Diagnóstico microbiológico de las micosis cutáneas superficiales

Josep M. Torres-Rodríguez

Unidad de Investigación en Micología Experimental y Clínica. IMIM/IMAS. Universidad Autónoma de Barcelona. Barcelona. España.

El diagnóstico etiológico de las micosis superficiales es microbiológico y se considera necesario para establecer un tratamiento correcto y valorar el pronóstico del proceso infeccioso. Ello es particularmente importante en algunas localizaciones como las ungueales.
El método microbiológico o micológico, para que proporcione resultados útiles al médico clínico, debe efectuarse de forma rigurosa. Por esa razón se revisan los diferentes procedimientos para obtener y procesar de forma adecuada las muestras clínicas con el fin de obtener datos fiables.
De forma detallada se valora la utilidad del examen microscópico y de los cultivos en el diagnóstico micológico, y se analizan los sistemas de identificación de hongo aislado.
También se analiza la aplicación de las pruebas de estudio de la sensibilidad *in vitro* a los antifúngicos, y la posibilidad de realizar un tipado de los varios aislados de un mismo hongo que aporta datos para un estudio epidemiológico.

Palabras clave: Dermatomicosis. Diagnóstico micológico. Microbiología. Micología. Micosis superficiales.

Microbiological diagnosis of superficial cutaneous mycoses

The etiological diagnosis of superficial mycoses is microbiological and is considered essential to establish appropriate treatment and evaluate the prognosis of the infectious process. This is particularly important in some localizations such as ungual areas.
To provide the clinician with useful results, the microbiological or mycological method should be rigorously performed. For this reason, the various procedures to obtain and correctly process clinical samples with the aim of obtaining reliable results are reviewed.
The utility of microscopic examination and of cultures in mycological diagnosis are examined in detail, and the systems used to identify isolated fungi are analyzed.
The application of tests to study *in vitro* sensitivity to antifungal agents and the possibility of typing the various isolates from the same fungus, providing data for epidemiological study, are also analyzed.

Key words: Dermatomycoses. Mycological diagnosis. Microbiology. Mycology. Superficial mycoses.

El diagnóstico de laboratorio de las infecciones fúngicas de piel y de anexos utiliza métodos microbiológicos que, cuando se aplican a la micología, con las peculiaridades de esta especialidad, habitualmente se denominan métodos micológicos.
La primera base del diagnóstico etiológico de una micosis superficial es que el laboratorio disponga de una muestra tomada en las condiciones adecuadas y en cantidad necesaria para efectuar todas las pruebas. Esta muestra también ha de estar conservada en las mejores condiciones y debe llegar al laboratorio con la información clínica necesaria para orientar la metodología de estudio que, por ejemplo, incluye el medio de cultivo más adecuado, la temperatura de incubación óptima y el tiempo que se deben mantener los cultivos en observación antes de descartarlos como negativos.
Los métodos micológicos de diagnóstico son simples y fáciles de realizar, pero a menudo difíciles de interpretar porque es necesaria una experiencia específica en micología, disponer de información bibliográfica y gráfica, así como de un centro de referencia donde consultar[1].
Un diagnóstico correcto, en el que se eviten falsos negativos, falsos positivos y contaminaciones que ocasionan dificultades para interpretar los cultivos, se consigue en gran medida cuando se han seguido las normas elementales para la toma de la muestra.

Correspondencia: Dr. J.M. Torres-Rodríguez.
Unitat de Recerca en Micologia Experimental i Clínica. IMIM/IMAS.
Universidad Autónoma de Barcelona. URMEC. IMIM.
Dr. Aiguader, 80. 08003 Barcelona. España.
Correo electrónico: jmtorres@imim.es

Recogida de muestras

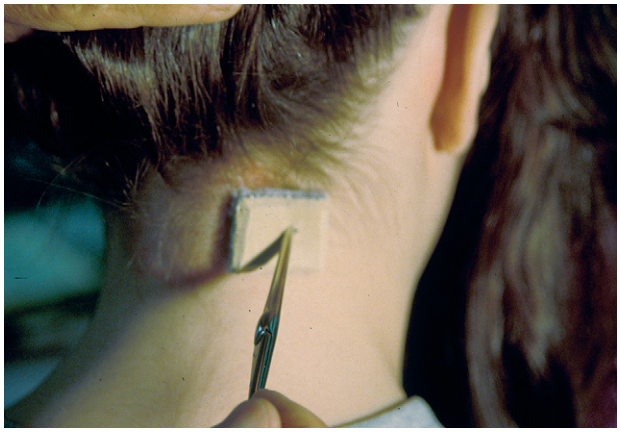
El paciente ha de estar sin tratamiento antifúngico tanto sistémico como tópico. Es imprescindible que se evite el uso de cremas, pomadas, ungüentos o polvos de cualquier tipo que, al depositarse sobre la lesión, dificulte la recogida de la muestra. En el laboratorio también se producen problemas al observar la muestra al microscopio y al cultivarla[2].
En primer lugar, se debe determinar cuáles serán las zonas de muestreo y proceder a su limpieza y desinfección. Para ello es recomendable utilizar alcohol de 70º o solución salina fisiológica estéril (principalmente si existen heridas o erosiones). Una vez seca se procederá a recoger la muestra. Describiremos 4 posibilidades:

1. Lesiones de zonas pilosas

Se recogerán pelos cortos con pinzas de depilar, ya que pinzan mejor que las de uso clínico. Estas pinzas estarán estériles o por lo menos se habrán desinfectado previamente. Los pelos cortos de fácil extracción, en los que el paciente no siente dolor al arrancarlos, son los más adecuados. Los pelos se pueden depositar sobre un portaobjetos de vidrio estéril o desinfectado que se cubrirán con otro de iguales características. Si existen zonas supuradas o rezumantes, se tomará también una muestra con una torunda estéril. De haber descamación se realizará también un raspado como se describe más adelante.

2. Lesiones en zonas glabras

Si las lesiones están bien definidas se tomará la muestra de los bordes con mayor eritema. En el caso de áreas despigmentadas o hiperpigmentadas, compatible con una pitiriasis versicolor, el raspado será uniforme. Para el raspado se utilizará un bisturí estéril y se evitará producir cortes, o bien una cucharilla de Vidal, siempre estéril o desinfectada.



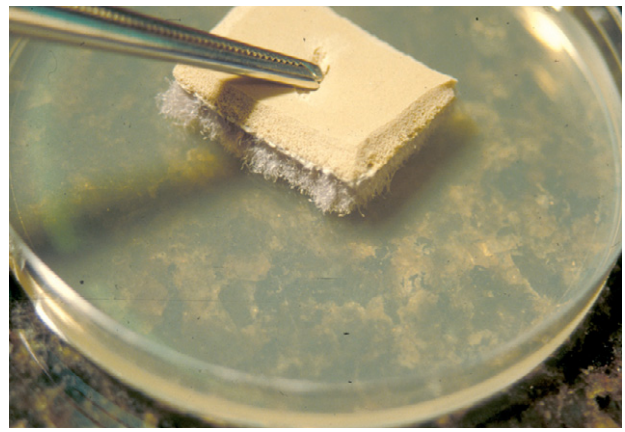


Fig. 1. a) Toma de muestra utilizando un cuadrado de tapiz (moqueta) estéril; b) siembra en la superficie de medio de cultivo de las escamas recogidas con el cuadrado de tapiz.

Para tomar muestras de las uñas, es necesario extremar la limpieza y desinfección, y proceder al raspado, preferiblemente de la tabla interna, utilizando una cucharilla o un bisturí con el filo hacia la uña. Si la lesión es más superficial, habrá de rasparse o tomarse finas rebanadas de la tabla externa ungueal. De haber una perionixis, ha de tomarse una muestra con torunda estéril.

3. Muestras de mucosas

Existen dos posibilidades. La más utilizada, tomando la muestra con una torunda estéril directamente sobre la lesión, y la segunda, que permitirá cuantificar la muestra, mediante un lavado con un volumen conocido de suero fisiológico estéril que se recogerá en un recipiente estéril. Este método es útil en las candidiasis orofaríngeas y en las vaginales. La siembra de un volumen conocido (p. ej., 10 µl) permite determinar el número de colonias por mililitro o unidades formadoras de colonias por mililitro.

4. Toma de muestra por contacto

En este procedimiento básicamente existen dos variantes: la que permite una observación microscópica directa de la muestra y la que se utiliza para cultivar.
En la pitiriasis versicolor y otras lesiones descamativas en las que el raspado puede ser inconveniente (niños que se mueven mucho, lesiones mal definidas) se utilizará una cinta adherente transparente *(cello-tape)* que se aplicará sobre la lesión para que las escamas queden adheridas. Luego se colocará sobre un portaobjetos, como se describirá más adelante.
La otra variante se emplea para recoger muestra para cultivar, que puede hacerse con una placa de contacto o de Rodac que contenga medio de cultivo general o diferencial para hongos. También se utiliza el método del cuadrado de tapiz[1]. Para ello se toma un fragmento de tapiz o moqueta de unos 4 × 4 cm que se esteriliza. Al usarse se aplica sobre la lesión raspando suavemente para que se desprendan escamas y pelos[3]. El tapiz o moqueta se aplica sobre una o más placas de Petri con medio de cultivo (figs. 1a y b). Si no se dispone de este tapiz, puede emplearse una gasa estéril, aunque en ella la adherencia de las escamas es menor. En la *tinea capitis* puede utilizarse un cepillo dental esterilizado que sirve para cepillar la zona afectada y luego se cultiva por improntas.
No debe olvidarse el cultivo de muestras tomadas para biopsias, sobre todo en las dermatomicosis profundas como los granulomas dermatofíticos. Sólo por excepción está indicado biopsiar para un estudio micológico en una infección superficial.

Conservación de las muestras

Como regla general, las muestras han de procesarse lo antes posible, por lo que debe evitarse que transcurra un tiempo excesivo entre la toma y los cultivos. Algunos puntos son importantes: los hongos dermatófitos resisten más tiempo que las levaduras las condiciones de desecación; las torundas siempre deben conservarse, ya sea en medio de transporte o bien humedecidas con suero fisiológico estéril.
Las placas de contacto, una vez utilizadas y rotuladas, ya pueden incubarse.
Si el tiempo de conservación es superior a las 24 h, siempre es mejor guardar las muestras refrigeradas.

Procesamiento de las muestras en el laboratorio

En el laboratorio de micología se realizan básicamente 3 procedimientos: el examen microscópico de la muestra, el cultivo y la identificación del agente causal[4]. En ocasiones se ha de realizar el estudio *in vitro* de la sensibilidad a los antifúngicos o el tipificado de una o más cepas con fines epidemiológicos.

Examen microscópico

Se puede efectuar con la preparación nativa sin teñir en el llamado examen directo, o examen en fresco, o bien puede requerir una tinción previa.
El examen en fresco es un método de amplio uso en micología por varias razones: se puede realizar con gran rapidez y, de ser positivo, en muchos casos orienta o afirma el diagnóstico sin tener que esperar a los cultivos, es muy económico y sólo requiere de un microscopio óptico sencillo. El tamaño de las células fúngicas, hifas, esporas o levaduras es suficiente como para que se puedan observar con el objetivo de ×40, es decir, a 400 aumentos. Para realizarlo se utiliza principalmente una solución de hidróxido de potasio (KOH) entre el 10 y el 40%, a la que se puede añadir dimetilsulfóxido o un colorante de contraste, como la tinta azul-negra al 10%, para facilitar la visión. En las muestras con mucha queratina se utiliza la mayor concentración y para aumentar el poder queratolítico del KOH puede calentarse ligeramente la preparación evitando la ebullición, que la estropearía. Con el cubreobjetos colocado se mira primero a

Download English Version:

https://daneshyari.com/en/article/3800607

Download Persian Version:

https://daneshyari.com/article/3800607

Daneshyari.com