

COLORACION Y MONTAJE DE CULTIVO EN LAMINA DE HONGOS

Dra. Elvia D. de Torres
Dra. Mireya Mendoza
Dra. Toni A. de Medero

Laboratorio de Micología del Instituto de Biomedicina, Caracas.

RESUMEN

En este trabajo se demuestra la eficacia del uso de un medio de montaje de gelatina glicerizada, para preparaciones permanentes de micro hongos. Este medio mantiene las preparaciones por años, siendo de utilidad para la docencia.

SUMMARY

With this work we have demonstrate the efficacy of the glycerin jelly as an standard mounting media for fungi. This media maintains the preparations in good conditions for several years and it is very useful for teaching purposes.

PALABRAS CLAVES: Cultivos, Hongos.

INTRODUCCION

El cultivo en lámina de los hongos es uno de los métodos más eficientes en mostrar y mantener las estructuras fructíferas de éstos. La coloración rápida y sencilla del hongo por el método de ácido periódico de Schiff específica para polisacáridos permite mayor visualización de detalles morfológicos y estructurales, los cuales son poco alterados cuando se emplea el montaje en gelatine glicerizada.

El interés en este trabajo es obtener preparaciones permanentes de microcultivos de hongos que muestran el mínimo de daños estructurales para ser empleados éstos en la docencia, como referencia y material fotográfico.

MATERIALES Y METODOS:

Se procedió a la realización de cultivos en lámina de varios hongos (**Microsporium canis**, **Sporothrix schenckii**, **Cladosporium carrioni** y otros) según la técnica descrita por Rivalier y Seidel (1932) empleándose como medio de cultivo papa (Stards - EE.UU.) y el me-

dio casero de Borelli Lactrimel, dejándose crecer éstos por un lapso de 15 días, fueron examinados al microscopio para determinar su desarrollo y evolución. Terminado el lapso de cultivo se disecan éstos en estufa a 37°C por 48 horas. Posteriormente éstos son fijados en buffer formo) al 10 % por 2 minutos, se eliminan las partes gruesas del inóculo y se procede a la coloración del microcultivo en el ácido periódico de Schiff (PAS) de acuerdo a los siguientes pasos:

- a) Oxidar por 5 minutos con la solución de ácido periódico al 0,5 %
- b) Lavado con agua destilada por 5 minutos.
- c) Cubrir la preparación con solución Leucofucsina de Schiff, dejar por 20 minutos.
- d) Lavar en agua corriente por 10 minutos.
- e) Se procede directamente al montaje (Mc Guinnis 1981) con gelatina glicerizada preparada según la fórmula de Arius Worth (Weeks y Padhye

1982) proceso el cual no requiere la deshidratación de la muestra.

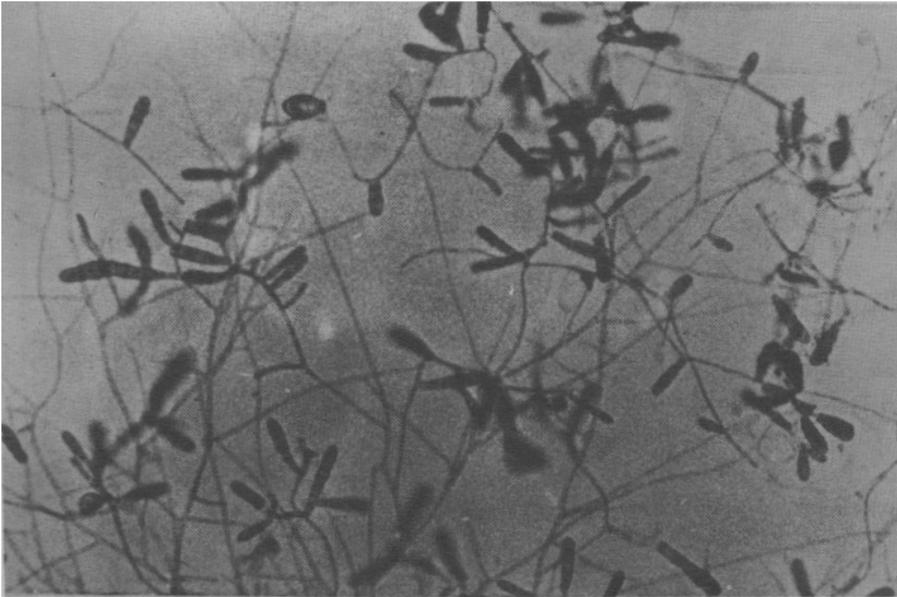
Otras coloraciones fueron ensayadas como son: Gram, Giemsa, Violeta de genciana y azul lactofenol.

RESULTADOS:

En las preparaciones finalmente obtenidas se pueden apreciar claramente las estructuras fructíferas del hongo, tiñéndose éstos más intensamente que las hifas, con la coloración de PAS, debido a la mayor concentración de polisacáridos que contienen.

El resto de las coloraciones empleadas no resultan tan óptimas, ya que dichos colorantes al lapso de varios días tiende a difundirse con el medio de gelatina.

En estos resultados se observa muy poca distorsión de las hifas, como es el colapsamiento de éstos, provocada mayormente por el proceso de deshidratación. Las microfotografías muestran los resultados obtenidos con la tinción de PAS.



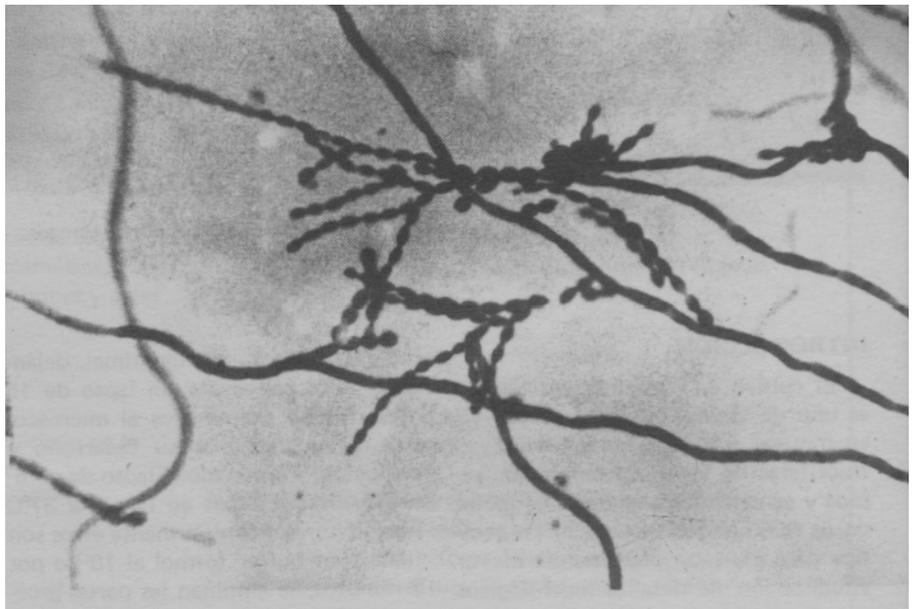
EPIDERMOPHYTON FLOCCOSUM: coloración PAS. 40 X.

CONCLUSIONES:

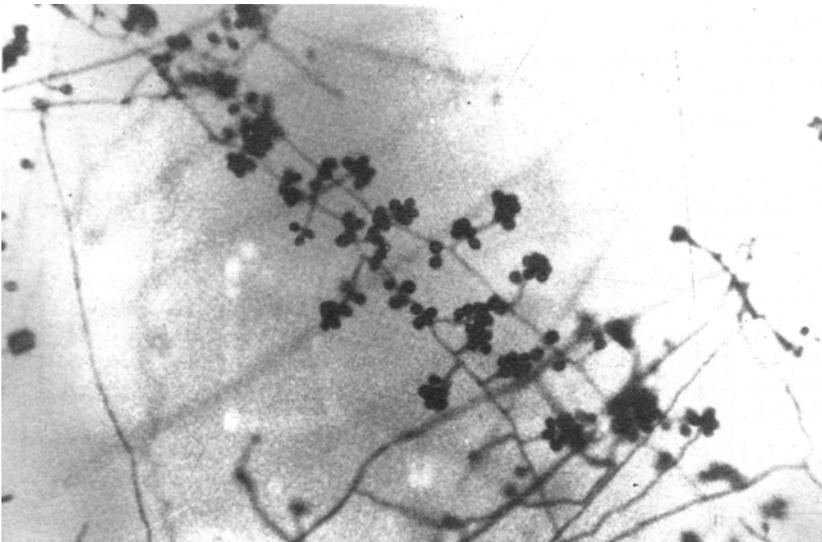
Este trabajo es una combinación de las técnicas de coloración y montaje aplicados por Borelli y Alemán (1959), Wicks y Padye (1982), refiriéndose los primeros a la coloración del cultivo y los segundos al montaje.

La coloración de PAS tiene la ventaja de ser un procedimiento rápido, sencillo y específico para hongos, lo que permite la apreciación de diferentes estructuras de una célula de acuerdo a la variación de su contenido polisacárido. A su vez el montaje en gelatina evita alteraciones debido al proceso de deshidratación de la muestra.

Los cultivos con el montaje, una vez solidificado pueden ser guardados durante años sin el riesgo de resequedad y daño.



CLADOSPORIUM CARRIONI: coloración PAS. 40 X.



BIBLIOGRAFIA

RIVALIER, E. y SERDEL, S.: Nouveau procédé de culture sus james gélosees appliquées a létude microscopisue des champignons desteignes. Ann. Pasas X: 444-452. C.R.C.B. CX: 181, 1932.

McGUINNIS, M. K.: Laboraaoy Handbook of Medical Mycology, Acaoemic Press, London, Cap. 2 pág. 57, 1980.

WEEKS, K. J. y PADHYE, A.A.: A mounting medium for permanent pareparations of microfungi, Mykosen 25: 702-704, 1980.

BORELLI, D. y ALEMAN, C.: Micocultivos en láminas coloreados según los métodos de PAS y Gomori - Grodtt. Dermatología Venezolana. Vol. 1, No. 4, págs. 339-346, 1959.

SPOROTHRIX SCHENCKII:
coloración PAS. 40 X.