

Elisa Amor
María José Gutiérrez
M^a Teresa Cutulí

9.1. Fundamento

La mayoría de los hongos encontrados en las muestras del tracto gastrointestinal son parte de la flora saprofita de las personas sanas y por lo tanto es difícil establecer su significado clínico.

Las levaduras son los hongos más comúnmente aislados en los especímenes del tracto gastrointestinal, tanto en sujetos normales como en pacientes hospitalizados, pero más frecuentemente en estos últimos. Su presencia es especialmente importante en pacientes inmunodeprimidos, donde producen, sobre todo, cuadros de esofagitis.

En algunas situaciones clínicas es útil conocer la colonización del tracto gastrointestinal por levaduras, ya que puede predecir una candidiasis invasora, sobre todo en pacientes hospitalizados con factores de riesgo [1]. En estos casos se pueden utilizar los cultivos cuantitativos de heces, así como en los estudios epidemiológicos en los que se investiga la flora intestinal normal y su posible alteración en determinadas circunstancias, como la utilización de antibióticos [2].

9.2. Procesamiento de muestras esofágicas

9.2.1. Cepillado esofágico

Recogida

Mediante escobillón guiado por endoscopia, se recoge material preferentemente de las placas blanco-amarillentas o pseudomembranosas si las hubiese (Figura 9.1). Después, se frota el cepillo por la superficie de uno o varios portas limpios.

Transporte

Los portas se envían inmediatamente al labo-

ratorio protegidos en recipiente limpio, seco y herméticamente cerrado.

Conservación

A temperatura ambiente. Deben examinarse lo antes posible (aconsejable menos de 2 h).

Examen directo

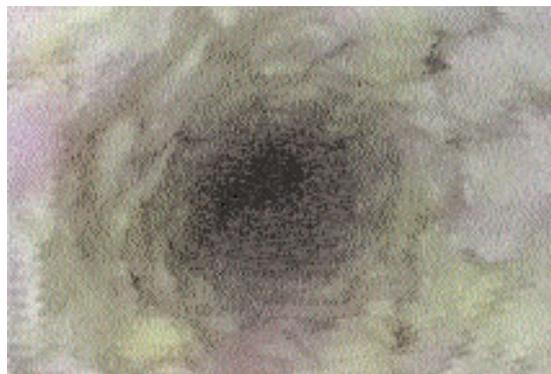


Figura 9.1. Imagen endoscópica de una esofagitis candidiásica masiva (Cortesía del Dr. Vicente Pons, Servicio de Medicina Digestiva, Hospital Universitario La Fe, Valencia).

Se realiza mediante la técnica de hidróxido potásico (KOH) o bien con blanco de calcoflúor (Capítulo 14). El material de cepillado esofágico no es adecuado para el cultivo de hongos.

Lectura e interpretación

Hay que valorar la presencia de levaduras e hifas.

Validación e informe

El resultado del examen microscópico puede emitirse inmediatamente, al ser una técnica rápida y sencilla de realizar.

9.2.2. Biopsia esofágica

Raramente es necesaria una biopsia esofágica para el diagnóstico de esofagitis candidiásica, ya que el cepillado esofágico ha demostrado ser muy sensible y específico para el diagnóstico de esta entidad [3]. Además, un cultivo positivo no diferencia entre colonización e infección. Sin embargo, si se sospecha una especie de *Candida* resistente u otro hongo patógeno (*Aspergillus*, *Histoplasma*), el cultivo puede ser útil [4].

Recogida

Es preferible tomar varias muestras de mucosa esofágica a través del gastroscopio para aumentar el rendimiento.

Transporte

En un recipiente estéril, añadiendo 4-5 ml de suero salino estéril.

Conservación

Refrigerado a 4 °C. Procesar lo antes posible (menos de 2 h).

Examen directo

Mediante KOH o blanco de calcoflúor.

Siembra

La manipulación de la muestra debe hacerse en campana de seguridad. El tejido se corta, mediante bisturí estéril, en pequeñas piezas (≈ 1 mm) que se depositan en la superficie del medio de cultivo, presionando suavemente para que queden implantadas en el agar. Los medios a utilizar deben incluir un agar Sabouraud con antibióticos y cicloheximida y otro sin cicloheximida, ya que esta última puede inhibir el crecimiento de *Cryptococcus* y algunas especies de *Candida*. Además, puede utilizarse un medio cromogénico para levaduras como Albicans ID o CHROMagar (Capítulo 11).

Incubación

A 30 °C en atmósfera aeróbica y durante 4 semanas.

Lectura e interpretación

La lectura de las placas se realiza diariamente durante la primera semana y tres veces por semana hasta el final de la incubación. Se investigará la presencia de colonias sugestivas de levaduras y posteriormente se realizará su identificación (Capítulo 11) y estudio de sensibilidad (Capítulos 15 y 16), si fuera necesario.

Validación e informe

Ante cualquier información valiosa deben emitirse informes preliminares (los informes telefónicos se acompañarán siempre de uno por escrito) y el informe definitivo de un cultivo positivo, al finalizar el trabajo de identificación. Los cultivos negativos se informan a las 4 semanas de incubación.

9.3. Procesamiento de muestras gástricas

9.3.1. Jugo gástrico o duodenal

El cultivo micológico del jugo gástrico sólo está indicado en estudios epidemiológicos para evaluar el valor predictivo de la colonización intestinal por *Candida* en la candidiasis sistémica.

Recogida

Mediante sonda nasogástrica, recoger unos 5 ml de aspirado gástrico en tubo estéril con cierre hermético.

Transporte

Inmediato al laboratorio.

Conservación

A su llegada al laboratorio neutralizar con un volumen igual de carbonato cálcico. Si no se puede procesar inmediatamente, conservar en nevera a 4 °C (menos de 24 h).

Examen directo

Se realiza con KOH o blanco de calcoflúor.

Siembra

Directa en agar Sabouraud con y sin cicloheximida y/o en un medio cromogénico.

Incubación

A 30 °C en atmósfera aeróbica durante 2-3 semanas.

Lectura e interpretación

Lectura diaria de las placas durante la primera semana y tres veces por semana hasta el final del período de incubación. Se investigará la presencia de colonias sugestivas de levaduras. Posteriormente se realizará su identificación (Capítulo 11).

Validación e informe

Emitir informes preliminares ante cualquier información valiosa (los informes telefónicos se acompañarán siempre de uno por escrito) y el informe definitivo de un cultivo positivo, al finalizar el trabajo de identificación. Los cultivos negativos se informan a las 4 semanas de incubación.

9.3.2. Biopsia gástrica

La metodología es la misma que la empleada en la biopsia esofágica (Apartado 9.2.2).

9.4. Procesamiento de heces

El procesamiento de heces para hongos no es aconsejable debido al escaso significado diagnóstico que tiene la presencia de levaduras en este tipo de muestra, ya que más del 40% de individuos sanos y más del 75% de pacientes inmunodeprimidos están colonizados por levaduras sin presentar trascendencia clínica alguna [5].

Sin embargo, el crecimiento de una gran cantidad de levaduras en las heces, posiblemente tiene un valor predictivo de micosis invasora en circunstancias clínicas concretas: trasplante de médula ósea, recién nacidos de muy bajo peso, pacientes oncológicos y pacientes ingresados en UCI.

Recogida

Recoger una cantidad aproximada de 10-20 g de heces recién emitidas, en frasco limpio sin conservante y herméticamente cerrado. No utilizar torundas.

Transporte

Lo antes posible (menos de 2 h).

Conservación

Siempre a 4 °C. Procesar lo antes posible ya que es una muestra altamente contaminada con bacterias.

Examen directo

No recomendado.

Siembra

Puede realizarse cuantitativa o semicuantitativamente:

- **Semicuantitativa:** Siembra directa en agar Sabouraud con cloranfenicol y en medio cromogénico para levaduras.
- **Cuantitativa:** Se homogeniza una porción de heces en suero salino para que la mezcla final contenga 0,1 g de heces por ml. Se mezcla en Vórtex durante 2 min y se hacen diluciones seriadas en proporción 1:10 en suero salino. Se inocula 100 µl de cada dilución en Sabouraud agar con cloranfenicol (SDAC).

Incubación

A 30 °C durante 48 h.

Lectura e interpretación

- **Técnica semicuantitativa:** Valorar la intensidad del crecimiento (ligero, medio o abundante).
- **Técnica cuantitativa:** Contar el número de colonias y multiplicar por el factor de dilución. Se considera normal una cifra igual o menor a 10^4 UFC/ml [1].

Validación e informe

Informar los resultados de la lectura realizada a las 48 h. A efectos epidemiológicos, también debe informarse la identificación de la especie aislada.

9.5. Dificultades

El procesamiento para el estudio micológico de las muestras del tracto gastrointestinal no reviste en sí mismo grandes dificultades. Sin embargo, la complicación puede surgir en el momento de valorar el significado clínico de la presencia de levaduras en estas muestras. El cultivo de jugo gástrico y

Unos consejos...

- Siempre que sea posible, evitar el procesamiento rutinario de estas muestras para cultivo micológico.
- El examen directo con KOH del cepillado esofágico es sencillo de realizar y fácil de interpretar, no necesitando microscopio de fluorescencia.

Referencias

1. Jarvis W. The epidemiology of colonization. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1996; 17: 47-52.
2. Samonis G, Gikas A, Anaissie E, *et al.* Prospective evaluation of effects of broad-spectrum antibiotics on gastrointestinal yeast colonization of humans. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37: 51-53.
3. Bonacini M, Young T, Laine L. The causes of esophageal symptoms in human immunodeficiency virus infection. *Arch Intern Med* 1990; 151: 1572.
4. Baerh P, McDonald G. Esophageal infections: risk factors, presentation, diagnosis and treatment. *Gastroenterology* 1994; 106: 509-532.
5. Reisner B, Woods G, Thomson Jr R, Larone D, García L, Shimizu R. Specimen processing. *Mycology*. En: Murray P, Baron E, Pfaller M, Tenover F, Tenover R (Eds.). *Manual of Clinical Microbiology*, 7th ed, Washington D.C., American Society for Microbiology Press, 1999: 85-89.
6. Slotman GS, Shapiro R, Moffa SM. Fungal sepsis: multisite colonization versus fungemia. *Ann Surg* 1994; 60: 107-113.
7. Muñoz P, Burillo A, Bouza E. Criterios clínicos y microbiológicos para decidir el inicio de un tratamiento antifúngico frente a *Candida* spp en pacientes de UCI. *Medicina Intensiva* 1999; 23: 47-53.

Bibliografía complementaria

- Jones JM. Laboratory diagnosis of invasive candidiasis. *Clin Microbiol Rev* 1990; 3: 32-45.
- Kwon-Chung K, Bennett J. *Medical Mycology*.