

Iluminando el diagnóstico: evaluación comparativa de técnicas de microscopía en el diagnóstico de dermatofitosis

Enlightening a diagnosis: A comparative assessing of microscopy techniques in dermatophytosis

Adriana V. Sáenz Ramírez,^{1,3*} Natasha A. Medina Vicent,^{1,2*} Diana C. Vega Sánchez,⁴ Gabriela Moreno Coutiño⁴ y Roberto Arenas⁴

¹ Diplomado en Micología Médica, Hospital General Dr. Manuel Gea González

² Residente de Dermatología, Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos, ISSSTE

³ Residente de Medicina Interna, Hospital General Presidente Lázaro Cárdenas, ISSSTE

⁴ Adscritos a la Sección de Micología, Hospital General Dr. Manuel Gea González

* Estos autores contribuyeron por igual en este trabajo, por lo que los consideramos coprimeros autores.

RESUMEN

ANTECEDENTES: los dermatofitos son los patógenos fúngicos responsables de la mayoría de las infecciones de la piel y las uñas. La identificación precisa de estos agentes es esencial para un tratamiento efectivo y para prevenir la propagación. En este contexto, los métodos de diagnóstico micológico son cruciales al proporcionar información guía para decisiones clínicas.

OBJETIVO: determinar la eficacia diagnóstica del examen directo con blanco de calcoflúor en comparación con el examen directo con KOH-negro de clorazol, para la identificación de dermatofitos en pacientes con diagnóstico clínico de dermatofitosis en el Hospital General Dr. Manuel Gea González durante el año 2019.

METODOLOGÍA: se llevó a cabo un estudio descriptivo, comparativo, prospectivo, abierto, observacional y transversal centrado en la dermatofitosis. El análisis se enfocó en los resultados negativos obtenidos en el examen directo con KOH-negro de clorazol de muestras de pacientes atendido en la Sección de Micología del Hospital General Dr. Manuel Gea González con diagnóstico clínico en 2019. Posteriormente se realizó un nuevo conjunto de exámenes directos utilizando blanco de calcoflúor y fluorescencia.

RESULTADOS: se examinaron 504 casos de dermatofitosis en 2019 en el Hospital General Dr. Manuel Gea González con KOH-negro de clorazol. El 50.7% fue positivo, 49% negativo. Las muestras negativas (n = 248) se evaluaron con blanco de calcoflúor, se detectó 16.5% adicional. La onicomicosis fue el diagnóstico más común en negativos (72%). Con blanco de calcoflúor se identificó positivamente 13% de casos no detectados con anterioridad, con sensibilidad de 100% y especificidad de 83.5%. El valor predictivo positivo fue de 86%, el negativo fue de 100%.

CONCLUSIONES: El estudio comparativo entre el blanco de calcoflúor y el KOH-negro de clorazol reveló resultados significativos en

ABSTRACT

BACKGROUND: dermatophytes are the fungal pathogens responsible for the majority of skin and nail infections. The estimated lifetime risk of developing dermatophytosis is 10 to 20%. The accurate identification of these agents is essential for effective treatment and prevention of spread. In this context, mycological diagnostic methods are crucial in providing guiding information for treatment.

OBJECTIVE: to determine the diagnostic efficacy of the direct examination with calcofluor white compared to the direct examination with KOH-chlorazol black for the identification of dermatophytes in patients clinically diagnosed with dermatophytosis at Dr. Manuel Gea González General Hospital during 2019.

METHODOLOGY: a descriptive, comparative, prospective, observational, and cross-sectional study was conducted focusing on dermatophytosis. The analysis centered on negative results from direct examinations using KOH-chlorazol black on samples from patients at the Dr. Manuel Gea González General Hospital. Subsequently, a new set of direct examinations was performed using calcofluor white and fluorescence.

RESULTS: a total of 504 dermatophytosis cases were examined using KOH-chlorazol black. 50.7% tested positive, 49% negative. Negative samples (n = 248) were re-evaluated with calcofluor white, detecting an additional 16.5%. Onychomycosis was the most common diagnosis in negatives (72%). Calcofluor white positively identified 13% of previously undetected cases, with 100% sensitivity and 83.5% specificity. The positive predictive value was 86%, and the negative predictive value was 100%.

CONCLUSIONS: the comparative study between calcofluor white and chlorazol-black KOH revealed significant results in the diagnosis of dermatophytosis. Calcofluor white showed great effectiveness,

CORRESPONDENCIA

Dra. Alexandra Medina Vicent ■ natashamv95@gmail.com ■ Teléfono: 32 2206 5373
Avenida Revolución 1400, int 1207B, Col. Guadalupe Inn, C.P. 01020, Alcaldía Álvaro Obregón, Ciudad de México

el diagnóstico de dermatofitosis. El blanco de calcoflúor mostró gran efectividad al identificar casos que podrían pasar desapercibidos con el método convencional.

PALABRAS CLAVE: dermatofitosis, negro de clorazol, blanco de calcoflúor, examen directo, microscopía de fluorescencia, diagnóstico micológico.

Introducción

Los dermatofitos son los patógenos fúngicos responsables de la mayoría de las infecciones de la piel y las uñas. Se estima que el riesgo de desarrollar dermatofitosis a lo largo de la vida es de 10 a 20%.^{1,2} La reciente clasificación taxonómica de los dermatofitos los agrupa en siete clados, en donde se incluyen: *Trichophyton*, *Epidermophyton*, *Nannizzia*, *Paraphyton*, *Lophophyton*, *Microsporum* y *Arthroderma*; y dos sin clado: *Ctenomyces serratus* y *Guarromyces ceretanicus*.^{3,4} La identificación precisa de estos agentes patógenos es crucial para un tratamiento efectivo y para prevenir la propagación de la infección. En este contexto, los métodos de diagnóstico micológico desempeñan un papel fundamental al proporcionar información que guía las decisiones clínicas.^{2,5,6}

Tradicionalmente, el examen directo con KOH-negro de clorazol ha sido una técnica ampliamente utilizada en la identificación de dermatofitos, ya que ofrece resultados visuales a través de la observación microscópica, éste es un colorante ácido que tiene una alta afinidad por la quitina.^{7,8} Sin embargo, hay otras alternativas, como el uso del blanco de calcoflúor. Esta técnica se basa, por una parte, en la propiedad que tiene dicha sustancia de emitir

identifying cases that could go unnoticed with the conventional method.

KEYWORDS: dermatophytosis, chlorazol black, calcofluor white, direct examination, fluorescence microscopy, mycological diagnosis.

fluorescencia al ser activada por radiación ultravioleta, y por otra, en la afinidad que presenta por la celulosa y la quitina presentes en la pared celular de los organismos fúngicos. Tiene la ventaja de mejorar la visibilidad de las estructuras fúngicas, permitiendo una identificación más precisa (**figuras 1 y 2**).⁶⁻⁸

El presente estudio se centra en la comparación entre el examen directo con blanco de calcoflúor y el tradicional KOH-negro de clorazol, con el objetivo de evaluar la eficacia diagnóstica de ambos métodos en pacientes con diagnóstico clínico de dermatofitosis (**figuras 3 y 4**).

Objetivo principal

Determinar la eficacia diagnóstica del examen directo con blanco de calcoflúor en comparación con el examen directo con KOH-negro de clorazol, para identificar dermatofitos en pacientes con diagnóstico clínico de dermatofitosis en el Hospital General Dr. Manuel Gea González durante el año 2019.

Objetivos específicos

1. Determinar la sensibilidad y especificidad del examen directo con blanco de calcoflúor en comparación con el examen directo con KOH-negro de clorazol.

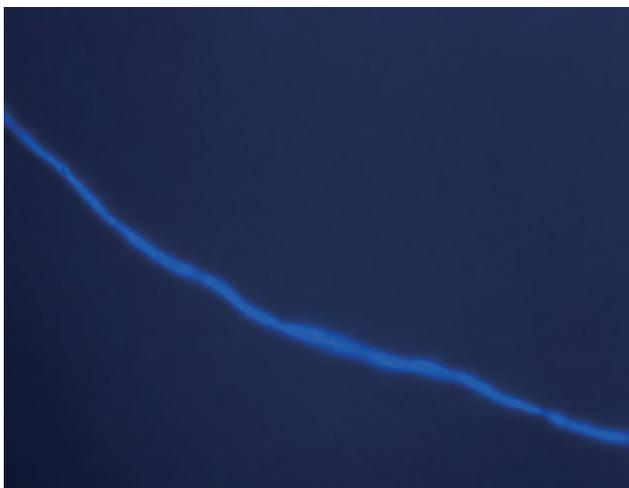


Figura 1. Filamento en examen directo con blanco de calcoflúor.

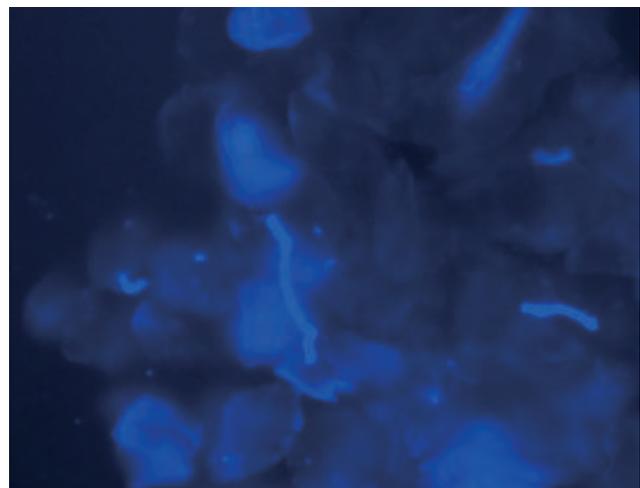


Figura 2. Múltiples filamentos en el examen directo con blanco de calcoflúor.

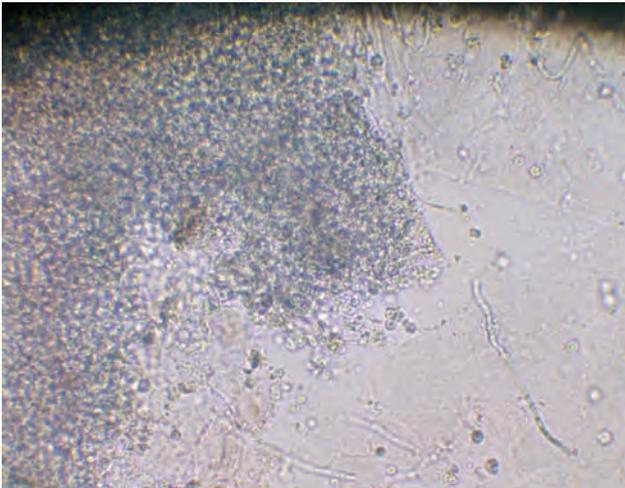


Figura 3. Dermatofitoma, examen directo con KOH-negro de clorazol.

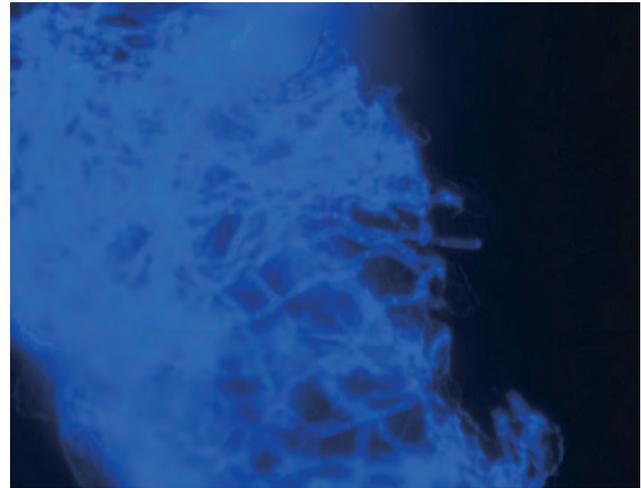


Figura 4. Dermatofitoma, examen directo con blanco de calcoflúor.

2. Evaluar la eficacia del blanco de calcoflúor en la detección de casos no identificados previamente por el examen directo con KOH-negro de clorazol.
3. Analizar la distribución demográfica de las muestras, considerando variables como diagnóstico, sexo y edad.

Materiales y métodos

Se llevó a cabo un estudio descriptivo, comparativo, prospectivo, abierto, observacional y transversal centrado en los casos diagnosticados clínicamente como dermatofitosis durante 2019 en pacientes de la Sección de Micología del Hospital General Dr. Manuel Gea González.

El análisis se enfocó en las muestras con resultado negativo en el examen directo con KOH-negro de clorazol y se les realizó un nuevo examen directo, ahora utilizando blanco de calcoflúor y fluorescencia.

Para el examen directo con KOH-negro de clorazol la muestra se coloca en un portaobjetos con una gota de KOH-negro de clorazol y se observa de inmediato bajo un microscopio convencional en 40x; asimismo, para el examen directo con blanco de calcoflúor la muestra se coloca en un portaobjetos con una gota de tinción fluorescente (blanco de calcoflúor M2R 1 g/L y azul Evans 0.5 g/L), se cubre y se deja reposar durante un minuto. Posteriormente se examina bajo luz UV a 100x en un microscopio de fluorescencia entre 380-440 nm (Olympus BX40 filtro de excitaciones 385-400 475-493 545-565 y filtro barrera BA 450-465 503-533 582-622 para microscopio TE 300).

La técnica de blanco de calcoflúor consideró un resultado positivo cuando se observaron formas redondas o filamentosas con un perímetro que exhibía fluorescencia azul brillante. Este enfoque permitió una evaluación comparativa detallada de los resultados obtenidos con

ambas técnicas diagnósticas. En la metodología del estudio se empleó la fórmula del tamaño de muestra para proporciones, con el fin de determinar un número representativo de participantes.

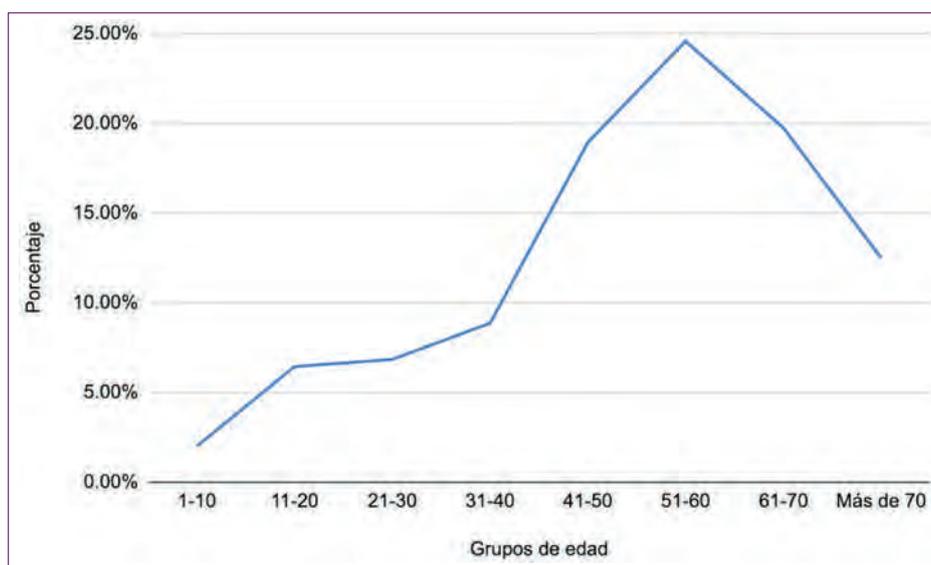
Resultados

Se encontraron 504 exámenes directos teñidos con KOH-negro de clorazol de pacientes diagnosticados con dermatofitosis en el Hospital General Dr. Manuel Gea González en 2019. De éstos, resultaron positivos 256 (50.7%) y 248 (49%) negativos. Estos últimos posteriormente fueron sometidos a un nuevo análisis con blanco de calcoflúor. En cuanto a los datos demográficos, se observó una distribución equitativa entre sexos: 64.11% mujeres y 35.88% hombres. En cuanto a la edad se abarcó un rango amplio, desde uno hasta 91 años. La estratificación por grupos decenales reveló una mayor presencia en el grupo de 51 a 60 años, con 24.59% del total (**gráfica 1**).

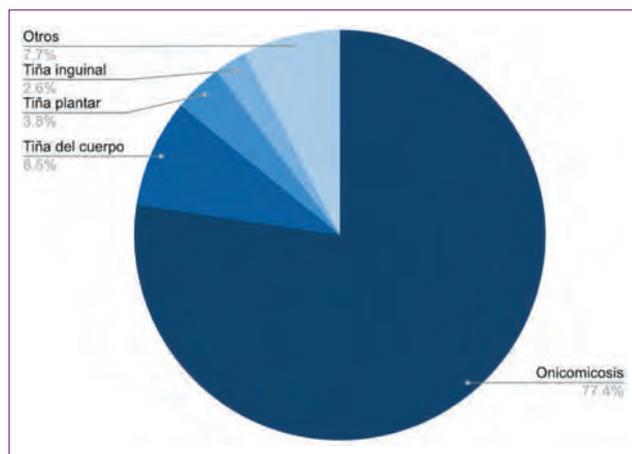
Los diagnósticos clínicos más recurrentes en las muestras negativas con KOH-negro de clorazol fueron: onicomicosis (77.4%), la forma distrófica total (ODT, 41.1%) fue la más frecuente, seguida de la onicomicosis subungueal distal (OSD, 31.8%), y la tiña del cuerpo en una cifra menor (8%) (**gráfica 2**).

Al emplear blanco de calcoflúor se obtuvieron 28 exámenes directos (13%) positivos de los casos de onicomicosis no detectados previamente: ODT 19% y OSD 11%. Con menor frecuencia se encontró tiña palmar en 2.7% y tiña del cuerpo en 10.8% (**gráficas 3 y 4**).

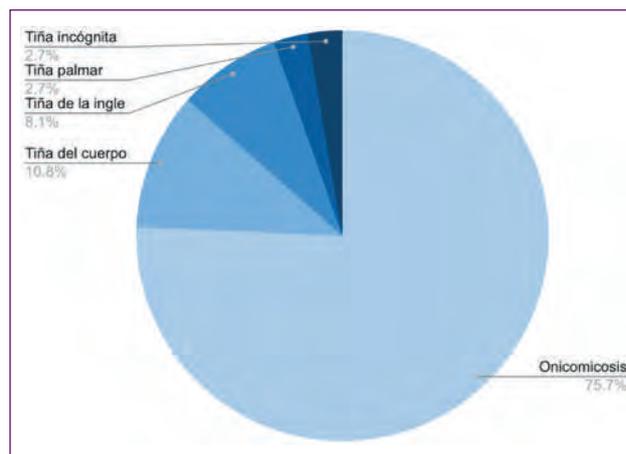
El examen directo con blanco de calcoflúor mostró 16.5% de efectividad en la detección de casos no identificados previamente (**gráfica 5**). La sensibilidad de esta última al compararse con el KOH-negro de clorazol demostró



Gráfica 1. Frecuencia por grupos de edad.



Gráfica 2. Frecuencia de los principales diagnósticos clínicos de los exámenes directos negativos con KOH-negro de clorazol.



Gráfica 3. Frecuencia de diagnósticos clínicos de los exámenes directos positivos con blanco de calcoflúor.

ser de 100%, mientras que la especificidad alcanzó 83.5%. El valor predictivo positivo fue de 86%, y el valor predictivo negativo fue de 100%. Se observó que la razón de verosimilitud positiva fue de seis y la negativa fue de cero.

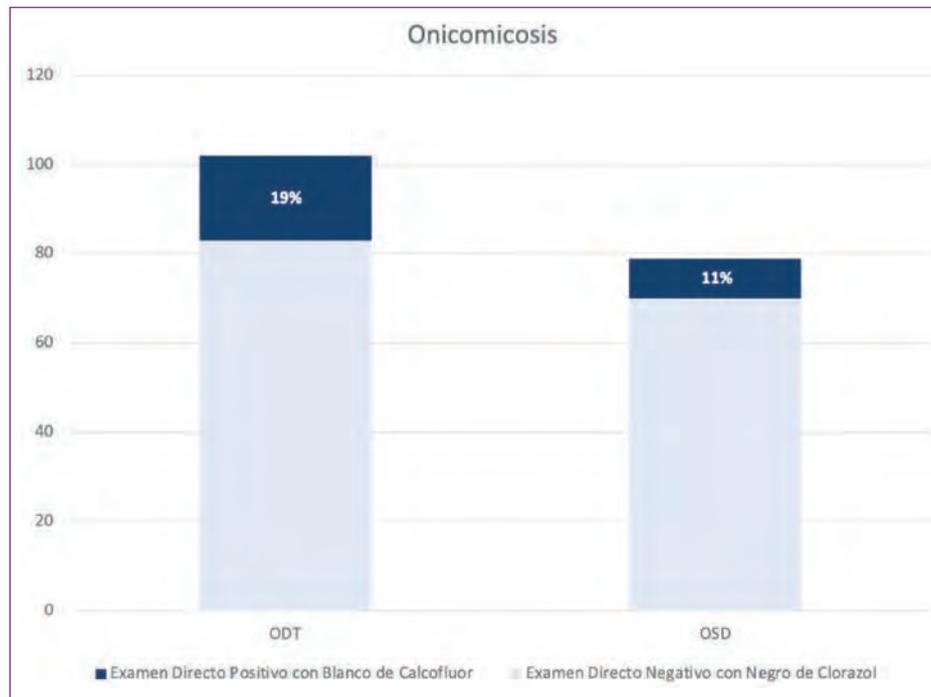
Discusión

Dada la alta frecuencia de casos positivos de onicomicosis, es necesario mencionar su creciente importancia; ya que el aumento en su incidencia y el surgimiento de patógenos plantea desafíos tanto en el diagnóstico como en el tratamiento.

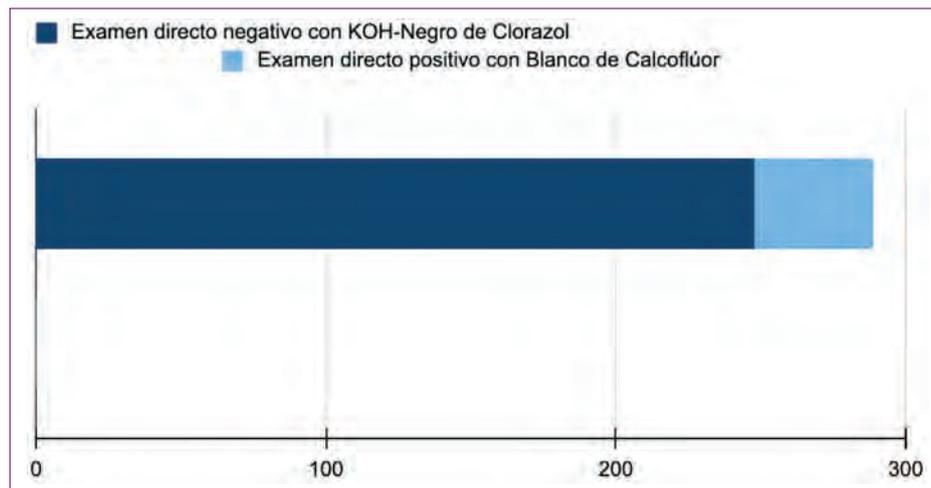
Un diagnóstico incorrecto de onicomicosis conlleva a un retraso en el tratamiento adecuado, mientras que un diagnóstico preciso no sólo optimiza el uso de recursos

terapéuticos, sino que también es crucial para la resolución efectiva de la enfermedad. En este contexto, el examen directo con blanco de calcoflúor se destaca como una herramienta diagnóstica efectiva. Además, este método requiere poca experiencia por parte del observador, se realiza de manera sencilla, consume poco tiempo y tiene un costo bajo. Sin embargo, es importante tener en cuenta que su interpretación precisa requiere un microscopio de fluorescencia, lo que limita su aplicabilidad fuera de un entorno hospitalario.³

La discrepancia entre la sensibilidad de 100% y la especificidad de 83.5% destaca la capacidad del blanco de calcoflúor para identificar correctamente los casos positivos. En concordancia con el estudio mencionado, Sánchez



Gráfica 4. Porcentaje de onicomicosis distrófica total (ODT) y onicomicosis subungueal distal (OSD) con examen directo positivo utilizando blanco de calcoflúor.



Gráfica 5. Efectividad en la detección de casos no identificados previamente.

y colaboradores³ informan que el examen directo con blanco de calcoflúor tiene una sensibilidad de 86.42% y una especificidad de 60.71%. No obstante, estos resultados contrastan con los hallazgos del equipo de Gupta, que reporta una sensibilidad de 31.3%.⁹

Se observó que la razón de verosimilitud positiva fue de seis, lo que significa que es seis veces más probable que el estudio arroje un resultado positivo cuando el paciente realmente padece de dermatofitosis. Por otro lado, la razón de verosimilitud negativa fue de cero, lo cual indica

que no hay cambio en la probabilidad de que el paciente presente dermatofitosis cuando el resultado de la prueba es negativo.¹⁰

El análisis demográfico proporciona una visión integral de la población estudiada y destaca la prevalencia de la dermatofitosis en diferentes grupos de edad y sexo. Estos datos son esenciales para comprender la epidemiología de la dermatofitosis en la población local y pueden tener implicaciones importantes para el manejo clínico y la planificación de estrategias preventivas.

Conclusiones

El presente estudio comparativo entre el examen directo con blanco de calcoflúor y el tradicional KOH-negro de clorazol ha arrojado resultados significativos que tienen que ver con la forma en que abordamos el diagnóstico de dermatofitosis. La utilización del blanco de calcoflúor ha demostrado ser una alternativa altamente efectiva, con gran capacidad para identificar casos que podrían pasar desapercibidos mediante el negro de clorazol. La introducción del blanco de calcoflúor podría representar un avance importante en la identificación precisa de dermatofitosis. Este cambio en el paradigma diagnóstico tiene el potencial de mejorar la atención dermatológica, impulsando la calidad de la práctica clínica.

BIBLIOGRAFÍA

1. Moskaluk AE y VandeWoude S, Current topics in dermatophyte classification and clinical diagnosis, *Pathogens* 2022; 11(9):957. DOI: 10.3390/pathogens11090957.
2. Begum J, Mir NA, Lingaraju MC, Buyamayum B y Dev K, Recent advances in the diagnosis of dermatophytosis, *J Basic Microbiol* 2020; 60(4):293-303. DOI: 10.1002/jobm.201900675.
3. Sánchez AK, Martínez RFF, Morales MEM, Villegas Acosta L, Meneses González F y Arenas Guzmán R, Sensitivity and specificity of mycological direct examination with calcofluor white for the diagnosis of onychomycosis, *Med Cutan Iber Lat Am* 2013; 41(6):261-6.
4. De Hoog GS, Dukik K, Monod M *et al.*, Toward a novel multilocus phylogenetic taxonomy for the dermatophytes, *Mycopathologia* 2017; 182(1-2):5-31. DOI: 10.1007/s11046-016-0073-9.
5. Ramos L, Mellado S, Ramadán S, Bulacio L y López C, Empleo de blanco de calcoflúor para el estudio de las especies de *Malassezia* por microscopía directa, *Revista Argentina de Microbiología* 2006; 38(1):4-8.
6. Matthapan L, Leeyaphan C, Limphoka P, Lertrujivanit K, Prasong W y Bunyaratavej S, Accuracy of interpretation of fungi by direct microscopy using chlorazol black e versus gold standard potassium hydroxide, *J Med Assoc Thai* 2021; 104(3):383-7.
7. Thomas PA, Kaliamurthy J, Jesudasan CA y Geraldine P, Use of chlorazol black E mounts of corneal scrapes for diagnosis of filamentous fungal keratitis, *Am J Ophthalmol* 2008; 145(6):971-6. DOI: 10.1016/j.ajo.2008.01.020.
8. Yadav S, Saxena AK, Capoor MR y Ramesh V, Comparison of direct microscopic methods using potassium hydroxide, periodic acid Schiff, and calcofluor white with culture in the diagnosis of onychomycosis, *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2013; 79:242-3.
9. Gupta AK, Zaman M y Singh J, Diagnosis of *Trichophyton rubrum* from onychomycotic nail samples using polymerase chain reaction and calcofluor white microscopy, *J Am Podiatr Med Assoc* 2008; 98(3):224-8. DOI: 10.7547/0980224.
10. Torregroza DEJ, Pruebas diagnósticas: razones de probabilidad, *Rev Colomb Cir* 2021; 36(3):403-10. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.30944/20117582.717>.