

GUÍA DE PRÁCTICA DE LABORATORIO			
PERÍODO ACADÉMICO	2025-1S		
ASIGNATURA	Micología	SEMESTRE: 5	PARALELO: A
NOMBRE DEL DOCENTE	Dra. Maria del Carmen Cordovéz Martínez		
FECHA	19/05/2025		
NÚMERO DE PRÁCTICA	6 y 7	HORA: 14:00-17:00	DURACIÓN: 3 horas
	Alban Jaya Katerin Geovana		
	Asqui Sinchiguano Emilia Katherine		
	Choro Medina Angelica Abigail		
	Chuquin Guatemal Melany Karina		
	Colcha Chulli Lesly Anabel		
	Fuentes Coloma Gloria Margarita		
	Huaraca Guashpa Karen Magaly		
	Leon Quizhpe Liza Valeria		
	Medina Lopez Domenica Jailyn		
	Morales Copo Brisa Dayana		
	Morocho Garcia Marilyn Cayetana		
	Moyon Moyon Lizeth Gabriela		
	Pazmiño Verdezoto Karla Salet		
	Puente Pancho Roger Daniel		
	Telenchana Moposita Pamela Michelle		
	Villa Lema Katy Marcela		
	Villamizar Varela Wendy Andrea		
LUGAR DE LA PRÁCTICA	Laboratorio microbiología		
TÍTULO DE LA UNIDAD	Micosis sistémicas profundas		
TEMA DE LA PRÁCTICA	Criptococosis, Histoplasmosis, Aspergilliosis: toma de muestra y diagnóstico de laboratorio		
RESULTADO DE APRENDIZAJE.			
Distingue los hongos causantes de micosis subcutáneas como ayuda al diagnóstico micológico de enfermedades infecciosas.			
OBJETIVO GENERAL	Aplicar la enseñanza y aprendizaje de los conocimientos Teóricos de hongos causantes de micosis subcutánea		
Objetivos específicos	Toma de muestra, examen directo y cultivo para buscar agentes productores de Criptococosis, Histoplasmosis y Aspergilliosis:		
FUNDAMENTO TEÓRICO:			
<i>Cryptococcus neoformans</i>			
Es una levadura encapsulada, agente etiológico de la criptococosis, micosis de curso subagudo o crónico que puede presentar diferentes manifestaciones clínicas, aunque más del 75 % de los casos se localizan en el Sistema Nervioso Central.			
Presenta una distribución universal y se desarrolla como saprófito ubicuo del suelo, en especial de aquel enriquecido con excrementos de paloma.			
Se distinguen:			
cinco serotipos: (A, B, C, D y AD)			
dos variedades:			
♦ <i>C. neoformans</i> var. <i>neoformans</i> (serotipos A, D y AD)			
♦ <i>C. neoformans</i> var. <i>gatti</i> (serotipos B y C).			
MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN			
<i>Cryptococcus neoformans</i> crece en la mayoría de los medios de cultivo empleados en el laboratorio de micología.			

En agar Sabouraud o en agar extracto de malta, las colonias se desarrollan en 36-72 hs a 25-30 °C o a 37 °C.

Estas colonias son de color blanco amarillento a crema, y se tornan más oscuras al envejecer.

Su aspecto es mucoso, poco elevadas, brillantes, de bordes enteros y húmedas.

Microscópicamente

es un microorganismo levaduriforme encapsulado de forma esférica a ovalada y un diámetro comprendido entre 2-20 µm.

- ✓ se replica por gemación a partir de una base relativamente estrecha hasta alcanzar su mismo tamaño

Por lo general se forman yemas solitarias, aunque en algunas ocasiones existen yemas múltiples y cadenas de células en gemación (figura 75-7).

El material clínico suele carecer de tubos germinales, hifas y pseudohifas.

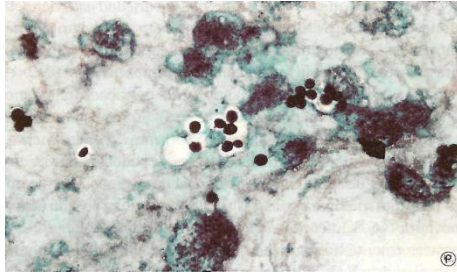


FIGURA 75-7. *Cryptococcus neoformans*, morfología microscópica

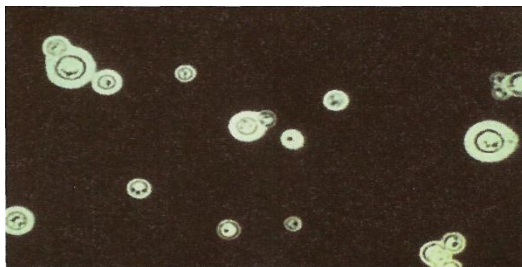
La forma de las células es variable en los tejidos teñidos:

- ✓ Con tinta china: esférica, ovalada o elíptica; suelen rodearse de zonas esféricas o «halos» de contorno liso y fácil visualización que representan la cápsula polisacárida extracelular.

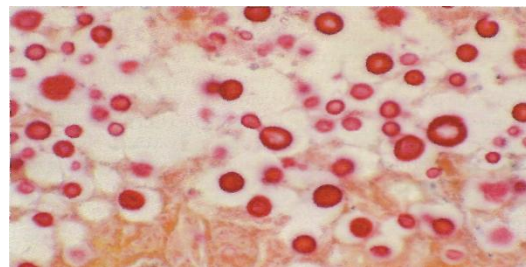
La cápsula es un marcador inconfundible cuyo diámetro puede ser hasta cinco veces mayor que el de la célula micótica, se detecta con facilidad mediante una tinción de mucina como la técnica de mucicarmina de Mayer.

El microorganismo se tiñe débilmente con la tinción de H-E, pero se detecta fácilmente mediante las tinciones de PAS (ácido periódico de Schiff) y GMS (plata metenamina de Grocott).

La pared celular de *C. neoformans* contiene melanina, la cual se pone de manifiesto por medio de la tinción de Fontana-Masson.



Preparación de *Cryptococcus neoformans* en tinta china que revela la llamativa cápsula que circunda a las levaduras de gemación



Tinción de *Cryptococcus neoformans* con mucicarmina

La formación de la cápsula puede ser estimulada *in vitro* mediante la siembra en Ag Ch a 37°C en atmósfera de CO₂, mientras que, en pases sucesivos en medios de cultivo como Ag Sabouraud o Ag extracto de malta, el tamaño de la cápsula tiende a disminuir.

Entre las **características fisiológicas** de *C. neoformans* se encuentran:

- No fermenta los carbohidratos
- Asimilación de inositol
- Producción de ureasa: esta enzima actúa sobre la urea con la consiguiente alcalinización del medio
- Producción de fenoloxidas: esta enzima es capaz de oxidar una variada gama de sustratos difenólicos hasta convertirlos en melanina.

Diagnóstico de laboratorio

Productos patológicos

- ✓ LCR: es la muestra clínica más útil para el diagnóstico
- ✓ Otras en dependencia de las manifestaciones clínicas, son: sangre, suero, esputo, lavado bronquioalveolar, aspirado de lesiones cutáneas, orina y biopsias

Examen directo

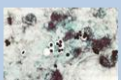
- ✓ Se realiza mezclando una gota de tinta china o nigrosina con sedimento de LCR, orina, lavado bronquioalveolar o con material de biopsia macerado
- ✓ Permite la observación de las levaduras encapsuladas por contraste negativo.
- ✓ La presencia de células gemantes es útil para evitar falsos diagnósticos por confusión con leucocitos u otros elementos fomes. Esta técnica tiene una sensibilidad del 50 al 70 %, aunque sobrepasa el 90 % en pacientes con SIDA.

Las células de *C. neoformans* se visualizan mediante la:

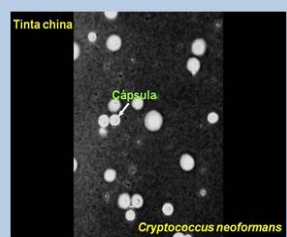
Tinción de Gram



Otras técnicas



Tinta china



Cápsula

Cryptococcus neoformans

- La muestra se inocula en placas de Agar-sangre o agar Sabouraud con cloranfenicol o sin este (no debe añadirse cicloheximida, ya que inhibe su crecimiento).
- Incubar a 30 °C/48 a 72 horas como mínimo, aunque no se deben descartar como negativos hasta pasadas, al menos, 3 semanas
- Hemocultivos
- Ponen de manifiesto la presencia de las levaduras de gemación encapsuladas características de este microorganismo.

Identificación de *Cryptococcus neoformans*.

- ☐ Morfología de las colonias
- ☐ Son mucoides y brillantes.
- ☐ Sobre el ASD desarrollan un color blanco amarillento, son poco elevadas y de bordes continuos
- ☐ Agar *niger seed* (agar semilla de girasol) desarrollan un color marrón.



Examen microscópico

Levaduras redondas de 7 a 15 µm de diámetro, en algunos casos pueden producir blastoconidias. Su principal característica es la de presentar una cápsula que la circunda, visible al examen directo con la tinta china.



Control positivo: *Cryptococcus neoformans*.
Control negativo: *Candida albicans*.

Producción de ureasa

Se basa en la capacidad de producir la enzima ureasa, la cual desdobla la urea en dióxido de carbono y amoníaco, incrementando el pH del medio y produciendo un cambio de color rojo – púrpura en el indicador rojo de fenol.

Procedimiento

- Se utiliza el medio de Christensen, en el cual se inocula una asada de la levadura en estudio.
Los medios se incuban a 37 °C / 6 h o a temperatura ambiente/3 días.

Interpretación

La prueba se considera positiva cuando se alcaliniza el medio lo que produce un cambio de color original (amarillo) a rosa o rojo.



Positivo: *Cryptococcus neoformans*.
Negativo: *Candida albicans*.

Prueba de la fenoloxidasas

Capacidad de *C. neoformans* de formar un pigmento marrón o negro, denominado melanina, a partir de compuestos difenólicos. La producción de este pigmento mediante la prueba de la L – dopa – citrato férrico, es realizada por la enzima fenoloxidasas.

Procedimiento

- Inocular una a dos colonias de la levadura en estudio, sobre la superficie de cada cuadrado de papel Whatman N.º 1.
- Incubar en cámara húmeda a 28 °C de 3 a 18 h.

Interpretación

La reacción positiva se evidencia con la producción de un pigmento marrón oscuro o negro alrededor de la colonia de *C. neoformans*.

Positivo: *Cryptococcus neoformans*.
Negativo: *Candida albicans*.

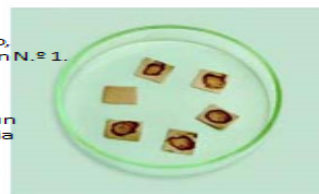


Figura 2. Manchas de pigmentación oscuro a negro de 5 cepas de *C. neoformans* para la prueba de la fenoloxidasas a 28° C en medio ASD al 0,1%. A la izquierda, el control negativo (*Candida*).

Histoplasma capsulatum

Histoplasma capsulatum var. *capsulatum*

Por razones de brevedad, se le suele denominar simplemente

Histoplasma capsulatum

hongo dimórfico, que habita en suelos enriquecidos con excretas de aves y murciélagos, en regiones de todos los continentes.

Agente etiológico → Histoplasmosis → Micosis sistémicas

Su fase sexual o estado teleomorfo se ha denominado *Ajiellomyces capsulatus*.

PATOGENIA Y DATOS CLÍNICOS

La infección por *H. capsulatum* es el resultado de:

La inhalación de microconidios de la fase filamentosas.

La cuantía crítica del inóculo no ha podido ser precisada y depende en gran medida del estado inmunitario del hospedero.

Entre los 3-5 días después de la inhalación

Los microconidios germinan

dan lugar al desarrollo de la fase levaduriforme en el parénquima pulmonar

Los microconidios inhalados inducen una respuesta de neutrófilos en 24 horas, los cuales son responsables de la respuesta primaria no inmune en los pulmones.

Los neutrófilos pueden ser fungicidas frente a los microconidios

pero no frente a las levaduras de *H. capsulatum*.

Los macrófagos se acumulan rápidamente y fagocitan a dichas levaduras y es ahí donde estas proliferan.

En el hospedero inmunodeprimido se produce un acúmulo excesivo de microorganismos intracelulares,

produce un bloqueo de los macrófagos y un retardo del desarrollo de la inmunidad específica del hospedero.

Los macrófagos parasitados transportan el hongo hacia los ganglios linfáticos, el bazo, el hígado y otros órganos del sistema reticuloendotelial, dando como resultado una diseminación.

En pacientes con alteraciones de la respuesta inmune celular, la infección por *H. capsulatum* no suele ser controlada

hay tendencia a la diseminación progresiva.

La infección se extiende a varios órganos: médula ósea, hígado, bazo y glándulas suprarrenales.

Esta diseminación progresiva de la histoplasmosis se desarrolla en un corto período después de la exposición, en ocasiones puede demorar 2 o + años, en dependencia del estado inmunitario del paciente.

Los pacientes infectados con VIH, con una profunda deficiencia de la función de los linfocitos T, pueden desarrollar un síndrome similar a una septicemia con shock, distrés respiratorio y coagulación intravascular diseminada.

La gran mayoría de las infecciones por *H. capsulatum* cursan de forma asintomática (90-95 %) y se manifiestan por la respuesta a la prueba intradérmica de histoplasmina y, en algunos casos, por la presencia de focos pulmonares de calcificación en la imagen radiológica.

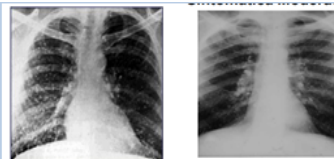
Sin embargo, entre el 5-10% de los infectados presentan una sintomatología muy variable que depende, del número de conidios inhalados y del estado inmunitario del hospedero.

Formas clínicas de la histoplasmosis

Las más frecuentes son:

1. Pulmonar aguda.

- ✓ La forma leve es una enfermedad respiratoria, clínicamente indistinguible de un resfriado común o un estado gripal.
- ✓ Los síntomas más frecuentes son inespecíficos: fiebre, malestar, cefalea, mialgia, anorexia, tos no productiva y dolor torácico.
- ✓ Comienzo súbito; hay agrandamiento hilar y del mediastino. Se puede presentar eritema nudoso y multiforme. La radiografía de tórax a veces muestra la presencia de un infiltrado local con linfadenopatía que posteriormente puede calcificarse.
- ✓ Los síntomas es posible que desaparezcan espontáneamente antes de las 3 semanas.
- ✓ En algunos casos la enfermedad toma una forma más severa y hace necesaria la terapia antimicótica.



2. Progresiva diseminada.

- ✓ Afecta a niños y a personas de edad avanzada, causando una enfermedad casi siempre mortal.
- ✓ En los pacientes con VIH generalmente adopta una forma caracterizada por la afección a varios órganos y sistemas, con una elevada frecuencia de lesiones cutáneas y de la mucosa oral, una baja positividad en los métodos de diagnóstico serológico y una relativamente alta proporción de medulocultivos y hemocultivos positivos.
- ✓ También se ha observado en otros pacientes inmunodeprimidos o con algún trastorno predisponente como son: los tratamientos con esteroides, trasplantes de órganos, linfomas, leucemias, sarcoidosis, lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide, pancitopenia, etc. El cuadro se caracteriza por hepatomegalia, esplenomegalia, linfadenopatía generalizada, anorexia, pérdida de peso y fiebre

3. Pulmonar crónica.

- ✓ Esta es una forma clínica que se desarrolla en el adulto, varón, entre la tercera y la cuarta décadas de la vida, residente en áreas endémicas.
- ✓ Constituyen factores predisponentes: hábito de fumar y los defectos anatómicos preexistentes.
- ✓ Más del 90 % de los pacientes dan resultados positivos en las pruebas serológicas que detectan anticuerpos específicos.
- ✓ Los síntomas iniciales son: tos productiva, posibles hemoptisis, disnea y eventualmente otros signos de enfermedad respiratoria crónica (pérdida de peso, inanición, cianosis).

4. Cutánea primaria.

- ✓ Es una enfermedad que se presenta con muy baja frecuencia (0,5 %).
- ✓ No hay compromiso pulmonar y rara vez se disemina a otro órgano.
- ✓ Se produce por la entrada de partículas contaminadas con material infectante a través de heridas o traumatismos en piel, lo cual puede ocurrir en actividades agrícolas o trabajos de laboratorio.
- ✓ Se desarrolla una úlcera indolora, chancriforme, con adenitis regional.
- ✓ Las lesiones pueden involucionar hasta resolver de forma espontánea a los pocos meses, aunque en otros casos pueden progresar crónicamente con compromiso de los linfáticos de drenaje.



Entrada del hongo por traumatismos cutáneos. Más frecuente en los recolectores de guano y personas que limpian gallineros

5. Histoplasmosis.

- ✓ Constituyen masas fibrosas que se desarrollan alrededor de un foco curado de infección primaria pulmonar.
- ✓ Su diagnóstico muchas veces es casual, sobre la base de una radiografía de tórax, donde se puede apreciar una lesión cavitaria, calcificada, con un foco central necrótico que al encapsularse forma una masa rígida y fibrosa.
- ✓ Es importante realizar el diagnóstico diferencial con el tuberculoma, el coccidioidoma y las neoplasias. En ocasiones puede ocurrir una diseminación a otros órganos, sobre todo en pacientes inmunocomprometidos.
- ✓ Algunas veces estas lesiones continúan creciendo cerca de sitios vitales y pueden originar complicaciones, aunque la mayor parte de los histoplasmosis dejan de crecer y se calcifican. En algunos casos se requiere intervención quirúrgica

EPIDEMIOLOGÍA Y CONTROL

- ✓ *Histoplasma capsulatum* crece en suelos con alto contenido de nitrógeno y fósforo
- ✓ Se ha encontrado en los cinco continentes.
- ✓ Durante la niñez, ambos sexos son igualmente susceptibles, pero adultos se presenta más en el hombre que en la mujer. Se ha señalado como causa de este hecho la mayor exposición del hombre a posibles fuentes de infección; y se ha comprobado el efecto inhibitorio de los estrógenos sobre el crecimiento de *H. capsulatum*.
- ✓ Una exposición muy constante a cantidades abundantes de conidios en ambientes cerrados puede resultar letal

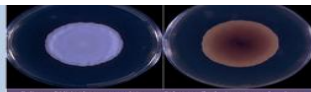
Hábitat: Suelos enriquecidos con excretas de murciélagos y aves



Brotos asociados con:

- Limpieza de locales abandonados
- Exploración de cuevas
- Limpieza de gallineros, palomares
- Tala de árboles
- Maniobras militares
- Minería

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN



A temperaturas inferiores a 35 °C: *H. capsulatum* crece formando colonias con un micelio blanco algodonoso con abundantes hifas aéreas.

Al microscopio se observan: macroconidios tuberculados esféricos, de pared gruesa, que miden de 8 a 14 µm de diámetro y microconidios lisos o ligeramente rugosos de 2 a 4 µm de diámetro; no produce pigmentos difusibles en el medio de cultivo.

Pueden presentarse, también, colonias: de color pardo con un micelio aéreo escaso, apilado, de color aneta a pardo oscuro con hifas tenuemente pigmentadas, estrechas, y gran número de macroconidios tuberculados.

La macromorfología colonial de *H. capsulatum* resulta difícil de diferenciar de la de algunos hongos contaminantes e, incluso, de algunos patógenos; se hace imprescindible observar la presencia de los macroconidios tuberculados y demostrar su dimorfismo.

Hongos saprófitos como: *Chrysosporium* y *Sporophium* también producen macroconidios muy semejantes a los de *H. capsulatum*; aunque a diferencia de este, no crecen a 37 °C.

Histoplasma capsulatum

En estado parasitario y en medios de cultivo enriquecidos, a 37 °C, se observan células levaduriformes esféricas u ovaladas, de 2 a 3 por 3 a 4 µm, de paredes finas, que se reproducen por gemación polar con una base estrecha.

En los medios de cultivo se desarrollan colonias cremosas de color grisáceo a beige.

el dimorfismo de *H. capsulatum* está determinado, fundamentalmente, por la temperatura y los nutrientes del medio.

La conversión de la fase filamentososa a la levaduriforme y viceversa es un proceso reversible y constituye un valioso criterio de identificación de *H. capsulatum*

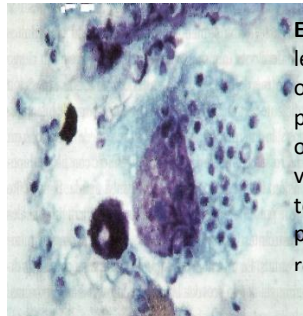
DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Productos patológicos: Más recomendados son: esputo y otras secreciones respiratorias, sangre, médula ósea, líquido cefalorraquídeo (LCR), orina, exudados de piel y mucosas, biopsias (hígado, bazo, cerebro, ganglios, etc.), en dependencia del cuadro clínico.

Examen directo:

- ✓ El ex microscópico directo de las muestras, sin coloración previa, resulta de poco valor diagnóstico debido al pequeño tamaño de las levaduras.
- ✓ Los frotis coloreados con Giemsa o Wright son de gran ayuda en el diagnóstico de la histoplasmosis. Mediante la coloración de Giemsa las levaduras de *H. capsulatum* se observan dentro de los macrófagos, pequeñas (2 a 3 µm), redondas a ovoides, con el núcleo teñido de violeta oscuro y el citoplasma en azul tenue, casi incoloro. Por efectos de la propia coloración, ocurre una retracción del citoplasma dando la apariencia de una falsa cápsula.
- ✓ Se ha empleado el blanco de calcofluor y para cortes histológicos de muestras de biopsias se recomiendan las coloraciones de PAS y metenamina de plata.

La observación, en cualquier tipo de muestra clínica, de levaduras intracelulares con las características mencionadas es altamente sugestiva de histoplasmosis.



En la coloración de Giemsa las levaduras de *H. capsulatum* se observan dentro de los macrófagos, pequeñas (2 a 3 µm), redondas a ovoides, con el núcleo teñido de violeta oscuro y el citoplasma en azul tenue, casi incoloro. Por efectos de la propia coloración, ocurre una retracción del citoplasma dando la

Cultivo

- ❖ Siembra de muestras seriadas en medio agar Sabouraud y agar Sabouraud con cloranfenicol y cicloheximida, así como su incubación a 28 °C.
- ❖ El material patológico debe sembrarse paralelamente en medios de cultivo enriquecidos como son: agar-sangre con glucosa y cisteína, y agar infusión de cerebro y corazón con cisteína e incubar a 37 °C para lograr la fase levaduriforme.
- ❖ Otro medio de cultivo recomendado para el primoaislamiento de *H. capsulatum* es el agar extracto de levadura-fosfatos, con hidróxido de amonio.
- ❖ Tiempo de incubación de 2-4 semanas, aunque según la mayoría de los autores es recomendable esperar hasta 6 u 8 semanas; otros, en cambio, prefieren incubar hasta las 12 semanas antes de considerar una muestra negativa.

Cultivo:

- Fase filamentososa: Sabouraud y Sabouraud-cloranfenicol- cicloheximida a 28°C, 6-8 semanas.
- Fase levaduriforme: Agar-sangre con glucosa y cisteína, agar infusión de cerebro y corazón con cisteína a 37°C, 6-8 semanas.

En estado parasitario y en medios de cultivos a 37°C: Células levaduriformes.



A temperaturas inferiores a 35°C: Macroconidios tuberculados (fase filamentososa).



La conversión de la fase filamentososa a la levaduriforme y viceversa, constituye un valioso criterio de diagnóstico.

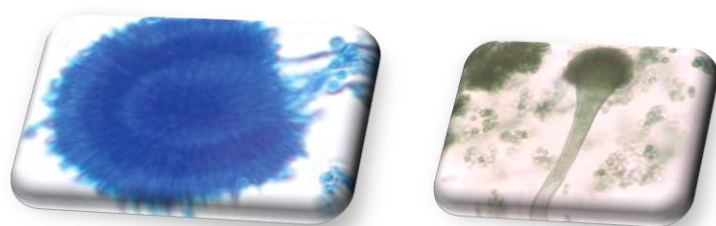
ASPERGILOSIS

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 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 onicomicosis.

Puede ocasionar padecimiento a nivel pulmonar y oftálmico.



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, granulosas, 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.

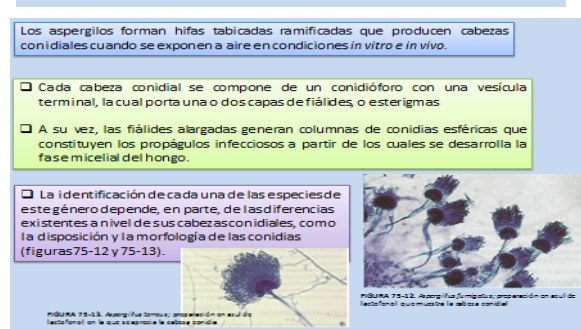
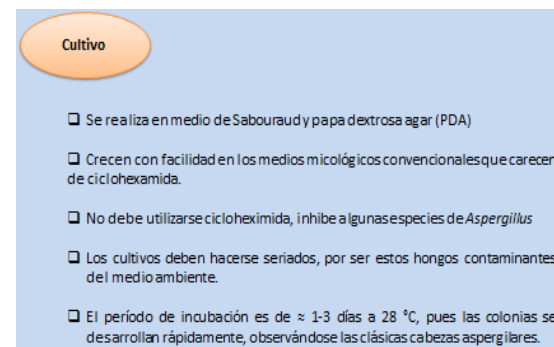
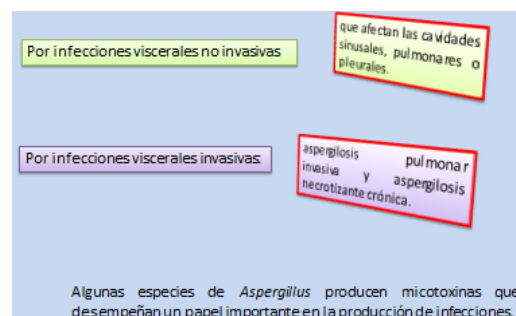
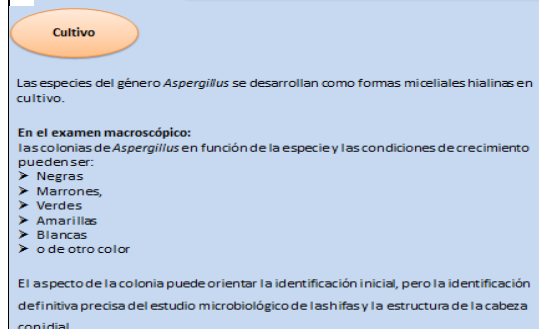
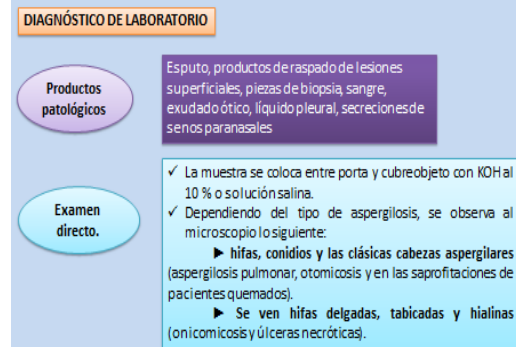
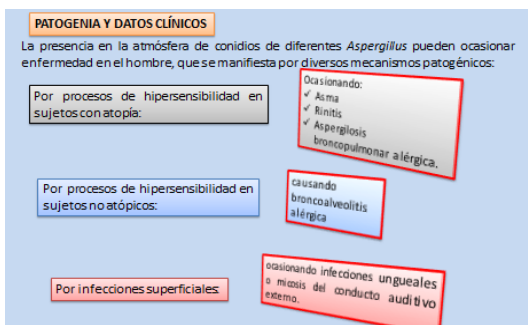
➤ **Conidios:**

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).





En el tejido

❑ Las hifas se tiñen 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 µm), contornos paralelos, tabiques regulares, y un patrón progresivo de ramificación arboriforme (figura 75-14). Las ramificaciones dicotómicas suelen surgir a ángulos agudos (~45°).



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 (OIVS).

❑ 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 (OIVS).

❑ *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).



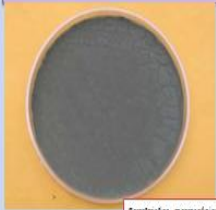
FIGURA 75-16. Imagen de *Aspergillus terreus* en tejido. Las flechas señalan una aleurioconidia (OIVS).

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*.**

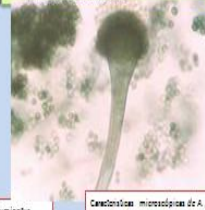
- ❖ Las colonias desarrollan con rapidez sobre ASD Czapek a 25°C.
- ❖ La textura de las colonias es aterciopelada, afeelpada, vellosa o algo plegada, con margen blanquecino o beige.
- ❖ El color inicialmente es blanco virando en aproximadamente siete días a un verde azulado por la producción de conidias.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



Características macroscópicas de *A. fumigatus*.

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

- ❖ Presentan conidióforo corto, liso de hasta 300 µm de longitud y de 5 a 8 µm de diámetro, vesícula de 20 a 30 µm de diámetro con filíides (6 a 8 µm 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 µm de diámetro.



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, rugosa o granulosa, ocasionalmente algodonosa 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 2 a 1 mm de longitud y de 10 a 20 µm de diámetro.
- ❖ Vesículas son globosas o subglobosas de 10 a 65 µm de diámetro produciendo filíides unibiseriadas alrededor de la vesícula.
- ❖ Los conidios son de color verde amarillento, lisos o finamente rugosos, esféricos o subesféricos con un diámetro de 3,5 a 4,5 µm. 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 µm de diámetro.
- ❖ La vesícula es globosa con 50-100 µm de diámetro y produce filíides alrededor de ella.
- ❖ Las filíides son biseriadas, las ramas 1ras miden 30 µm de largo y pueden estar tabicadas, mientras que las 2ras son cortas y miden 8 µm de longitud, a partir de las cuales brotan los conidios, los cuales son globosos y rugosos con 4 a 5 µm de diámetro, de color castaño o marrón a negro.



Características microscópicas de *A. niger*.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E
HISTOPATOLÓGICO

MATERIALES Y MÉTODOS

Equipos	Materiales	Reactivos
Table, laptop, celulares	Cuadernos, esferos	

PROCEDIMIENTO / TÉCNICA:

Ingreso al aula virtual

Leer detenidamente la información.

El estudiante leerá detenidamente la información de la práctica

Práctica de Micología # 6 Criptococosis

Paciente de 30 años, miembro del Club de Colombófilos de Ecuador, con antecedentes de ser VIH positivo, comienza con fiebre alta, dolor de cabeza y muy mal estado general por lo que acude al médico. Es examinado y realizado una punción lumbar para descartar una meningitis, la muestra es enviada al laboratorio para estudio tanto bacteriológico como micológico pensando que puede ser una meningitis fúngica por una criptococosis..

Describe:

- ✓ Cuál es la muestra que se recibe en el laboratorio
- ✓ Qué le realiza a esta muestra
- ✓ Dibuje lo observado tanto en el examen directo como en el cultivo
- ✓ Cómo informaría el resultado

Práctica de Micología # 7 Aspergilosis

Paciente de 30 años, que trabaja en un granero. Acude al otorrino porque presenta picazón en el oído derecho, no secreción. Le indican exudado micológico por sospecha de una micosis. Acude al laboratorio para la toma de muestra.

Describe:

1. Cómo le toma la muestra
2. Qué le realiza a esta muestra
3. Dibuje lo observado tanto en el examen directo como en el cultivo si en este último se espera diagnosticar un *Aspergillus flavus* y explique

Cómo informaría el resultado

La práctica puede realizarla a mano en su totalidad o puede hacerlo en documento Word **pero los dibujos tienen que ser a mano.**

Realizar en documento aparte y subir al aula virtual en PDF

RESULTADO (Gráficos, cálculos, etc.)

OBSERVACIONES

CONCLUSIONES

RECOMENDACIONES

BIBLIOGRAFÍA:

Microbiología Médica Brooks Geo. F. Editorial El Manual Moderno
Microbiología Médica. Patric R. Murray. Elsevier. 2007.

Mgs. Verónica Cáceres
DIRECTOR/A DE CARRERA

Dra. Maria del Carmen Cordovéz
DOCENTE

Ing. Eliana de la Torre
RESPONSABLE DE LABORATORIO