

Guillermo Quindós
Elena Eraso
Pilar A. Ezkurra
Alfonso Javier Carrillo-Muñoz

8.1. Fundamento

8.1.1. Micosis de la cavidad oral

Las micosis de la cavidad oral son frecuentes y habitualmente de carácter leve o moderado. La mayoría están producidas por *Candida albicans* y, en menor medida, por otras especies de *Candida* (Tabla 8.1). Se observan especialmente en pacientes portadores de prótesis o con inmunodeficiencias, considerándose que cuatro de cada mil pacientes que acuden a una consulta dental general presentan síntomas de infección oral candidiásica [1,2].

La mayor parte de las candidiasis orales son asintomáticas y más frecuentes en lactantes, ancianos y personas con factores predisponentes generales o locales. La infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es un importante factor predisponente y, en personas con sida, estas lesiones pueden ser indicadoras de la evolución de la enfermedad.

Candidiasis pseudomembranosa aguda (muguet)

Es frecuente en niños y ancianos y puede observarse también en personas que son tratadas con corticoides en aerosol por procesos asmáticos u obstructivos pulmonares crónicos. Se caracteriza por la presencia de grumos o placas blancas o blanco-amarillentas (masas de hifas, levaduras y restos celulares) que tienden a confluir y asientan sobre una mucosa enrojecida (Figura 8.1).

Candidiasis eritematosa aguda

Es una complicación común del tratamiento con antibacterianos de amplio espectro. Se presenta como un área rojiza, sin grumos o placas, en el dorso de la lengua y el paladar (imagen clásica “en espejo”). Cuando la lengua está afectada, el dorso está depapilado, brillante y liso. El paciente se queja de dolorimiento o quemazón, tolera mal los alimentos sólidos y el consumo de líquidos causa dolor. Esta forma de candidiasis es la más común en los pacientes infectados por el VIH.

Candidiasis hiperplásica

Se confunde con los términos leucoplasia candidiásica y candidiasis nodular. Es la forma menos frecuente y se presenta como una lesión asintomática en placas o pequeños nódulos blancos adheridos firmemente a un área eritematosa, en las zonas retrocomisurales y, con menor frecuencia, en la lengua.

Queilitis angular (boqueras)

Se caracteriza por la aparición de eritema, grietas o fisuras en las comisuras labiales. Intervienen diferentes factores que van desde anomalías relacionadas con el envejecimiento (aparición de arrugas y pérdida de la dimensión vertical de la boca), humedad, defectos protéticos, etc. Lo habitual es que esté asociada a otras formas de candidiasis oral. En muchas ocasiones se trata de una infección mixta por estafilococos y *Candida*, con múltiples cofactores locales y sistémicos. En los pacientes con infección por VIH, la queilitis angular suele ser crónica (Figura 8.2).

Tabla 8.1. Principales especies fúngicas aisladas de muestras orales y otorrinolaringológicas.

a) Micosis orales

Comunes: *Candida albicans*

Menos comunes: *Candida dubliniensis*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*

Poco habituales: *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Aspergillus fumigatus*

b) Otomicosis

Comunes: *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida parapsilosis*, *Candida albicans*, *Aspergillus flavus*

Poco habituales: *Candida guilliermondii*, *Candida krusei*, *Candida glabrata* y otras especies de *Candida*, *Exophiala castellanii*, *Exophiala jeanselmei*, *Fusarium solani* y otras especies de *Fusarium*, *Geotrichum candidum*, *Mucor* spp., *Scedosporium apiospermum*

c) Rinosinusitis fúngica

Comunes: *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*

Poco habituales: *Alternaria* spp., *Bipolaris* spp., *Fusarium* spp., *Mucor* spp., *Rhizopus* spp.

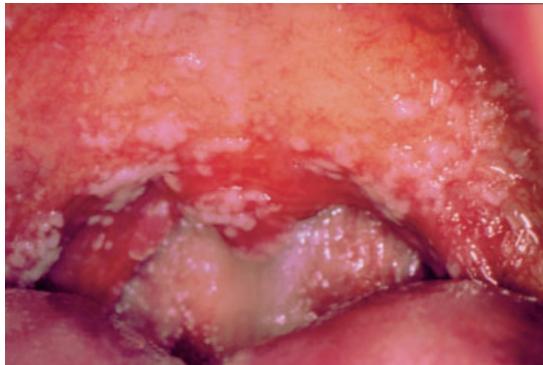


Figura 8.1. Candidiasis pseudomembranosa (Cortesía del Profesor Dr. José Manuel Aguirre Urizar, Departamento de Estomatología, Universidad del País Vasco, Bilbao).

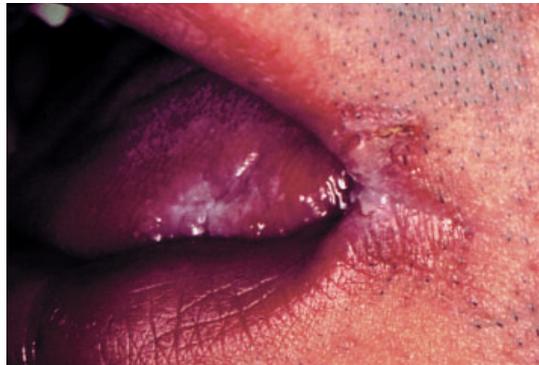


Figura 8.2. Queilitis angular (Cortesía del Profesor Dr. José Manuel Aguirre Urizar).

Glositis rómbica

Es una lesión crónica no dolorosa que aparece como una depapilación en la región media del dorso lingual favorecida por una menor vascularización de esta zona central de la lengua. Es un proceso relativamente frecuente que afecta, aproximadamente, al 1% de la población; sobre todo, a varones fumadores y diabéticos.

Estomatitis protética

Es la forma más común de candidiasis oral (~ 70% de los portadores de prótesis), siendo más frecuente en las mujeres. Es habitualmente asintomática y se caracteriza por la presencia de una inflamación y enrojecimiento del área de soporte de una prótesis removible (preferentemente, superior palatina) (Figura 8.3). Su etiopatogenia es multifactorial e incluye factores protéticos, higiénicos, microbiológicos, dietéticos y sistémicos.

Otras micosis

Histoplasmosis, blastomicosis, criptococosis, aspergilosis, etc. afectan con menor frecuencia a la cavidad bucal (habitualmente después de una primoinfección pulmonar). Las manifestaciones orales son más frecuentes en la histoplasmosis (*Histoplasma capsulatum* variedad *capsulatum*) y paracoccidioidomicosis (*Paracoccidioides brasiliensis*) y, mucho menos, en coccidioidomicosis (*Coccidioides immitis*) y blastomicosis (*Blastomyces dermatitidis*) [3,4].

Las lesiones orales en la **histoplasmosis** aparecen durante la llamada histoplasmosis generalizada crónica. Se puede observar macroglosia, macroqueilitis (principalmente en labio inferior), zonas erosivas y hemorrágicas gingivales, y lesiones

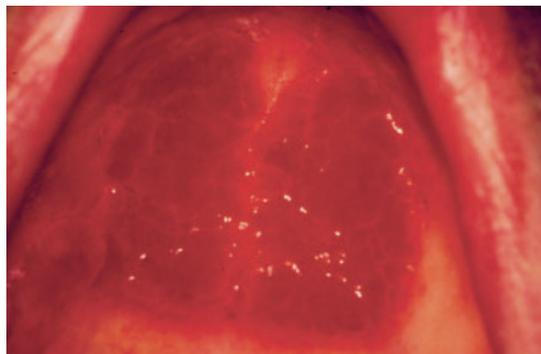


Figura 8.3. Estomatitis protética -candidiasis eritematosa- (Cortesía del Profesor Dr. José Manuel Aguirre Urizar).

necrobióticas y vegetativas, principalmente en paladar y lengua. También pueden observarse lesiones blanquecinas semejantes a las de las candidiasis y lesiones ulcerativas linguales. En la forma crónica tipo adulto de la **paracoccidioidomicosis** se puede observar una estomatitis moriforme, con periodontitis dolorosa y granulomas apicales y con una mucosa gingival con pequeñas vegetaciones y elementos vascularizados que sangran fácilmente. En la región palatina pueden producirse lesiones ulceradas y vegetativas que obligan a un diagnóstico diferencial con las lesiones neoplásicas. En algunos pacientes también se produce macroglosia, macroqueilias y bloqueos linfáticos regionales. Estas formas progresivas de histoplasmosis y paracoccidioidomicosis se observan más frecuentemente en personas infectadas por el VIH que residen en zonas endémicas (América). En el caso de la histoplasmosis, también pueden encontrarse casos esporádicos en África y Asia. Se han descrito algunos casos clínicos en España y Europa en enfermos con estancia o residencia previa en zonas endémicas de infección por el VIH.

La **criptococosis** bucal se observa casi de manera exclusiva en pacientes con sida o linfoma y se caracteriza por la aparición de lesiones nodulares, vegetativas o ulceradas, de color rojo-violáceo, que tienen tendencia a necrosarse en personas inmunodeprimidas. Estas lesiones pueden ser primarias o habitualmente secundarias a infecciones meningoencefálicas o criptococemias.

Las lesiones bucales por otros hongos son mucho menos frecuentes, con la excepción de las **mucormicosis** que pueden comenzar con lesiones en paladar (eritematosas, vegetantes y ulcerativas) que se van extendiendo por contigüidad, con gran destrucción tisular, a senos paranasales, órbita ocular, cráneo y cerebro, con alta mortalidad (mucormicosis rinocerebral) [3,4]. Estas micosis se observan en pacientes con diabetes mellitus mal controlada y en enfermos en tratamiento con desferroxamina. El agente más frecuentemente aislado es *Rhizopus arrhizus*.

8.1.2. Micosis otorrinolaringológicas

Sinusitis

Habitualmente es una infección de etiología bacteriana o vírica y el papel que desempeñan los hongos en su etiología es poco importante, aunque en los últimos años han aumentado las sinusitis fúngicas [4]. Las sinusitis fúngicas invasoras se observan principalmente en pacientes inmunodeficientes y se caracterizan por su rápida evolución y las dramáticas situaciones que plantean ya que pueden observarse casos de sinusitis fulminantes. Los síntomas iniciales suelen ser inespecíficos y las especies que predominan son *Aspergillus fumigatus* y *Aspergillus flavus* (Tabla 8.1).

La mucormicosis rinocerebral o craneofacial es una micosis que comienza en los senos paranasales y que se disemina invadiendo la órbita, paladar y el resto de la cara, pudiendo alcanzar el cerebro (necrosis del lóbulo frontal). Su presentación clínica es parecida a la sinusitis por *Aspergillus*. La presencia de lesiones necróticas negras (en el paladar o en fosas nasales) o el drenaje de pus oscuro de las lesiones o el ojo pueden orientar en el diagnóstico. La progresión de la mucormicosis es rápida y muy grave (a menudo el paciente muere en la primera semana de infección). Esta enfermedad fúngica suele afectar a pacientes oncológicos con neutropenia, a receptores de progenitores hematopoyéticos y a pacientes diabéticos con cetoacidosis descontrolada.

Otomicosis

Representa el 15-20% de los casos de otitis externa. En la gran mayoría de los casos, el hongo es un invasor secundario a alteraciones o lesiones cutáneas del conducto auditivo externo: eccema, psoriasis, dermatitis seborreica, traumatismos, infección bacteriana, tratamiento antibacteriano o acumulación importante de cerumen. Los hongos implicados con más frecuencia son *Aspergillus niger*, *A. fumigatus*, *A. flavus*, *Candida parapsilosis* y *C. albicans* [5-7]. Otras especies fúngicas son poco significativas (Tabla 8.1). Las otomicosis **no invasoras** suelen ser asintomáticas o cursar con inflamación importante, otalgia moderada y secreción serosa. Las formas crónicas se caracterizan por prurito, exudación inodora, incolora o amarillenta y descamación. Cuando el agente etiológico de la otomicosis es *Candida* spp., se observa la presencia de un epitelio húmedo e inflamado, con pequeños agregados blanquecinos que se adhieren al epitelio y la presencia de un exudado seroso inodoro. Las otomicosis **invasoras** cursan con inflamación del meato auditivo, otalgia severa y otorrea. *Aspergillus* es el género más frecuentemente implicado. En estas infecciones puede aparecer celulitis progresiva, condritis y osteomielitis en el conducto auditivo y base del cráneo. Estas alteraciones pueden implicar una paresia o parálisis del VII par craneal (nervio facial). La diabetes es la enfermedad subyacente del paciente en el 90% de los casos aunque también se han descrito estas otomicosis en enfermos con sida.

Tanto en las rinosinusitis como en las otitis invasoras, el diagnóstico radiológico (radiografía simple, TAC o resonancia magnética) juega un papel muy importante para evaluar el grado de invasión y destrucción tisular. El diagnóstico de certeza se realiza con una combinación de métodos histológicos y microbiológicos.

8.2. Recogida transporte y conservación de muestras

8.2.1. Recogida

Siempre que sea posible, se obtendrán las muestras antes de administrar fármacos antifúngicos.

Cavidad oral

Irá precedida de un enjuague con agua o solución salina. Las lesiones pseudomembranosas y las secreciones se recogen con una torunda o hisopo de algodón estéril.

Muestras rinosinusaes

Se obtienen con torunda de diferente tamaño según la muestra deba tomarse de coanas, *cavum* o mucosa nasofaríngea, mediante aspiración o durante una intervención quirúrgica. Son muestras clínicas útiles tanto los exudados nasales, si los hay, como el contenido y el tejido de los senos afectados.

Muestras óticas

Debe efectuarse bajo visión directa con biomicroscopio y el material se extrae con una cucharilla o cureta para su estudio micológico. También pueden emplearse hisopos humedecidos en solución salina o medio de transporte, pero los resultados suelen ser menos satisfactorios. En este caso, el hisopo utilizado debe ser adecuado y suficientemente estrecho para pasar fácilmente por el conducto auditivo.

Biopsias o piezas quirúrgicas

Son de gran interés y utilidad en otitis y rinosinusitis invasoras y deben ser obtenidas de forma aséptica por métodos quirúrgicos [8-12]. Se deben obtener dos muestras o dividir en dos porciones la única muestra obtenida. Una de las muestras (para el estudio micológico) debe colocarse en un tubo o recipiente vacío o que contenga solución salina estéril para poder realizar las improntas y cultivos. La otra muestra se recoge en un recipiente con formol al 10% en solución salina tamponada (o PBS) para su posterior procesado y estudio anatomopatológico.

8.2.2. Transporte

Todas las muestras clínicas deben ser enviadas al laboratorio para ser procesadas lo antes posible (en menos de 2 h). Las torundas o hisopos de algodón se introducen en un medio de transporte para microorganismos aerobios (medio de Stuart modificado, Amies o similar). La muestras recogidas mediante enjuague o lavado oral se transportan en un envase estéril. Estas muestras no necesitan ser refrigeradas para su transporte ya que la temperatura ambiente no va a afectar a la supervivencia de los hongos presentes en ellas.

Las muestras de biopsia deben transportarse, siempre que sea posible, en medio líquido, de lo contrario puede utilizarse un envase estéril o, en su defecto, gasas estériles empapadas en solución salina. En caso de que no se puedan transportar las muestras inmediatamente al laboratorio se deben mantener refrigeradas (4 °C) y no permitir que se alteren los tejidos por deshidratación (nunca deben transcurrir más de 24 h).

8.2.3. Conservación

Lo ideal es que todas las muestras clínicas sean procesadas lo antes posible una vez recibidas en el laboratorio [8-12]. De no ser posible, deben conservarse a 3-6 °C hasta media hora antes de su procesado para observación directa al microscopio, tinción con Gram, PAS o colorantes fluorescentes y, también, para realizar el cultivo en un medio apropiado. El tiempo que se pueden mantener las muestras orales y otorrinolaringológicas refrigeradas es difícil de establecer, pero éste no debería sobrepasar las 48 h.

8.3. Examen directo

El examen microscópico directo de las muestras clínicas es un procedimiento diagnóstico de valor inestimable porque permite realizar con frecuencia un diagnóstico presuntivo (en ocasiones, definitivo) antes de que el crecimiento fúngico se observe en el cultivo. Además, la observación de células fúngicas sirve para establecer un criterio sobre la relación entre el hongo y la afección que se está produciendo.

La observación microscópica la podemos realizar en tres tipos de preparaciones [10,13,14]:

- a) en fresco, habitualmente utilizando un líquido de aclarado (KOH, NaOH), colorantes (tinta, azul de metileno, fucsina...), blanco de calcoflúor o similares (blankophor, Univitex);
- b) en frotis o improntas, teñidos con Gram, Giemsa, PAS;
- c) en tinciones histológicas con hematoxilina-eosina, PAS o plata metenamina de Gomori-Grocott (aunque la histopatología puede ofrecer un diagnóstico confirmatorio relativamente rápido, no siempre está indicada una toma biopsica o esta es posible).

La observación microscópica se puede hacer en fresco si la muestra es relativamente líquida, pero estas preparaciones en fresco son efímeras y no permiten exámenes prolongados. El empleo de colorantes nucleares como el azul de metileno o la fucsina puede tener utilidad, pero se facilita mucho más la observación microscópica si se añade sobre el portaobjetos una gota de un líquido de aclarado (solución salina o agua destilada con KOH o NaOH al 15-30%, lactofenol con azul de algodón o similares), se aplica un ligero calentamiento (cuando el material es más opaco o hay presencia importante de células) y se cubre con un cubreobjetos la preparación (Capítulo 14a).

Si empleamos el blanco de calcoflúor, las levaduras, hifas y pseudohifas adquieren una fluorescencia blanco azulada o amarillo verdosa, según el filtro utilizado (Figura 8.4), resaltando nítidamente sobre el fondo más oscuro.

Con las muestras obtenidas también se pueden realizar frotis o improntas. Estas preparaciones son más duraderas y permiten realizar lecturas posteriores para confirmar o desechar anteriores conclusiones. Una tinción rápida de los frotis, como la de Gram, puede facilitar la visión de las levaduras y pseudomicelios de *Candida* o las estructuras de los hongos filamentosos que se tiñen de color violeta o azul oscuro intenso. También se puede utilizar una tinción de Giemsa (de utilidad más limitada) o de PAS que permite apreciar mejor las estructuras fúngicas (Figura 8.5) (Capítulo 14a).

En caso de recibir en el laboratorio muestras de biopsia, una de las muestras (la recogida en formol-solución salina tamponada) será incluida posteriormente en parafina para efectuar cortes histológicos y realizar tinciones de hematoxilina-eosina, PAS o plata metenamina de Gomori-Grocott (Capítulo 14a) [10,15,16].



Figura 8.4. Blastosporas y tubos germinales de *Candida albicans* teñidos con blanco de calcoflúor, x1.000 (Cortesía de la Dra. Rosario San Millán, Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Universidad del País Vasco, Bilbao).

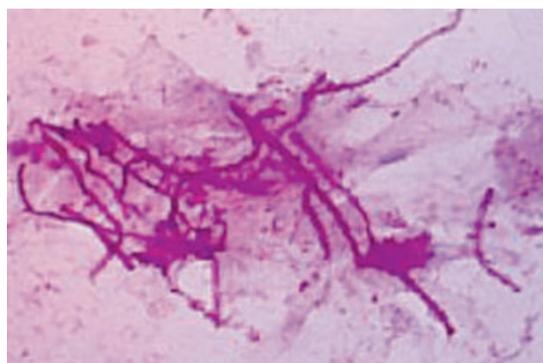


Figura 8.5. Hifas y blastosporas de *Candida* en frotis oral (Tinción de PAS, x400) (Cortesía del Profesor Dr. José Manuel Aguirre Urizar).

8.4. Siembra, incubación e interpretación de los cultivos

8.4.1. Siembra

De la adecuada elección del recipiente para el medio de cultivo dependerá muchas veces el éxito del aislamiento. La utilización de placas con agar es más cómoda, permite disponer de una mayor superficie para la siembra y la manipulación de las muestras, se airea mejor y las colonias crecen más separadas, facilitando su posterior procesamiento. Sin embargo, la posibilidad de contaminación con esporas ambientales es mayor y, desde el punto de vista de la bioseguridad, son más peligrosas.

El empleo de tubos dificulta la contaminación ambiental y del personal cuando crecen hongos filamentosos, pero hace más laborioso y lento el trabajo complicando la separación y diferenciación de las colonias. En cualquier caso, deben ser tubos o frascos con tapón de rosca y de boca relativamente ancha para facilitar la siembra (≥ 2 cm) [8,10,12,17].

La torunda de algodón y las muestras líquidas se siembran en césped o por agotamiento, dependiendo de la cantidad y de la potencial celularidad fúngica presente en la muestra, en placas con medios de cultivo que contengan antibióticos antibacterianos, como las placas de agar glucosado de Sabouraud con cloranfenicol o gentamicina o el agar con infusión de cerebro-corazón que permite el crecimiento selectivo de los hongos (Tabla 8.2) (Capítulo 3).

Los medios con cicloheximida (o actidiona) pueden ser muy útiles en el cultivo de muestras orales pero debe tenerse en cuenta que inhiben, además de a los hongos contaminantes, a un número importante de cepas de hongos patógenos como *Cryptococcus*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Scedosporium*, *Candida tropicalis* y *Candida krusei* [4,8,10,12,18]. Los medios con cicloheximida no se deben emplear para cultivar las muestras otorrinolaringológicas debido a que en la etiología de estas micosis predominan los hongos filamentosos, principalmente *Aspergillus* y zigomicetos, que pueden ser inhibidos por este antibiótico.

Debido a la posible infección polimicrobiana de la cavidad oral se pueden emplear otros medios de cultivo para las muestras orales, como son los medios cromógenos, que facilitan la observación de las colonias de diferentes especies y permiten una identificación presuntiva y rápida (18 a 48 h) según el color de las colonias. Entre estos medios destacan el medio CHROMagar Candida y el Candida ID2 [19-22] (Tabla 8.2).

Previamente a su cultivo, los tejidos y biopsias deben trocearse con un bisturí estéril, sembrando directamente los trozos obtenidos (de 1-2 mm) sobre el medio de cultivo. Este troceado es especialmente importante cuando sospechamos que el agente etiológico presente en la muestra (ótica o rinosinusal) puede ser un zigomiceto u otro hongo filamentosos. La homogenización con una trituradora puede afectar a la viabilidad de estos microorganismos por lo que no está recomendada en ningún caso [10,12,14].

Tabla 8.2. Medios de cultivo apropiados para el aislamiento de hongos a partir de muestras orales y otorrinolaringológicas.

a) Medios sin antibacterianos

- Agar glucosado de Sabouraud (SDA) 2% (modificación de Emmons) y 4% de glucosa.
- Agar infusión cerebro-corazón (BHIA).

b) Medios con antibacterianos y/o cicloheximida

- SDA o BHIA con uno o varios de los compuestos siguientes: cloranfenicol ($> 16 \mu\text{g/ml}$), gentamicina (5-100 $\mu\text{g/ml}$), penicilina (20 U/ml), estreptomina (40 $\mu\text{g/ml}$), ciprofloxacino (5 $\mu\text{g/ml}$) y cicloheximida (500 $\mu\text{g/ml}$).

c) Medios cromógenos selectivos y diferenciales

- CHROMagar Candida (CHROMagar Co.).
- Candida ID2 (bioMérieux).
- Candiselect 4 (BioRad).
- Chromalbicans agar (Biolife).
- Agar cromogénico para *Candida* (Laboratorios Conda).

8.4.2. Incubación

Las placas o tubos se incuban, en paralelo, a 30 °C y a 37 °C; si esto no fuera posible, las muestras orales se incubarán a 37 °C y las otorrinolaringológicas a 27-30 °C.

En caso de utilizar tubos, estos deben tener el tapón de rosca lo suficientemente abierto como para permitir su aireación y se depositan en la estufa en posición horizontal durante las primeras 24 h de incubación.

La incubación total comprende un periodo de una semana, pero se prolongará hasta cuatro semanas en caso de sospecha de un hongo filamentosos.

En la mayoría de los casos, las colonias se pueden observar a las 24-48 h de incubación. En los medios cromógenos selectivos el color de las colonias de levaduras es más nítido a las 48-72 h [19-22].

8.4.3. Lectura e interpretación

Examen microscópico

El examen microscópico de los frotis e improntas permite apreciar las estructuras fúngicas presentes, especialmente las hifas y micelios. Los zigomicetos se observan como tubos o cintas anchos de estructura anómala, ramificados pero no tabicados (sifonados). La presencia de hifas más estrechas y septadas no permite identificar con certeza el género fúngico implicado. La ramificación dicotómica en ángulos de 45° o la presencia de estructuras especiales, como en el caso de las bolas fúngicas, pueden orientar hacia hongos tipo *Aspergillus*. Los hongos dematiáceos presentarán hifas pigmentadas de colores más oscuros. *Candida* y otras levaduras muestran una combinación de blastosporas, pseudohifas y micelio. Los hongos filamentosos presentan con frecuencia, en las muestras óticas y sinusales, estructuras conidiales perfectamente formadas. En el caso de *Aspergillus* se pueden apreciar cabezas conidiales y conidiosporas similares a las que se observan en el medio de cultivo.

Lectura e interpretación de los cultivos

Una vez detectado el crecimiento en los medios de cultivo debe procederse a la identificación de la especie o especies implicadas. La morfología de la colonia es el primer criterio que permite distinguir entre levaduras y hongos filamentosos (Figuras 8.6-8.9). La gran mayoría de las colonias cremosas corresponden a levaduras o, en contadas excepciones, a la fase levaduriforme de los hongos dimorfos (*Sporothrix*, *Histoplasma*, *Paracoccidioides*, *Blastomyces*, entre otros) y para la correcta identificación de la especie se recomienda seguir las indicaciones propuestas en el Capítulo 11.

Los hongos filamentosos suelen crecer formando colonias pulverulentas, vellosas, lanosas, aterciopeladas o con pliegues. La morfología colonial es más útil en la posterior identificación de los hongos filamentosos que en la de las levaduras [18] pero siempre se debe tener en cuenta la gran variabilidad de las colonias dependiendo del medio utilizado y del empleo o no de tratamiento antifúngico previo a la toma de la muestra (Capítulo 13).

El ritmo de crecimiento es otro dato de gran importancia para la evaluación de las colonias. La rapidez del crecimiento de la colonia se ve afectada por el tipo de muestra cultivada, la cantidad de células fúngicas viables presentes, la composición del medio de cultivo así como por la especie fúngica aislada:

- Candida* y las demás levaduras desarrollan colonias visibles en las primeras 24-72 h en los medios de cultivo habituales a 37 °C.
- Los hongos filamentosos pueden tardar varios días en formar colonias que puedan ser evaluadas y crecen mejor a temperaturas más bajas (27-30 °C).

8.4.4. Validación e informe

El informe definitivo con el resultado del cultivo debe ser lo más completo posible. Sin embargo, los primeros resultados fiables deben transmitirse al clínico responsable del enfermo en cuanto se disponga de ellos y por el medio más rápido disponible.

En un primer momento, se puede informar sobre la observación microscópica realizada y la presencia o ausencia de estructuras fúngicas o de imágenes compatibles con éstas. En los casos de otomycosis y sinusitis fúngicas invasoras, así como en la mucormicosis rinocerebral, la observación de estructuras fúngicas en el examen directo de la muestra es de gran utilidad para el clínico ya que, en estas infecciones, el diagnóstico precoz es muy importante para el tratamiento y pronóstico de la enfermedad.

En un segundo estadio (18-48 h) se puede informar sobre la densidad del crecimiento obtenido en el cultivo, la presencia de colonias de aspecto homogéneo o de cultivo mixto (polimicrobiano) y si la morfología colonial es compatible con la de un hongo levaduriforme o filamentosos. Los medios cromógenos permiten, en el caso de colonias levaduriformes, la identificación presuntiva del aislamiento.

Posteriormente, una vez identificada la especie, se debe comunicar la identidad del hongo aislado, la evaluación sobre su posible implicación en la etiología de la infección y su sensibilidad *in vitro* a los antifúngicos, siempre que el aislamiento cumpla los criterios requeridos para efectuar este estudio (Capítulos 15 y 16).

Nunca se debe informar si el aislamiento corresponde a un hongo contaminante o saprofito sin tener una información clara de la situación clínica del paciente. Cualquier hongo es patógeno si las condiciones del enfermo son propicias para su desarrollo en los tejidos. Este hecho todavía refuerza más la necesidad de una estrecha colaboración entre los clínicos y los micólogos.



Figura 8.6. Colonias de *Candida albicans* en agar glucosado de Sabouraud.

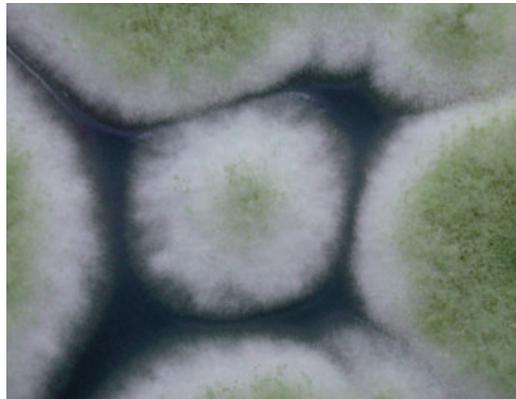
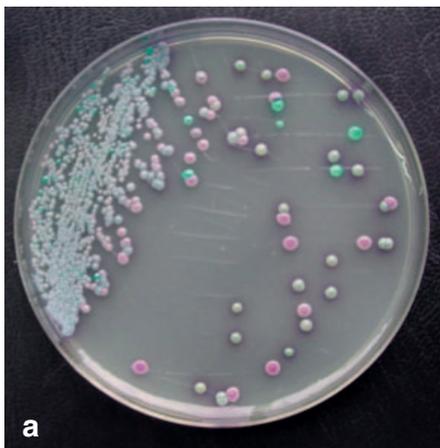
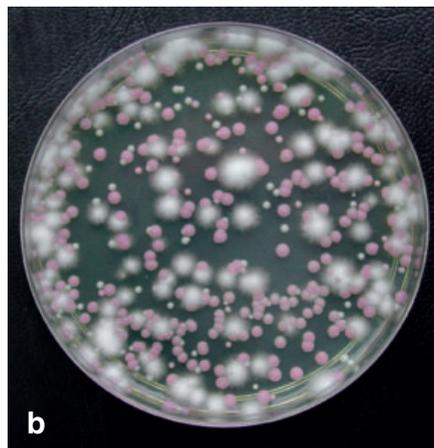


Figura 8.7. Colonias de *Aspergillus flavus* en agar glucosado de Sabouraud.

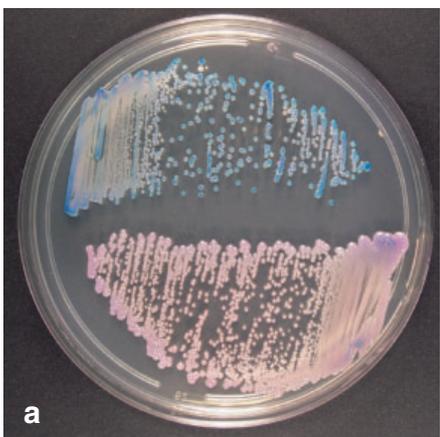


a

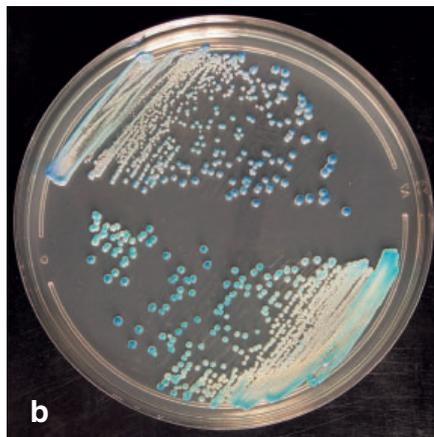


b

Figura 8.8. Colonias verdes de *Candida albicans* en el medio cromógeno CHROMagar Candida, junto a colonias de otras especies de levaduras de interés médico (a); junto a colonias de *Aspergillus* (b).



a



b

Figura 8.9. Medio cromógeno Candida ID2 (bioMérieux). a) Diferencia entre *Candida albicans* (colonias azules) y *Candida tropicalis* (colonias rosas); b) Diferencia entre *Candida albicans* (colonias azul cobalto) y *Candida dubliniensis* (colonias azul turquesa).

8.4.5. Dificultades

La cuantía de la muestra clínica condicionará los procedimientos diagnósticos; si esta es escasa, el cultivo, al ser más sensible, debe ser prioritario. En el caso de las biopsias, es casi seguro que una parte se habrá procesado para su estudio histológico, por lo que la toma de una decisión se ve facilitada.

El calentamiento de la muestra en contacto con KOH, para su posterior observación al microscopio, elimina las burbujas de aire atrapadas por el cubreobjetos pero también facilita la evaporación y la formación de cristales que pueden dificultar la lectura.

Cuando se empleen tinciones, se debe tener en cuenta que la tinción de hematoxilina-eosina no siempre tiñe bien los hongos y que las tinciones de PAS y de plata-metenamina pueden enmascarar el color natural del hongo, impidiendo ver los detalles internos de las hifas; además, algunas estructuras tisulares pueden teñirse de un color similar a las estructuras fúngicas (Capítulo 14a).

La evaluación de un cultivo de muestras orales donde aparecen colonias fúngicas no puede reali-

zarse de forma independiente de la presencia de lesiones compatibles con una candidiasis oral. Es importante valorar el número de colonias crecidas en las placas y su relación con lo observado en el frotis oral.

Los lavados orales proporcionan una orientación sobre la población fúngica presente en toda la cavidad oral, por lo que su utilidad diagnóstica es mucho menor que la de las muestras tomadas directamente de la lesión mediante torunda, espátula o cepillo citológico.

La presencia de infecciones polimicrobianas es bastante más difícil de detectar en medios como el agar glucosado de Sabouraud. Es recomendable utilizar un medio de agar cromógeno cuando exista la posibilidad de una infección polimicrobiana: las diferencias de color entre colonias facilitan la labor de aislamiento y posterior identificación de los aislamientos obtenidos.

En las muestras óticas y de senos paranasales, los hongos que se aíslan en el cultivo pueden ser tanto causantes de las lesiones como meros colonizadores saprobios. Por lo tanto, es imprescindible combinar los estudios micológicos con los histológicos para poder determinar la etiología de los cuadros invasores.

Referencias

- Quindós G, Pontón J. Candidiasis de la cavidad oral: Etiología, patogenia y diagnóstico de laboratorio. *Med Oral* 1996; 1: 85-95.
- Quindós Andrés G, Escobar Lara T, Pontón San Emeterio J. Hongos de interés oral. En Liébana Ureña J (ed.) *Microbiología oral*. 2ª ed. Madrid, MacGraw-Hill-Interamericana, 2002: 487-496.
- Negróni R. Lecciones de clínica micológica. Buenos Aires, La Agenda, 1997.
- Torres-Rodríguez JM, del Palacio-Hernanz A, Guarro-Artigas J, Negróni-Briz R, Pereiro-Miguens M (Eds.). *Micología Médica*. Barcelona, Masson, 1993.
- Márquez A, García-Martos P, Marín P, Delgado D, García Cantos MD, Mira J. Otitomycosis de etiología poco común. *Enferm Infec Microbiol Clin* 1999; 17: 243-245.
- Tena D, Garau M, Sainz J, Arribi A, Carrillo A, del Palacio A. Otitis externa infantil. *Enferm Infec Microbiol Clin* 1999; 17: 527-528.
- Garau M, Sánchez-Alor G, Toscano R, del Palacio A. Otitis invasora en un paciente inmunosuprimido. *Enferm Infec Microbiol Clin* 2000; 18: 43-44.
- Finegold SM, Martín WJ. Bailey-Scott. Diagnóstico microbiológico. 6ª Ed. Buenos Aires, Editorial Médica Panamericana, 1983.
- Peña Yáñez J. *Micología clínica. Técnicas y diagnóstico de las micosis*. Madrid, Editorial Ciencia 3, 1983.
- Kwon-Chung KJ, Bennett JE. *Medical Mycology*. Philadelphia, Lea & Febiger, 1992.
- Miller JM, Holmes HT. Specimen collection, transport, and storage. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (Eds.) *Manual of Clinical Microbiology*. 7ª ed. Washington, ASM Press, 1999: 64-104.
- Negróni R, Guelfand L. *Manual de procedimientos para laboratorios de Micología Médica. Actualizaciones Médico-Bioquímicas*, Buenos Aires, 2000.
- Barenfanger J. Identification of yeasts and other fungi from direct microscopic examination of clinical specimens. *Clin Microbiol Newslett* 1990; 12: 9-15.
- Aslanzadeh J, Roberts GD. Direct microscopic examination of clinical specimens for the laboratory diagnosis of fungal infections. *Clin Microbiol Newslett* 1991; 15: 185-188.
- Puras Gil AM, Montes M, Fernández-Seara P, López Cousillas A. Expresión morfológica de las infecciones fúngicas graves. Participación del patólogo en el diagnóstico. *Rev Iberoam Micol* 2000; 17: 34-40.
- Rüchel R, Schaffrinski M. Versatile fluorescent staining of fungi in clinical specimens by using the optical brightener Blankophor. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 2694-2696.
- Reisner BS, Woods GL, Thomson RB Jr, Larone DH, García LS, Shimizu RY. Specimen processing. In Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (Eds.) *Manual of Clinical Microbiology*. 7ª ed. Washington, ASM Press, 1999: 64-104.
- de Hoog GS, Guarro J, Gené J, Figueras MJ. *Atlas of clinical fungi*. 2ª Ed. Reus, Universitat Rovira i Virgili, 2000.
- San Millán R, Ribacoba L, Pontón J, Quindós G. Evaluation of CHROMagar Candida medium for *Candida* identification. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996; 15: 153-158.
- Quindós G, Alonso-Vargas R, Helou S, Arechavala A, Martín-Mazuelos E, Negróni R. Evaluación micológica de un nuevo medio de cultivo cromógeno (Candida ID) para el aislamiento e identificación presuntiva de *Candida albicans* y otras levaduras de interés médico. *Rev Iberoam Micol* 2001; 18: 23-28.
- Eraso E, Moragues MD, Villar-Vidal M, Sahand IH, González-Gómez N, Pontón J, Quindós G. Evaluation of the new chromogenic medium Candida ID2 for isolation and identification of *Candida albicans* and other medically important *Candida* species. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 3340-3345.
- Eraso E, Sahand IH, Villar-Vidal M, Marcos M, Moragues MD, Madariaga L, Pontón J, Quindós G. Usefulness of Candida ID2 agar for the presumptive identification of *Candida dubliniensis*. *Med Mycol* 2006; 44: 611-615.

