

ASPECTOS HISTOLOGICOS DE LA ESPOROTRICOSIS Y BUSQUEDA DEL AGENTE ETIOLOGICO POR METODOS INMUNO-ENZIMATICOS

F. URIBE, A. ZULUAGA, W. LEON, A. RESTREPO

Se procesaron biopsias provenientes de 18 pacientes con esporotricosis cutánea, comprobadas por cultivo. Cinco tenían forma fija y 13 linfangítica. Se estudió el aspecto histológico y la presencia de *S. schenckii* en la lesión. Para lograr la visualización del hongo se empleó la técnica de inmunoperoxidasa indirecta. No se demostró el cuadro clásico de granuloma mixto esporotricósico en ninguna de las biopsias; se observaron, eso sí, todos sus componentes pero en forma dispersa. Se anotaron escasas diferencias entre las dos formas de la entidad con respecto a las células que constituían el infiltrado; la única diferencia se observó en los microabscesos bien definidos, los cuales fueron un poco más frecuentes en las formas fijas (40.0%) que en las linfangíticas (15.4%). La reacción vascular con marginamiento y migración de polimorfonucleares neutrófilos fue, por el contrario, más marcada en las formas linfangíticas (70.9%) que en las fijas (10%). La reacción epidérmica reveló acantosis moderada en el 30.8% de las formas linfangíticas pero la hiperplasia pseudoepiteliomatosa predominó en las fijas (80%) y fue poco frecuente en las linfangíticas (23.1%). La técnica de inmunoperoxidasa reveló las blastoconidias del hongo en todos los casos. Sin embargo el número de conidias fue siempre escaso requiriéndose cortes seriados para demostrarlas. Las estructuras micóticas tuvieron diferente localización, predominando en la dermis profunda, media y estrato espinoso. Creemos que esta técnica tiene real utilidad en el diagnóstico de la esporotricosis.

Drs. Fabio Uribe J., Angela Zuluaga de Cadena: Corporación de Investigaciones Biológicas, Hospital Pablo Tobón Uribe, Medellín. Drs. Walter León H., Angela Restrepo M: Servicio de Dermatología, Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina de la Universidad e Antioquia, Medellín.

Solicitud de separatas al Dr. Uribe.

INTRODUCCION

La histopatología no es el procedimiento más adecuado para el diagnóstico de la esporotricosis, ya que la visualización del *Sporothrix schenckii* es difícil en biopsias coloreadas tanto por los métodos habituales (hematoxilina-eosina), como por los especiales para hongos (plata metenamina, PAS) (1-3). Algunas series sin embargo, señalan una positividad mayor del 80% usando tales métodos encontrándose no sólo las formas de levadura sino también los cuerpos asteroides (4-6). El uso de la fluorescencia directa ha obviado en parte las dificultades anteriores pero la técnica no es de fácil ejecución debido a que requiere un anticuerpo marcado con fluoresceína que no está disponible comercialmente y además "tripsinización" previa de la biopsia, lo que altera la morfología tisular (7). Las nuevas técnicas inmunoenzimáticas un poco más complejas técnicamente pero con más amplio rango de acción, se muestran prometedoras en el diagnóstico de ciertas micosis, la esporotricosis entre ellas (8). Por otra parte la reacción tisular comúnmente observada no es la clásicamente descrita por De Beurman y Gougerot (9, 10), lo que resta posibilidades al diagnóstico histológico. No obstante, el estudio histopatológico permite apreciar los mecanismos de defensa del huésped resultantes de su interacción con el parásito (11, 12).

En un estudio previo algunos de nosotros habíamos dividido las micosis en dos grupos de acuerdo con las modificaciones tisulares. Uno compuesto por micosis con reacción granulomatosa únicamente y otro representado por micosis con reacción granulomatosa y supurativa (13). A este último grupo pertenece la esporotricosis, objeto del presente estudio.

MATERIAL Y METODOS

De un grupo de 45 casos de esporotricosis que incluía en su estudio la biopsia, se se-

leccionaron 18 con diagnóstico confirmado por el aislamiento en cultivo del *Sporothrix schenckii*. El análisis comprendió la observación microscópica de cortes seriados (5 a 10 por biopsia), coloreados con hematoxilina-eosina (HE), plata-metenamina (PM) y ácido periodico-reaction de Schiff (PAS). Igualmente se colorearon por la técnica indirecta de inmunoperoxidasa (MP) de acuerdo con el procedimiento descrito por Russel y col. (8) y Taylor y col. (14). Como anti-*S. schenckii* se utilizó una mezcla de sueros procedentes de 5 pacientes con esporotricosis comprobada, mezcla que mostraba líneas de precipitado de la inmunodifusión en gel de agar con antígeno soluble de *S. schenckii* (15). La mezcla de sueros fue titulada en la técnica de IMP, encontrándose que la dilución de 1:8 revelaba nítidamente al hongo. Los demás reactivos para la prueba fueron obtenidos de una casa comercial*. En forma breve, los siguientes son los pasos de la técnica empleada:

1. Desparafinizar los cortes por pasos a través de xilol y concentraciones decrecientes de etanol.
2. Destruir la peroxidasa endógena, incubando con peróxido de hidrógeno en metanol.
3. Bloquear los determinantes antígenicos no específicos, con suero de cabra normal.
4. Aplicar el primer suero (humano

- contra *S. schenckii*).
5. Aplicar el segundo suero (anti-inmunoglobulina-humana, preparado en cabra y conjugada con peroxidasa).
6. Aplicar el sistema revelador (3,3 diamino-benzidina tetrahidrocloreuro).
7. Leer en microscopio de luz, previa deshidratación y montaje de los cortes en resina.

RESULTADOS

De los 18 pacientes, 10 eran del sexo masculino y los restantes, del femenino. La mayoría (12/18) eran adultos mayores de 26 años (rango: 2-63 años). En cuanto a las formas clínicas, 13 presentaban la forma linfagítica y 5 la forma fija. La duración del proceso patológico fue similar para ambas formas, con una ligera tendencia hacia una evolución más corta (menos de 6 meses), en los casos linfagíticos (77.%) vs. los fijos (60.%).

En la dermis el cuadro histológico fue de tipo inflamatorio supurativo y granulomatoso. La Tabla 1 muestra la composición del infiltrado. El componente supurativo, representado por los polimorfonucleares neutrófilos (PMNN), fue más frecuente en las formas linfagíticas (92.3%) que en las fijas (60.0%). El componente granulomatoso, representado por las células gigantes (CG) fue por el contrario

Tabla 1. Reacción dérmica en la esporotricosis: composición del infiltrado

Forma clínica No. de casos	Polimorfonucleares neutrófilos	Gigantes	Histiocitos	Linfocitos	Plasmocitos
Linfagíticas (13)	12 (92.3%)	8 (61.5)	12 (92.3)	12 (92.3)	12 (92.3)
Fijas (5)	3 (60.0%)	5 (100.0)	4 (80.0)	4 (80.0)	4 (80.0)
Totales (18)	15 (83.3%)	13 (72.2)	16 (89.0)	16 (89.0)	16 (89.0)

* Sigma Chemical Co, St Louis, USA.

más común en las formas fijas (100%) que en las linfangíticas (61.5%). Respecto a las otras células presentes en el infiltrado (histiocitos, linfocitos, plasmocitos), estuvieron presentes en proporciones similares en las dos formas de la esporotricosis.

Los elementos celulares aparecían asociados en algunos casos constituyendo formas histológicas más definidas. La Tabla 2 nos muestra que los microabscesos bien formados estuvieron presentes en proporción ligeramente superior (40.0%) en las formas fijas que en las linfangíticas (15.4%), mientras que los granulomas bien definidos no mostraron mayores diferencias entre las dos formas de la enfermedad. Los microabscesos bien formados aparecen ilustrados en las Figuras 1 y 2, donde se aprecia cómo la reacción celular está concentrada en una pequeña área bien limitada, formada casi exclusivamente por PMNN. Los granulomas consti-

Tabla 2. Reacción dérmica en la esporotricosis: Organización del infiltrado.

Forma clínica No. de casos	Microabscesos		Granulomas	
	Bien delimitados	Irregulares	Definidos	Células gigantes aisladas
Linfangíticas (13)	2 (15.4%)	11 (84.6)	2 (15.4)	8 (61.5)
Fijas (5)	2 (40.0)	3 (60.0)	1 (20.0)	5 (100.0)
Totales (18)	4 (22.2)	14 (77.8)	3 (16.7)	13 (72.2)

tuidos por células gigantes no agrupadas en forma compacta, se ilustran en la Figura 3.

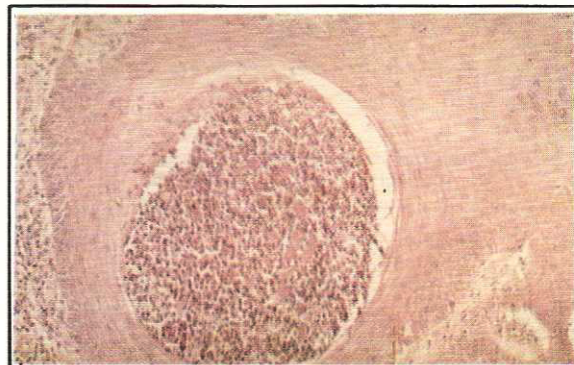


Figura 1. Microabsceso a nivel de epidermis 40 X.



Figura 2. Microabsceso intraepidérmico bien limitado por fibras de reticulina 40 X.



Figura 3. Granuloma bien formado en contacto con capa córnea 10 X.

Frente a las dos formaciones bien definidas anteriores, encontramos cómo, en la mayoría de los casos (77.8%), los PMNN se observan formando acúmulos irregulares (Figura 4), mientras que las células gigantes aparecen colocadas aisladamente (Figura 5).



Figura 4. Microabsceso muy irregular 10 X.

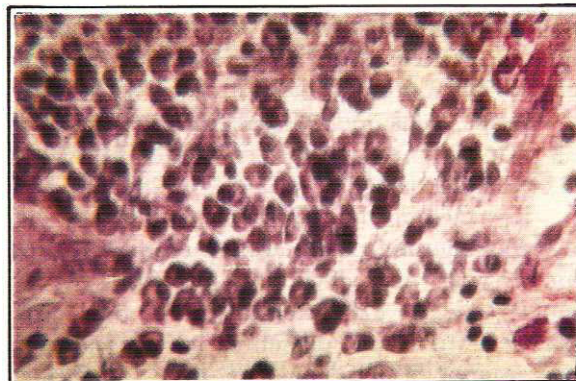


Figura 6. Grupo de plasmocitos 40 X.



Figura 5. Célula gigante aislada 40 X.

Hubo predominio de las células gigantes en las formas fijas (100%) y de PMNN asociados pero sin formar microabscesos, en las linfagíticas (84.6%) (Tabla 2). En forma similar a las dos últimas asociaciones celulares y en ciertos casos, observamos grupos de plasmocitos, sin presencia de otros elementos (Figura 6); esto contrastó con las otras células del infiltrado, como los histiocitos y los linfocitos, los cuales aparecían usualmente entremezclados.

Consideramos de interés el estudio de la reacción vascular que ocurre a nivel de la dermis (Tabla 3). La dilatación y el engrosamiento de las paredes capitales (Figura 7), fueron elementos constantes en las biopsias, observándose siempre en el caso de las formas linfagíticas y en el 80% de las fijas. El marginamiento y la migración de los PMNN a través de las paredes engrosadas de los capilares (Figura 8), se presentó con frecuencia significa-

Tabla 3. Reacción vascular a nivel de la dermis en la esporotricosis

Forma clínica No. de casos	Dilatación capilar y engrosamiento paredes	Marginamiento y migración de poli-morfo-nucleares neutrófilos
Linfagítica (13)	13 (100%)	10 (76.9)
Fija (5)	4 (80%)	1 (20.0)
Totales (18)	17 (94.4)	11 (61.1)

tivamente menor en las formas fijas (20%) que en las linfagíticas (76.9%) (Tabla 3).

En cuanto a la reacción dermo-epidérmica, encontramos que las lesiones fueron variables (Tabla 4). Ocurrió una moderada acantosis exclusivamente en las formas linfagíticas y aún aquí, tan solo en proporción moderada (30.8% de los casos). La papilo-

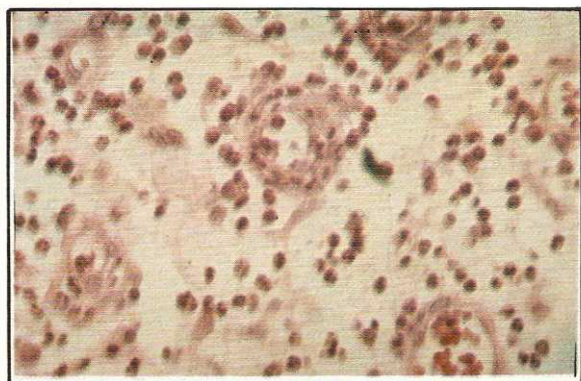


Figura 7. Engrosamiento de paredes capilares 40 X.

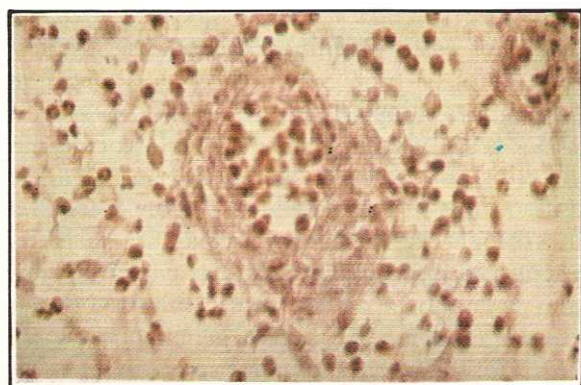


Figura 8. Marginamiento y migración de PMNN 40 X.

matosis, de aspecto irregular, se acompañó de hiperplasia marcada en 38.5% de las formas linfangíticas y en 20% de las fijas. La papilomatosis y la hiperplasia pseudoepiteliomatosa estuvieron simultáneamente presentes en porcentajes significativamente mayores (80%) en las formas fijas que en las linfangíticas (23.1%). La necrosis fue rara (sólo un caso); sin embargo, éste puede ser un hallazgo artificial, ya que las biopsias se hicieron preferentemente del borde no ulcerado de la lesión. Cuando las papilas eran cortadas transversalmente aparecían como espacios intraepidérmicos (Figura 9) y cuando su corte era longitudinal, se las veía subir hasta la superficie (Figura 10). En este último caso, las papilas estaban cubiertas por escasas hileras de células espinosas en contacto con la capa córnea o también abriéndose directa-

Tabla 4. Reacción dermo-epidérmica en la esporotricosis.

Forma clínica No. de casos	Acantosis moderada	Papilomatosis irregular e hipertrofia		Ulceración
		marcada	Seudoepiteliomatosa	
Linfangítica (13)	4 (38.8%)	5 (38.5)	3 (23.1)	1 (7.7)
Fija (5)	0 (0)	1 (20)	4 (80)	0 (0)
Totales (18)	4 (22.2)	6 (33.3)	7 (38.9)	1 (0.18)



Figura 9. Papilas en corte transversal con capilares gruesos 10 X.

mente al exterior (Figura 11). La reacción dermoepidérmica permitía que, a través de las papilas, el infiltrado subiera a las capas superiores. De ser muy denso, tal infiltrado hacía que desaparecieran fibras y vasos, formándose un canal de eliminación que se abría paso por entre las capas epidérmicas comunicando así el foco infeccioso con la superficie (Figura 12). La eliminación se



Figura 10. Papilas que llegan hasta la superficie 10 X.



Figura 13. Eliminación a través de anexos 10 X.



Figura 11. Papilas que se abren al exterior 10 X.

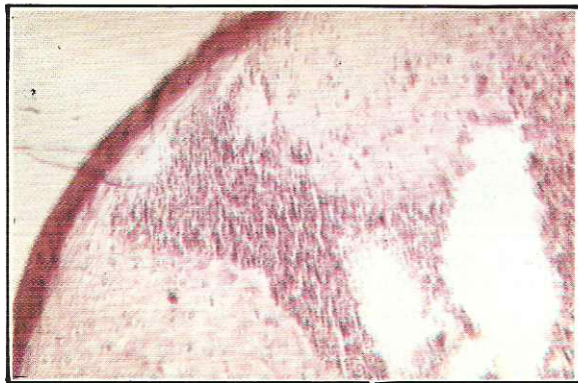


Figura 12. Canal de eliminación lleno de PMNN que comunica la superficie con el foco inflamatorio profundo 10 X.

todos los casos examinados revelaron las blastoconidias, si bien no en todos los cortes de una misma biopsia. En total, se procesaron 105 cortes, visualizándose 270 blastoconidias en ellos. El número de esporos fue siempre escaso, un promedio de 2.5 por corte. La morfología de las blastoconidias fue variable, encontrándose células esféricas u ovals, simples la mayoría de las veces (Figura 14), en grupos (Figura 15) o con gemación (Figura 16). Los exámenes con HE o PAS no revelaron el hongo ni tampoco la presencia de cuerpos asteroides. Sólo uno de los cortes teñidos con PM, mostró un espora compatible con *S. schenckii*.

Como se desprende de la Tabla 5, la localización en el tejido de las blastoconidias del hongo fue bastante similar para las formas linfagítica y fija. Para la primera de

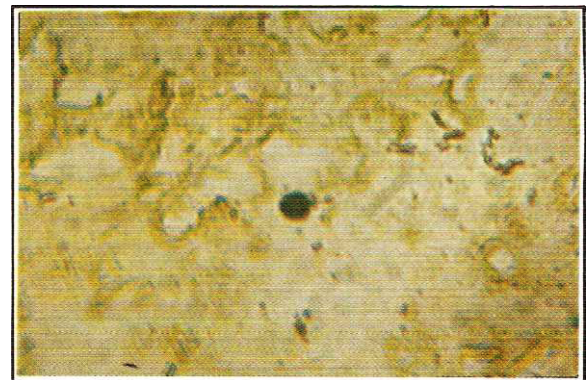


Figura 14. Blastoconidia simple (técnica IMP) 40 X.

hacia también a través de los anexos (Figura 13).

En cuanto a la visualización del *S. schenckii* por la técnica de la inmunoperoxidasa,



Figura 15. Grupo de blastoconidias en roseta (técnica IMP) 40 X.

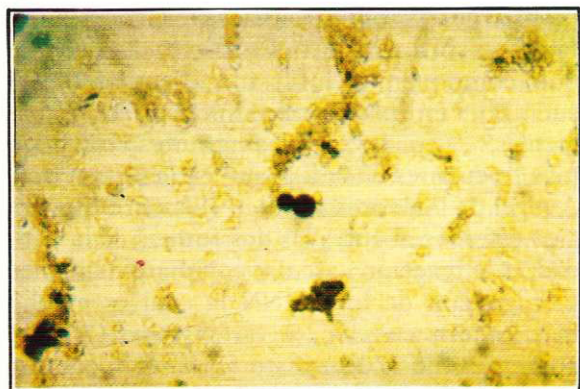


Figura 16. Blastoconidia con gemación (técnica IMP) 40 X.

Tabla 5. Localización y frecuencia de las blastoconidias del *S. schenckii* en biopsias. Técnica de inmunoperoxidasa

Lugar de localización blastoconidias	No. de blastoconidias según la forma de la esporotricosis	
	Linfangítica (80 cortes)	Fija (25 cortes)
Dermis profunda	46 (27.2%)	17 (17%)
Dermis media	51 (30.1)	25 (25%)
Unión dermo-epidérmica	19 (11.2)	8 (8%)
Estrato espinoso	23 (13.6)	28 (28%)
Capa córnea	30 (17.7)	22 (22%)
Totales	169 (100)	100 (100)

tales formas, las blastoconidias se observaron más frecuentemente a nivel de la dermis media (30.1%) y la dermis profunda (26.6%); la capa córnea, el estrato espinoso y la unión dermo-epidérmica, mostraron menos elementos micóticos, en orden descendente. En cuanto a la forma fija, predominaron las blastoconidias en el estrato espinoso (28%), la dermis media (25%) y la capa córnea (22%). La dermis profunda y la unión dermo-epidérmica albergaron una menor proporción de elementos micóticos. Debido a que las biopsias fueron tomadas con sacabocado ("punch"), la hipodermis no alcanzó a estar representada en todos los casos, por lo cual no tenemos datos adecuados al respecto.

DISCUSION

Desde el punto de vista anatomopatológico las micosis pueden clasificarse en dos grupos a saber: a) micosis con reacción granulomatosa únicamente, como la histoplasmosis y la enfermedad de Lobo (13, 16, 17) y b) micosis con reacción granulomatosa y supurativa, a las cuales pertenece la esporotricosis (1-3). Estas últimas son las micosis con granuloma mixto, según el concepto de Pinkus (18), que ya comienza a tenerse en cuenta en estudios recientes sobre la inflamación granulomatosa (11). En estas micosis intervienen, como parte esencial de la lesión, los polimorfonucleares neutrófilos que representan la parte supurativa, al lado de los histiocitos o sus derivados (células epitelioides y células gigantes de diferentes tipos), que constituyen la parte granulomatosa (11, 12, 18).

Por lo general en las micosis con granuloma mixto existe participación activa de la epidermis, la cual se altera pudiendo llegar hasta la hiperplasia pseudoepiteliomatosa. En tal caso se presenta el fenómeno de la eliminación transepidérmica inicialmente descrita por Mehregan (19) y que ha sido demostrada también en las micosis (13,20).

La lesión histopatológica primordial y clásica del grupo es el granuloma mixto micótico (13), que exhibe tres zonas así: al centro, rodeando el hongo y atraídos por él, están los PMNN que se agrupan formando un microabsceso bien delimitado por la condensación

de fibras de reticulina. Viene luego una segunda zona, formada por los elementos típicos del granuloma propiamente dicho, especialmente las células epitelioides y las células gigantes. Finalmente y más hacia la periferia, aparece una zona no muy bien delimitada, constituida por tejido de granulación con capilares neoformados, células mesenquimatosas, fibroblastos, histiocitos y sobre todo, abundantes plasmocitos. Estos últimos serían los encargados de la respuesta humoral, la cual corre paralela con la respuesta celular, demostrada como la predominantemente protectora en las micosis (6,21).

Si se estudia, como lo hicieron De Beurman y Gougerot (9), la lesión primaria en su fase inicial tomando para la biopsia el nódulo del cordón linfático que comienza a afectarse, el aspecto de la lesión corresponde a la descripción clásica del "nódulo esporotricósico", hecha por dichos autores, quienes describieron tres zonas concéntricas, la "supurativa central", compuesta por PMNN y macrófagos, en el medio, la "reacción tuberculoide" y hacia la periferia la "zona conjuntivo-sifiloide", denominada así por la importancia de las lesiones vasculares y la abundancia de plasmocitos (9, 10).

Lurie (4, 5), quien estudió la histopatología de 63 casos haciendo biopsias del nódulo linfático en 31 de ellos, logró demostrar también el granuloma esporotricósico (granuloma mixto micótico), formado alrededor de un cuerpo asteroide, el cual aparecía rodeado por un agregado central de PMNN; este último a su vez estaba circundado por la zona de histiocitos y más hacia la periferia se hallaba la zona de linfocitos y células plasmáticas.

En ninguno de los cortes histológicos de esporotricosis estudiados por nosotros, encontramos el "granuloma mixto micótico" según los parámetros que acabamos de describir. Encontramos sí todos sus componentes pero en forma dispersa. Probablemente ello se debió a que las biopsias comunes captan un momento terminal de la evolución del goma esporotricósico.

Por ello opinamos que en biopsias tomadas de lesiones bien constituidas, como las utilizadas por nosotros, en las cuales la lesión

profunda ya se ha adherido a la epidermis produciendo manifestaciones verrucosas, ulcerosas o ulcerovegetantes, es difícil encontrar la lesión histológica elemental bien formada, observándose sólo los componentes de tal lesión pero distribuidos en forma dispersa.

Por lo anterior nuestros hallazgos no coinciden con los informados por Lurie (4, 5) y otros (6). Los elementos dispersos del granuloma micótico mixto podrían sugerir cuando más el diagnóstico histológico de una micosis pero, en ausencia del agente etiológico, es extremadamente difícil hablar de una esporotricosis. Igualmente parece improbable en ausencia de datos clínicos determinar si la biopsia corresponde a una esporotricosis linfagítica o a una fija. En efecto, las células que componen el infiltrado dérmico se encuentran en proporción similar en ambas formas, salvo las células gigantes, un poco más frecuentes en la fija que en la linfagítica. A nivel de la dermis el único elemento histológico diferencial entre las dos formas de la entidad es la reacción vascular con marginamiento y migración de los PMNN la cual es mucho más común en el caso linfagítico (76.9%) que en el fijo (20%). Este fenómeno, componente esencial de toda inflamación (22), fue observado regularmente en las formas agudas de entidades con granuloma mixto (como la esporotricosis), estando ausente en formas crónicas tipo cromoblastomicosis (13). A nivel epidérmico la hiperplasia pseudoepiteliomatosa se revela predominantemente en las formas fijas (80%) siendo menos frecuente en las linfagíticas (23.1%).

Dadas las incertidumbres anteriores, el diagnóstico histopatológico se vería grandemente facilitado si las blastoconidias del *S. schenckii* lograran ser regularmente demostradas en los cortes. Por circunstancias relacionadas con la dificultad para la obtención de antiseros anti-*S. schenckii* conjugados con fluoresceína y por la necesidad de disponer de microscopio especial, la técnica de fluorescencia directa no ha tenido buena aceptación entre los patólogos (8). Las modernas técnicas inmunoenzimáticas ofrecen una alternativa de valor ya que los reactivos necesarios pueden ser empleados para otros procesos,

no requiriéndose sino un elemento específico, el suero anti-*S. schenckii* (8, 14, 22, 23). Este último puede obtenerse de pacientes con la entidad o de animales experimentalmente infectados. Una vez determinada su reactividad en las pruebas serológicas, el antisuero puede ser usado por varios meses. Además es posible trabajar con cortes fijados en formol e incluidos en parafina sin necesidad de previa tripsinización (8).

En todos los 18 casos de esporotricosis que estudiamos, logramos observar el *S. schenckii* gracias a la técnica de inmunoperoxidasa. Por lo general las blastoconidias eran escasas siendo necesario un cuidadoso estudio de la sección histológica. Sin embargo los esporos se destacaron en forma nítida sobre el fondo del tejido.

Encontramos de interés el que, en las formas fijas, el mayor porcentaje (28%) de blastoconidias existiera en el estrato espinoso, sugiriendo que la hiperplasia pseudoepiteliomatosa más frecuente en tales formas estuviese en realidad comprometida con la eliminación del hongo.

La escasez de formas micóticas observada en nuestros casos contrasta con lo descrito por otros autores, tanto con tinción de inmunoperoxidasa como con las coloraciones especiales de tipo PAS o PM (4, 5, 6, 8), no encontrando una explicación para tal divergencia.

La eliminación transepidérmica es uno de los rasgos característicos de las micosis con reacción supurativa y granulomatosa a la vez (13). En la esporotricosis observamos diferencias con algunas otras micosis del grupo. Es muy útil el concepto de Lacaz, de considerar la esporotricosis en grupo especial, el de las "micosis gomosas" (24). En realidad la esporotricosis sigue siendo el tipo evolutivo de todo goma, con una primera fase de formación (fase de crudeza), iniciada comúnmente en un linfático superficial o profundo dado el tropismo del *S. schenckii* por este tejido. De Beurman y Gougerot (9, 10) que estudiaron específicamente el nódulo esporotricótico, hicieron especial énfasis en la independencia de éste y la epidermis, la cual informaron como completamente normal (9, 10). En la

segunda etapa, fase de reblandecimiento, hay ya unión con la epidermis lo que en la clínica se traduce por la adherencia de los planos superficiales a los profundos; la epidermis reacciona con acantosis la que aumenta hasta llegar a la hiperplasia pseudoepiteliomatosa. En nuestros casos observamos una reacción dermoepidérmica, representada del lado de la dermis por papilomatosis irregular. En los cortes y según su orientación, se observaron múltiples papilas cortadas al través que subían hasta la superficie en medio de una epidermis grandemente engrosada. Este detalle se apreciaba mejor en los cortes paralelos al eje de la papila, donde las delgadas capas epidérmicas que cubrían el vértice de las mismas acababan por desaparecer y así, el contenido del infiltrado se vaciaba hacia el exterior.

Pudimos ver un infiltrado muy denso llenando completamente una papila y constituido por PMNN. Si dicha papila se cortara transversalmente, se vería como un microabsceso intraepidérmico; otras veces, sólo la identificación de vasos en tal papila nos podría demostrar que no se trata en realidad de microabscesos aislados dentro de la epidermis sino que su aspecto de absceso intraepidérmico es dado por el plano del corte. Lo observado por nosotros parece indicar que los microabscesos intraepidérmicos frecuentemente informados en la esporotricosis (4, 5) corresponden a papilas infiltradas cortadas transversalmente. Los cortes muestran también cómo el infiltrado puede eliminarse a través de los anexos.

En resumen la eliminación del contenido de las lesiones cutáneas de la esporotricosis se hace gracias a una papilomatosis que llega hasta la superficie de la epidermis o de la pared de los anexos.

Los esporos teñidos con peroxidasa se ven en la dermis profunda y media, en la unión dermoepidérmica y en la capa córnea.

SUMMARY

Sporotrichosis is a chronic infection due to *Sporothrix Schenckii*. The fungus cannot be seen upon microscopic examination of biopsied material in most cases. This study

was undertaken to determine the usefulness of the indirect immunoperoxidase technique for demonstrating the etiologic agent in biopsied material.

Skin biopsies taken from 18 patients with culture proven sporotrichosis (13 lymphangitic and 5 confined to the skin) were studied. The classic mixed granuloma was not seen in any of the specimens; however, all its components were present but arranged in a disorganized fashion. A few differences between the 2 forms of the disease were observed: The presence of well limited microabscesses was more prevalent in the form confined to the skin (40.0%) than in the lymphangitic (15.4%); the vascular reaction with margination and migration of neutrophils was more frequent in the lymphangitic type (70.9%) than in the other (20.0%); and the epidermic reaction was of varying intensity, with moderate acanthosis in 30.8% of the lymphangitic cases and marked pseudoepitheliomatous hyperplasia in the fixed type of disease (80.0%). The indirect immunoperoxidase technique detected fungal structures in all the studied specimens; they were located in different layers of the skin, with the deep and central dermis and the stratum spinosum being the sites more frequently involved. The authors believe that this enzymatic technique has an important place in the microscopic diagnosis of sporotrichosis.

ADDENDUM:

Posterior al envío del presente trabajo, los autores conocieron el artículo de Garrison y colaboradores, (Garrison RG, González-Mendoza, Mirikitani FK. An Extracellular Substance of *Sporothrix schenckii* in Human Infection. *Mykosen* 1983; 26:462-468), quienes demostraron la presencia de un precipitado osmiofílico, de tipo complejo antígeno-anticuerpo. Este podría actuar como una barrera mecánica, haciendo que las células micóticas fueran inaccesibles y no se colorearan con las técnicas convencionales histopatológicas.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- RIPPON J W, Medical Mycology, 2a. Edición, Philadelphia, W.B. Saunders Co.; 1982; 277-302.
- 2.- EMMONS C W, BINDORD C H, UTZ J P, KWON-CHOUNG K, Medical Mycology, 3a. Edición, Philadelphia, Lea and Febiger; 1977: 406-424.
- 3.- CHANDLER F W, KAPLAN W, AJELLO L. Color Atlas and Text of Histopathology of Mycotic Diseases. Chicago, Year Book Medical Publishers; 1980: 281-287.
- 4.- KURIE H L. Histopathology of Sporotrichosis. *Arch. Pathol.* 1963; 75:421-437.
- 5.- LURIE H L. Sporotrichosis, Baker, R.D. (Editor). The Pathological Anatomy of the Mycoses, Berlin, Springer Verlag; 1971: 635-656.
- 6.- KINBURO T, FUKUSHINO R. Fungal elements in tissues of Sporotrichosis. *Mykosen* 1982; 26:35-41.
- 7.- KAPLAN W, KRAFT D.E. Demonstration of pathogenic fungi in formalin-fixed tissues by immunofluorescence. *Am. J Clin Pathol* 1969; 52:420-432.
- 8.- RUSSEL B, BECKET J Y, JACOBS P H. Immunoperoxidase localization of *S. schenckii* and *C. neoformans*. *Arch Dermatol* 1979; 115:433-435.
- 9.- De BEURMAN L, GOUGEROT H. Les sporotrichoses. Paris, Felix Alcon; 19812.
- 10.- De GRACIANSKY P, BOULLE S. Atlas de Dermatologie, Paris, Librarire Malone; 1952.
- 11.- BERNARD C, HIRSH M, JOHNSON W C. Concepts in granuloma inflammation, *Int J Dermatol* 1984; 23:90-100.
- 12.- LEVER W S, SCHAUMBURG-LEVER G. Histopathology of the skin, 6a. Ed., Philadelphia, Lippincott 1983; 346-347;
- 13.- URIBE F, LEON W, VELASQUEZ J P. Modificaciones tisulares a nivel de la piel en algunas micosis sistémicas. *At Med Col* 1982; 7:171-179.
- 14.- TAYLOR c R, HOFFMAN F M, MODLIN R L, REA T H. Immunoperoxidase techniques applied to dermatology. *J Cutan Pathol* 1983; 10:145-163.
- 15.- BLUMMER S O, KAUFMAN L, KAPLAN W, McLOUGHLIN D W, KRAFT D E. Comparative evaluation of 5 serological methods for the diagnosis of Sporotrichosis. *Appl Microbiol* 1973; 26:4-8.
- 16.- SWEANY C. Histoplasmosis, Springfield C.C. Thomas; 1960: 318-333.
- 17.- DULAY R D. Histopatología de la blastomycosis de Lobo. *Derm Venezolana* 1972; 14:27-34.
- 18.- PINKUS H, MEHREGAN A H. A guide to Dermatohistopathology 3a. Ed., New York, Appl. Crofts; 1981: 247-259.
- 19.- MEHREGAN A H. Perforating Dermatosis. *Int J Dermatol* 1977; 16:19-27.
- 20.- BATRES E, WOLF J E, RUDOLF A H, KNOX J M. Transepithelial elimination of cutaneous chromomycosis. *Arch Dermatol* 1978; 114:1231-1232.
- 21.- DOHL M V. Clinical Immunodermatology. Chicago, Year Book Medical Publishers, Chicago; 1981:127-136.
- 22.- ROBBINSON S L, COTRAN R S. Patología Estructural y Funcional. 2a. Ed. Mexico, Nueva Editorial Interamericana, 1984, 53-100.
- 23.- SAEED E N, HAY R J. Immunoperoxidase staining in the recognition of Aspergillus infection. *Histopathol* 1981; 5:437-444.
- 24.- LACAZ G S, PORTO MARTIN J E C. Micología Médica, 7a. Ed. Sao Paulo, Brasil, Sarvier, Editores; 1984: 175-187.