



ISSSTE

INSTITUTO DE SEGURIDAD
Y SERVICIOS SOCIALES DE LOS
TRABAJADORES DEL ESTADO



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES DE LOS TRABAJADORES DEL ESTADO

***UTILIDAD DE LAS TINCIONES HISTOQUÍMICAS EN EL DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO DE LAS
ENFERMEDADES GRANULOMATOSAS.***

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN QUE PRESENTA:

DRA. RAQUEL GONZÁLEZ CERVANTES

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE LA ESPECIALIDAD

ANATOMÍA PATOLÓGICA

ASESOR DE TESIS

DR. FERNANDO DE LA TORRE RENDÓN

NO. DE REGISTRO

671.2018

CIUDAD DE MÉXICO, MAYO DE 2020



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DR. JULIO CÉSAR DÍAZ BECERRA
COORDINADOR DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN

DR. FÉLIX ESPINAL SOLIS
JEFE DE ENSEÑANZA MÉDICA

DRA. MARTHA EUNICE RODRIGUEZ ARELLANO
JEFE DE INVESTIGACIÓN

DR. FERNANDO DE LA TORRE Y RENDÓN
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA

DR. FERNANDO DE LA TORRE Y RENDÓN
ASESOR DE TESIS

RESÚMEN

INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES. - Las tinciones histológicas se usan ampliamente para el estudio microscópico de tejidos en las ciencias biomédicas. Los colores varían de acuerdo con la tinción usada, el ambiente (pH, temperatura) y las condiciones de la preparación (como la solución fijadora, solventes, concentración del tinte). Los tintes pueden ser generales (tiñendo grandes áreas del espécimen) o muy específicos para ciertos componentes celulares, como el tejido conectivo, lípidos o DNA. Varias tinciones usadas en histología son ácidos (cargados negativamente en solución) o básicos (positivamente cargados en solución). Los tintes ácidos se unen a un grupo básico en tejidos y los tintes básicos se unen a los grupos ácidos en el tejido.

El 1 de Mayo de 1882 Paul Ehrlich comunicó su descubrimiento de la posteriormente conocida como "tinción de Ziehl-Neelsen". Ziehl prácticamente no aportó nada, proponiendo tan sólo emplear ácido carbólico en lugar de anilina, alternativa que ya había manejado el propio Ehrlich. En cuanto a Neelsen, cambió la genciana por fucsina, también una alternativa del autor, y el ácido nítrico por sulfúrico

OBJETIVO. - Conocer la proporción en que las tinciones histoquímicas son positivas a microorganismos en lesiones inflamatorias granulomatosas.

MATERIAL Y MÉTODOS. - La información se recopilará del archivo de reportes histopatológicos y de estudios histoquímicos (con controles adecuados) emitidos por el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Regional Adolfo López Mateos del ISSSTE. Para el procesamiento de la información obtenida se diseñó una base de datos sistematizada y a partir de ella se realizó la caracterización del grupo clasificándose como POSITIVO o NEGATIVO para una tinción determinada y posteriormente se realizó la estadística de los casos positivos con su respectivo microorganismo.

RESULTADOS. – De los 90 casos que contaron con criterios de inclusión se encontró que 31 casos fueron positivos para microorganismos, de los 31 casos positivos las tinciones que fueron positivas con mayor frecuencia fueron Ziehl-Neelsen 17 casos, 8 casos positivos para la tinción de Grocott, para PAS 5 casos positivos y un caso positivo para Brown-Brenn. Los sitios anatómicos mayormente afectados fueron pulmón y ganglio linfático.

CONCLUSIONES. - La utilidad de las tinciones histoquímicas en el diagnóstico etiológico fue del 34%, es decir 34 de los 90 casos que tenían sospecha histológica de infección por microorganismos fue demostrable por las tinciones histoquímicas.

SUMMARY

INTRODUCTION. - Histological stains are used for the microscopic study of tissues in the biomedical sciences. Colors are different according to the staining used, the environment (pH, temperature) and the condition of the preparation (such as the fixed solution, solvents, concentration of the dye). Dyes can be general (staining large areas of the specimen) or highly specific for minor components, such as connective tissue, lipids, or DNA. Several stains used in histology are acidic (negatively charged in solution) or basic (positively charged in solution). Acidic dyes bind to a basic group in tissues and basic dyes bind to acidic groups in tissue.

On May 1, 1882 Paul Ehrlich reported his discovery of the later known as "Ziehl-Neelsen staining". Ziehl specifically did not contribute anything, proposing only carbolic acid instead of aniline, an alternative that Ehrlich himself had already managed. As for Neelsen, he changes the gentian for fuchsin, also an alternative of the author, and the nitric acid for sulfuric.

OBJECTIVE. - To know the proportion in which histochemical stains are positive for microorganisms in cases in which a granulomatous reaction is revealed on histology.

MATERIAL AND METHODS. - The information was collected from the archives of histopathological reports and histochemical studies (with adequate controls) issued by the Servicio de Anatomía Patológica of the Hospital Regional Adolfo López Mateos ISSSTE. For the processing of the information obtained, a systematized database was designed and thereafter the characterization of the group was carried out, classifying as POSITIVE or NEGATIVE for a certain staining.

RESULTS. - Of the 90 cases that met the inclusion criteria, 31 cases were positive for microorganisms. The most frequently positive stains were Ziehl-Neelsen 17 cases, 8 positive cases for the Grocott stain, 5 positive cases were positive for PAS staining and one positive case for Brown-Brenn. The most affected anatomical sites were lung and lymph node.

CONCLUSIONS. - The utility of histochemical stains in the etiological diagnosis was 34%, that is, 34 of the 90 cases that had histological suspicion of infection by microorganisms was demonstrable by histochemical stains.

AGRADECIMIENTOS

A Uri, por el cariño y apoyo incondicional que me ha brindado siempre.

A todos mis compañeros de trabajo del Servicio de Patología, por su apoyo y amistad.

A todos mis profesores, por la oportunidad de aprender lo mejor de cada uno de ellos.

ÍNDICE

| | |
|----------------------------|----|
| INTRODUCCIÓN | 7 |
| ANTECEDENTES | 8 |
| PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA | 9 |
| JUSTIFICACIÓN | 10 |
| OBJETIVOS | 11 |
| HIPÓTESIS | 12 |
| MATERIAL Y MÉTODOS | 13 |
| ANÁLISIS ESTADÍSTICO | 15 |
| RESULTADOS | 16 |
| DISCUSIÓN | 25 |
| CONCLUSIONES | 26 |
| ANEXOS | 27 |
| BIBLIOGRAFÍA | 34 |

1. INTRODUCCIÓN

Las tinciones histológicas se usan ampliamente para el estudio microscópico de tejidos en las ciencias biomédicas.

Los colores varían de acuerdo con la tinción usada, el ambiente (pH, temperatura) y las condiciones de la preparación (como la solución fijadora, solventes, concentración del tinte). Los tintes pueden ser generales (tiñendo grandes áreas del espécimen) o muy específicos para ciertos componentes celulares, como el tejido conectivo, lípidos o DNA. Varias tinciones usadas en histología son acídicas (cargados negativamente en solución) o básicos (positivamente cargados en solución). Los tintes acídicos se unen a un grupo básico en tejidos y los tintes básicos se unen a los grupos acídicos en el tejido.

La hematoxilina-eosina es posiblemente el tinte más usado como tinción general en histología, donde la hematoxilina actúa como un tinte básico y la eosina como un tinte acídico para teñir tejidos azul y rosa/rojo respectivamente.

La hematoxilina/eosina, técnica histológica convencional, vino a sustituir al azul de metileno considerado un colorante básico nuclear que colorea al núcleo de azul, y la eosina, colorante ácido que colorea al citoplasma de rojo a rosado.

Las técnicas histológicas especiales que se consideraron para este estudio fueron las siguientes: el ácido periódico de Schiff (PAS), colorea los hidratos de carbonos, glucógenos, mucopolisacáridos neutros, mucoproteínas, membrana basal, los hongos y pigmentos férricos.

El Ziehl Nielsen sirve para identificar bacilo de Koch. Otros autores utilizan para los bacilos ácidos alcohol resistente el PCR, lo que demuestra una alta sensibilidad en el diagnóstico de micobacteria.

La plata metenamina se usa para hongos, aunque tienen otros usos como para el análisis histológico de la membrana basal en biopsia renal.

Las técnicas de verde metilo pironina y la plata metenamina se usan como rutina en algunos laboratorios en los casos cuando se sospecha etiología infecciosa.

El Gram es la técnica especial más utilizada para detectar gérmenes grampositivos y gramnegativos además de permitir diferenciarlos. La modificación para cortes histológicos es la tinción de Brown Brenn.

Se estima que la utilidad de las tinciones histoquímicas en el diagnóstico etiológico de las enfermedades infecciosas es del 27-40%.

2. ANTECEDENTES

Paul Ehrlich (1854-1915, Premio Nobel de Medicina en 1908) realizó su investigación de doctorado sobre la teoría y práctica de la tinción histológica ("Beiträge zur Theorie und Praxis der histologischen Färbung", Facultad de Medicina de Leipzig, 1878). Una de sus mayores innovaciones consistió en el uso de diferentes colorantes como azules de metileno y de indofenol) para la tinción selectiva de diferentes tipos de células. Erlich clasificaba como basófilas, acidófilas y neutrófilas aquellas células que se coloreaban específicamente con colorantes básicos, ácidos o neutros, respectivamente, explicando dicha especificidad mediante la presencia de los correspondientes grupos ionizables.

Ehrlich descubrió en 1891 que el azul de metileno constituía un tratamiento efectivo contra la malaria, pero era ligeramente tóxico, coloreaba la orina en verde y el blanco de los ojos en azul. Durante la Segunda Guerra Mundial aquellos países que luchaban en el Pacífico, como EE UU y Francia (Indochina), buscaron disminuir su toxicidad y sus propiedades colorantes reduciéndolo de fenotiacinio a fenotiacina

El 1 de Mayo de 1882 Paul Ehrlich comunicó su descubrimiento sobre una coloración para bacilo tuberculoso. Posteriormente Franz Ziehl prácticamente no aportó nada, proponiendo tan sólo emplear ácido carbólico en lugar de anilina, alternativa que ya había manejado el propio Ehrlich. En cuanto a Friedrich Karl A. Neelsen, cambió la genciana por fucsina, también una alternativa del autor, y el ácido nítrico por sulfúrico, su única innovación real. Con justa razón, sabiendo que no habían hecho nada, ni Ziehl ni Neelsen osaron hacer publicación alguna: el nombre de la tinción, como hoy la conocemos, nació de una simple nota al pie de una página, en una publicación que Johnie hiciera en 1885.

El interés por la investigación histoquímica renació en la segunda mitad del siglo XX en el Instituto Cajal de la mano del Dr. Ricardo Martínez Rodríguez, Jefe del Departamento de Neurohistoquímica y Neurobioquímica. El Dr. Martínez (Ribadavia, Orense, 1925), médico de la Armada, se especializó en Histología bajo la tutela del Dr. A. Carrato, catedrático de histología y anatomía patológica (Univ. Complutense de Madrid) y director del Instituto Cajal (1963-1981). Asimismo, Martínez trabajó con Raymond J. Wegmann, Director del Institute de Histochemie de las Universidades de París y omnipresente impulsor de la histoquímica y biología molecular y celular en Europa y Sudamérica. Martínez puso a punto, en los laboratorios del Instituto Cajal, numerosas técnicas histoquímicas y desarrolló métodos originales para detectar actividades enzimáticas in situ, como parte de su investigación sobre neurotransmisores que fue reconocida con el Premio Ramón y Cajal del CSIC (1967). Para sistematizar y difundir este extenso conocimiento escribió, a finales de la década de los 70, un tratado de histoquímica de más de 1000 páginas, del cual se distribuyeron copias producidas de manera artesanal. A partir de esta obra, Martínez y Gragera editaron recientemente un enciclopédico compendio de la teoría y práctica de la Histoquímica, al que contribuyeron, además, Joaquín Plumet, Ricardo Martínez-Murillo y Javier Capilla.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las tinciones histoquímicas son tinciones especiales que se pueden utilizar para detectar microorganismos (Micobacterias y Hongos), se utilizan cuando la sospecha clínica es altamente indicativa de infección por estos microorganismos, también se utilizan cuando los datos histológicos son compatibles con estos padecimientos, como la formación de granulomas; sin embargo se desconoce ¿En cuántas de las ocasiones en las que hay sospecha clínica o histológica de enfermedades granulomatosas por microorganismos se logran identificar por medio de las tinciones histoquímicas?

4. JUSTIFICACIÓN

Es importante conocer ¿En cuántas de las ocasiones en las que hay sospecha clínica o histológica de enfermedades granulomatosas por microorganismos se logran identificar por medio de las tinciones histoquímicas?, ya que, de no ser diagnósticas en enfermedades con alta sospecha clínica e histológica, se sugiera otro tipo de método diagnóstico como PCR y cultivos.

5. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Conocer la proporción en que las tinciones histoquímicas son positivas en aquellos casos con procesos granulomatosos sospechosos de etiología por microorganismos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Valorar ¿En cuántas ocasiones las tinciones histoquímicas fueron concluyentes de positividad o negatividad en casos con sospecha clínica e histológica alta?
- Valorar ¿Qué grupos de edad son más frecuentemente afectados por procesos granulomatosos con sospecha etiológica por microorganismos?
- Valorar ¿Qué microorganismos son más frecuentemente identificados por medio de las tinciones histoquímicas?
- Valorar ¿Qué localización anatómica es más afectada por procesos granulomatosos con sospecha histológica de infección por microorganismos?

6. HIPÓTESIS

Las tinciones histoquímicas, son de utilidad en la mayoría de las enfermedades formadoras de granulomas, en las que la sospecha clínica e histológica sea altamente sugerente.

7. MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo, observacional, retrospectivo; mediante el cual se analizaron los reportes y material en existencia del archivo del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos en el periodo comprendido desde enero de 2001 hasta diciembre de 2018. La información se obtuvo a partir del registro de quirúrgicos almacenados vía electrónica de dicho departamento.

Con la información obtenida de las bases de datos, se seleccionaron los casos a estudiar, utilizando para la selección los siguientes criterios:

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Reportes de casos con procesos granulomatosos con sospecha etiológica por microorganismos en el período 01 de marzo de 2000 al 01- Marzo de 2019.
- Casos que cuenten con material en archivo (laminillas teñidas con Hematoxilina y Eosina, Ziehl-Neelsen, PAS, Grocott, Brown-Brenn).
- Casos positivos o negativos para el agente específico de la tinción de histoquímica y con controles adecuados. (Los controles, son muestras de tejido positivas para el agente específico, previamente valoradas y que se utilizan para evaluar la calidad de la tinción. Se colocan en la parte inferior de la laminilla con el tejido a teñir, y deberán ser positivas al microorganismo en todas las ocasiones).

Se recabaron las laminillas y los reportes de los casos reportados con datos compatibles con proceso granulomatoso por microorganismos.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Reportes de casos con procesos granulomatosos y sospecha por microorganismos que no describan las tinciones de histoquímica.
- Laminillas de tinciones histoquímicas en los que el control no sea adecuado. (Los controles, son muestras de tejido positivas para el agente específico, previamente valoradas y que se utilizan para evaluar la calidad de la tinción. Se colocan en la parte inferior de la laminilla con el tejido a teñir, y deberán ser positivas al microorganismo en todas las ocasiones).

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

- Casos con controles inadecuados. (Los controles, son muestras de tejido positivas para el agente específico, previamente valoradas y que se utilizan para evaluar la calidad de la tinción. Se colocan en la parte inferior de la laminilla con el tejido a teñir, y deberán ser positivas al microorganismo en todas las ocasiones.)
- Casos que no presenten ni reporte diagnóstico ni laminillas.
- Bloques de parafina ausentes del archivo de bloque.
- Casos con laminillas H y E ausentes o dañadas, en el archivo de laminillas.

Los casos seleccionados, excluidos y eliminados se muestran en la tabla del anexo 1.

Se seleccionaron los casos que tienen proceso granulomatoso con sospecha etiológica por microorganismos y que contaban con reporte quirúrgico o laminillas en el archivo del Servicio de Patología y se identificaron las siguientes variables:

- Edad
- Sexo
- Sitio anatómico.
- Tinción positiva.

Para el procesamiento de la información obtenida se diseñó una base de datos sistematizada con los datos de número quirúrgico, edad, sexo, órgano o sitio anatómico, tinción positiva y microorganismo identificado; y a partir de ella se realizó la caracterización del grupo clasificándose como POSITIVO o NEGATIVO para una tinción determinada. Este estudio no puede valorar especificidad de la prueba, porque no se realizó estudio en pacientes sanos; es decir, sin sospecha clínica o histológica de enfermedad granulomatosa.

Por el tipo de investigación no fue necesario el consentimiento informado de los pacientes a quienes correspondieron los casos seleccionados., dado que se manejaron los resultados de manera grupal y anónima. De acuerdo al artículo 17 del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, esta investigación se considera Categoría I, es decir, sin riesgo.

Los resultados obtenidos al final de esta investigación se difundirán de acuerdo con cómo lo consideren conveniente los médicos profesores titular y adjunto del curso de Anatomía Patológica con sede en el Hospital Regional Licenciado Adolfo López Mateos.

8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó el programa Microsoft Excel para la elaboración de formatos para recolectar la información, elaboración de gráficos y el análisis estadístico de los datos recabados.

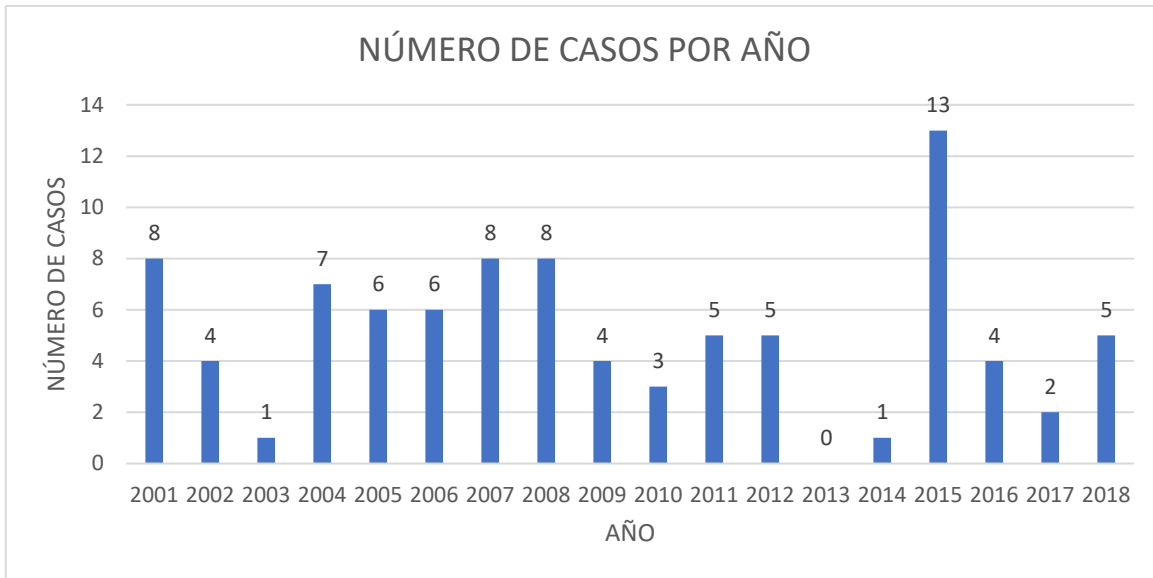
Se obtuvieron medidas de frecuencia y porcentaje del número de pacientes con procesos granulomatosos y sospecha etiológica por microorganismos y el número de casos que fueron positivos para una tinción específica y el número de casos negativos. Además, se clasificaron los grupos por sexo, edad, órgano o sitio anatómico, tinción positiva y microorganismo identificado por tinción histoquímica.

9. RESULTADOS

Se analizaron 90 casos con reporte histológico y/o laminillas y resultado con procesos granulomatosos que tienen como probable origen etiológico microorganismos diagnosticados en el Hospital Lic. Adolfo López Mateos desde el año 2001 al año 2018, notándose que el año con más casos es el año 2015 con un 13.3% y en el año 2013 no se reportó ningún caso. Ver tabla y gráfico 1.

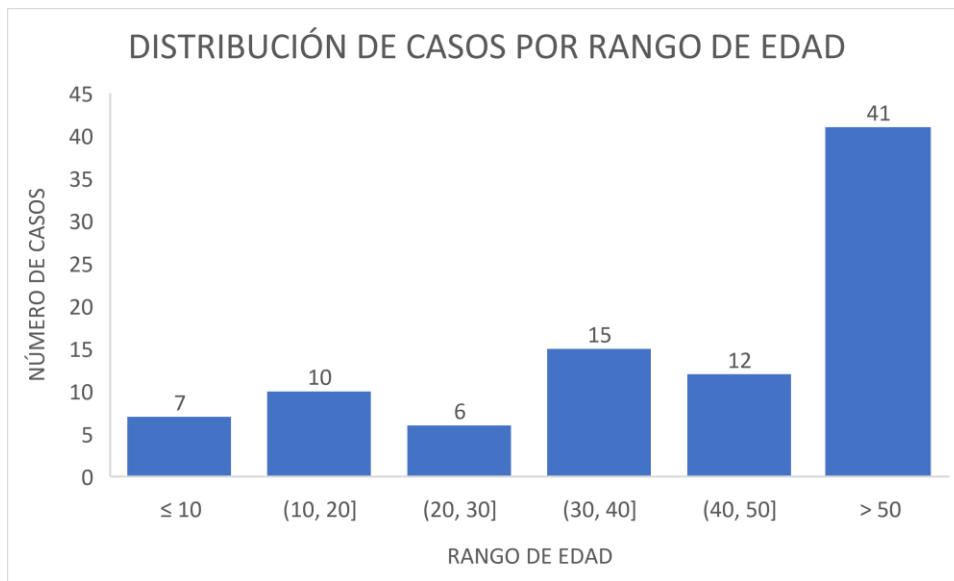
| AÑO | NÚMERO DE CASOS | PORCENTAJE |
|--------------|------------------------|-------------------|
| 2001 | 8 | 8.80% |
| 2002 | 4 | 4.40% |
| 2003 | 1 | 1.10% |
| 2004 | 7 | 7.70% |
| 2005 | 6 | 6.60% |
| 2006 | 6 | 6.60% |
| 2007 | 8 | 8.80% |
| 2008 | 8 | 8.80% |
| 2009 | 4 | 4.40% |
| 2010 | 3 | 3.30% |
| 2011 | 5 | 5.50% |
| 2012 | 5 | 5.50% |
| 2013 | 0 | 0% |
| 2014 | 1 | 1.10% |
| 2015 | 13 | 13.30% |
| 2016 | 4 | 4.20% |
| 2017 | 2 | 2.20% |
| 2018 | 5 | 5.50% |
| TOTAL | 90 | 100% |

Tabla 1. Número de casos con proceso granulomatoso y tinciones reportadas en los años 2001-2018.



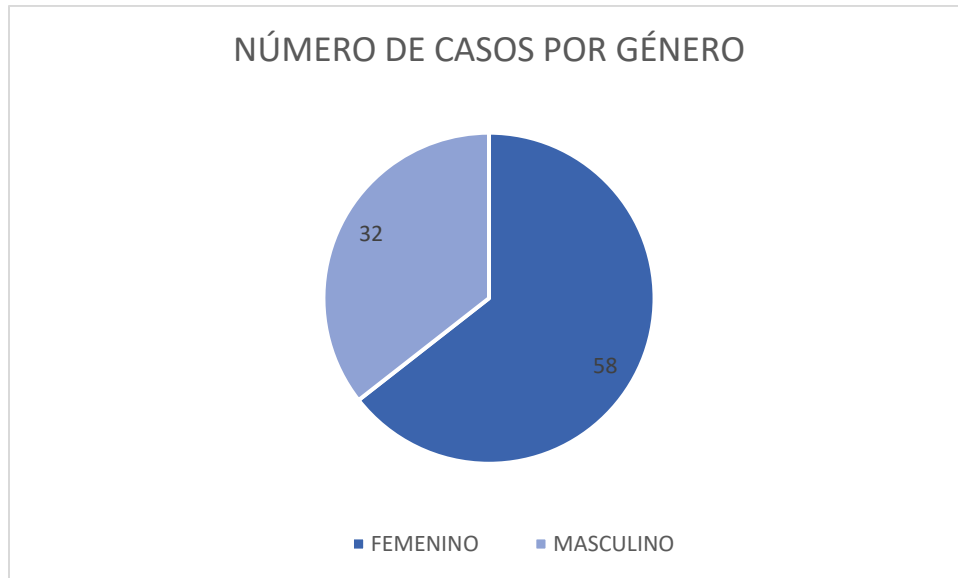
Gráfica 1. Número de casos con proceso granulomatoso y tinciones reportadas (2001-2018).

La distribución de casos con proceso granulomatosos por grupos de edad se muestra en la Gráfica 2. Y se identifica que el grupo de edad más frecuente es el de mayores de 50 años con 41 pacientes y un 45.5% y siendo el menos frecuente el grupo de edad de 20 a 30 años con 6 pacientes y 6.6% como se muestra en la gráfica 2.



Gráfica 2. Frecuencia de casos con proceso granulomatosos por grupos de edad (2001-2018).

La distribución de casos con proceso granulomatosos por género se muestra en la Gráfica 3. Y se identifica que el género más frecuentemente afectado es el género femenino con 58 de 90 casos; es decir un 64.4% y el género masculino con sólo 32 casos y un 35.5%.

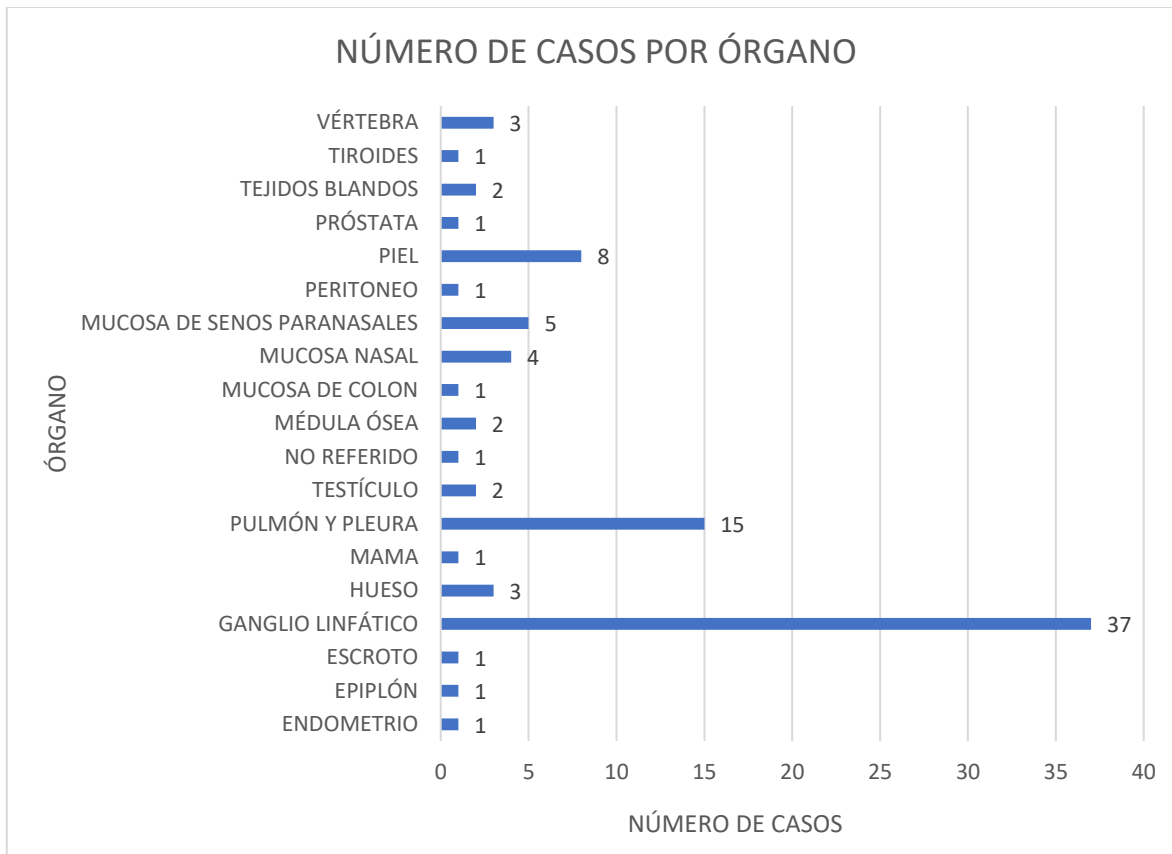


Gráfica 3. Frecuencia de casos con proceso granulomatosos por género (2001-2018).

De los 90 casos analizados con proceso granulomatoso se encontró que el sitio más frecuente de afección son los ganglios linfáticos, seguidos del pulmón y la pleura, el resto de los casos se distribuyen como se muestra la tabla 2 y la gráfica 4.

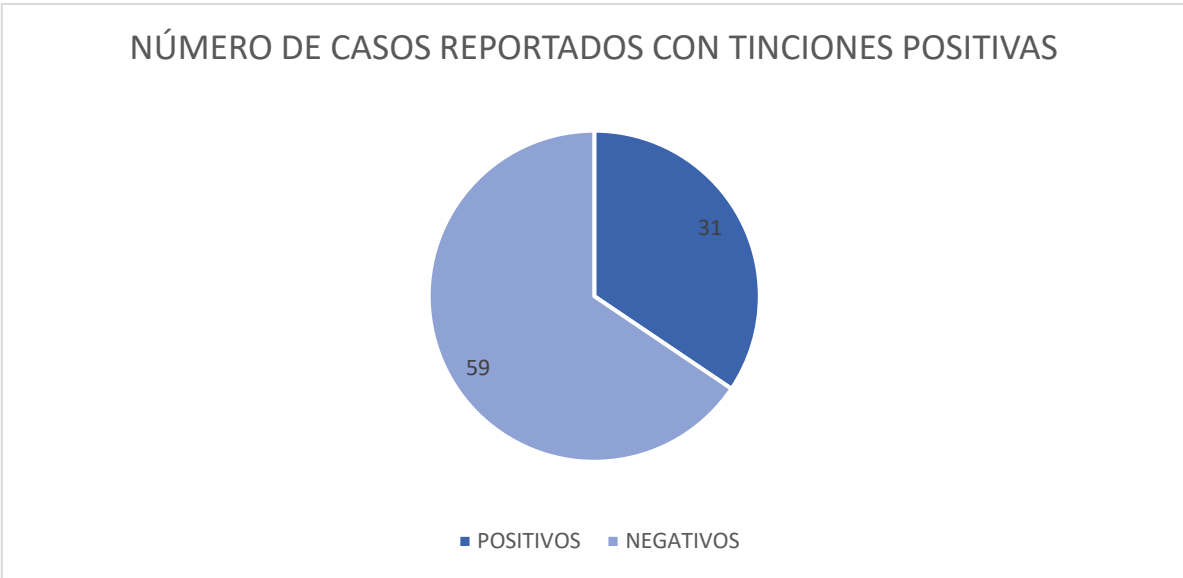
| ÓRGANO | NÚMERO DE CASOS |
|-----------------------------|-----------------|
| ENDOMETRIO | 1 |
| EPIPLÓN | 1 |
| ESCROTO | 1 |
| GANGLIO LINFÁTICO | 37 |
| HUESO | 3 |
| MAMA | 1 |
| PULMÓN Y PLEURA | 15 |
| TESTÍCULO | 2 |
| NO REFERIDO | 1 |
| MÉDULA ÓSEA | 2 |
| MUCOSA DE COLON | 1 |
| MUCOSA NASAL | 4 |
| MUCOSA DE SENOS PARANASALES | 5 |
| PERITONEO | 1 |
| PIEL | 8 |
| PRÓSTATA | 1 |
| TEJIDOS BLANDOS | 2 |
| TIROIDES | 1 |
| VÉRTEBRA | 3 |
| TOTAL | 90 |

Tabla 2. Número de casos con proceso granulomatoso por órgano, reportados en los años 2001 a 2018.



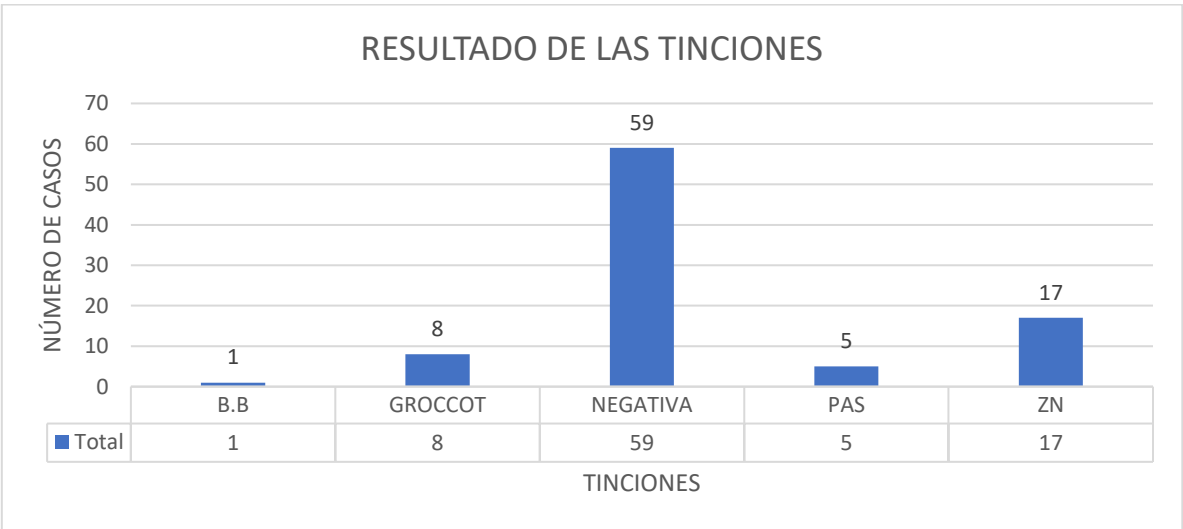
Gráfica 4.- Número de casos con proceso granulomatoso por órgano, reportados en los años 2001 a 2018.

Al estudio con tinciones de histoquímica y revisión de reportes de casos reportados con procesos granulomatosos, se identificaron 90 casos que contaban con reporte impreso y/o laminillas teñidas con H-E y de tinciones especiales, entre los que se encontraron las siguientes tinciones para identificar microorganismos: PAS, Ziehl-Neelsen, Grocott, Brown-Brenn. De los 90 casos analizados que cumplían con criterios de inclusión se identificaron 31 casos en los que la tinción fue positiva (Figuras 1 a la 12) para microorganismos, es decir el 34% de los casos que presentaba sospecha clínica o histológica de infección por microorganismos, logró ser identificada por tinciones de histoquímica especiales como se muestra en la gráfica 6. (La tabla con todos los casos se muestra en el anexo 2).



Gráfica 6.- Número de casos con tinciones positivas y negativas reportados en los años 2001 a 2018.

Dentro de los estudios que resultaron positivos se identifican 17 casos positivos para Ziehl-Neelsen, 8 para Groccot, 5 PAS positivas, y 1 Brown-Brenn positivo. Gráfica 7.



Gráfica 7.- Número de casos positivos por tinción específica reportadas en los años 2001-2018.

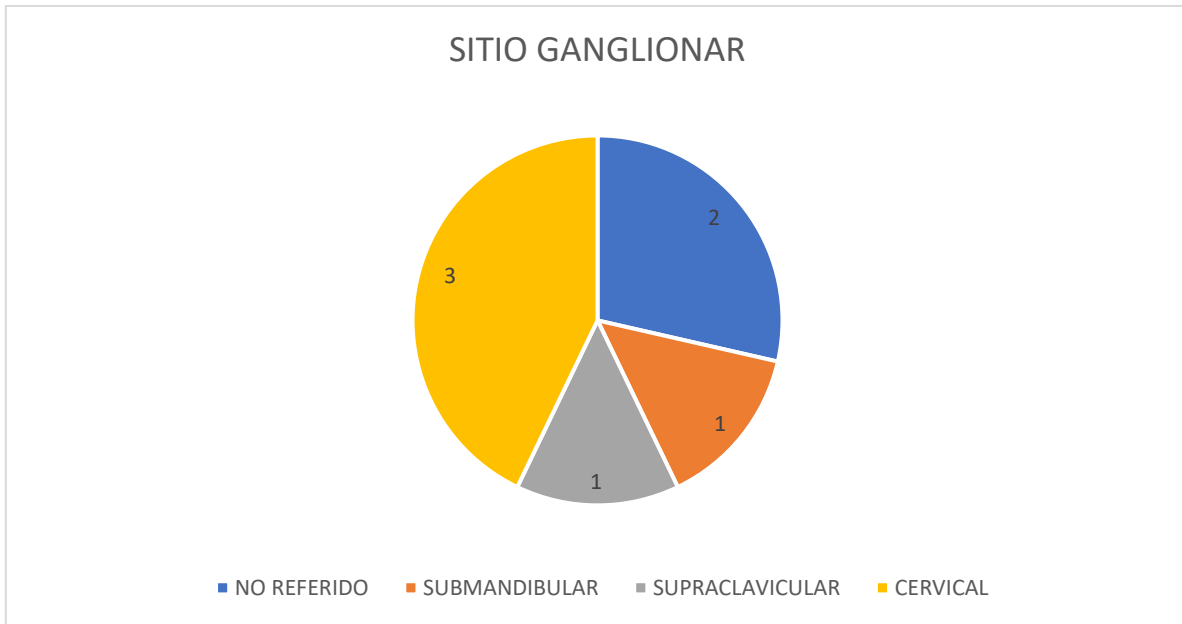
Al estudiar los casos positivos se evidenció que los sitios anatómicos que con mayor frecuencia presentaron positividad a las tinciones histoquímicas son el pulmón y el ganglio linfático con 7 casos en ambos sitios, seguidos por las mucosas nasal y de seno paranasal. Gráfica 8.

Los microorganismos identificados morfológicamente y apoyado por la tinción positiva fueron: Bacterias compatibles con Mycobacterium, Hongos morfológicamente compatibles con Aspergillus, Hongos causales de mucormicosis, y en otros casos Actinomices, Toxoplasma, y hongos saprófitos. Gráfica 10.



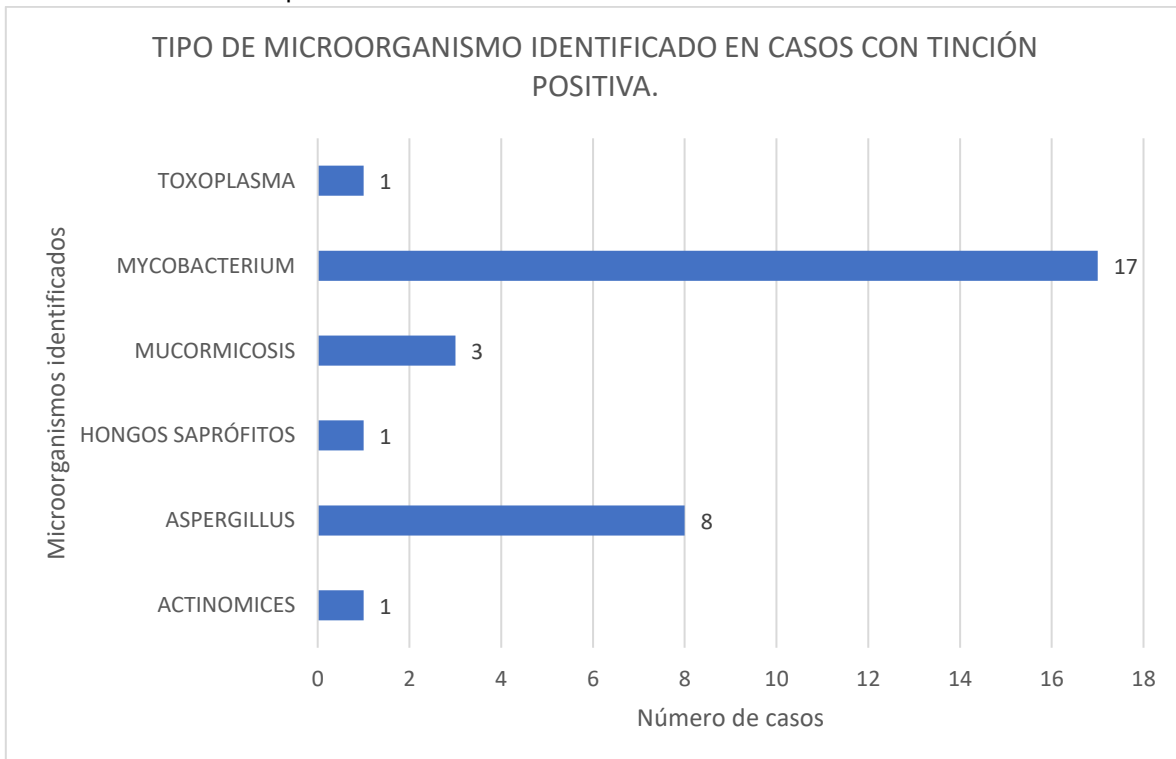
Gráfica 8. Número de casos con tinción positiva para algún determinado microorganismo por órgano o localización anatómica.

Los ganglios positivos fueron 7, y la topografía es más frecuente en los ganglios cervicales con 3 casos, no referido dos casos, un caso submandibular y un ganglio supraclavicular. Gráfica 9.



Gráfica 9. Sitio de afección ganglionar de los casos positivos a tinciones especiales en los años 2001-2018.

El microorganismo más frecuentemente identificado por la tinción histoquímica es Mycobacterium con 17 de los 31 casos positivos. Gráfica 10.



Gráfica 10. Tipo de microorganismos identificados en los casos con tinciones positivas de los años 2001-2018.

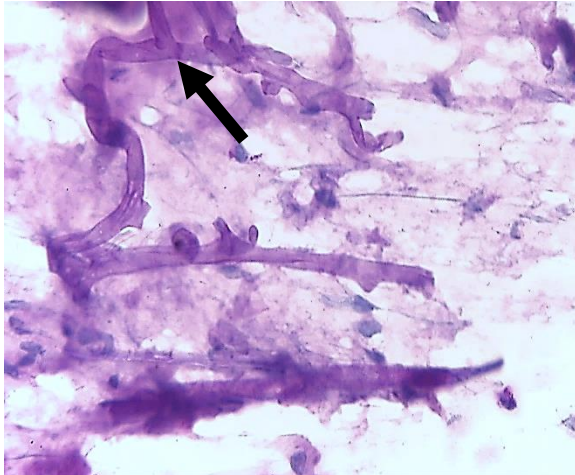


Fig. 1 Tinción de PAS que muestra hifas gruesas PAS positivas birrefringentes, como cintas de 10-20 μ m de diámetro no septadas, con ramificaciones en ángulo recto (flecha) en una citología de mucosa nasal. Compatibles con hongos causales de Mucormicosis. 40X

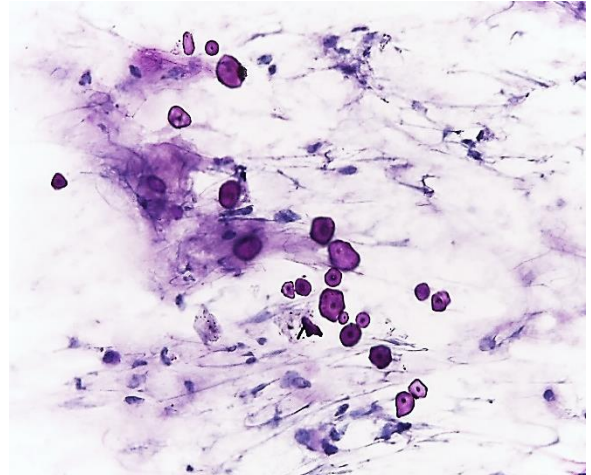


Fig. 2 Tinción de PAS dónde se identifican esporangiosporas que son la forma asexual típica de algunos hongos, son PAS intensamente positivos y birrefringentes. Se muestran en una citología de mucosa nasal. Compatibles con hongos causales de Mucormicosis. 40X.

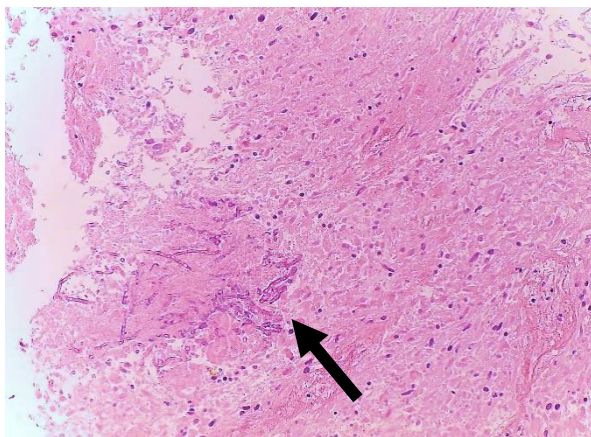


Fig. 3 Tinción de H-E que muestra la parte central de un granuloma con extensa necrosis, células inflamatorias de tipo linfocitos y ocasionales estructuras tubulares de membrana discretamente basófila (flecha) compatibles con hifas. 20X

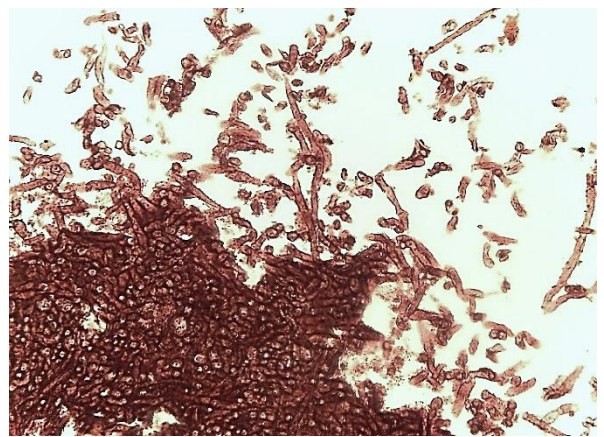


Fig. 4 Tinción de Grocott que muestra hifas con un grosor de 3-6 μ m, contornos paralelos, patrón progresivo de crecimiento arboriforme con ramas dicotómicas y que se ramifican en ángulos agudos de 45°. Compatibles con hongos del género *Aspergillus*. 20X

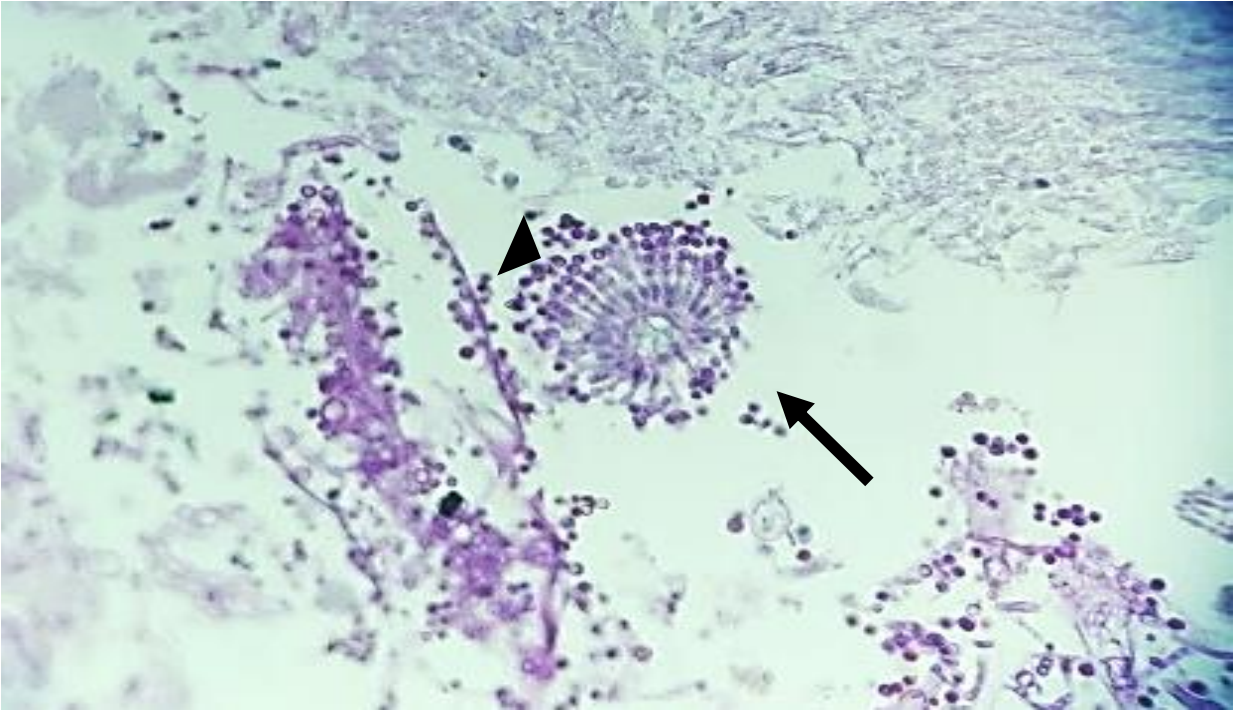


Fig. 4 Tinción de PAS que muestra hifas tabicadas ramificadas que producen cabezas conidiales (flecha) compuestas de un conidióforo con una vesícula terminal que porta capas de fiáldes con conidios en su parte más distal (punta de flecha). Compatibles con hongos del género *Aspergillus*. 40X

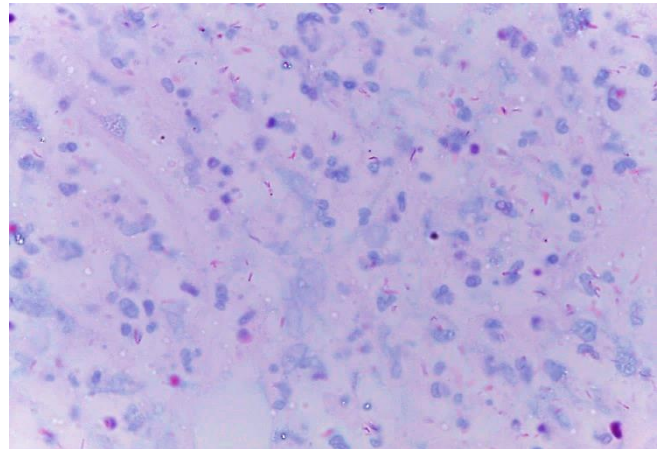
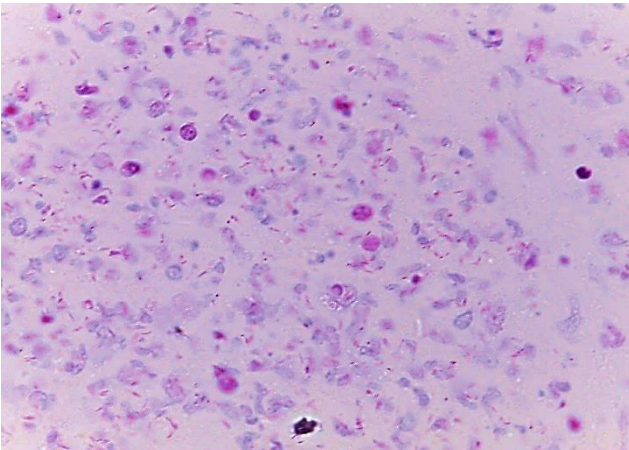


Fig. 5 Tinción de Ziehl-Neelsen que muestra el centro necrótico de un granuloma con histiocitos y abundantes bacilos cortos acido alcohol-resistentes compatibles con *Mycobacterium*.

10. DISCUSIÓN

Las tinciones de histoquímica son tinciones especiales que se realizan para identificar algún microorganismo determinado de acuerdo con sus características biológicas y propiedades tintoriales.

En la actualidad la biología molecular logra identificar cepas de bacterias, hongos, parásitos y virus y han revolucionado el diagnóstico etiológico en muchos hospitales.

Los estudios histológicos con técnicas histológicas convencionales y especiales les brindan una información básica al clínico acerca de la naturaleza del proceso infeccioso, lo que permitiría su aplicación y contribución a elevar la calidad diagnóstica en casos de infiltrado inflamatorio agudo, inflamación aguda, infecciones crónicas e informar el agente causal de infección por la morfología, forma de agrupación, afinidad tintorial, forma de agrupación, características clínicas e histología, de ahí la importancia de introducir y aplicar estas técnicas histológicas con una nueva visión de calidad diagnóstica, lo que suple la falta de recursos de costosas técnicas como la reacción en cadena a la polimerasa (PCR). Se debe señalar que existe limitación en el diagnóstico histológico, pues si bien se puede conocer al agente causal, no es posible determinar la cepa ni la resistencia a los antibióticos, esto es solo a través del diagnóstico microbiológico.

El hallazgo histológico de microorganismo en tejido viable es altamente específico, así como el diagnóstico de infección. De ahí el objetivo del estudio es mostrar las posibilidades de la utilización de técnicas histológicas convencional y especial para los diagnósticos de microorganismos causantes de infección.

De acuerdo con un estudio realizado por Gehan Mohammed Ahmed "Comparison of the Microwave-Heated Ziehl-Neelsen Stain and Conventional Ziehl-Neelsen Method in the Detection of Acid-Fast Bacilli in Lymph Node Biopsies" identificaron que la sensibilidad del Ziehl-Neelsen, es baja de un 20-43% que en comparación con nuestro estudio es similar, ya que en éste estudio sirvió para identificar el 34% de los casos. No evaluamos la sensibilidad o especificidad en nuestro estudio dado que no era localizable información sobre otros procedimientos de diagnóstico (cultivo o PCR) comparables y solamente fue análisis en material de patología.

11. CONCLUSIONES

Con la realización de este estudio es posible concluir que el uso de las tinciones histoquímicas es muy común cuando las características histológicas son compatibles con infección por microorganismos, estas características son granulomas típicos con necrosis caseosa, procesos necróticos extensos, intenso infiltrado inflamatorio.

De acuerdo con los resultados el año con más casos positivos de procesos granulomatosos es el 2015 con 13.3% del total de los casos entre los años 2001-2018. El grupo de edad más afectado es el de mayores de 50 años con 41 casos y el menos afectado de 20-30 años con 6 casos únicamente.

El órgano más frecuentemente afectado por procesos granulomatosos compatibles con infección por microorganismos es ganglio linfático con 37 casos.

Los casos positivos para tinciones histoquímicas de este estudio son 31 de 90, es decir, un 34.4% del total de los casos y las tinciones que fueron positivas son Ziehl-Neelsen con 17 casos, Grocott con 8 casos, PAS 5 casos positivos, y Brown Brenn 1 caso positivo. Dentro de los casos positivos por órgano, el ganglio linfático y el pulmón son los más afectados, ambos con 7 casos y el sitio con mayor afección ganglionar es el cervical con 3 de los 7 casos identificados.

Otros microorganismos morfológicamente identificados con las tinciones histoquímicas fueron: *Aspergillus*, hongos causales de mucormicosis, *Actinomyces*, *Toxoplasma* y Hongos saprófitos.

Por lo tanto se concluye que aún es necesario utilizar otro método diagnóstico para la identificación de microorganismos en casos con formación de granulomas en histología puesto que las tinciones histoquímicas sólo son positivas en un 34% de los casos de acuerdo con nuestro estudio y de acuerdo con lo descrito en la literatura.

12. ANEXOS

ANEXO 1. Casos reportados con proceso granulomatoso con sospecha clínica o histológica por microorganismos de los años 2001-2018

| Número Quirúrgico | ¿Sospecha de microorganismos? | | ¿Reporte o laminillas? | |
|-------------------|-------------------------------|----|------------------------|----|
| | SI | NO | SI | NO |
| 3777-01 | | NO | X | |
| 3983-01 | | NO | X | |
| 4044-01 | | NO | X | |
| 4239-01 | SI | | X | |
| 3774-01 | | NO | X | |
| 4336-01 | SI | | X | |
| 4648-01 | SI | | X | |
| 4862-01 | | NO | X | |
| 5158-01 | | NO | X | |
| 5289-01 | SI | | X | |
| 5444-01 | SI | | X | |
| 5196-01 | SI | | X | |
| 6369-01 | SI | | X | |
| 7831-01 | SI | | X | |
| 102-02 | SI | | X | |
| 411-02 | SI | | X | |
| 455-02 | | NO | X | |
| 565-02 | SI | | X | |
| 874-02 | SI | | X | |
| 1410-02 | | NO | X | |
| 1829-02 | | NO | X | |
| 2296-02 | | NO | X | |
| 2398-02 | | NO | X | |
| 2498-02 | | NO | X | |
| 3983-02 | | NO | X | |
| 4044-02 | | NO | X | |
| 4239-02 | | NO | X | |
| 4629-02 | | NO | X | |
| 4648-02 | | NO | | X |
| 5289-02 | | NO | | X |
| 5196-02 | | NO | | X |
| 5444-02 | | NO | | X |
| 411-03 | | | | X |
| 445-03 | | | | X |
| 565-03 | | | | X |
| 874-03 | | | | X |

| | | | | |
|---------|----|----|---|---|
| 2273-03 | | | | X |
| 2834-03 | | | | X |
| 2853-03 | | | | X |
| 2959-03 | | | X | |
| 2934-03 | | | | X |
| 4247-03 | | | | X |
| 5454-03 | | | X | |
| 5854-03 | | NO | | X |
| 6250-03 | | | | X |
| 7061-03 | | | | X |
| 7454-03 | | NO | | X |
| 8694-03 | | | X | |
| 737-03 | | | X | |
| 2588-03 | | | X | |
| 2592-03 | | | X | |
| 6597-03 | SI | | X | |
| 516-04 | SI | | | X |
| 2504-04 | SI | | X | |
| 2843-04 | SI | | X | |
| 3232-04 | SI | | X | |
| 6129-04 | | | X | |
| 6577-04 | SI | | X | |
| 7878-04 | SI | | X | |
| 8813-04 | SI | | X | |
| 1895-05 | SI | | X | |
| 2288-05 | SI | | X | |
| 3143-05 | SI | | X | |
| 3447-05 | SI | | X | |
| 5738-05 | SI | | X | |
| 8335-05 | SI | | X | |
| 841-06 | | NO | X | |
| 1132-06 | SI | | X | |
| 3453-06 | SI | | X | |
| 4141-06 | | NO | X | |
| 6694-06 | SI | | X | |
| 7157-06 | SI | | X | |
| 7840-06 | SI | | X | |
| 7852-06 | SI | | X | |
| 521-07 | SI | | X | |
| 1354-07 | SI | | X | |
| 1838-07 | SI | | X | |
| 2248-07 | SI | | X | |
| 5292-07 | SI | | X | |

| | | | | |
|----------|----|----|---|---|
| 6283-07 | | NO | X | |
| 7853-07 | SI | | X | |
| 8190-07 | SI | | X | |
| 9376-07 | SI | | X | |
| 36-08 | SI | | X | |
| 237-08 | SI | | | X |
| 2066-08 | SI | | X | |
| 3199-08 | SI | | X | |
| 2732-08 | SI | | X | |
| 4340-08 | | NO | X | |
| 5735-08 | SI | | | X |
| 5497-08 | | NO | X | |
| 8908-08 | SI | | | X |
| 10535-08 | SI | | | X |
| 11011-08 | | NO | X | |
| 1377-09 | SI | | X | |
| 3468-09 | | | X | |
| 3817-09 | | | X | |
| 5771-09 | SI | | X | |
| 6433-09 | | NO | X | |
| 7612-09 | | NO | X | |
| 8293-09 | SI | | X | |
| 8647-09 | SI | | X | |
| 2368-10 | SI | | X | |
| 2534-10 | SI | | X | |
| 5233-10 | SI | | X | |
| 1736-11 | SI | | X | |
| 5457-11 | SI | | | X |
| 6345-11 | SI | | X | |
| 6832-11 | SI | | X | |
| 7760-11 | SI | | X | |
| 8531-11 | | NO | X | |
| 1326-12 | SI | | X | |
| 2364-12 | SI | | X | |
| 3148-12 | | NO | | |
| 4770-12 | SI | | X | |
| 4228-12 | SI | | | X |
| 7018-12 | SI | | X | |
| 0 | | | X | |
| 3133-14 | | NO | X | |
| 2416-14 | | NO | X | |
| 2026-14 | SI | | X | |
| 213-15 | SI | | X | |

| | | | | |
|---------|----|----|---|--|
| 1008-15 | | NO | X | |
| 1313-15 | SI | | X | |
| 3198-15 | SI | | X | |
| 5415-15 | SI | | X | |
| 5894-15 | SI | | X | |
| 6955-15 | SI | | X | |
| 7009-15 | SI | | X | |
| 817-15 | SI | | X | |
| 990-15 | SI | | X | |
| 1108-15 | SI | | X | |
| 218-15 | SI | | X | |
| 656-15 | SI | | X | |
| 745-15 | SI | | X | |
| 3984-16 | SI | | X | |
| 261-16 | SI | | X | |
| 1428-16 | SI | | X | |
| 1460-16 | SI | | X | |
| 1101-17 | SI | | X | |
| 6174-17 | SI | | X | |
| 3175-17 | | NO | X | |
| 722-18 | SI | | X | |
| 2451-18 | SI | | X | |
| 3728-18 | SI | | | |
| 4112-18 | SI | | | |
| 4150-18 | | NO | | |
| 5862-18 | SI | | | |

ANEXO 2. Casos reportados con proceso granulomatoso con sospecha clínica o histológica por microorganismos, edad, sexo, órgano afectado o región anatómica, tinción positiva o negativa, agente identificado de los años 2001-2018.

| NÚMERO QUIRÚRGICO | EDAD | SEXO | ORGANO | TINCIÓN POSITIVA | AGENTE IDENTIFICADO |
|-------------------|------|------|---------------------------------|------------------|---------------------|
| 4239-01 | 19 | F | GANGLIO LINFÁTICO | NEGATIVA | |
| 4336-01 | 49 | F | ENDOMETRIO | NEGATIVA | |
| 4648-01 | 39 | F | PLEURA | NEGATIVA | |
| 5289-01 | 32 | F | GANGLIO LINFÁTICO | NEGATIVA | |
| 5444-01 | 1 | M | GANGLIO LINFÁTICO | NEGATIVA | |
| 5196-01 | 77 | M | PERITONEO | ZN | MYCOBACTERIUM |
| 6369-01 | 36 | F | PIEL | NEGATIVA | |
| 7831-01 | 75 | M | NO REFERIDO | NEGATIVA | |
| 102-02 | 93 | F | PIEL | PAS | HONGOS SAPRÓFITOS |
| 411-02 | 39 | M | PULMÓN | GROCCOT | ASPERGILLUS |
| 565-02 | 19 | F | GANGLIO LINFÁTICO | NEGATIVA | |
| 874-02 | 44 | M | PIEL | NEGATIVA | |
| 6597-03 | 43 | F | PIEL | NEGATIVA | |
| 516-04 | 60 | F | PULMÓN | NEGATIVA | |
| 2504-04 | 43 | F | GANGLIO LINFÁTICO INGUINAL | NEGATIVA | |
| 2843-04 | 52 | F | PIEL | NEGATIVA | |
| 3232-04 | 52 | M | TESTÍCULO | NEGATIVA | |
| 6577-04 | 58 | F | GANGLIO LINFÁTICO | NEGATIVA | |
| 7878-04 | 13 | F | GANGLIO LINFÁTICO | NEGATIVA | |
| 8813-04 | 57 | F | TIROIDES | NEGATIVA | |
| 1895-05 | 84 | F | PIEL | NEGATIVA | |
| 2288-05 | 64 | F | GANGLIO LINFÁTICO SUBMAXILAR | NEGATIVA | |
| 3143-05 | 42 | M | GANGLIO LINFÁTICO AXILAR | NEGATIVA | |
| 3447-05 | 61 | F | GANGLIO LINFÁTICO CERVICAL | NEGATIVA | |
| 5738-05 | NR | M | VERTEBRA | NEGATIVA | |
| 8335-05 | 70 | F | MÉDULA ÓSEA | NEGATIVA | |
| 1132-06 | 19 | M | VERTEBRA | ZN | MYCOBACTERIUM |
| 3453-06 | 56 | M | GANGLIO LINFÁTICO CERVICAL | NEGATIVA | |
| 6694-06 | 66 | F | GANGLIO LINFÁTICO | NEGATIVA | |
| 7157-06 | 3 | F | GANGLIO LINFÁTICO SUBMANDIBULAR | NEGATIVA | |
| 7840-06 | 40 | F | PULMÓN | GROCCOT | ASPERGILLUS |
| 7852-06 | 23 | F | PULMÓN | ZN | MYCOBACTERIUM |
| 521-07 | 69 | M | PULMÓN | NEGATIVA | |
| 1354-07 | 87 | F | GANGLIO LINFÁTICO CERVICAL | NEGATIVA | |
| 1838-07 | 60 | F | GANGLIO LINFÁTICO SUBMANDIBULAR | ZN | MYCOBACTERIUM |

| | | | | | |
|----------|----|---|-----------------------------------|----------|---------------|
| 2248-07 | 44 | F | GANGLIO LINFÁTICO CERVICAL | NEGATIVA | |
| 5292-07 | 26 | F | GANGLIO LINFÁTICO CERVICAL | NEGATIVA | |
| 7853-07 | 49 | M | TESTÍCULO | NEGATIVA | |
| 8190-07 | 78 | M | MUCOSA NASAL | PAS | MUCORMICOSIS |
| 9376-07 | 19 | F | GANGLIO LINFÁTICO CERVICAL | NEGATIVA | |
| 36-08 | 44 | F | GANGLIO LINFÁTICO CERVICAL | NEGATIVA | |
| 237-08 | 19 | M | GANGLIO LINFÁTICO CERVICAL | NEGATIVA | |
| 2066-08 | 9 | M | TÓRAX | NEGATIVA | |
| 3199-08 | 72 | F | GANGLIO LINFÁTICO CERVICAL | NEGATIVA | |
| 2732-08 | 65 | M | HUESO | NEGATIVA | |
| 5735-08 | 38 | M | TEJIDO BLANDO | B.B | ACTINOMICES |
| 8908-08 | 56 | F | GANGLIO LINFÁTICO CERVICAL | NEGATIVA | |
| 10535-08 | 48 | M | GANGLIO LINFÁTICO CERVICAL | NEGATIVA | |
| 1377-09 | 35 | M | VERTEBRA | NEGATIVA | |
| 5771-09 | 20 | M | PLEURA | ZN | MYCOBACTERIUM |
| 8293-09 | 82 | F | PRÓSTATA | ZN | MYCOBACTERIUM |
| 8647-09 | 56 | M | HUESO | ZN | MYCOBACTERIUM |
| 2368-10 | 40 | F | GANGLIO LINFÁTICO CERVICAL | PAS | TOXOPLASMA |
| 2534-10 | 30 | M | ESCROTO | NEGATIVA | |
| 5233-10 | 14 | F | GANGLIO LINFÁTICO CERVICAL | ZN | MYCOBACTERIUM |
| 1736-11 | 48 | F | GANGLIO LINFÁTICO CERVICAL | NEGATIVA | |
| 5457-11 | 7 | F | TEJIDO SINOVIAL | NEGATIVA | |
| 6345-11 | 38 | M | PLEURA | NEGATIVA | |
| 6832-11 | 58 | F | PULMÓN | ZN | MYCOBACTERIUM |
| 7760-11 | 74 | F | GANGLIO LINFÁTICO SUPRACLAVICULAR | ZN | MYCOBACTERIUM |
| 1326-12 | 39 | F | GANGLIO LINFÁTICO SUBMANDIBULAR | NEGATIVA | |
| 2364-12 | 55 | F | MUCOSA SENO PARANASAL | GROCCOT | ASPERGILLUS |
| 4770-12 | 59 | F | GANGLIO LINFÁTICO SUPRACLAVICULAR | NEGATIVA | |
| 4228-12 | 40 | F | PIEL | NEGATIVA | |
| 7018-12 | 35 | F | EPIPLÓN | ZN | MYCOBACTERIUM |
| 2026-14 | 50 | F | PULMÓN | GROCCOT | ASPERGILLUS |
| 213-15 | 51 | F | GANGLIO LINFÁTICO SUPRACLAVICULAR | NEGATIVA | |
| 1313-15 | 83 | F | GANGLIO LINFÁTICO CERVICAL | ZN | MYCOBACTERIUM |
| 3198-15 | 39 | F | GANGLIO LINFÁTICO CERVICAL | ZN | MYCOBACTERIUM |
| 5415-15 | 71 | F | MUCOSA NASAL | PAS | MUCORMICOSIS |
| 5894-15 | 58 | F | MAMA | NEGATIVA | |

| | | | | | |
|---------|----|---|----------------------------|----------|---------------|
| 6955-15 | 67 | F | GANGLIO LINFÁTICO AXILAR | NEGATIVA | |
| 7009-15 | 85 | F | HUESO DE FÉMUR | NEGATIVA | |
| 817-15 | 39 | M | PULMÓN | ZN | MYCOBACTERIUM |
| 990-15 | 58 | M | GANGLIO LINFÁTICO CERVICAL | NEGATIVA | |
| 1108-15 | 28 | F | PULMÓN | ZN | MYCOBACTERIUM |
| 218-15 | 68 | F | MUCOSA SENO PARA NASAL | GROCCOT | ASPERGILLUS |
| 656-15 | 41 | M | MUCOSA SENO PARA NASAL | GROCCOT | ASPERGILLUS |
| 745-15 | 71 | F | MUCOSA NASAL | PAS | MUCORMICOSIS |
| 3984-16 | 13 | F | GANGLIO LINFÁTICO | NEGATIVA | |
| 261-16 | 18 | F | MUCOSA SENO PARA NASAL | NEGATIVA | |
| 1428-16 | 58 | M | MUCOSA NASAL | PAS | ASPERGILLUS |
| 1460-16 | 58 | M | MUCOSA SENO PARA NASAL | PAS | ASPERGILLUS |
| 1101-17 | 28 | F | GANGLIO LINFÁTICO CERVICAL | ZN | MYCOBACTERIUM |
| 6174-17 | 30 | M | PULMÓN | NEGATIVA | |
| 722-18 | 57 | F | PULMÓN | NEGATIVA | |
| 2451-18 | 65 | M | PLEURA | NEGATIVA | |
| 3728-18 | 38 | F | MUCOSA DE COLON | NEGATIVA | |
| 4112-18 | 9 | M | GANGLIO LINFÁTICO CERVICAL | NEGATIVA | |
| 5862-18 | 69 | M | MÉDULA ÓSEA | ZN | MYCOBACTERIUM |

13. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Benjelloun A, Darouassi Y, Zakaria Y, Bouchentouf R, Errami N. Lymph nodes tuberculosis: a retrospective study on clinical and therapeutic features. *Pan Afr Med J.* 2015; 20:65.
2. Gupta E, Bhalla P, Khurana N, Singh T. Histopathology for the diagnosis of infectious diseases. *Indian J Med Microbiol* 2009; 27(2): 100-106.
3. Alcayaga Oscar; *Patología, anatomía y fisiología patológica*, 4ta edición, Editorial El Ateneo, Argentina, 1960.
4. Borghelli Ricardo Francisco, *Temas de patología clínica*, Editorial Mundi, Argentina, 1979.
5. Burket Lester, *Medicina Bucal*, Nueva Editorial Interamericana, 7a edición, México, 1977.
6. Burnett George, *Microbiología y enfermedades infecciosas de la boca*, Editorial Limusa, 1a. Edición, México.
7. Lewis Eversole, *Patología cutánea diagnóstico y tratamiento*, Editorial Medica Panamericana, Argentina, 1983.
8. Mitchel David, *Propedéutica odontológica*, 2da edición, Editorial Interamericana, México, 1973.
9. Regezy Joseph, *Patología Bucal*, 2da edición, Nueva Editorial Interamericana, México, 1995.
10. Hale AJ. "The Effect of Formalin on the Periodic Acid-Schiff Staining of Certain Types of Mucus". *J Histochem Cytochem* 1955; 3(6): 421-429.
11. Rammeh S, Romdhane E, Arfaoui Toumi A, Houcine Y, Lahiani R, Sassi A1, Mardassi H, Ben Salah M, Ferjaoui M. Efficacy of Fine-Needle Aspiration Cytology in the Diagnosis of Tuberculous Cervical Lymphadenitis. *Acta Cytol.* 2018; 62(2):99-103.
12. Ahmed GM, Mohammed AS, Taha AA, Almatroudi AA, Allemailem KS, Babiker AY, Alsammani MA. Comparison of the Microwave-Heated Ziehl-Neelsen Stain and Conventional Ziehl-Neelsen Method in the Detection of Acid-Fast Bacilli in Lymph Node Biopsies. *Maced J Med Sci* 2019; 7:903-907.