

Procedimientos de diagnóstico microbiológico de las micosis y estudios de sensibilidad a los antifúngicos

Ignacio Gadea^a, Manuel Cuenca-Estrella^b, Estrella Martín^c, Javier Pemán^d, José Pontón^e y Juan Luis Rodríguez-Tudela^b

^aDepartamento de Microbiología Médica. Fundación Jiménez Díaz. UTE. Madrid. ^bDepartamento de Micología. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Madrid. ^cServicio de Microbiología. Hospital Universitario Nuestra Señora de Valme. Sevilla. ^dServicio de Microbiología. Hospital Universitario La Fe. Valencia. ^eDepartamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología. Facultad de Medicina y Odontología. Universidad del País Vasco. Bilbao. España.

Las infecciones fúngicas constituyen un problema diagnóstico y terapéutico de interés creciente debido, ante todo, al incremento y gravedad de las infecciones diseminadas en pacientes inmunodeprimidos. Los métodos diagnósticos basados en el cultivo son lentos y con sensibilidad insuficiente, por lo que se están desarrollando métodos diagnósticos basados en la detección de componentes genéticos, antigénicos o metabólicos específicos de los hongos, que permiten un diagnóstico y un tratamiento dirigido precoces. Por otra parte, se han estandarizado métodos para el estudio de la sensibilidad de los hongos a los antifúngicos, reproducibles y adaptables a un laboratorio asistencial, que permiten la detección de resistencias *in vitro* que se correlacionan con peor evolución clínica. En este trabajo revisamos los principales procedimientos microbiológicos para el diagnóstico de las infecciones causadas por hongos y los métodos desarrollados para los estudios de sensibilidad a los antifúngicos.

Palabras clave: Antifúngico. Micosis.

Microbiological procedures for diagnosing mycoses and for antifungal susceptibility testing

Fungal infections are a diagnostic and therapeutic problem of increasing concern due to the frequency and severity of disseminated infection in immunocompromised patients. Culture-based methods are characteristically slow and have poor sensitivity; hence, other methods, based on the detection of fungus-specific genetic, antigenic and metabolic components are being developed to enable early diagnosis and specific treatment. Moreover, reproducible antifungal susceptibility methods that can be adapted for use in clinical laboratories have been standardized to allow *in vitro* detection of resistance, which correlates with a less favorable clinical outcome. In this paper we review the main microbiological procedures

available for the diagnosis of fungal infections and for antifungal susceptibility testing.

Key words: Antifungal. Micosis.

Introducción

Durante las últimas décadas, el aumento en la prevalencia de las infecciones fúngicas ha sido constante, coexisten micosis invasoras oportunistas con otras causadas por hongos muy adaptados para la supervivencia en los tejidos infectados, las llamadas micosis primarias, unas endémicas que se comportan como micosis profundas y otras ubicuas, que afectan a piel y mucosas. Con menos frecuencia, se encuentran las micosis subcutáneas, caracterizadas por la agresividad local y poca tendencia a la diseminación a distancia, y que suelen contar con antecedentes traumáticos que justifican la inoculación del hongo^{1,2}.

El cultivo sigue siendo el "patrón oro" del diagnóstico microbiológico, permite la identificación del agente etiológico y la realización del estudio de sensibilidad; pero frecuentemente requiere muestras obtenidas por métodos invasores, no diferencia entre infección y colonización, presenta baja sensibilidad y es un método lento. Por este motivo se han diseñado otros métodos diagnósticos, más rápidos y sensibles, basados en la detección de antígenos, productos metabólicos específicos o material genético de los hongos. Además, en la última década se han desarrollado varios métodos para realizar pruebas de sensibilidad *in vitro* a los antifúngicos, con buena reproducibilidad inter-laboratorio y cierta capacidad para detectar la resistencia a estos fármacos³.

Consideraciones clínicas

Las infecciones fúngicas pueden causar un gran número de entidades clínicas, con manifestaciones variadas que dependen del lugar de infección y del tipo de paciente. De ellas, las micosis profundas oportunistas son las que han adquirido un protagonismo especial en los últimos tiempos debido, entre otros motivos, al aumento de incidencia, a su gravedad y a la trascendencia del diagnóstico precoz. Sin tratamiento adecuado, la mortalidad de las infecciones fúngicas sistémicas es muy alta, lo que unido a los costes de hospitalización que este tipo de infecciones genera, las convierten en entidades de gran trascendencia en la práctica diaria en el medio hospitalario.

Correspondencia: Dr. I. Gadea.
Departamento de Microbiología Médica. Fundación Jiménez Díaz. UTE.
Avda. Reyes Católicos, 2. 28040 Madrid. España.
Correo electrónico: iggadea@telefonica.net

Manuscrito recibido el 24-11-2006; aceptado el 2-1-2007.

El papel del laboratorio de microbiología para el diagnóstico de las micosis es de una gran importancia, con la detección e identificación del agente causal de la infección unido a la elección un tratamiento adecuado como objetivos prioritarios; pero el enfoque es diferente según el tipo de micosis de que se trate: *a)* en las micosis sistémicas, el diagnóstico micológico basado en el cultivo se caracteriza por su lentitud y su baja sensibilidad; requiriendo, por tanto, nuevos métodos complementarios que mejoren la sensibilidad y el tiempo de respuesta; *b)* las micosis superficiales y cutáneas se diagnostican mediante el examen directo y cultivo de las muestras de piel y anejos cutáneos²; *c)* las micosis subcutáneas están causadas por hongos ambientales inoculados directamente en el tejido celular subcutáneo mediante un traumatismo, incluyen la cromoblastomicosis, esporotricosis, micetomas y una serie de cuadros poco frecuentes: rinosporidiosis, entomphoromicosis y lobomicosis²; y se diagnostican fundamentalmente por el examen microscópico directo y el cultivo de las muestras, en algunas de ellas, como la lobomicosis, el hongo causal aún no ha podido ser cultivado², y *d)* existen otras micosis oportunistas que están causadas por hongos que se aíslan con poca frecuencia, y que constituyen un grupo muy heterogéneo de enfermedades que tienen en común la situación del paciente, la gravedad y la relativa dificultad de diagnóstico. Por otra parte, el diagnóstico etiológico es muy importante, pues la respuesta a los distintos antifúngicos varía con las especies implicadas. En este grupo se incluyen: neumocistosis, fusariosis, penicilinosis, zigomicosis, pseudallescheriasis, pitiosis, infecciones por *Dipodascus capitatus*, trichosporonosis, infecciones por *Scedosporium prolificans* y otras⁴⁻⁶.

Existe una cierta controversia sobre la utilidad clínica de las pruebas de sensibilidad a los antifúngicos. La mayoría de los expertos coinciden en señalar que los estudios de sensibilidad no son necesarios en todos los enfermos, ya que la información epidemiológica establece cuál puede ser el tratamiento empírico más adecuado. Otros especialistas opinan que estas pruebas deberían realizarse en todos los aislamientos procedentes de infecciones profundas, particularmente cuando se aíslan en hemocultivos o en muestras tisulares, quizá deberían hacerse habitualmente en cepas procedentes de enfermos en los que se ha producido un fracaso terapéutico, pacientes que han recibido profilaxis o tratamiento antifúngico previo, y en aislamientos pertenecientes a especies poco frecuentes, de las que se desconoce su espectro de sensibilidad *in vitro*^{3,7}.

Recogida de la muestra

La recogida de la muestra es uno de los eslabones fundamentales para la realización de un diagnóstico microbiológico adecuado, pero las normas de recogida no difieren grandemente de las normas utilizadas para la obtención de patógenos bacterianos, con los que habitualmente debe realizarse en diagnóstico diferencial.

Transporte

Todas las muestras deben enviarse al laboratorio rápidamente, sin conservantes. Las muestras deben ser transportadas en un recipiente estéril, humidificado y a prueba de vertidos; sin embargo, las muestras dermatológicas

es mejor transportarlas en recipientes secos (placa de Petri, papel de fotografía negro, entre dos portas o en contenedor estéril).

Manejo de las muestras en el laboratorio

Todas las muestras deben manejarse como si tuvieran microorganismos potencialmente peligrosos. Hay pocos estudios sobre el descenso de la viabilidad de los hongos en función de los tiempos de demora y de los métodos de transporte de las muestras. Es conocida la dificultad de recuperar *Rhizopus arrhizus* en muestras demoradas y, también, la pérdida de viabilidad de algunos hongos por la desecación, temperatura elevada (> 37 °C) o baja (< 10 °C), sobrecrecimiento bacteriano, presencia leucocitos, etc. La refrigeración puede comprometer el aislamiento de hongos dermatofitos, *Malassezia* spp. e *Histoplasma capsulatum*.

Procesamiento de la muestra

En términos generales, los procedimientos utilizados en el laboratorio de bacteriología son adecuados para el cultivo de hongos, pero hay que tener en cuenta que, habitualmente, la carga microbiana es inferior en el caso de los hongos con respecto a las bacterias y ello obliga a recoger mayor cantidad de muestra para obtener un rendimiento óptimo. Durante el procesamiento, deben seguirse todas las medidas de seguridad necesarias, tanto para el personal como para la muestra, y será realizado cuanto antes, utilizando el medio de cultivo y la temperatura de incubación más adecuada. El tipo de procesamiento y los medios utilizados dependen de las características de cada muestra. De este modo, las muestras tisulares deben ser troceadas, no trituradas, e inoculadas en pequeños trozos en el medio de cultivo; las secreciones respiratorias claramente purulentas, hemáticas o caseificadas pueden sembrarse directamente en los medios de cultivo, las muestras fluidas y los líquidos orgánicos deben concentrarse por centrifugación o filtración, siempre que haya suficiente cantidad; la orina se sembrará para recuento, aunque no está claro qué recuento de levaduras en orina es significativo.

Siempre que sea posible, las muestras deben ser sometidas a examen microscópico directo. Este examen puede aportar, en ocasiones, un diagnóstico definitivo (pitiriasis versicolor) y en otras, un diagnóstico de sospecha previo a la confirmación definitiva por cultivo, todo ello en pocos minutos y con métodos muy sencillos. En algunos casos, el diagnóstico microscópico puede ser la única evidencia de infección fúngica y, en otros, su negatividad puede sustentar la interpretación de aislamientos como contaminantes. La escasez de la muestra es, en la práctica, la única razón para no efectuar la observación microscópica en beneficio del cultivo. Se utilizan montajes húmedos, tinciones fijas y diversas técnicas histológicas para las muestras de tejidos.

Selección de medios y condiciones de incubación

Aunque se pueden utilizar medios no selectivos, la utilización de medios selectivos es el procedimiento más habi-

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/3403032>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/3403032>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)