

Artículos

- **Utilidad del test de Tzanck en úlceras del pie diabético. Revisión de casos**
- **Introducción**
- **Materiales y métodos**
- **Resultados**
- **Discusión**
- **Referencias**

Marcel Marcano-Lozada

marcelmarcano@gmail.com
Unidad de Microbiología Médica, Angios,
Centro Vascular y Clínica de Heridas y
Cátedra de Microbiología, Escuela de
Medicina "J. M. Vargas", Universidad
Central de Venezuela.

Silvia Molero

Médico Internista, Angios, Centro
Vascular y Clínica de Heridas.

Microbiología

Utilidad del test de Tzanck en úlceras del pie diabético. Revisión de casos

Fecha de recepción: 29/11/2012

Fecha de aceptación: 20/01/2013

En nuestra experiencia el Test de Tzanck ha sido una herramienta útil en la orientación diagnóstica de lesiones ulcerosas en pacientes inmunocomprometidos, donde la clásica lesión vesicular puede estar ausente o ser efímera. **Objetivos.** Conocer la eficacia del Test de Tzanck como herramienta diagnóstica de infección herpética en pacientes diabéticos con lesiones ulcerosas a nivel de pies. **Material y métodos.** Estudio retrospectivo que evalúa los informes de laboratorio de la Unidad de Microbiología Médica de Angios Centro Vascular y Clínica de Heridas entre Octubre de 2010 y Septiembre de 2011, de pacientes con úlceras crónicas asociadas al pie diabético, a quienes como parte del "perfil infeccioso de estudio de lesiones ulcerosas" se les practicó la prueba de Tzanck en muestras de secreción de úlceras realizando frotis por aposición en dichas lesiones, previa limpieza y remoción del exudado de las mismas. **Resultados.** Estudiamos 87 úlceras crónicas a nivel de pie de pacientes diabéticos, con predominio de diabetes mellitus tipo 2 (n=72, 82,8%), sexo femenino (n=67, 77%) y edad promedio de 64 años (19-89 años); con una diagnóstico de enfermedad promedio hace 16,5 años; la Hb1Ac demostro descontrol metabólico en 57 pacientes (65,5%). La principal localización fue talar (n=61, 70,1%), antepié (n=12, 13,8%), dorso (n = 8, 9,2%) y maléolos (n = 6, 6,9%). La clasificación de Wagner permitió clasificar a 65 úlceras en el grado 1; 12 en el grado 2 y 10 en grado 3. El frotis de Tzanck fue positivo en 10/87 pacientes (11,5%), siendo más frecuentemente positivo en las lesiones a nivel de dorso del pie (n=4, 50%) y maléolos (n=30, 50%), seguidas por talón (n=2, 3,28%) y antepié (n=1, 8,3%), sin diferencias estadísticamente significativas a nivel anatómico y con predominio de positividad en diabéticos no insulino dependientes. **Conclusión.** El Test de Tzanck debe ser incorporado en el plan de estudio de las úlceras crónicas del pie diabético, siendo los pacientes diabéticos no insulino dependientes los que mostraron mayor positividad del mismo. La localización de la úlcera en los puntos de apoyo (talón y antepié) se asoció con menor positividad del Test de Tzanck que aquellas lesiones en dorso y maléolos.

Palabras Claves: Test de Tzanck; úlceras; pie diabético

Title

Utility of Tzanck's test in Diabetic Foot Ulcers. Review of Cases

Abstract

In our experience the Tzanck's test has been a useful tool in guiding the diagnosis of ulcerative lesions in immunocompromised patients, where the classic vesicular lesions may be absent or ephemeral. **Objectives.** To evaluate the value of Tzanck's test as a diagnostic of herpetic infection in diabetic patients with foot ulcer. **Material and methods.** It is a retrospective study evaluating laboratory reports from the Medical Microbiology Unit at Angios Vascular Center & Wound Clinic between October 2010 to September 2011, in patients with diabetic chronic foot ulcers associated, as part of the study of "infectious profile for ulcerative lesions", Tzanck's Test was performed on smears from ulcer exudates by the apposition procedure, after cleaning and removing secretions. **Results.** We studied chronic foot ulcers from 87 diabetic patients, with predominance of type 2 diabetes mellitus (n = 72, 82.8%), female (n = 67, 77%), mean age 64 years (19-89 years) with mean diagnosis time of 16.5 years, the uncontrolled metabolic condition was demonstrated by means of Hb1Ac values in 57 patients (65.5%). The main location was at the heel (n = 61, 70.1%), forefoot (n = 12, 13.8%), back (n = 8, 9.2%) and malleolus (n = 6, 6.9%

). The Wagner classification allowed to define 65 ulcers as grade 1, 12 grade 2 and 10 grade 3. The Tzanck's test was positive in 10/87 patients (11.5%), being more often positive lesions at the back of the foot (n = 4, 50%) and malleolus (n = 30, 50%), followed by heel (n = 2, 3.28%) and forefoot (n = 1, 8.3%), there were no statistically significant differences for the anatomical position and was predominantly positive in non-insulin dependent diabetics. Conclusion. The Tzanck's test should be incorporated into the study procedure of chronic diabetic foot ulcers, however, location of the ulcer at the weight wearing points (heel and forefoot) was associated with less positive test, than when ulcers were at back (dorsum) and malleoli.

Key Word

Tzanck's test; ulcers; diabetic foot

Utilidad del test de Tzanck en úlceras del pie diabético. Revisión de casos

Introducción

El Test de Tzanck sigue siendo el método más rápido para verificar de forma presuntiva la infección por *Herpesvirus*, basándose en la detección de los cambios en las células epiteliales producto del efecto citopático del virus^(1,2). La técnica clásica del Test de Tzanck consiste en la realización de la coloración de Giemsa en un frotis por aposición del lecho que queda al decapitar lesiones vesiculares, para evidenciar las células gigantes multinucleadas, que son indicativas del efecto citopático del virus sobre el epitelio⁽³⁻⁷⁾.

Su mayor positividad se describe en las muestras de vesículas decapitadas (llegando hasta 70%)⁽⁸⁾, sin embargo, en nuestras experiencias previas en diversos pacientes inmunocomprometidos de diversas índoles, se ha obtenido elevada positividad en las lesiones ulcerosas que presentan estos pacientes como manifestación principal^(9,10).

Debido a su bajo costo, resultado rápido y fácil implementación, se encuentra incluido en el plan de estudio de los pacientes con úlceras que ingresan a nuestro centro, una clínica de estudios vasculares con una Unidad especializada en cicatrización dirigida. A estos pacientes se les practica -si es el criterio de su médico tratante-, un "perfil infeccioso de úlceras", que incluye tinciones de Gram, Ziehl-Neelsen y Test de Tzanck, cultivos para microorganismos piógenos, micológicos y micobacteriológicos; todo ello con la finalidad de intentar demostrar la etiología infecciosa asociada a la persistencia o inexplicable debut de lesiones ulcerosas.

Las úlceras que no cicatrizan tienen diferentes etiologías, siendo la vascular la principal, seguida por las traumáticas, metabólicas e infecciosas. Dentro de las úlceras de naturaleza infecciosa el primer lugar lo ocupan las bacterias piógenas clásicas como *S. aureus*, a continuación las Gramnegativas como *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*; y en raros casos se consideran a los virus, principalmente a los herpesvirus como posibles agentes etiológicos, asociados a condiciones de inmunodepresión. Los hongos se consideran oportunistas o colonizantes en las úlceras, principalmente en las crónicas⁽¹¹⁾.

El pie diabético es un compendio de causas a identificar en aquellas lesiones que no cicatrizan, donde la valoración vascular y neurológica son esenciales, siendo la infección una causa frecuente de la falla en la cura de estas lesiones, llegando inclusive hasta osteomielitis o gangrena con pérdida del miembro^(12,13).

El descenso en el conteo de linfocitos T CD4⁺ (< 300 células/mL) está asociado al aumento de infección por *Virus herpes simplex* tipo II, y cuando este descenso ronda entre 100 a 50 células/mL, la infección citomegálica aparece; de manera similar, se ha observado esto asociado al Herpesvirus tipo 8 y a las neoplasias vasculares tipo Sarcoma de Kaposi (CD4 < 250/mL)^(6,7), siendo esto válido principalmente en pacientes oncológicos, pero observándose un comportamiento similar cuando existen mayores conteos de linfocitos pero con detrimento en su función, como sucede en el paciente diabético y malnutrido.

Nuestro objetivo fue presentar una alternativa que permita orientar el diagnóstico de lesiones ulcerosas en el pie diabético de probable etiología viral, para que sea considerada a incluir en el estudio de los pacientes que consultan por esta patología.

Materiales y métodos

Se trata de un estudio retrospectivo basado en los registros de laboratorio de la Unidad de Microbiología Médica de Angios Centro Vascular y Clínica de Heridas entre octubre de 2010 y septiembre de 2011, de pacientes diabéticos a quienes se les practicó el Test de Tzanck en muestras de secreción de úlceras como parte del screening infeccioso (Perfil Infeccioso de úlceras), recolectando en base de datos la información epidemiológica pertinente, enfatizando en tipo de muestra, localización anatómica y el tipo de inmunosupresión existente. Nuestro centro funciona como una institución de referencia a nivel nacional, debido a la vasta experiencia multidisciplinaria en el manejo del paciente diabético complicado.

El Perfil Infeccioso de úlceras incluye las coloraciones de Gram, Ziehl-Neelsen, Directo (KOH), Lugol y Test de Tzanck; y cultivos piógeno clásico, micológico y para micobacterias (*M. tuberculosis* y MOTT –Micobacteria Other Than Tuberculosis). El Test de Tzanck se practicó de forma convencional, similar a lo descrito en la literatura^(2,14).

La observación microscópica se practicó ubicando las áreas sospechosas con los objetivos de 10 y 40 aumentos y el diagnóstico definitivo morfológico fue por observación con objetivo de inmersión, evidenciándose la presencia de células gigantes multinucleadas sincitiales (8 o más núcleos) o su variante en “ojo de buey”, signos de degeneración en balón, y en algunos casos cuerpos de inclusión intranucleares^(1,2,8,15,16).

Análisis estadístico

Los datos se presentan en valores absolutos y porcentajes. Las diferencias entre grupos de pacientes se evaluaron utilizando la prueba de Chi cuadrado, donde $P < 0,05$ fue considerada como estadísticamente significativa; además se empleó la corrección de Yates cuando al menos el valor de una frecuencia esperada fue menor a 5. El programa computarizado empleado en el análisis estadístico fue Microsoft Excel for Mac 2011[®], versión 14.0.0 (2010[®] Microsoft Corporation).

Resultados

El estudio comprendió 87 muestras de úlceras crónicas en pies de pacientes diabéticos (67 femeninos/20 masculinos -relación femenino/masculino 3,35-), con una media de edad de 64 años (rango 19 a 89 años), que se encuentran resumidos junto a aspectos de la enfermedad metabólica en la Tabla 1.

Tabla 1. Descripción de la población estudiada. Unidad de Microbiología Médica, Angios Centro Vascular y Clínica de Heridas, Caracas, Venezuela. 2010 - 2011.

Número de pacientes evaluados	87
Sexo y relación F/M	67 F/20 M (3:1)
Media y rango de edad	64 años (19-89)
Diabetes Mellitus I / II	72 (82,8%) / 15 (17,2%)
Tiempo de evolución desde diagnóstico	16,5 años
Descontrol metabólico (Hb1Ac)	57 (65,5%)

La distribución anatómica a nivel del pie de las lesiones ulcerosas asociadas a la clasificación de Wagner se presenta en la Tabla 2, considerando solamente 3 de los 5 grados, debido a que la osteomielitis o gangrena establecida no permitían realizar el test de Tzanck adecuadamente, por lo que solo se llegó a evaluar hasta el grado 3 representado por pacientes con celulitis y ulceración.

Tabla 2. Distribución anatómica de las lesiones ulcerosas en pies de 87 pacientes diabéticos y asociación con la clasificación de Wagner. Unidad de Microbiología Médica, Angios Centro Vascular y Clínica de Heridas, Caracas, Venezuela. 2010 - 2011.

Región anatómica	N (%)	Clasificación de Wagner		
		I	II	III
Talón	61 (70,1)	8	5	8
Antepié (planta)	12 (13,8)	20	2	2
Dorso	8 (9,2)	18	2	0
Maléolos	6 (6,9)	19	2	0

El Test de Tzanck fue positivo en 10/87 pacientes (11,5%), siendo más frecuentemente positivo en las lesiones a nivel de dorso del pie (n=4, 40%) y maleolos (n=30, 30%), seguidas por talón (n=2, 20%) y antepié (n=1, 10%), sin diferencias estadísticamente significativas a nivel anatómico entre áreas sin y con presión de apoyo (Chi cuadrado $P > 0,05$). No se demostró significancia estadística entre la positividad del Test de Tzanck y el tipo de Diabetes Mellitus (Yates $P = 0,1140$). El resumen se presenta en la Tabla 3.

Tabla 3. Positividad del Test de Tzanck en lesiones ulcerosas en pies de 87 pacientes diabéticos. Unidad de Microbiología Médica, Angios Centro Vascular y Clínica de Heridas, Caracas, Venezuela. 2010 – 2011.

Distribución Anatómica	Nro	Test de Tzanck	
		Positivo Nro (%)	Negativo Nro (%)
Talón	61	2 (3,28)	59 (97,2)
Antepié (planta)	12	1 (8,3)	11 (91,7)
Dorso	8	4 (50)	4 (50)
Maléolos	6	3 (50)	3 (50)
Total	87	10 (11,5%)	77 (88,5%)
Tipo de Diabetes			
I (DMID)	15	4 (40%)	11 (15%)
II (DMNID)	72	6 (60%)	66 (85%)

DMID = Diabetes Mellitus Insulino Dependiente; DMNID = Diabetes Mellitus No Insulino Dependiente

Discusión

En nuestra serie observamos predominio mayor de 3:1 del sexo femenino sobre el masculino, con edades avanzadas (promedio 64 años), con mayor número de diabéticos tipo II que I (casi 5:1), con un promedio de tiempo viviendo con el diagnóstico de 16,5 años y el 65,5% de los pacientes mostraban descontrol metabólico de acuerdo a la elevación de sus valores de Hb1Ac. Lo anterior resume a un paciente que ya debe presentar complicaciones macro y microangiopáticas (diabetes tipo II, larga evolución de la noxa y alteraciones Hb1Ac), asociadas

además a la senilidad; por lo que debe ser descartada la patología vascular y traumatismos al comenzar el estudio de estos pacientes; sin menospreciar el estudio en paralelo de las patologías infecciosas.

En reportes previos realizados por el autor^(9,10), el Test de Tzanck ha sido positivo en pacientes inmunocomprometidos en lesiones de tipo ulceroso sobre vesiculares, en el subgrupo de pacientes seropositivos para VIH (88,9% de positividad)⁽⁹⁾, y posteriormente en un grado mayor (67,16%) pero sin diferencias de acuerdo al tipo de inmunocompromiso (infección VIH/SIDA, neoplasias sólidas, diabetes mellitus, patologías autoinmunes, leucemias)⁽¹⁰⁾; siendo la positividad clásica del Test de Tzanck entre 30-70% para lesiones vesiculares⁽⁸⁾. Sin embargo, en el paciente diabético su positividad es menor al compararla con otras experiencias previas, debido a diversos factores, que implican desde el compromiso en inmunidad humoral, la mayor frecuencia de infecciones fúngicas y bacterianas asociadas a la condición traumática, cicatrización deficiente y la historia natural de la úlcera diabética (resumida en la clasificación de Wagner)⁽¹²⁾, pero que no permiten despreciar según nuestro reporte a los agentes virales en aquellas lesiones que no cicatrizan a pesar de contar con los cuidados adecuados. Los agentes virales rara vez son considerados en el manejo inicial de las úlceras, pero en nuestra opinión igualmente deben ser investigados con énfasis en los pacientes inmunocomprometidos de cualquier etiología, incluida la metabólica.

Aunque no se demostró significancia estadística entre la positividad del Test de Tzanck y el tipo de Diabetes Mellitus (Yates P = 0,1140), se observa la correlación descrita previamente en la literatura (desde el punto de vista clínico), donde es mayor el número de infecciones documentadas en los pacientes diabéticos no insulino dependientes^(11,17,18), pero ello no desmerece el porcentaje de infecciones herpéticas sugeridas por el Test de Tzanck en nuestro estudio; siendo este más alto que el 2,7% de infecciones herpéticas clínicamente evidentes y descritas en algunas series⁽¹¹⁾.

Cuando comparamos la lesión ulcerosa asociada a la Clasificación de Wagner⁽¹²⁾, encontramos predominio de lesiones grado I en áreas donde no hay descarga de peso (dorso y maléolos); y para los grados II y III el predominio fue en las áreas de apoyo (calcáneo y antepié). Cuando se valoraron dichas lesiones con el uso del Test de Tzanck, 7 de las que resultaron positivas se encontraron en dorso y maléolos, comparadas con solo 3 positivas en los puntos de apoyo, sin que podamos dar una respuesta específica más allá de la posibilidad de que en las áreas que no soportan presión los trayectos nerviosos pudiesen resultar más viables para el desarrollo de la infección viral que busca un estado posterior de latencia; pues la neuropatía se agrava en las áreas de apoyo asociada a la microangiopatía diabética. Los autores como Durdu y colaboradores⁽⁸⁾, describen en pacientes no diabéticos una positividad para la tinción de Tzanck de 100%, 69,2% y 59,7% en vesículas, pústulas y lesiones erosivas, respectivamente, en nuestra área de interés en particular relacionada al inmunocompromiso metabólico, nos enfrentamos a lesiones ulcerosas (erosivas) y obtuvimos 11,5% de positividad, lo cual es alto al considerar la patología de base de nuestros pacientes, y más aún al analizarlo contra hallazgos clínicos expertos⁽¹¹⁾, pues no encontramos reportes del uso del Test de Tzanck en diabéticos para poder tener un punto de comparación "cabeza a cabeza".

Para el médico especialista, bien sea dermatólogo, infectólogo, internista, cirujano, u otro, el Test de Tzanck sigue siendo una alternativa diagnóstica a considerar si hay sospecha de infección herpética. Por su rapidez, sencillez y bajo costo es de fácil implementación en centros de salud públicos o privados, permitiendo optimizar el uso de otras metodologías más invasoras como la biopsia o más costosas como las determinaciones de biología molecular para identificar agentes infecciosos^(9,10,15,16).

Nuestra intención con la difusión de la experiencia acumulada, es señalar al Test de Tzanck como un método útil para el diagnóstico diferencial en lesiones ulcerosas de etiología viral en pacientes inmunocomprometidos de causa metabólica, y que puede orientar al especialista que asiste al paciente (p.e. en Unidad de Cicatrización Dirigida), ya que junto al resto de los estudios que manejamos nos evidencia la importancia de considerar el uso de esta prueba para orientar la terapéutica y la conducta^(9,10).

Otros usos del Test de Tzanck, los cuales caen en su mayoría en el campo del dermatólogo experto, pero en los cuatro primeros el apoyo microbiológico es útil (relacionados a infecciones bacterianas, fúngicas, virales y parasitarias):

- Enfermedades infecciosas bacterianas (Impétigo buloso, Síndrome de piel escaldada estafilocócica, Micobacteriosis, Angiomatosis bacilar)
- Infecciones fúngicas (Dermatofitosis, Candidosis, Aspergilosis, Mucormicosis, Blastomicosis y Esporotricosis)

- Infecciones virales (Herpéticas, Virus del Papiloma Humano, molusco contagioso, síndrome mano-boca-pie)
- Parasitosis (Amebiosis cutánea, escabiosis, demodicidosis, leishmaniosis).
- Genodermatosis (enfermedades de Darier y de Hailey-Hailey).
- Desordenes inmunológicos cutáneos (penfigo vulgar, síndrome de Stevens-Johnson, penfigoide buloso, liquen plano erosivo y necrolisis epidérmica tóxica, eritema multiforme).
- Identificación de lesiones tumorales cutáneas (basaliomas, carcinoma escamocelular, enfermedad de Paget, eritroplasia de Queyrat, mastocitomas, histiocitosis X, Sarcoma de Kaposi).
- Dermatitis espongíóticas (Dermatitis de contacto alérgica, dermatitis de contacto irritante)
- Enfermedades granulomatosas (granuloma anular, necrobiosis lipoidica, granuloma a cuerpo extraño, xantogranuloma juvenil)

Por todo lo previamente descrito, el test de Tzanck no debe ser subestimado por el médico clínico, y debe considerarse dentro del plan de estudio del paciente diabético con lesiones erosivas o úlceras^(1,9,10,15,16).

Referencias

1. Durdu M, Seçkin D, Baba M. The Tzanck smear test: rediscovery of a practical diagnostic tool. *Skinmed* 2011 Jan-Feb;9(1):23-32
2. Gupta LK, Singhi MK. Tzanck smear: A useful diagnostic tool. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2005;71:295-9.
3. Reisner BS, Woods GL, Thomson RB, Larone DH, Garcia LS, Shimizu RY. Specimen processing. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 7th ed. ch 5, Washington DC: American Society for Microbiology; 1999. p. 64-104.
4. Corey L. Herpes Simplex Virus. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and practice of infectious diseases vol II*. 5th ed. ch 125, New York: Churchill Livingstone Inc.; 2000. p. 1564-80.
5. Brunton S. Genital Herpes and the Primary Care Practitioner. *CME.Medscape.com* 05/27/2003. Disponible en: http://cme.medscape.com/viewarticle/453590_print
6. Whitley RJ. Varicella Zoster Virus. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and practice of infectious diseases vol II*. 5th ed. ch 126, New York: Churchill Livingstone Inc.; 2000. p. 1580-6.
7. Lawley TJ, Yancey KB. Estudio del paciente con trastornos cutáneos. En: Fauci A, Braunwald E, Isselbacher K, Wilson J, Martin J, Kasper D, Hauser S, Longo D, editores. *Harrison. Principios de Medicina Interna vol 1*. 14 ed. cap 54, México: McGraw-Hill Interamericana; 1998. p. 336-9.
8. Durdu M, Baba M, Seçkin D. The value of Tzanck smear test in diagnosis of erosive, vesicular, bullous, and pustular skin lesions. *J Am Acad Dermatol* 2008;59(6):958-64.)
9. Marcano-Lozada MJ, Urrestarazu MI, Serrano N. El Test de Tzanck como herramienta diagnóstica en lesiones de piel. *Estudio preliminar. Rev Soc Ven Microbiol* 2006;26:27-30.
10. Marcano-Lozada M, Molero S. "El test de Tzanck en pacientes inmunocomprometidos... una metodología diagnóstica emergente y re-emergente". *Bol Venez Infectol*. 2010;21(1):32-6.
11. Mahajan S, Koranne RV, Sharma SK. Cutaneous manifestation of diabetes mellitus. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2003;69:105-108.
12. Wagner FW: Supplement: algorithms of foot care. In *The Diabetic Foot*. 3rd ed. Levin ME, O'Neal LW, Eds. St. Louis, MO, CV. Mosby, 1983, p. 291-302.
13. Armstrong DG, Lavery LA, Harkless LB. Validation of a diabetic wound classification system. The contribution of depth, infection, and ischemia to risk of amputation. *Diabetes Care*. 1998 May;21(5):855-9.

