

IDENTIFICACIÓN DE HONGOS LEVADURIFORMES DE INTERÉS MÉDICO

AUTORAS-COMPILADORAS

Medvedeff, Martha Gladys
Chade, Miriam Estela
Mereles, Beda Elizabeth
Vedoya, María Celina

EDICIONES ESPECIALES

IDENTIFICACIÓN DE HONGOS LEVADURIFORMES DE INTERÉS MÉDICO

AUTORAS-COMPILADORAS

Medvedeff, Martha Gladys
Chade, Miriam Estela
Mereles, Beda Elizabeth
Vedoya, María Celina

EDITORIAL UNIVERSITARIA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MISIONES

EDITORIAL UNIVERSITARIA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MISIONES

San Luis 1870
Posadas - Misiones - Tel-Fax: (03752) 428601

Correos electrónicos:
edunam-admini@arnet.com.ar
edunam-direccion@arnet.com.ar
edunam-produccion@arnet.com.ar
edunam-ventas@arnet.com.ar

Coordinación de la edición: Claudio O. Zalazar

Armado de interiores: Javier B. Giménez

Medvedeff, Martha
Curso básico identificación de hongos levaduriformes de interés médico. - 1a ed. - Posadas: EdUNaM - Editorial Universitaria de la Universidad Nacional de Misiones, 2008.
76 p. ; 30x21 cm.

ISBN 978-950-579-112-5

1. Micología. I. Título
CDD 616.969

Fecha de catalogación: 09/10/2008

Hecho el depósito de la ley 11723
Impreso en Argentina
ISBN: 978-950-579-112-5

Editorial Universitaria
Universidad Nacional de Misiones, Posadas, 2008.
Todos los derechos reservados para la primera edición.

ÍNDICE

CAPITULO 1	
Medidas de Bioseguridad en el Laboratorio de Micología.....	9
CAPÍTULO 2	
Generalidades de los Hongos	11
CAPÍTULO 3	
Micosis Oportunistas	25
CAPÍTULO 4	
Candidosis	27
CAPÍTULO 5	
Criptococosis	35
CAPÍTULO 6	
Infecciones Sistémicas por Levaduras Lipófilas	43
CAPÍTULO 7	
Procedimientos de Laboratorio para la Identificación de Hongos Levaduriformes.....	45
CAPÍTULO 8	
Contribución al Estudio de Hongos Levaduriformes en la Ciudad de Posadas y Area de Influencia	65
BIBLIOGRAFIA	71

CAPÍTULO 1

MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO DE MICOLOGÍA

La bioseguridad laboral es un área de especial interés para el personal que trabaja en un laboratorio de Micología.

En la naturaleza la mayoría de los hongos filamentosos, llamados contaminantes comunes, desarrollan estructuras que se dispersan en el aire (conidios, cuerpos fructíferos aéreos o arthroconidias) y pueden permanecer en el ambiente durante períodos prolongados de tiempo, resistiendo a la desecación. La posibilidad de contraer una infección fúngica es por lo tanto un riesgo ocupacional importante, siendo las vías de transmisión más comunes para dicha infección: la respiratoria y el contacto directo con la piel y mucosas. Uno de los problemas más frecuentes en los laboratorios de micología es la contaminación de cultivos y materiales por dichos hongos, por lo que la limpieza constante y adecuada de todas las áreas de laboratorio debe extremarse y realizarse, por lo menos, cada semana. Al mismo tiempo, son importantes las siguientes medidas que deben ser cumplidas estrictamente en el laboratorio:

- *No comer ni beber*
- *No fumar*
- *No tener plantas naturales*
- *Llevar ropa de trabajo limpia*
- *Evitar corriente de aire*
- *No permitir la entrada a visitas o personas extrañas al laboratorio.*

PRECAUCIONES QUE DEBE TENER EL PERSONAL DE LABORATORIO

- Mientras se trabaja con material potencialmente infeccioso, se deberá usar bata o uniformes de laboratorio.
- Se deberán usar guantes para evitar el contacto directo de la piel con sangre, especímenes que contengan sangre, objetos manchados de sangre, líquidos corporales, excreciones, secreciones, así como superficies, materiales y objetos expuestos.
- Lavarse las manos con los guantes puestos con hipoclorito de sodio al 5% diluido en agua 1:10, cada media hora.
- No se deberá comer o fumar en las áreas de trabajo.
- Lavarse las manos después de quitarse la ropa protectora y antes de salir del laboratorio. Se dejará la bata en el sitio de trabajo y sólo se sacará para lavarla.
- Después de cualquier derrame de material potencialmente infeccioso es preciso limpiar la superficie de trabajo de los laboratorios con hipoclorito de sodio al 0,5%
- No abrir la centrifuga hasta que haya parado totalmente.
- Limpie la centrifuga con hipoclorito cada vez que se use.
- No emplear la boca para succionar líquido con cualquier clase de pipeta.
- Usar pipetas automáticas y jeringas con tubo de hule para las pipetas de vidrio.
- Tener un recipiente con hipoclorito para desecho, en el que se verterá el material utilizado.

MANEJO DE MUESTRAS DE ALTO RIESGO

Se consideran muestras de alto riesgo aquellas que proceden de pacientes con diagnóstico comprobado de hepatitis viral tipo B o de otras enfermedades infectocontagiosas, como tuberculosis. Sin embargo, actualmente las muestras que más cuidados necesitan son las muestras de pacientes con SIDA, de las cuales se mencionan a continuación las principales medidas recomendadas por la OMS y el Center Diseases Control (CDC) para la prevención de infecciones accidentales en el personal de laboratorio:

- Lavarse las manos antes y después del contacto con los pacientes
- No reutilizar las jeringas y agujas después de sangrar o puncionar a los pacientes
- Desechar jeringas, agujas, recipientes, frascos, gasas y todos los utensilios empleados en la toma y manejo de muestras, envolviéndolos en papel resistente y cerrado perfectamente el paquete con cinta adhesiva antes de esterilizarlo o incinerarlo
- Uso de guantes desechables, barbijos y bata cerrada
- Uso de lentes o mascarillas si hay riesgo de salpicaduras o contacto con algún aerosol de los pacientes
- Pipeteo mecánico de los fluidos patológicos
- Desinfectar el lugar de trabajo donde se procesan las muestra con hipoclorito de sodio al 0,5%, formol 20% o con fenol al 5%, antes y después de usarlo
- Manejar las muestras y el material empleado con movimientos lentos y seguros para evitar tirarlos y ocasionar punciones accidentales o cortaduras. En caso de producirse heridas, éstas deberán lavarse enérgicamente con agua y jabón antiséptico y vigilar el accidentado con reacciones serológicas periódicas. Hay que tomar en cuenta que el riesgo de infección en la personas que sufren una inoculación accidental es muy bajo, inferior al 1%.
- Muchos autores no recomiendan etiquetar en forma especial las muestras de pacientes con SIDA, en vista de que todas la muestras patológicas deben ser manejadas con extremo cuidado, sin embargo, la falta de esta etiqueta podría causar una falsa confianza en el manejo de las muestras.

CAPÍTULO 2

GENERALIDADES DE LOS HONGOS

CARACTERÍSTICAS

Los hongos son organismos muy abundantes y ubicuos en la naturaleza; constituyen uno de los cinco reinos de los seres vivos, el reino Fungi, el cual está constituido por unas 150.000 a 200.000 especies diferentes. Tienen una gran diversidad de formas, tamaños y pueden vivir en sustratos y condiciones ambientales más variados; aprovechan elementos nutritivos muy simples y forman parte elemental de la vida del hombre y de otros organismos.

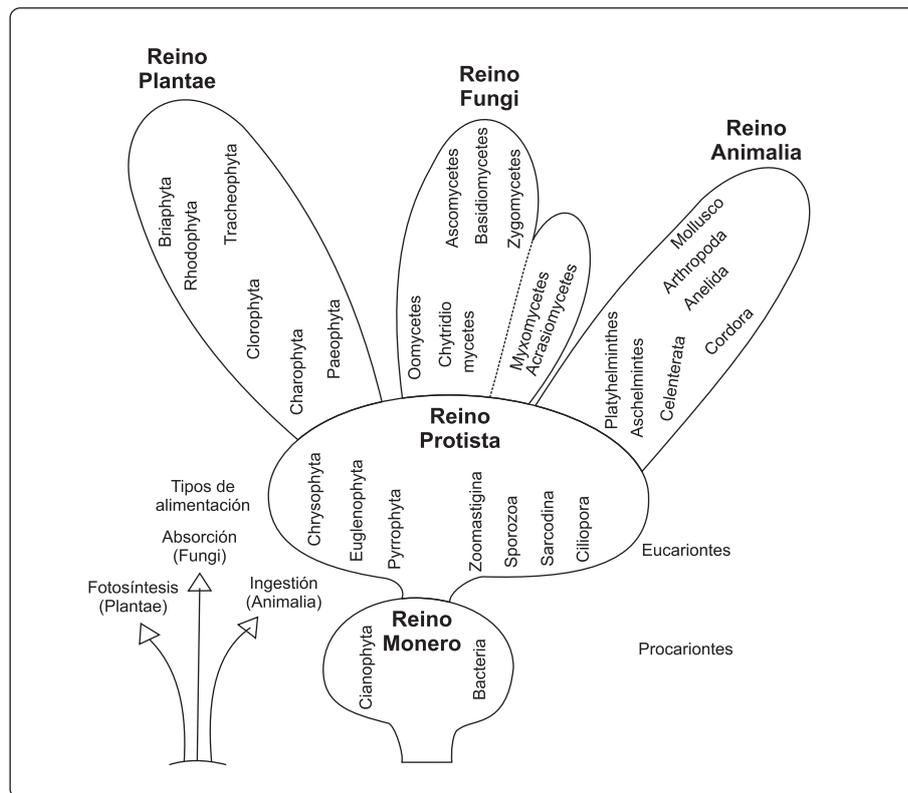


Figura N°1. División de los organismos en cinco reinos, de acuerdo al nivel de organización (Modificado por Wittaker, R. H. "New concepts of King of Organisms", Science, 163: 150-159, 1969)

Son organismos heterótrofos y se alimentan por absorción, están formados por células eucarióticas y pueden ser uni o multinucleados; el conjunto de las hifas, el cual forma el micelio, puede ser homo o heterotálico, dicariótico y rara vez diploide. La pared celular está constituida por polisacáridos del tipo de quitina, también se encuentran mananos, glucanos y celulosa. El principal componente lipídico de la pared celular es el ergosterol. Los hongos sintetizan lisina por vía del ácido L-aminolipídico. Son aerobios y la reproducción la efectúan, ya sea por un mecanismo sexual (teleomorfismo), o por uno asexual (anamorfismo).

Los hongos unicelulares están representados por las levaduras, y los multicelulares por los hongos filamentosos.

TAXONOMÍA

Una de las clasificaciones más aceptadas es la que divide al reino Fungi en dos divisiones: Mixomycota y Eumycota. Los Mixomycota son hongos inferiores de pared delgada y de tipo gelatinoso o limoso; están muy ornamentados y crecen en sustratos húmedos. Los Eumycota, considerados como

hongos superiores, pueden tener reproducción sexual o asexual, y están constituidos por cinco subdivisiones: Mastigomycotina, Zigomycotina, Ascomycotina, Basidiomycotina. A ésta última subdivisión se le conoce también como Fungi Imperfecti por no encontrarse aún en estos hongos formas de reproducción sexual. Los estudios recientes de filogenia, ontogenia conidial y de los componentes químicos de los hongos han motivado algunas reclasificaciones taxonómicas, asimismo, muchos de los géneros y especies de hongos imperfectos en los que se descubre una reproducción sexual adquieren una doble nomenclatura taxonómica, ya que también se ubican, de acuerdo al tipo de esporas sexuales, en alguna de las cuatro divisiones de hongos perfectos. La mayoría de los hongos patógenos para el hombre están comprendidos en la división Deuteromycotina.

MORFOLOGÍA

La célula fúngica puede ser uni o multinucleada, contiene una membrana y una pared celular formada por varias capas. En el citoplasma se encuentran varias organelas, como mitocondrias, ribosomas, lisosomas, retículo endoplásmico, microfibrillas, etc. La mayoría de los hongos son microscópicos y la unidad anatómica fundamental es la hifa, que en los hongos unicelulares está representada por la levadura, de forma redonda u oval. En cambio cuando son multicelulares, los hongos adoptan generalmente la forma filamentosa; los filamentos o hifas pueden ser aseptadas o cenocíticos, como sucede en Mastigomycotina y Zygomycotina; o bien septados como sucede en las otras divisiones. Figura 2.

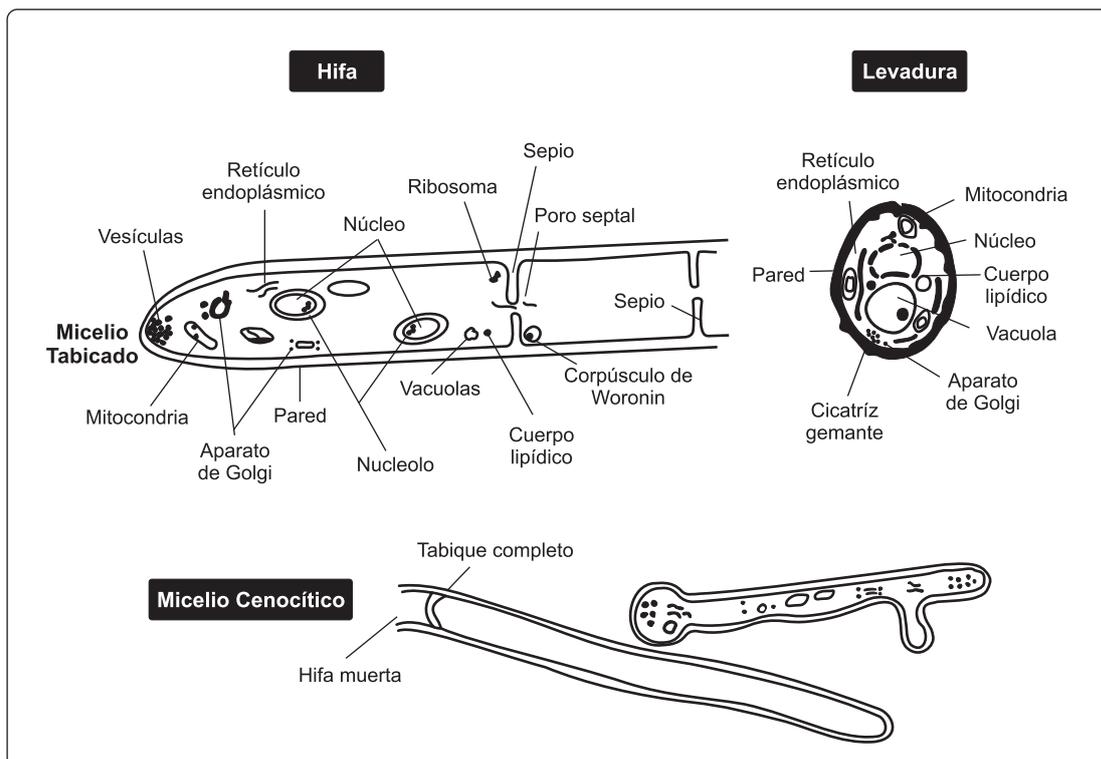


Figura N°2. Ultraestructura de la célula fúngica.

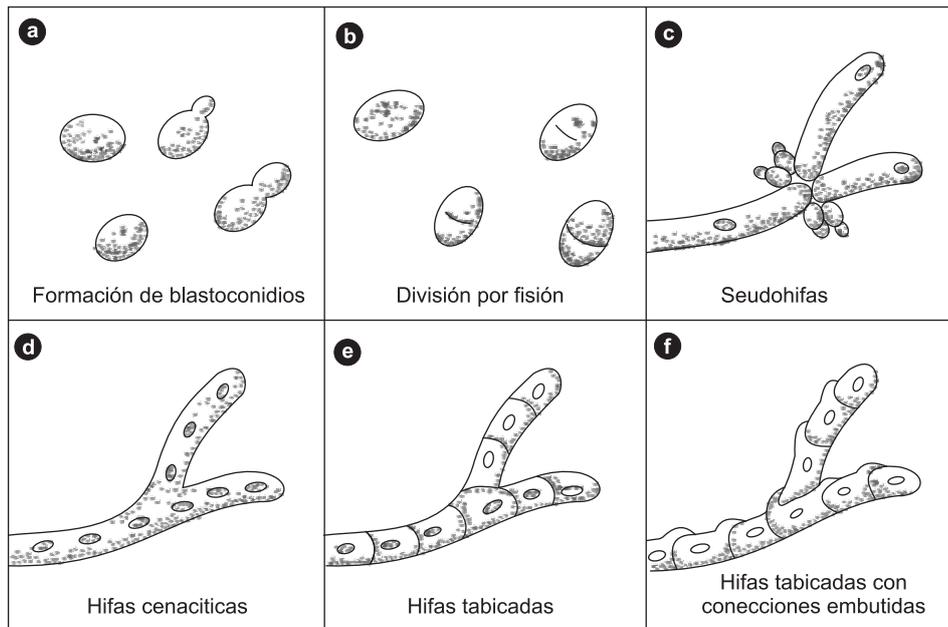


Figura N°3. Morfología de la célula fúngica. A, células tipo levadura reproduciéndose mediante formación de blastoconidios. B, células tipo levadura dividiéndose por fisión. C, formación de pseudohifas. D, hifas cenocíticas. E, hifas tabicadas. F, hifas tabicadas con conexiones en abrazadera

Las hifas generalmente miden 3 a 8 micras de diámetro; el crecimiento es apical y tienden a ramificarse para formar el micelio, el cual puede ser observable a simple vista como un moho.

Según su función, el micelio se divide en vegetativo y reproductor. El primero está inmerso en el sustrato y se encarga de la absorción de los nutrientes; el segundo llamado micelio aéreo, se encuentra libre y en él se desarrollan las estructuras de reproducción, esporas o conidios, las cuales tienen la función de multiplicación y dispersión de los hongos en la naturaleza.

REPRODUCCIÓN

Las estructuras de reproducción o propágulos pueden ser de tipo sexual denominándoseles esporas; en tanto que a las de tipo asexual se les denomina conidios, a excepción de las esporas asexuales que se producen en los esporangios de los Zygomycotina. En los mastigomycotina, se observa el tipo de esporas sexuales llamadas oosporas; en los Zygomycotina, zygosporas; en los Ascomycotina, ascosporas y en los Basidiomycotina, basidiosporas.

Las ascosporas están contenidas en estructuras cerradas llamadas ascas, y estas emergen en muchas ocasiones de un estroma que forma el cuerpo de fructificación, llamado ascocarpo, el cual, dependiendo de su forma, puede ser apotecio, peritecio, cleistotecio, o gimnotecio.

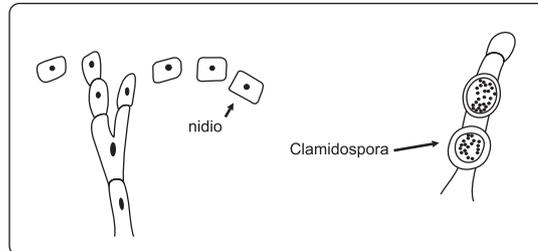
Las basidiosporas emergen de los esterigmas que están sobre los basidios y estos generalmente también están contenidos en un cuerpo fructífero llamado basidiocarpo. A pesar de que en estas divisiones de hongos perfectos se logra una reproducción sexual es muy común que también se reproduzcan asexualmente. En los Deuteromycotina en cambio sólo se observa el tipo de reproducción asexual. Los conidios, según su forma o bien el tipo de célula conidiogénica de donde proceden, son denominados arthroconidios, dictioconidios, blastoconidios, clamidoconidios, fialoconidios, poroconidios, aneloconidios, etc.

REPRODUCCION ASEXUAL

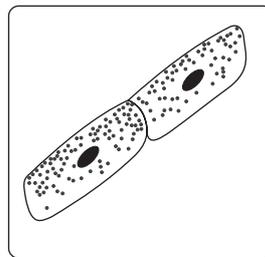
Este tipo de reproducción es más importante para la propagación de la especie ya que origina la producción de numerosos individuos, particularmente porque el ciclo asexual se repite varias veces al año; en tanto el sexual, en muchos hongos se presenta una sola vez.

Los modos de reproducción asexual que se encuentran comúnmente son:

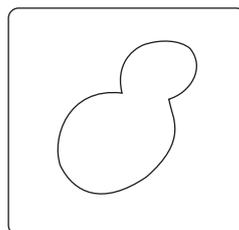
1- Fragmentación somática y crecimiento de un nuevo individuo a partir de cada fragmento: las hifas se rompen en sus células componentes que toman al nombre de *oídeos* (*oidion*: pequeño huevo) o *artrosporas* (*arthron*: articulación + *sporos*: espora). Si la célula antes de separarse se rodea de una pared gruesa se llama *clamidospora* (*chlamys*: manto + *sporos*: espora). La fragmentación puede ocurrir por rotura del micelio debido a fuerzas externas, por ejemplo, en el laboratorio cuando transferimos un trozo de micelio a un nuevo medio de cultivo empleamos la fragmentación miceliana para originar una nueva colonia.



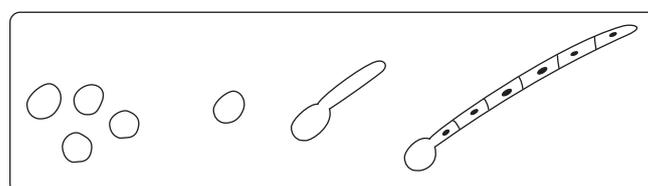
2- Fisión de células somáticas en células hijas: la fisión es la simple partición de una célula en dos células hijas por estrangulamiento y formación de una pared celular. Es característica de las bacterias y de algunas levaduras.



3- Formación de células somáticas o esporas y producción de un nuevo individuo a partir de cada yema: la gemación es la producción de un pequeño crecimiento a partir de la célula madre. El núcleo se divide y uno de los núcleos hijos migra a la yema, la que va aumentando de tamaño y luego se desprende para formar un nuevo individuo. A veces se producen cadenas de yemas que forman un corto micelio. La gemación tiene lugar en la mayoría de las levaduras y en otros hongos en ciertos estadios de su ciclo de vida o en ciertas condiciones de crecimiento.



4- Producción de conidios: cada uno de los cuales forman un tubo germinal que iniciará un nuevo micelio y cumple la función de diseminación de la especie porque se produce varias veces al año. Son menos resistentes que las clamidosporas a los cambios adversos (temperatura, humedad, pH, etc).



COMPORTAMIENTO FISIOLÓGICO Y NUTRICIONAL

Aún cuando los hongos pueden subsistir en rangos de pH muy amplios, la mayoría viven en medios ligeramente ácidos entre 6,0 y 6,5, la temperatura más adecuada para su desarrollo es de 20 a 25°C, sin embargo algunos se conservan viables a temperaturas de congelación, otros resisten hasta 55°C. La mayor parte de los hongos necesitan oxígeno para vivir aunque algunos se desarrollan en tensiones altas de CO₂. La humedad relativa alta también es importante para su desarrollo y fructificación; sin embargo, algunos conidios se conservan viables a la desecación. La humedad relativa de 60 a 80% favorece el desarrollo de la mayoría de los hongos filamentosos.

Los hongos no tienen grandes exigencias nutricionales: aprovechan bien la mayoría de los azúcares y almidones, así los aminoácidos más comunes y algunos compuestos lipídicos. Las vitaminas y minerales pueden ser aprovechados por algunas especies particulares de hongos, sin embargo son muy pocos los que tienen requerimientos estrictos de nutrición y vitaminas.

Muchos hongos cambian su morfología y su comportamiento fisiológico cuando varían los factores nutricionales. Dentro de estos cambios se encuentran los fenómenos de pleomorfismo, dimorfismo, complicación morfológica y reducción morfológica parasitaria.

CLASIFICACIÓN CLÍNICA DE LAS MICOSIS

Una de las clasificaciones clínicas más conocidas y aceptadas es la que divide a las micosis en superficiales, subcutáneas, sistémicas y oportunistas.

Cuadro N°1. Clasificación clínica de las micosis

- | | |
|--------------------------------|--|
| • Micosis superficiales | Pitiriasis versicolor,
Foliculitis
Dermatitis seborreica
Tiña negra (Exofialosis)
Piedras |
| • Micosis cutáneas | Dermatofitosis
Dermatomicosis |
| • Micosis subcutáneas | Esporotricosis, Feohifomicosis,
Cromomicosis, Rinosporidiosis,
Eumicetomas, Conidiobolomicosis
Lobomicosis, Basidiobolomicosis |
| • Micosis sistémicas | Paracoccidioidomicosis, Histoplasmosis,
Coccidioidomicosis, Blastomicosis |
| • Micosis oportunistas | Candidosis, Geotricosis, Criptococosis,
Fusariosis, Mucormicosis, Scedosporiosis
Escopulariopsis, Peniciliosis,
Aspergilosis, Rodotorulosis |
| • Seudomicosis | Eritrasma, Queratolisis plantar,
Tricomosis, Dermatofitosis,
Prototecosis, Actinomicosis,
Nocardiosis, Actinomicetoma. |

En esta clasificación predomina un criterio topográfico, sin embargo, *las micosis oportunistas aquí incluidas pueden localizarse en cualquiera de las regiones corporales.*

Los hongos que producen las micosis superficiales tienen capacidad únicamente para afectar algunas capas de la epidermis, pelos, y anexos, muchos de estos hongos son antropofílicos, algunos zoofílicos y unos cuantos geofílicos.

Las micosis subcutáneas afectan a la piel como puerta de entrada, extendiéndose al tejido celular subcutáneo y con capacidad para invadir otros tejidos profundos, como el muscular y el óseo. Tienden a afectar a los tejidos de las regiones corporales donde penetran sin que se observen comúnmente diseminaciones de tipo hematógeno o linfático.

Las micosis sistémicas se localizan principalmente a nivel pulmonar y posteriormente tienden a diseminarse por vía hematógena a diferentes sistemas, órganos y tejidos del cuerpo, éstas suelen ser las micosis más graves. Tanto los hongos que producen las micosis subcutáneas como las que producen las sistémicas viven libres en la naturaleza.

Las primeras se adquieren por penetración a través de heridas en la piel y las segundas por inhalación; ninguna de las dos son contagiosas. Existen otros padecimientos causados por algunas bacterias del grupo Actinomycetales y diversos *Corynebacterium*, así como también ciertas algas aclorófilas que se estudian en micología médica y se denominan falsas micosis o pseudomicosis.

Muchos de estos organismos fueron erróneamente clasificados como hongos y a pesar de que su ubicación taxonómica está bien definida dentro de los Eubacteriales, por tradición siguen ocupando un lugar dentro de los contenidos de la micología médica. Tal es el caso de los micetomas actinomicóticos, la actinomicosis, la nocardiosis, el eritrasma, la tricomicosis y la prototecosis, esta última causada por algas del género *Prototheca*.

MECANISMOS DE INFECCIÓN

Prácticamente todos los mecanismos de infección descritos en otras enfermedades están presentes en las micosis. El contacto directo es el mecanismo de infección más común en las micosis superficiales y se establece través del contacto de la piel o de las mucosas con las personas o animales enfermos, o con el suelo u objetos que contienen los hongos patógenos. La penetración de los hongos a través de heridas en la piel constituye el principal mecanismo de infección de las micosis subcutáneas, y la inhalación de los hongos lo es para las micosis sistémicas. No obstante pueden existir otros mecanismos de infección menos comunes, como la ingestión, la implantación en cavidades o la inoculación directa, generalmente accidental, de los hongos. Las micosis oportunistas tienen mecanismos de infección más diversos, ya que una vez localizado el hongo oportunista en cualquier parte del cuerpo humano, es indispensable que el paciente tenga uno o varios de los factores de oportunismo que median este grupo de micosis para que se desarrolle la enfermedad.

Cuadro N°2. Principales mecanismos de infección en las micosis.

<p>• I. Contacto directo</p> <p>Micosis superficiales</p>	<p>Hombre a hombre Ej. <i>Trichophyton tonsurans</i></p> <p>Animales a hombre Ej. <i>Microsporum canis</i></p> <p>Suelo a hombre Ej. <i>Microsporum gypsum</i></p>
<p>• II. Penetración a través de heridas en la piel</p> <p>Micosis subcutáneas</p>	<p>Ej. <i>Fonsecae pedrosoi</i></p> <p><i>Sporothrix schenckii</i></p>
<p>• III. Inhalación</p> <p>Micosis sistémicas</p>	<p>Ej. <i>Paracoccidioides brasiliensis</i> <i>Histoplasma capsulatum</i> <i>Coccidioides immitis</i></p>

- **IV. Penetración a través de venoclisis, inyecciones, implantaciones directas**

Ej. *Candida*, *Aspergillus*,
Mucor, *Rhizopus*

Micosis oportunistas

- **V. Autoinfección**

Ej. *Trichophyton rubrum*
Malassezia furfur
Actinomyces israelii

Diversas micosis

FRECUENCIA Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

Las micosis superficiales y oportunistas son universales y de alta frecuencia; los hongos que la producen están ampliamente distribuidos en la naturaleza. En cambio, las micosis subcutáneas y sistémicas son en general menos frecuentes; tienen una distribución geográfica limitada a regiones donde habitan en forma libre los hongos causantes, los cuales viven bajo ciertas condiciones biológicas, sobre diversos sustratos, como tierra, vegetales, detritus orgánico, guano de murciélagos, etc. Estas micosis predominan en zonas tropicales o subtropicales y son de mayor gravedad que las micosis superficiales.

EDAD, SEXO, OCUPACIÓN

A excepción de algunas micosis que predominan en ciertos grupos de edad, como la tiña capitis y la basidiobolomicosis en los niños, o la tiña inguinal y la cromomicosis en los adultos, la mayoría de las micosis tienen una distribución más o menos uniforme en todos los grupos de edad. No obstante, las micosis sistémicas y subcutáneas tienen una predominancia mayor en el adulto, muy probablemente por razones ocupacionales.

En cuanto al sexo se observa una preferencia de las micosis hacia el sexo masculino, acentuándose más en las micosis subcutáneas y sistémicas, donde la proporción de hombres con respecto a las mujeres es aproximadamente 4:1. En paracoccidioidomicosis esta proporción se eleva 10:1 es muy probable que el predominio en el hombre esté dado tanto por factores ocupacionales como hormonales. La excepción de este fenómeno es la tiña negra (exofialosis superficial), donde la frecuencia es mayor en la mujer en una proporción 3:1.

Muchas de las micosis son consideradas de tipo ocupacional, como la histoplasmosis en los mineros, los micetomas, y la cromomicosis en los campesinos, la esporotricosis en los alfareros y floricultores y la candidosis ungueal e intertriginosa en las lavanderas y mondadoras de frutas.

Es importante considerar que en la producción de las micosis entran en juego, además de las condiciones de edad, sexo, ocupación, los factores de patogenicidad y virulencia de los hongos, así como factores del huésped como los inmunológicos, genéticos, nutricionales, pH, humedad, maceración de la piel, y flora bacteriana asociada.

El grado de participación de estos factores determina que haya o no infección, así como la benignidad o gravedad de la micosis.

DIAGNÓSTICO

La metodología diagnóstica en las micosis incluye los mismos criterios y procedimientos que se emplean en otras enfermedades infecciosas. Es importante señalar que en el diagnóstico de una micosis es indispensable la participación de un equipo multidisciplinario de profesionales donde, por su parte, el médico estudia la sintomatología atribuible a la micosis y los antecedentes epidemiológicos. Posteriormente la comprobación diagnóstica se efectúa en el laboratorio de micología médica, en donde se procede a realizar los estudios de aislamiento e identificación de los hongos causales. Otros importantes auxiliares en el diagnóstico de las micosis son los procedimientos histopatológicos, inmunológicos y diversos estudios de gabinete (cuadro 3), y recientemente los procedimientos de biología y genética molecular, como PCR, hibridaciones de ADN, etc.

Cuadro N°3. Procedimientos de diagnóstico en las micosis

I. Epidemiológicos	<ul style="list-style-type: none"> Edad, sexo, ocupación, Lugar de procedencia Otros casos similares Mecanismos de infección 						
II. Clínicos	<ul style="list-style-type: none"> Aspecto de las lesiones Tiempo de evolución Órganos afectados Signos y síntomas Factores de oportunisto 						
III. Laboratorio	<table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td data-bbox="571 707 791 775" style="width: 50%; vertical-align: top;"> <ul style="list-style-type: none"> De aislamiento e Identificación </td> <td data-bbox="943 633 1326 806" style="width: 50%; vertical-align: top;"> <ul style="list-style-type: none"> Toma de muestra Examen microscópico directo Frotis Cultivo Inoculación en animales </td> </tr> <tr> <td data-bbox="571 947 767 978" style="vertical-align: top;"> <ul style="list-style-type: none"> Inmunológicos </td> <td data-bbox="943 844 1321 1122" style="vertical-align: top;"> <ul style="list-style-type: none"> Inmunofluorescencia Precipitación en capilar Inmunodifusión Contrainmunoelectroforesis Aglutinación de látex R.F.C. Western blott ELISA Intradermorreacciones. </td> </tr> <tr> <td data-bbox="571 1261 724 1292" style="vertical-align: top;"> <ul style="list-style-type: none"> Fisiológicos </td> <td data-bbox="943 1189 1337 1361" style="vertical-align: top;"> <ul style="list-style-type: none"> Requerimientos nutricionales Asimilaciones Fermentaciones Hidrólisis Reducción de sales </td> </tr> </table>	<ul style="list-style-type: none"> De aislamiento e Identificación 	<ul style="list-style-type: none"> Toma de muestra Examen microscópico directo Frotis Cultivo Inoculación en animales 	<ul style="list-style-type: none"> Inmunológicos 	<ul style="list-style-type: none"> Inmunofluorescencia Precipitación en capilar Inmunodifusión Contrainmunoelectroforesis Aglutinación de látex R.F.C. Western blott ELISA Intradermorreacciones. 	<ul style="list-style-type: none"> Fisiológicos 	<ul style="list-style-type: none"> Requerimientos nutricionales Asimilaciones Fermentaciones Hidrólisis Reducción de sales
<ul style="list-style-type: none"> De aislamiento e Identificación 	<ul style="list-style-type: none"> Toma de muestra Examen microscópico directo Frotis Cultivo Inoculación en animales 						
<ul style="list-style-type: none"> Inmunológicos 	<ul style="list-style-type: none"> Inmunofluorescencia Precipitación en capilar Inmunodifusión Contrainmunoelectroforesis Aglutinación de látex R.F.C. Western blott ELISA Intradermorreacciones. 						
<ul style="list-style-type: none"> Fisiológicos 	<ul style="list-style-type: none"> Requerimientos nutricionales Asimilaciones Fermentaciones Hidrólisis Reducción de sales 						
IV. Gabinete	<ul style="list-style-type: none"> Radiografía Tomografía axial computada Ecograma Luz de Wood 						
V. Histopatológicos							

CONCEPTOS FUNDAMENTALES DE LA MICOLOGÍA MÉDICA

Existen ciertos criterios y conceptos cuyo conocimiento es de gran utilidad para el mejor manejo y comprensión del comportamiento biológico de los hongos patógenos, en función de las relaciones huésped-parásito. Algunos de éstos se prestan a controversias, sin embargo, son de uso cotidiano en la micología médica:

- *Pluralidad etiológica.* Este concepto se refiere a un cuadro clínico que puede ser originado por varios agentes etiológicos, por ejemplo: el micetoma, las tiñas y la cromomicosis.
- *Polimorfismo lesional.* Es la formación de varios cuadros clínicos originados por un solo agente etiológico, por ejemplo *Nocardia asteroides* (micetoma y nocardiosis), *Aspergillus flavus* (aspergilosis, alergias y micotoxiosis) y *Alternaria alternata* (feohifomicosis, alternariosis).
- *Complicación morfológica.* Se da cuando una misma especie de hongo se siembra en medios de cultivo y condiciones ambientales diferentes (temperatura, concentración de CO2, pH, etc.)

pudiendo desarrollar estructuras morfológicas diferentes. Por ejemplo: *Pirenochaeta romeroi* cultivado en extracto de malta, y en la oscuridad produce peritecios, y cultivado en Sabouraud simple y a la luz sólo produce micelio

- *Pleomorfismo*. Este término se emplea para designar la pérdida de estructuras morfológicas características de un hongo cuando es subcultivado en repetidas ocasiones. Por ejemplo: *Epidermophyton floccosum*, dermatofito que al ser subcultivado con frecuencia sólo desarrolla micelio.
- *Monomorfismo*. Este término se utiliza para referirse a un hongo que no cambia su morfología cuando se encuentra, ya sea en vida libre, como comensal o como parásito. Por ejemplo: *Cryptococcus neoformans*, que se presenta en forma de levadura con cápsula en todas las condiciones referidas.
- *Reducción morfológica parasitaria*. Los hongos pierden sus características morfológicas; generalmente pierden los conidios y conservan las hifas cuando pasan de su forma de vida libre en la naturaleza a parásito. Por ejemplo: los dermatofitos, *Aspergillus spp* o agentes de mucormicosis.
- *Dimorfismo*. Es un proceso a través del cual los hongos cambian completamente su forma cuando pasan de vida libre a parásitos en el huésped, en donde adquieren una morfología totalmente diferente. Por ejemplo: *Paracoccidioides brasiliensis*, que de ser hongo filamentoso en vida libre, se convierte en levadura como parásito, o *Coccidioides immitis*, que como parásito se reproduce por formación de esférulas con endosporas, en tanto que en vida libre es un hongo filamentoso.
- *Oportunismo*. Es un concepto convencional que se refiere a la capacidad que tienen algunos hongos, habitualmente no patógenos, de producir infección en pacientes con inmunosupresión. Por ejemplo: *Candida*, *Rhodotorula*, *Aspergillus*, y *Rhizopus*.

La mayoría de las especies patógenas son dimórficas y tienen una distribución geográfica localizada. Como ejemplo en nuestra región se destaca el *Paracoccidioides brasiliensis*, que tiene morfología de levadura en su forma parasitaria en el hombre y de filamento en su forma saprófita (tierra, cultivo). Los hongos oportunistas no suelen presentar dimorfismo y son ubicuos con distribución universal.

EL HUÉSPED O TERRENO DONDE ASIENTA LA INFECCIÓN

En el caso del huésped, es muy importante su estado inmunitario y otros factores predisponentes. En las micosis superficiales son importantes los factores ecológicos, epidemiológicos y las alteraciones locales de la piel y las mucosas, como son las abrasiones y la maceración previa, la suciedad, la humedad, etc. Esta es la causa de que las micosis de piel y mucosas sean mucho más frecuentes en climas cálidos, húmedos (países tropicales), y que afecten con preferencia a personas con un nivel socioeconómico e higiénico bajo. Es necesario tener en cuenta estos aspectos porque el tratamiento farmacológico es mucho más eficaz si se acompaña de unas medidas higiénicas adecuadas, como la limpieza de la zona, manteniéndola bien seca y aireada. Al mismo tiempo hay que evitar la autocontaminación, causa de muchos fracasos de la terapéutica de ciertas micosis, en especial las localizadas simultáneamente en pies e ingles.

Dentro de las infecciones fúngicas, las micosis superficiales, cutáneas y subcutáneas constituyen el más grave de los problemas en términos sanitarios y sociales, habiéndose comparado con las caries dentales y al resfriado común en cuanto a incidencia y prevalencia.

Las micosis tegumentarias pueden tener una presentación clínica característica o similar a otras enfermedades propias de la piel o manifestaciones cutaneomucosas de enfermedades sistémicas. La opinión de algunos autores es que en muchas ocasiones el médico no diagnostica la micosis a causa de una observación o exploración incompleta o insuficiente, muchas veces por la premura con que el especialista debe ver al paciente.

A estos criterios pueden añadirse:

- a) Considerar que a veces, enfermedades de la piel, por ejemplo, la psoriasis, pueden estar asociadas con una infección por dermatofitos.
- b) Recordar que el tratamiento con corticoides tópicos enmascara las micosis y oculta síntomas sugestivos, como el prurito.
- c) En enfermos "comprometidos", inmunodeprimidos, las lesiones de la piel pueden constituir una localización cutánea o mucosa de una micosis sistémica septicémica, por ejemplo, aspergilosis o criptococosis.

En relación a la semiología de las micosis, debe tenerse en cuenta que un mismo hongo puede ocasionar manifestaciones clínicas muy diversas; por el contrario, un mismo tipo de lesión puede ser debido a distintos hongos; sirva de ejemplo *Aspergillus sp.*, capaz de originar micosis superficiales, infecciones pulmonares no invasivas o invasivas, afecciones inmunoalérgicas, etc. Por otra parte, por ejemplo, “el pie de atleta” puede ser consecuencia de una infección por diferentes especies de dermatofitos o de *Candida*. También debe recordarse que, contrariamente a las infecciones bacterianas, las micosis suelen tener una evolución más lenta y ocasionar lesiones poco dolorosas, aunque muy pruriginosas, cuando afectan la piel y las mucosas.

Entre las micosis cutáneas, las de mayor importancia son las dermatofitosis o tiñas, seguidas de las infecciones por levaduras del género *Candida* y raramente por otros hongos, como *Aspergillus sp.*, *Fusarium sp.*, *Trichosporon sp.*, *Mucor sp.*, *Rhizopus sp.*, y otros.

El aislamiento de un micromiceto habitualmente no patógeno puede ser fortuito e inducir a error, motivo por el cual su significación se debe basar en varios hechos:

Que la especie aislada crezca en cultivo puro

Que se realicen cultivos sucesivos reiteradamente positivos para los mismos hongos.

Que una biopsia demuestre histológicamente la afectación micótica de la lesión.

Cuadro N°4. Principales grupos taxonómicos y géneros de hongos comprendidos en el Reino Fungi

División	Subdivisión	Clase	Orden	Familia	Género
I. Myxomycota					(Principales de importancia médica)
II. Eumycota	A. Mastigomycotina				<i>Rhinosporidium</i>
		a) Chytridiomycetes			<i>Saprolegnia</i>
		b) Oomycetes			<i>Pythium</i>
			1. Saprolegmales		
			2. Peronosporales		
			3. Blastocladiales		
	B. Zygomycotina				
		a) Trichomycetes			
		b) Zygomycetes			
			1. Mucorales		
				Mucoraceae	<i>Mucor</i> , <i>Rhizomucor</i>
					<i>Absidia</i> , <i>Rhizopus</i>
					<i>Cunninghamella</i>
				Mortierellaceae	<i>Mortierella</i>
				Saksenaceae	<i>Saksenaea</i>
					<i>Syncephalastrum</i>
			2. Entomophthorales		
					<i>Basidiobolus</i>
					<i>Conidiobolus</i>
					<i>Entomophthora</i>
	C. Ascomycotina				
		a) Hemiascomycetes			
			1. Endomyceales		<i>Loderomyces</i> , <i>Pichia</i>
					<i>Saccharomyces</i> ,
					<i>Kluyveromyces</i>
		b) (Ascohymenomycetes)			
				Gymnoascaceae	<i>Ajellomyces</i>
					<i>Nannizia</i>

División	Subdivisión	Clase	Orden	Familia	Género
			2. Sphaeriales		
				Microascaceae	<i>Pseudallescheria</i>
					<i>Ceratocystis</i>
		c) Loculascomyces			
			1. Dothideales	Plesporaceae	<i>Leptosphaeria</i>
				Testudinaceae	<i>Neotestudina</i>
				Piedriaceae	<i>Piedraia</i>
	D. Basidiomycotina				
		a) (Heterobasidiomycetes) Teliomycetes	1. Ustilaginales	Ustilaginaceae	<i>Ustilago</i>
				Filobasidiaceae	<i>Filobasidiella</i>
		b) (Holobasidiomycetes)			
			1. Agaricales	Boletaceae	<i>Boletus</i>
				Russulaceae	<i>Russula</i>
				Amanitaceae	<i>Amanita</i>
				Coprinaceae	<i>Coprinus</i>
				Strophariaceae	<i>Psilocybe</i>
					<i>Schizophyllum</i>
		c) Gasteromycetes			
			1. Sclerodermatales		
				Sclerodermataceae	
					<i>Scleroderma</i>
	E. Deuteromycotina (<i>Fungi imperfecti</i>)				
		a) Blastomycetes			
			1. Cryptococcales		
				Cryptococcaeae	<i>Candida</i>
					<i>Loboa</i>
					<i>Cryptococcus</i>
					<i>Rhodotorula</i>
					(<i>Pitiosporum</i>)
					<i>Torulopsis</i>
					<i>Trichosporon</i>
		b) Hyphomycetes			
			1. Moniliales		
				Moniliaceae	<i>Aspergillus</i>
					<i>Penicillium</i>

División	Subdivisión	Clase	Orden	Familia	Género
					<i>Epidermophyton</i>
					<i>Fusarium</i>
					<i>Trichophyton</i>
					<i>Monilia</i>
					<i>Coccidioides</i>
					<i>Acremonium</i>
					<i>Madurella</i>
					<i>Scopulariopsis</i>
					<i>Paracoccidioides</i>
					<i>Microsporium</i>
					<i>Geotrichum</i>
					<i>Blastomyces</i>
					<i>Paecilomyces</i>
					<i>Histoplasma</i>
					<i>Sporothrix</i>
				Dematiaceae	<i>Cladosporium</i>
					<i>Drechslera</i>
					<i>Helminthosporium</i>
					<i>Torula</i>
					<i>Alternaria</i>
					<i>Rhinocladiella</i>
					<i>Phialophora</i>
					<i>Curvularia</i>
					<i>Exophiala</i>
					<i>Aureobasidium</i>
				Tuberculareaceae	<i>Fusarium</i>
					<i>Sepedonium</i>
		c) Coelomycetes			
			1. Sphaeropsidales		<i>Hendersonula</i>
				Sphaeropsidaceae	<i>Phoma</i>
					<i>Madurel</i>
					<i>Pyrenochaeta</i>

CAPÍTULO 3

MICOSIS OPORTUNISTAS

Desde hace más de 30 años se utiliza el término micosis oportunistas para designar a un grupo de infecciones por hongos que viven normalmente como saprobios en el ambiente o en cavidades naturales de seres humanos, son termotolerantes y tienen la capacidad de presentar cambios bioquímicos y morfológicos en contacto con personas que tienen defectos en sus mecanismos de defensa. Los hongos clásicos son *Candida*, *Aspergillus*, *Cryptococcus* y *Zygomycetes*; pero en un momento dado, cualquier hongo saprófito puede transformarse en patógeno secundario. Los factores predisponentes del huésped son más importantes que la virulencia primaria del hongo. Dentro de las causas o factores predisponentes nombramos a los que proceden del huésped, vale decir, son individuales o autógenas; o bien, son externas y iatrogénicas.

CAUSAS AUTÓGENAS

Comprenden la diabetes mellitus descompensada (en acidosis) y otras enfermedades del sistema endocrino (hipoparatiroidismo, hipotiroidismo, enfermedad de Addison); pancreatitis; enfermedades malignas y discrasias sanguíneas (cáncer, leucemias, linfomas) con acentuada depresión de la inmunidad mediada por células, alteraciones metabólicas (malnutrición y síndrome de malabsorción); alteraciones anatómicas (cavernas tuberculosas detergidas); drogadicción, enterocolitis necrotizante y síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).

CAUSAS EXTERNAS Y IATROGÉNICAS

Abarcan traumatismos, quemaduras graves, cirugía cardiovascular, abdominal y otras: trasplantes de órganos o tejidos, diálisis peritoneal, exploración respiratoria, urinaria o abdominal por la posibilidad de la contaminación instrumental; tratamientos intensivos y prolongados con antibióticos antibacterianos, corticoides, citostáticos, radiaciones e inmunosupresores; anticonceptivos químicos o mecánicos, alimentación parenteral, sondas, asistencia respiratoria mecánica, días de internación.

Los factores iatrogénicos obran mediante los siguientes mecanismos: depresión de la inmunidad mediada por células y de la producción de anticuerpos, originando una alteración del equilibrio bacteria-levadura o vehiculizando el hongo presente en la superficie cutánea, los epitelios, instrumentos o el ambiente externo.

Esta división en factores autógenos, externos y iatrogénicos no es siempre absoluta, pues, en muchos casos, los factores iatrogénicos obran sobre un huésped muy alterado por su enfermedad básica.

Las micosis oportunistas más comunes en todo el mundo son las candidiasis, aspergilosis, mucormicosis y con la aparición del SIDA: criptococosis. Algunas de estas micosis no se diagnostican sino hasta el momento de la necropsia.

Esta curva seguirá en aumento debido a los siguientes factores; incremento de la esperanza de vida y, en consecuencia, de las enfermedades geriátricas; uso de inmunosupresores cada vez más potentes y con más efectos colaterales, así como empleo de antibióticos de amplio espectro; complicaciones con las técnicas quirúrgicas modernas o que sobrevienen en unidades de cuidados intensivos, y presencia de síndrome de inmunodeficiencia adquirida que ha dado los siguientes datos: *Pneumocystis carinii* 32%, candidosis 31,1%, criptococosis 29% e histoplasmosis 9,6%.

Infecciones por hongos de mortalidad elevada se observan en 10 a 50% de los pacientes neutropénicos o con trasplante de médula ósea. Por este motivo son prioritarias medidas profilácticas generales que incluyan medidas higiénicas personales estrictas, así como ambientales. Sin embargo, el diagnóstico de estas micosis invasivas sigue siendo difícil, dada la baja sensibilidad de los hemocultivos aun para infecciones frecuentes como candidemia y sobre todo para infecciones por hongos filamento-

sos como aspergilosis, salvo en infecciones por *Fusarium*. Por lo tanto se debe ofrecer terapia antifúngica a los pacientes con fiebre persistente y neutropenia, ante la sospecha de infección micótica. Por ahora se dispone de anfotericina B, fluconazol, itraconazol y nuevos agentes antifúngicos, especialmente azoles que parecen prometedores.

CAPÍTULO 4

CANDIDOSIS

RESEÑA HISTÓRICA

Hipócrates (460 a 377 aC) describió placas blanquecinas en la boca en pacientes debilitados y recién nacidos. Galeno (130 a 200 aC) las observó en niños enfermizos.

En el siglo XVIII era muy frecuente en Europa y se identificó en recién nacidos. En 1835, Verón en su “memoire sur le muguet” postuló la transmisión intrauterina y describió el primer paciente con candidosis esfágica. En 1841, Berg demostró el origen fúngico de las lesiones bucales y lo reprodujo el padecimiento en niños sanos. En 1842, Gruby describió este hongo, lo presentó ante la Académie de Sciences de París como “le vrai muguet de enfants” (el verdadero muguet de los niños); así mismo, postuló la transmisión intrauterina y comunicó la primera candidosis. En 1844 Bennett, en Edimburgo, aisló el hongo conocido hoy como *Candida albicans* en el esputo de un paciente tuberculoso. En 1846, Berg, en Estocolmo, reconoció las enfermedades debilitantes como el principal factor predisponente. En 1849, Wilkinson, describió la localización vaginal.

En 1853, Robin, en París, denominó al hongo, *Oidium albicans* y señaló la enfermedad sistémica, también en pacientes debilitados. En 1861, Zenker, en Alemania, observó un sujeto con infección cerebral por diseminación hematógena. En 1865, Haussmann notó el vínculo entre candidosis vaginal de la madre y bucal del recién nacido. En 1870 y 1877, Parrot, describió en lactantes la forma intestinal y pulmonar, respectivamente, En 1877 Granitz describió la morfología de *C. albicans*. En 1890, Zop aceptó como agente del algodoncillo un hongo del género *Monilia*, que se había aislado con anterioridad a partir de vegetales y que hoy se sabe que no pertenece al género *Candida*. Lo denominó *Monilia albicans* e inició una gran confusión terminológica en la literatura médica, esto debido en parte a que Castellani aceptó el mismo término.

En la literatura alemana, en 1890, Schmorl informó la afección mucocutánea; en 1904, Dubendorher, la inguinal, y 1907, Jacobi, la cutánea. En 1909, Forbes, en Londres, estudió a una niña de tres años y medio de edad con afección de lengua y uñas, que tal vez corresponde al primer caso mucocutáneo crónico. Durante la primera mitad del siglo XX se han identificado prácticamente todas las demás localizaciones.

En 1923 Berkhout, setenta años después de los estudios de Robin, transfirió las especies al género *Candida* y dio fin a muchos errores de nomenclatura; tan solo Kreger-Van Rij en el libro “The Yeast” (1984), un tratado de levaduras, lista cuando menos 100 sinónimos para *C. albicans*. En 1954, en el octavo Congreso de Botánica se aceptó oficialmente el género *Candida*. En 1958, Benirschke y Raphael comunicaron por primera vez la candidosis congénita. En 1995, Sullivan y colaboradores identificaron *C. dubliniensis* en candidosis oral en pacientes con infección por HIV.

SINONIMIA

Candidiasis, moniliasis, muguet, algodoncillo.

DEFINICIÓN

Las candidosis son infecciones producidas por levaduras endógenas y oportunistas del género *Candida*, siendo la especie más frecuente *Candida albicans*. Las manifestaciones clínicas son variables y por lo general no específicas, dependiendo del estado general e inmunológico de la persona afectada. Pueden ser localizadas, diseminadas o sistémicas; pudiendo afectar piel, mucosas, estructuras profundas y órganos internos. La evolución puede ser aguda, subaguda o crónica.

POSICIÓN TAXONÓMICA

Las especies que carecen de reproducción sexuada se incluyen dentro de los hongos imperfectos, clase forma Blastomycetes, y las que poseen reproducción sexuada, en las subdivisiones Ascomycotina y Basidiomycotina.

La mayoría de las especies de *Candida* pertenecen a los Blastomycetes y tan solo algunas a los Ascomycotina y Basidiomycotina.

ETIOLOGÍA

Se consideran válidas más de 150 especies de *Candida*, pero sólo algunas especies son capaces de producir enfermedades humanas y animales, por las que se las considera levaduras de interés médico. Las principales especies aisladas como agentes causales de infecciones humanas son: *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. glabrata*, *C. lusitaniae*, *C. kefir*. Todas las especies son de distribución universal con excepción de *C. viswanatii*, que solo se encuentra en India.

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS

Los hongos del género *Candida* son levaduras redondas u ovaladas de 3-7 micras de diámetro. Varias especies de *Candida* son dimórficas, presentando blastosporas, pseudomicelio y/o verdadero micelio. Cuando el hongo se comporta como patógeno, lo mas frecuente es que exista pseudo o verdadero micelio. La diferencia entre pseudoimicelio y micelio verdadero consiste en que mientras el diámetro del verdadero micelio es uniforme, el pseudomicelio se estrecha en los puntos de unión de unas células con otras.

In vitro, se ha podido comprobar que son múltiples los factores que intervienen en la morfogénesis de estas levaduras. Entre ellas podemos mencionar: proporción de CO₂ / O₂, fuentes de hidratos de carbono, condiciones metabólicas de inóculo, pH del medio, y temperatura, así como la presencia de numerosas sustancias químicas (aminoácidos, alcoholes, minerales, etc.).

Probablemente, los factores que estimulan la filamentación de *C. albicans* se encuentran en el suero sanguíneo. Suele existir una reacción entre la filamentación y los factores que regulan la adhesión y penetración en las células del huésped. En determinados medios de cultivo, la filamentación se acompaña de clamidosporas, formaciones consideradas como elementos de resistencia, que aparecen sólo en *C. albicans* (y en casos muy excepcionales en la *C. tropicalis*). En las infecciones por *Candida* no se aprecian clamidosporas en los tejidos, aunque en ocasiones pueden aparecer blastosporos muy dilatados que se pueden confundir con las clamidosporas, como ocurre por la acción del clotrimazol y 5-fluorocitosina (Lee, 1973).

ECOLOGÍA

Las levaduras se encuentran en la naturaleza en todos los seres vivos, asociadas en muchas ocasiones a plantas e insectos. Sin embargo, los agentes de candidosis humanas muestran un campo ecológico más limitado.

En el hombre, la *C. albicans* se ha podido aislar del aparato digestivo y de las regiones cutaneomucosas. En la cavidad bucal de personas adultas sanas, existe en pequeñas cantidades; si la higiene bucal es deficiente, o se utilizan antibióticos para el tratamiento de enfermedades bacterianas, su número aumenta.

La presencia de *C. albicans* a lo largo del tubo digestivo varía según las regiones. Cohen y cols. (1969) afirman que la incidencia de *Candida* alcanza el 35% en la orofaringe, el 50% en el yeyuno, el 60% en el íleon y el 70 % en el colon.

La existencia de *C. albicans* en el tubo digestivo estaría relacionada con la alimentación, siendo las frutas frescas, los dulces y otros alimentos fermentables los que elevan en forma manifiesta su desarrollo.

La incidencia de *C. albicans* en la vagina de mujeres sanas no embarazadas es de un 5%, elevándose a un 30% en las embarazadas y en las que toman anticonceptivos.

En la flora cutánea normal no se encuentra *Candida*; sin embargo, cuando la piel está lesionada, puede ser huésped de estas levaduras.

FACTORES PREDISPONENTES

Entre los factores predisponentes de las candidiasis dependientes del huésped, se pueden mencionar los siguientes:

- **Edad.** Es muy bien conocido que los lactantes y los ancianos son muy susceptibles al muguet oral. En el recién nacido, además de la carencia de flora bacteriana normal, influyen probablemente algunos factores inmunitarios.

En el anciano, la predisposición a la candidiasis está relacionada, más que en la edad en sí, a enfermedades y tratamientos medicamentosos propios de la vejez.

- **Dieta.** La mala alimentación y la desnutrición en los países subdesarrollados ocasionan trastornos intestinales asociados a diarrea, con aumento de *Candida*. También algunas avitaminosis pueden predisponer a las candidiasis. Se ha descrito casos de hipovitaminosis A en pacientes con candidiasis mucocutánea crónica.

- **Factores mecánicos.** La maceración y un elevado nivel de humedad. Los pañales, sobre todo los de plástico, aumentan y mantienen la humedad en la zona cubierta por los mismos, y los niños que padecen una “dermatitis del pañal” están predispuestos a las infecciones por *Candida*. En los adultos, la maceración y la humedad incrementan las candidiasis de los grandes pliegues.

- **Factores endocrinos.** La diabetes mellitus es un proceso que predispone a todo tipo de infecciones. El mecanismo por el cual aumenta la susceptibilidad a las candidiasis en estos pacientes no está muy claro; se piensa que los niveles elevados de glucosa en sangre y tejidos favorece el desarrollo de la levadura. Además se ha comprobado que, en los diabéticos, la capacidad de los leucocitos para fagocitar y destruir está disminuida.

- **Factores inmunológicos.** La deficiencia de la inmunidad mediada por células (Ej. SIDA) predispone a la aparición de múltiples procesos infecciosos, siendo muy frecuentes las candidiasis orales y esofágicas. Son también más frecuentes las vulvovaginitis por *Candida* en mujeres con SIDA que en las sanas. Otras causas que favorecen la aparición de candidiasis son las neoplasias, leucemias y linfomas debido a la depresión inmunitaria.

- **Embarazo.** Es más frecuente la candidiasis vaginal, relacionada con el pH, nivel de glucógeno vaginal y elevación de la progesterona y estradiol plasmáticos.

- Factores yatrogénicos. Entre ellos:

- a) Los antibióticos, al eliminar la flora bacteriana que compite por los nutrientes con las levaduras.

- b) Los corticosteroides sistémicos incrementan la susceptibilidad a las candidiasis mediante la disminución de las funciones inmunológicas.

- c) Diversas drogas citotóxicas, que ocasionan neutropenia, predisponen a la colonización de *Candida* en el intestino.

- d) El tratamiento radioterápico de neoplasias.

- e) Exploraciones agresivas, tratamientos instrumentales o quirúrgicos y el uso común de catéteres venosos y vesicales, abren una vía de entrada a los hongos ambientales, principalmente los endosaprobios, como la *C. albicans*.

En el caso de las candidiasis profundas los factores predisponentes más comunes son:

- a) Asistencia mecánica respiratoria

- b) Drogas antineoplásicas

- c) Recién nacidos de bajo peso

- d) Antibióticoterapia prolongada

- e) Alimentación parenteral

- f) Días de internación

- g) Uso de catéteres

- h) Cirugía cardíaca o abdominal

- i) Diálisis

- j) Enterocolitis necrotizante

PATOGENIA

Existen tres factores que contribuyen en la capacidad patogénica de las levaduras del género *Candida*.

Uno de ellos es la habilidad para pasar rápidamente de la fase levaduriforme a la pseudomicelial, esto les posibilita una rápida adaptación a las condiciones del huésped y la evasión de los mecanismos

de defensa del mismo ya que las estructuras filamentosas son difíciles de ingerir por las células fagocíticas y parecería necesitarse de mecanismos extracelulares para lograr su muerte.

Otro de los factores involucrados es la alta frecuencia de cambios fenotípicos dentro de un mismo aislamiento, este incluye sensibilidad a drogas, variación morfológica y secreción de un factor de virulencia (proteínasa ácida). Esta expresión diferencial de los genes le permite al organismo una gran adaptabilidad a las condiciones del huésped.

El tercer factor sería la virulencia propia de la especie; en el género *Candida* las especies parecen tener diferente virulencia según se ha detectado en infecciones experimentales en animales. Estos estudios concuerdan con la clínica, asignando a las siguientes especies un rango decreciente de virulencia:

- *C. albicans*
- *C. tropicalis*
- *C. parasilopsis*
- *C. pseudotropicalis*
- *C. krusei*
- *C. guilliermondi*
- *C. glabrata*

FORMAS CLÍNICAS

1- Cutáneas:

- Localizada: -grandes pliegues
-espacios interdigitales
-uñas
- Difusas: amplias superficies
- Profundas: granuloma candidósico

2- Mucocutáneas:

- Candidiasis de la mucosa oral: muguet, queilitis y glositis
- Candidiasis de la mucosa genital: vaginitis y balanitis
- Candidiasis de la mucosa digestiva: esofagitis y enteritis
- Candidiasis mucocutánea crónica.

3-Sistémica:

- Candidiasis del aparato digestivo
- Candidiasis cardíaca
- Candidiasis del aparato respiratorio
- Candidiasis del sistema nervioso central
- Candidiasis del tracto urinario
- Candidiasis hepática
- Artritis y osteitis
- Sepsis por *Candida*

SINTOMATOLOGÍA Y CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

CANDIDIASIS CUTÁNEAS LOCALIZADAS

• **Intertrigo:** Las áreas más comúnmente afectadas son las axilas los pliegues submamaros, los inguinales e interglúteos. La lesión se inicia por el fondo del pliegue para ir extendiéndose en forma progresiva, en espejo, hacia cada lado del pliegue. Se acompaña de prurito en los momen-

tos iniciales. La lesión inicial es una vesícula-pústula que se rompe y se une a sus vecinas para formar una placa eritematosa que más tarde se recubre de una secreción exudativa blanca.

- **Interdigitales:** Son lesiones intertriginosas de los pequeños pliegues, favorecida por la maceración de la piel en una zona que es delgada y con abundantes glándulas sudoríparas. En las manos se presenta principalmente en el tercer espacio interdigital pudiendo extenderse o no a la palma o dorso de la mano. En los pies las lesiones suelen ser más extensas, presentándose como un pie de atleta.
- **Onixis y perionixis:** Es una de las formas más frecuentes. Se inicia por lo general a nivel del pliegue periungueal, que aparece hinchado, con edema y eritema doloroso al tacto. La perionixis suele acompañarse de secreción serosa o purulenta espontánea o por presión. La invasión de la uña es habitual y se produce a nivel de su borde proximal extendiéndose al resto progresivamente.

CANDIDIASIS CUTÁNEA DIFUSA

- **Candidiasis cutánea congénita:** Es una infección previa al nacimiento a partir de una vaginitis complicada con corioamnionitis. Las lesiones están presentes en el momento del nacimiento o antes de las doce horas de vida. Se hallan formadas por elementos eritematosos múltiples de pequeño tamaño, maculosos de extensión difusa.

CANDIDIASIS CUTÁNEA PROFUNDA

- **Granuloma candidósico:** Suele ser excepcional, salvo en las lesiones de las candidiasis mucocutáneas crónicas. Se inician como papulopústulas de tipo acneiforme, luego se convierten en nódulos costrosos. Las zonas más afectadas son cara, cuero cabelludo y dedos. Se produce en enfermos con deficiencias en la inmunidad celular.

CANDIDIASIS MUCOCUTÁNEAS

- **Candidiasis oral:** El **muguet** es una de las lesiones más frecuentes en lactantes y neonatos. Actualmente entre el 70-90 % de los pacientes infectados por el HIV sufren algún episodio de candidiasis orofaríngea durante el transcurso de su enfermedad. La lesión comienza por pequeñas manchas rojas, que poco a poco se convierten en placas blanquecinas que confluyen y forman una pseudomembrana de color blanquecino cremoso grisáceo, si se levanta ésta pseudomembrana deja ver una superficie exudativa roja. La localización puede ser la lengua, encías y mucosa bucal.
- **Candidiasis vaginal:** La diabetes, la terapéutica antibiótica prolongada y el embarazo pueden predisponer a esta vulvovaginitis. Es una de las infecciones más frecuentes del aparato genital femenino durante los años de procreación. La paciente suele aquejar escozor y prurito vulvar, con secreción de un flujo vaginal de color blanquecino, espeso, grumoso y placas pseudomembranosas adheridas en la pared vaginal.
- **Balanitis:** Es una afección bastante frecuente en el varón, coincidiendo en la mayoría de los casos con la existencia de una vaginitis por *Candida* en la pareja sexual. Se presentan erosiones superficiales rojas y pústulas en el glande y surco balanoprepucial; si la lesión es muy intensa, pueden aparecer placas similares a la de muguet. En algunos pacientes, las lesiones se propagan al escroto y región inguinal e incluso pasan al interior de la uretra.
- **Esofagitis:** Con frecuencia es una extensión de la candidiasis orofaríngea. Los síntomas clínicos son disfagia, dolor retroesternal, hemorragia gastrointestinal, náusea y vómito.
- **Enteritis:** Es una de las formas clínicas más controvertidas, el diagnóstico es muy difícil de establecer y generalmente requiere de la demostración de invasión candidiásica de la mucosa intestinal.
- **Candidiasis mucocutánea crónica:** Se incluyen bajo esta denominación a un conjunto de infecciones crónicas localizadas en la boca, piel, uñas y la mucosa genital, resistentes a los tratamientos convencionales. Se clasifican en:
 - 1- Asociadas a déficit inmunitario congénito de tipo celular.
 - 2- Infecciones que aparecen en los primeros años de vida y pueden ser genéticas.
 - 3- Asociados a endocrinopatías o desregulación del hierro.
 - 4- Asociadas a timoma

CANDIDIASIS SISTÉMICAS

- **Candidiasis del aparato digestivo:** La localización esofágica es la más común, en especial desde el advenimiento del SIDA.

La esofagitis por *C. albicans*, y más raramente por otras especies, ocasiona dolor retroesternal y disfagia. El diagnóstico se realiza a través de una biopsia realizada durante la esofagoscopia; esto permite el cultivo e identificación de la especie y, sobre todo, comprobar en el examen directo la invasión del tejido.

- **Candidiasis cardíaca:** La endocarditis es la forma más frecuente de esta localización. Es una forma poco común en incremento, de difícil diagnóstico y tratamiento, lo cual determina un grave pronóstico vital con un 70% de mortalidad. Los factores predisponentes son la cirugía cardíaca, las prótesis valvulares, los catéteres venosos, la nutrición parenteral y la administración de drogas intravenosas, ya que podrían constituir el foco de entrada de la levadura.

El paciente presenta **fiebre**, que puede ser continua o intermitente, y un **soplo** con insuficiencia cardíaca o sin ella. Los signos de tromboembolismo, como **petequias** y **hemorragias**, pueden estar presentes, lo mismo que la **leucocitosis**, **anemia** y **aumento** de la **eritrosedimentación**. Ninguno de estos signos es específico. La ecocardiografía es de gran utilidad para detectar las vegetaciones cardíacas. El hemocultivo constituye un elemento diagnóstico de gran valor. También se puede realizar el diagnóstico mediante la comprobación de antígenos mananos o proteicos a títulos elevados.

Las infecciones del **miocardio** y **pericardio** suelen observarse en el curso de una candidosis diseminada y son de muy mal pronóstico.

El **sistema vascular** puede presentar infección por *Candida* en forma de flebitis como consecuencia de la inserción venosa de catéteres contaminados.

- **Candidiasis del aparato respiratorio:** Esta es una de las localizaciones en que resulta más difícil la demostración de la invasividad por *Candida*, a menos que se disponga de una pieza de biopsia o necropsia.

En el tracto respiratorio superior se han descrito casos de **sinusitis**, **laringitis**, **epiglotitis** y **traqueítis**, en pacientes con graves enfermedades subyacentes.

La **invasión pulmonar** primaria es extremadamente rara en sujetos que no presentan serias alteraciones de su inmunidad, pero este órgano puede verse secundariamente comprometido luego de una diseminación. La visualización o el cultivo de levaduras a partir de muestras de esputo o aspirado bronquial no tiene significación diagnóstica de infección; en el lavado broncoalveolar, la presencia de *Candida* es orientativa, pero el diagnóstico definitivo se realiza por biopsia, a través de un broncoscopio o por punción transtorácica.

Los hallazgos radiológicos son inespecíficos, se ha descrito un patrón con nódulos miliares en el curso de una diseminación hematógena, así como un patrón de bronconeumonía localizada o difusa como consecuencia de una difusión bronquial.

La serología suele demostrar anticuerpos contra *Candida*, salvo que exista una severa inmunodepresión.

- **Candidiasis del sistema nervioso central:** La **meningitis** se observa en neonatos, dentro de una candidiasis diseminada o en pacientes inmunodeprimidos.

La clínica es similar a la de las meningitis bacterianas. Suele haber hipoglucorraquia. El número de levaduras en el LCR suele ser bajo, por lo que su observación en el sedimento es muy difícil y su cultivo también.

La **candidiasis cerebral** es propia del anciano, de los enfermos debilitados y con múltiples factores de riesgo (antibioticoterapia, catéteres, cirugía abdominal) que cursan con una candidiasis diseminada por vía hematógena. La candidiasis cerebral es una micosis muy común después de la criptococosis en los pacientes con SIDA. El diagnóstico se realiza al drenarse quirúrgicamente el absceso, en este material se puede observar y cultivar las levaduras.

- **Candidiasis del tracto urinario:** La **candidiasis renal** es una patología muy poco frecuente, se da mayoritariamente en pacientes con patología urinaria previa, diabetes, trasplante renal o enferme-

dades malignas. El riñón se vería afectado en las candidiasis diseminadas, en las que la diseminación hematológica ocasiona un cuadro de pielonefritis. La clínica se caracteriza por obstrucción urinaria (bola fúngica) y fiebre; en el sedimento de la orina se observa leucocituria y hematuria. Los urocultivos pueden ser orientativos de infección pero no existe acuerdo sobre cual es el número de UFC con significación. El diagnóstico de certeza es por punción renal.

La infección de la **vejiga urinaria** es más frecuente, y se asocia principalmente con la diabetes y las sondas uretrales. La confirmación se realiza mediante citoscopia y biopsia.

- **Artritis y osteitis:** Durante las diseminaciones hematológicas pueden producirse localizaciones osteoarticulares, tal como se ha observado en enfermos drogadictos, afectados del llamado *síndrome de la heroína marrón*. La localización más frecuente es la costoesternal. La lesión consiste en tumoraciones dolorosas y corresponden a una pericondritis con miositis, y en algunos casos con afectación del hueso y del cartílago.

- **Candidiasis diseminada:** Las formas severas de candidiasis sistémicas o diseminadas se presentan en pacientes neoplásicos o transplantados, los que reciben tratamientos con corticoides, irradiaciones, drogas antineoplásicas y agentes antibacterianos, todos estos con efectos inmunosupresores en menor o mayor grado; o los que tienen sistemas inmunitarios subóptimos como neonatos y ancianos.

El cuadro clínico de la candidiasis diseminada es muy similar al de las sepsis bacterianas. El comienzo puede ser brusco, con fiebre, escalofríos, hipotensión, esplenomegalia, petequias, embolias, taquicardia, taquipnea, y compromiso sensorial que puede evolucionar hacia el shock séptico.

El diagnóstico es difícil por el bajo rendimiento de los hemocultivos, que en el mejor de los casos llega a un 20-40% de las candidosis diseminadas. La sensibilidad de los aislamientos aumenta con el uso de medios difásicos como el de Ruiz Castañeda aireado y principalmente con el sistema de lisis-centrifugación. La posibilidad de detectar antigenemia en la sangre del enfermo aumenta también la posibilidad diagnóstica.

TRATAMIENTO DE LAS CANDIDIASIS DISEMINADA O SISTÉMICA (CS)

La candidosis sistémica requiere tratamiento con antifúngicos por vía sistémica y, aunque en los últimos años se han empleado nuevos preparados de diferente estructura química, el más utilizado, y con el que se dispone de mayor experiencia, es la anfotericina B (AMB).

La 5-fluorocitosina no se utiliza de forma exclusiva en el tratamiento de la candidosis; sin embargo, su asociación con la AMB se considera de utilidad, ya que se produciría un efecto sinérgico o aditivo. Esta asociación se recomienda para el tratamiento de la meningitis, endocarditis y formas diseminadas.

Posiblemente, el antifúngico que más se ha empleado en el tratamiento de la CS en los últimos años es el fluconazol, que puede administrarse por vía intravenosa u oral; con él se han comunicado excelentes resultados en el tratamiento de la candidosis esofágica del SIDA, así como en la peritonitis, endocarditis y candidemias.

DIAGNÓSTICO MICOLÓGICO

El examen microscópico directo con hidróxido de potasio, a una concentración del 10-40%, permite la observación de levaduras en material accesible obtenido por biopsia, lavado broncoalveolar, secreciones o punción de espacios cerrados, conteniendo líquidos biológicos o material purulento. Éste es un método rápido y sensible, aunque la tinción con azul de metileno, y sobre todo el Gram, además de visualizar las levaduras, permite observar si hay otros microorganismos asociados. La sola presencia de seudofilamentos confirma la identificación inicial de *Candida* y, según algunos autores, constituye un argumento en favor de que se trata de una infección más que de una colonización; el argumento numérico levaduras escasas o abundantes- también contribuye a definir estos conceptos, siempre y cuando se trate de una muestra fresca, recién recogida o conservada en heladera. La cuantificación de los cultivos es obligada en las infecciones urinarias y es recomendable en algunas muestras, como el aspirado bronquial y los líquidos biológicos. El cultivo puede realizarse a temperatura ambiente (25°C), pero a 37°C se acelera el crecimiento de la mayoría de las cepas que en 24-48 horas muestran colonias bien desarrolladas.

IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES Y BIOTIPOS

Se dispone de varios métodos eficaces para la identificación de las diferentes especies de *Candida*, algunos comercializados; la complejidad de los mismos varía desde los que estudian exclusivamente la micromorfología a técnicas automatizadas e informatizadas, de rápida ejecución. También se ha comunicado el uso de sondas de DNA específicas para *C. albicans*, aunque este método todavía no está al alcance de la mayoría de los laboratorios.

La *C. albicans*, que sigue siendo el principal patógeno, se caracteriza por producir tubos germinativos al incubar la fase L en suero, medios celulares (TC 199) u otras sustancias coloidales, durante 2-4 horas a 37°C. Esta misma especie produce clamidosporas características al cultivarla en medios como el agar-harina de maíz + Tween 80; agar-papa-zanahoria-bilis, o agar-crema de arroz; estas estructuras se observan en general a las 48 horas.

Las pruebas bioquímicas son el auxonograma, que valora la asimilación de carbohidratos en un medio base sin azúcares, al que se añaden discos impregnados en ellos cuya lectura se efectúa a las 24 y 48 horas. Los positivos aparecen con un halo de crecimiento alrededor del disco.

El zimograma estudia la vía fermentativa de las levaduras sobre los hidratos de carbono. El método tradicional es la siembra en un tubo conteniendo un medio líquido base con un indicador de color más un azúcar diferente hasta completar una serie de 5. Se ocluye el tubo con parafina líquida, o bien se coloca una campana de vidrio en su interior para detectar la formación de gas. Un resultado positivo ocasiona el viraje de color, que significa la acidificación del medio, a veces con la producción de gas.

Entre los sistemas comercializados cabe destacar, por su gran aceptación, el sistema API del que existen tres variedades bien evaluadas: una para realizar auxonograma y zimograma en azúcares; para efectuar un auxonograma de 16 azúcares, y otra que valora 32 azúcares y que puede ser leído automáticamente procesándose de manera informatizada gracias a un programa que permite su identificación, da perfiles comparativos y además registra los resultados obtenidos en una base de datos.

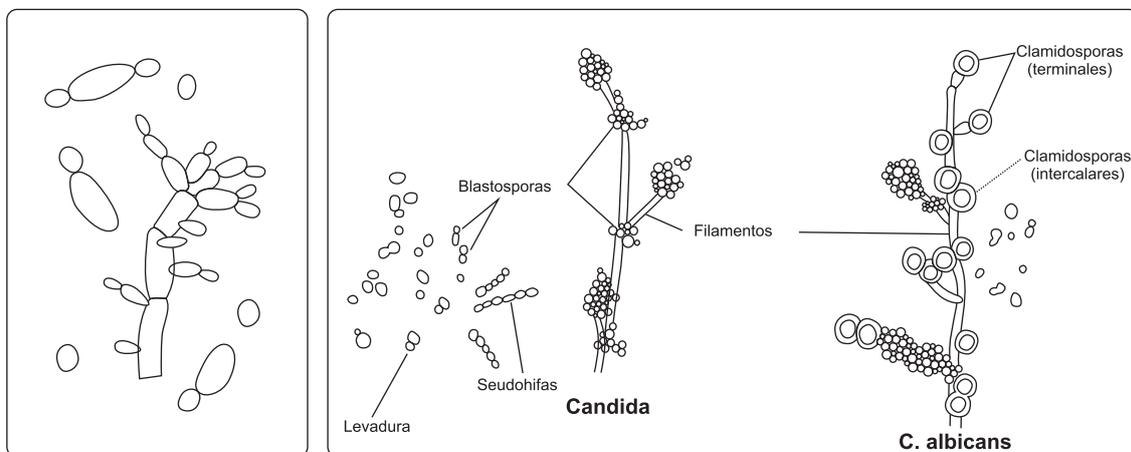


Figura N°4. Morfología del género *Candida*

CAPÍTULO 5

CRIPTOCOCOSIS

RESEÑA HISTÓRICA

En 1894, Sanfelice, en Italia, informó la presencia de una levadura encapsulada en jugo de durazno (melocotones); al año siguiente produjo en animales de experimentación la enfermedad que origina ese hongo y lo llamó *Saccharomyces neoformans*. En Alemania, en 1894 Busse, y en 1895 Buschke, en forma independiente describieron el primer caso en seres humanos con lesiones cutáneas y óseas; el primero observó la levadura y la llamó *Saccharomyces*. En 1896, Curtis, en Francia, comunicó un caso similar. En 1901 Vuillemin clasificó a las levaduras aisladas en estos pacientes en el género *Cryptococcus* y la llamó *Cryptococcus neoformans*, al hongo descubierto por Sanfelice.

En 1905, Von Aceman observó un paciente que murió por meningitis y en 1914, Verse reconoció la enfermedad in vivo en una mujer con leptomeningitis. En 1916, Stoddard y Cutler, consideraron que la cápsula era una cavidad quística provocada por digestión y llamaron al hongo *Torula histolítica*. En 1950, Rhoda Benham, tras prolongados estudios, concluyó que sólo hay una especie patógena de *Cryptococcus* y quince años antes diferenció la blastomycosis europea de la americana. En 1951 Emons, aisló *Cryptococcus neoformans* del suelo y posteriormente de excretas de palomas y otras fuentes. En 1955 Backer y Haugen demostraron la presencia de la cápsula y en 1970 Lidders y Kreger-Van Rij establecieron la prioridad del término *Cryptococcus neoformans*.

En 1955, González Ochoa, hizo mención del primer caso en México; en 1959, González Mendoza, Fuentes y Pérez Tamayo estudiaron una forma generalizada, y en 1961 Vérut, Novale y Lavalle, una forma cutaneomucosa.

SINONIMIA

Enfermedad de Busse-Buschke, blastomycosis europea, torulosis, enfermedad señal, despertar del gigante en enfermedades micóticas.

DEFINICIÓN

Micosis oportunista causada por una levadura capsulada: *Cryptococcus neoformans*, de origen exógeno; se adquiere por vía respiratoria y es pulmonar en 90%; puede afectar cualquier viscera, músculo, huesos, piel y mucosas, pero tiene afinidad particular por el sistema nervioso central. La evolución es aguda, subaguda o crónica. La diseminación ocurre en pacientes debilitados o con inmunodeficiencia.

DATOS EPIDEMIOLÓGICOS

Enfermedad cosmopolita. En Estados Unidos se calcularon en el último decenio del siglo anterior 200 a 400 casos de la forma cerebromeningea y solo en New York, 15.000 infecciones subclínicas al año. Actualmente se presenta en 6 a 50% de pacientes con SIDA; se considera la cuarta infección importante en infectados por HIV. En África, junto con la tuberculosis es la infección oportunista más importante, pero muchos casos se han informado a través de los registros nacionales en Francia y Atlanta.

No tiene predilección por sexo o hay un ligero predominio en el varón. Es más frecuente en personas de 30 a 60 años de edad y raro en los niños. Afecta más a individuos debilitados por enfermedades de Hodgkin, leucemia, diabetes, sarcoidosis, colagenopatías, así como pacientes bajo tratamiento con antibióticos, glucocorticoides o inmunosupresores o bien con transplantes de órganos y fundamentalmente en SIDA.

La mortalidad es de 15 a 30%. Es más frecuente en personas expuestas a excrementos de palomas o a aire acondicionado contaminado con éste, por lo que puede adquirirse en el lugar de trabajo. En pacientes con SIDA es debida a *C. neoformans* var *neoformans* (80%), en Estados Unidos y Reino Unido

sobre todo por el serotipo A (80%), pero en el resto de Europa es serotipo D. En Africa antes del SIDA, 90% de las infecciones eran por la var. *gattii*, ahora en SIDA son por la var. *neoformans*. Esto puede ser debido a que la enfermedad es urbana y los pacientes no están expuestos a la fuente del ambiente o porque esta variedad es más virulenta para HIV. Se observan también casos por *C. neoformans* var. *gattii*, incluso en México.

ETIOLOGÍA

Cryptococcus neoformans es el único agente etiológico de la criptococosis; se trata de una levadura con cápsula, no micelial de 20 a 30µ de diámetro. El estado perfecto o teleomorfo es el Basidiomicete, *Filobasidiella neoformans*, que tiene dos variedades: *neoformans* y *bacillispora* (Kwong Chung, 1975 y 1976). Se han informado cinco serotipos y dos variedades biológicamente distintas: *C. neoformans* variedades *neoformans* (serotipos A, D, y AD) y *gattii* (serotipos B y C). Casi todos los microorganismos aislados de nichos aviarios e infecciones humanas son tipo A o D, que se han informado en todo el mundo y su nicho ecológico se encuentra en el guano de palomas, pollos y otras aves, o en madera en descomposición; la var. *gattii* tiene distribución geográfica restringida, prevalece en regiones tropicales y subtropicales y se ha aislado particularmente en Australia y California; se relaciona con presencia de eucaliptos (*Eucalyptus camaldulensis*) y árboles gomíferos rojos (*E. tereticorms*). La diseminación en el mundo puede estar relacionada con la exportación de árboles.

Hay 37 especies del género, pero rara vez otras especies producen enfermedad en seres humanos como *C. laurentii* y *C. albidus*. La cápsula está constituida por polisacáridos como glucuronoxilmananos (xilosa, manosa, y ácido glucurónico) que determinan su virulencia así como la producción de melanina y crecimiento a 37°C. Los mutantes hipocapsulados son menos virulentos, así como los que tienen falta de actividad de fenoloxidasa. La producción de melanina depende de la enzima fenoloxidasa que convierte compuestos fenólicos en melanina. Esta enzima puede utilizar otros sustratos fenólicos como catecolaminas, dopamina y adrenalina; esta habilidad puede proteger la levadura en sistema nervioso central y explicar su virulencia o neurotropismo. Ya se han clonado los genes que codifican la producción de cápsula y las enzimas. Las mutantes que no crecen a 37°C son avirulentas, de hecho que var. *gattii* es más sensible a altas temperaturas que la var. *neoformans*.

C. neoformans crece en 24-72 horas en medios rutinarios, como el agar glucosado de Sabouraud sin cicloheximida, y en medios bacteriológicos habituales, como el agar-sangre y el agar-chocolate; este último a 37°C y en atmósfera de CO₂ favorece el desarrollo de la cápsula. Las colonias son mucosas, de color crema y brillantes, que al envejecer se vuelven amarillentas y más opacas. La microscopía demuestra que son levaduras esféricas o globosas, de 3-7 x 3,5-8µ, con gemación unipolar o multipolar, con una cápsula de naturaleza mucopolisacárida que tiene diferente grosor y diámetro, entre 2 y 20µ. Después de varios subcultivos, puede perder esta cápsula. Excepcionalmente, en los materiales patológicos y en condiciones de cultivos muy especiales, pueden observarse levaduras capaces de formar filamentos.

Subclase	Blastomycete
Orden	Cryptococcales
Familia	Cryptococcaceae
Estado anamorfo	<i>Cryptococcus neoformans</i> ([Sanfelice] Vuillemin, 1901)
Orden	Ustilaginales
Estado teleomorfo	<i>Filobasidiella neoformans</i> (Kwon Chung, 1975)

ECOLOGÍA Y ETIOPATOGENIA

La criptococosis se conoce desde finales del siglo pasado. El habitat de *C. neoformans* está ligado a las palomas, puesto que es a partir de excretas desecadas de este ave (*Columba livia*) de donde se aísla principalmente de la naturaleza. La apetencia por este sustrato está relacionada con su contenido en nitrógeno y creatinina y con la elevada concentración de sales. Existe una importante competencia con otros microorganismos que determina la imposibilidad de supervivencia de *Cryptococcus* en el suelo libre de heces de paloma, ave que no sufre la infección. Las levaduras pueden mantenerse viables en excrementos de paloma durante dos años o más, si se han guardado al abrigo del sol cuyos rayos son esterilizantes.

En la naturaleza, las levaduras son no capsuladas y de tamaño muy reducido (1-2 μ), lo cual favorece su penetración por el árbol bronquial al ser inhaladas. Además, se ha pensado que las formas infectantes son basidiosporas, pues éstas están en tamaño más pequeño. Las levaduras sin cápsula, al inocularse experimentalmente, adquieren la cápsula que les confiere la virulencia. La infección es más frecuente en el hombre que en la mujer. La distribución geográfica de *C. neoformans* es universal en áreas urbanas y rurales.

La cápsula parece tener un importante papel en la patogénesis de la infección interfiriendo con la opsonización y, por tanto, con la fagocitosis, principalmente de los neutrófilos. Las alteraciones de los linfocitos T, con disminución de la actividad activadora de los macrófagos por las linfoquinas, también reduciría la capacidad fungicida de los mononucleares. La respuesta inmune es iniciada por los macrófagos y linfocitos CD₄⁺ y CD₈⁺. La presencia de los linfocitos CD₄⁺ es crucial para el éxito de la defensa en inmunocompetentes, pero los linfocitos CD₈⁺ pueden participar en la activación de citocinas con efecto anticriptocócico.

La diseminación hematógena ocurre en 10% de los afectados, principalmente en sujetos debilitados y en particular SIDA por falta de un sistema inmune celular efectivo. Puede afectar cualquier órgano, de preferencia cerebro y meninges; se cree que esta afinidad se debe a la baja respuesta fagocitaria y presencia de factores nutricionales en esos órganos o a la ausencia de factores inhibitorios séricos. En las últimas etapas de fungemia puede haber criptococomas en pulmones y cerebro. Las lesiones en piel pueden proceder hasta dos a ocho meses a las manifestaciones sistémicas. Los criadores de palomas tienen infección demostrada por las concentraciones elevadas de anticuerpos, más no enfermedad. Se ha descrito esta micosis en osos koala.

La criptococosis se presenta clínicamente en dos formas: una que afecta a los sujetos normales, de evolución benigna, que puede ser en muchos casos autolimitada, y otra forma clínica, en enfermos con procesos inmunosupresores, de pronóstico sombrío. No es una típica micosis oportunista, pero su evolución se ve muy favorecida por las alteraciones inmunitarias del huésped.

CLÍNICA

La vía de infección habitual es la inhalatoria, y raramente por inoculación; por tanto, la puerta de entrada es pulmonar y la localización primera de la infección se encuentra en esta viscera. Sin embargo, sólo en una pequeña proporción de casos clínicos la primera presentación clínica es la respiratoria; por el contrario, su diseminación al SNC u otros órganos es el motivo de consulta clínica más común.

CLASIFICACIÓN

Pulmonar, meningocerebral, cutánea y mucocutánea, ósea y visceral.

CRIPTOCOCOSIS DEL APARATO RESPIRATORIO O PULMONAR

La mayoría de las infecciones pulmonares son asintomáticas. En los enfermos sintomáticos aparece tos con expectoración mucosa, hemóptisis, malestar general, adelgazamiento, dolor pleural y febrícula. En ocasiones puede simular una tuberculosis a la que de manera excepcional puede estar asociada.

Las imágenes radiológicas son inespecíficas, y consisten en infiltrados localizados, no muy extensos, sobre todo en los lóbulos inferiores. En ocasiones puede presentarse como un nódulo pulmonar solitario. Al resolverse la lesión, no suele dejar cavidades ni nódulos residuales. Según el estado del paciente, el grado de infección, la virulencia de la cepa y el tiempo de evolución, se describen cuatro tipos de lesiones pulmonares radiológicas: la forma más evolucionada es similar a la tuberculosis miliar.

En muchos casos, el diagnóstico de criptococosis pulmonar es secundario al de meningitis y se llega a él durante el estudio general del enfermo.

En SIDA, la afección pulmonar se presenta en 10% y puede haber infecciones concomitantes por *P. carinii*, *Mycobacterium avium intracellulare* e *Histoplasma capsulatum*.

El diagnóstico diferencial se establece con los infiltrados de naturaleza vírica o bacteriana, con la tuberculosis, neoplasias y neumonitis.

El diagnóstico etiológico se hace por examen microscópico de los esputos, aspirados bronquiales o biopsias de pulmón; aunque la visualización del hongo suele ser difícil.

CRIPTOCOCOSIS DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL O MENINGOCEREBRAL

La forma clínica más común es la meningitis, que puede presentar una evolución subaguda o crónica, con menos frecuencia aguda. Es corriente que se asocie a localización cerebral en forma de granulomas, de abscesos o quistes gelatinosos que contienen gran número de criptococos.

La clínica de la meningitis criptocócica se caracteriza por cefaleas frontotemporal y retroocular (70%); fiebre (60%); rigidez de nuca y signos positivos de Kernig y Brudzinski (50%); alteraciones visuales, visión borrosa, fotofobia, nistagmo (40%), náuseas y vómitos (10%) y síndrome meníngeo y signos neurológicos focales; a veces se asocia a una hipertensión endocraneana e hidrocefalo interno de grave evolución. Los trastornos de la conciencia y los cambios de personalidad pseudopsiquiátricos también pueden ser una manifestación de la afectación del SNC por *C. neoformans*.

La punción espinal muestra un LCR claro, hipertenso, con hiperproteorraquia, variable de 40 a 500 o más mg/100 ml, disminución de los cloruros y de la glucosa, a veces marcada (10 a 20 mg/100 ml), pleocitosis con linfocitos, cuyo número no suele exceder de las 200-800 células por mililitro. La hipertensión del líquido cefalorraquídeo es un signo de mal pronóstico. Al centrifugar el LCR y observar microscópicamente el sedimento utilizando como contraste la tinta china, pueden visualizarse numerosos criptococos, aunque éstos pueden estar ausentes, lo que ocurre sobre todo si la lesión es cerebral. La sensibilidad de la tinta china es baja, ya que sólo es positiva aproximadamente en un 50% de los casos. Tiene gran interés diagnóstico la detección de antígeno de criptococo en el sobrenadante. La lesión sólida del SNC es mucho menos frecuente, y se describe en un 5% aproximadamente de los casos; se presenta como tumoraciones o abscesos en el cerebro o el cerebelo, y se conocen con el nombre de criptocomas.

La mayoría de los pacientes con meningitis criptocócica tienen enfermedades graves subyacentes: leucemia, enfermedad de Hodgkin, linfomas, cáncer sólido, sarcoidosis, silicosis, diabetes y, en la actualidad, un gran número de enfermos que padecen el SIDA. En SIDA la meningoencefalitis se presenta en 60% y es de evolución rápida, en dos semanas la mortalidad es muy alta.

La evolución clínica es variable; en la época anterior a la anfotericina B, era indiscutiblemente mortal en 2-6 meses, dependiendo de la enfermedad subyacente. Algunos casos pueden evolucionar 1 o más años.

CRIPTOCOCOSIS CUTÁNEA Y MUCOCUTÁNEA

Las lesiones cutáneas se presentan en un 10 a 15%; son únicas o múltiples, en cualquier localización, pero predominan en cara, cuello y tórax. La morfología es muy variada, hay pápulas, pápulo-pústulas acneiformes, furunculoides o moluscoideas, nódulos, placas verrugosas o zonas de celulitis o hipodermatitis (paniculitis), incluso con vesículas, lesiones purpúricas o úlceras con bordes violáceos y dolorosos a la palpación que pueden llegar a tejido celular y están cubiertas de costras escaras; cicatrización espontáneamente o persisten con tendencia a fistulizar.

CRIPTOCOCOSIS DISEMINADA

Además de la criptococosis del SNC, que es el foco principal en la diseminación a partir del pulmón, pueden producirse localizaciones en cualquier órgano o víscera: hígado, riñón, bazo, ganglios linfáticos, próstata y suprarrenales.

La próstata se considera que puede constituir un reservorio de los criptococos, lo cual explicaría las frecuentes recidivas, principalmente en enfermos inmunodeprimidos.

La afección ocular puede ser secundaria a otras localizaciones, relacionarse con trasplante de córnea o queratoplasia

DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO

El diagnóstico de la criptococosis se basa en la observación al microscopio de las típicas levaduras encapsuladas, en el cultivo de las mismas en medios adecuados, y en la demostración en líquidos biológicos de los antígenos capsulares.

Para el examen directo se toma exudado, esputo o tejido cerebral; si se trata de LCR u orina deben centrifugarse; se realiza con tinta china o diluida en agua (1:5) y el criptococo se muestra fácilmente como levaduras de 4 a 8 micras de diámetro, rodeadas por una cápsula mucoide de 1 a 10

micras de espesor y que no se colorea con tinta china y semeja un espacio claro; ocasionalmente hay pseudofilamentos

La cápsula polisacárida no toma los colorantes habituales como el de Giemsa, Gram y otros más específicos de hongos (PAS, Grocott); por tanto, su demostración se efectúa bien por contraste negativo (espacio claro alrededor de las levaduras), por el uso de la tinta china que, mezclada con el LCR, confiere a la preparación un contraste oscuro sobre el que se destaca la levadura con su cápsula. Esta tinción de contraste tiene su mayor aplicación en el caso de las meningitis.

En otros materiales, como esputo y biopsias, la presencia de la cápsula determina que se aprecie una zona clara alrededor de levaduras que están separadas entre sí. La confirmación de que se trata de levaduras se consigue observando la gemación. Los cultivos se obtienen en 24-72 horas en medios libres de cicloheximida, que inhibe por completo el desarrollo de *C. neoformans*, como el agar de Sabouraud con cloranfenicol o sin él, el agar-cerebro-corazón, el agar-sangre, o el medio de Ruiz Castañeda para hemocultivos. Las colonias son lisas, mucoides, blanco-amarillentas y microscópicamente se observan levaduras con cápsula, aunque en resiembras sucesivas ésta disminuye y puede llegar a desaparecer. *C. neoformans* tiene la particularidad de producir pigmento melanoide cuando se cultiva en medios ricos en compuestos fenólicos, como el del ácido cafeico, semillas de girasol; estos medios diferenciales son útiles para los aislamientos a partir de la naturaleza, aunque también se usan con muestras clínicas. Si la cepa produce cápsulas pequeñas se estimula su producción mediante siembra en agar chocolate e incubación a 37°C en atmósfera de CO₂. Ocasionalmente produce pseudohifas.

Cryptococcus no fermenta los azúcares; esto se prueba con facilidad al efectuar la prueba en glucosa; asimila dextrosa, galactosa, maltosa y sacarosa. En agar "corn meal" pierde los micelios. Es positivo para ureasa, es decir, hidroliza la urea y aumenta el pH; para esta prueba se puede utilizar el medio urea-indol que se emplea para enterobacterias (a 37°C) el rojo fenol, de color amarillo, cambia a rojo violáceo en 3 a 6 hs por formación de carbonato de amonio.

C. neoformans es el único género que presenta la enzima fenoloxidasas, esta prueba se puede realizar al hacer el cultivo en un medio con semillas pulverizadas de *Guizotia abyssinica* (medio de Staib o agar de semillas de níger o agar ácido cafeico) donde adopta color ocre (fenoloxidasas +). También se puede sembrar en medio preparado con semillas de girasol.

C. neoformans se diferencia de otras levaduras no patógenas del género *Cryptococcus* porque utiliza galactosa pero no lactosa ni nitrato de potasio; crece a 37°C pero muere a 40-42°C y es patógeno experimental.

Tiene gran importancia diagnóstica la detección de antígeno capsular a través de una prueba de aglutinación del látex que tiene fijado a su superficie anticuerpos policlonales contra los polisacáridos. El látex se utiliza para detectar y cuantificar los niveles de antígeno en LCR, suero, orina y, más raramente, otros fluidos. La sensibilidad de la prueba del látex en la meningitis criptocócica es muy alta, de más del 90%. En sangre, los niveles suelen ser mucho menores. Se han descrito falsos positivos en infecciones por *Trichosporon beigeli*, en la histoplasmosis, peniciliosis y mucormicosis. La cuantificación del título de antígeno de criptococos es útil de cara al seguimiento de la evolución, ya que dicho título desciende si la respuesta terapéutica es buena y aumenta, días o semanas antes de que se produzca una recaída. En suero y LCR se realizan pruebas para la detección de anticuerpos (anticuerpos fluorescentes indirectos) positivos en 77% a 99%; fijación de complemento y ELISA. Una prueba positiva es altamente sugestiva de enfermedad diseminada y los títulos se correlacionan con la gravedad de la enfermedad y la respuesta al tratamiento. El aumento de anticuerpos con disminución de antígenos indica buen pronóstico.

En el LCR las alteraciones son leves; hay incremento de la presión, leucocitosis predominantemente linfocitaria, aumento de proteínas y en 50% hipoglucorraquia.

En SIDA la meningoencefalitis se acompaña casi siempre de cuentas linfocitarias CD4 menores a 100, su detección en LCR se logra en un 75%; hay disminución de leucocitos y aumento de la presión con ligeras anomalías de proteínas y glucosa.

Las radiografías de tórax muestran condensación en bases pulmonares, infiltrados alveolares o intersticiales, o miliares, lesiones en moneda, o cavidades, así como derrame pleural; en huesos se observan lesiones líticas sin periostitis. La tomografía de cabeza puede ser anormal, con lesiones parenquimatosas e hidrocefalia; se pueden observar masa de aspecto tumoral, abscesos o lesiones quísticas.

En todo paciente con criptococosis deben practicarse pruebas de anticuerpos HIV.

Cryptococcus ha sido dividido en 6 genotipos de acuerdo con diferentes combinaciones de sus cuatro bandas mayores. En la detección del polimorfismo han sido útiles: electroforesis enzimática de multilocus, cariotipo electroforético, "fingerprinting", reacción en cadena de polimerasa (PCR), y el análisis de polimorfismo del DNA amplificado con cebadores arbitrarios (RADP), random amplified polymorphic DNA).

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Las formas pulmonares, con histoplasmosis, coccidioidomicosis, y neoplasias; las cutáneas, con acné, foliculitis, molusco contagioso, actinomicosis, micobacteriosis, ectima, hipodermatitis, vasculitis, pioderma gangrenosa. También con meningitis tuberculosa, carcinomatosis meníngea o enfermedades virales; en huesos, con coccidioidomicosis.

El estudio micológico debe diferenciarse de *Candida*, *Malassezia*, *Histoplasma* y *Blastomyces dermatitidis*.

TRATAMIENTO

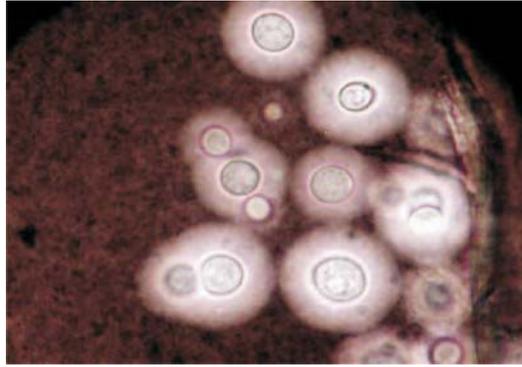
La asociación de AMB y 5-FC resultó ser más eficaz que el uso de AMB exclusivamente, reduciendo además la toxicidad renal de este antifúngico. Aunque se han empleado otros antifúngicos, como el miconazol intravenoso y el ketoconazol oral, las únicas alternativas que parecen ser válidas hasta el momento son el itraconazol y el fluconazol; este último azólico por los elevados niveles que alcanza en el LCR. A pesar de cualquiera que sea la pauta de tratamiento, el 6,9% de los enfermos de SIDA no responden y la mortalidad es muy elevada. Los resultados con los nuevos azólicos representan una alternativa, aunque por el momento parece estar limitada a los enfermos sin SIDA o no gravemente inmunodeprimidos, o bien a los que no toleran el tratamiento convencional con AMB y 5-FC.

PRONÓSTICO

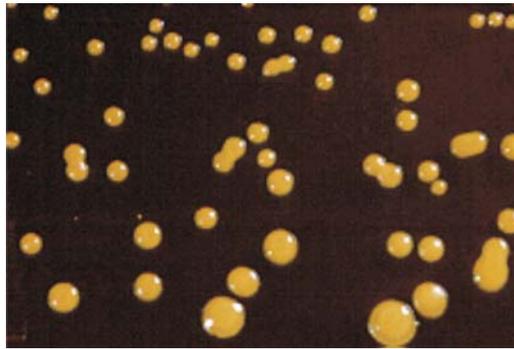
Las formas primarias, pulmonares y cutáneas pueden curar sola; hay formas cutáneas y óseas crónicas y lentamente progresiva; la evolución de la enfermedad pulmonar es muy variable. Los casos meníngeos y en SIDA son letales, con mortalidad de 75% a 100%. La afección prostática es importante, pues puede ser un reservorio durante el tratamiento. En el pulmón se puede observar colonización asintomática.

PREVENCIÓN

Los excrementos de palomas supuestamente contaminados se mezclan con tierra o se exponen a la luz. Criptococosis es más frecuente en SIDA, en negros, varones o ante el uso de drogas intravenosas. El riesgo en pacientes HIV, es mayor con cuentas de linfocitos CD4+ <100/ul. Los triazoles previenen en adultos y adolescentes con cuenta de linfocitos CD4+ <50/ul, sin embargo es incierto: si se afecta supervivencia, el costo-efectividad o el impacto de la sensibilidad de otros hongos a los antifúngicos; el fluconazol es el medicamento recomendado en inmunosuprimidos. Están en experimentación las vacunas y anticuerpos monoclonales; se ha desarrollado una vacuna conjugada con toxoide tetánico y glucuronoxilomanano en modelos animales



Prueba de la tinta china



Colonias de *C. neoformans*

CAPÍTULO 6

INFECCIONES SISTÉMICAS POR LEVADURAS LIPÓFILAS

Malassezia furfur es una levadura lipófila causante de la pitiriasis versicolor, una micosis que afecta la zona más superficial de la epidermis, causando alteraciones en su pigmentación y descamación.

La mayoría de los individuos adultos normales y una proporción importante de niños son portadores asintomáticos de la fase no filamentosa de este hongo, denominada por algunos autores *Pityrosporum orbiculare*. A partir de 1979, en que una levadura identificada como *P. ovale* fue aislada del líquido de diálisis peritoneal en un enfermo con historia de peritonitis recurrente, este hongo ha sido responsable de infecciones sistémicas habiéndose aislado también de sinusitis, tejido pulmonar y, más frecuentemente, de sepsis relacionada con el catéter y nutrición parenteral.

En los últimos años se ha observado un número creciente de hemocultivos positivos para este hongo, principalmente en niños prematuros y adultos con enfermedades subyacentes graves. En estos pacientes existe un elemento común: la existencia de un catéter venoso central y la administración prolongada de suplementos calóricos a base de lípidos, por vía intravenosa.

La colonización cutánea por *M. furfur* en prematuros es favorecida por la baja edad gestacional, el tiempo de estancia en una unidad de cuidados intensivos y factores externos, como la aplicación de aceite de girasol a la piel de los pacientes para evitar su desecación.

En el escaso número de adultos con hemocultivos positivos, las enfermedades subyacentes más comunes fueron: enfermedad de Crohn, anemia aplásica y trasplante de médula ósea con reacción injerto contra huésped, pancreatitis hemorrágica y etilismo, adenocarcinoma, diverticulitis e intervenciones del tracto digestivo repetidas. La sintomatología asociada con la sepsis no es específica; en neonatos se observa fiebre, trombocitopenia, infiltrados pulmonares y hepatoesplenomegalia. En prematuros es frecuente la bradicardia, leucocitosis y trombocitopenia. Los adultos pueden presentar fiebre como signo exclusivo. La *M. furfur* también se ha aislado en casos asintomáticos.

En cuanto al diagnóstico, debido a la lipofilia de esta levadura, no es posible su aislamiento en medios convencionales para hongos y bacterias. Se recomiendan los siguientes métodos: la preparación de la sangre según el sistema de lisis-centrifugación y la siembra del sedimento en agar-Dixon o agar-Sabouraud, con el añadido de aceite de oliva estéril. El medio de Dixon contiene monoestearato de glicerol y Tween-80. El hemocultivo no se considera adecuado para registrar el crecimiento de *M. furfur*. Es conveniente realizar el cultivo de la punta del catéter venoso utilizado para administrar la emulsión de lípidos. Algunos autores recomiendan realizar la extracción de sangre para el cultivo a través del catéter. La siembra del fluido lipídico no ha permitido aislar este hongo a pesar de múltiples intentos. La identificación viene dada por las características de lipofilia y el aspecto microscópico. (Láminas 1; 2)

TRATAMIENTO

El tratamiento adecuado es la extracción del catéter venoso central y suspender, de ser posible, la administración de la emulsión lipídica. El papel de los antifúngicos es discutible; algunos autores recomiendan emplear la anfotericina B, mientras que otros prefieren los azoles, como el miconazol o el ketoconazol oral, ya que ambos serían igual de eficaces que la AMB sin la nefrotoxicidad de esta.

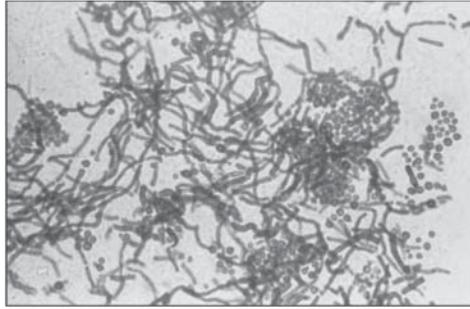


Lámina N°1. Observación microscópica directa *Malassezia* sp

Lámina N°2. Cultivo *Malassezia* sp.



CAPÍTULO 7

PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO PARA LA IDENTIFICACIÓN HONGOS LEVADURIFORMES

Las levaduras comprenden un gran número de microorganismos ampliamente distribuidos en la naturaleza. Se las puede encontrar en la piel de las frutas, granos, miel, materia orgánica que contenga hidratos de carbono, en el suelo, aire, mar y también como parte de la flora habitual de mamíferos en zonas como la piel, mucosa digestiva y genital.

Muchas de las especies de levadura son útiles para el hombre, tal como las que se emplean la producción de cerveza, vino, pan y otros alimentos nutritivos. Mientras que otras especies son perjudiciales ya que descomponen alimentos, deterioran fibras textiles o causan enfermedades a las plantas, animales y hombres.

Las levaduras pueden ser definidas como hongos unicelulares que se pueden reproducir sexual y asexualmente; carecen de clorofila y por lo tanto son heterótrofos, es decir viven a expensas de otros seres vivos (parásitos), o sobre materia orgánica muerta (saprófitos).

Dependen para obtención de energía, como las plantas y animales de la desasimilación oxidativa aeróbica y de la fermentación anaeróbica.

Las células pueden ser esferoidales, elipsoidales, ovoideas, cilíndricas, alargadas, en forma de luna, etc. Estas características se pueden emplear para diferenciar los géneros, como así también el tipo de reproducción vegetativa como brotación monopolar, multipolar o por fisión, también la formación de pseudomicelio o verdadero micelio, entre otras.

Sus dimensiones pueden variar según la especie, nutrición y otros factores, pero oscila entre 1 a 5 μ de ancho por 1 a 10 μ de largo.

Teñidas con Gram, son Gram positivas. Su pared celular esta constituida por macromoléculas: manán, glucán y proteínas, la mayor parte en forma de glicoproteínas.

Existen 623 especies conocidas de levaduras distribuidas en 60 géneros taxonómicos de las cuales solo aproximadamente 20 especies son capaces de producir enfermedades en humanos y animales, por las que se le han considerado de interés médico. Dentro de ellas, las más frecuentemente aisladas como agentes causantes de infecciones humanas son: *Candida albicans* y otras levaduras del género *Candida* entre las cuales podemos mencionar a la *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. glabrata*. Otros hongos levaduriformes importantes son el *Cryptococcus neoformans*, *Malassezia spp*, *Geotrichum spp*, *Trichosporon beigelii*, *Rhodotorula rubra*, *Rhodotorula glutinis*.

REPRODUCCIÓN

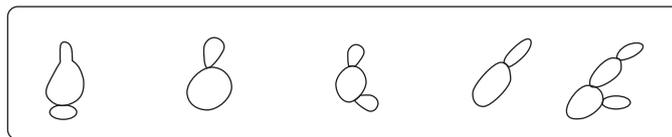
A. ASEXUAL O VEGETATIVA: FASE ANAMORFA

Pueden reproducirse por distintas formas: a) brotación, b) fisión, c) mecanismos especiales, d) forma de hifas.

A) BROTAÇÃO

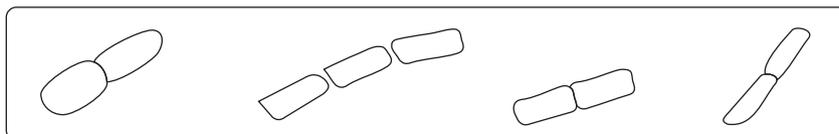
El proceso se inicia cuando las células madres emiten un conducto tubular desde una vacuola nuclear hacia un punto periférico próximo a la misma, donde se forma una pequeña evaginación ó protuberancia sobre la superficie externa de la célula madre. Una vez que el brote ha alcanzado el tamaño de la célula madre se separa sin formación de un tabique. El brote se puede producir en determinados sitios de la célula madre, según el grupo de levaduras al que corresponde, pudiendo estar restringida a:

- Un solo polo: brotación monopolar. Ej. *Malassezia spp*.
- Los polos distales de la célula madre: brotación bipolar. Levaduras apiculadas.
- Distintos sitios de célula madre: brotación multipolar o multilateral. La mayoría de las levaduras de interés médico presentan este tipo de brotación.



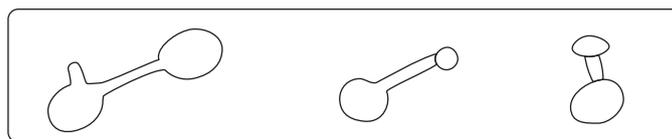
B) FISIÓN

Implica la duplicación de las células madres mediante el crecimiento de las paredes celulares para formar un septo transversal que divide el eje más largo de la célula para formar artrosporas, las células luego se elongan y se repiten el mismo proceso. Ejemplo de levaduras que se reproducen por fisión: *Schizosacharomyces spp*, *Trichosporon spp*.



C) FORMAS ESPECIALES

Una forma de reproducción vegetativa es la formación de conidios sostenidos por un péndulo de estructura tubular. Ej. *Levaduras del género Sterigmatomyces*.



Otra forma es la formación de balistosporas o esporas de descarga, son generadas por las células vegetativas y descargadas en el aire por el mecanismo de gota. Ej. *Sporobolomyces*.



D) FORMACIÓN DE PSEUDOHIFAS O HIFAS VERDADERAS

Algunas levaduras también pueden reproducirse por la formación de estructuras más o menos filamentosas, pudiendo ser estas hifas verdaderas o pseudohifas. Las denominadas pseudohifas o pseudomicelio se refieren a la formación de cadenas de células elongadas que se originan por gemación.

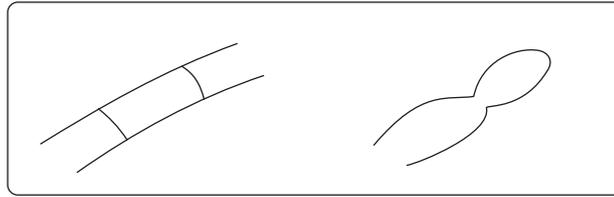
A su vez el pseudomicelio puede ser rudimentario y limitarse a una cadena de células elongadas de tamaño semejante, ó estar bien desarrollado y formado por células diferenciadas elongadas que producen blastosporas dispuestas en formas características y regulares. La disposición de las blastosporas fue usada antiguamente como carácter taxonómico pero debido a la existencia de tipos taxonómicos intermedios y a la gran variación que sufren se ha dejado de usar.

En la práctica es difícil distinguir un pseudomicelio de un micelio verdadero o de formas intermedias. Además en un mismo cultivo pueden aparecer todas estas formas a la vez. *Para poder diferenciarlos existen tres criterios basados en la observación de la célula terminal de la estructura hifal:*

1º CRITERIO

Micelio: las hifas verdaderas generalmente son refráctiles. El septo es recto, generalmente grueso y refráctil.

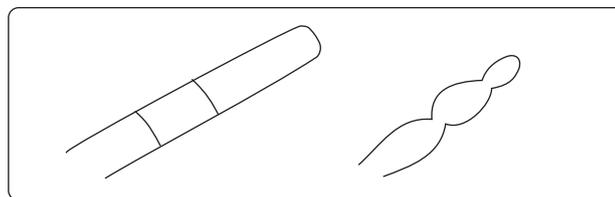
Pseudomicelio: no tiene septos discernibles y los extremos de las células intercalares son curvos y no refráctiles.



2º CRITERIO

Micelio: la mayoría de las células terminales son considerablemente mas largas que las adyacentes.

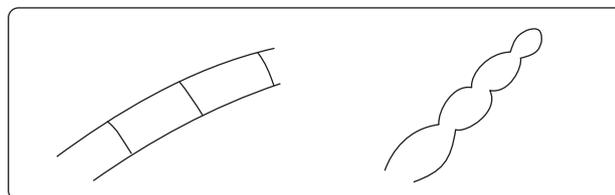
Pseudomicelio: las células terminales por regla general son mas cortas o aproximadamente iguales a las adyacentes.



3º CRITERIO

Micelio: las hifas verdaderas no muestran constricción (o es muy pequeña) en el septo o en el punto donde se va formando el septo.

Pseudomicelio: marcada constricción en el septo.



Algunos géneros producen simultáneamente hifas y pseudohifas, por ejemplo *Trichosporon*.

Otras estructuras de propagación del ciclo sexual son: artrosporas o artroconidias que se producen por rotura o desarticulación de micelio en cada una de las células.

B. REPRODUCCIÓN SEXUAL: FASE TELEOMORFA

Mediante la formación de ascos o basidiosporas. La característica de los ascos y ascosporas son un criterio taxonómico de gran importancia a nivel de género y especie.

Cuando las levaduras desarrollan en medios líquidos pueden formar anillos, sedimentos películas, etc.

En medio sólido las colonias pueden ser mucoides, friables, adherentes, rugosas, suaves, compactas, extendidas, etc.

CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS

La utilización de los compuestos orgánicos como fuente de energía puede hacerse por dos vías diferentes: vía oxidativa y vía fermentativa.

En la **vía oxidativa o metabolismo respiratorio:** el oxígeno es el aceptor final de electrones y solo ocurre en aerobiosis. Las levaduras no fermentadoras solo tienen este tipo de metabolismo.

En la **vía fermentativa anaeróbica:** algunas levaduras forman como producto final de su metabolismo etanol y dióxido de carbono mientras que otras forman ácido láctico a partir de la glucosa. Es

decir que pueden producir fermentación alcohólica y fermentación láctica. En ambas fermentaciones se produce la oxidación parcial del compuesto orgánico y se libera únicamente una pequeña cantidad de energía produciéndose ambas en anaerobiosis. Para la levadura el producto crucial es el ATP, siendo el dióxido de carbono y etanol productos de desecho. Para el hombre en cambio, esto no es así, ya que para la industria de la cerveza, la fermentación anaeróbica de la glucosa por las levaduras es el medio para obtener etanol y para la industria panadera lo es para obtener el dióxido de carbono.

Las propiedades fermentativas y oxidativas de las levaduras han permitido desarrollar técnicas que son la base de la descripción de las levaduras.

Es importante tener en cuenta que:

- a) toda levadura que utiliza fermentativamente un hidrato de carbono lo puede usar también oxidativamente.
- b) no todos los carbohidratos utilizados oxidativamente (asimilado), son siempre ocupados fermentativamente.
- c) una levadura capaz de fermentar glucosa es capaz de fermentar cualquier azúcar.
- d) una levadura que no puede fermentar glucosa no puede fermentar otro azúcar.

OTRAS CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS

- **Osmofilia:** las levaduras toleran altas concentraciones de azúcares por ello pueden alterar alimentos desecados, descomponer jarabes, almíbares, etc.
- **Termofilia:** la mayoría de las levaduras tienen una temperatura óptima de crecimiento, pero sin embargo hay excepciones. Las levaduras de regiones polares crecen poco a 20° C, pero desarrollan bien a 4°C.

IDENTIFICACIÓN DE LEVADURAS

La marcha de identificación de levaduras puede variar desde unos pocos test simples para identificación presuntiva de *Candida albicans* y *Cryptococcus neoformans*, a una gran variedad de pruebas necesarias para identificar definitivamente a todas las levaduras comúnmente aisladas en los laboratorios de micología (Esquema N°1).

PRUEBAS PARA IDENTIFICACIÓN PRESUNTIVA DE LEVADURAS

- Crecimiento a 28°C y 37°C.
- Prueba de filamentación para *C. albicans*.
- Prueba de formación de pseudomicelio, micelio verdadero y clamidosporas para *C. albicans*
- Crecimiento en medios cromogénicos CHROMagar *Candida*.

PRUEBAS PARA IDENTIFICACIÓN DEFINITIVA DE LEVADURAS

- a) *Características de la reproducción vegetativa:*
 - Crecimiento en agar morfología para macromorfología
 - Crecimiento en extracto de malta (medio líquido), para estudio micromorfológico
 - Cultivo en lámina o microcultivo, para estudio micromorfológico
- b) *Características de la reproducción sexual:*
 - Producción de ascosporas.
- c) *Características fisiológicas y bioquímicas.*
 - Ensayo de fermentación de glucosa, sacarosa, galactosa, maltosa y lactosa. (Zimograma).
 - Ensayo de asimilación de compuestos carbonados (Auxonogama).
 - Ensayo de asimilación de compuestos nitrogenados (Auxonogama)

DISCO DE FLUCONAZOL

Esta prueba de difusión en medio sólido sirve únicamente para confirmar ante la sospecha de una macro y micromorfología compatibles con *C. krusei*.

Se debe tener en cuenta que se puede observar halos iguales o menores aun, si se está frente a alguna levadura que haya desarrollado resistencia secundaria. (Ej: *C. glabrata*, *C. albicans*).

PROCEDIMIENTO:

- Preparar un inóculo comparando con el 0,5 Mc Farland a partir de un cultivo de 24hs.
- Sembrar una placa con medio Müller Hinton + azul de metileno + glucosa.
- Colocar el disco de Fluconazol de 25 μ g.
- Incubar a 37°C .
- Leer a las 24 hs.
- Halo \leq 14 indica resistencia al Fluconazol.

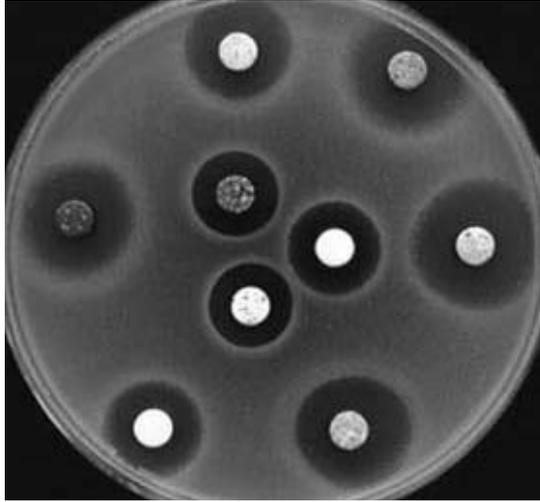
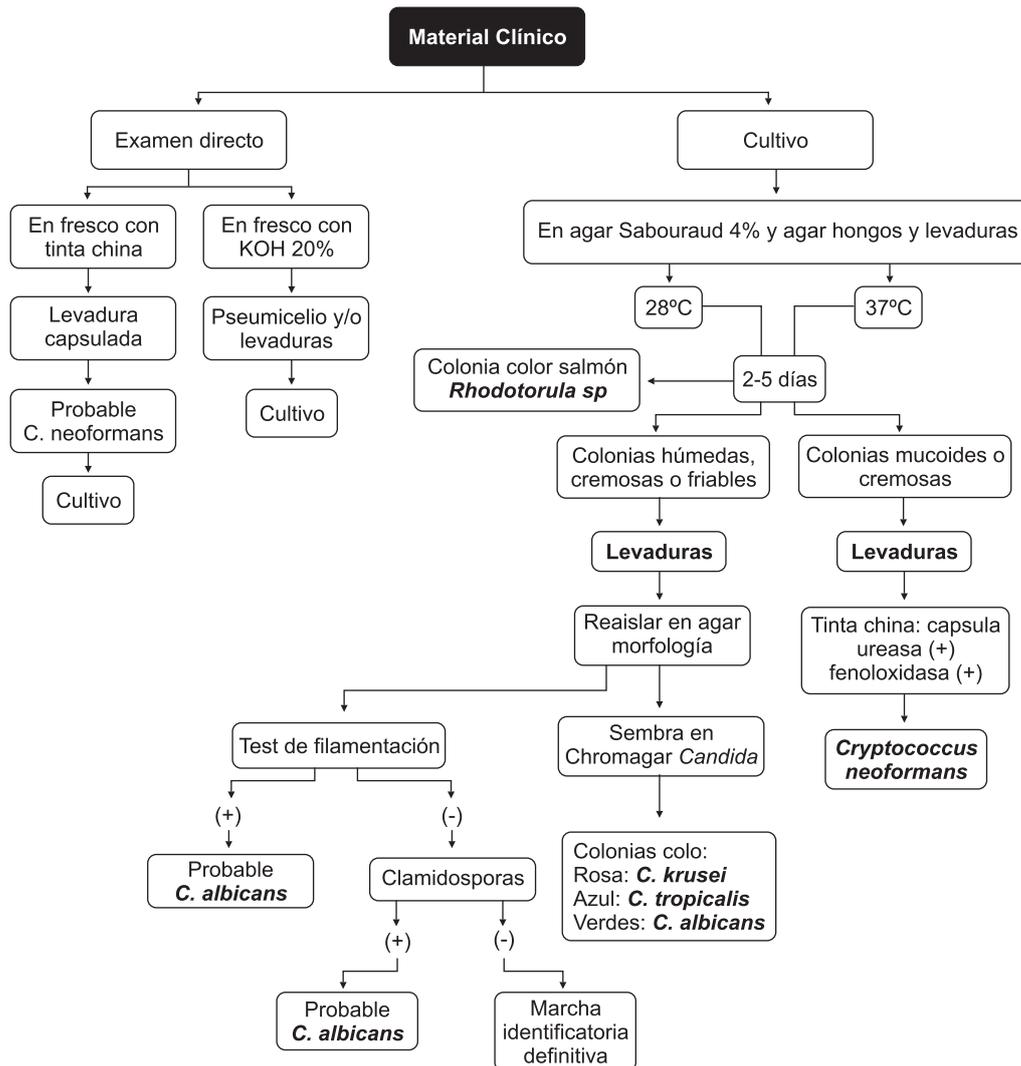


Figura N°5. Antifungigrama con distintos discos de antifúngicos

Esquema N°2: Esquema de identificación y diagrama diagnóstico para las levaduras frecuentemente aisladas en muestras clínicas



DESCRIPCIÓN DE LAS PRUEBAS

A) CRECIMIENTO A 37°C

Algunos hongos y levaduras pueden crecer a 28°C y 37°C. Generalmente un hongo que no puede crecer a 35°C-37°C es un contaminante, en cambio si puede hacerlo es probable que actúe como oportunista invasor.

PROCEDIMIENTO:

Sembrar la cepa en dos tubos de agar Sabouraud e incubar, uno a 37°C y el otro a 28°C.

Observar el tubo a 37°C a los 4 días y luego semanalmente hasta que se observe crecimiento en el tubo control a 28°C.

INTERPRETACIÓN:

El resultado es positivo cuando se observa igual o mayor desarrollo en el tubo a 37°C que en el de 28°C.

B) TEST DE FILAMENTACIÓN**PROCEDIMIENTO:**

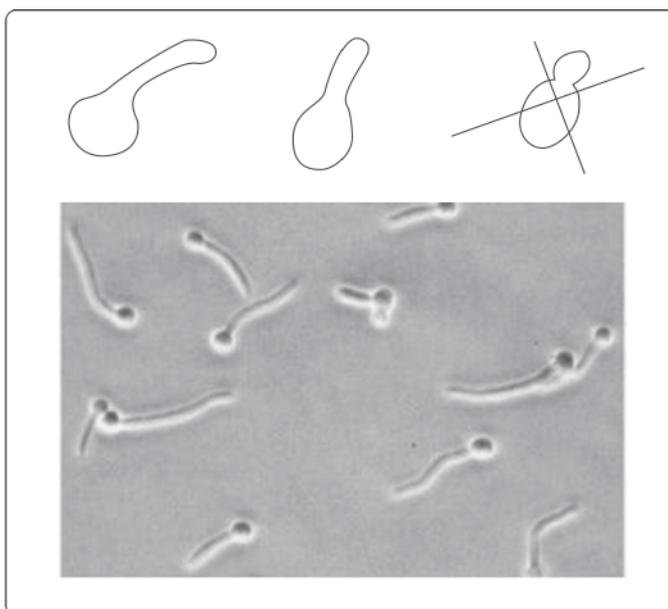
Realizar una suspensión ligera de un cultivo de 24 hs de la cepa en estudio en 0,5ml de suero humano inactivado a 56°C durante 30 min. Tocar la superficie de una colonia con un ansa y emulsionar en el suero. Incubar luego a 37°C y observar microscópicamente cada media hora hasta las tres horas.

Es necesario incubar un testigo positivo (*C. albicans*) y uno negativo (*C. guillemondii* u otra)

INTERPRETACIÓN:

El tubo germinativo se ve como una proyección filamentososa delgada que no presenta constricción en el punto de origen.

Esta prueba se considera la más confiable para identificar presuntivamente a la *C. albicans*, tiene una exactitud de 95-100% cuando se la compara con la identificación convencional.

**c) PRODUCCIÓN DE CLAMIDOSPORAS: MICROCULTIVOS EN LÁMINA**

Esta técnica se utiliza para la observación de micelio, pseudomicelio y clamidosporas, que son esporas de resistencia, redondas, refringentes, de pared engrosada y ricas en lípidos.

PROCEDIMIENTO:

Preparación de las placas de microcultivo y siembra:

Colocar en una caja de Petri una varilla de vidrio o de acero inoxidable doblada en forma de U y depositar sobre ella un portaobjetos limpio. Esterilizar por calor seco.

Colocar unos mililitros de agua estéril en el fondo de la placa o bien humedecer un algodón estéril. Luego fundir harina de maíz + tween 80 al 2% o bien agar leche al 0,1% y con una pipeta estéril colocar 2,5ml del medio sobre el portaobjetos y dejar solidificar.

Inocular usando ansa aguja, para ello se toca una colonia y se hace una línea cortando el agar.

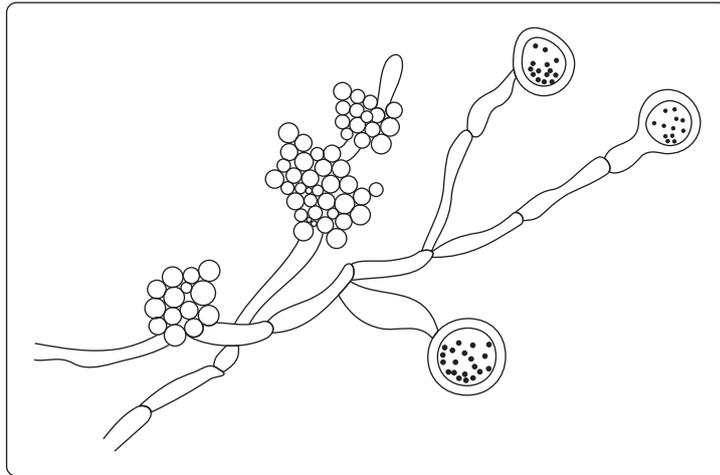
Colocar sobre la línea de siembra un cubreobjetos. Incubar a 25°C durante 4 a 5 días.

Observar al microscopio óptico en 40x en busca de micelio, pseudomicelio y clamidosporas.

Se debe hacer una descripción completa de toda característica de interés.

INTERPRETACIÓN:

La formación de clamidosporas es característica de *C. albicans*, pasados los 5 días el ensayo no es apto ya que otras levaduras pueden formar clamidosporas (*T. cutaneum*). Las clamidosporas se observan como estructuras terminales o intercalares redondas, refringentes y de pared engrosada.



D) SIEMBRA EN CHROMAGAR CANDIDA

El CHROMagar es un medio de cultivo cromogénico de identificación presuntiva de *Candida albicans*. Puede identificar presuntivamente también *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* en 72 hs de incubación a 30°C.

INTERPRETACIÓN:

Colonias color verde: *Candida albicans*

Colonias color azul: *Candida tropicalis*

Colonias color rosado: *Candida krusei*

Colonias color rosa a blancuzco: Otras especies de *Candida*

Estas características se pueden observar en la Figura N°6.



Figura N°6. Crecimiento en CHROMagar Candida

E) CRECIMIENTO EN MEDIOS SÓLIDOS: COLONIAS GIGANTES

Se emplea para lograr el desarrollo de una macro colonia a partir de la cual se pueda describir la velocidad de crecimiento y sus características macroscópicas.

Para este estudio se puede utilizar agar extracto de malta o agar de peptona - extracto de levadura 2%.

PROCEDIMIENTO:

Colocar el medio de cultivo en cajas de Petri y dejar solidificar.

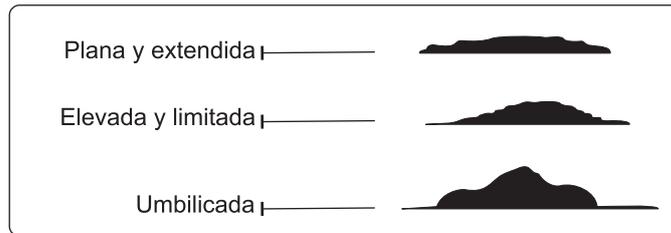
Inocular estérilmente, con un fragmento de cultivo de la cepa en crecimiento activo, el centro de la superficie del agar tratando de que quede bien adherida.

Sellar los bordes de la placa con cinta adhesiva para evitar la entrada de esporas del aire.

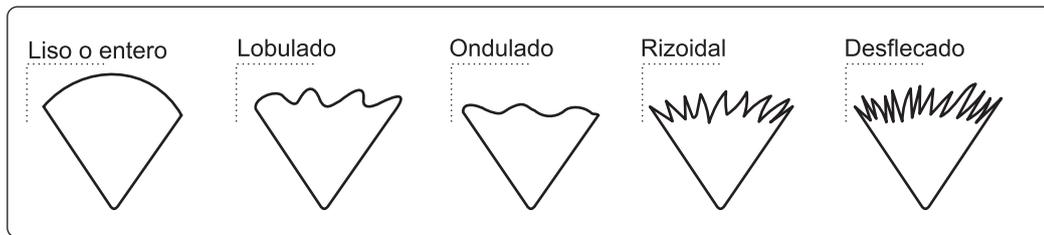
Incubar la placa en posición invertida durante 7 a 10 días hasta 4 semanas, luego de la cual se observan las características culturales.

Las características culturales a observar son las siguientes:

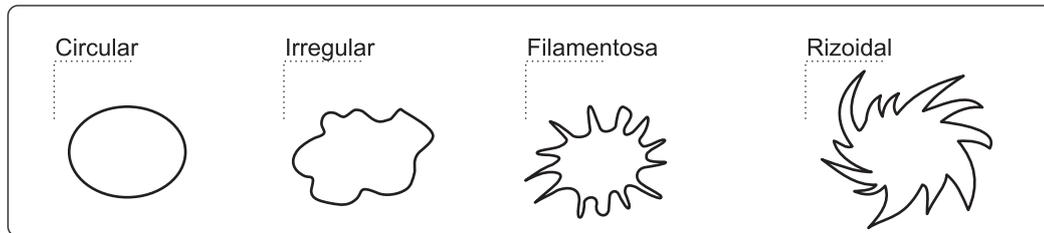
- **Textura:** mucoide, coherente y firme (opaca), butirosa (brillante y húmeda)
- **Color:** blanco, crema, salmón.
- **Superficie:** brillante o mate, sectorizada, estriada, cerebriforme, rugosa, vellosa.
- **Elevación:** plana y extendida, elevada y limitada, umbilicada.



- **Margen o borde:** liso o entero, lobulado, ondulado, rizoidal, desflecado.



- **Forma:** circular, irregular, filamentosa, rizoidal.



A. ESTUDIO DE LAS CARACTERÍSTICAS DE LA REPRODUCCIÓN VEGETATIVA. MICROMORFOLOGÍA

1) CRECIMIENTO EN MEDIO LÍQUIDO: EXTRACTO DE MALTA O SABOURAUD 4% LÍQUIDO.

Permite la observación rutinaria de las características micromorfológicas de las levaduras: blastoconidias, artroconidias, pseudomicelio y el tipo de brotación: monopolar, multipolar o por fisión

PROCEDIMIENTO:

Inocular un cultivo joven y en crecimiento activo (48 hs) de la cepa a estudiar en el medio líquido.

Incubar de 2 a 3 días a 25-28°C, luego examinar los cultivos y anotar las siguientes características:

- Forma y tamaño de las células: redondas, ovaladas, alargadas, etc.
- Modo de reproducción vegetativa: fisión, brotación, monopolar, dipolar o multipolar.
- Disposición de las células: aisladas, impares, cadenas.

- Presencia de cápsulas
- Formación de anillos, sedimentos o películas.

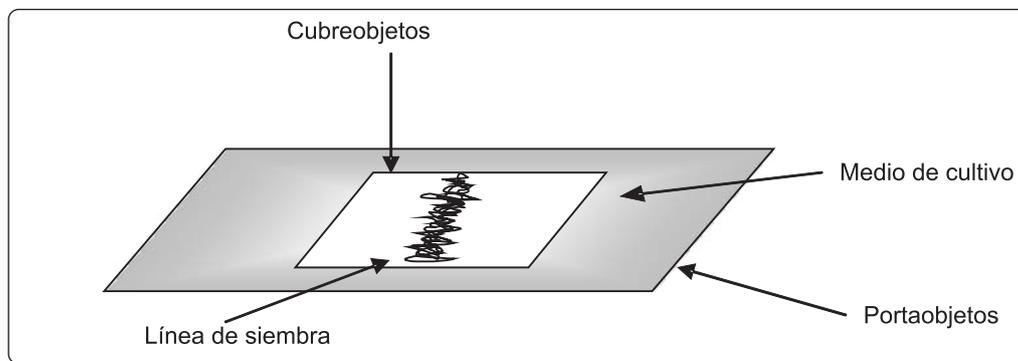
2) MICRO CULTIVO EN MEDIO SÓLIDO

Es el mejor método para observar la morfología y disposición microscópica de las distintas estructuras fúngicas, en caso de *C. albicans* se puede observar la formación de clamidosporas.

PROCEDIMIENTO:

- Preparar y esterilizar un esquema como se observa en la figura.
- Agregar sobre el portaobjetos 2,5ml de medio de cultivo. Por ejemplo, Sabouraud.o Agar leche con tween 80
- Sembrar en línea transversal al portaobjetos.
- Cubrir con cubreobjetos previamente flameado.
- Humedecer la base de la placa, para formar una cámara húmeda.
- Incubar a 28°C, 3 a 5 días.

En el esquema N° 3 se puede observar el microcultivo en lámina.



Esquema N° 3. Microcultivo en lámina.

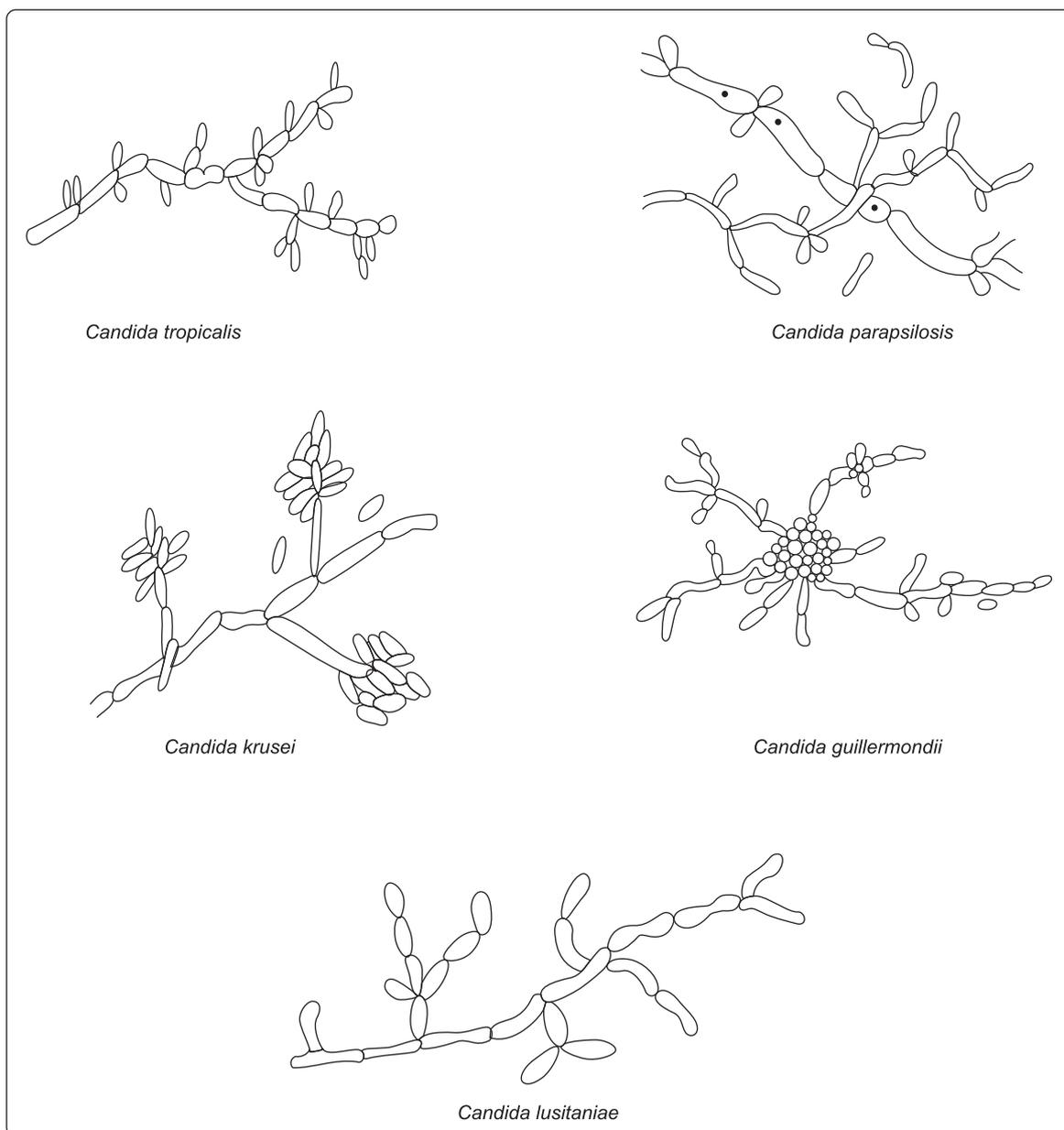


Imagen Nº 1. Micromorfología de *Candida tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. lusitanae*.

B. ESTUDIO DE LAS CARACTERÍSTICAS SEXUALES

1) FORMACIÓN DE ASCOS Y ASCOSPORAS

La formación de ascos y ascosporas se estudia en una gran variedad de medios especiales tales como: agar Gorodkowa, agar acetato, agar extracto de malta, agar harina de maíz, cuñas de zanahorias, papa, etc.

PROCEDIMIENTO:

- Llevar la cepa a un estado de crecimiento activo.
 - Sembrar varios medios de esporulación.
 - Incubar a 25°C durante tres días y observar al microscopio presencia de esporas.
- Si el material no ha esporulado se conserva 4 a 6 semanas.

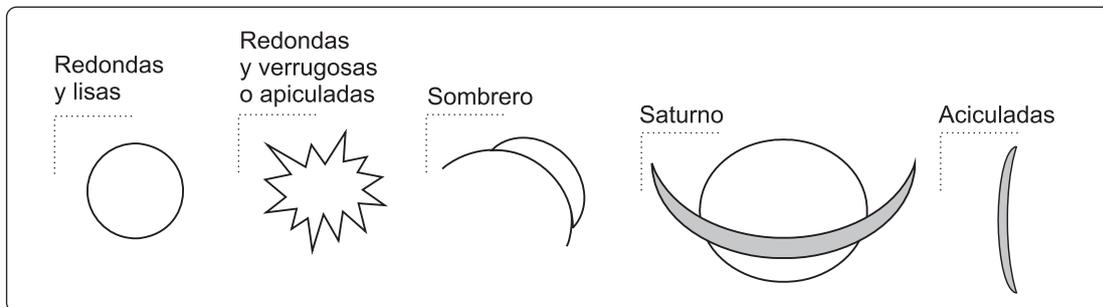


La formación de ascosporas se puede verificar mediante coloraciones de Wirtz o de carbolfucina modificada por Kufferatth.

Observar las siguientes características:

Forma del asco: Asco dehiscente o persistente.

FORMA DE LAS ASCOSPORAS:



C. ESTUDIO DE LAS CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS.

1) FERMENTACIÓN DE COMPUESTOS CARBONADOS (ZIMOGRAMA O FERMENTACIÓN)

Las pruebas de fermentación se basan en la propiedad que tienen ciertas levaduras de utilizar azúcares en anaerobiosis, con producción de ácidos orgánicos y CO₂. Esta propiedad varía desde una fermentación vigorosa a ausencia de fermentación según los géneros de levaduras que se traten.

Generalmente es suficiente estudiar la fermentación de glucosa, galactosa, sacarosa, maltosa y lactosa.

PROCEDIMIENTO:

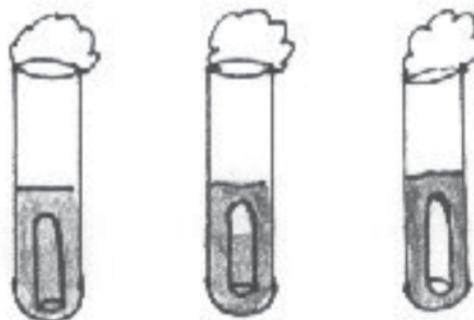
Inocular cada tubo del medio de fermentación con los azúcares al 2% y una campanita de Durham, con 0,1ml de suspensión de levaduras o bien usar tapón vas-par estéril. Incubar a 28°C y leer a los 3, 7,15 y 21 días.

INTERPRETACIÓN:

Observar la acumulación de gas (CO₂, producto de la fermentación) en la campanita de Durham, o desplazamiento del tapón.

Dependiendo del tiempo requerido para la formación de gas visible, se anota la fermentación del azúcar como:

- Fuerte: campanita llena de gas a los tres días.
- Débil: campanita con 1/3 de gas a los tres días
- Muy débil: campanita con una sola burbuja de gas en tres días.
- Negativo: no fermenta



2) ASIMILACIÓN DE COMPUESTOS CARBONADOS (AUXONOGRAMA O ASIMILACIÓN)

Este test se basa en la capacidad que tienen las levaduras de utilizar oxidativamente (asimilación) diferentes derivados hidrocarbonados y fuentes nitrogenadas orgánicas e inorgánicas.

PROCEDIMIENTO:

Fundir cinco tubos de medio base para fuentes de carbono en baño María, enfriar a 45-50°C y mantener a esa temperatura.

Preparar una suspensión densa de la cepa en estudio agregando a un cultivo de 48 hs, 4,5 ml de agua destilada estéril. Resuspender agitando en vortex.

Rotular cinco placas de Petri con el número de cepa, la fecha y el medio empleado, y agregar a cada una dos o tres gotas de solución de vitaminas.

Agregar a cada tubo de medio base (40°C-50°C) 0,5 ml. de suspensión de la cepa y agitar en el vortex.

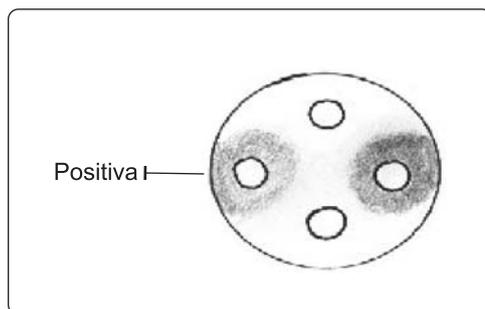
Volcar inmediatamente el contenido de cada tubo en cada una de las placas preparadas, rotar luego la placa para mezclar bien y luego dejar enfriar sobre una superficie plana.

Colocar con pinza estéril, los discos cargados con las fuentes de carbono: glucosa, galactosa, L-sorbose, sacarosa, maltosa, celobiosa, trehalosa, lactosa, melibiosa, rafinosa, melezitosa, D-xilosa, L-arabinosa, D-ribosa, D-manitol, inositol, almidón, L-ramnosa, eritritol, ácido cítrico.

Incubar a 25-28 ° C durante 48-72 hs. con la tapa de la placa hacia abajo.

INTERPRETACIÓN:

La asimilación es positiva cuando se observa un halo de desarrollo alrededor del disco.

**PRUEBA DE ASIMILACIÓN DE TREHALOSA**

Candida glabrata fermenta y asimila la trehalosa, por lo tanto esta prueba se puede utilizar para identificar presuntamente esta levadura.

Otras levaduras también fermentan la trehalosa, por ejemplo *C. tropicalis*, por tal motivo se debe basar en la micromorfología para utilizar esta prueba.

PROCEDIMIENTO:

La tableta de trehalosa ROSCO contiene 2,5 mg de carbohidrato específico y un indicador de pH (rojo fenol), que vira al amarillo cuando la trehalosa es utilizada.

Se realiza una suspensión de levaduras comparando a un 2 de Mc Farland, a partir de un cultivo de 24hs en 200µl de solución fisiológica estéril.

Se coloca la tableta en la suspensión y se incuba a 35°C.

La lectura se realiza a partir de las 1 - 2 hs hasta 24hs. *C. glabrata* utiliza trehalosa y vira el indicador de rojo a amarillo.

3) ASIMILACIÓN DE COMPUESTOS NITROGENADOS (AUXONOGRAMA)

Esta prueba se basa en la capacidad de asimilar fuente de nitrógeno que presentan los diversos géneros y especies de levaduras.

PROCEDIMIENTO:

Fundir un tubo con medio base para fuentes de nitrógeno en baño María, enfriar a 40°C o 50°C y mantener a esa temperatura.

Preparar una suspensión densa de la cepa en estudio agregando a un cultivo de 48 hs, 4,5 ml de agua destilada estéril. Resuspender agitando en vortex.

Rotular una placa de Petri con el número de cepa, fecha, el medio empleado y agregar en cada uno dos o tres gotas de vitaminas.

Agregar a cada tubo de medio base (a 45-50°C) 0,5 ml. de solución de la cepa y agitar el vortex.

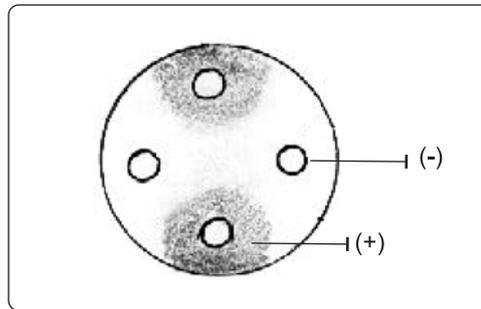
Volcar inmediatamente el contenido del tubo en la caja de Petri preparada, rotar luego la placa para mezclar bien dejar enfriar sobre una superficie plana.

Colocar con pinza esteril los discos cargados con las fuentes de nitrógeno nitrato de potasio y peptona.

Incubar a 25-28°C durante 48-72 hs. con la tapa de la placa hacia abajo.

INTERPRETACIÓN:

La asimilación es positiva cuando se observa halo de desarrollo alrededor del disco



PRUEBAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS

- Crecimiento a 37°C.
- Test de tinta china
- Prueba de producción de ureasa
- Ensayo de la fenoloxidasa.
- Agar semilla de girasol para diferenciación

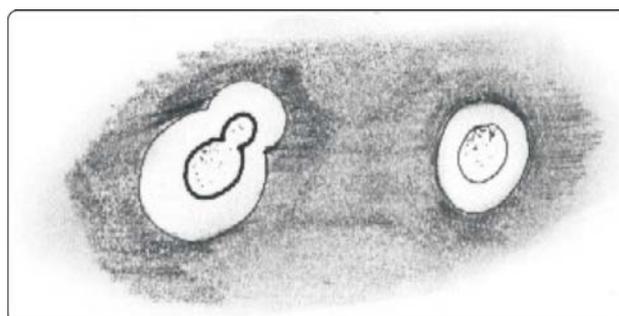
A) OBSERVACIÓN DE LA CÁPSULA: TEST DE LA TINTA CHINA

PROCEDIMIENTO:

Se coloca una ansada de la cepa en estudio sobre un portaobjeto y se aproxima a ella una gota de tinta china, luego se deposita un cubreobjeto sobre los mismos y en la zona de interfase se observa al microscopio óptico (40x).

INTERPRETACIÓN:

Se debe buscar la presencia de levaduras gemadas o no, de 4-20 micrones, con un halo claro alrededor que se produce por el desplazamiento de las partículas de tinta (carbón) por la cápsula de 1- 20 micrones de espesor, y que refringe contra el fondo negro del preparado.



B) PRODUCCIÓN DE UREASA

Se utiliza el medio agar urea de Christensen. Este contiene rojo de fenol que vira al rojo cuando se hidroliza la urea y se libera amonio alcanzando el medio.

PROCEDIMIENTO:

Estriar la cepa incógnita en el medio de cultivo y simultáneamente sembrar una cepa testigo. Incubar a 25°-28°C durante 3 días y observar el cambio de color del indicador.

INTERPRETACIÓN:

La prueba se considera positiva cuando el medio vira al rojo magenta.

Si el color original no se modifica o se torna amarillo la prueba es negativa.

C. neoformans y otros *Cryptococcus spp.*, e incluso otras levaduras producen ureasa, sin embargo *C. albicans* y otras especies del género *Candida* no la producen.

C) PRUEBA DE FENOL OXIDASA

Se basa en la detección de actividad de la enzima fenol oxidasa presente en *C. neoformans* sobre el sustrato L-Dopa.

PROCEDIMIENTO:

Colocar tres tiras de papel previamente embebidas con L-Dopa dentro de una placa de Petri estéril.

Prehidratar las tiras con buffer fosfato.

Colocar sobre una de las tiras la cepas en estudio y las otras una cepa de *C. albicans* (control negativo) y otra de *C. neoformans* (control positivo).

Incubar en cámara húmeda a 37° C.

Examinar a intervalos de 30 minutos hasta la aparición de pigmento marrón en el control positivo.

INTERPRETACIÓN:

La producción de un pigmento pardo indica reacción positiva y permite identificar presuntamente una cepa de *Cryptococcus neoformans*.

D) CULTIVO EN AGAR SEMILLA DE GIRASOL (FENOL-OXIDASA)

El medio contiene ácido cafeico (extracto semilla de girasol) que permite la detección de la enzima fenol-oxidasa producida únicamente por el *Cryptococcus neoformans*.

Esta reacción enzimática da como producto final melanina, la cual es absorbida por la pared del hongo dando un color marrón claro. Se siembra junto a un control negativo (*Candida sp.*) que desarrollara colonias color blanco.

IMÁGENES DE LA MICRO MORFOLOGÍA DE DISTINTAS CEPAS DE HONGOS LEVADURIFORMES.

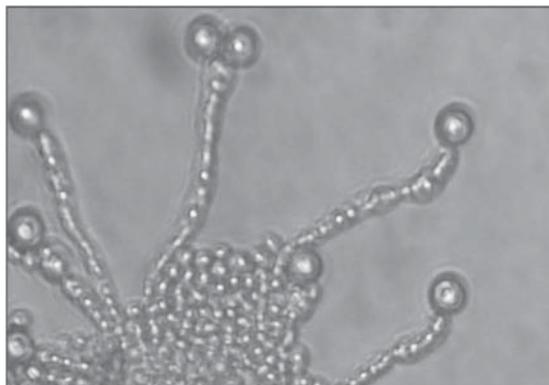


Figura N° 8. Clamidoconidias de *Candida albicans* en agar leche.con tween 80 (40x)

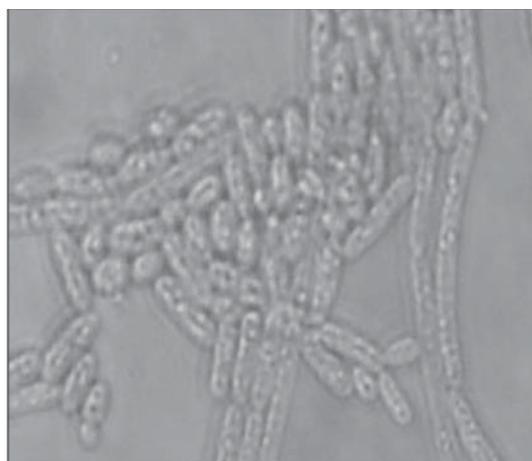


Figura N° 9. Micromorfología de *Candida krusei* en agar leche.con tween 80 (40x)

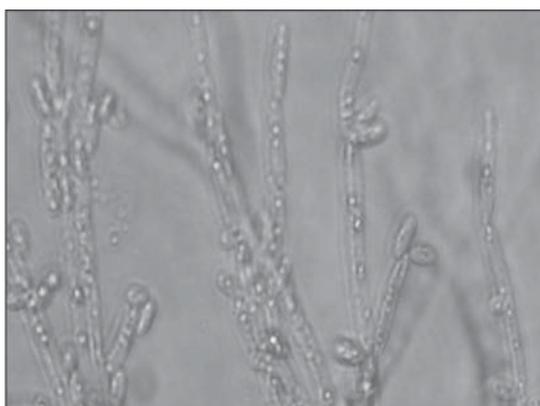


Figura N° 10. Micromorfología de *Candida parapsilosis* en agar leche y tween 80 (40x)



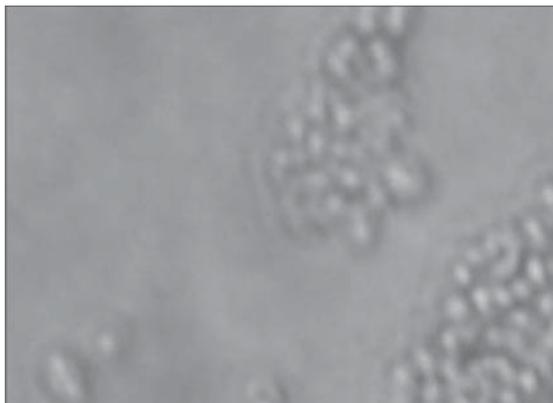


Figura N° 11. Micromorfología de *Candida glabrata* en agar leche y tween 80 (40x)

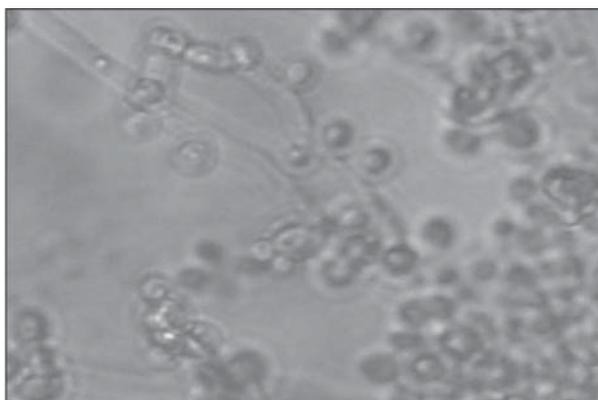


Figura N° 12. Micromorfología de *Candida guilliermondii* en agar leche y tween 80 (40x)

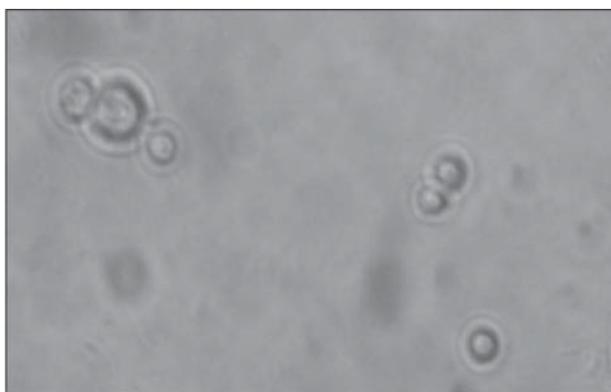


Figura N° 13. Micromorfología de *Cryptococcus neoformans* en agar leche y tween 80 (40x)

IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE MALASSEZIA

Existen varios medios descriptos para el aislamiento de estos agentes, por ejemplo: medio de Dixon, agar Sabouraud adicionado con bilis de buey. El más sencillo de utilizar es Sabouraud glucosado adicionado con aceite de oliva en la superficie.

Las características morfológicas y la necesidad de ácidos grasos para su crecimiento en 6 de las 7 especies, son las características fundamentales del género. (Figura 14)

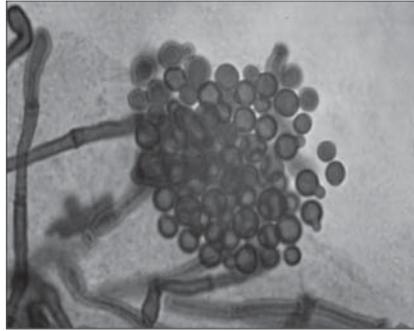


Figura N° 14. Examen directo con coloración de Giemsa. Se observan levaduras gemantes, redondas, y filamentos tabicados.

Cuadro N° 5. Características de algunas especies de hongos levaduriformes de interés médico.

Especie de levadura	Micromorfología	Chrom agar	Trehalosa	Asimilación azucres	Resistencia a los triazoles	urea
<i>Candida albicans</i>	Pseudomicelio con blastoconidias (3-7 x 3-14 μ) agrupadas, clamidoconidias	verde	negativo	G, S, M, T, Gal.,A	+	-
<i>Candida tropicalis</i>	Pseudomicelio largo ramificado, blastoconidias globosas a ovoides (3,5-7 x 5,5-10 μ) simples o en pares multibrotadas	azul	Positivo (a partir de las 3 horas)	G, S, M, Gal.	-	-
<i>Candida parapsilosis</i>	Pseudomicelio en forma de cadenas ramificado con blastoconidias ovoides simples, en pares (3-4 x 5-8 μ). También presenta células cilíndricas de mas de 20 μ de largo	Crema (NR)	negativo	G, S, M, Gal, T, A, X, Man	-	-
<i>Candida glabrata</i>	No produce pseudomicelio, blastoconidias pequeñas simples (2,5-4 x 3-6 μ)	Lila-púrpura	Positivo (a partir de las 2 hs)	trehalosa	+	-
<i>Candida guilliermondii</i>	Conglomerados de pseudomicelio rudimentario blastoconidias pequeñas y brotantes (3-4 x 5-8 μ)	Crema (NR)	negativo	sacarosa	-	-
<i>Candida krusei</i>	Blastoconidias alargadas con forma de habano(2-5 x 4-15 μ)	Rosado	Negativo	glucosa	+++	-
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Sin pseudomicelio, levaduras redondas brotantes con capsula	-	negativo	Gal, M, S, inositol	-	-
<i>Trichosporum beigelii</i>	Blastoartroconidias. clamidoconidias intercalares.	Azul-violáceo	negativo		-	-

Referencias. NR: no representativo. G: glucosa, S: sacarosa, M: Maltosa, Gal: galactosa, T: trehalosa, A: arabinosa, X: xilosa, Man: Manitol

IDENTIFICACIÓN DEFINITIVA DE LEVADURAS

MÉTODOS COMERCIALES

Existen en el medio, métodos comerciales cada vez más eficaces y rápidos para identificar un elevado porcentaje de las levaduras de interés clínico. Entre ellos podemos nombrar:

- ID 32C (biomerieux)
- API 20C AUX System (bio.merieux)
- VITEK YBC system (bio-Merieux)
- Fungychrom
- Yeast Star
- Auxacolor
- Rap mID Yeast Plus System.

Los procedimientos para identificación de los hongos levaduriformes se realizan según indicaciones del fabricante.

*La observación de la **micromorfoía** se debe realizar **siempre**, ya sea para la identificación presuntiva como para la definitiva.*

CAPÍTULO 8

CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO DE HONGOS LEVADURIFORMES EN LA CIUDAD DE POSADAS Y AREA DE INFLUENCIA

Uno de los mejores indicadores de la importancia que están adquiriendo las micosis, principalmente las infecciones invasoras, es la continua e imparable notificación de su incremento clínico. Debemos destacar que este aumento ha sido parejo, por una parte, a la mejora de los conocimientos, técnicas y tratamientos médicos y quirúrgicos que han prolongado la calidad y esperanza de vida de los seres humanos en los países de mayor capacidad económica y, por otra, a la aparición de infecciones y enfermedades que alteran el sistema inmune, como el SIDA.

Aunque se describen con creciente frecuencia infecciones producidas por los más diversos organismos fúngicos, la mayoría de las infecciones siguen siendo producidas por dermatofitos, *Malassezia*, *Candida*, *Aspergillus* y *Cryptococcus*. Estos tres últimos agentes están asociados a infecciones invasoras con un pronóstico más sombrío, en parte debido a las enfermedades subyacentes que predisponen a estas micosis y, en parte a la mortalidad directa asociada a la acción patógena de estos microorganismos.

La mayoría de las candidiasis están producidas por la especie *Candida albicans* y el origen de la infección es mayoritariamente endógeno, al ser esta especie un componente de la microbiota oral, digestiva o vaginal de un 5 a 50% de las personas. Otras especies de *Candida* se han asociado a infecciones invasoras, unas con probables origen endógeno, como *C. glabrata*, *C. tropicalis* o *C. dublinensis*, otras con un origen principalmente exógeno, como *C. parapsilosis*, *C. krusei* o *C. guilliermondii*. Aunque esta definición del origen, como muchos de los conceptos de ecología microbiana médica, no puede establecerse como una barrera absoluta. Uno de los problemas planteado en la etiología de las candidiasis es el posible aumento de las infecciones producidas por especies diferentes a *C. albicans*, que en principio deben considerarse como menos sensibles al fluconazol, uno de los antifúngicos más empleados.

Las infecciones meníngeas y diseminadas por *Cryptococcus neoformans* han estado vinculadas a pacientes con linfomas y, más recientemente, a enfermos con SIDA. La mortalidad de estos últimos pacientes atribuida a *Cryptococcus* era elevada. Sin embargo, las diferentes aproximaciones terapéuticas facilitadas por un diagnóstico preciso más rápido y fiable han cambiado el escenario de esta enfermedad (Quindós G, 2002)

No es tarea fácil, otorgar desde el laboratorio el rol etiológico a una levadura desde las diversas patogenias que pueda causar. El aislamiento debe reiterarse, demostrar la invasión del tejido, antecedentes y cuadro clínico que evidencien la sospecha de su etiopatogenia.

Las infecciones causadas por hongos no son enfermedades de denuncia obligatoria; consecuentemente, no existen bases de datos, la única información que se dispone son casos y epidemiologías reportadas. Sí, es evidente el aumento de las infecciones fúngicas causadas por levaduras, entre otras, como un fenómeno creciente a nivel mundial. Nuestra región no escapa a esta problemática, se reporta aquí el aislamiento, identificación y distribución de especies levaduriformes provenientes de diferentes muestras clínicas que llegan al servicio. Esta asistencia se brinda a instituciones vinculadas con la salud, pública y privada, a través del Proyecto de Extensión “Aislamientos fúngicos de interés médico”, desde la Cátedra de Micología de la Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales dependiente de la Universidad Nacional de Misiones.

Durante el período 2004-2007, se evaluaron 983 cepas de hongos levaduriformes.

Para la identificación de los hongos levaduriformes, es fundamental obtener en primer lugar un “cultivo puro”, a partir del cual se pueden iniciar los estudios sistemáticos por sus características morfológicas, fisiológicas y sexuales bajo condiciones estandarizadas, como ser:

- Formación de tubo germinativo por *Candida albicans*.
- Formación de clamidosporas por *Candida albicans*.
- Crecimiento a 28°C y 37°C.
- Cultivo en lámina con agar leche más Tween 80, para estudio micromorfológico.

- Siembra en agar cromógeno *Chromagar Candida*.
- Micromorfología en caldo extracto de malta.
- Asimilación de trehalosa para *C. glabrata*.
- Prueba de la ureasa.
- Siembra en agar semilla de girasol.
- Prueba de la tinta china para *Cryptococcus neoformans*.
- Test de aglutinación de partículas de latex para *Cryptococcus neoformans*.

Los hongos levaduriformes estudiados fueron aislados de distintas muestras clínicas: exudados vaginales, uñas de manos y pies, escamas de piel, hisopados de fauces, líquidos de punción, fluidos corporales entre otros. La frecuencia de aislamientos y su correlación con las muestras clínicas se detallan en la tabla 1.

Tabla N° 1. Muestras clínicas y aislamientos de hongos levaduriformes

Muestras clínicas	Aislamientos de Levaduras
Exudado vaginal	749
Uñas de manos	69
Orina	38
Escamas de piel	35
Hemocultivos	31
LCR	11
Uñas de pies	10
Punta de catéter	5
Partes blandas	5
Hisopado de fauces	4
Espuito	4
Hisopado de oído	3
Herida abierta	3
Materia fecal	3
Hisopado balanoprepucial	2
Biopsia úlcera	2
Cemento intraprotésico	2
Punción pleural	2
Líquido ascítico	1
Retrocultivo cánula	1
Articulación condílea	1
Articulación tibial	1
Resto trofoblástico	1
Total	983

Como puede observarse en la tabla N° 1, el mayor número de cepas fueron aisladas de muestras de exudado vaginal, derivadas del Hospital Regional Dr. Ramón Madariaga, en su mayoría de pacientes ambulatorias, con signos y síntomas de vulvovaginitis.

Así mismo, fueron frecuentes los aislamientos de levaduras a partir de muestras de uñas, piel, orina y hemocultivos.

Otras localizaciones arrojaron menor frecuencia de aislamientos aunque no menos importantes. Las cepas provenientes de muestras de LCR, esputo y materia fecal, correspondieron a pacientes con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV).

Los hongos levaduriformes identificados, provenientes de las distintas muestras clínicas, se detallan en la tabla N° 2.

Tabla N° 2. Géneros y especies de levaduras identificadas según muestras clínicas.

Muestras clínicas	C. albicans	C. glabrata	C. parapsilosis	C. tropicalis	No C. albicans	C. krusei	C. guilliermondii	Trichosporum spp	Rhodotorula spp	Saccharomyces cerevisiae	Malassezia spp	C. neoformans
Exudados vaginales	614	87	2	14	3	11	-	-	-	19	-	-
Uñas manos	29	-	16	10	6	1	3	4	-	-	-	-
Orina	26	2	1	8	1	-	-	-	-	-	-	-
Escamas piel	2	-	1	-	-	-	1	-	-	-	31	-
Hemocultivos	13	-	10	8	-	-	-	-	-	-	-	-
LCR	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10
Uñas pies	2	-	4	-	-	-	2	2	-	-	-	-
Punta de cateter	4	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Punción pleural	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Partes blandas	2	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-
Hisopado fauces	2	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-
Espuito	1	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	1
Hisopado de oído	1	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-
Heridas abiertas	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Materia fecal	2	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Hisopado Balano-prepucial	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Biopsia úlcera	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cemento intraprotésico	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Líquido ascítico	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
Retrocultivo cánula	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Articulación condílea	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Articulación tibial	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Resto trofoblástico	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total	708	89	40	48	10	13	6	7	2	19	31	10

En el gráfico N° 1 se puede observar la frecuencia de hongos levaduriformes aislados de distintas muestras clínicas e identificados en género y especie.

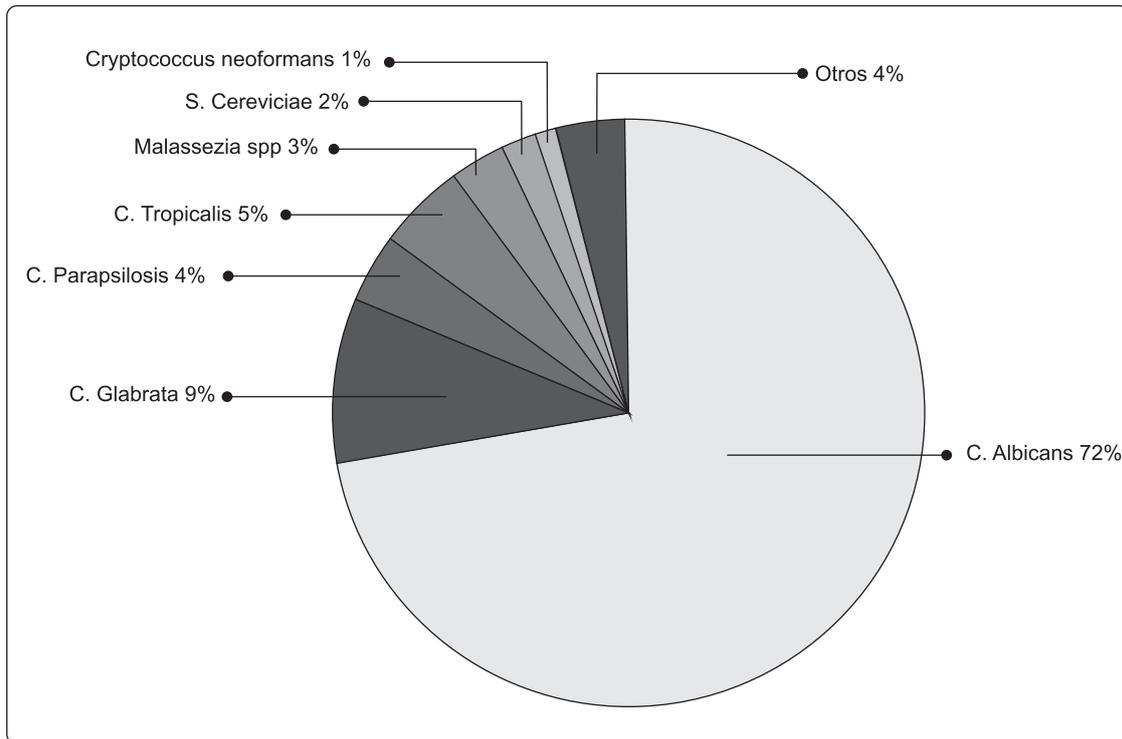


Gráfico N° 1. Frecuencia de hongos levaduriformes identificados en género y especie.

De acuerdo a los resultados obtenidos es manifiesta la importancia clínica de las infecciones debida a distintas especies del género *Candida* (93%). Además de estas especies otros organismos levaduriforme aparecen como importantes patógenos y cobran protagonismo, *Malassezia spp*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichosporum spp*, *Rhodotorula spp*.

Candida albicans fue la especie predominante, responsable de la mayoría de las infecciones causadas por hongos levaduriformes. En pacientes con vulvovaginitis fue el principal agente etiológico comprometido en un 82% de las infecciones fúngicas, *C. glabrata* se aisló en un 11,5%. El aislamiento e identificación de *C. glabrata* merece atención en el momento de instaurar la terapia antifúngica, pues es menos susceptible a los compuestos azólicos que *C. albicans*. El aumento de la incidencia de *C. glabrata* en candidiasis vulvovaginal se debería, al uso y abuso de terapias antifúngicas de corta duración con compuestos azólicos, ya que actuarían por un mecanismo de selección. Esta especie también estaría asociada con vulvovaginitis candidiásica crónica y recurrente. En menor proporción se aisló *C. krusei*, no por ello menos importante, debido a su capacidad de resistencia intrínseca a fluconazol. Resulta elemental su identificación para evitar la práctica habitual del tratamiento empírico, en especial en aquellos casos que no responden a la terapia convencional.

C. tropicalis, fue aislada en orden decreciente y representativo, de muestras de exudado vaginal, uñas de manos, orina, hemocultivos, partes blandas, esputo y punta de cateter. Esta especie se caracteriza por tener mayor capacidad invasiva que *C. albicans* y alta tendencia al desarrollo de resistencia a compuestos azólicos. (Giusiano y cols, 2002)

C. parapsilosis se identificó en muestras de uñas de manos y hemocultivos principalmente. Las nuevas técnicas de tipificación molecular demostraron que esta especie se adquiere en forma exógena, no requiere de colonización previa de las mucosas para producir la infección del torrente sanguíneo, presenta además, afinidad por materiales sintéticos que contribuye a explicar su asociación a infecciones relacionadas con catéteres. Esta levadura es frecuentemente recuperada de las manos de los trabajadores de la salud, guantes, instrumental y fluidos contaminados. (Mujica y cols 2004)

Otros organismos levaduriformes no *Candida albicans* aparecen como patógenos y manifiestan importancia a través de diferentes cuadros clínicos. *Malassezia spp*, se aisló a partir de lesiones de piel características de pitiriasis versicolor. En infecciones meníngeas de origen fúngico, el 90% correspondió a *Cryptococcus neoformans*, vinculados a pacientes con HIV-SIDA. *Saccharomyces cerevisiae* ha sido aislado en 19 muestras de exudados vaginales con manifestaciones clínicas indistinguibles de las producidas por *C. albicans*, es aconsejable determinar el espectro de sensibilidad *in vitro*, de estas levaduras para detectar posibles resistencias a los azoles.

En la actualidad se observa un aumento en la pluralidad de especies involucradas en las infecciones fúngicas. La importancia de su identidad es una herramienta fundamental para alertar sobre los cambios epidemiológicos y de sensibilidad antifúngica. Organismos que antes eran considerados fitopatógenos o de usos industriales hoy cobran importancia en la etiopatogenia de cuadros infecciosos humanos.

Si bien las micosis no son entidades de denuncia obligatoria, los resultados logrados ayudarán a establecer las medidas pertinentes tanto epidemiológicas como diagnósticas y terapéuticas, para el adecuado control y prevención de las patologías producidas por hongos levaduriformes.

BIBLIOGRAFÍA

- Arenas, R. (2003)
Micología Médica Ilustrada, Mc Graw Hill Ed. 2º Edición.
- Abi-Said, D. et al. (1997)
The epidemiology of hematogenous candidiasis caused by different Candida species. Clin Infect Dis; 24:1122-1128.
- Anaissie, E.J.; McGinnis M. R.; Pfaller, M. A. (2003)
Clinical Mycology. Elsevier Science (USA). 7:157-181.
- Berenguer J. (1996)
Diagnóstico de laboratorio de la criptococosis. Rev. Iberoam. Micología, 13: S82-S83.
- Buscemi, L.; Arechavala, A.; Negroni, R. (2004)
Estudio de las vulvovaginitis agudas en pacientes adultas, sexualmente activas, con especial referencia a la candidiasis, en pacientes del hospital de infecciones Francisco J. Muñiz. Rev Iberoam Micol. 21: 177-181,
- Canteros, C.; Davel, G.; Vivot, W. (1994)
Agentes causales de onicomycosis. Rev Arg Microbiol. 26:65-71.
- Cantón Moreno, R.; Sánchez-Sousa, A.; Baquero Mochales, F.
Módulo VI.Farmacología de las enfermedades infecciosas y parasitarias. Micosis superficiales. Ed. Confederación Farmacéutica Argentina:211-237.
- Carrillo Muñoz, A. F.; Brió, S.; Quindós, G. (2001)
Una nueva generación de fármacos antifúngicos. Rev. Iberoam. Micol. 18: 2-5.
- Colom, M.F.; Frasés, S.; Ferrer, C.; et al. (2001)
Estudio epidemiológico de la criptococosis en España: primeros resultados. Rev. Iberoam. Micología. 18:99-104.
- Davel, G.; Rodero, L.; Cantero, C.; Córdoba, S.; Perrota, D. (2000)
Diagnóstico e identificación de levaduras de interés médico. Departamento de Micología. INEI. ANLIS. "Dr. Carlos Malbrán".
- Deacon, J. W. (1993)
Introducción a la micología moderna. México. Limusa Noriega Editores,
- Fariña Safaris MC.
Dermatología Fundación Jiménez Díaz Madrid. www.trainmed.com/trainmed/contentFiles/5018/T_MF_12.pdf
- García, R.; Romero, R.; Cruz Talonia, F.; Bonifaz, A.; Márquez, F. (2002)
Estudio de especies de Candida no albicans y su relación con candidiasis vulvovaginal recurrente. Ginecol Obstet Mex. 70, 9:145-153.

- Gatica, J. L.; Goic, I.; Martínez, M.A.; Reid, I.; Céspedes, P.; Arias, M.; Ovalle, A.; Muster, O. (2002)
Utilidad del agar Cromocandida para el diagnóstico diferencial de *Candida* spp. Aisladas de muestras vaginales. *Rev Chil Obstet Ginecol.* 4: 98-114.
- Gorka Barrenetxea Ziarrusta. (2002)
Vulvovaginitis candidiásica. *Rev Iberoam Micol.*; 19:22-24.
- Giusiano, G.E.; Mangiaterra, M. L.; Rojas, F.; Uzandizaga, G.
Hongos levaduriformes aislados de neonatos en Unidades de Cuidados Intensivos. <http://www.unne.edu.ar>
- Goodman y Gilman (2003)
Las bases farmacológicas de la terapéutica. Antimicrobianos Décima Edición. Vol. II 11-1327.
- Hong Nguyen, M. et al. (1996)
The changing face of candidemia: emergence of non-*Candida albicans* species and antifungal resistance. *Am J. Med.* 100:617-23.
- Joy Sturtevant, Calderone R. 1997.
Candida albicans adhesins: Biochemical aspects and virulence. *Rev. Iberoam. Micol.* 14: 90-97.
- López Martínez, R.; Méndez-Tovar, L.; Hernández-Hernández, F.; Castañón-Olivares, R.; *Micología Médica* (1995)
Procedimientos para el diagnóstico de laboratorio. Ed. Trillas.
- López Consolaro, M.; Albertoni, T.; Shizue Yoshida, C.; Mazucheli, J.; Peralta, R. M.; Estivalet Svidzinski, T. I. (2004)
Correlación de especies de *Candida* y síntomas entre pacientes con vulvovaginitis candidiásica en Maringá, Paraná, Brasil; *Rev. Iberoam Micol.* 21: 202-205.
- LLovera Suarez, V.; Perurena Lancha, M. R. (2004)
Identificación de levaduras de exudados vaginales: características clínicas asociadas a la candidiasis. *Rev. Cubana Med Trop.* 56(1):21-5.
- Madrenys-Brunet, N.; Torres Rodríguez, J. M.; Urrea-Arbeláez, A. (1996)
Estudio epidemiológico de las micosis ungueales en Barcelona. *Rev Iberoam Micol.* 13:14-17.
- Martínez Suárez, J. V.; Rodríguez Tudela, J. L. (1996)
La resistencia a los antifúngicos en los hongos patógenos oportunistas (II). Imidazoles y triazoles. *Enferm Infecc y Microbiol Clin.* 14-18.
- Murray, P. y cols. (2003)
Microbiología Médica. Ed. 4º. 69:629,639.
- Mujica, M. T.; Finquelievich J. L.; Jewtuchowicz, V.; Iovannitti, C. A. (2004)
Prevalencia de *Candida albicans* y *Candida* no *albicans* en diferentes muestras clínicas. Periodo 1999-2001. *Rev. Argent. Microbiol.* 36 (3): 107-112.
- Negróni, R. (1997)
Lecciones de Clínica Micológica. Ed. La Agenda. 3: 32-34.
- Negróni, P.; Negróni, R. (1990)
Micosis cutáneas y viscerales. Lopez Libreros Editores.

- Pemán, J.; Cantón, E.; Orero, A.; Viude, A.; Frasquet, J. cols. (2002)
Estudio multicéntrico sobre la epidemiología de las candidemias en España. *Rev Iberoam Micol.* 19: 30-35.
- Pfaller, M. A. (1996)
Nosocomial candidiasis: emerging species, reservoirs, and modes of transmission. *Clin Infect Dis.* 22 (Suppl 2): S89-94.
- Pontón, J. (2002)
Diagnóstico microbiológico de las micosis. *Rev. Iberoam Micol.* 19:25-29.
- Quindos, G. (2002)
Las micosis en el amanecer del Siglo XXI. *Rev Iberam Micol.* 19: 1-4.
- Rippon, J. (1992)
Tratado de Micología. 3a ed. McGraw Hill. 14: 402-411.
- Sánchez Carazo, J. L.; Pont Sanjuán, L. (1999)
Tratamiento actual de las micosis superficiales. *Rev Iberoam Micol.* 16: S26-S30.
- Saporiti, A. M.; Gómez, D.; Levalle, S.; Galeano, M.; Davel, G.; Vivot, W.; Rodero, L. (2001)
Candidiasis vaginal: etiología y perfil de sensibilidad a agentes antifúngicos de uso clínico. *Revista Argentina de Microbiología.* 33: 217-222.
- Sobel, J. D.; Chaim, W. (1997)
Treatment of *Torulopsis glabrata* vaginitis: Retrospective review of boric acid therapy. *Clin Infect Dis.* 24: 649-652.
- Sung J. M.; Ko, W. T.; Huang, J. J. (2001)
Candidemia in patients with dialysis dependent acute renal failure: aetiology, predisposing and prognostic factors. *Nephrol Dial Transplant;* 16:2348-2356.
- Torres Rodríguez, J. M.; del Palacio Hernanz, A.; Guarro Artigas, J.; Negroni Bris, R.; Pereiro Miguez, M. (1993)
Micología Médica 1a. ed. Editorial Masson, Barcelona,
- Valdeiglesias Cabrera, N.; Medrano Vázquez, A. O. (2001)
Vaginitis en mujeres sexualmente activas. *Centro de Salud Urubamba.* Enero-Abril 2001. 19: 73-86.
- Vigliola, P.
Dermatología elemental. EUDEBA, 1985. Buenos Aires. I: 11-49.
- White, M. H. (1997)
The contribution of fluconazole to the changing epidemiology of invasive candidal infections. *Clin Infect Dis.* 24:1129-30.