de caseína: Solución A:** Dextrosa 1g. Agar bacteriológico 2g. Agua destilada 50ml. **Solución B:** Leche descremada (skin milk) 1.5g. Agua destilada 50 ml.

Preparación: esterilizar en autoclave por separado a 110°C ó 10 libras de presión durante 10 minutos. Una vez estéril se deben mezclar a una temperatura aproximada 45°C, repartido en cajas de Petri.

7.\_ **Medio para investigación de carbohidratos (zimogramas):** Peptona 10g. NaCl 5g. NaOH (1N) 1 ml. Carbohidrato 20g. Agua destilada 1000 ml. Indicador 1 ó 2 gotas.

**Preparación del indicador:** Rojo de fenol 0.01g. Agua destilada 100 ml. NaOH (1N) 1 ó 2 gotas.

Se esteriliza en autoclave a 10 libras de presión durante 15 minutos.

**8.\_ Infusión de cerebro-corazón agar (BHI):** Infusión de cerebro de ternero 200g. Infusión de corazón de res 250g. Peptona 10g. Dextrosa 2g. Cloruro de sodio 5g. Fosfato disódico 2.5g. Agar bacteriológico 20g. Agua 1000 ml. pH= 7.4.

Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

**9.\_ DTM agar (*Dermatophyte test medium*):** Fitona 10g. Gentamicina 0.1g. Cloramfenicol 0.1g. Rojo de fenol 4 ml. Agar bacteriológico 20g. Agua destilada 980 ml.

Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

**10.\_ Harina de maíz + tween 80 :** Medio de harina de maíz 990 ml. Tween 80, 10 ml.

Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

**11.\_ Micosel o micobiotic agar (*Sabouraud + antibióticos*):** Medio de Sabouraud 1000 ml. Actidione (cicloheximida) 400 mg. Cloramfenicol 500 mg. pH= 6.5.

Preparación: los antibióticos se adicionan de la siguiente manera: el actidione en 1 ml. de acetona y el cloramfenicol en 1 ml. de alcohol etílico; ambos se agregan cuando el medio ha hervido por 1 ó 2 minutos. Se esteriliza en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

**12.\_ Papa zanahoria agar (*P-Z agar*):** Pulpa de zanahoria 20g. Pulpa de papa 20g. Agar bacteriológico 20g. Agua destilada 1000 ml.

Preparación: las pulpas maceradas se hierven a fuego lento por 1h, posteriormente se filtran en gasa y se le adiciona al filtrado la cantidad respectiva de agua para completar a 1L. Se esteriliza en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

**13.\_ PZ + dextrosa al 1%:** PZ 990 ml. Agar bacteriológico 20g. Dextrosa 10g. pH= 5.6.

Se esteriliza en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

14.\_ **Sabouraud dextrosa agar:** Dextrosa 20g. Peptona 10g. Agar bacteriológico 20g. Agua destilada 1000 ml. pH= 6.5.

Se esteriliza en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

15.\_ **Tioglicolato caldo:** Trypticase 20g. Cloruro de sodio 5g. Fosfato monobásico de potasio 2g. Tioglicolato de sodio 1g. Agua destilada 1000 ml.

Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

16.\_ **Medio V8 agar:** Filtrado de jugo V8 500 ml. Extracto de levadura 10g. Agar bacteriológico 20g. Agua destilada 500 ml.

Se esteriliza en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

17.\_ **Medio para investigación de xantina, hipoxantina y tirosina:** Agar nutritivo 23g. Xantina o hipoxantina 4g. Agua destilada 1000 ml.

Se esteriliza en autoclave a 121°C, durante 15 minutos.

## BIBLIOGRAFIA BASICA COMPLEMENTARIA

Alexopoulos, C. J. y Mims, C. W. (1979): *Introductory Mycology*. 3a. ed. Edit. John Wiley and Sons, New York, USA.

Arenas, R. (1993): *Micología Médica Ilustrada*. 1a. ed. Edit. Interamericana Mc Graw-Hill, México, D. F.

Benecke, E. S. y Rogers, A. L. (1980): *Medical Mycology Manual*, 4a. ed. Burgess Publishing Co. Minneapolis, USA.

Emmons, Ch. W., Chapman, B., Utz, J. P. y Kwon-Chung, K. J. (1977): *Medical Mycology*. 3a. ed. Edit. Lea and Febiger, Philadelphia, USA.

Koneman, E. W. y Roberts, G. D. (1987): *Micología práctica de laboratorio*. 3a. ed. Edit. Panamericana, Buenos Aires, Argentina.

Lodder, L. (1970): *The yeasts. A taxonomic study*. Amsterdam, North Holland, Pub.

Rippon, J. (1988): *Medical mycology. The pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes*. 3a. ed. Philadelphia, W. B. Saunders, Co.

Segretain, G., Drouhet, E. y Mariat, E. (1977): *Diagnóstico en el laboratorio de Micología Médica*. Edit. Prensa Médica Mexicana. México D. F.

Torres-Rodríguez, J. M. (1987): *Micosis que afectan piel y mucosas*. 1a. ed. Ediciones Doyma, Barcelona, España.

Zapater, R. (1981): *Micología Médica, Diagnóstico y Tratamiento*. 2a. ed. Edit. El Ateneo, Buenos Aires, Argentina.