

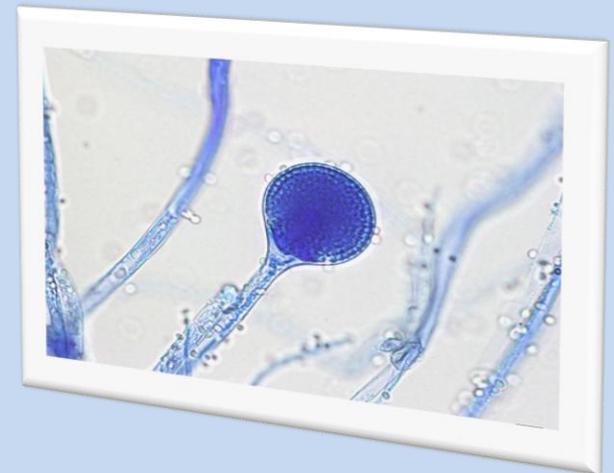
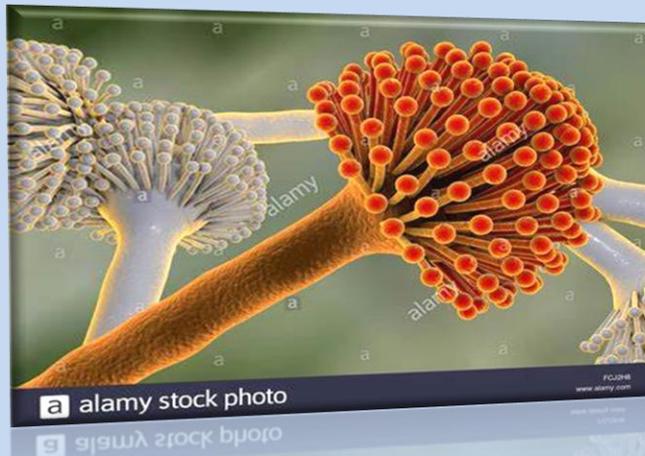
# FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

## LABORATORIO CLÍNICO

### ASIGNATURA: MICOLOGÍA

#### TEMAS: Asperlilosis

Características del hongo, enfermedad que produce y diagnóstico de laboratorio



## ASPERGILOSIS

Involucra una serie de enfermedades, la mayoría de ellas de tipo oportunista, causadas por algunas especies del género *Aspergillus*.

Más frecuentes:

- ✓ *Aspergillus niger*,
- ✓ *A. fumigatus*
- ✓ *A. flavus*
- ✓ *A. terreus*
- ✓ *A. clavatus*.

- ❑ La palabra *Aspergillus* fue por Micheli en 1729, por la similitud microscópica que tiene con el *aspergillum* (del latín **asperge**, que significa rociar o esparcir), instrumento que se usa en las ceremonias religiosas para la bendición.
- ❑ Los 1ros casos de aspergilosis fueron vistos en animales (pájaros) y el 1er reporte en humano correspondió a una aspergilosis broncopulmonar (Virchow en 1856).
- ❑ 1926 se reconoce la asociación entre la aspergilosis y la tuberculosis pulmonar
- ❑ Ha sido comprobado la importancia de las infecciones viscerales y diseminadas invasivas en enfermos inmunodeprimidos.
- ❑ Se han notificado epidemias de infección nosocomial por *Aspergillus*, por lo que este microorganismo ha pasado a ocupar un importante papel como agente de micosis oportunistas del enfermo inmunodeprimido.
- ❑ La aspergilosis invasiva es una infección de difícil diagnóstico y tratamiento, cuya evolución es fatal en la mayoría de los casos.

La aspergilosis sistémica es una micosis oportunista que forma parte de una extensa gama de procesos patológicos producidos por un moho habitualmente saprófito y que producen alergia respiratoria, micotoxicosis e infecciones superficiales tales como otomicosis y onicomycosis.

Puede ocasionar padecimiento a nivel pulmonar y oftálmico.



CUADRO 75-2. Espectro de enfermedades producidas por las especies del género *Aspergillus*

Reacciones alérgicas:

Cavidad nasal

Senos paranasales

Vías respiratorias inferiores

Colonización:

Obstrucción de senos paranasales

Bronquios

Cavidades pulmonares  
preformadas

Infecciones cutáneas superficiales

Infecciones invasivas limitadas:

Bronquios

Parénquima pulmonar

Pacientes con una  
immunodeficiencia leve

Infección pulmonar muy  
invasiva:

Pacientes con  
immunodeficiencia grave

Diseminación sistémica

Muerte

## MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

- ❖ Crece en los medios de cultivo ordinarios como Sabouraud y papa dextrosa agar (PDA) a 28 °C.
- ❖ Las colonias se desarrollan rápidamente de 3 a 5 días.
- ❖ Estas varían según las especies en cuanto a su textura, pudiendo ser planas, granuladas, polvosas, aterciopeladas, tomando diferentes tonalidades en su pigmento que van desde color negro (*A. niger*), verde (*A. fumigatus*), verde amarillento (*A. flavus*) y beige (*A. terreus*).

**En la microscopia se observan las siguientes estructuras anamórficas:**

### ➤ **Conidióforo:**

Es una hifa erecta, de pared gruesa, que se produce en el micelio aéreo en forma perpendicular al sustrato, y que suele nacer de la llamada célula pie (*foot cell*); salvo excepciones, los conidióforos no son ramificados, pueden ser lisos o rugosos (grupo *A. flavus*), pigmentados o hialinos. Su extremo terminal se dilata constituyendo la vesícula.

➤ **Vesícula.** Es la parte apical del conidióforo; puede tener forma globosa, elíptica, hemisférica o de moza.

➤ **Fiálides:**

Son las estructuras digitiformes productoras de los conidios que se desarrollan en la zona fértil de la vesícula.

➤ **Conidios:**

Son esporas o propágulos asexuales unicelulares que se originan en el extremo más estrechado de las fiálides. Su forma es globosa, ovalada o elíptica, y su superficie puede ser lisa, rugosa o equinulada y de color variable, que determina el de la cabeza conidial y de toda la colonia. Los conidios son hidrofóbicos y secos, fácilmente transportables por el aire.

➤ **Cabeza conidial:**

Está constituida por los elementos descritos anteriormente y tiene importancia básica como criterio de identificación y clasificación de *Aspergillus*.

Existen otras estructuras de interés en la identificación de grupos y especies como: células de Hülle, esclerocios y ascocarpos (estructura sexual).

## PATOGENIA Y DATOS CLÍNICOS

La presencia en la atmósfera de conidios de diferentes *Aspergillus* pueden ocasionar enfermedad en el hombre, que se manifiesta por diversos mecanismos patogénicos:

Por procesos de hipersensibilidad en sujetos con atopía:

Ocasionando:

- ✓ Asma
- ✓ Rinitis
- ✓ Aspergilosis broncopulmonar alérgica.

Por procesos de hipersensibilidad en sujetos no atópicos:

causando broncoalveolitis alérgica

Por infecciones superficiales:

ocasionando infecciones ungueales o micosis del conducto auditivo externo.

Por infecciones viscerales no invasivas

que afectan las cavidades  
sinusales, pulmonares o  
pleurales.

Por infecciones viscerales invasivas:

aspergilosis pulmonar  
invasiva y aspergilosis  
necrotizante crónica.

Algunas especies de *Aspergillus* producen micotoxinas que desempeñan un papel importante en la producción de infecciones.

## DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

**Productos  
patológicos**

Espujo, productos de raspado de lesiones superficiales, piezas de biopsia, sangre, exudado ótico, líquido pleural, secreciones de senos paranasales

**Examen  
directo.**

- ✓ La muestra se coloca entre porta y cubreobjeto con KOH al 10 % o solución salina.
- ✓ Dependiendo del tipo de aspergilosis, se observa al microscopio lo siguiente:
  - ▶ **hifas, conidios y las clásicas cabezas aspergiliares** (aspergilosis pulmonar, otomicosis y en las saprofitaciones de pacientes quemados).
  - ▶ **Se ven hifas delgadas, tabicadas y hialinas** (onicomicosis y úlceras necróticas).

## Cultivo

- Se realiza en medio de Sabouraud y papa dextrosa agar (PDA)
- Crecen con facilidad en los medios micológicos convencionales que carecen de ciclohexamida.
- No debe utilizarse cicloheximida, inhibe algunas especies de *Aspergillus*
- Los cultivos deben hacerse seriados, por ser estos hongos contaminantes del medio ambiente.
- El período de incubación es de  $\approx$  1-3 días a 28 °C, pues las colonias se desarrollan rápidamente, observándose las clásicas cabezas aspergiliares.

## Cultivo

Las especies del género *Aspergillus* se desarrollan como formas miceliales hialinas en cultivo.

### **En el examen macroscópico:**

las colonias de *Aspergillus* en función de la especie y las condiciones de crecimiento pueden ser:

- Negras
- Marrones,
- Verdes
- Amarillas
- Blancas
- o de otro color

El aspecto de la colonia puede orientar la identificación inicial, pero la identificación definitiva precisa del estudio microbiológico de las hifas y la estructura de la cabeza conidial.

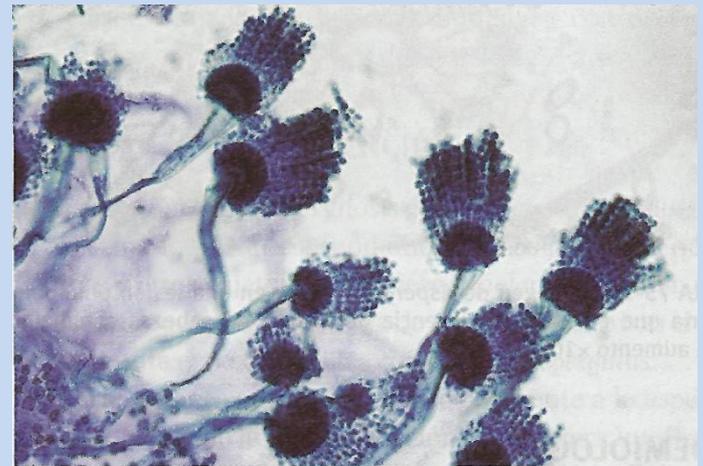
Los aspergilos forman hifas tabicadas ramificadas que producen cabezas conidiales cuando se exponen a aire en condiciones *in vitro* e *in vivo*.

- ❑ Cada cabeza conidial se compone de un conidióforo con una vesícula terminal, la cual porta una o dos capas de fiálides, o esterigmas
- ❑ A su vez, las fiálides alargadas generan columnas de conidias esféricas que constituyen los propágulos infecciosos a partir de los cuales se desarrolla la fase micelial del hongo.

- ❑ La identificación de cada una de las especies de este género depende, en parte, de las diferencias existentes a nivel de sus cabezas conidiales, como la disposición y la morfología de las conidias (figuras 75-12 y 75-13).



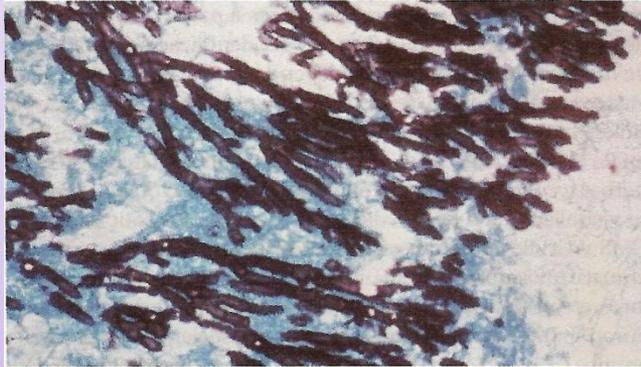
**FIGURA 75-13.** *Aspergillus terreus*; preparación en azul de lactofenol en la que se aprecia la cabeza conidia



**FIGURA 75-12.** *Aspergillus fumigatus*; preparación en azul de lactofenol que muestra la cabeza conidial

## En el tejido

- ❑ Las hifas se tifican débilmente con la tinción de H-E, pero se visualizan bien por medio de las tinciones micóticas de PAS, GMS y Gridley.
- ❑ Las hifas son homogéneas y muestran una anchura uniforme (3 a 6 mn), contornos paralelos, tabiques regulares, y un patrón progresivo de ramificación arboriforme (figura 75-14). Las ramas son dicotómicas y suelen surgir a ángulos agudos ( $-45^\circ$ ).



**FIGURA 75-14.** Imagen de *Aspergillus* en una muestra de tejido en la que se observa la ramificación en ángulos agudos y la presencia de hifas tabicadas (GMS)

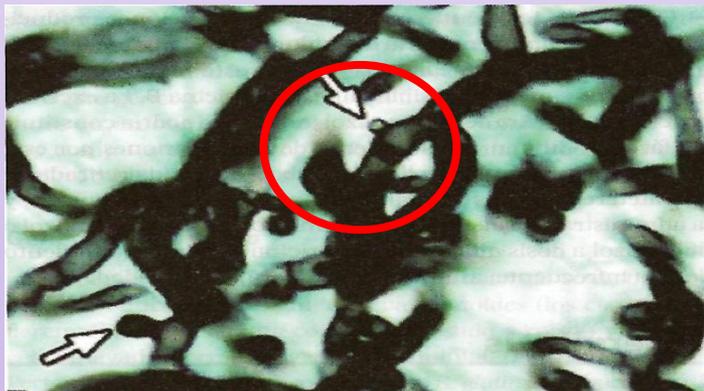
- ❑ Se puede observar la presencia de hifas en el interior de los vasos sanguíneos (angioinvasión), lo cual provoca trombosis.

- ❑ Las cabezas conidiales rara vez se encuentran en los tejidos, aunque pueden desarrollarse en el interior de alguna cavidad (figura 75-15).



**FIGURA 75-15.** Imagen de *Aspergillus niger* en una lesión pulmonar cavitaria que muestra la presencia de hifas y de cabezas conidiales (GMS)

- ❑ *A. terreus* se identifica en los tejidos por la presencia de aleurioconidias (esporas levaduriformes) esféricas u ovaladas que se forman a partir de las paredes laterales del micelio (figura 75-16).



**FIGURA 75-16.** Imagen de *Aspergillus terreus* en tejido, las flechas señalan una aleurioconidia (GMS)

Por lo demás, las hifas de las especies patógenas de *Aspergillus* no se diferencian entre sí a nivel morfológico.

## Identificación de *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, y *A. niger*.

### ❑ Morfología de las colonias de *Aspergillus fumigatus*.

- ❖ Las colonias desarrollan con rapidez sobre ASD Czapek a 25 °C.
- ❖ La textura de las colonias es aterciopelada, afelpada, vellosa o algo plegada, con margen blanquecino o *beige*.
- ❖ El color inicialmente es blanco virando en aproximadamente siete días a un verde azulado por la producción de conidias.
- ❖ El reverso de la colonia es incoloro.

### ❑ Características microscópicas de las colonias de *Aspergillus fumigatus*.

- ❖ Presentan conidióforo corto, liso de hasta 300  $\mu\text{m}$  de longitud y de 5 a 8  $\mu\text{m}$  de diámetro, vesícula de 20 a 30  $\mu\text{m}$  de diámetro con fiálides (6 a 8  $\mu\text{m}$  de largo), uniseriada, ocupando 2/3 de la vesícula.
- ❖ Los conidios en cadenas forman una compacta columna sobre la vesícula, son de color verde, finamente rugosos, globosos o subglobosos y de 2 a 3  $\mu\text{m}$  de diámetro



Característica macroscópica de *A. fumigatus*.

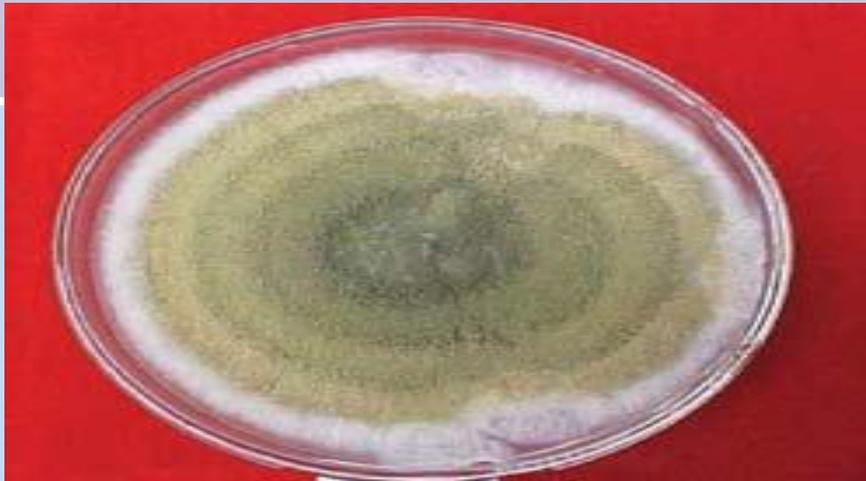


Características microscópicas de *A. fumigatus*.

## ❑ *Aspergillus flavus*.

### ❑ Morfología de las colonias de *Aspergillus flavus*.

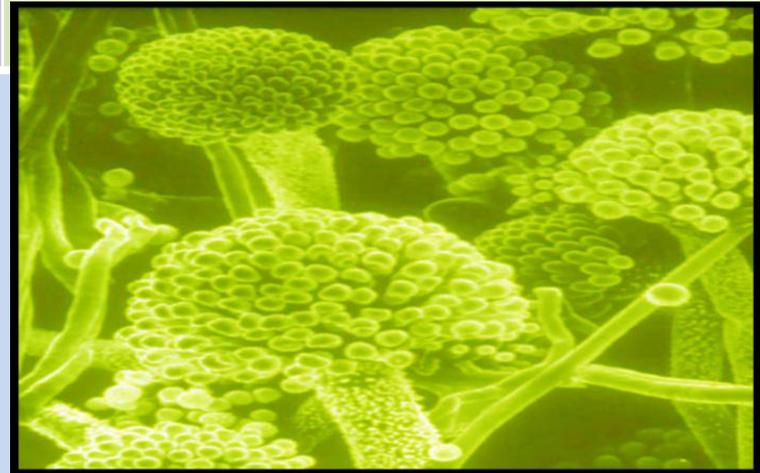
- ❖ Las colonias desarrollan rápidamente sobre ASD o agar Czapek a 25 y 37 °C en 5-7 días.
- ❖ El color es verde – amarillo.
- ❖ La textura de las colonias es pulverulenta con surcos radiales, rugosas o granulosas, ocasionalmente algodonosas en el centro o margen de la colonia.
- ❖ El reverso de la colonia es incoloro.



Características macroscópicas de *A. flavus*.

### ❑ Características microscópicas de las colonias de *Aspergillus flavus*.

- ❖ Conidióforos no ramificados de pared gruesa, hialinos, rugosos, de  $\geq 1$  mm de longitud y de 10 a 20  $\mu\text{m}$  de diámetro.
- ❖ Vesículas son globosas o subglobosas de 10 a 65  $\mu\text{m}$  de diámetro produciendo fiálides uniobiseriadas alrededor de la vesícula.
- ❖ Los conidios son de color verde amarillentos, lisos o finamente rugosos, esféricos o subsféricos con un diámetro de 3,5 a 4,5  $\mu\text{m}$ . Los esclerotes pueden estar presentes.



Características microscópicas de *A. flavus*.

## ***Aspergillus niger.***

### ❑ **Morfología de las colonias de *Aspergillus niger*.**

- ❖ Colonias de rápido desarrollo sobre ASD o agar Czapek a 25 y 37 °C.
- ❖ El color de las colonias al principio es blanco a amarillo, luego es negro.
- ❖ La textura de las colonias es granular. El reverso de la colonia es incoloro o crema.



Características macroscópicas de *A. niger*.

### ❑ **Características microscópicas de las colonias de *Aspergillus niger*.**

- ❖ Los conidióforos son de pared lisa, hialina o pigmentada y miden de 1,5 a 3 mm de largo y de 15 a 20  $\mu\text{m}$  de diámetro.
- ❖ La vesícula es globosa con 50-100  $\mu\text{m}$  de diámetro y produce fiálides alrededor de ella.
- ❖ Las fiálides son biseriadas, las ramas 1rias miden 30  $\mu\text{m}$  de largo y pueden estar tabicadas, mientras que las 2rias son cortas y miden 8  $\mu\text{m}$  de longitud, a partir de las cuales brotan los conidios, los cuales son globosos y rugosos con 4 a 5  $\mu\text{m}$  de diámetro, de color castaño o marrón a negro.



Características microscópicas de *A. niger*.

## Pruebas serológicas

- ✓ Estas pruebas son útiles para los casos de aspergilosis pulmonar invasiva, saprofítica y diseminada, siendo necesario correlacionarlas con los datos clínicos y micológicos.
- ✓ Las más utilizadas y efectivas son: la inmunodifusión en gel, fijación del complemento, RIA y ELISA.: con la detección sérica del antígeno galactomanano de *Aspergillus*.

## Prueba cutánea

Intradermorreacción (extracto de antígeno de *Aspergillus*); valoración de IgE e IgG; valoración nasal (búsqueda de eosinófilos).

## Otras pruebas utilizadas

**Biopsia.** Las biopsias son indispensables para las úlceras cutáneas, observándose granulomas inflamatorios.

**Rayos X.** Indispensables para las formas pulmonares.

## EPIDEMIOLOGÍA Y CONTROL

- La aspergilosis es una enfermedad cosmopolita
- Las diversas especies oportunistas de *Aspergillus* ocupan el 1º y 2º lugar dentro de los hongos contaminantes del medio ambiente.
- Se aísla con frecuencia del aire, tierra, plantas y, en especial, contamina alimentos (carbohidratos y fibras).
- Principal vía de entrada al organismo es la respiratoria, aunque las esporas pueden penetrar por traumatismos cutáneos; y en el caso de las otomicosis y onicomosis, sólo por el contacto con las esporas.
- Se presenta en ambos sexos y en todas las edades.
- En cuanto a la ocupación: mayor frecuencia en personas que manejan granos (maíz, trigo, centeno), alimentos de aves, etc., porque están sujetos a inhalar grandes cantidades de esporas.
- El período de incubación es indeterminado.
- Relacionada con factores predisponentes como: desnutrición, inmunodepresión, alcoholismo crónico, carcinoma pulmonar y tuberculosis.
- Las medidas profilácticas radican en retirar a los pacientes de la fuente de infección como, por ejemplo, graneros, trilladores, etc.; y las personas inmunocomprometidas y con quemaduras extensas deben mantenerse en áreas estériles o asépticas.

## TRATAMIENTO

- ✓ Como tratamiento tópico se han utilizado: nistatina, solución de tolclato, solución de anfotericina B, solución de ketoconazol.
- ✓ Se utiliza de forma sistémica: antihistamínicos, desensibilización inmunológica, corticoterapia (prednisona), anfotericina B, itraconazol, anfotericina B (liposomal).
- ✓ Para *A. terreus* se considera resistente a anfotericina B, por lo que es preciso utilizar un fármaco alternativo como voriconazol.

**GRACIAS**