

Estudio de 87 casos de tiñas en una zona rural

Sr. Editor: Las tiñas son infecciones superficiales de la piel y anejos producidas por hongos dermatofitos¹. Su prevalencia es difícil de determinar, al no ser una enfermedad de declaración obligatoria. Diferentes trabajos españoles revelan cambios temporales tanto en las formas clínicas como en los distintos agentes etiológicos^{1,2}. Un reciente estudio multicéntrico español destacó el predominio de la *Tinea corporis* en la zona sur, y la *Tinea unguium* en el norte y levante. Los agentes etiológicos fueron, por orden de frecuencia, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Microsporum canis*³.

El objetivo del presente estudio fue conocer las formas clínicas y los dermatofitos más frecuentes de nuestra zona, así como comparar dos métodos diagnósticos (KOH frente a cultivo).

Se han estudiado 117 lesiones sospechosas de tiñas en pacientes que procedían de una consulta de atención primaria (AP) de la zona básica de salud de Mota del Cuervo (Cuenca) con una población de referencia de 1561 usuarios. El período de estudio fue de 7 años (1996-2002).

Se consideró lesión sospechosa de tiña en piel lampiña y cuero cabelludo toda placa eritemato-descamativa con tendencia al crecimiento excéntrico y curación central. En uñas, la presencia de una hiperqueratosis subungueal y/o cambios en la coloración.

De cada paciente se recogieron las siguientes variables: 1) edad, 2) sexo, 3) localización, 4) animales de compañía, 5) examen directo con KOH al 20% (KOH al 40% para las onicomiosis) y 6) cultivo y especie de dermatofito aislada.

Las muestras se obtuvieron de diversas maneras según su localización². En la piel lampiña mediante raspado con bisturí de las escamas de la periferia de la lesión, previa limpieza de la zona con alcohol de 70°. En el cuero cabelludo por raspado y arrancamiento de varios pelos, y en las uñas, con raspado y corte de las mismas.

De todas las muestras obtenidas una parte se utilizó para examen directo con KOH y otra para cultivo específico de dermatofitos (Phytec MC Vetóquinal). Los cultivos se incubaron a 28 °C durante 1 mes con lecturas cada 2-3 días. Para la identificación de la especie se consideraron criterios tanto macroscópicos como microscópicos (tinción con azul de metileno) (Merck KGaA)⁴. El KOH y el cultivo fueron leídos por personas distintas.

El estudio estadístico se realizó con el programa informático G-Stat.

Se aislaron dermatofitos en 87 casos (25 varones y 62 mujeres), todos ellos de origen español. La relación mujer:varón ha sido 2,5/1, con una mediana de 26 años y un intervalo de 2-84 años.

Al validar los dos métodos diagnósticos (KOH frente a cultivo) mediante una tabla de 2 x 2, se obtuvo una sensibilidad y especificidad del KOH del 86,45% y 80,95%, respectivamente (tabla 1).

La forma clínica más frecuente fue la *T. corporis* con 60 casos (68,9%), seguida de *T. pedis* con 9 (10,34%), la *T. unguium* con 7 (8,04%), la *T. manuum* con 4 (4,59%), la *T. capitis* con 3 (3,44%), la *T. cruris* con 3 (3,44%) y la *T. barbae* con 1 (1,14%).

Las especies identificadas por orden de frecuencia fueron: *M. canis*, 29 (34%); *T. mentagrophytes* variedad *mentagrophytes*, 20 (23%); *T. rubrum*, 16 (18%); *T. mentagrophytes* variedad *interdigitale*, 16 (18%), y *Epidermophyton floccosum*, 6 (7%).

Sólo se encontró asociación entre *T. corporis* y *M. canis*.

Se encontraron dos brotes familiares de 4 individuos cada uno, en los que la fuente de infección fue una gata infectada por *M. canis*. Además, se diagnosticaron dos casos de *T. incognita*.

Existen pocos trabajos en zonas rurales sobre dermatofitos; la mayoría se han realizado en población urbana y hospitalaria^{3,5}.

La sensibilidad del KOH fue alta, lo que hace que esta técnica sea recomendable por su sencillez y bajo coste para un diagnóstico rápido en AP. En contraposición, el cultivo es caro, requiere un tiempo mínimo de crecimiento y retrasa el tratamiento. No hubo diferencias en la sensibilidad en función de las especies de dermatofitos.

No se pudo calcular el valor predictivo positivo y negativo por no tener datos de prevalencia en nuestra comunidad.

El patrón epidemiológico de las tiñas se ha modificado a lo largo del tiempo debido a factores de índole socioeconómica, higiénicos, migratorios y terapéuticos¹.

La forma clínica más frecuente en nuestra serie ha sido la *T. corporis* como en otros trabajos^{3,5,6}.

Sin embargo, la *T. capitis*, tan frecuente hace años, ha sufrido una importante disminución debido a los factores ya citados^{1,7}.

Llama la atención la baja frecuencia de *T. unguium* en comparación con otros estudios^{5,6}, debido a su curso asintomático.

TABLA 1. Comparación del KOH frente a cultivo

Cultivo	KOH		Total
	Negativo	Positivo	
Negativo	17	13	30
Positivo	4	83	87
Total	21	96	117

KOH: hidróxido de potasio.

En nuestra serie, la especie más frecuente fue el *M. canis*, seguida de *T. mentagrophytes* variedad *mentagrophytes*. Sin embargo, existen diferencias de unas zonas a otras³. En los últimos años se ha constatado que la mayor parte de las tiñas están causadas por *T. rubrum*^{3,6}. No se han encontrado dermatofitos emergentes, puesto que la población estudiada era exclusivamente española.

Se describen dos brotes familiares cuya fuente de infección fueron dos gatas infectadas por *M. canis*. Dado que la mayoría de las tiñas en los animales cursan de manera asintomática, es conveniente su diagnóstico y tratamiento precoz para evitar su contagio⁸.

El *M. canis* fue el agente más aislado en *T. capitis* y *T. corporis* y el *T. rubrum* en la *T. unguium*. Sin embargo sólo hubo asociación significativa con la *T. corporis*.

Sería interesante la realización de más estudios epidemiológicos para conocer la prevalencia de las tiñas y especies dominantes en nuestra región, ya que nuestro trabajo sólo representa una pequeña aportación.

Jesús Ildefonso García-Morán^a
y María Teresa Jarabo-García^b

^aCentro de Salud Belmonte. ^bCentro de Salud de San Clemente. Cuenca. España.

Bibliografía

- Crespo V, Vera A, Ojeda A, Crespo A, Sánchez Fajardo F. Epidemiología de las tiñas en España. *Piel*. 1999;14:175-85.
- Pereiro Miguens M, Pereiro M, Pereiro M Jr. Review of dermatophytosis in Galicia from 1951 to 1987, and comparison with other areas of Spain. *Mycopathologia*. 1991;113:65-78.
- Monzón de la Torre A, Cuenca-Estrella M, Rodríguez-Tudela JL. Epidemiological survey of dermatophytosis in Spain (April-June 2001). *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2003;21:477-83.
- Richardson M, Elewski B. Diagnóstico de laboratorio. En: Infecciones fúngicas superficiales. Barcelona J&C. Ediciones Médicas. 2002:13-22.
- Del Palacio A, Cuétara MS, Valle A, González A, Almondarain I, Ramos Castillo MJ, et al. Cambios epidemiológicos observados en un decenio en las dermatofitosis del hospital universitario 12 de Octubre de Madrid: nuevas especies emergentes. *Rev Iberam Micol*. 1999;16:101-6.

6. Monod M, Jaccoud S, Zaugg C, Lechéne B, Baudraz F, Panizzon R. Survey of dermatophyte infections in the Lausanne area (Switzerland). *Dermatology*. 2002;205:201-3.
7. Gilaberte Y et al. Tinea capitis in infants in their first year of life. *Br J Dermatol*. 2004;151:886-90.
8. Segundo C, Martínez A, Arenas R, Fernández R, Cervantes RA. Dermatocosis por *Microsporum canis* en humanos y animales. *Rev Iberoam Micol* 2004;21:39-41.

Evaluation of Cobas Ampliprep Automated Nucleic Acid Extraction for Genotyping Human Papillomavirus (HPV) by the Roche linear array HPV Test

To the Editor: Human papillomavirus (HPV) infection is one of the most common sexually transmitted diseases. Certain HPV genotypes, the so-called high-risk genotypes (HR), have an established role in cervical carcinogenesis. Detection of HR genotypes in cervical samples is an important measure for preventing cancer of the cervix and, together with Papanicolaou smears, is the cornerstone of cervical cancer screening. Currently, two useful assays are available for detecting HPV in cervical samples, hybrid capture (HC) and polymerase chain reaction (PCR). PCR has several advantages over HC, but also some problems; mainly, the test is time-consuming, experience in molecular assays is needed, and cross-contamination is common. A validated, reliable, fast, easy to perform, semi- or fully-automated assay would be desirable for HPV detection and genotyping, particularly in laboratories that handle a large number of samples. Genotyping methods are important for improving our understanding of the progression of infection to cervical cancer, since individual risk stratification, the prevalence and persistence of infection, and the onset of new infections can be determined by genotyping¹. The development of HPV vaccine also depends on typing².

Stevens et al recently described an automated extraction system, Roche MagNA Pure LC, as an alternative method for specimen processing before using the linear array HPV test (LA) for detecting and genotyping HPV³. The authors recommend the use and validation of automated nucleic acid purification platforms to simplify the assay's extraction step. The Cobas AmpliPrep (CA) (Roche Diagnostics, S.L., Barcelona, Spain) instrument is used for quantification of hepatitis B, hepatitis C, HIV, CMV and other viruses in clinical samples in many clinical microbiology labora-

tories. Our study sought to compare automated HPV nucleic acid extraction by the CA with the manual AmpliLute (MA) (Roche Diagnostics, S.L., Barcelona, Spain) protocol, a commercially available liquid media extraction kit.

DNA was extracted from 100 cervical brush samples (in PreservCyt medium) and isolated using two different procedures: 1) a 250 µl aliquot was extracted with the AmpliLute Liquid Media Extraction (EXTRN) kit according to the manufacturer's instructions; and 2) a 800 µl aliquot added to 250 µl ATL (EXTRN kit) was extracted using the automatic nucleic acid extraction method of the CA, using a procedure that involved modification of the CS3 cassette of the Total Nucleic Acid Isolation (TNAI) kit (Roche Diagnostics, S.L., Barcelona, Spain). AVE buffer (EXTRN kit) was used instead of elution buffer in the TNAI EB bottle and CAR (EXTRN kit) and diluent were added to the empty GPV vial. Then, all samples were analyzed by LA assay for HPV genotyping by automated system using the recommended protocol, except that a 100-µl aliquot of the CA denatured amplicons was used. The staff carrying out the study had not been specifically trained in molecular techniques. One positive and one negative control were processed with each run of up to 22 specimens. The internal control included in the kit was β-globin. An additional primer pair targets the human β-globin gene, which was isolated concurrently. All 100 samples analyzed generated positive high and low β-globin results (two visible bands for each strip) using the two protocols, thus demonstrating adequate specimen integrity, DNA extraction, and amplification⁴.

High-risk HPV types were detected by both manual and automated protocols in 45/100 cervical samples; 48/100 samples tested negative, a nearly perfect concordance level ($\kappa = 0.86 \pm 0.09$). Manual AmpliLute detected six additional HR-HPV-positive samples (2 HPV-16, 2 HPV-31, 1 HPV-45, and 1 HPV-68) and CA revealed one additional positive result (HPV-51). An alternative test, Hybrid Capture II (HC2) (Digene, Gaithersburg, USA), was used to analyze discrepant samples. Four HR-HPV were negative and three positive, one of them with low signal intensity. Table 1 lists the results of these 7 discrepant samples with all the methods used (MA, CA and HC2), as well as the cytology data⁵. Some cross-contamination cannot be ruled out in the MA results. In fact, cross-contamination was not unexpected considering the manner in

which the manual method is performed. Our data show that for detecting HR-HPV in cytology specimens with borderline changes, MA detected slightly more cases and reached a higher analytic sensitivity than CA. Both tests performed similarly with respect to identification of HPV in high-grade disease.

In practical terms, several molecular methods have been described for identifying type-specific HPV genotypes⁵. Although PCR-based assays have not yet been approved by the U.S. Food and Drug Administration for clinical use, they provide a rapid means of HPV detection and genotyping in clinical practice. The LA HPV genotyping test is a standardized, consistent, rapid method for detecting and typing up to 37 HPV mucosal genotypes⁶. Nevertheless, MA can be time-consuming and labor-intensive in clinical settings where many cervical samples are processed. In this context, and based on our data, we propose to replace the manual extraction step by the automated method evaluated in our study. This method provides several advantages and, in agreement with Stevens' results³, the two extraction methods demonstrated only slight differences in the outcome, although a small number of samples were analyzed and larger studies would be desirable. The use of an automated system for DNA isolation would greatly improve simplicity, time and labor efficiency, and reduce potential sample cross-contaminations, thus allowing many cervical samples to be processed simultaneously for cervical cancer screening.

Ana Fernández-Olmos,
Jesús Chacón, María Luisa Mateos
y Fernando Baquero
Servicio de Microbiología.
Hospital Universitario Ramón y Cajal.
Madrid. Spain.

TABLE 1. High-risk HPV detection by AmpliLute (MA), COBAS AmpliPrep (CA), Hybrid Capture II (HC2) and cytology⁶ in discordant samples

Patient	MA	CA	HC2	Cytology
1	45	N	N	L-SIL
2	31	N	N	L-SIL
3	68	N	HR*	L-SIL
4	16	N	N	ASCUS
5	31*	N	N	ASCUS
6	16*	N	HR	ASCUS
7	N	51	HR	L-SIL

*Weak signal. ASCUS: atypical squamous cells of undetermined significance; L-SIL: low-grade squamous intraepithelial lesion; HR: high-risk HPV; N: negative.