

Micología

Diagnóstico de Laboratorio



Bioquímica Mariela Merkt
Jefa de Laboratorio de Alimentos
Higiene & Seguridad alimentaria y ambiental
mmerkt@stamboulian.com.ar

STAMBOULIAN
SERVICIOS DE SALUD

Examen micológico- Diagnóstico

1. Sospecha clínica
2. Preparación del paciente
3. Toma de muestra
4. Rótulo de muestras
5. Conservación de muestra adecuada
6. Transporte adecuado de la muestra
7. Examen directo
8. Siembra en medio de cultivo adecuado
9. Informe de cultivo: adecuado criterio de jerarquización de muestras.
10. Interpretación del informe



Preparación del paciente



No esmaltes, no cremas, no cortarse la uñas.

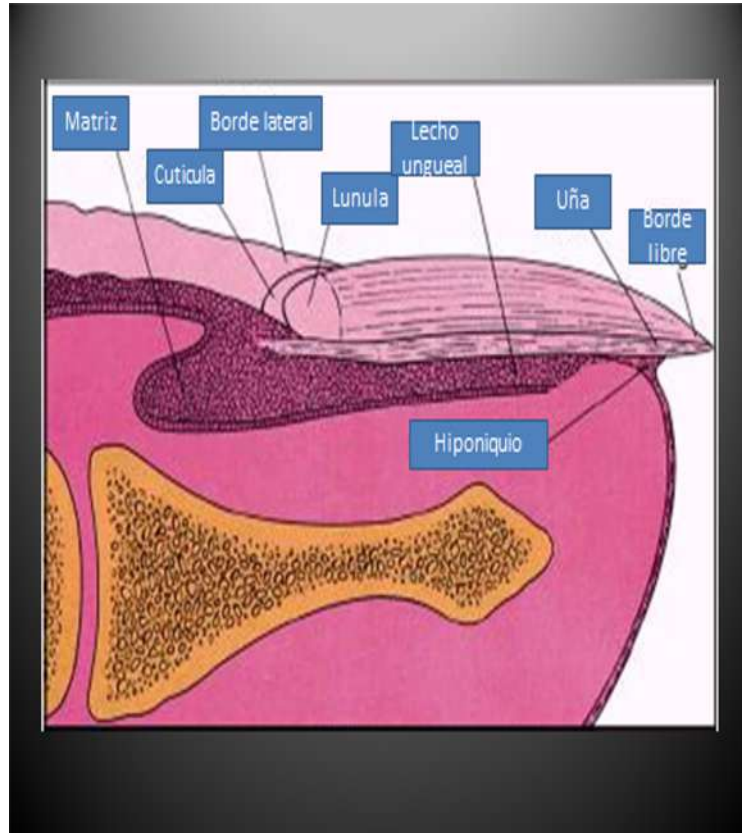
Cara: no maquillaje

Si está recibiendo medicación oral suspender 15-20 días antes de concurrir al laboratorio.

Uñas lavar con agua y jabón y cepillarlas por arriba y por debajo de la lámina ungueal.

Uñas pie: concurrir al laboratorio con calzado cerrado y medias para realizarse la toma de la muestra.

Examen micológico- Diagnóstico



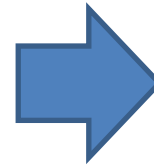
Raspado con sindesmotomo o bisturí de la lesión afectada



Toma de muestras



Raspado de Lesiones activas



Hisopo en SF esteril

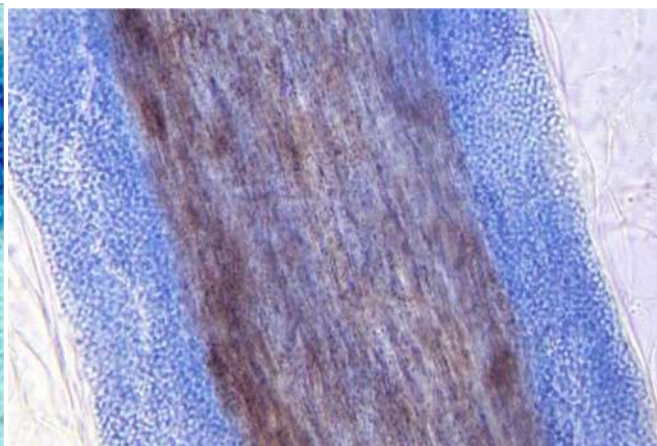
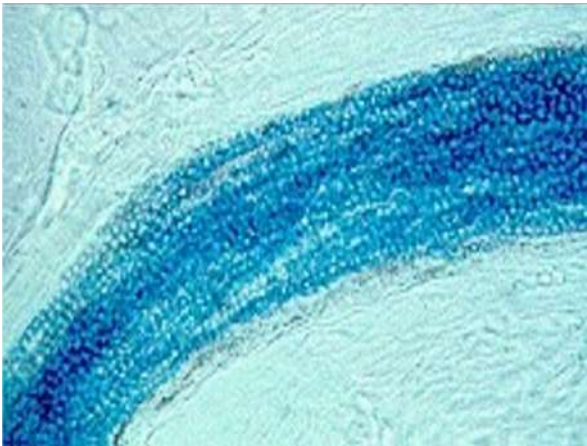
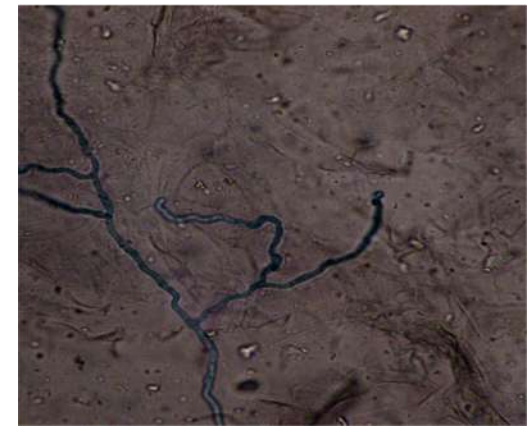
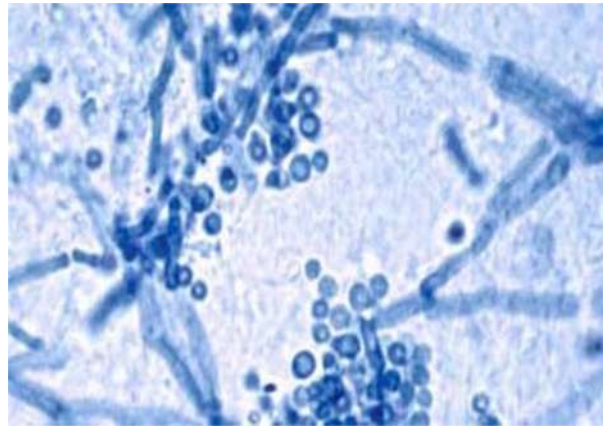
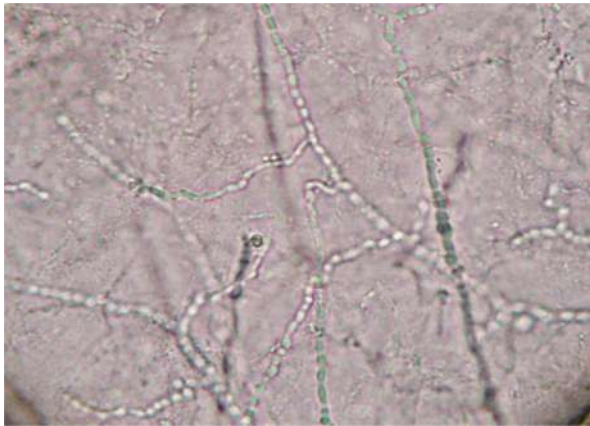
Lesiones húmedas o lesiones de mucosa genital u oral



DIRECTO

Reactivos: KOH al 20% -40 %
Blanco Calcofluor

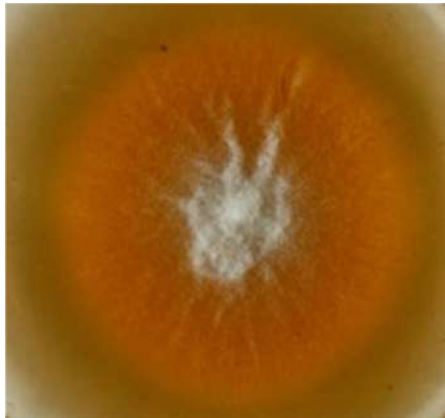
Observación
Microscopio a 10-20-40 X



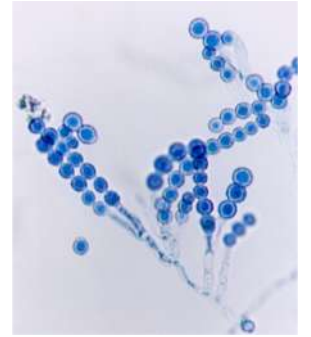
CULTIVO

- ❑ Se siembran en tubo con el medio de cultivo para hongos
- ❑ Incubación es prolongada: 28 °C por 21 días

IDENTIFICACION



Algunas consideraciones....



- El diagnóstico directo **positivo es diagnóstico.**
- En el 30% de los casos el examen microscópico directo es positivo y en los cultivos **no se aíslan dermatofitos-**
- En caso de sospecha diagnóstica repetir el estudio ante un resultado negativo.
- Las onicomiasis son en su mayoría causadas por dermatofitos: *T.rubrum* (86,5%), *Trichophyton mentagrophytes* (10,0%) *Trichophyton tonsurans* (3,0%) y en menor proporción por HFND
- La onicomiasis causadas por HFND son de difícil diagnóstico pero su frecuencia es muy baja.

Onicomiasis: estudio multicéntrico clínico, epidemiológico y micológico
Rev Iberoam Micol. 2012;293):157–163

Micología

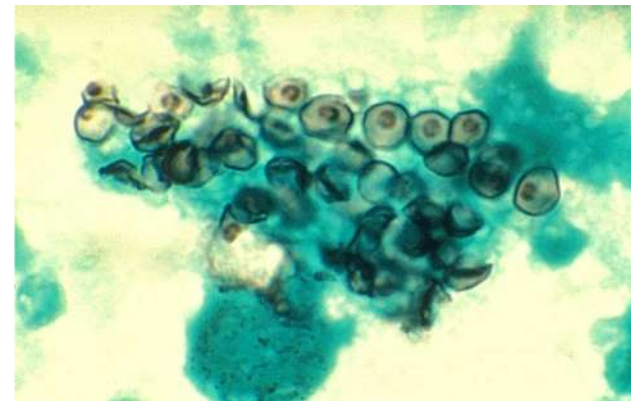
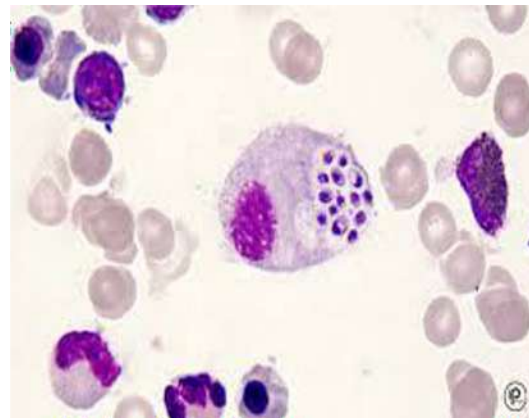
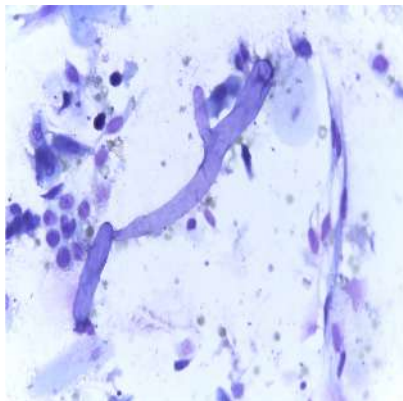
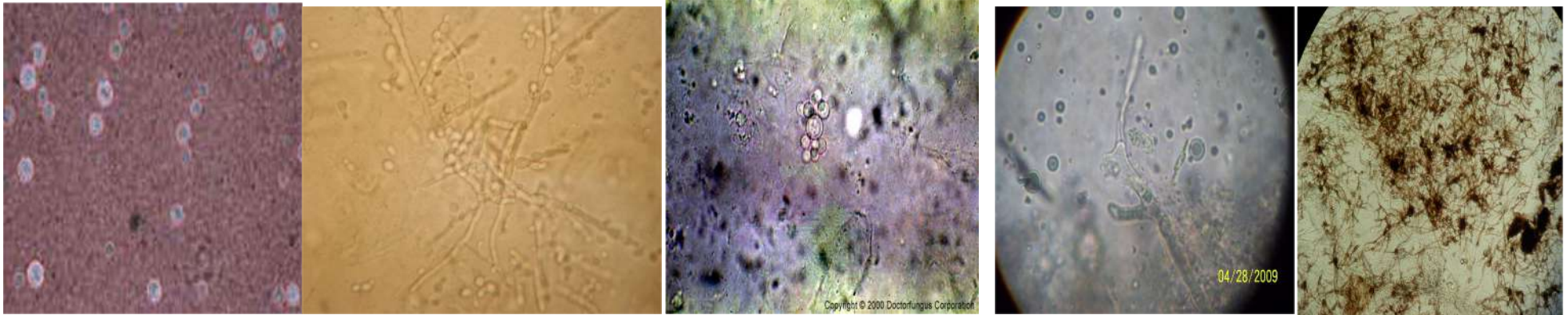
Micosis profundas

Diagnóstico

DIRECTO

Examen en fresco: búsqueda de levaduras, filamentos

Coloración de Giemsa/Grocott



DIRECTO

GM de Aspergillus:

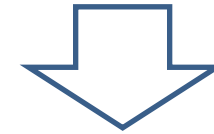
- Muestra: suero y BAL
- ELISA
- Falsos positivos: TAZOBACTAM, niños, otras micosis endémicas
- Falsos negativos: antifúngicos
- Frecuencia de determinación: bisemanal, mientras dure la neutropenia.

Otros diagnósticos directos: Antigenemia/antigenorraquia Cryptococcus

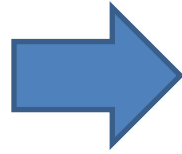
Antígenos de Histoplasma: se probaron distintos kits con buenos resultados pero aun no disponibles en el país.

Pacientes neutropenicos o
tratados con corticosteroides

y



**DIAGNOSTICO
INDIRECTO**



Serología

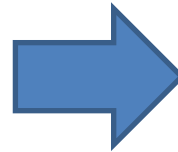
- No sirven en las formas pulmonares asintomáticas
- ESCASA UTILIDAD en pacientes HIV (+)

CULTIVO

Sabouraud miel

BHI c/s sangre

Siembra en tubos



Incubación a 28 y 37 ° C

Demora: incubación 1 mes

Diagnóstico formas diseminadas

Hemocultivos

Cultivo de Medula Ósea (no de rutina)



Hemocultivos por lisis centrifugación



Incubación
45 días automatizada
60 días manuales.

Recuperación Hongos y
Micobacterias



Bacterias, *Candida*, *Cryptococcus* spp

Otros
materiales



Lesiones cutáneas-mucosas: 80- 90% positividad

Biopsias ganglionares

Otros materiales de lesiones extrapulmonares

Biopsias deberán dividirse en :

1. Cultivo en SF estéril remitido a temperatura ambiente
2. Histopatología: en formol al 10 %

Otras muestras para diagnóstico

Muestras Respiratorias

- Esputo* seriado
- BAL
- Líquido pleural

**REALIZAR BACILOSCOPIA
DE RUTINA EN MUESTRAS
RESPIRATORIAS**

Dx diferencial: TBC

Algunos ejemplos...

CULTIVO Aspergillus



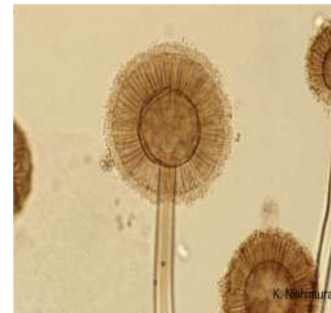
- ❑ Se proponen más de 20 secciones (Samson y cols,, 2014)
- ❑ Incluyen en total alrededor de 350 especies.
- ❑ Gran importancia en industria de alimentos (enzimas y toxinas!!!).
- ❑ Sólo unas pocas se relacionan con enfermedad humana



Asp. Sección Flavi

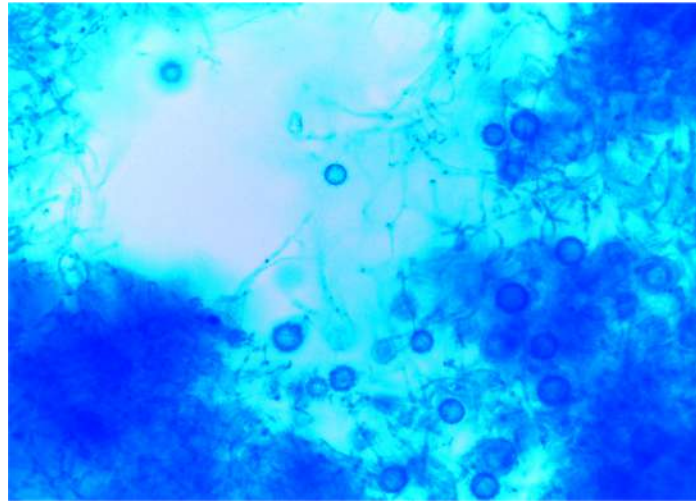
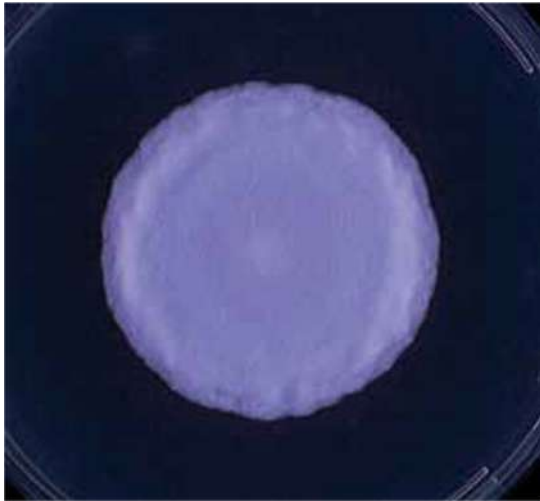
Asp. Sección Nigri

Asp. Sección Terrei



Asp. Sección Fumigati Crecimiento a 50°C (+) y morfología compatible A. fumigatus

CULTIVO
Histoplasma



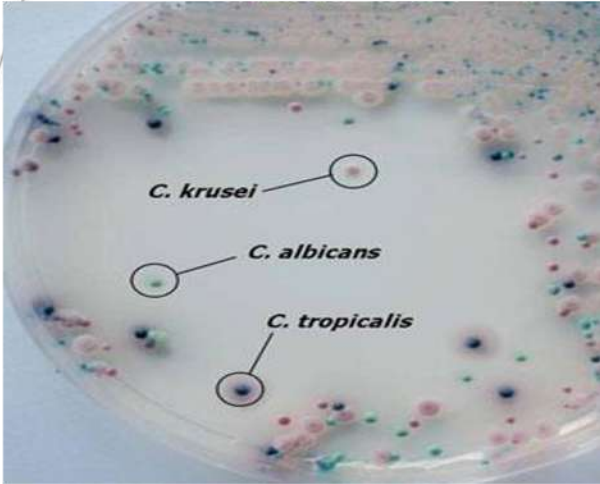
TM: 14 días *Histoplasma capsulatum*

Demora: 30 días

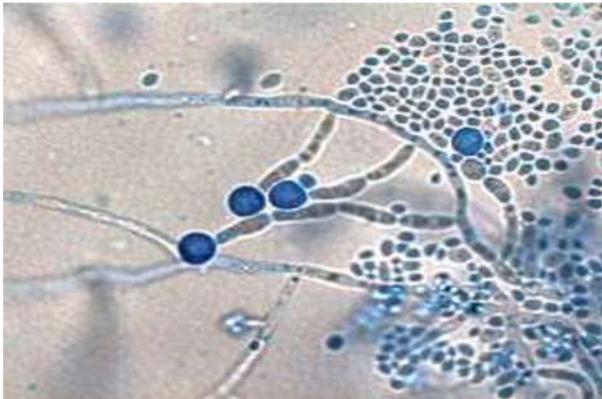


Identificación de levaduras

Siembra en medios cromogénicos

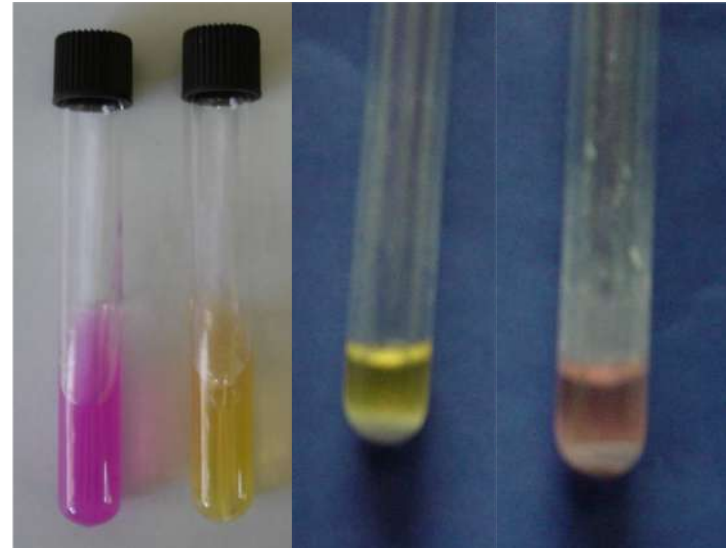


Micromorfología en agar harina de maíz con el agregado de Tween 80 al 1 %



Identificación por equipos comerciales manuales y automatizados

- API
- VITEK
- MicroScan
- Phoenix



Métodos automatizados y semiautomatizados

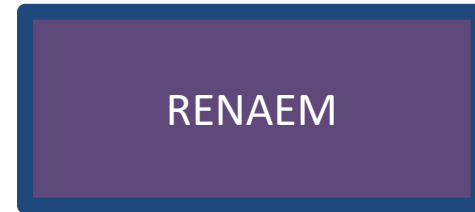
Equipo	Tiempo	Comentarios
API	24-48 hs	
VITEK	15-18 hs	Permite realizar sensibilidad
MSCAN	4 hs	
PHOENIX	4-18 hs	

Identificación de levaduras

MALDI-TOF: análisis de proteínas principalmente ribosomales.



Los resultados son expresados con un número de score



Utilización de técnicas moleculares Gold Standard

Utilizando diferentes regiones del ARNr fúngico permiten identificar con certeza muchas especies de levaduras y sobre todo aquellas especies íntimamente relacionadas o integrantes de un complejo de especies.

<http://www.anlis.gov.ar/renaem/>

Evaluar los perfiles de sensibilidad a los antifúngicos

- ❑ Pueden realizar por métodos de difusión, tiras impregnadas con gradientes de concentración de antifúngicos o por microdilución en caldo (gold estándar).
- ❑ Los distintos métodos disponibles son comparables con el método de referencia-cada laboratorio deberá testear lo disponible

Es importante conocer **la identificación a nivel de especie** del microorganismo para conocer los puntos de corte para interpretarlos.

- ❑ DESVENTAJA: Los puntos de corte son **limitados**

FUNGEMIAS

C. albicans sigue siendo la más frecuente en el mundo (19-66% según país y autor-

Arg (49,6 %)

C. parapsilosis (21.7%)

C. tropicalis (15.5%)

C. glabrata (13.9%)

otras especies *Candida* (5.1%); más de una especie *Candida* (2.9%)

Alerta Epidemiológica -Brotos de *Candida auris* en servicios de atención a la salud en el contexto de la pandemia de COVID-19

- ❑ *Candida auris* (2009)
- ❑ Es un colonizante y ha sido aislado de HMC en muchos países del mundo
- ❑ Factores de riesgo asociados
- ❑ Presenta dificultades en su identificación, resistencia múltiple a los antifúngicos

*Período 2019-2020 INEI ANLIS MALBRAN -Estudio Multicéntrico de Fungemias por Levaduras.

- 570 levaduras -derivadas por HMC 56 Hospitales pertenecientes a la RNLN- 12 provincias de Argentina.
- **No se identificó *C. auris* en nuestro país**
- Los métodos convencionales comerciales y la micromorfología utilizados comúnmente en el laboratorio clínico para la identificación de levaduras suelen no identificar o identificar erróneamente los aislados de *C. auris*.

Muchas gracias!



**THE
END**

mmerkt@stamboulian.com.ar