

Cultivo con *Citobrush*: un método para el diagnóstico de onicomycosis en personal militar mexicano

Culture with cytobrush –a method for onychomycosis diagnosis in soldiers of the Mexican Army

*Diana Suguey Vera Izaguirre, *Zynthia Salinas Camacho, **Pablo César González Sánchez, ***Ramón F. Fernández Martínez, ***Roberto Arenas.

*Secretaría de Marina, Armada de México, Clínica Naval Cuernavaca, DF.

**Práctica privada.

***Sección de Micología, Hospital General Dr. Manuel Gea González, SSA.

Fecha de aceptación: abril 2011

RESUMEN

ANTECEDENTES: las onicomycosis representan de 0.5 a 13% de las enfermedades de la piel. De 71 a 85% son causadas por *Trichophyton rubrum*. La sensibilidad del examen directo es de 92%, y del cultivo, 82%. Sin embargo, el número de pacientes con examen directo positivo y cultivo negativo es elevado, con tasas de crecimiento de 29%; el cultivo confirma las micosis superficiales en 5 a 15% adicional en el caso de pacientes con examen directo negativo. No existen antecedentes del uso del *Citobrush* para el diagnóstico de onicomycosis.

OBJETIVOS: evaluar la técnica del *Citobrush* (CT) para el diagnóstico de onicomycosis de los pies y determinar su frecuencia en personal militar de la Armada de México.

MATERIAL Y MÉTODO: estudio descriptivo, abierto, observacional, prospectivo y transversal. El análisis de datos se realizó con estadística descriptiva.

RESULTADOS: se incluyeron 92 pacientes, todos del sexo masculino, con un rango de edad de 18 a 48 años de edad (media de 26.1). Presentaron datos clínicos de onicomycosis 28 (30.4%); 10 (10.8%) tuvieron cultivo positivo; 22 (23.9%) pacientes sin alteraciones ungueales tuvieron cultivo positivo. El agente aislado más frecuente fue *Candida* spp, con 25 casos (78.1% de los cultivos), seguido por *Trichophyton* spp, con 10 casos (31.2%). En 1 caso se aisló *Acremonium* spp (3.1%).

CONCLUSIONES: la técnica del *Citobrush* fue útil para el diagnóstico de onicomycosis y permitió identificar un número elevado de portadores asintomáticos.

PALABRAS CLAVE: onicomycosis, técnica del *Citobrush* (CT), cultivo, militares.

ABSTRACT

BACKGROUND: Onychomycosis represents 0.5 to 13% of skin diseases. 71 to 85% are caused by *Trichophyton rubrum*. The sensitivity with KOH is 92%, and for the culture is 82%. However, the number of patients with positive direct examination and a negative culture is high (29%), and culture can also confirm an additional 5 to 15% of superficial fungal infections with a negative KOH. To our knowledge there is no data using *Citobrush* in cultures.

OBJECTIVES: To evaluate the use of *Citobrush* (CT) for diagnosis of onychomycosis of the feet, and also to determine its frequency in the military personnel in Mexico City.

MATERIAL AND METHOD: Descriptive, open, observational, prospective and transversal study. Data analysis was performed using descriptive statistics.

RESULTS: 92 males were included, with an age range from 18-48 (mean age 26.1). We found clinical data of onychomycosis in 28 (30.4%), 10 (10.8%) had positive cultures; 22 (23.9%) patients without nail changes had a positive culture. The most common isolated agent was *Candida* spp with 25 cases (78.1%), followed by *Trichophyton* spp, with 10 cases, 31.2%. In 1 case (3.1%) *Acremonium* spp was isolated.

CONCLUSIONS: *Citobrush* technique is useful for the diagnosis of onychomycosis and also for identifying a large number of asymptomatic carriers.

KEYWORDS: Onychomycosis, *Citobrush* technique, culture, soldiers.

CORRESPONDENCIA

Diana Suguey Vera Izaguirre ■
Médica Sur. Puente de Piedra #50, Torre 2-319, Col. Toriello Guerra, Del. Tlalpan, CP 14050, México DF.

Introducción

Las dermatofitosis son un conjunto de micosis superficiales que afectan la piel en el nivel del estrato córneo y sus anexos (uñas y pelos), y son causadas por un grupo de hongos parásitos de la queratina, denominados dermatofitos. Las dermatofitosis pueden ser originadas por hongos de tres géneros: *Trichophyton*, *Microsporum* y *Epi-dermophyton*.¹⁻²

Las onicomycosis representan la más frecuente de las enfermedades de las uñas, constituyendo la mitad de todas las anomalías ungueales y un tercio de todas las infecciones micóticas de la piel. Cobra importancia en ciertos grupos, como deportistas, soldados y escolares, quienes además pueden propagar la enfermedad por el uso común de baños, o por fomites como toallas.¹⁻⁵ La frecuencia de onicomycosis es alta en países desarrollados, reportándose rangos entre 3 y 8%, dependiendo de la población examinada, y se incrementa con la edad.^{3,6-9} Las onicomycosis de los pies son de 4 a 7 veces más frecuentes que las de las manos. Un tercio de los pacientes con onicomycosis presenta, además, tiña de los pies.⁹ Puesto que solo 50% de las distrofias ungueales son de origen micótico, se requiere el examen micológico para su confirmación. El diagnóstico de laboratorio es sencillo, aunque se requiere de experiencia. Se realiza por medio de exámenes directos con hidróxido de potasio al 10-30%, solo o con dimetilsulfóxido y/o negro de clorazol con microscopía óptica. Los cultivos son confirmatorios, permitiendo también la adecuada identificación del hongo responsable, el monitoreo del tratamiento y la aseguración de la cura micológica.¹⁰ Se puede errar en el resultado por una técnica inadecuada en la obtención de la muestra, o bien por confusión en la interpretación visual del examen por efecto de artefactos. Posteriormente, se realiza el cultivo en medio de agar Sabouraud, que preferentemente debe estar adicionado con un antibiótico (el más utilizado es el cloranfenicol) y un antifúngico (cicloheximida), para evitar el crecimiento de bacterias u hongos contaminantes. El material se inocula en el medio de cultivo con un asa estéril, aunque pueden utilizarse materiales como abatelenguas, hisopos o cepillos igualmente estériles. Ocasionalmente, se realizan pruebas bioquímicas o biopsia.¹¹⁻¹³

Objetivo

Evaluar la técnica del *Citobrush* (TC) para el diagnóstico de onicomycosis de los pies de personal militar y determinar su frecuencia en dicha población.

Material y método

Se trata de un estudio descriptivo, abierto, observacional, prospectivo y transversal en el personal militar (infantería) que acudió a la sección sanitaria del 27º Batallón de Infantería de Marina de la Armada de México, durante el mes de noviembre del 2009, y que dio su consentimiento para participar en el estudio. Las muestras se procesaron en la Sección de Micología, División de Dermatología del Hospital General Dr. Manuel Gea González, SSA.

Fueron evaluadas las siguientes variables: edad, sexo y uso de antifúngicos orales y tópicos.

Cada paciente fue sometido a una exploración dermatológica exhaustiva de pies y uñas. Se tomó una muestra con *Citobrush* a todos los participantes, con o sin manifestaciones clínicas sugestivas de onicomycosis.

La técnica del *Citobrush* consiste en frotar vigorosamente toda la uña. Posteriormente, se inocula la muestra, frotando suavemente y de forma rotatoria en la superficie del medio de cultivo. Se empleó medio de Sabouraud con antibióticos.

Los cultivos se mantuvieron a temperatura ambiente y se revisaron cada dos semanas. El cultivo se determinó positivo cuando se observó el crecimiento de una colonia fúngica, clasificable como causal de la patología por sus características macro y microscópicas. El análisis de la información se realizó con estadística descriptiva.

Resultados

Se incluyeron en el estudio un total de 92 individuos, todos del sexo masculino. El rango de edad fue de 18 a 48 años, con una media de 26.1 años.

De los pacientes estudiados, 100% utilizaban calzado cerrado tipo bota por más de 15 horas al día.

En 7.6% de los pacientes estudiados se encontraron datos sugestivos de tiña de los pies. Tres pacientes refirieron ingesta de antimicóticos orales y 21.7% usaba antimicóticos tópicos como terbinafina, clotrimazol, miconazol y ketoconazol.

De la población estudiada, 56.5% refirió el uso de diferentes tipos de talcos para pies de marcas comerciales, como tratamiento preventivo de micosis, con almidón de maíz, estearato de zinc, triclosán, cloruro de benzalconio, dióxido de silicio, ketoconazol y tonalftato.

De acuerdo con las manifestaciones clínicas y su confirmación mediante la siembra de cultivo con la técnica del *Citobrush*, los pacientes se clasificaron en cuatro grupos:

- I. Sanos: sin manifestaciones clínicas y cultivo negativo, 42 (45.6%).

2. Sin correlación clínico-patológica: con manifestaciones clínicas y cultivo negativo, 18 (19.5%).
3. Portadores: sin manifestaciones clínicas y cultivo positivo, 22 (23.9%).
4. Enfermos: con manifestaciones clínicas y cultivo positivo, 10 (10.8%) (cuadro 1).

A la exploración dermatológica se encontró que 28 pacientes (30.4%) presentaron datos clínicos de onicomiosis, distribuidos de la siguiente manera en los grupos 2 y 4 respectivamente: engrosamiento ungueal, 25 pacientes, 16 (88.8%) y 9 casos (90%); onicomiosis subungueal distal, 23 pacientes, 14 (77.7%) y 9 casos (90%); el pie izquierdo fue el más afectado, con 24 pacientes, 14 (77.7%) y 10 casos (100%); y el primer ortejo, 23 pacientes, 13 (72.2%) y 10 casos (100%).

Los agentes aislados en los cultivos positivos fueron:

- a) 25 *Candida* (78.1%): *Candida* spp 15 (60%), *C. glabrata* 8 (32%), *C. krusei* 1 (4%), *C. albicans* 1 (4%).

La distribución por grupos fue la siguiente:

- Grupo 3. *Candida* spp 18 (72%): *Candida* sp 10, *C. glabrata* 6, *C. krusei* 1, *C. albicans* 1.
- Grupo 4. *Candida* spp 7 (28%): *Candida* sp 5, *C. glabrata* 2.
- b) *Trichophyton* spp 10 (31.2%): *T. rubrum* 9 (90%), *T. mentagrophytes* 1 (10%).

La distribución por grupos fue:

- Grupo 3. *Trichophyton* spp 7 (70%): *T. rubrum* 6, *T. mentagrophytes* 1.
- Grupo 4. *T. rubrum* 3 (30%).
- c) *Acremonium* sp 1 (3.1%) (cuadro 2).

Cuadro 1. Características clínicas. **Grupo 1:** sin manifestaciones clínicas y cultivo negativo. **Grupo 2:** con manifestaciones clínicas y cultivo negativo. **Grupo 3:** sin manifestaciones clínicas y cultivo positivo. **Grupo 4:** con manifestaciones clínicas y cultivo positivo. AHF: antecedentes heredo-familiares; APNP antecedentes familiares no patológicos; OH: alcoholismo; APP: antecedentes familiares patológicos; DM2: diabetes mellitus tipo 2.

VARIABLES	GRUPO 1	GRUPO 2	GRUPO 3	GRUPO 4
AHF-MICOSIS	4.7%	22.2%	18.1%	0%
APNP-OH	40.4%	50%	22.7%	70%
APP-DM2	2.3%	0%	0%	0%
Tiña del pie	7.1%	5.5%	4.5%	10%
Onicocriptosis	0%	5.5%	4.5%	0%
Tilomas	0%	5.5%	4.5%	10%
Queratolisis punteada	2.3%	0%	4.5%	0%
Tratamientos previos con antimicóticos	42.6%	94.2%	81.5%	100%

Cuadro 2. Agentes etiológicos aislados. Grupo 3: sin manifestaciones clínicas y cultivo positivo. Grupo 4: con manifestaciones clínicas y cultivo positivo.

AGENTE	GRUPO 3	GRUPO 4	TOTAL
<i>Candida</i> spp	18 (56.2%)	7 (21.8%)	25 (78.1%)
<i>Candida</i> sp	10	5	15
<i>Candida glabrata</i>	6	2	8
<i>Candida krusei</i>	1	0	1
<i>Candida albicans</i>	1	0	1
<i>Trichophyton rubrum</i>	6 (18.75%)	3 (9.3%)	9 (28%)
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	1 (10%)	0	1 (3.1%)
<i>Acremonium</i> sp	1 (3.1%)	0	1 (3.1%)

En 4 casos del grupo 3 se encontraron hongos dermatofitos y levaduras.

Discusión

Las dermatofitosis continúan siendo un problema de salud en el nivel mundial. Tanto las condiciones climáticas como la prevalencia individual de los agentes etiológicos han ayudado a definir el patrón actual de las tiñas en diferentes localidades.¹⁴ Su prevalencia en nuestro país se reporta desde 3 a 51%, dependiendo de la región corporal afectada.¹ Tres diferentes estudios sobre la frecuencia de onicomycosis, tiña de los pies y candidosis en un hospital de la Ciudad de México,¹⁵⁻¹⁸ ha demostrado que la frecuencia de las enfermedades micóticas superficiales se han incrementando en la última década, tanto las causadas por dermatofitos como las causadas por mohos no dermatofitos.¹⁵ En nuestro estudio no encontramos enfermedades asociadas, solo un paciente presentaba diabetes mellitus tipo 2 y no tuvo alteraciones ungueales. Hay que hacer notar que todos los pacientes eran jóvenes, con promedio de edad de 26 años. Nuestros resultados muestran que alrededor del 30.4% del personal militar de infantería se tenía sospecha clínica de infección micótica ungueal y, sin embargo, solo 10.8% de ellos tuvieron un estudio micológico positivo que confirmara diagnóstico. Quizá la colocación de múltiples talcos que contienen antisépticos y fungicidas influyó en que el resto de los cultivos resultaran negativos, incluso con datos clínicos. Nuevamente, se demostró que el dermatofito más frecuente en las onicomycosis es *T. rubrum* (31.2%).

Las infecciones por *Candida* en la piel y en las membranas mucosas son comunes en pacientes inmunocomprometidos.¹⁵⁻¹⁸ La invasión ungueal por *Candida* sp sugiere generalmente un estado de inmunosupresión subyacente, en especial diabetes mellitus.^{15,19} De los 25 casos de nuestro estudio que tuvieron colonización por levaduras, 7 se consideraron enfermos (*Candida* spp 5, *C. glabrata* 2), y 18 portadores (*Candida* spp 10, *C. glabrata* 6, *C. krusei* 1, *C. albicans* 1). En todos estos casos, seguramente influyó la humedad causada por la oclusión debida al uso de botas. En 7.6% del total de pacientes estudiados se apreció clínicamente la presencia de tiña de los pies, que se considera un factor predisponente de onicomycosis. Se ha demostrado que la coexistencia de onicomycosis y tiña de los pies es más prevalente en el género masculino.^{3,20-22} En diversas publicaciones se ha destacado el elevado número de exámenes micológicos negativos en pacientes con dermatofitosis,^{14,23} con una sensibilidad para el examen directo de 92%, y del cultivo de 82%.²⁴ Sin embargo, el número de pacientes con examen directo positivo y cultivo negati-

vo es elevado: se han reportado tasas de crecimiento tan bajas como 29%.²⁵ Se calcula que el cultivo confirma las micosis superficiales en 5 a 15% adicional en el caso de pacientes con examen directo negativo.¹³ El diagnóstico clínico sin confirmación con análisis de laboratorio produce una sobreestimación del problema, como han podido evidenciarlo varios estudios.¹⁴ Con base en estas cifras de cultivos falsos negativos se planteó el presente estudio para determinar la eficacia de la técnica del *Citobrush* en el diagnóstico de la onicomycosis, que se ha empleado en el diagnóstico de otras micosis superficiales. El *Citobrush* se ha usado también para citología exfoliativa de la mucosa oral.²⁶ Hay estudios que han evaluado la eficacia del *Citobrush* en el diagnóstico de tiñas de la cabeza,^{27,28} resultando superior al método estándar con obtención de la muestra por raspado.²⁸

Conclusiones

De comprobarse su eficacia en estudios de casos y controles, en los que se pueda determinar la sensibilidad y especificidad de la técnica, las implicaciones son importantes, ya que este método ahorra tiempo, evita hasta cierto punto la contaminación de los cultivos, y podría implementarse en cualquier consultorio dermatológico institucional o privado. La utilización del *Citobrush* es una técnica sencilla, rápida e inocua para el paciente. Ofrece ventajas, como no requerir un equipo sofisticado, el entrenamiento para su adecuada realización es mínimo, y su costo es bajo.

Agradecimientos:

Cap. Frag. IM. P DEM. Comandante Miguel Ángel Castro Gómez, Capitán Héctor Américo García Bautista, Tte. Frag. MCN. P. Lizbeth Chávez Valdez, pertenecientes al 23° Batallón y Clínica Naval Cuernavaca de la Secretaría de Marina, Armada de México.

REFERENCIAS

1. Arenas R. *Micología Médica Ilustrada*, 3ª ed. México, Mc Graw Hill 2008: 61-94.
2. Bonifaz A. *Micología Médica Básica*, 2ª ed. México, Méndez-Cervantes 2000: 35-62.
3. Szepietowski JC, Reich A, Garlowska E, Kulig M, Baran E. "Factors influencing coexistence of toenail onychomycosis with tinea pedis and other dermatomycoses". *Arch Dermatol* 2006; 142: 1279-1284.
4. Hay RJ, Baran R, Haneke E. Chapter 4. "Fungal (Onychomycosis) and other infections involving the nail apparatus". En Baran R, Dawber RR. *Diseases of the Nails and Their Management*. Oxford, England, Blackwell Science 1994: 97-122.
5. Sikora M, Pachotek T, Soter K, Szepietowski J. "Analysis of fungal skin and skin appendages infections in the region of Wrocław in the years 1995-1999". *Mikol Lek* 2000; 7: 145-151.

6. Roberts DT. "Prevalence of dermatophyte onychomycosis in the United Kingdom: results of an omnibus survey". *Br J Dermatol* 1992; 126: 23-37.
7. Heikkilä H, Stubbs S. "The prevalence of onychomycosis in Finland". *Br J Dermatol* 1995; 133: 699-701.
8. Gupta AK, Jain HC, Lynde CW, Watteel GN, Summerbell RC. "Prevalence and epidemiology of unsuspected onychomycosis in patients visiting dermatologists' offices in Ontario, Canada: a multicenter survey of 2001 patients". *Int J Dermatol* 1997; 36: 783-787.
9. Szepletowski JC. "Onychomycosis: prevalence of clinical types and pathogens". En: Kushwaha RS. *Fungi in Human and Animal Health*, Jodhpur, India, Scientific Publishers 2004: 39-54.
10. Rippon JW. *Medical mycology. The pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes*. 3ª ed. Philadelphia, Saunders 1988: 187-296.
11. Crespo V, Crespo A, Vera A. "Diagnóstico de laboratorio de las dermatofitosis". *Monografías de Dermatología* 1997; VI (6): 362-374.
12. Castillo Daudí V, Castillo Daudí M. "Técnicas de diagnóstico en micología cutánea". *Piel* 1988; 3: 44-49.
13. Head E. "Laboratory diagnosis of the superficial fungal infections". *Dermatol Clinics* 1984; 2(1): 93-108.
14. Das S, Goyal R, Bhattacharya SN. "Laboratory-based epidemiological study of superficial fungal infections". *J Dermatol* 2007; 34(4): 248-253.
15. Lacy Niebla RM, Guevara S, Arenas R. "Micosis superficiales en pacientes oncológicos. Estudio en 98 pacientes." *Med Cut Iber Lat Am* 2007; 35(2): 83-88.
16. Arenas R, Ocejó D. "Onicomicosis: frecuencia actual en un departamento de dermatología de la Ciudad de México". *Dermatología Rev Mex* 1997; 41: 171-175.
17. Leyva J, Méndez P, Arenas R. "Pie de atleta. Datos actuales sobre su causa en la Ciudad de México." *Dermatología Rev Mex* 1998; 41: 58-62.
18. Aristimuño M, Arenas R. "Candidosis. Experiencia en un servicio de dermatología." *Dermatología Rev Mex* 1998; 42: 190-194.
19. Daniel CR, Gupta AK, Daniel MP, Sullivan S. "Candida infection of the nail: role of *Candida* as a primary or secondary pathogen". *Int J Dermatol* 1998; 37: 904-907.
20. Roseeuw D. "Achilles foot screening project: preliminary results of patients screened by dermatologists". *J Eur Acad Dermatol Venereol* 1999; 12(suppl 1): S6-S9.
21. Ungpakorn R, Lohapraphan S, Reangchainam S. "Prevalence of foot diseases in outpatients attending the Institute of Dermatology, Bangkok, Thailand". *Clin Exp Dermatol* 2004; 29: 87-90.
22. Ogasawara Y, Hiruma M, Muto M, Ogawa H. "Clinical and mycological study of occult tinea pedis and tinea unguium in dermatological patients from Tokyo". *Mycoses* 2003; 46: 114-119.
23. Garzón R, Carballo M, Del Valle E, Cipitelli L. "La importancia de la preparación del paciente en el examen micológico de laboratorio". *Rev Iberoam Micol* 1988; 15: 307-308.
24. Crespo V, Casañas C, Ojeda A. "Papel de examen directo en el diagnóstico de las dermatomicosis". *Actas Dermosifilogr* 1997; 88: 671-675.
25. Kemna M, Elewasaki B. "A US epidemiologic survey of superficial fungal diseases". *J Am Acad Dermatol* 1996; 35: 539-542.
26. Jones AC, Pink FE, Sandow PL, Stewart CM, Migliorati CA, Baughman RA. "The Cytobrush Plus cell collector in oral cytology". *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994; 77 (1): 95-99.
27. Fuller LC. "Changing face of tinea capitis in Europe". *Curr Opin Infect Dis* 2009; 22(2): 115-118.
28. Bonifaz A, Isa-Isa R, Araiza J, Cruz C, Hernández MA y Ponce RM. "Cytobrush-culture method to diagnose tinea capitis". *Mycopathologia* 2007; 163(6): 309-313.