



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMEDICAS  
DEPARTAMENTO DE SALUD PÚBLICA  
T.S.U. EN HISTOTECNOLOGIA  
TRABAJO MONOGRÁFICO**



**ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE P.A.S Y GROCOTT (G.M.S) PARA LA  
MICOSIS.**

**AUTORES: ANGELICA TERAN**

**JOSLENIS FERNANDEZ**

**TUTOR ESPECIALISTA: Prof. JOSE L. ALLES**

**VALENCIA, OCTUBRE DE 2013.**



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMEDICAS Y TECNOLOGICAS  
T.S.U. EN HISTOTECNOLOGIA  
TRABAJO MONOGRÁFICO**



**CONSTANCIA DE APROBACIÓN**

Quienes suscribimos, Prof. Lisbeth Loaiza, Directora de Escuela; y Prof. Maira Carrizales, Coordinadora del Comité de Investigación y Producción Intelectual de la Escuela. Hacemos constar que una vez obtenidas las evaluaciones del tutor, jurado evaluador del trabajo en la presentación escrita del trabajo final de grado titulado: **ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE P.A.S Y GROCOTT (G.MS) PARA LA MICOSIS**, presentado como requisito para obtener el título de Técnico Superior Universitario en Histotecnología, el mismo se considera Aprobado.

En Valencia, a los Veinticinco días del Mes de Octubre del año Dos Mil Trece.

---

Prof. Lisbeth Loaiza  
Directora

---

Prof. Maira Carrizales  
Coordinadora



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMEDICAS  
DEPARTAMENTO DE  
T.S.U. EN HISTOTECNOLOGIA  
TRABAJO MONOGRÁFICO**



**CONSTANCIA DE ENTREGA**

La presente es con la finalidad de hacer constar que el Trabajo Monográfico titulado:

**ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE PAS Y GROCOTT PARA LA MICOSIS.**

Presentado por los bachilleres:

Nombre y apellido: ANGELICA TERAN C.I. 21.584.318

Nombre y apellido: JOSLENIS FERNANDEZ C.I.20.968.010

Fue leído el trabajo monográfico y se considera que cumple con los parámetros metodológicos exigidos para su aprobación. Sin más a que hacer referencia, se firma a los Veinticinco días del mes de octubre del año 2013.

Prof. \_\_\_\_\_

C.I.Nº \_\_\_\_\_

Firma del Tutor

(O Representante de la Comisión Revisora)



UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMEDICAS  
T.S.U. EN HISTOTECNOLOGIA  
TRABAJO MONOGRÁFICO



ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE PAS Y GROCOTT PARA LA  
MICOSIS

AUTORES: ANGELICA TERAN  
JOSLENIS FERNANDEZ

TUTOR ESPECIALISTA: Prof. JOSE L. ALLES

Año: 2013.

RESUMEN

Las micosis son las enfermedades producidas por hongos. Existen muchos tipos de hongos pero no todos afectan al ser humano. Los que habitualmente lo afectan son aquellos que están acostumbrados a vivir en él. Si bien existen micosis superficiales y profundas, las que se ven frecuentemente en la consulta diaria son las primeras, que comprometen las capas superficiales de la piel. Hay múltiples factores que favorecen la instauración de las micosis, sobre todo cambios en los protocolos, climato ecológico, socio-económicos y migratorios, entre los que se puede destacar a los enfermos muy debilitados inmunológicamente. **Objetivo General:** establecer diferencias entre la reacción de P.A.S y Grocott (GMS) para detección de la micosis. **Desarrollo:** Las enfermedades infecciosas emergen como causas de patologías en nuestros pacientes. Entre las posibles etiologías, las micosis son una de sus causas, habiendo experimentado un considerable aumento en las dos últimas décadas. El Protocolo de P.A.S trata de una técnica histoquímica de reacción y coloración ya que tiñe de forma específica los componentes celulares asociados a micosis. En conclusión se puede señalar que la reacción de P.A.S es de gran utilidad; ya que esta tiene un mayor potencial de uso en las muestras histológicas para detección de las micosis, considerándose precisa y autentica al teñir el glucógeno de la membrana basal de epitelios, anexos, vasos y resalta otras estructuras y células de la piel.

**Palabras Claves:** Micosis, P.A.S, Grocott (G.M.S.).

ABSTRAC

Summary fungal infections are diseases caused by fungi. There are many types of fungi, but not all affect human beings. Which usually affect it are those who are accustomed to live in it. Although there are superficial and deep Mycosis, which are frequently seen in the daily consultation are the first, involving the superficial layers of the skin. **General objective:** to compare the study between pas and grocott for fungal infection. **Development:** Emerging infectious diseases as a cause of disease in our patients. Among the possible etiologies, fungal infections are one of their causes, having experienced a considerable increase in the last two decades. PAS staining is a Histochemical staining technique since it stained specifically cell and tissue components.

**Key words:** Mycosis, P.A.S, Grocott. (G.M.S).

## Introducción

A nivel mundial se ha demostrado que la patología fúngica ha experimentado un considerable aumento, sobre todo en pacientes inmuno deprimidos, pero no exclusivamente en ellos. Su incidencia se ha tasado en un aumento de más del 300% durante las dos últimas décadas. Hay múltiples factores o que favorecen la instauración de las micosis, sobre todo cambios en los protocolos, climato ecológicos, socio-económicos y migratorios, entre los que podemos destacar a los enfermos muy debilitados inmunológicamente, el sida, el uso y abuso de antibióticos o de fármacos inmunosupresores, los trasplantes, las leucemias y linfomas, o la realización de una medicina cada vez más agresiva. Éstos y otros factores hacen que las micosis tengan esta alta incidencia, como hemos comentado anteriormente.

(1)

Existen varios tipos de micosis, como son. Candidiasis: Infección de la piel por Cándida. Es muy frecuente. Causa gran parte de las dermatitis del pañal y es especialmente común en la diabetes y en el embarazo, así como en obesos y en zonas de especial transpiración. (2)

El muguet oral es una forma de candidiasis que afecta a las mucosas de la boca y que se da especialmente en tratados con corticoides inhalados (asma) y en inmunodeprimidos (por infección HIV, entre otros). Dermatofitosis (Tiñas): Infección de la piel por mohos o dermatofitos. (2)

Puede ocurrir en cualquier zona del cuerpo, pero se produce sobre todo en áreas cálidas y húmedas de la piel. Dependiendo de su localización las tiñas se llaman de forma distinta. Por ejemplo: la del pie es conocida como pie de atleta (Tinea pedis); la de las ingles o área genital, eczema marginado de hebra o tiña cruris; la de las áreas descubiertas, herpes circinado o tinea corporis, y finalmente las del cuero cabelludo, tiña tonsurante, tinea capitis. (2)

Las dermatofitosis son muy contagiosas. Se transmiten por contacto directo y a través de zapatos, calcetines, toallas, duchas y piscinas. La susceptibilidad a la infección está aumentada en situaciones de poca higiene, calzado oclusivo, humedad y lesiones de la piel o las uñas. (2)

Clínicamente, o a partir de preparaciones citológicas y/o biópsicas, es difícil diferenciar e identificar correctamente las más de 400 especies de hongos descritas hasta el momento como patógenos para el hombre. Para un diagnóstico más correcto es muy importante la colaboración entre clínicos, microbiólogos y patólogos, profundizando, sobre todo, en los protocolos de toma y procesado de las muestras. La metodología de estudio del patólogo se basa, fundamentalmente, en reconocer la morfología del hongo para su identificación, pero también en observar determinados aspectos de su patogenicidad, la respuesta orgánica y las estructuras tisulares afectadas. (3)

La citología es una metodología muy útil, ya sea obtenida la muestra por extensión o por punción-aspiración con aguja fina, pudiéndose conseguir un diagnóstico muy rápido, que la hace óptima en pacientes graves que precisan de un tratamiento precoz y específico. Algunos hongos tales como *Aspergillus* spp., *Candida* spp., zigomicetos o criptococos, no son difíciles de identificar con la ayuda de determinados protocolos histotecnológicos como Grocott (G.M.S y P.A.S.). (4)

En la citología de lavado broncoalveolar se puede observar el agrupamiento de estructuras fúngicas irregulares que poseen una muesca central, acompañadas por material mucoprotéico, visibles ya en las tinciones rutinarias de Papanicolaou y Hematoxilina-Eosina (H-E). Sin embargo, sus características son más evidentes con el Método de Grocott G.M.S, que puede realizarse directamente sobre extensiones citológicas. La tinción de hematoxilina y eosina (he) se utiliza rutinariamente en histopatología para analizar diferentes tejidos del organismo, incluyendo cortes de piel. (4)

Sin embargo, esta técnica no permite apreciar elementos como fibras elásticas o mastocitos, ni diferencia entre pigmento melánico y hemosiderina, de modo que obliga a recurrir a tinciones secundarias o especiales, entre ellas el ácido peryódico de Schiff (P.A.S), para visualizar microorganismos; la impregnación de Gomori-Grocott (metenamina de plata) para hongos. El presente trabajo tiene como objetivo establecer las diferencias entre la reacción de P.A.S y Grocott (G.M.S) para la detección de la micosis. (4)

## Desarrollo

Las micosis son las enfermedades producidas por hongos. Existen muchos tipos de hongos pero no todos afectan al ser humano. Los que habitualmente lo afectan son aquellos que están acostumbrados a vivir en él. Si bien existen micosis superficiales y profundas, las que se ven frecuentemente en la consulta diaria son las primeras, que comprometen las capas superficiales de la piel- nos explica el Dr. José Antonio Máximo, director de la Carrera de Médico Especialista en Dermatología Pediátrica, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires y coordinador de Docencia en Dermatología del Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez. -Pueden localizarse en cualquier parte del cuerpo. Pueden afectar el cuero cabelludo y manifestarse como caspa, dermatitis seborreica. (5)

Otras veces pueden presentarse como manchas más o menos pigmentadas que el resto de la piel, de diferente extensión, en el cuello y el tronco. También las micosis ocasionan fisuras interdigitales de las manos y los pies, lesiones rojizas y redondeadas en cualquier sitio, y zonas inflamadas en las axilas e ingles. Existe una forma difícil de erradicar que es la onicomycosis, que compromete las uñas de los pies y, menos frecuentemente, las de las manos. La onicomycosis se define como la infección de la unidad ungueal por distintos tipos de hongos, la cual puede afectar a la matriz, lámina, lecho, cutícula, tejido mesenquimal y pliegues ungueales. (6)

La onicomycosis representa el 50% de todas las onicopatías, afectando tanto las uñas de los pies como las de las manos, con una prevalencia que depende del grupo de edad y de la población estudiada. Esta entidad puede presentarse por tres grupos de patógenos: dermatofitos, levaduras y hongos mohos. En la onicomycosis de los pies, los patógenos que más se aíslan son los dermatofitos, mientras que en la de las manos predominan las levaduras; siendo las especies del género *Candida sp.* (6)

La onicomycosis por *Candida sp.* Se observa cada vez con mayor frecuencia en individuos que tienen un sistema inmunitario deteriorado como consecuencia de la edad avanzada, diabetes mellitus, trastornos circulatorios, uso de medicamentos inmunosupresores o antibióticos de amplio espectro. La onicomycosis también se ve favorecida por una pérdida

de la inmunidad local de la unidad ungueal secundaria a traumatismos crónicos (manicura y pedicura), uso de uñas postizas adheridas con poliacrilatos, exposición crónica a la humedad, solventes, detergentes y jabones. (6)

En la onicomycosis de las manos, es poco frecuente realizar el aislamiento concurrente de dos especies distintas del género *Candida sp.* (4.5%). Por tal motivo, resulta de particular interés presentar el caso de una paciente con onicomycosis de las manos en quien se aislaron tres especies distintas de *Candida sp.*, así como tratar de identificar los factores de riesgo que favorecieron dicha condición al tratarse de una paciente inmunocompetente. (6)

Hay dos grandes grupos de hongos que afectan al hombre, los saprofitos y los patógenos. Se considera a un hongo como patógeno cuando produce daño tisular. Ninguna lesión histopatológica es específica de las micosis, pudiéndose hallar un variado espectro de cortes seriados, con el objeto de determinar las áreas más lesiones inflamatorias. Es muy importante valorar el potencial inmunológico del paciente, que en muchos casos vistas a un estudio microscópico en detalle. (7)

Este paso suele estar disminuido debido a que las micosis son mucho más frecuentes en pacientes inmunodeprimidos. Este déficit de defensas condiciona el grado de respuesta del organismo ante estos agentes patógenos. Como ya se ha comentado, para que se produzca una lesión deben existir una serie de factores que la favorezcan como son la inmunidad del huésped, la virulencia, la cantidad de células fúngicas y la coexistencia de otras enfermedades. (7)

Las enfermedades infecciosas emergen como causa de patología en nuestros pacientes. Entre las posibles etiologías, las micosis son una de sus causas, habiendo experimentado un considerable aumento en las dos últimas décadas. En general, la clínica de las enfermedades fúngicas es poco definitoria, siendo la morfología del hongo y la clínica un protocolo a seguir para su correcta identificación. Clínicos, microbiólogos y patólogos son esenciales para el diagnóstico. (7)



El patólogo, con una metodología sencilla y rápida, puede llegar a diagnosticar algunos tipos de micosis, pero no sólo identifica el agente causante sino el tipo de lesión que produce, la respuesta inflamatoria y el órgano u órganos afectados. Además, puede clasificar el tipo de micosis en superficial, cutánea, subcutánea, profunda o sistémica en virtud de la localización. (2)

El patólogo puede observar a los hongos con dos morfologías básicas, con una disposición tubular o hifas (multicelular) y una segunda de forma redondeada u oval que correspondería con las esporas o conidios (unicelular). Estas formas, a su vez, pueden ser pigmentadas o no conocidas los cambios tisulares que se producen en los tejidos y las diferentes morfologías, podemos pasar a clasificarlos. (2)

En relación a estas características, el patólogo puede identificar y diagnosticar infecciones por hongos pertenecientes a alguno de estos cuatro grupos: dimorfos, patógenos clásicos, patógenos oportunistas emergentes y otros. Hongos dimorfos En este grupo describimos las cuatro micosis ya clásicas, frecuentes en otras latitudes, sobre todo en América. A pesar de ser inusuales en nuestro entorno, son fáciles de diagnosticar por su particular morfología, pudiéndose realizar un diagnóstico preciso tanto en las muestras citológicas como en las biópsicas. *Histoplasmosis*. Hay dos formas de presentación: la americana (clásica) y la africana, con rasgos morfológicos bien diferenciables entre ellas. (2)

La americana está producida por *Histoplasma capsulatum*, el hongo de menor tamaño que se observa en el ámbito humano y de otros animales, que penetra en el organismo por inhalación de conidios que rápidamente se diseminan por vía hematológica provocando infección intracelular. Su tamaño entre 1-3  $\mu\text{m}$ , con forma de levadura, lo hace claramente diferenciable de otros hongos. Siempre lo observaremos en el interior de macrófagos, en forma de pequeñas células con un fino halo alrededor. (2)

El diagnóstico diferencial primordial es con *Leishmania*: ésta se tiñe con la tinción de Giemsa e *Histoplasma* es positivo con P.A.S y Grocott (G.M.S), produciéndose un halo claro alrededor de las células en Giemsa. La otra forma de presentación es la africana, producida por *Histoplasma duboisii*, de mayor tamaño, entre 7 y 12  $\mu\text{m}$ , con esporas

gemantes de gruesa pared y alguna inclusión lipídica. Estos no son intracelulares, salvo que estén fagocitados por células gigantes multinucleadas, en el contexto de una lesión granulomatosa. El diagnóstico diferencial de esta especie se realiza con la lobomicosis; sin embargo, el tipo de lesión que produce y su hábitat geográfico son muy importantes para el diagnóstico. (2)

*Blastomycosis*. Como todas las micosis de este grupo la localización principal es pulmonar, ya que la infección se produce por la inhalación de los conidios. *Blastomyces dermatitidis* se puede diseminar por vía hematogena a otros órganos, especialmente a la piel. En las secciones teñidas con H-E, entre un componente inflamatorio crónico granulomatoso o supurativo, se observan estructuras ovales o redondeadas de entre 7-15  $\mu\text{m}$  con pared gruesa de doble contorno (dato muy importante y diferencial) y en su citoplasma se puede observar material basófilo amorfo y destaca algún núcleo. Pueden verse gemaciones unipolares únicas con amplia base de implantación, y todo ello es más manifiesto con los métodos de P.A.S y Grocott (G.M.S). (2)

El diagnóstico diferencial más importante es con *H. duboisii* y se realiza por su gemación, que en este caso es de base muy estrecha y también se debe tener en cuenta la zona geográfica donde se origina la infección, que básicamente es América. Asimismo puede confundirse con *Paracoccidoides brasiliensis*, pero en esta última especie las gemaciones son múltiples. *Paracoccidoidomycosis*. A pesar de tener un área de distribución localizada en Centroamérica y Sudamérica, se están describiendo casos importados de infecciones por *P. brasiliensis* en España y en otros países europeos. La afectación principal es pulmonar, seguida por las lesiones en mucosas bucal o nasal y en la piel. (2)

En las lesiones se puede hallar un componente inflamatorio crónico con fibrosis, células gigantes multinucleadas y células fúngicas de gruesa pared, que tiene entre 10-60  $\mu\text{m}$ , con pequeñas y múltiples gemaciones de base de implantación estrechadispuestas en forma de “timón de barco” muy fácilmente reconocibles mediante tinción de Grocott (G.M.S). Esta técnica de plata es imprescindible para el diagnóstico ya que, en algunos casos, las características mencionadas no se observan en las tinciones de H-E y la reacción de P.A.S. *Coccidoidomycosis*. Producida por *Coccidioides immitis*, se localiza fundamentalmente en

América, tanto del norte como del sur, aunque también se están describiendo casos en otros países, como España. (2)

La afectación más importante es pulmonar, donde puede observarse granulomas supurativos, consistentes en una reacción inflamatoria crónica con células gigantes a la que se unen elementos polinucleares. Esta lesión es debida a que las esférulas de los hongos (hallazgo típico) pueden llegar a romperse y liberar endosporas que infiltran los tejidos dando una respuesta inflamatoria aguda. (2)

Las esférulas son de gran tamaño, 20-200  $\mu\text{m}$ , observándose en diferentes estadios evolutivos, visibles con H-E, pero consiguiéndose una observación más detallada con los Métodos de P.A.S. y Grocott (G.M.S.). En su interior se pueden observar múltiples endosporas redondeadas de 2-5  $\mu\text{m}$ . Hay que diferenciarlas de *Rhinosporidium seeberi*, cuya localización orgánica es en zonas nasal u ocular, produciendo típicas lesiones polipoides. También hay que tener presentes otras micosis como la adiaspiromicosis y la infección por algas del género *Prototheca* spp., pero ambas tienen características morfológicas diferentes.(3)

Se puede esquematizar los pasos a realizar para llevar a cabo un correcto diagnóstico en los siguientes apartados: a) Observación macroscópica b) Fijación c) Selección de zonas a estudio d) Deshidratación e) Inclusión f) Realización de cortes microscópicos g) Hidratación h) reacción o impregnación, según sea el caso i) Examen microscópico. Ya hemos adelantado cómo se realiza la observación macroscópica y la fijación rutinaria con formol al 10%, pero hay otros medios de fijación como la congelación a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , la ultracongelación en nitrógeno líquido, o simplemente el guardar los tejidos en nevera. (8)

Existen otros fijadores más selectivos que son utilizados en función de la técnica que se emplee posteriormente, como son el glutaraldehído para realizar estudios ultraestructurales, el B5 para los tejidos representativos de las lesiones, para su procesamiento en vistas a un estudio microscópico en detalle. Este paso será imprescindible en el caso de especímenes de gran tamaño. d) Deshidratación, es el paso que se realiza para que los tejidos se puedan

incluir en parafina, ya que este compuesto es hidrófobo. e) Inclusión. Los tejidos deben adquirir una consistencia firme para poder ser seccionados en cortes muy finos. La parafinación es la metodología más usada, aunque disponemos de otras técnicas como son la plastificación (básica en ultramicroscopia), el uso de gelatina, celoidina o de otras ceras. En todo caso, previamente a la obtención de los cortes, debemos incluir y orientar el tejido problema en el bloque. f) los cortes histológicos. (8)

Los cortes del bloque pueden realizarse de forma seriada o a demanda, pero lo más importante es que representen la totalidad del tejido a estudio. Estas secciones, de entre 2-3 µm de grosor, se depositan sobre portaobjetos para su tinción. g) Hidratación. En el caso de que los colorantes utilizados en la tinción sean hidrófilos, deberemos proceder previamente a la rehidratación de los cortes según los protocolos habituales. Se colocan en portaobjetos con la ayuda de un baño de flotación donde hay agua y aditivos adherentes, que son necesarios para evitar que los tejidos se despeguen de los portaobjetos donde están depositados, en los diferentes pasos de la tinción. h) Métodos. En la actualidad la utilizada de forma más rutinaria es la H-E que junto con el P.A.S y el Grocott (variación de impregnación argéntica), constituyen la tripleta básica de Métodos o Protocolos para el estudio de las micosis. Los Métodos o Protocolos opcionales son la de Fontana-Masson, para el estudio de pigmento melánico, importante en las feohifomicosis y las Coloraciones para mucopolisacáridos para mucipolisacaridos, como la de mucicarmin, básicas para el estudio de *Cryptococcus* spp. y otros hongos que en su pared o cápsula contengan glucoproteínas. (3)

La histopatología muestra una epidermis con acantosis pseudoepiteliomatosa cubierta por costra. En la dermis microabscesos constituidos por neutrófilos y granulomas con células gigantes multinucleadas tipo Langhans y cuerpo extraño, rodeadas por linfocitos; capilares dilatados y congestionados rodeados por infiltrado linfohistiocitario y plasmocitario. Dentro de algunas células gigantes se pueden observar levaduras redondas de 8 mm, rodeadas por un halo claro. La histopatología con tinciones específicas como la de P.A.S y Grocott (G.M.S), en la gran mayoría muestra las formas parasitarias de *S. Schenckii*, cuando se buscan con orientación diagnóstica y con acuciosidad. (8)

El cuadro anatomopatológico de la esporotricosis es sugestivo pero no patognomónico de la enfermedad, ya que el hongo se observa rara vez en los cortes histológicos. El cuerpo asteroide es una estructura que se observa con cierta frecuencia en el estudio histopatológico de la esporotricosis, pero no es patognomónico. En la esporotricosis, el cultivo es considerado como uno de los mejores métodos de comprobación diagnóstica. (8)

Para el diagnóstico de las micosis se utilizan métodos especiales que colorean específicamente las estructuras fúngicas, tales como la impregnación argéntica o con metenamina de plata (método de Gomori-Grocott) o la del ácido peryódico de Schiff (protocolo de P.A.S). La tinción de Gomori-Grocott (G.M.S) tiene la ventaja de teñir también los elementos fúngicos más viejos o no viables. Las tinciones histológicas habituales, como la tinción de Hematoxilina-Eosina, no tiñen adecuadamente las estructuras fúngicas pero resultan muy útiles para visualizar la respuesta tisular en estas infecciones. Por lo que es aconsejable combinar ambos tipos de tinciones cuando se sospeche la existencia de una micosis invasora. (8)

La reacción de P.A.S se trata de una técnica histoquímica de tinción ya que tiñe de forma específica los componentes celulares y tisulares. (9)

La reacción de P.A.S nos revela todo tipo de carbohidratos (polisacáridos, como el glucógeno, mucopolisacáridos, glucolípidos, glucoproteínas, etc.). Se basa en la reacción con el reactivo de Schiff de los grupos aldehído liberados, de los grupos vic-glicol presentes en los carbohidratos tras su oxidación con ácido peryódico. (9)

El reactivo de Schiff contiene fucsina básica (o pararosanilina), que en solución ácida y en presencia de SO<sub>2</sub> da lugar a una forma no coloreada (ácido N-sulfónico). Este reactivo reacciona con los grupos aldehído libres formando un compuesto insoluble de color púrpura. Esta técnica se utiliza sobre cortes obtenidos de tejido incluido en parafina o de tejido congelado. (9)

La reacción de P.A.S tiñe el glucógeno de rojo oscuro, tradicionalmente descrito como magenta (P.A.S positiva), es decir los citoplasmas se ven color magenta. Las células

calciformes de los tractos gastrointestinal y respiratorio debido a la mucina producida que se tiñe de magenta son P.A.S positivo. Las membranas basales y los bordes en cepillo de los túbulos renales y del intestino delgado y grueso también son P.A.S positivo. (9)

La especificidad de esta técnica reside en la hidrólisis de los hidratos de carbono por el ácido peryódico, durante la cual los grupos 1-2-glicol se transforman en aldehídos. Si quisiéramos realizar un control negativo de la técnica utilizaríamos un compuesto que bloquease la acción del ácido peryódico, y se uniera a los grupos aldehído. (9)

La plata metanamina de Grocott (G.M.S) es un método de impregnación especial más empleado para hongos. La reacción tintorial está basada en que, en presencia de ácido peryódico, los polisacáridos de la pared celular de los hongos son oxidados a aldehídos; éstos, a su vez, reducen el complejo nitrato-plata metanamina (o metenamina) produciendo una coloración de café a negra, debido al depósito de plata reducida en los lugares de localización de los aldehídos. (9)

También se utiliza para la identificación de la melanina. Este pigmento es producido en la piel por los melanocitos. En los humanos la melanina se encuentra en piel, cabello, en el recubrimiento de la retina. Aunque los seres humanos generalmente poseen una concentración similar de melanocitos en su piel, estos expresan en algunos individuos y en algunas etnias más frecuentemente el gen productor de melanina, por lo que se confiere una mayor concentración de melanina en la piel. (9)

La demostración del glucógeno con la reacción de P.A.S tiene valor diagnóstico en casos de tumor/quiste triquilemal, triquilemoma, hidradenoma de células claras y poroma ecrico debido al glucógeno presente en las células de la corteza externa del pelo y en las glándulas tanto ecricas como apocricas. Entre tanto, la presencia de mucopolisacáridos neutros apunta al diagnóstico de enfermedad de Paget mamaria y extramamaria, hidradenoma de células claras, espiadenoma ecrico intraluminal y poroma ecrico. (9)

P.A.S también se utiliza para revelar la membrana basal de epitelios, anexos y vasos, por lo que es útil para diferenciar o resaltar algunos tipos celulares y la distribución del colágeno entre células neoplásicas. Por último, P.A.S es la segunda técnica de reacción más utilizada

después de HE, pone en evidencia algunos polisacáridos y mucopolisacáridos neutros tiñéndolos de rojo. Se utiliza para valorar la degeneración fibrinoide y facilita la visualización de agentes infecciosos que incluyen hongos, parásitos y bacterias que desencadenan padecimientos como botriomicosis y el actinomicetoma. (4)

La visualización del glucógeno presente en las células de la corteza externa del pelo y de las glándulas, tanto ecrinas como apocrinas, tiene valor en el diagnóstico de tumor/quiste triquilemico, triquilemoma, hidradenoma de células claras y poroma ecrino, en tanto, la presencia de mucopolisacáridos neutros apunta al diagnóstico de enfermedad de Paget mamaria y extramamaria, hidradenoma de células claras, espiroadenoma ecrino intraluminal y poroma ecrino. (4)

Dado que P.A.S enfatiza la membrana basal de epitelios, anexos y vasos, puede ser útil para diferenciar o revelar algunos tipos celulares, como los histiocitos o la disposición del colágeno entre las células neoplásicas. Asimismo, esta técnica puede utilizarse en casos de crioglobulinemia para identificar la presencia de crioglobulinas. (4)

La presente fundamentación teórica tiene como propósito sustentar la investigación y ubicar el estudio en el contexto en que se realiza. En este estudio se citan y se hacen referencias sobre trabajos íntimamente ligados con el aquí presentado. (4)

Con respecto a esto, en el trabajo realizado sobre la utilidad de la tinción de P.A.S para el diagnóstico histopatológico, demostraron que la tinción de hematoxilina y eosina (he) se utiliza rutinariamente en histopatología para analizar diferentes tejidos del organismo, incluyendo cortes de piel. Sin embargo, esta técnica no permite apreciar elementos como fibras elásticas o mastocitos, ni diferencia entre pigmento melánico y hemosiderina, de modo que obliga a recurrir a tinciones secundarias o especiales, entre ellas el ácido peryódico de Schiff (P.A.S), para visualizar microorganismos; la tinción de Gomori-Grocott (metenamina de plata) para hongos; y las de Ziehl-Neelsen y Kinyoun para identificar actinomicetos y micobacterias. (4)

Otros medios empleados en la detección de microorganismos incluyen; Giemsa, para *Leishmania*; Wathin-Starry para espiroquetas; y mucicarmín, que tiñe la cápsula de

*Cryptococcus* sp. Después de HE, la coloración P.A.S es la más comúnmente utilizada, pues evidencia algunos polisacáridos (particularmente, glucógeno), así como las mucoproteínas que contienen mucopolisacáridos neutros. (4)

Esta técnica es útil para valorar la degeneración fibrinoide, ya que tiñe de rojo los depósitos de fibrina y permite visualizar elementos infecciosos como parásitos y hongos (cuyas paredes de celulosa y quitina contienen polisacáridos). Aun así, no es posible diferenciar morfológicamente los dermatofitos y otros mohos con el método de P.A.S, de modo que el cultivo es el único método para identificar el género y la especie del organismo. Como agente oxidante que rompe algunas cadenas de carbón convirtiéndolas en dialdehídos, la reacción de P.A.S se considera parte de la histoquímica moderna de mucopolisacáridos, mucoproteínas y polisacáridos. (4)

La reacción se debe a que el ácido peryódico oxida las uniones carbono-carbono de los carbohidratos donde hay hidroxilos adyacentes y NH<sub>2</sub> primarios o grupos amino secundarios, cediendo aldehídos que pueden reaccionar con el reactor Schiff, responsable de la coloración roja provocada por la unión de leucofucsina con dialdehido. Objetivo, Describir la utilidad de la reacción de P.A.S en el diagnostico histopatologico de un servicio de dermatología. Metodología, se hizo una revisión de 1000 biopsias de piel practicadas en 2008 en el Departamento de Dermatología del Hospital General “Dr. Manuel Gea González”, y se analizaron los cortes teñidos con P.A.S. Resultados, se revisaron los cortes histológicos de 43 biopsias tomadas de 36 pacientes, las cuales fueron estudiadas con reacción de P.A.S. (4)

El diagnostico inicial en 58% de los estudios fue dermatosis no infecciosa. En el restante 42%, se confirmo la etiología infecciosa en 33.33% de los cortes teñidos con P.A.S, con 9.3% falsos negativos a la presencia de microorganismos aun cuando los agentes fueron aislados en medios de cultivo (11.6%). De las muestras analizadas con Pas, 18.6% dio positivo a lesiones infecciosas e inflamatorias, como lupus eritematoso discoide. (4)



Al mismo tiempo, **Mayayo** realizó su trabajo de investigación sobre el diagnóstico histopatológico de la micosis, donde describe que Los posibles orígenes de las muestras patológicas son: la citología, la biopsia convencional fijada, la biopsia intraoperatoria, donde los tejidos están sin fijar, y la autopsia. (10)

A) La citología. Como comenta Pontón en un reciente trabajo, las posibilidades de obtener resultados diagnósticos en tiempo real (menos de 10 min) son limitadas y se basan en la observación directa de las muestras. Las muestras citológicas (raspados, PAAF, lavados broncoalveolares, extensiones de mucosa vaginal o de otras mucosas) son especímenes donde se puede diagnosticar diferentes tipos de hongos y, de una forma rápida, mediante observación directa. *Cryptococcus* spp., *Aspergillus*. (10)

B) La biopsia es la técnica más común para el patólogo. Permite observar la causa de la lesión, los cambios histopatológicos producidos, así como la respuesta orgánica que producen en los tejidos u órganos. En algunas infecciones fúngicas es el método indiscutible de diagnóstico. (10)

Existen varios tipos de biopsias: la diagnóstica de pequeño tamaño, las ascensionales de mayor tamaño y las piezas quirúrgicas. (10)

Generalmente se reciben conservadas en un medio fijador, básicamente formol al 10%, pero la situación ideal es la observación de las muestras en fresco, como se hace en los procedimientos intraoperatorios, donde el patólogo procede en el mismo momento a su estudio macroscópico, observa el tipo de patología y realiza una visión directa para confirmar la infección. Este último tipo de muestras permite realizar extensiones citológicas, técnicas de inmunofluorescencia, cultivos o conservar porciones en congelación para un posterior estudio, sin necesidad de realizar nuevas tomas. (10)

De igual manera, **Martínez**, y colaboradores, realizaron un trabajo sobre Las micosis en Venezuela: casuística de los Grupos de Trabajo en Micología. Se realizó revisión de la casuística publicada por los GTMV en el Boletín Informativo Las Micosis en Venezuela

desde 1984 hasta 2010. Resultados: Se obtuvieron 36.968 diagnósticos de micosis superficiales, 1.989 de profundas sistémicas y 822 de profundas localizadas. (11)

La dermatofitosis fue la patología superficial más frecuente, paracoccidioidomicosis e histoplasmosis las profundas sistémicas, y cromoblastomicosis la profunda localizada. Se realizó la distribución geográfica de los casos de micosis profundas, pudiendo delimitar las zonas endémicas. Discusión: Las micosis superficiales constituyen un problema de salud pública por su alta morbilidad y pueden ser responsables de epidemias en grupos de riesgo. La paracoccidioidomicosis y la histoplasmosis se reportaron con mayor frecuencia, incluso antes de haberse conformado los GTMV. (11)

El número de cromoblastomicosis y esporotricosis en Venezuela supera a lo reportado en otros países. Los GTMV han contribuido al conocimiento de la incidencia y prevalencia las micosis en el país, además de su divulgación como problema de salud pública, siendo un aporte invaluable que debe mantenerse en el tiempo, tratando no solo de reportar la casuística anual, sino también detallar aspectos clínico-epidemiológicos que permitan realizar seguimiento de la evolución de estas patologías. (11)

La revisión realizada muestra que al agrupar ambas tinciones, diversos autores resaltan que la reacción de P.A.S. es más específica en la detección de la micosis.

## **Conclusiones**

La investigación realizada e l cual se planteó como objetivo, comparar la reacción de P.A.S y Grocott (G.M.S) para la detección de la micosis. En lo que concierne a la tinción de P.A.S, se puede señalar que es de gran utilidad a condición de que el diagnostico microbiológico clínico este bien orientado. Tiene el mayor potencial de uso en las muestras histológicas para la detección de las micosis, ya que es precisa y autentica al teñir también el glucógeno de la membrana basal de epitelios, anexos, vasos y resalta otras estructuras y células de la piel. Asimismo, esta técnica puede utilizarse en casos de crioglobulinemia para identificar la presencia de crioglobulinas. A diferencia de la impregnación de Grocott, que no permite apreciar elementos como, fibras elásticas o mastocitos, diferencias entre pigmentos melánicos y hemosiderina, de modo, que obliga a recurrir a reacciones especiales.

## **Recomendaciones**

Fundamentándose en los estudios realizados acerca de la comparación entre P.A.S y Grocott (G.M.S) para la micosis, se presentan las siguientes recomendaciones:

Los métodos P.A.S y Grocott (G.M.S) son equivalentes para la detección de micosis, además la reacción de P.A.S puede llegar a ser mas económica comparada con la impregnación de Grocott (G.M.S). La reacción P.A.S es la más comúnmente utilizada, pues evidencia algunos polisacáridos (particularmente, glucógeno), así como las mucoproteínas que contienen mucopolisacáridos neutros. Esta técnica es útil para valorar la degeneración fibrinoide, ya que tiñe de rojo los depósitos de fibrina y permite visualizar elementos infecciosos como parásitos y hongos (cuyas paredes de celulosa y quitina contienen polisacáridos).

Por lo tanto, la impregnación de Grocott (G.M.S) es el método sensible para confirmar micosis en comparación con la reacción de P.A.S que demuestra los hongos en una biopsia con alta sospecha clínica de micosis. Este es un criterio que el patólogo debe tener en cuenta en el momento de escoger la tinción de rutina para el diagnostico de micosis.

## Referencias Bibliográficas

- 1- Pontón J. (2002). Diagnóstico microbiológico de las micosis. Rev. Iberoam Micol
- 2- García del Moral R. (1993). El laboratorio de Anatomía Patológica. Interamericana, McGraw-Hill.
- 3- Petrini B, Skold CM, Bronner V, Elmberger G. (2003).Coccidioidomycosis mimicking lung cancer. Respiration.
- 4- Jorge, O. (2013). Utilidad de la reacción P.A.S. para el diagnóstico histopatológico.
- 5- Quindos G. (2002). Las micosis en el amanecer del siglo XXI. Rev. Iberoam Micol
- 6- Arenas R. (1990). Las ornicomicosis. Aspectos clínicos epidemiológicos, micologicos y terapéuticos
- 7- Torres-Rodríguez, J.M. (1991). Histoplasmosis. En: Monografías clínicas en Enfermedades Infecciosas. Micosis Sistémicas. Ediciones Doyma. Barcelona.
- 8- Costa Sidrim JJ, Bezerra Moreira JL. Fundamentos clínicos e laboratoriais da micología médica. Rio de Janeiro.
- 9- Achenbach R, Negroni R, Khaski S, Lococo L, Beresnak A, Gai L. Paracoccidioidomycosis: unusual clinical presentation and utility of computerized tomography scanning for diagnosis. Int J Dermatol (2002); 41:881-882.
- 10-Mayayo A. (1982). The diagnosis of deep mycoses by morphologic methods. Human Pathol; 13: 519-533.
- 11-Martínez (Ed). (2010). Las Micosis en Venrzuela. Boletín Informativo, Revista GTMV.