

**Antonio Rezusta López**  
**Aurora Sánchez Sousa**  
**Joaquina Gil Tomás**

Para alcanzar el éxito en el diagnóstico micológico es fundamental realizar adecuadamente la recogida de la muestra, su transporte y procesamiento, la siembra de la misma en los medios idóneos y a la temperatura adecuada, así como la identificación e interpretación correcta de los aislamientos.

A la hora de valorar un crecimiento fúngico, hay que tener siempre presente la necesidad de diferenciar un “aislamiento significativo” de otros debidos a hongos contaminantes, ya que no es lo mismo identificar una especie fúngica que diagnosticar una micosis.

En este Capítulo se detallan los fundamentos y recomendaciones básicas del diagnóstico micológico y en los siguientes, las características específicas del procesamiento de cada muestra según el origen anatómico de la misma.

### 3.1. Recogida de muestras

El diagnóstico de las micosis comienza con su sospecha clínica por lo que una adecuada obtención de la muestra, a partir de la lesión, y su correcta manipulación, para mantener la viabilidad del agente etiológico y evitar posibles contaminaciones, son aspectos fundamentales que siempre deben tenerse en cuenta para la obtención de un correcto diagnóstico micológico.

No debe olvidarse la importancia de etiquetar y rellenar adecuadamente el volante de petición, de forma que refleje claramente la sospecha clínica y los factores predisponentes del paciente; destacando, si los hubiera, la existencia de tratamientos que pudieran interferir en el aislamiento del miceto.

#### 3.1.2. Consejos generales para optimizar la recogida de muestras

1. Debe disponerse de un protocolo de recogida de muestras actualizado periódicamente.
2. Es necesario recoger las muestras asépticamente, utilizando contenedores estériles, remitirlas al laboratorio antes de 2 h y sembrarlas lo antes posible.
3. La muestra debe recogerse antes de instaurar el tratamiento y siempre de la parte activa de la lesión (cuando se sospecha una micosis pulmonar es preferible una muestra respiratoria antes que un hemocultivo).
4. Los hisopos deben ser evitados, siempre que el tipo de lesión lo permita. Pero hay muestras (conducto auditivo, faringe, vagina o cérvix) que no pueden ser recogidas de otra manera.
5. En el caso de heridas abiertas, drenajes o lesiones superficiales, debe limpiarse la zona previamente para evitar contaminaciones.
6. Las muestras de lesiones cerradas y abscesos suelen ser de gran rendimiento. Deben ser aspiradas con jeringa y transferidas a un contenedor estéril, prestando atención a la recogida de gránulos, si los hubiese.
7. El raspado de lesiones de piel y faneras puede realizarse con distintos materiales; los más utilizados son bisturí, moqueta o cepillo.
8. En situaciones que requieran un estudio epidemiológico, debe establecerse la necesidad de una recogida de muestras ambientales, familiares o de animales.

### 3.2. Transporte de las muestras

Las muestras deben ser transportadas en un recipiente estéril, humidificado y a prueba de vertidos; sin embargo, las muestras dermatológicas pueden transportarse en un recipiente seco (placa de Petri, papel de fotografía negro, entre dos portas, etc.) o, de forma ideal, sembrada directamente sobre el medio de cultivo.

No deben introducirse en medios de transporte, a no ser que sea fácil retirar la muestra del medio.

Los raspados corneales y hemocultivos deben sembrarse directamente en el medio de cultivo adecuado.

Las muestras, una vez obtenidas, deben sembrarse lo antes posible después de la recogida. Aunque hay pocos estudios sobre el descenso de la

viabilidad de los hongos a temperatura ambiente o por la acción del hielo seco, es conocida la dificultad de recuperar *Rhizopus arrhizus* en muestras demoradas y, también, la pérdida de viabilidad de algunos hongos por la desecación, temperatura elevada (>37 °C) o baja (<10 °C), sobrecrecimiento bacteriano, presencia de leucocitos, etc. [1].

Las muestras cuyo transporte se prolongue más de 2 h deben almacenarse a 4 °C, excepto la sangre y los líquidos estériles (30-37 °C) y las muestras dermatológicas (15-30 °C) [2].

### 3.3. Procesamiento de las muestras

En términos generales, los procedimientos utilizados en el laboratorio de bacteriología son adecuados para el cultivo de hongos, pero hay que tener en cuenta que, habitualmente, la carga microbiana es inferior en el caso de los hongos con respecto a las bacterias. Esto obliga a recoger mayor cantidad de muestra para obtener un rendimiento óptimo.

#### 3.3.1. Consejos generales para optimizar el procesamiento de muestras

1. Comprobar que el etiquetado de la muestra es correcto
2. Registrar toda la información necesaria que pudiera afectar a la calidad de la muestra y que represente interés diagnóstico (aspecto, color, olor, consistencia, presencia de coágulos, etc.), así como todo lo relacionado con su recogida, transporte y conservación.
3. Durante el procesamiento, deben seguirse todas las medidas de seguridad necesarias, tanto para el personal como para la muestra.
4. El procesamiento debe llevarse a cabo tan pronto como sea posible para garantizar la viabilidad del hongo, utilizando el medio de cultivo y la temperatura de incubación más adecuada.
5. La recuperación de los hongos es imprescindible para su identificación y la realización de pruebas de sensibilidad.
6. El tipo de procesamiento y los medios utilizados dependen de las características de cada muestra.

#### 3.3.2. Preparación de la muestra

Para optimizar tanto la observación microscópica como el cultivo, es necesario preparar la muestra, aunque algunas se pueden inocular directamente sin que sea necesaria su manipulación previa:

1. Los tejidos deben ser troceados e inoculados en pequeños trozos en el medio de cultivo con el fin de facilitar el crecimiento o la penetración de algunos colorantes como el blanco de calcoflúor. La utilización de homogenizadores no está completamente aceptada ya que puede destruir a los hongos no septados. Las muestras altamente viscosas, tales como el esputo, deben fluidificarse, sin diluirlas excesivamente. Y, si son muy diluidas, deben concentrarse mediante centrifugación.
2. Los líquidos orgánicos (LCR, pleural, peritoneal, articular, etc.) deben concentrarse por centrifugación (1.500-2.500 g durante 10 min) o filtración (0,2 µm de poro), siempre que haya suficiente cantidad. Estas muestras pueden requerir un procesamiento especial, o ser sembradas directamente en el medio de cultivo.
3. Los fragmentos ungueales se trocean progresivamente con un bisturí y se pulverizan.

#### 3.3.3. Cultivo de la muestra

En la [Tabla 3.1](#) se resumen los medios de cultivo recomendados habitualmente según el tipo de micosis.

#### 3.3.4. Observación de la muestra

El diagnóstico definitivo de la mayoría de las micosis requiere el aislamiento e identificación del hongo a partir del cultivo, lo que supone, con frecuencia, varios días o semanas de dilación.

No obstante, el método más rápido para la detección de estructuras fúngicas en una muestra clínica es el examen microscópico de la misma. Este examen puede aportar, en ocasiones, un diagnóstico definitivo (pitiriasis versicolor) y en otras, un diagnóstico tentativo previo a la confirmación definitiva por cultivo. Por lo tanto, es un procedimiento que debería ser realizado en todos los laboratorios ya que puede hacerse mediante técnicas sencillas, permitiendo dirigir los medios adecuados para el cultivo de la muestra. En el Capítulo 14 de esta Guía se

Tabla 3.1. Medios de cultivo básicos recomendados.

Micosis superficiales	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agar glucosado de Sabouraud (SDA) + cloranfenicol (SDAC)</li> <li>• Agar glucosado de Sabouraud + cloranfenicol + cicloheximida (Mycobiotic®, Mycosel®)</li> <li>• <i>Dermatophyte test medium</i> (DTM), opcional</li> <li>• Ante la sospecha de <i>Malassezia</i> utilizar medio de Leeming (LNA) o de Dixon modificado (mDixon), en el caso de pitiriasis no es necesario el cultivo para el diagnóstico</li> <li>• Para la detección de <i>Candida</i> en las muestras mucocutáneas, la utilización de medios cromogénicos facilita la detección de cultivos mixtos, y la identificación rápida</li> </ul>
Micosis subcutáneas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• SDA, SDAC, Mycobiotic o Mycosel (MYC), Agar infusión cerebro-corazón (BHIA)</li> </ul>
Micosis sistémicas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• SDAC</li> <li>• BHIA (Dimórficos)</li> <li>• Agar de Staib (<i>Cryptococcus</i>)</li> <li>• BHIA con antibacterianos e, incluso, con cicloheximida en muestras muy contaminadas (Dimórficos)</li> <li>• LNA o mDixon (<i>Malassezia</i>)</li> </ul>
Miscelánea (aspergilosis, mucormicosis, otomicosis)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• SDAC</li> </ul>

detallan las características de las técnicas de examen microscópico más utilizadas en Micología.

Las limitaciones y los problemas del examen microscópico también deben ser tenidos en cuenta:

- i) un examen negativo no excluye la infección;
- ii) el examen microscópico puede originar falsos positivos al confundirse ciertas estructuras con elementos fúngicos (linfocitos lisados por *Cryptococcus neoformans* en la tinción con tinta china, fibras de colágeno o del hisojo pueden confundirse con elementos fúngicos, gotas de grasa con levaduras gemantes, etc);
- iii) si la muestra es escasa, el cultivo debe ser prioritario.

El examen microscópico debe realizarse, al menos, en todas las muestras con alta sospecha de micosis; aunque lo ideal sería realizarlo siempre que fuese posible.

Las muestras para estudio micológico deben ser examinadas tanto macroscópica como microscópicamente:

#### Observación macroscópica

Antes de inocular los medios de cultivo y realizar el examen microscópico, la muestra debe ser examinada en busca de gránulos, material caseoso, purulento, hemorrágico o necrótico.

#### Examen microscópico

La observación microscópica se realiza con bajo aumento, seguida de alto aumento en seco y, si es necesario, con objetivo de inmersión. Las dos formas observadas habitualmente son levaduras y/o elementos miceliares.

Es aconsejable utilizar periódicamente controles positivos y negativos y, si una tinción se emplea ocasionalmente, deben emplearse siempre controles que aseguren su correcta utilización.

Aunque es muy difícil identificar una especie fúngica por la morfología observada en el examen microscópico directo de la muestra, algunas estructuras pueden asociarse a ciertos géneros o especies:

#### Levaduras

- a. Células, con o sin gemas, de varios tamaños y formas, posiblemente sean *Candida* spp. u hongos dimórficos.
- b. Células de pared gruesa, generalmente con una gema de base amplia, podrían corresponder a *Blastomyces dermatitidis*.
- c. Células de pared delgada con gemación múltiple rodeando a la célula madre, posiblemente sean *Paracoccidioides brasiliensis*.
- d. Células rodeadas de una cápsula grande, probablemente corresponden a *C. neoformans*.
- e. Células pequeñas, de gemación simple observadas en tinciones especiales, posiblemente son *Histoplasma capsulatum*.

- f. Células con pseudohifas: *Candida* spp., *Geotrichum* spp., o *Trichosporon* spp. Las dos últimas pueden mostrar artrosporas.
- g. Células redondas de pared gruesa de varios tamaños, algunas de las cuales (las más grandes) pueden contener esporas podrían tratarse de esférulas de *Coccidioides immitis*. Sin embargo, *Rhinosporidium seeberi* también puede mostrar esférulas grandes y endosporas.

#### Elementos miceliales (con o sin otras estructuras asociadas)

- a. Hifas no septadas, de pared gruesa, algunas de las cuales pueden mostrar ramificaciones en 90°: *Rhizopus* spp., *Mucor* spp., *Absidia* spp.
- b. Hifas septadas, ramificadas, algunas en V, con o sin cabezas de *Aspergillus*, posiblemente correspondan a *Aspergillus* spp.
- c. Hifas septadas, pigmentadas (marrones oscuras) con o sin cuerpos esféricos, probablemente sean de hongos dematiáceos.
- d. Racimos de pared gruesa y oscura, con apariencia de gemas, posiblemente pertenezcan a un agente de cromomicosis.
- e. Fragmentos de hifas con o sin esporas, con o sin levaduras probablemente correspondan a dermatofitos o a *M. furfur* complex.

Las técnicas más habitualmente utilizadas para la observación microscópica de las muestras se resumen en la **Tabla 3.2** y se comentan detalladamente en el Capítulo 14.

### 3.4. Medios de cultivo

El objetivo fundamental de la utilización de los medios de cultivo es optimizar el crecimiento de los microorganismos. El primer medio de cultivo que permitió el aislamiento de los gérmenes en medios artificiales fue el propuesto por Koch, en 1876, basado en el uso de gelatina. Posteriormente, Frost en 1909 utilizó medios deshidratados y, en 1919, añadió agar, lo que proporcionó un gran avance en el estudio de la microbiología.

La composición básica de un medio incluye nutrientes, agente solidificante (en los medios sólidos o semisólidos), pH adecuado y componentes específicos. En los medios de cultivo para el aislamiento de hongos, los antimicrobianos se utilizan con frecuencia, tanto para inhibir el crecimiento bacteriano como el de otros hongos ambientales. Atendiendo a su composición, los medios de cultivo puede ser generales, enriquecidos, selectivos, diferenciales y especializados:

**A. Generales:** El más característico y clásico es el agar glucosado de Sabouraud (SDA) y su equivalente en EEUU, el medio para mohos. Ambos se utilizan frecuentemente para el aislamiento a partir de la muestra y para la descripción de las características de la mayoría de los hongos.

**B. Enriquecidos:** Se utilizan especialmente en micosis sistémicas endémicas (histoplasmosis, coccidioidomicosis, etc.), un ejemplo es la infusión cerebro-corazón (BHI).

**Tabla 3.2. Técnicas de observación microscópica.**

#### En fresco

- KOH
- KOH + tinta Parker
- KOH + blanco calcoflúor
- Tinta china (*Cryptococcus*)

#### Tinciones

- KOH + tinta Parker, KOH + blanco calcoflúor: Uso general
- Giemsa: micetoma, histoplasmosis, coccidioidomicosis, *Pneumocystis*, otras micosis cutáneas con exudado o pus
- PAS: micetoma, coccidioidomicosis, onicomosis
- Grocott: *Pneumocystis*
- Fontana Masson: *Pneumocystis*
- Inmunofluorescencia: *Pneumocystis*

- C. **Selectivos:** Son medios que favorecen el aislamiento de los microorganismos deseados impidiendo el de otros. Los componentes más utilizados como agentes selectivos son antibacterianos (cloranfenicol, gentamicina, penicilina, estreptomycin) y también inhibidores de hongos, como la cicloheximida que es especialmente útil en las muestras cutáneas y respiratorias de micosis sistémicas endémicas.
- E. **Diferenciales:** Se utilizan para ayudar a la identificación del hongo basada en la apariencia de éste en dicho medio, merced a la adición de determinados componentes como por ejemplo sustancias cromógenas, o indicadores de pH como en el DTM (que también es selectivo).
- F. **Especializados:** Son aquellos medios que contienen algún componente (*Guizotia abyssinica*) destinado a aislar un agente concreto (*Cryptococcus neoformans*) o a favorecer la identificación de ciertas especies (medio de Czapeck).

### 3.4.1. Preparación de los medios de cultivo

La buena calidad de los medios es indispensable para conseguir el aislamiento y la identificación en Micología; por lo tanto, cuando se utilicen medios comerciales es necesario tener en cuenta la garantía que aporta el proveedor y la calidad de la distribución.

Cuando se prepara un medio deshidratado deben seguirse rigurosamente las instrucciones del fabricante, evitando errores en la forma de disolverlo o suspenderlo, en la temperatura y/o duración de la esterilización, para preservar la calidad del producto final. La esterilización en autoclave es más eficaz si se utilizan frascos de volúmenes inferiores a 500 ml; si se han utilizado imanes para la disolución, deben retirarse antes de introducir los medios en el autoclave. También hay que tener presente que algunos antibióticos deben añadirse al medio una vez esterilizado y a la temperatura adecuada, para no ser desactivados por las altas temperaturas de la esterilización.

### 3.4.2. Control de calidad

Para asegurar la correcta utilización de los medios, debe controlarse periódicamente sus características más importantes: apariencia, esterilidad, pH y funcionamiento. El funcionamiento se puede evaluar utilizando las cepas de control adecuadas para cada medio. En este proceso se recomienda

seguir las especificaciones del documento M22-A del NCCLS en aquellos casos en los que está establecido [3].

Los controles de calidad deben realizarse tanto, a los medios elaborados en el laboratorio, como a los medios comerciales ya preparados; en este caso, es conveniente solicitar al fabricante los controles a utilizar y los resultados para el lote suministrado. En el Capítulo 18 de esta Guía se detallan todos los aspectos del control de calidad de los medios de cultivo.

### 3.4.3. Soporte de los medios de cultivo

El soporte habitual para los medios de cultivo en Micología suele ser tubos de cristal o placas de Petri (90 mm). La elección depende del usuario; autores como De Hoog y Guarro proponen el uso habitual de placas excepto, por razones de seguridad, en los casos de sospecha de histoplasmosis, coccidioidomicosis, blastomicosis, paracoccidioidomicosis e infecciones por *Penicillium marneffe* [4].

Si se utilizan tubos, deben incubarse en posición horizontal las primeras 24 h para que el inóculo no se concentre en el fondo. Los tubos no deben ser los habituales de Microbiología porque, en ellos, las colonias no son fáciles de aislar. Si los tubos utilizados son de tapón de rosca, el cierre debe mantenerse parcialmente abierto para garantizar las mejores condiciones atmosféricas.

Cuando se eligen placas, es conveniente que contengan 40 ml de medio para evitar que se sequen y deben sellarse con cinta adhesiva para que no se abran involuntariamente. El precintado debe ser permeable al aire, ya que cuando el aire circula libremente se favorece la producción de pigmento y la superficie del agar se seca, permitiendo el desarrollo de micelio aéreo y esporas.

### 3.4.4. Almacenamiento

Los medios se deben guardar refrigerados a 2-8 °C. Para mejorar su conservación y prevenir la desecación, es aconsejable invertir las placas e introducirlas en bolsas de plástico.

Las placas de Petri suelen conservarse en buen estado unos tres meses, mientras que los medios semisólidos o líquidos en tubo de rosca se conservan bien hasta seis meses. Sin embargo, ciertos medios, al contener sustancias inestables (antibióticos, vitaminas, sangre, etc.), no se conservan en buen estado tanto tiempo. También hay que tener

presente que algunos componentes de ciertos medios pueden verse afectados por la luz, por lo que estos medios deben almacenarse en contenedores opacos.

Como norma general, todos los medios deben utilizarse antes de la fecha de caducidad indicada por el fabricante y, antes de su utilización, deben atemperarse, durante unos minutos, a temperatura ambiente.

### 3.4.5. Elección de los medios de cultivo

Los medios más utilizados en el cultivo de hongos son: agar glucosado de Sabouraud, habitualmente con la modificación de Emmons (SDA); agar infusión cerebro-corazón (BHIA) con o sin sangre de cordero al 5%, con o sin antibacterianos; agar inhibidor para mohos (MIA); agar Mycosel/Mycobiotic y agar glucosado de patata (PDA). Sin embargo, los hongos también pueden crecer en medios no selectivos, incluidos la mayoría de los medios bacteriológicos, si se incuban el tiempo suficiente.

La elección y el número de medios a utilizar están condicionados por el coste, la disponibilidad y las preferencias personales, pero siempre se deben incluir medios con antibacterianos y sin ellos.

La incorporación de cicloheximida, inhibidor de muchos hongos considerados contaminantes, ayuda especialmente en las micosis de la piel, aunque pueda inhibir algunos patógenos fúngicos importantes; por ello, debe utilizarse siempre en combinación con otro medio sin cicloheximida.

El aislamiento de algún hongo puede verse dificultado por otros factores como la acidificación del medio utilizado (para impedir el crecimiento de bacterias) o, en el caso de *Malassezia* spp., la utilización de gentamicina. [5]

Los medios más empleados en Micología pueden agruparse en dos categorías en función de su utilidad: aislamiento e identificación. Para el aislamiento, la utilización de 3-4 medios prácticamente cubre todas las necesidades: SDA con/sin antimicrobianos (el más utilizado en Europa y sustituido con frecuencia en EE.UU. por MIA); un medio con cicloheximida y agar infusión cerebro corazón, para las micosis sistémicas endémicas.

Sin embargo, en ciertas situaciones es recomendable la utilización de otros medios:

- i) LNA, Dixon, o SDAC con aceite de oliva para el aislamiento de *Malassezia*;
- ii) medio cromogénico en las muestras de mucosas, para facilitar el diagnóstico de infecciones mixtas,

- iii) medio para *Cryptococcus*, para facilitar su detección en muestras donde es frecuente el aislamiento de otras levaduras (muestras respiratorias).

Para la identificación, puede ser necesario un número mayor de medios que dependerá del número de muestras, las etiologías más probables en la zona geográfica, las posibilidades del laboratorio y el nivel diagnóstico esperable según el tipo de centro.

### 3.4.6. Medios de cultivo más utilizados

A continuación se detallan las principales indicaciones, composición, forma de preparación y los controles de calidad de los medios de cultivo más utilizados en el laboratorio de Micología clínica. Los medios comerciales pueden presentar pequeñas variaciones respecto a lo expuesto en los cuadros.

### 3.4.7. Incubación

La temperatura óptima de crecimiento de la mayoría de los hongos patógenos es 30 °C. Sin embargo, *Sporothrix schenckii* es una excepción, crece más rápido a 27-28 °C.

Hay laboratorios que utilizan la temperatura ambiente en lugar de 30 °C, pero no es recomendable, ya que en los cambios de temperatura son notables entre el día y de la noche en la mayoría de los laboratorios. La temperatura de 37 °C no se recomienda por dos razones principales: 1) muchas muestras contienen abundantes bacterias que crecen muy bien a esta temperatura y 2) algunos hongos crecen mal a esta temperatura o no crecen, especialmente los hongos que infectan la piel [9].

No hay ventaja en incubar simultáneamente a 30 °C y a 37 °C. La temperatura de 37 °C debe reservarse para hongos dimórficos o algún hongo que se desarrolle mejor a esta temperatura [10]. Una estufa a 37 °C es también necesaria para verificar la tolerancia a esta temperatura. Sin embargo, utilizar 37 °C para el aislamiento del estadio levaduriforme de *Histoplasma* o *Blastomyces* no aporta ventajas y, además, son morfológicamente indistinguibles de otras levaduras [9].

Si la estufa no está humedecida, es conveniente poner un recipiente con agua cerca de las placas de cultivo. [10]. Los cultivos de hongos deben incubarse durante 3-4 semanas antes de ser desechados. Los cultivos no deben desecharse cuando se aísla un hongo, debe completarse el periodo de incubación [11]. Sin embargo, hay muestras que se pueden eliminar a los 7 días de forma habitual (orina y exudados de mucosas).

### Agar agua

Estimula la formación de conidios. Recomendable para hifomicetes de pigmentación oscura (dematiáceos) e incluso para dermatofitos poco o nada esporulados. Favorece la esporulación de hongos saprofitos.

#### Composición

Agar	20 g
Agua destilada	1.000 ml

#### Preparación

- Calentar hasta disolver todos los componentes.
- Esterilizar a 121 °C durante 15 min.
- Dispensar en placas de Petri.
- De forma opcional, se pueden depositar fragmentos de papel estéril en la superficie del medio solidificado.

#### Control de calidad

Aspecto: sólido transparente.

*Microsporum canis*: abundante producción de macroconidios principalmente en la zona de contacto entre el agar agua y los bordes del fragmento de colonia poco o nada esporulada.

### Agar Czapek Dox\*

Se utiliza en el cultivo de hongos saprofitos, especialmente *Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp. Es el medio de referencia para la identificación de *Aspergillus* spp.

#### Composición

Nitrato sódico (NO <sub>3</sub> Na)	3 g
Fosfato dipotásico (PO <sub>4</sub> K <sub>2</sub> H)	1 g
Sulfato magnésico (SO <sub>4</sub> Mg.7H <sub>2</sub> O)	0,5 g
Cloruro potásico (ClK)	0,5 g
Sulfato ferroso (SO <sub>4</sub> Fe.7H <sub>2</sub> O)	0,01 g
Sacarosa	30 g
Agar	15 g
Agua desionizada	1.000 ml

#### Preparación

- Calentar hasta disolver todos los componentes.
- Esterilizar a 121 °C durante 15 min.
- Dispensar en placas de Petri.

#### Control de calidad

Apariencia: Ámbar pálido, sólido transparente.  
pH final a 25 °C: 7,3 ± 0,2.

*Aspergillus flavus*: crece, colonia amarilla-verde.

(\*) Disponible comercialmente (Becton Dickinson, Difco, Merck, Remel)

**Agar Dixon modificado (mDixon)**

Utilizado en el cultivo de *Malassezia* spp. Puede modificarse añadiendo cloranfenicol o bien cloranfenicol y cidoheheximida.

**Composición**

Extracto de malta	36 g
Peptona	6 g
Ox bile, desecada	20 g
Tween 40	10 ml
Glicerol	2 ml
Ácido oleico	2 ml
Agar	12 g
Agua desionizada	1.000 ml

**Preparación**

- Calentar hasta disolver todos los componentes.
- Esterilizar a 121 °C durante 15 min.
- Dispensar en placas de Petri.

**Control de calidad**

Aspecto: Blanco amarillento, no muy sólido.  
pH final: 6,0

*Malassezia restricta*: Crece.

En el medio inhibidor:

*M. restricta*: Crece.

*Aspergillus flavus*: Inhibición parcial o completa.

*Staphylococcus epidermidis*: Inhibición parcial o completa.

Comprobar el crecimiento de las 7 especies.

**Agar extracto de malta (MEA)\***

Medio para el aislamiento y recuento de levaduras y hongos miceliares. Adecuado para la identificación de zigomicetes, y especies de *Aspergillus*, *Penicillium*, *Paecilomyces*, etc. Se han descrito varias formulaciones que incluyen el extracto de malta y agar suplementados con peptonas, maltosa y/o dextrina y/o glicerol.

**Composición**

Extracto de malta	20 g
Peptona	1 g
Glucosa	20 g
Agar	15 g
Agua destilada	1.000 ml

**Preparación**

- Calentar hasta disolver todos los componentes.
- Esterilizar a 121 °C durante 15 min.
- Enfriar a 45 °C.
- Dispensar en placas de Petri.

Importante: no recalentar.

**Control de calidad**

Aspecto: ámbar, transparente.  
pH final: 5,6 ± 0,1.

*Aspergillus niger* ATCC 9642: micelio blanco, conidias negras.

*Candida albicans* ATCC10231: buen crecimiento, colonias crema.

Si se desea ajustar el pH a 3,5, enfriar a 55°C añadir 2-3 ml de ácido láctico al 10% a 100 ml de agar extracto de malta. Una vez acidificado no se debe volver a calentar.

(\* Disponible comercialmente (Merck; Oxoid)

**Agar glucosado de patata\* (PDA)**

Es un medio utilizado para la estimulación de la formación de conidias, en la preparación de inóculos de hongos miceliales y en la estimulación de producción de pigmentos: rojo en *Trichophyton rubrum*, rosa salmón en *Microsporum audouinii* y amarillo en *Microsporum canis*. Se utiliza con frecuencia en microcultivos para observar las características morfológicas.

**Composición**

Patata	200 g
Glucosa	10 g
Agar	18 g
Agua desionizada	1.000 ml

**Preparación**

- Pelar las patatas, cortarlas en cubos y hervir en agua durante 1 h.
- Filtrar con papel Whatman nº 2, añadir la glucosa y el agar y hervir hasta disolver el agar completamente.
- Ajustar el volumen a un litro.
- Esterilizar a 121 °C durante 15 min.

**Control de calidad**

Aspecto: incoloro o amarillo suave, medio sólido, transparente o translúcido.  
pH final a 25 °C: 5,6 ± 0,2.

*M. audouinii*: pigmento salmón en el reverso de la colonia.

*T. rubrum*: rojo intenso en el reverso de la colonia.

*T. mentagrophytes*: pigmento marrón en el reverso.

(\*) Disponible comercialmente (Becton Dickinson, bioMérieux, Merck, Oxoid, Remel)

**Agar glucosado de Sabouraud\***

Medio poco utilizado ya que normalmente se usa la modificación de Emmons.  
Puede no crecer *Blastomyces dermatitidis*.

**Composición**

Peptona	10 g
Glucosa	40 g
Agar	15 g
Agua desionizada	1.000 ml

**Preparación**

- Mezclar los ingredientes y hacerlos hervir hasta su disolución completa.
- Esterilizar a 121 °C durante 15 min.
- Dispensar en tubos o placas (si se utilizan tubos de cristal, también se puede dispensar antes de esterilizar).
- Solidificar en posición inclinada.

**Modificación**

Añadir cloranfenicol (50 mg/l).

**Control de calidad**

Aspecto: medio sólido, ámbar, transparente.

pH final a 25 °C: 5,6 ± 0,2.

*Trichophyton mentagrophytes*: crece.

*Staphylococcus epidermidis*: inhibición parcial o total en el medio con cloranfenicol.

(\*) Disponible comercialmente (Becton Dickinson, Fluka, Oxoid, Remel, Sigma)

### Agar glucosado de Sabouraud modificado por Emmons\* (SDA)

Es el medio estándar para el aislamiento, esporulación y conservación de muchos hongos. El cambio en el pH y la concentración de glucosa favorece la esporulación.

#### Composición

Peptona	10 g
Glucosa	20 g
Agar	15 g
Agua desionizada	1.000 ml

#### Preparación

- Mezclar los ingredientes y hacerlos hervir hasta su disolución completa.
- Esterilizar a 121 °C durante 15 min.
- Dispensar en tubos o placas (si se utilizan tubos de cristal, también se puede dispensar antes de esterilizar).
- Solidificar en posición inclinada.

#### Modificación (SDAC)

Añadir cloranfenicol (50 mg/l).

#### Control de calidad

Aspecto: medio sólido, ámbar, transparente.  
pH final a 25 °C: 7,0 ± 0,2.

*Trichophyton mentagrophytes*: crece.

*Staphylococcus epidermidis*: inhibición parcial o total en el medio con cloranfenicol.

(\*) Disponible comercialmente (Becton Dickinson, bioMérieux, Fluka, Oxoid, Remel)

### Agar harina de avena (OA)

Favorece la esporulación. Recomendable para la identificación de especies de *Acremonium*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Paecilomyces*, *Phialophora*, *Scopulariopsis*, etc. y para la obtención de las formas teleomórficas asociadas.

#### Composición

Harina de avena	30 g
SO <sub>4</sub> Mg.7H <sub>2</sub> O	1 g
PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> K	1,5 g
Agar	15 g
Agua destilada	1.000 ml

#### Preparación

- Hervir lentamente los 30 g de harina de avena en 1 l de agua durante 1 h.
- Filtrar y ajustar el volumen del caldo a 1 l.
- Añadir las sales y calentar hasta su disolución.
- Esterilizar a 121 °C durante 15 min.
- Dispensar en placas de Petri.

#### Control de calidad

Aspecto: medio sólido, blanquecino, opaco.

*Fusarium solani*: crecimiento rápido, colonia blanco amarillenta, mucosa en el centro.

*Cladophialophora carrioni*: crecimiento lento, colonia gris verdosa, pulverulenta.

**Agar harina de maíz con Tween 80\* (Corn Meal Agar, CMA)**

Se utiliza en el cultivo y diferenciación de especies de *Candida* basándose en las características miceliales. El Tween 80 se incorpora para demostrar la formación de clamidosporas. Si se le añaden 10 g de glucosa puede utilizarse en la diferenciación de *Trichophyton rubrum* y *Trichophyton mentagrophytes* basándose en la producción de pigmento.

**Composición**

Harina de maíz	40 g
Agar	20 g
Tween 80	3 ml
Agua desionizada	1.000 ml

**Preparación**

- Mezclar la harina de maíz en agua.
- Hervir a fuego lento durante 1 h.
- Filtrar con gasa.
- Medir y completar hasta 1.000 ml.
- Esterilizar a 121 °C durante 10 min. Filtrar.
- Añadir el agar y el Tween 80 y calentar hasta disolver.
- Esterilizar a 121 °C durante 15 min.
- Dipensar en placas de Petri.

**Control de calidad**

*Candida albicans* produce clamidosporas.

(\*) Disponible comercialmente (Becton Dickinson, Difco, Remel)

**Agar infusión de cerebro corazón\* (BHIA)**

Puede utilizarse como medio enriquecido para aumentar los aislamientos de *Cryptococcus neoformans* a partir de muestras estériles como el LCR. Mantenimiento de la fase levaduriforme de algunas micosis sistémicas, ya sea con sangre o sin ella. En general está indicado para el aislamiento de una gran variedad de patógenos, incluyendo levaduras, mohos y bacterias como *Nocardia*. Adicionado de sangre de carnero al 10%, se utiliza para el aislamiento de todos los hongos incluidos los dimórficos. Pueden añadirse antibacterianos (cloranfenicol y/o gentamicina) para convertirlo en selectivo. En algunas ocasiones también puede adicionarse cicloheximida (facilita el aislamiento de *Histoplasma capsulatum* y *Blastomyces dermatitidis*).

**Preparación**

- Preparar de acuerdo con el fabricante.
- Hervir los componentes hasta su completa disolución.
- Dispensar en matraces o tubos.
- Esterilizar a 121 °C durante 15 min.
- Enfriar en posición inclinada, si se utilizan tubos.

**Control de calidad**

Aspecto: Ámbar claro a semitransparente, sin precipitado (cuando no está adicionado de sangre).  
pH final: 7,4 ± 0,2.

*Neisseria meningitidis* ATCC 13090: crecimiento aceptable a bueno.

*Candida albicans*: crece bien.

*Sporothrix schenckii*: conversión a levadura a 37 °C.

(\*) Disponible comercialmente. También puede utilizarse en forma de caldo (Becton Dickinson, Biomedic, Difco, Fluka, Oxoid)

### Agar inhibidor para mohos\* (MIA)

Es un medio enriquecido con sales inorgánicas, cloranfenicol y gentamicina. Se utiliza en el aislamiento de hongos sensibles a la cicloheximida (*Cryptococcus*, zigomicetos, etc.) de muestras contaminadas. Permite el desarrollo de la mayoría de los mohos y de las levaduras.

#### Composición

Triptona	3 g	Sal A:	
Extracto de carne	2 g	PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> Na	25 g
Dextrosa	5 g	PO <sub>4</sub> HNa <sub>2</sub>	25 g
Extracto de levadura	5 g	H <sub>2</sub> O	250 ml
Almidón soluble	2 g	Sal C:	
Dextrina	1 g	SO <sub>4</sub> Mg.7H <sub>2</sub> O	10 g
Cloranfenicol	0,125 g	SO <sub>4</sub> Fe.7H <sub>2</sub> O	0,5 g
Gentamicina	5 mg	ClNa	0,5 g
Sal A	10 ml	SO <sub>4</sub> Mn.7H <sub>2</sub> O	2 g
Sal C	20 ml	Agua desionizada	250 ml
Agar	17 g		
Agua desionizada	970 ml		

#### Preparación

- Calentar hasta disolver todos los componentes. Enfriar y ajustar el pH a 6,7.
- Esterilizar a 121 °C durante 15 min.
- Dispensar en placas de Petri.

#### Control de calidad

*Trichophyton mentagrophytes*: Crece.  
*Staphylococcus epidermidis*: Inhibición parcial o completa.

(\*) Disponible comercialmente (Becton Dickinson)

### Agar con leche, glucosa y púrpura de bromocresol\*

Puede utilizarse para la diferenciación de *Trichophyton rubrum* y *Trichophyton mentagrophytes*. *Trichophyton rubrum* melanoide secreta un pigmento que puede parecer alcalinización. El pigmento típico de *T. rubrum* puede verse a través de la colonia, pero no a través del medio. *T. mentagrophytes* granular puede necesitar 10 días para originar un positivo claro. *Microsporum persicolor* crece profusamente pero no alcaliniza.

#### Composición

- Solución A:
 

Leche desnatada en polvo	80 g
Púrpura de bromocresol 1,6%	2 ml (diluido en etanol)
Agua desionizada	1.000 ml
- Solución B:
 

Glucosa	40 g
Agua desionizada	200 ml
- Solución C:
 

Agar	30 g
Agua desionizada	800 ml

#### Preparación

- Preparar las soluciones A y B y esterilizar por separado a 115 °C durante 8 min.
- Hervir la solución C hasta disolver el agar completamente y esterilizar a 121 °C durante 15 min.
- Añadir las soluciones A y B a la C, mezclar, enfriar a 50 °C y ajustar el pH a 6,6 con ácido clorhídrico 1N.
- Dispensar asépticamente en tubos y dejar enfriar en posición inclinada.

#### Control de calidad

Aspecto: medio sólido, azul cielo, opaco.  
 pH final a 25 °C: 6,6 ± 0,1.

*T. rubrum*: Crecimiento restringido y sin cambio de pH a los 7 días a 25 °C.  
*T. mentagrophytes*: Crecimiento profuso y alcalinización a los 5 días a 25 °C.

**Agar Leeming & Notman (ALN)**

Utilizado en el cultivo de *Malassezia* spp. Puede modificarse añadiendo cloranfenicol o bien cloranfenicol y cicloheximida.

**Composición**

Peptona	10 g
Glucosa	5 g
Extracto de levadura	100 mg
Ox bile desecada	8 g
Glicerol	1 ml
Monoestearato de glicerol	500 mg
Tween 60	0,5 ml
Leche de vaca entera	10 ml
Agar	12 g
Agua desionizada	1.000 ml

**Preparación**

- Calentar todos los componentes (excepto la leche) hasta disolver correctamente.
- Esterilizar a 121 °C durante 15 min.
- Añadir la leche.
- Dispensar en placas.

**Control de calidad**

Aspecto: Blanco amarillento, no muy sólido.

*Malassezia restricta*: Crece.

En el medio inhibidor:

*M. restricta*: crece.

*Aspergillus flavus*: inhibición parcial o completa.

*Staphylococcus epidermidis*: inhibición parcial o completa.

**Agar de Leonian modificado**

Indicado para estimular la esporulación en cepas que no esporulan o que presentan estructuras aberrantes.

**Composición**

Maltosa	6,25 g
Extracto de malta	6,25 g
Extracto de levadura	1 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1,25 g
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,625 g
Peptona	0,625 g
Agar	20 g
Agua destilada	1.000 ml

**Preparación**

- Calentar hasta disolver todos los componentes.
- Esterilizar a 121 °C durante 15 min.
- Dispensar en placas de Petri.

**Control de calidad**

Aspecto: medio sólido, transparente.

*Aspergillus fumigatus* a 37 °C: esporulación característica.

**Agar patata zanahoria (PCA)**

Idóneo para estimular la esporulación de hongos miceliares; muy indicado para la identificación de hongos dematiáceos.

**Composición**

Patata rallada	20 g
Zanahoria rallada	20 g
Agar	18 g
Agua	1.000 ml

**Preparación**

- Lavar, pelar y rallar o trocear los vegetales y hervirlos lentamente en 1l de agua durante 1 h.
- Filtrar y añadir al caldo el agar correspondiente.
- Esterilizar a 121 °C durante 15 min.
- Dispensar en placas de Petri o tubos.

**Control de calidad**

Aspecto: medio sólido, transparente o translúcido.

*Alternaria alternata*: poco micelio y abundante producción de conidios en cadenas.

**Agar Sabouraud con cicloheximida y cloranfenicol\* (MYC)**

Es un medio selectivo utilizado para el aislamiento de hongos patógenos a partir de muestras muy contaminadas con hongos saprofitos y bacterias. Se utiliza fundamentalmente en el aislamiento de dermatofitos y hongos dimórficos. Inhibe algunas especies de hongos de interés médico (*Candida* no *albicans*, *Aspergillus*, *Zygomycetes*, *Cryptococcus neoformans*, etc.).

**Composición**

Se utilizan fundamentalmente Mycosel y Mycobiotic, ambos comercializados.

**Preparación**

De acuerdo con las instrucciones, evitar manipular la cicloheximida.

**Control de calidad**

Aspecto: Agar firme, amarillento, transparente.

*Trichophyton mentagrophytes*: Crece.

*Aspergillus flavus*: Inhibición parcial o completa.

*Staphylococcus epidermidis*: Inhibición parcial o completa.

(\*): Disponible comercialmente (Becton Dickinson, Biomedics, Bio-Rad, Difco, Oxoid, Remel, Sigma)

**Agar de Staib (*Guizotia abyssinica*). Agar semillas de alpiste**

Utilizado para aislar *Cryptococcus* spp. y *Cryptococcus neoformans*. *C. neoformans* es el único que al metabolizar la *Guizotia abyssinica* (alpiste), produce melanina originando un color marrón oscuro. El cloranfenicol lo convierte en medio selectivo. También puede ser útil en la diferenciación de *Candida dubliniensis* [6].

**Composición**

Glucosa	10 g
Creatinina	0,78 g
Cloranfenicol	0,05 g
Difenilo (disuelto en 10 ml de etanol 95%)	100 mg
<i>Guizotia abyssinica</i>	70 g
Agar	20 g
Agua desionizada	1.000 ml

**Preparación**

- Moler las semillas y añadir 350 ml de agua.
- Esterilizar en autoclave y filtrar.
- Añadir agua hasta 1.000 ml.
- Añadir el resto de los componentes excepto el difenilo.
- Esterilizar a 121 °C 15 min. Enfriar a 45 °C.
- Añadir el difenilo antes de dispensar el medio en las placas.

**Controles**

*C. neoformans* y *Cryptococcus* spp.

**Agar *Trichophyton* (1 a 7)\***

Son siete medios que se utilizan en la identificación de especies de *Trichophyton* basándose en sus requerimientos nutricionales. El crecimiento se valora desde el 1 al 4 (0 = no-crecimiento; 1 = crecimiento ligero; 2 = parcialmente estimulado, pero inferior al control; 4 = crecimiento comparable con el control).

**Composición**

• <i>Trichophyton</i> agar #1:		• <i>Trichophyton</i> agar #5 = #1	
Ácidos casamínicos (libres de vitaminas)	2,5 g	+ ácido nicotínico (niacina)	2,0 mg
Glucosa	40 g	• <i>Trichophyton</i> agar #6:	
Fosfato monopotásico (PO <sub>4</sub> KH <sub>2</sub> )	1,8 g	Nitrato amónico (NO <sub>3</sub> NH <sub>4</sub> )	1,5 g
Sulfato magnésico (SO <sub>4</sub> Mg.7H <sub>2</sub> O)	0,1 g	Glucosa	40 g
Agar	15 g	Fosfato monopotásico (PO <sub>4</sub> KH <sub>2</sub> )	1,8 g
Agua desionizada	1.000 ml	Sulfato magnésico (SO <sub>4</sub> Mg.7H <sub>2</sub> O)	0,1 g
• <i>Trichophyton</i> agar #2 = #1 + inositol	50 mg	Agar	15 g
• <i>Trichophyton</i> agar #3 = #1 + inositol	50 mg	Agua desionizada	1.000 ml
+ tiamina. CIH	0,2 mg	• <i>Trichophyton</i> agar #7 = #6	
• <i>Trichophyton</i> agar #4 = #1 + tiamina. CIH	0,2 mg	+ histidina. CIH	30 mg

**Preparación**

- Mezclar los ingredientes y hervir hasta disolver completamente.
- Dispensar en tubos.
- Esterilizar a 121 °C durante 15 min.
- Enfriar en posición inclinada.

**Control de calidad**

Aspecto: Agar inclinado, ámbar, transparente.  
pH final a 25 °C: 6,8 ± 0,2

(\*) Disponible comercialmente (Becton Dickinson, Difco, Remel)

### Agar urea de Christensen\*

Se utiliza en la identificación de algunos dermatofitos, especialmente *Trichophyton rubrum* de *Trichophyton mentagrophytes*, y de algunas levaduras (*Cryptococcus neoformans*).

#### Composición

Peptona	1 g
Glucosa	1 g
CINa	5 g
PO <sub>4</sub> KH <sub>2</sub>	2 g
Rojo de fenol	12 mg
Agar	20 g
Agua desionizada	900 ml

#### Preparación

- Esterilizar los 900 ml de agar a 121 °C durante 15 min.
- Añadir 100 ml de solución de urea (20% en agua, esterilizar por filtración) a 900 del medio enfriado a 50 °C.
- Dispensar en tubos. Solidificar en posición inclinada.
- También puede prepararse a partir Urea agar base (Christensen), que se esteriliza por filtración y se añade al agar estéril.

#### Control de calidad

Aspecto: Agar inclinado, naranja, transparente.  
pH final: 6,8 ± 0,2

*T. mentagrophytes*: ureasa positiva (rojo).

*T. rubrum*: ureasa negativa (naranja).

Cuando se usa para levaduras: *C. neoformans* (positiva) y *Candida albicans* (negativa).

(\*) Disponible comercialmente (Becton Dickinson, Biomedics, Difco, Fluka, Merck, Remel, Sigma)

### CHROMagar Candida\*

CHROMagar contiene diversos sustratos enzimáticos que están unidos a compuestos cromogénicos. Cuando enzimas específicas descomponen el sustrato, se produce color. Las colonias deben evaluarse a las 48 h. La siembra de muestras directamente aumenta un 20% el número de cultivos mixtos [7]. Puede utilizarse para identificar levaduras aisladas en otros medios no cromogénicos. Es interesante también su utilización para comprobar la pureza de las cepas en las pruebas de sensibilidad. Permite la identificación rápida de especies resistentes. Puede utilizarse en mucosas, heridas con flora mixta, hemocultivos y orinas, especialmente. Es necesario seguir con rigor las condiciones establecidas por el fabricante. Incubar a 35 °C, en cámara húmeda y en oscuridad, 48 a 72 h (no <48 h). Recientemente se ha modificado para evitar productos de países con encefalopatía espongiforme [8].

#### Composición

Peptona	10 g
Glucosa	20 g
Agar	15 g
Cloranfenicol	500 mg
Mezcla cromogénica	2 g
Agua desionizada	1.000 ml

#### Preparación

Generalmente se suministra preparado.

Si se prepara a partir del polvo deshidratado, disolver en agua caliente, sin hervir. No esterilizar mediante calor (los cromógenos se desnaturalizan). Seguir las instrucciones del fabricante.

#### Control de calidad

Aspecto: Ámbar claro.

*Candida albicans*: Crece con color característico (colonia verde esmeralda).

*Candida krusei*: Crece con color y aspecto característicos (colonia rosa y rugosa).

*Escherichia coli*: Inhibición.

(\*) Disponible comercialmente (Becton Dickinson, Biomedics, CHROMagar). Es el medio cromogénico más utilizado, existiendo otras variantes (Capítulo 11).

**Dermatophyte test medium\* (DTM)**

Medio utilizado para el aislamiento de dermatofitos en muestras muy contaminadas, proporcionando una identificación presuntiva. Los dermatofitos producen alcalinización, virando el medio de amarillo a rojo, algunas bacterias y hongos también pueden producir alcalinización. El pigmento característico de algunos dermatofitos no se puede identificar. La cicloheximida inhibe muchos de los hongos saprofitos.

**Composición**

Peptona	10 g
Glucosa	10 g
Agar	20 g
Solución de rojo fenol	40 ml
CIH 0,8 M	6 ml
Cicloheximida	0,5 g
Sulfato de gentamicina	100 µg/ml
Clortetraciclina	100 µg/ml

**Preparación**

- Mezclar la peptona, glucosa y agar en 1.000 ml de agua desionizada y hervir hasta disolver el agar.
- Añadir 40 ml de la solución de rojo fenol mientras se remueve (Solución de rojo fenol: 0,5 g de Bacto-Phenol red disolver en 15 ml de NaOH 0,1 N; completar hasta 100 ml con agua desionizada).
- Ajustar el pH añadiendo 6 ml de CIH 0,8 M mientras se remueve.
- Disolver 0,5 g de cicloheximida en 2 ml de acetona y añadir al medio caliente mientras se remueve.
- Disolver el sulfato de gentamicina en 2 ml de agua, añadir al medio mientras se remueve.
- Esterilizar a 121 °C. Enfriar hasta unos 47 °C.
- Disolver la clortetraciclina en 25 ml de agua desionizada estéril. Añadir al medio mientras se agita.
- Dispensar en placas o en tubos.

**Control de calidad**

Aspecto: Agar amarillo naranja, transparente.

*Trichophyton verrucosum*: crece y alcaliniza.

*Aspergillus flavus*: inhibición parcial o completa.

*Staphylococcus epidermidis*: inhibición parcial o completa.

(\*) Disponible comercialmente (Becton Dickinson, Fluka, Merck, Remel)

**Medio de arroz**

Se utiliza para la diferenciación de cepas atípicas de *Microsporium audouinii* y *Microsporium canis*.

**Composición**

Arroz blanco no enriquecido	8 g
Agua desionizada	25 ml

**Preparación**

- Mezclar los ingredientes en un matraz Erlenmeyer.
- Esterilizar a 121 °C durante 15 min.

**Control de calidad**

Aspecto: granos de arroz cocido.

*M. canis*: presenta buen crecimiento, pigmento amarillo y esporulación abundante.

*M. audouinii*: no presenta crecimiento o es escaso, coloración marrónácea.

Con asa micológica, transferir una pequeña porción del aislamiento al matraz con los granos estériles.

### 3.5. Informe de los resultados

El diagnóstico micológico no acaba con el aislamiento y la identificación del agente causal. Finaliza cuando la información sobre el mismo llega al conocimiento del médico responsable del paciente. Esta última etapa del procedimiento diagnóstico no es menos importante que las anteriores, por lo que debe cuidarse al máximo todos los detalles de la misma.

#### 3.5.1. Observación microscópica

Debe informarse en el día ya que aporta una importante ayuda al clínico; sus pacientes pueden salir de la consulta de dermatología con un diagnóstico presuntivo (dermatofitosis), que habrá que confirmar con el cultivo, o definitivo (pitiriasis versicolor). La tinta china en buenas manos (criptococosis) y la inmunofluorescencia (pneumocistosis) también son diagnósticas. Otras observaciones positivas permiten una orientación terapéutica (mucormicosis, aspergilosis, etc.). Es recomendable observar los exámenes en fresco negativos al día siguiente.

Este informe es fundamental en toda muestra estéril y permite saber si la muestra posee suficiente calidad.

El informe oral es muy importante para la correcta valoración de la muestra y contrastar la eficiencia del laboratorio, además de adecuar la relación con el clínico. Todo informe oral debe seguirse de otro escrito, reflejando que existe un informe oral previo.

#### 3.5.2. Cultivo

El cultivo negativo se descarta, generalmente, a las cuatro semanas de incubación, con las excepciones citadas en el tiempo de lectura. La prolongación de la incubación después de tres semanas aporta poca información adicional y, dependiendo del sistema de lectura, puede suponer una sobrecarga de trabajo que hay que valorar adecuadamente en cada laboratorio [12].

Los cultivos positivos se informan, de la misma manera que la observación microscópica, en el momento en el que se disponga del crecimiento. En los casos en los que hay que realizar aislamientos repetidos (uñas), al cuestionarse el significado del hongo aislado, se informará de la misma manera. En ambos casos, hay que valorar el beneficio para el paciente y el esfuerzo en la localización del

clínico responsable, por lo que la utilización del correo electrónico para este tipo de informes, ayuda sensiblemente al establecimiento de una rápida y fluida comunicación entre el micólogo y el clínico.

En todo informe escrito debe figurar si se trata de un informe provisional o definitivo. Para los aislamientos realizados en Bacteriología y remitidos a Micología, debe establecerse un mecanismo que garantice la correcta llegada del resultado al médico:

1. Si la numeración del laboratorio es única, se realizarán informes provisionales en los que se refleje la transferencia de la cepa.
2. Si la numeración es diferente, en el registro de Micología figurará que es una cepa recibida de Bacteriología y su número original.

En el informe debe figurar el resultado definitivo. En el caso de ser positivo, debe incluir la identificación de la especie aislada y el estudio de sensibilidad, si procede.

Cuando el significado es de dudosa interpretación debe hacerse constar.

#### 3.5.3. Informe telefónico

Por sus especiales características, en este tipo de informes se deben seguir unas recomendaciones especiales:

1. Cuando no sea posible contactar con el facultativo solicitante, se intentará hablar con el responsable o el jefe de servicio. No se dará nunca el informe a una persona no cualificada.
2. Deben facilitarse siempre los datos que garantizan que el informe corresponde al paciente sobre el que se nos pregunta:
  - Nombre del paciente
  - Localización (habitación, centro de salud, etc.)
  - Tipo de cultivo
  - Fecha de recogida de la muestra
  - Resultados
3. En el registro del laboratorio debe anotarse:
  - Día y hora de la llamada
  - Nombre del médico que recibe la información
  - Persona que proporciona la información
4. La persona que da el informe debe seguir al menos los siguientes pasos:
  - Repetir el nombre del paciente
  - Repetir la localización del paciente
  - Informar el estado actual del estudio

La gestión de la información hay que adaptarla a las circunstancias de cada laboratorio y un modelo podría ser el reflejado en la **Figura 3.1.**

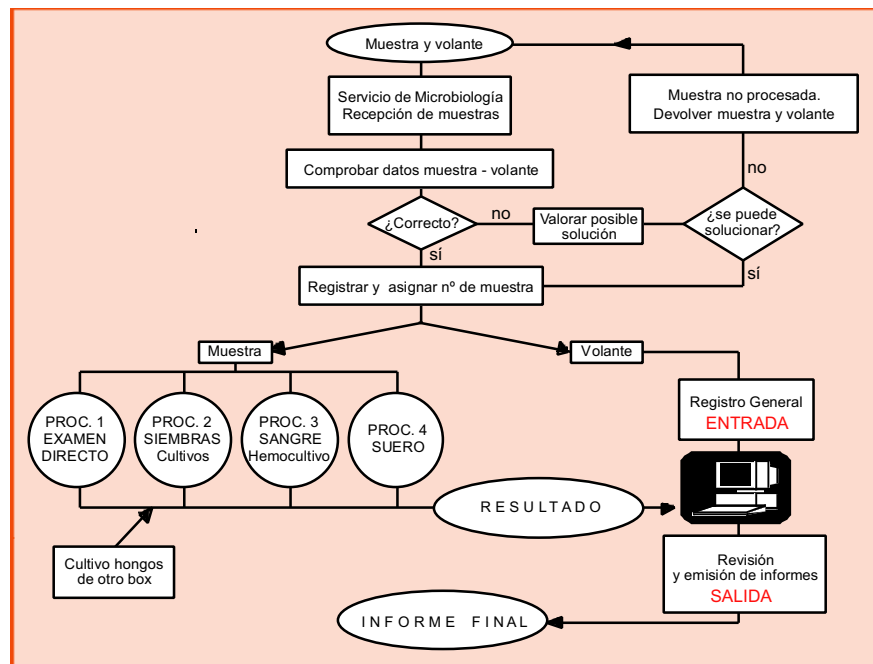


Figura 3.1. Modelo de gestión de la información en un laboratorio de Micología Clínica.

## Referencias

- Land CA, Stringfellow J, Flores M. Collection and transport of specimens. En: Isenberg HD (Ed.) Clinical microbiology procedures handbook. Washington DC, American Society for Microbiology, 1992.
- Hazen KC. Mycology and aerobic Actinomycetes. En: Isenberg HD (Ed.) Essential procedures for clinical Microbiology. Washington, American Society for Microbiology, 1998: 255-357.
- National Committee for Clinical Laboratory Standard. QC assurance for commercially prepared microbiological culture media. Approved Standard. M22-A. Villanove, Pa, National Committee for Clinical Laboratory Standard, 1990.
- De Hoog GS, Guarro J, Figueras MJ, Gené J. Atlas of clinical fungi (2<sup>nd</sup> ed.). Baarn / Reus, Centralbureau voor Schimmelmcultures / Universitat Rovira i Virgili, 2000.
- Aspiroz C, Rezusta A, Rubio MC, Gómez-Lus R. *Malassezia pachydermatis* failure to grow on a commercial Sabouraud medium with gentamycin. 14<sup>th</sup> ISHAM World Congress, Buenos Aires, Argentina 2000.
- Staub F, Arasteh K. Chlamyospore formation on Staub agar. Observations made before *Candida dubliniensis* was described. Mycoses 2001; 44: 23-27
- Pfaller MA, Houston A, Coffmann S. Application of CHROMagar Candida for rapid screening of clinical specimens for *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei* and *Candida (Torulopsis) glabrata*. J Clin Microbiol 1995; 34: 59-61.
- Jabra-Rizk MA, Brenner TM, Romagnoli M, et al. Evaluation of a reformulated CHROMagar Candida. J Clin Microbiol 2001; 39: 2015-2016.
- Kwon-Chung KJ, Bennett JE. Medical Mycology. Philadelphia, Lea & Febiger, 1992.
- Larone D. Medically important fungi. A guide to identification. Washington DC, American Society for Microbiology 1995.
- Passarell L. 1999 Use and publishing guideline. URL: <http://fungus.utmb.edu>
- Labarca JA, Wagar EA, Grasmick AE, Kokkinos HM, Bruckner DA. Critical evaluation of 4-week incubation for fungal cultures: Is the fourth week useful? J Clin Microbiol 1998; 36: 3683-3685.

## Bibliografía complementaria

- Al-Doory Y. Laboratory Medical Mycology. Philadelphia, Lea y Febiger, 1980.
- Smith E, Rogers AL. Medical mycology and human mycoses. Belmont California, Star Publishing Co., 1996.
- Goodman NL, Roberts GD. Laboratory diagnosis. In: Ajello L, Hay RJ (Volume 4 Eds.) Medical Mycology. In: Collier L, Balows A, Sussman M (Eds.) Topley & Wilson's. Microbiology and Microbial Infections. 9<sup>th</sup> ed. London, Arnold, 1998: 75-87.
- Merz WG, Roberts GD. Algorithms for detection and identification of fungi. En Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, Yolken RH (Eds.) Manual of Clinical Microbiology. Washington DC, American Society for Microbiology, 1999: 1167-1183.
- Chapin KC, Murray PR. En Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Yolken RH (Eds.) Manual of Clinical Microbiology. Washington DC, American Society for Microbiology 1999: 1701-1704.
- St-Germain G, Summerbell R. Identifying filamentous fungi. A clinical handbook. Belmont, California, Star Publishing Co., 1996.
- Kwon-Chung KJ, Bennett JE. Medical Mycology. Philadelphia, Lea & Febiger, 1992.
- Koneman EW, Roberts GD. Micología práctica de laboratorio. 3<sup>a</sup> ed. Buenos Aires, Panamericana 1987.
- Kane J, Summerbell RC. *Trichophyton*, *Microsporium*, *Epidermophyton*, and agents of superficial mycoses. En: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Yolken RH (Eds.) Manual of Clinical Microbiology. Washington, American Society for Microbiology 1999: 1275-1294.
- McGinnis MR. Laboratory Handbook of Medical Mycology. New York, Academic Press, 1980.
- Sutton DA. Specimen collection, transport and processing. En: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Yolken RH (Eds.). Manual of Clinical Microbiology (8<sup>th</sup> ed). Washington DC, ASM Press, 2003: 1659-1667.