

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DELEGACION SUR DEL DISTRITO FEDERAL
UMAE CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES "DR. BERNARDO SEPÚLVEDA"
SERVICIO DE DERMATOLOGÍA Y MICOLOGÍA MÉDICA**

**UTILIDAD DE LA BIOPSIA DE UÑA MEDIANTE *NAIL CLIPPING*
EN EL DIAGNÓSTICO DE ONICOMICOSIS**

**TESIS DE POSGRADO
PARA OBTENER DIPLOMA DE ESPECIALIDAD EN DERMATOLOGÍA**

**PRESENTA:
Dra. Diana Edith Fernández Madinaveitia**

**ASESORES:
Dr. Alfredo Arévalo López
Dr. Luis Javier Méndez Tovar**

MÉXICO, D.F. – 2012



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI
U.M.A.E. HOSPITAL DE ESPECIALIDADES “DR. BERNARDO SEPÚLVEDA”
SERVICIO DE DERMATOLOGÍA Y MICOLOGÍA MÉDICA

TESIS

**UTILIDAD DE LA BIOPSIA DE UÑA MEDIANTE *NAIL CLIPPING*
EN EL DIAGNÓSTICO DE ONICOMICOSIS**

AUTORIZACIÓN DEL PROTOCOLO

No. de registro

R-2012-3601-90

PARTICIPANTES:

Dr. Alfredo Arévalo López, Servicio de Dermatología y Micología Médica; Dr. Luis J. Méndez Tovar, Laboratorio de Investigación Médica en Dermatología y Micología; Dra. Diana Edith Fernández Madinaveitia, Residente de 5º año de la Especialidad en Dermatología, Servicio de Dermatología y Micología Médica; Dra. Luz María Gómez Jiménez, Servicio de Anatomía Patológica

Hospital de Especialidades “Dr. Bernardo Sepúlveda”, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.

Junio 2012



Dra. Diana Graciela Ménez Díaz
Jefe del Departamento de Educación en Salud
HE "Dr. Bernardo Sepúlveda". Centro Médico Nacional Siglo XXI



Dra. Adriana Elizabeth Anides Fonseca
Profesor titular del curso de Dermatología y Micología Médica
HE "Dr. Bernardo Sepúlveda". Centro Médico Nacional Siglo XXI



Dr. Alfredo Arévalo López
Asesor de Tesis
Médico Adscrito al Servicio de Dermatología y Micología Médica y
Profesor Adjunto del Curso de la Especialidad.
HE "Dr. Bernardo Sepúlveda". Centro Médico Nacional Siglo XXI



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS
Unidad de Educación, Investigación y Políticas de Salud
Coordinación de Investigación en Salud

Dictamen de Autorizado

Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud 3601

HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DR. BERNARDO SEPULVEDA GUTIERREZ, CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGUET XXI, D.F. SUR

FECHA 25/06/2012

DR. ALFREDO ARÉVALO LÓPEZ

P R E S E N T E

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título:

Utilidad de la biopsia de uña mediante nail clipping en el diagnóstico de onicomicosis

que usted sometió a consideración de este Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A U T O R I Z A D O**, con el número de registro institucional:

Núm. de Registro
R-2012-3601-90

ATENTAMENTE

DR. CARLOS FREDY CUEVAS GARCÍA

Presidente del Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud No. 3601

IMSS

AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirme culminar con éxito este proyecto.

A mis padres y hermanos por su apoyo incondicional durante toda mi vida.

A mi muy querido y estimado MAESTRO Dr. Arévalo por sus enseñanzas en el día a día con el paciente lo cual ha marcado de forma importante mi formación como Dermatóloga, por su calidez humana y sin él no se podría haber llevado a cabo el presente trabajo.

A la Dra. Anides, Jefa del Servicio de Dermatología por su apoyo y confianza brindada durante el desarrollo de mi especialidad dentro y fuera del aula.

A la Dra. Serrano, Dr. Vázquez y Dr. Blancas por impulsarme a seguir adelante en este camino y de los cuales tengo un gran ejemplo a seguir.

A la Dra. Gómez y Dr. Méndez por formar parte de mi aprendizaje durante la residencia, además de su colaboración en esta investigación.

Al Dr. Baldomero González por su colaboración en el análisis estadístico.

Al QFB Israel Silva González por su ayuda valiosa en el procesamiento de las muestras.

A mis compañeras de residencia por su amistad, apoyo y consejos durante estos tres años inolvidables de mi vida.

A todos los pacientes que participaron en este protocolo.

Al Centro Médico Nacional Siglo XXI, me siento muy orgullosa de ser egresada de esta gran institución.

INDICE

Antecedentes

1.1	Aspectos generales	1
1.2	Agentes Causales	3
1.3	Patogenia	4
1.4	Formas clínicas	5
1.5	Diagnóstico	9
1.6	Tratamiento	12

Utilidad de la biopsia de piel por nail clipping en onicomicosis

2.1	Planteamiento del problema	16
2.2	Justificación	16
2.3	Hipótesis	17
2.4	Objetivos	17
2.5	Material y métodos	18
	2.5.1 Diseño del estudio	18
	2.5.2 Universo de trabajo	18
	2.5.3 Selección de la muestra	18
	2.5.4 Procedimiento	19
2.6	Análisis estadístico	20
2.7	Recursos	21
2.8	Consideraciones éticas	21
	Resultados	22
	Discusión	24
	Conclusiones	27
	Anexos	28
	Bibliografía	37

ABREVIATURAS

VIH	Virus de inmunodeficiencia adquirida
PCR	Reacción en cadena de polimerasa
DNA	Acido desoxirribonucleico
KOH	Hidróxido de potasio
PAS	Ácido periódico de Schiff
Spp	Especie

ANTECEDENTES

1.1 ASPECTOS GENERALES

La onicomycosis es un padecimiento común y representa el 50% de las causas de onicopatía. El resto corresponde a diversas causas entre las cuales se encuentran (i) enfermedades inflamatorias como psoriasis, liquen plano, liquen estriado y alopecia areata; (ii) condiciones por traumatismo debido a manipulación cosmética por manicure o pedicure, o por el uso de calzado; (iii) tumores como exostosis subungueal, enfermedad de Bowen y carcinoma epidermoide, melanoma, queratoacantoma subungueal; (iv) enfermedades ampollas autoinmunes entre las que podemos mencionar pénfigo, penfigoide ampolloso, epidermólisis ampollas adquirida y dermatitis herpetiforme; (v) otras enfermedades infecciosas como verrugas virales, paroniquia crónica; (vi) genodermatosis como epidermólisis ampollas, enfermedad de Darier; (vii) enfermedades sistémicas como amiloidosis, diabetes, enfermedad tiroidea, porfiria, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y síndrome de uñas amarillas; (viii) síndromes paraneoplásicos como acroqueratosis de Bazex; (ix) colagenopatías, lupus eritematoso, esclerodermia; (x) deficiencias nutricionales; (xi) y onicopatías por medicamentos, tetraciclinas, citostáticos (taxanos) como 5-fluorouracilo, retinoides y antirretrovirales.^{1,14,21} A pesar de la diversidad de causas que no corresponden a infección micótica, es probable que exista una tendencia para sobrediagnosticar onicomycosis.

La onicomycosis tiene una distribución mundial, con una prevalencia que varía del 2–50% en la población general de adultos.^{5,15,17} Se presenta en hombres y mujeres con un ligero predominio en el sexo masculino, que en algunas series

puede mostrar una proporción hasta de 3:1.²⁵ Además de las diferencias en la frecuencia se ha encontrado que en los hombres predomina la afección en los pies, mientras que en las mujeres se observa una mayor frecuencia de onicomycosis de las manos.²⁴ Esta diferencia puede estar determinada por la ocupación. Aunque el grupo etario más afectado es entre los 20–40 años, su incidencia ha aumentado en otros grupos en forma reciente debido a factores como una mayor longevidad de la población general, de manera que 30-60% de los pacientes son mayores de 60 años.^{3,21} En el desarrollo de este problema existen factores predisponentes como la humedad, el calor, el uso de calzado cerrado o de material sintético, higiene deficiente, un conviviente afectado, traumatismo ungueal repetitivo, predisposición genética; así como ciertas enfermedades: diabetes, obesidad, atopia, insuficiencia arterial y venosa, infección por VIH, intertrigo y otras condiciones de inmunosupresión como uso prolongado de corticoesteroides sistémicos y otras formas de terapia inmunosupresora.^{3,15,17,21} Por otra parte se han descrito grupos de población donde es más frecuente el problema como deportistas, militares y mineros.

1.2 AGENTES CAUSALES

La onicomycosis es una infección de la lámina ungueal, que puede ser causada por tres grandes grupos de hongos: dermatofitos, levaduras y hongos miceliales no dermatofitos (mohos). La infección por dermatofitos representa entre el 50 al 82% de los casos y afecta con mayor frecuencia los pies, siendo los géneros más

frecuentes: **Trichophyton** (especies **rubrum**, y **mentagrophytes**), **Epidermophyton** (especie **floccosum**) y **Microsporum**. La frecuencia de aislamiento de estas especies se ha reportado entre 29-60%, 13-20% y 1.2-10%, respectivamente.^{3,15,19} De los otros grupos de agentes causales, las levaduras se han identificado con una frecuencia del 9-27%, y representan la causa más común de onicomycosis de las manos. Las especies del género **Candida** son las más comunes. Durante muchos años, **Candida albicans** ha sido la levadura más frecuente causante de onicomycosis en las manos de mujeres adultas; sin embargo, en las dos últimas décadas, se ha observado un cambio en las especies, destacando un incremento en **Candida parapsilosis**, seguida de **C. albicans**. El porcentaje de aislamiento es de 31.9% y 22.4% respectivamente. Otras especies de este género son **C. guilliermondii**, **C. famata** y **C. tropicalis**.²⁴ En tercer lugar, dentro de los agentes causales de onicomycosis, se encuentra el grupo de los hongos miceliales no dermatofitos o mohos, con una frecuencia del 2-8%, representados por **Scopulariopsis**, **Scytalidium hyalinum**, **Fusarium** y **Aspergillus spp**, siendo este último el de mayor prevalencia. Este grupo de hongos se ha aislado con mayor frecuencia en algunas regiones de Asia y Africa.^{3,4,6,14,20}

1.3 PATOGENIA

En la fase inicial de la infección los hongos se adhieren al estrato córneo de la epidermis, donde se producen la germinación e invasión micóticas de los

queratinocitos; la infección se mantiene confinada a ese estrato en la piel y en los anexos, y sólo en forma excepcional alcanza el estrato granuloso. En la colonización micótica los microorganismos producen una serie de mediadores enzimáticos que actúan como factores de virulencia: queratinasas o proteasas, que digieren la queratina y hacen posible la liberación de antígenos fúngicos (glucoproteínas); y elastasas que promueven la diseminación del microorganismo.¹¹

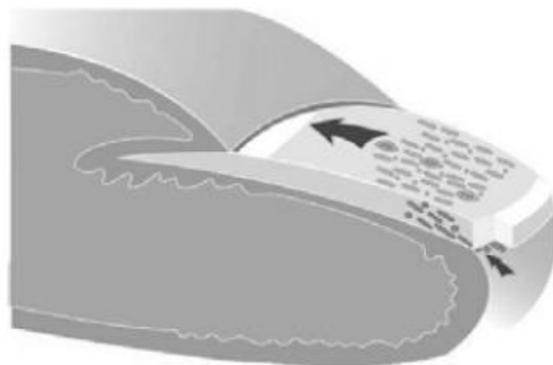
El grado de respuesta del hospedero depende de dos factores: (1) De la especie del hongo causal. Se ha observado que las cepas de morfología granular tienen una producción alta de enzimas, mientras que algunas cepas producen sustancias que eliminan las bacterias adyacentes y se sabe que la producción de artroconidios se relaciona con la forma parasitaria del hongo. (2) Del grado de hipersensibilidad del huésped a los productos metabólicos del hongo.²⁶

1.4 FORMAS CLÍNICAS

La onicomycosis puede afectar las manos y los pies y se manifiesta por diversas alteraciones ungueales como hiperqueratosis subungueal, discromía, onicolisis, distrofia ungueal, cuyo predominio y distribución en la propia lámina originan diversas formas clínicas:

Distal y lateral subungueal: Es la forma más común, y en este caso el hiponiquio y el lecho ungueal se ven afectados, pudiendo alcanzar la matriz y ocasionar destrucción de la lámina ungueal. En estos sitios las uniones intracelulares son más flexibles que en la parte dorsal de la uña, y además la superficie ventral tiene

una estructura altamente irregular con surcos y crestas propiciando así un lugar ideal para la penetración de las hifas. Inicialmente la lámina está infectada pero luego se desarrolla hiperqueratosis subungueal adquiriendo un color amarillento o más oscuro. La uña se engruesa y se producen onicolisis y onicodistrofia.^{13,22} La histopatología muestra hiperqueratosis desde el hiponiquio hacia el lecho, y ahí se encuentran los hongos; y puede observarse un infiltrado linfocitario. La etiología más frecuente corresponde a dermatofitos, siendo los más comunes *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *T. tonsurans* y *Epidermophyton floccosum*; así como hongos miceliales no dermatofitos o mohos, *Scytalidium hyalinum*.^{3,20,21}

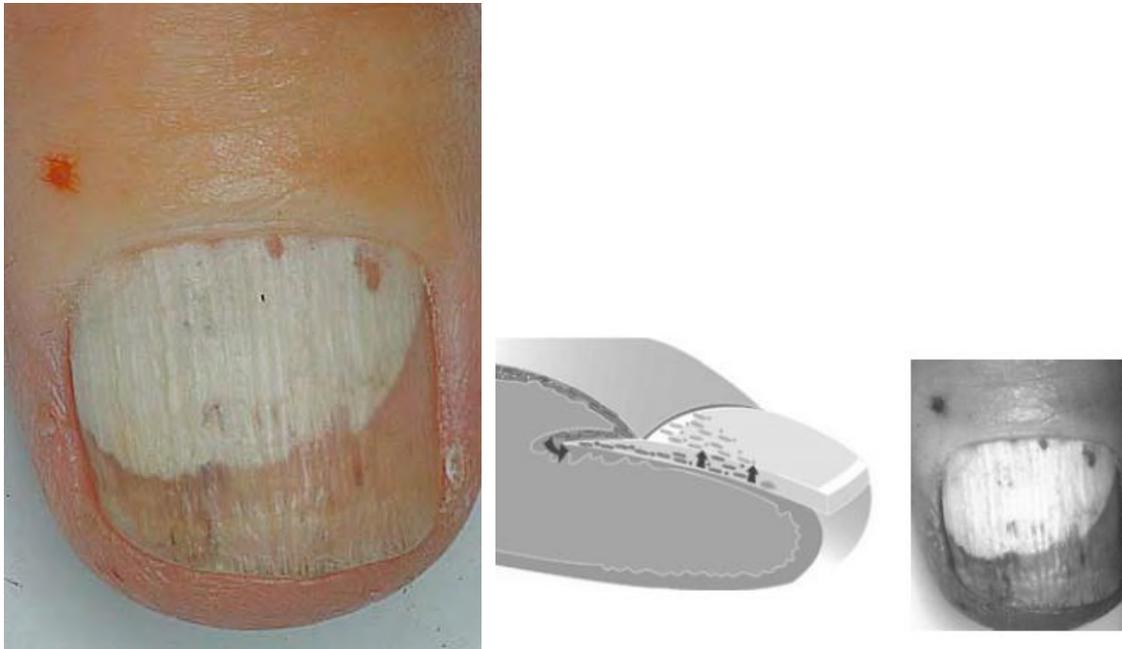


Blanca superficial: Se presenta con parches blancos, opacos y confluentes acompañada de un adelgazamiento de la lámina. Se observa un elevado número de hifas entre las capas de queratina, que habitualmente están deformadas con dilataciones. No se observan signos clínicos de inflamación y no se afectan la matriz ni el lecho ungueales. El agente etiológico más común es *T.*

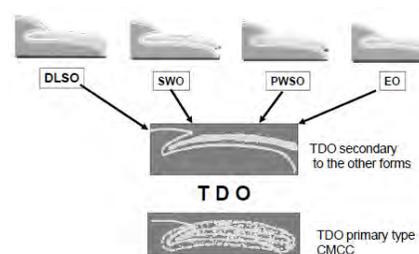
mentagrophytes (90% de los casos), y con menor frecuencia ***M. persicolor, Aspergillus, Fusarium*** y otros mohos.^{3,20}



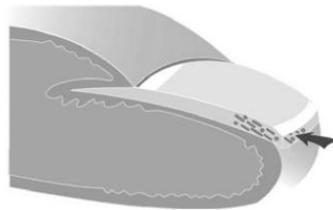
Subungueal proximal: Es una forma rara de onicomycosis producida por dermatofitos (principalmente ***T. rubrum***), ***fusarium, C. albicans, Aspergillus***.³ Los dermatofitos penetran inicialmente en la región del pliegue ungueal proximal, creando la apariencia de una infección que tiene su origen debajo de la cutícula ungueal. Esta forma clínica se hizo más frecuente con la aparición del sida.^{3,22} El aislamiento del hongo sólo es posible con una muestra que alcance la zona afectada para lo cual es necesario el uso de una fresa ungueal o una hoja de bisturí.²³



Distrófica total: Puede iniciarse en forma de onicomiosis subungueal distal, subungueal proximal o blanca superficial cuyo desarrollo lleva a la afección total de la uña, y en ese momento ya no es posible definir con certeza la forma clínica original. En esta variedad existe infección de toda la lámina ungueal que puede aparecer completamente destruida, incluyendo la afección de los pliegues proximal, lateral, el hiponiquio y el lecho ungueal. La matriz y el lecho presentan infiltración inflamatoria que impide el desarrollo normal de la uña. El agente etiológico habitual es *T. mentagrophytes*, que en las muestras puede presentarse con morfología atípica: dilataciones, grandes pseudohifas, etc.^{3,17,21}



Endonyx: Es poco frecuente, se considera una variedad de la forma subungueal distal pero sin onicolisis e hiperqueratosis. Hay afección de la lamina ungueal pero sin afectar el lecho. Se han aislado como agentes causales, *T. soudanense* y *T. violaceum* y se consideran que estos dos agentes tienen afinidad a las queratinas duras.²⁷



Todas estas anomalías ungueales son inespecíficas y no guardan una relación consistente con el agente causal, pueden presentarse en otras situaciones clínicas o padecimientos: traumatismo repetido, distrofias, psoriasis, y liquen plano entre otros. Por lo tanto, aunque los datos clínicos pueden ser sugestivos de onicomycosis no son suficientes para establecer un diagnóstico de certeza.^{1,3}

1.5 DIAGNÓSTICO

La confirmación del diagnóstico clínico de onicomycosis requiere la demostración de infección micótica y el aislamiento de un agente causal. Para este propósito existen diversos métodos: estudio micológico (examen directo con hidróxido de potasio [KOH] o tinción fluorescente de calcoflúor; y cultivo), biopsia de uña con

tinción de PAS o con metenamina de plata; y con menor frecuencia, estudios de inmunohistoquímica, PCR y el análisis del DNA ribosomal del hongo. Es un hecho reconocido que la identificación de microorganismos en las muestras de uña tiene limitaciones, debido a diversos factores tales como, la preparación de las uñas por analizar, la calidad y toma del espécimen, su manipulación y tinción, la visualización al microscopio, la técnica de siembra, el medio de cultivo, la experiencia del observador, el número y la viabilidad de organismos en la muestra y el tiempo de interpretación de resultados, entre otros.^{12,13 20}

Estudio micológico

De todos los métodos utilizados para el diagnóstico de onicomicosis, el estudio micológico ha sido el más utilizado en virtud de su relativa accesibilidad y de sus resultados, que lo han convertido en el estándar de oro.^{1,4} El examen directo con KOH de escamas de las uñas afectadas, consiste en realizar un raspado suave con una hoja de bisturí de la región subungueal por debajo del borde distal en donde se encuentra el área con hiperqueratosis. A la muestra obtenida se le agrega una gota de KOH que acelera la disolución de la queratina, posteriormente se somete a calentamiento, y con ello termina el proceso de preparación de la muestra y se procede a la identificación de estructuras micóticas por medio de su visualización al microscopio. Aunque el examen directo sólo permite identificar elementos o estructuras fúngicas, como los filamentos y las levaduras sin poder establecer género y especie, su demostración es suficiente para apoyar el

diagnóstico de onicomicosis, sin embargo, posee una sensibilidad que varía desde 48 hasta 80% y una especificidad del 72-86%.^{10,13,17}

La identificación de un agente causal por género y especie es posible mediante el cultivo. Este consiste en la siembra de las escamas, obtenidas por raspado, en un medio de agar dextrosa–Sabouraud y adicionado con cloranfenicol y cicloheximida, para la inhibición del desarrollo de algunas bacterias y hongos contaminantes. Se incuba a una temperatura de 28° durante tres semanas; aunque para algunas especies de dermatofitos (*T. verrucosum*, *T. violaceum*) es mejor una temperatura de incubación de 37°C.^{3,17} La velocidad de crecimiento y la extensión de la colonia dependerán del género y de la especie de cada dermatofito.¹¹ Tiene una sensibilidad relativamente baja, 25–59%, y una especificidad del 82-100%.^{4,10,17} En base a los índices de sensibilidad y especificidad obtenidos, se han reportado tasas de resultados falsos negativos hasta del 30%.^{1,4}

Estudio histopatológico

Con el propósito de aumentar la precisión diagnóstica en pacientes con sospecha clínica de onicomicosis, se ha recurrido a otros métodos como el estudio histopatológico de la uña afectada, con tinción de PAS. Para este fin, desde 1980, se ha utilizado la biopsia de uña por método tradicional que consiste en tomar una muestra de la lámina ungueal mediante sacabocados de 3 mm, previo bloqueo anestésico regional; el fragmento se coloca en formol al 10% y se realiza estudio histopatológico con tinción de PAS.¹⁸ El estudio permite la visualización de

estructuras micóticas como hifas, pseudohifas, levaduras o artroconidios.⁸ Aunque este método puede ser útil para el diagnóstico de infección micótica, especialmente cuando el estudio micológico es negativo, tiene dos limitaciones: no es posible la identificación del microorganismo causal, y las condiciones operativas para realizar el procedimiento. Las complicaciones descritas con este método incluyen sangrado, infección y distrofia.¹³

Como una técnica alternativa para estudio histopatológico se ha propuesto, desde la década de los noventa, un procedimiento más sencillo para obtener una muestra de la uña afectada, sin riesgo de distrofia y de otras complicaciones, llamada *nail clipping*. Consiste en el recorte de 3-5 mm del borde distal de la lámina ungueal, incluyendo la porción subungeal, y se procesa como material histológico incluyendo su tinción con PAS, o con plata metenamina de Gomori, para la visualización de hifas con o sin esporas y el nivel de invasión a capas superficiales o profundas.^{3,9,13} Otros hallazgos de la biopsia incluyen: hiperqueratosis con paraqueratosis e infiltrado de neutrófilos. Este método es relativamente rápido, de bajo costo y accesible para cualquier laboratorio de patología, y nos confirma el diagnóstico en 24–48 h. Sus índices de sensibilidad son altos, 82–92%, y una especificidad hasta del 72%.^{1,4,10}

1.6 TRATAMIENTO

El tratamiento de la onicomycosis, especialmente aquella que afecta varias uñas, requiere del uso de medicamentos por vía oral que deben ser tomados durante un

periodo mínimo de 4–6 meses, lo cual entraña aspectos de costo, cumplimiento y riesgo de efectos adversos, que influyen directamente sobre la factibilidad y eficacia del tratamiento. Por lo tanto, además de tener en cuenta la edad del paciente, y aspectos de comorbilidad e interacción medicamentosa, resulta fundamental la confirmación del diagnóstico de onicomycosis antes de iniciar el tratamiento.^{3,23} Las opciones terapéuticas en onicomycosis incluyen medicamentos tópicos y sistémicos, y otros métodos como la cirugía y terapia fotodinámica. La selección del tratamiento ideal depende de cada paciente en particular tomando en cuenta agente causal, susceptibilidad antifúngica, forma clínica y número de uñas afectadas así como comorbilidad y costo.

Dentro de las indicaciones de una terapia tópica se encuentran las siguientes: afección limitada o hasta del 50% de la lámina ungueal, pacientes pediátricos, en onicomycosis blanca superficial, en situaciones clínicas donde la terapia sistémica esté contraindicada, y cuando no existe afección de la matriz ungueal. Las opciones disponibles son amorolfina al 5% y ciclopiroxolamina al 8%, en forma de laca. Ambos medicamentos tienen un espectro amplio de acción contra dermatofitos, levaduras y hongos no dermatofitos como mohos. Las lacas son vehículos de suministro transungueal de fármacos, que producen una película insoluble en agua después de la aplicación y evaporación, que hacen posible un contacto suficiente con la uña. La concentración de amorolfina en la película es del 25% después de la aplicación de una laca al 5%.^{3,23} Otra forma de terapia tópica incluye el uso de amorolfina por medio de potenciadores como el láser mediante

micro-orificios en la lámina ungueal lo cual permite una mejor penetración del fármaco.³

El tratamiento sistémico está indicado cuando exista una afección mayor al 50% de la lámina ungueal o con afección ungueal múltiple; y cuando existe afección de la matriz ungueal. Dentro de las opciones se encuentran griseofulvina, azoles como itraconazol, fluconazol, voriconazol, posaconazol, ravuconazol e isavuconazol; y el grupo de alilaminas y benzilaminas como terbinafina.²³ En la actualidad los dos medicamentos más utilizados son, itraconazol y terbinafina. El tratamiento con estos antimicóticos puede indicarse de dos maneras: En pulsos con dosis más altas por día [itraconazol 400 mg, terbinafina 500 mg] durante una semana, una vez por mes, para un total de tres pulsos para onicomycosis de las manos, y cuatro para la de los pies; y en forma continua, es decir, diariamente durante 6 semanas para afección de las manos y por 12 semanas para onicomycosis de los pies.³ La respuesta se mide de diferentes maneras, pero la más aceptada es la curación, definida por la ausencia de signos clínicos y un examen micológico negativo.³

Dentro de los métodos quirúrgicos se encuentra la extirpación de una parte (desbridamiento) o completa (avulsión) de la lámina ungueal. La extirpación parcial es una opción efectiva en pacientes con afectación lateral de la uña o en los dermatofitomas (colección de hongos sobre la superficie inferior de la lámina ungueal). Estos métodos pueden utilizarse de forma combinada con terapia tópica y/o sistémica.^{3,23} También se ha utilizado como modalidad terapéutica la eliminación de las uñas afectadas por medio de láser de dióxido de carbono. La

terapia fotodinámica se utiliza por medio de la aplicación de laser excimer de 630 nm, a una dosis de 100 J/cm^2 , en un número de 6-7 sesiones hasta la curación, en una uña previamente removida con la aplicación de urea al 20%.³

Para tomar una decisión adecuada en cuanto al manejo de un paciente con alteraciones ungueales sugestivas de onicomycosis es imprescindible contar con una herramienta útil para confirmar el diagnóstico. Sobre esta base, es posible planear el tratamiento antimicótico más conveniente para cada caso, teniendo en cuenta aspectos de eficacia y seguridad, así como de costo-beneficio.

UTILIDAD DE LA BIOPSIA DE UÑA MEDIANTE *NAIL CLIPPING* EN EL DIAGNÓSTICO DE ONICOMICOSIS

2.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿El estudio histopatológico con tinción de PAS de una biopsia de uña afectada, obtenida por *nail clipping*, es útil para confirmar el diagnóstico de onicomicosis, cuando el estudio micológico convencional es negativo?

2.2 JUSTIFICACIÓN

El diagnóstico de onicomicosis se basa en datos clínicos sugestivos, sin embargo, debido a su carácter inespecífico y que puede ser compartido por otras otras infecciones y enfermedades de etiología no infecciosa, es necesaria su confirmación mediante el estudio micológico. Sin embargo, aunque este es el método de referencia, presenta limitaciones relacionadas con la técnica (recolección inadecuada, destreza del personal de laboratorio), y otras concernientes a la propia parasitación (nivel de profundidad, presencia de estructuras micóticas viables), que pueden ser motivo de un resultado falso negativo, y cuya frecuencia puede ser hasta del 30%.

Reconociendo la importancia de confirmar el diagnóstico de onicomicosis antes de iniciar el tratamiento respectivo, especialmente cuando deben usarse antimicóticos por vía oral y cuya duración es prolongada, consideramos trascendental determinar la utilidad de un método complementario de diagnóstico,

relativamente sencillo, particularmente en los casos con sospecha clínica y estudio micológico negativo.

2.3 HIPÓTESIS

El estudio histopatológico con tinción de PAS de una biopsia de uña afectada, obtenida por *nail clipping*, es útil para confirmar el diagnóstico de onicomycosis en pacientes con estudio micológico negativo.

2.4 OBJETIVOS

Objetivo general:

Determinar la frecuencia de casos de onicomycosis diagnosticados por estudio histopatológico a partir de una muestra tomada por *nail clipping*, en pacientes con alteraciones ungueales sugestivas, pero con estudio micológico negativo.

Objetivos específicos:

Determinar los índices de sensibilidad, especificidad, y valores predictivos positivo y negativo de la biopsia de uña, mediante *nail clipping*, con tinción de PAS para el diagnóstico de onicomycosis.

2.5 MATERIAL Y MÉTODOS

2.5.1 DISEÑO DEL ESTUDIO: Descriptivo y transversal

2.5.2 UNIVERSO DE TRABAJO: Se incluirán todos los pacientes que acudan al Servicio de Dermatología del Hospital de Especialidades CMN Siglo XXI, con alteraciones ungueales compatibles con onicomycosis. El período de estudio quedará comprendido de diciembre de 2011 a junio de 2012. Para la inclusión de los casos no será necesario contar con una carta de consentimiento, teniendo en cuenta que la atención habitual de un paciente con sospecha clínica de onicomycosis requiere de métodos de diagnóstico como el estudio micológico, y que la toma de una muestra mediante *nail clipping* no es un procedimiento extraordinario.

2.5.3 SELECCIÓN DE LA MUESTRA:

TAMAÑO DE LA MUESTRA: Para este estudio se ha calculado una muestra de 70 pacientes.

CRITERIOS DE SELECCIÓN

Criterios de inclusión:

- Pacientes con alteraciones ungueales de manos o pies, sospechosas de onicomycosis.
- Afección de las porciones distal y subungueal de la uña.

Criterios de no inclusión:

- Pacientes con alteraciones ungueales, de manos o pies, que ya reciben tratamiento con antimicóticos, tópicos o sistémicos.

- Pacientes con alteraciones ungueales cuyas características o localización no permita la toma de una muestra por *nail clipping*.

Criterios de exclusión:

- Pacientes con sospecha clínica de onicomicosis, pero que no cuenten con estudio micológico de las uñas afectadas.

2.5.4 PROCEDIMIENTO

Clasificación clínica de los pacientes y datos generales

Para cada uno de los pacientes se llenará una hoja de registro, que contiene ficha de identificación: nombre, edad, sexo, lugar de origen, ocupación, tiempo de evolución de la dermatosis, comorbilidad y tratamiento con inmunosupresores. En otra sección se incluyen los datos pertinentes a la afección ungueal, incluyendo localización, número de uñas afectadas, y tipo de alteraciones.

Diagnóstico de onicomicosis

La sospecha clínica de onicomicosis se basará en la presencia de las siguientes alteraciones ungueales: discromía blanco-amarillenta o amarillo-café, hiperqueratosis subungueal, engrosamiento de la lámina ungueal, onicolisis, paroniquia y distrofia ungueal.

A cada paciente se le tomarán dos tipos de muestras: una de escamas para estudio micológico, y otra del borde distal de la uña para estudio histopatológico.

- **Estudio micológico:** Se debe limpiar la uña con alcohol al 70%, en las lesiones subungueales o distales, se recolectarán los residuos por debajo de la uña con una hoja de bisturí eliminando las primeras porciones. En las lesiones periungueales se tomarán las escamas o exudado. Una vez tomada la muestra, se utiliza KOH para acelerar la disolución de la queratina y facilitar la identificación de las estructuras micóticas, bajo el microscopio con la lente de aumento débil o mediano. El aclaramiento es más intenso si se calienta un poco la laminilla. Por otra parte, se inocularán dos tubos de ensaye con el asa de platino, previamente calentada al rojo vivo y enfriada en el medio de cultivo, lo cual facilitará la adherencia de las escamas. Se incubarán a dos temperaturas, 25 y 37°C; se realizarán dos lecturas a partir de la siembra, la primera a los 7 días y la segunda a las tres semanas.
- **Biopsia por *nail clipping*:** Se obtendrá mediante el recorte del borde distal de la lámina ungueal, utilizando un alicate para uñas. La muestra se colocará en un frasco con formol al 10%, y se enviará al Servicio de Anatomía Patológica para estudio histopatológico con tinción de PAS.

2.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizarán medidas de tendencia central y dispersión de acuerdo a la distribución de las variables. Para los análisis de asociación se utilizarán prueba de Chi-cuadrada de Pearson [χ^2] para la comparación de proporciones; y para la comparación de las variables cuantitativas se utilizará prueba de suma de rangos Wilcoxon Mann-Whitney y t de student de acuerdo a la distribución de las

variables. Se realizará cálculos de sensibilidad y especificidad y valores predictivos. Se establecerá la significancia estadística con una $p \leq 0.05$. Se utilizará paquete estadístico STATA versión 11.

2.7 RECURSOS

Se contará con la participación del personal asistencial del Servicio de Dermatología, del Servicio de Patología y del Laboratorio de Investigación en Dermatología y Micología del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI. El espacio físico y recursos financieros serán provistos por el Servicio de Patología y el Laboratorio de Investigación en Dermatología y Micología.

2.8 CONSIDERACIONES ÉTICAS

Los procedimientos realizados durante el estudio clínico, el manejo de la información y la confidencialidad del paciente se realizarán de acuerdo a lo establecido en la Declaración de Helsinki (1964) para estudios biomédicos. Es un estudio de investigación en el cual no habrá participación de la industria farmacéutica por lo que no existe ningún conflicto de interés.

RESULTADOS

Perfil clínico

Se estudiaron 70 pacientes, de los cuales 43 casos correspondieron a mujeres (61%) y el resto varones, cuyo intervalo de edad fue de 20 a 89 años, con una media de 57.37 ± 15.27 . La distribución de la afección se localizó principalmente en los pies, en forma bilateral en 59 pacientes (84.28%), y unilateral en tres (4.2%); mientras que la afección de las manos se presentó en ocho pacientes, bilateral en cinco (7.14%) y unilateral en tres (4.2%) Los cambios ungueales observados con mayor frecuencia fueron: hiperqueratosis subungueal, engrosamiento del plato ungueal y las discromías amarillo-marrón y blanco-amarillenta, respectivamente.

Estudio micológico

El Cuadro 1 muestra los resultados del estudio micológico y del estudio histopatológico con tinción de PAS mediante la técnica de nail clipping. Del total de 70 casos, se obtuvieron 45 estudios positivos (64.28%). El estudio micológico fue positivo en 27 casos (38%) mediante el examen directo, y en 21 casos (30%) se obtuvo cultivo positivo (Cuadro 2). Sólo 11 pacientes (15%) tuvieron examen directo y cultivo positivos. Por lo contrario, el número de casos con estudio micológico negativo fue alto, 43 (61%) con el examen directo y 49 (70%) con el cultivo.

Estudio histopatológico (nail clipping)

La biopsia de uña afectada tuvo un resultado positivo en 37 casos (52%), lo cual representó el índice más alto para un estudio positivo por separado en la confirmación de onicomycosis, incluso por encima del estándar de oro. Este hecho se pone de relieve en un subgrupo de 12 pacientes con estudio micológico negativo, en quienes el estudio histopatológico positivo fue la única evidencia de infección micótica (17%).

Comparación de ambos tipos de estudio

La comparación de la biopsia de uña con tinción de PAS mediante la técnica de *nail clipping* contra el estándar de oro que incluye el examen directo y el cultivo para el diagnóstico de onicomycosis, presentó una sensibilidad de 78% y una especificidad de 67%; y con valores predictivos positivo de 47% y negativo de 86% (Cuadro 3). Estimación de sensibilidad, especificidad y valores predictivos del estudio histopatológico con tinción de PAS mediante la técnica de *nail clipping* para el diagnóstico de onicomycosis.

DISCUSIÓN

La onicomicosis es un problema que posee cierta complejidad relacionada con diversos aspectos, entre los cuales destacan su frecuencia, el papel de factores predisponentes, su diversidad etiológica, así como el tratamiento, y de manera especial los procedimientos para un diagnóstico certero. En este trabajo nos ocupamos de la evaluación de una herramienta complementaria para el diagnóstico de onicomicosis.

El tamaño de la muestra y el diseño del estudio corresponde a una investigación de tipo preliminar que pretende determinar la utilidad de una prueba diagnóstica para onicomicosis, empleada en aquellos casos en los que el estudio micológico, estándar de oro, ha sido negativo en presencia de datos clínicos sugestivos; y en este sentido el objetivo se cumplió.

En nuestro estudio, en primer lugar hemos confirmado que la afección de los pies representa la topografía más frecuentemente observada, como se ha descrito en los estudios de Welsh³ y Allevato²¹ y que en esta serie se presentó en el 88.57% de los pacientes. Con relación a la distribución por sexo, observamos predominio en mujeres, 61%, como lo han informado Nilay¹⁴ y Garg.²⁵ En el caso del grupo etario más afectado, la media fue de 57.37 ± 15.27 , que es concordante con lo reportado por Allevato y cols.²¹ Las alteraciones ungueales aunque diversas correspondieron a la forma clínica subungueal distal y lateral, y que representa una de las más frecuentes.²²

El diagnóstico de onicomicosis pudo confirmarse en 45 de 70 pacientes (64.28%); mediante el estudio micológico en 11 pacientes (15%), con mayor

frecuencia a partir del examen directo. Estos índices son semejantes a los reportados por Jeffrey y Reisberger.^{1,6} El estudio histopatológico con tinción de PAS de muestras de uña obtenidas mediante la técnica de *nail clipping*, fue positivo en 37 pacientes (52.85%) una cifra semejante (54.7%) a lo informado por Gianni²⁸, y mayor que el índice de (41.6%) reportado por Reisberger.⁶ Los estudios histopatológicos positivos en presencia de un estudio micológico positivo se encontraron en 11 casos (15%) y en esta situación clínica su valor sería relativo y representaría un estudio prescindible. En contraste, este estudio adquiere una relevancia mayor en aquellos casos con manifestaciones clínicas sugestivas, pero con estudio micológico negativo, y en esta situación la histopatología resultó positiva en 12 casos (17%), es decir, que en esos pacientes de no haber contado con el estudio de biopsia por *nail clipping*, no habría sido posible confirmar el diagnóstico de onicomicosis. En este punto reside el valor potencial del estudio histopatológico, y la contribución de nuestra investigación, especialmente si consideramos el uso de una técnica relativamente sencilla y de alta disponibilidad. No obstante, conviene señalar una serie de limitaciones inherentes a esta técnica. La uña afectada debe mostrar una longitud suficiente para obtener una muestra adecuada, y esto implica la necesidad de planear el momento más oportuno. La dureza de la lámina ungueal puede dificultar su obtención, y de igual modo es conveniente obtener una porción subungueal, además de la lámina ungueal, ya que en ese sitio se encuentran las estructuras micóticas. Por lo tanto, la biopsia de uña mediante la técnica de *nail clipping* es útil únicamente en la forma clínica subungueal distal y lateral de onicomicosis.

Queda por realizar un proyecto de investigación que cuente con una muestra de mayor tamaño, acorde con nuestros planteamientos, para obtener resultados con un mayor valor estadístico.

CONCLUSIONES

1. En una serie de 70 pacientes con sospecha clínica de onicomycosis, el diagnóstico se pudo confirmar en 45 de ellos.
2. La confirmación del diagnóstico se hizo mediante estudio micológico convencional en 11 casos (15%), con mayor frecuencia a partir del examen directo.
3. El estudio histopatológico con tinción de PAS de un fragmento de uña afectada, obtenido mediante la técnica de *nail clipping*, fue positivo en 37 pacientes (52.85%), y en 12 de estos casos (17%) fue el único estudio positivo, es decir, representó la única forma de confirmar el diagnóstico.
4. La probabilidad de tener una biopsia de uña negativa cuando el estudio micológico es negativo es del 86%, lo que nos permite concluir que tiene un alto poder para discernir los resultados verdaderos negativos.
5. En base a los resultados obtenidos en nuestro estudio, podemos considerar que el estudio histopatológico con tinción de PAS de un fragmento de uña afectada, obtenido mediante la técnica de *nail clipping*, es útil en la investigación de un paciente con sospecha clínica de onicomycosis, cuyo estudio micológico es negativo.

ANEXOS

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CMN SIGLO XXI. HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
SERVICIO DE DERMATOLOGÍA Y MICOLOGÍA**

REGISTRO DE PACIENTES CON SOSPECHA DE ONICOMICOSIS

Fecha: _____

Registro No. _____

Ficha de Identificación

Nombre: _____ Edad: _____

Afiliación: _____ Sexo: _____

Servicio/Unidad de procedencia: _____

Ocupación: _____

Comorbilidad

	Sí	No		Sí	No
Diabetes	___	___	Insuf venosa MM II	___	___
VIH	___	___	Tx inmunosupresores	___	___

Diagnóstico Micológico

Estudio micológico:

Fecha de toma de muestra _____ Pies () Manos ()

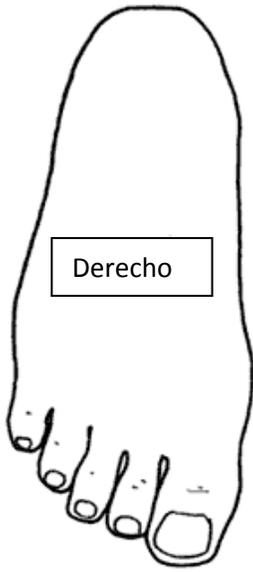
Examen directo: Positivo () _____

Negativo ()

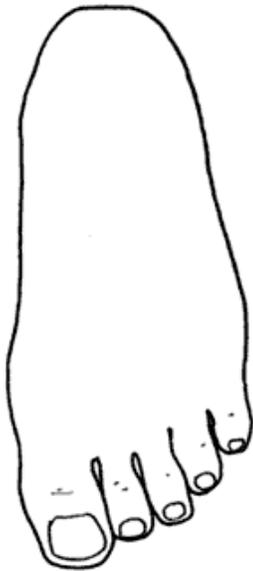
Cultivo: Positivo () Agente aislado _____

Negativo ()

Biopsia uña: Positiva () Negativa ()



Izquierdo



Alteraciones Ungueales:

- A. Discromía blanco-amarillenta
- B. Discromía amarillo-café
- C. Onicosis
- D. Hiperqueratosis subungueal
- E. Engrosamiento del plato ungueal
- F. Distrofia ungueal



Izquierda





Figura 1. Afección de pies a nivel de 1^{er}, 2^{da} y 3^{er} uña con engrosamiento de la lámina ungueal, hiperqueratosis subungueal y discromía blanco-amarillenta.



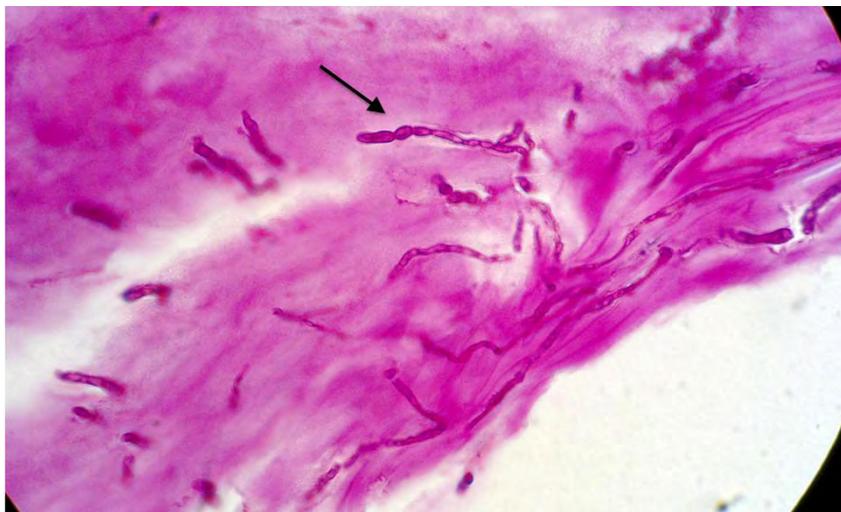
Figura 2. Afección ungueal de mano derecha con engrosamiento de la lámina ungueal y discromía amarillo-marrón.



Figura 3. Obtención de la muestra de la porción subungueal distal para estudio micológico.



Figura 4. Selección del paciente y preparación del equipo necesario para la obtención de la muestra para el estudio histopatológico con tinción de PAS.



Figura

para uñas

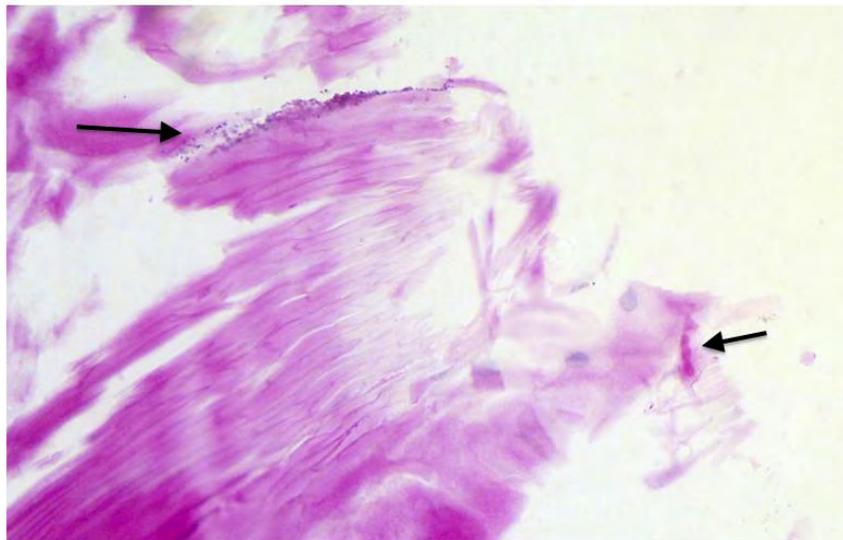


Figura 6. a) Corte donde se observan escasas levaduras en cadena y; b) un grupo numeroso de bacterias cocoides. Una vez que los hongos han alterado la estructura ungueal, las bacterias contribuyen a la destrucción de la misma.

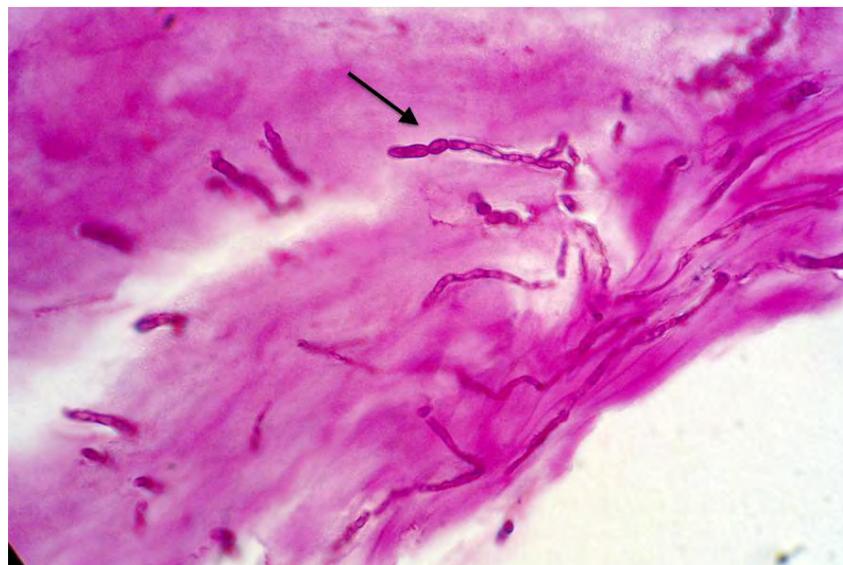


Figura 7. Pseudo-filamento donde se observan con claridad los cuerpos ovoides de las levaduras con estrechamiento de las uniones celulares (flecha).

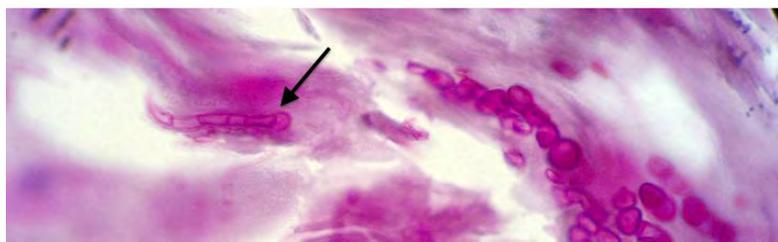


Figura 8. Levaduras de 5 a 7 μm y un pseudofilamento originado de una levadura (flecha)

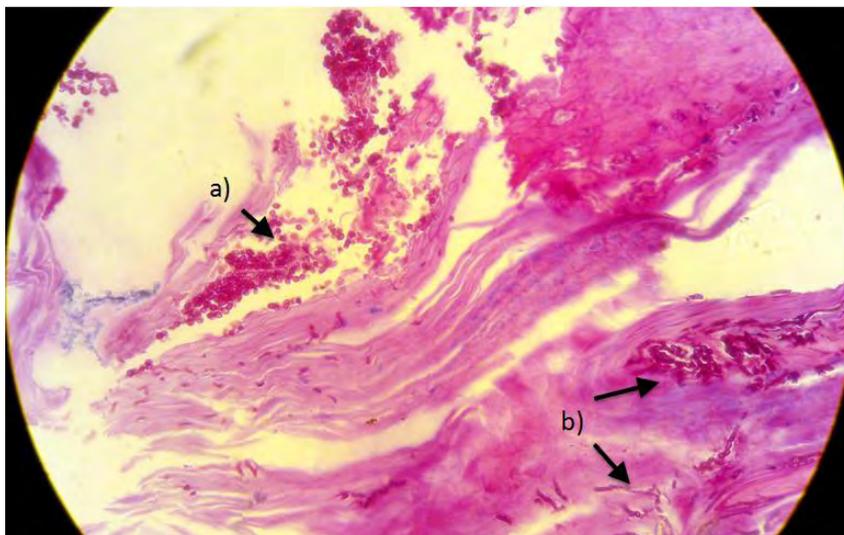


Figura 9. a) Corte donde se observa gran cantidad de levaduras geminates en la superficie y b) numerosos pseudofilamentos y levaduras en las capas más profundas.



Figura 10. Corte histológico donde se observan numerosos filamentos, pero éstos sólo se encuentran en el interior de la uña y no en la superficie de la misma

Cuadro 1. Pacientes con sospecha clínica de onicomycosis. Distribución de resultados por método de diagnóstico.

		KOH	Cultivo	PAS
Pacientes (n=70)	Positivo	27 (38%)	21 (30%)	37 (52%)
	Negativo	43 (61%)	49 (70%)	33 (47%)

KOH, hidróxido de potasio; **PAS**, ácido periódico de Schiff

Cuadro 2. Agentes causales aislados por cultivo

Grupo	Agente	Nº casos (%)
Dermatofitos	<i>Trichophyton rubrum</i>	3 (14.2%)
	<i>Candida spp.</i>	1 (4.7%)

Cuadro 3. Comprobación de pruebas diagnósticas

Cuadro 3. Comparación de pruebas diagnósticas

Estudio histopatológico (PAS)

	POSITIVOS	NEGATIVOS
Estudio micológico POSITIVOS	11	4
NEGATIVOS	12	25

Sensibilidad: 78%

Especificidad: 67%

VP negativo: 86%

VP positivo: 47%

BIBLIOGRAFÍA

1. Weinberg JM, Koestenblatt EK, Tutrone WD, Tishler HR, Najarian L. Comparision of diagnostic methods in the evaluation of onychomycosis. J Am Acad Dermatol 2003;49:193-7.
2. Chang A., Wharton J., Tam S., Kovich OI, Kamino H. A modified approach to the histologic diagnosis of onychomycosis. J Am Acad Dermatol 2007;57:849-53.
3. Welsh O., Vera-Cabrera L., Welsh E. Onychomycosis. Clindermatol. 2010;28:151-159.
4. Shenoy MM, Teerthanath S., Karnaker VK, Girisha BS, Prasad K., Pinto J. Comparision of potassium hydroxide mount and mycological culture with

- histopathologic examination using periodic acid-Schiff staining of the nail clippings in the diagnosis of onychomycosis. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2008;74:226-229.
5. Weinberg JM, Koestenblatt EK, Jennings MB. Utility of histopathologic analysis in the evaluation of onychomycosis. *J Am Podiatr Med Assoc* 2005;95:258-263.
 6. Reisberger EM, Abels C., Landthaler M., Szeimies RM. Histopathological diagnosis of onychomycosis by periodic acid-Schiff-stained nail clippings. *Br J Dermatol* 2003;148:749-754.
 7. Haldar S., Khopkar U. Role of histopathology in the diagnosis of nail disorders. *Expert Rev Dermatol* 2011;6:405-421.
 8. Scher RK, Ackerman AB. The value of nail biopsy for demonstrating fungi not demonstrable by microbiologic techniques. *Am J Dermatopathol* 1980;2:55-57.
 9. Suarez SM, Silvers DN, Scher RK, Pearlstein HH, Auerbach R. Histologic evaluation of nail clippings for diagnosing onychomycosis. *Arch Dermatol* 1991;127:1517-1519.
 10. Theis WD, Sareika F., Bieber T., Schmid-Wendtner MH, Wenzel J. New reasons for histopathological nail-clipping examination in the diagnosis of onychomycosis. *J. Eur Acad Dermatol Venereol* 2011;25:235-237.
 11. Méndez TL, López MR, Hernández HF. Actualidades en Micología Médica. Facultad de Medicina, UNAM 2010;137-138.

12. Gianni C, Morelli V, Cerri A, Greco C, Rossini P, Guiducci A, Braidotti P, Calcaterra R, Papini M. Usefulness of histological examination for the diagnosis of onychomycosis. *Dermatology* 2001;202(4):283-8.
13. Luz MG, Mónica M., Ángela MT, Alejandra Z., Juan V., Alejandro V., Margarita J., Luz C. Utilidad de la muestra de la lámina ungular en el diagnóstico de onicomycosis. *Rev Asoc Colomb Dermatol.* 2011;19:194-200.
14. Nilay KD, Pramit G., Suchibrata D., Susmita B., Rathindra ND, Sujit RS. A study on the etiological agent and clinic-mycological correlation on fingernail onychomycosis in eastern India. [Indian J Dermatol.](#) 2008;53(2):75-9.
15. Javier R., Paula EG, Osvaldo AD. Onicomycosis: epidemiología, agentes causales y evaluación de los métodos diagnósticos de laboratorio. *Revista Argentina de Microbiología* 2012;44: 21-25.
16. [Grover C](#), [Chaturvedi UK](#), [Reddy BS](#). Role of nail biopsy as a diagnostic tool. [Indian J Dermatol Venereol Leprol.](#) 2012 May;78(3):290-8.
17. Chander G, Ananta K. Onychomycosis: Newer insights in pathogenesis and diagnosis. *J Dermatol Venereol Leprol.* 2012;78(3):263-270.
18. Eliza M, Ofer BI., Reuven B. Histopathological Periodic Acid–Schiff Stains of Nail Clippings as a Second-Line Diagnostic Tool in Onychomycosis. *Am J Dermatopathol* 2012;34:270–273.
19. Relloso S, Arechavala A, Gueland L, Maldonado I, Walker L, Agorio L, Reyes S. Onychomycosis: multicentre epidemiological, clinical and mycological study. *Rev Iberoam Micol* 2011 Dec 22.

20. Nenoff P., Ginter HG, Tietz HJ. Fungal nail infections-an update Part-2 from the causative agent to diagnosis-conventional and molecular procedures. *Hautarzt* 2012 Feb;63(2):130-7.
21. Allevato MAJ. Diseases mimicking onychomycosis. *Clinics in Dermatology* 2010;28:164-177.
22. Hay RJ, Baran R. Onychomycosis: A proposed revision of the clinical classification. *J Am Acad Dermatol* 2011;65:1219-27.
23. Singal A., Khanna D. Onychomycosis: Diagnosis and management. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2011;77(6):659-672.
24. Manzano-Gayosso P., Méndez-Tovar LJ., Arenas R., y Cools. Levaduras causantes de onicomycosis en cuatro centros dermatológicos mexicanos y su sensibilidad antifúngica a compuestos azólicos. *Rev Iberoam Micol.* 2011;28(1):32–35.
25. Garg A, Venkatesh V, Singh M, Pathak KP, Kaushal GP, Agrawal SK. Onychomycosis in central India: A clinicoetiologic correlation. *Int J Dermatol* 2004;43:498-502.
26. Vartivarians E. Virulence properties and non immune pathogenic mechanisms of fungi. *Clin Infect Dis* 1992; 14: S30-36.
27. Tosti A., Baran R., Piraccini BM, Fanti PA. Endonyx Onychomycosis: A New Modality of Nail Invasion by Dermatophytes. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 1999; 79: 52-53.
28. Gianni C, Morelli V, Cerri A, et al. Usefulness of histological examination for the diagnosis of onychomycosis. *Dermatology* 2001; 202: 283.

