

ESTUDIO CITOPATOLOGICO EN 100 CASOS DE VARICELA Y SU VALOR EN EL DIAGNOSTICO DIFERENCIAL CON LA VIRUELA*

JORGE CASTRO GARCÍA y MANUEL CUADRA C.

En Diciembre de 1963 apareció en el Hospital Dos de Mayo un brote epidémico de viruela. Se suscitó un acalorado debate en torno de él, pues, connotados facultativos sostenían que se trataba de varicela. Entre los recursos de laboratorio para desentrañar la naturaleza de la enfermedad eruptiva en referencia, se reactualizó el Test Citológico cuya importancia era decisiva para alguno de nuestros investigadores, mientras que otros le restaban validez. En el presente trabajo se pretende encontrar el justo valor del Test Citológico, recurriendo para ello a la literatura pertinente y realizando personalmente los estudios correspondientes en el terreno práctico. El Dr. Manuel Cuadra, Profesor Asociado de Medicina Tropical y Jefe de Laboratorio de Virología de la Facultad de Medicina, nos encargó ocuparnos del problema. Hasta hace pocos años, el médico hacía solamente por medios clínicos el diagnóstico de la mayoría de las enfermedades a virus; indiscutiblemente esta situación ha variado en forma sustancial, especialmente en aquellos países desarrollados, donde los métodos de diagnóstico por el laboratorio se encuentran altamente perfeccionados. En nuestro medio, los invalorable recursos que brinda la clínica siguen siendo el mejor medio con que cuenta el médico para realizar el diagnóstico de estas enfermedades; esto es, no solamente por el alto costo que demanda llevar a cabo las pruebas de laboratorio, sino prima una razón mucho más valerosa: carecemos de centros adecuados donde realizarlas, excepto en la Facultad de Medicina uno que promete mucho.

En la actualidad, los principales métodos de laboratorio de que se dispone para el diagnóstico de las enfermedades a virus, en general, pueden resumirse en los siguientes: 1. Estudio histopatológico del espécimen.

* Trabajo realizado en el Laboratorio de Virología de la Facultad de Medicina de San Fernando U.N.M.S.M., con pacientes del Hospital del Niño de Lima.

men biopsico, 2. Estudio citológico del frotis, 3. Inoculación a los animales de laboratorio, 4. Cultivo en cultivo de tejidos, 5. Pruebas serológicas, y 6. Observación al microscopio electrónico.

Haciendo un análisis sucinto de cada uno, diremos que el substratum histopatológico que producen los virus, se puede dividir en tres tipos de cambios principales: proliferación, lisis e inclusiones intracelulares. Los dos primeros, según H. Blanck (13) no son patognomónicos, debido a que pueden presentarse aisladamente en determinadas infecciones o ambas en otras. Los cuerpos de inclusión son elementos representativos de infección producida por virus y resulta de valor diagnóstico cuando se toma en consideración su situación, morfología y caracteres tintoriales dentro de la estructura celular.

El cultivo en embrión de pollo y otros medios naturales es usado comúnmente en los tiempos actuales y su utilidad reside en que, mediante él, se puede realizar la identificación y el aislamiento del virus.

La inoculación en los animales de laboratorio es ya un método sumamente difundido y esto está en relación con las características de viabilidad que poseen los virus en huéspedes específicos y con los tropismos por determinados tejidos. Los animales de laboratorio más comúnmente usados son los roedores: cobayo, conejo y ratón, etc.

Las pruebas serológicas son otro de los métodos "clásicos" con que se cuenta en el campo del laboratorio para el diagnóstico de las enfermedades producidas por virus, y existe diversidad de estas pruebas. El fundamento de todas ellas se sustenta en la presencia de anticuerpos específicos en el huésped infectado y la posibilidad de la identificación del virus mediante sueros específicos conocidos. De todas las pruebas serológicas, es importante hacer notar las pruebas de fijación del complemento y la prueba de neutralización, son los de mayor utilización.

El aislamiento del virus es el método ideal para demostrar que una infección se debe a este agente etiológico. En las enfermedades eruptivas pueden realizarse a partir de las mismas lesiones por diversos procedimientos, siendo el más importante a partir del raspado de la lesión misma; otras fuentes de aislamiento constituye la sangre y eventualmente las secreciones.

Actualmente las observaciones con el microscopio electrónico representan otros de los recursos más importantes para estudiar las características morfológicas, estructurales y ponderales de los virus, porque mediante él se puede analizar la ultraestructura celular con más rigor científico.

El cultivo de tejidos últimamente ha cobrado importancia dentro del campo de la virología; gracias a los trabajos de Enders y col. (30), en la poliomielitis, se ha demostrado que pueden aplicarse al diagnóstico rápido y a la determinación de los tipos de virus infectantes.

El examen citológico del frotis, pese a haberse descrito hace ya algunas décadas, recién desde hace 10 años, poco más o menos, merece el debido interés como elemento de diagnóstico de las enfermedades a virus, especialmente en aquellos procesos virales que originan lesiones vesiculares en alguna etapa de su evolución. En la actualidad el método citológico se encuentra en pleno desarrollo; la mayor parte de los autores e investigadores, a partir del año de 1955, lo aceptan como un examen de valor diagnóstico.

Previas estas consideraciones de orden general debemos plantear específicamente que, para el diagnóstico diferencial entre varicela y viruela, en el momento actual, es necesario tener en cuenta los siguientes exámenes de laboratorio: 1. Histopatología de la lesión, 2. Examen citológico de los frotises, 3. Observación al microscopio electrónico, 4. Cultivo en embrión de pollo, 5. Inoculación a la córnea de conejo y 6. Pruebas serológicas.

Reproducimos el cuadro N° (1) modificado de H. Blanck, el cual nos permite formarnos una idea más completa acerca de lo que acabamos de sostener. La realización de las pruebas serológicas, la inoculación en los animales de laboratorio y el cultivo en embrión de pollo, requiere de un laboratorio bien equipado y un personal bien entrenado. El uso del microscopio electrónico está fuera de nuestro alcance, por lo tanto, nuestras limitaciones son obvias.

Si bien es cierto que la biopsia se puede realizar con relativa facilidad, sin embargo, su procesamiento requiere no menos de 72 horas y la interpretación tiene que ser hecha por un patólogo con buena experiencia.

El examen citológico del frotis preparado a partir de un elemento lesional es el más simple y extraordinariamente sencillo con que se cuenta en el citodiagnóstico diferencial entre la varicela y la viruela. Esto es, no solamente por la rapidez y la facilidad con que se elabora el preparado sino que su interpretación puede ser efectuada por un médico general relativamente entrenado en microscopía y con la seguridad de lograr un diagnóstico certero, siempre tomando en consideración el cuadro clínico global. Sólo puede presentarse una disyuntiva, en caso de que se tenga frente a sí un preparado citológico de este tipo carente de datos clínicos antelados, y, de ser así, hasta para un patólogo;

de larga experiencia puede ser difícil opinar categóricamente acerca de esta expresión citológica.

Cuadro N° 1.

	Varicela	Viruela
1. Citología (frotis)	Células gigantes multinucleadas	No hay células características
2. Histología (biopsia)	Inclusiones intranucleares. Células gigantes multinucleadas	Inclusiones citoplasmáticas
3. Microscopía electrónica	Cuerpos elementales en forma de ladrillos, mayores que los del herpes simple	Corpúsculos elementales grandes en forma de ladrillo
4. Cultivo en embrión de pollo	No hay desarrollo	Desarrollo abundante. Lesiones más pequeñas y menos necróticas que en la Vaccina
5. Inoculación en animales de laboratorio	No se infectan	Positivo: animal de preferencia, el conejo
6. Desarrollo en cultivo de tejidos	Difícil (sólo en determinados tejidos)	Muy fácil
7. Pruebas serológicas	No pueden hacerse de rutina	Fijación del complemento y neutralización

MATERIAL Y METODOS

Para el presente trabajo hemos reunido 100 pacientes de varicela y 3 pacientes de viruela con la finalidad de poder revalidar estudios citológicos comparativos y seriados en dichas entidades eruptivas.

Los pacientes de varicela han sido tomados, en su mayor parte, del Consultorio Externo del Hospital del Niño (Pab. 7) de la Capital; el diagnóstico respectivo ha sido establecido fundamentalmente por métodos clínicos, y teniendo en consideración el factor epidemiológico del momento.

Todos los casos tienen historias clínicas resumidas, en el cual se han tenido especial cuidado de seleccionar los síntomas y signos claves para el diagnóstico de la enfermedad; como es obvio suponer, por tratarse en nuestra casuística de pacientes menores de edad, ha sido necesario realizar muchas veces una anamnesis indirecta.

Se ha practicado un estudio y evaluación completa de todos los síntomas y signos que han presentado los enfermos, interesándonos fundamentalmente en la mayor y menor incidencia de un síntoma o signo determinado y el momento de su presentación. Asimismo, hemos dado preferente atención al estudio macroscópico de las lesiones exantemáticas a fin de poder realizar un estudio citológico correlacionado.

Para la investigación de las células gigantes características, atípicas o "pseudotumorales" fue necesario, previamente, llevar a cabo una clasificación de todos los casos de acuerdo a la fase o estadio de la lesión varicelosa predominante en cada paciente; de esta manera se ha obtenido tres grupos fundamentales:

1. Primer Grupo: Pacientes con elementos eruptivos predominantes, en la fase o estadio de vesícula transparente o de "gotas de rocío".
2. Segundo Grupo: Pacientes con elementos eruptivos predominantes, en fase o estadio de vesícula turbia u opalescente.
3. Tercer Grupo: Pacientes con elementos eruptivos predominantes, en fase o estadio de pústula (varicela pustulosa).

Lógicamente esta clasificación se encuentra en relación directa con el tiempo de enfermedad así como la edad del exantema.

Del total de 100 casos de enfermos con varicela hemos detectado 25 con lesiones exantemáticas predominantes en la fase de estadio de la clásica vesícula transparente. Sesenta con elementos exantemáticos predominantes en la fase o estadio de vesícula turbia u opalescente; y finalmente 15 enfermos con lesiones predominantemente pustulosas.

En nuestro afán de llevar a cabo un estudio citológico adecuado nos proponemos analizar en este trabajo, los siguientes aspectos citológicos fundamentales:

1. Estudio morfológico tintorial.
2. Estudio micrométrico.
3. Estudio cuantitativo porcentual.
4. Correlación histopatológica.

Los pacientes de viruela corresponden a los tres casos observados por varios docentes de la Facultad de Medicina y diagnosticados por el Dr. Manuel Cuadra en el Hospital 2 de Mayo, Sala San José, y a cuyo diagnóstico se llegó, no solamente por los recursos que ofrece la clínica y los exámenes de laboratorio corrientes, sino que el Dr. Cuadra consiguió aislar el agente etiológico, o sea el virus de la viruela, lo que posteriormente fue confirmado con los estudios de la Dra. Ramírez (33) por medio del microscopio electrónico, y a lo que más adelante nos referimos con mayor abundamiento.

En los tres casos fueron hechos estudios citológicos siguiendo la misma técnica empleada en la varicela y, complementariamente, se llevaron a cabo estudios anatomopatológicos mediante el método de la biopsia quirúrgica de la lesión variolosa.

ESTUDIO MORFOLOGICO TINTORIAL

Para llevar a cabo el estudio morfológico tintorial es menester precisar algunos aspectos de la técnica del estudio citológico.

El procedimiento que nosotros hemos seguido no es más que una síntesis de métodos de trabajo preconizados por Tizzer, Hammersshunt, Jochman y Hegler antes de 1935, posteriormente perfeccionados por A. Tzank en 1947 y empleados por H. Blanck en 1951; puesto en práctica en nuestro medio por los Drs. Manuel Cuadra y Oscar Urteaga independientemente a los trabajos de Tzank y Blanck.

Técnica del Estudio Citológico.

En primer término es necesario hacer conocer las características del instrumental y otros implementos usados para este fin. Al hablar del instrumental nos referimos a todos aquellos objetos que hemos utilizado; y luego pasamos a describir cada uno de ellos.

1. Una tijera fina y curva.
2. Hoja de bisturí.
3. Pipeta capilar.
4. Portaobjetos limpios.
5. Equipo de asepsia (algodón y alcohol yodado).

Modus Operandi.

1. Asepsia de la lesión.
2. Extracción de la muestra.
3. Estudio citológico en el microscopio corriente.

Limpieza o asepsia de la lesión. Sea cual fuere la localización de la lesión es obvio que una buena limpieza o asepsia es fundamental, para ello hemos empleado un antiséptico corriente como es el alcohol yodado embebido en algodón estéril. Este medio nos ha proporcionado resultados satisfactorios.

Extracción de la muestra. Hecha la limpieza de la lesión debe seguirse dos procedimientos perfectamente establecidos:

a) Resección del casquete epidérmico superficial de la ampolla (techo de la vesícula) por medio de una tijera fina y curva, de tal manera que el lecho vesicular o piso de la lesión se encuentre expuesto, en condiciones adecuadas, para llevar a cabo inmediatamente el "raspado metódico", que no es otra cosa que el legrado suave, pero sí vigoroso, que debe ser dado, sin dudas, ni profunda ni superficialmente; hundiendo discretamente el borde afilado del bisturí en toda la base de la lesión y "barriendo" su contenido, el que queda adherido a la mencionada hoja. Se debe de actuar de manera tal que se evite repetir la misma maniobra en el mismo punto, ya que, en caso contrario, se producirá una sufusión sanguínea que de hecho adultera la muestra. Una vez recogido el "jugo" vesicular, se extiende sobre una lámina de vidrio con el mismo bisturí, dispersando en lo posible, evitando las conglomeraciones celulares (grumos) que con el colorante tiñe en masa, dificultando, en última instancia, la buena observación microscópica.

b) También se puede proceder con esta variante: el legrado del lecho vesicular se reúne en el borde de la lesión en la superficie cutánea que lo circunda, luego se recoge el "jugo" con una pipeta capilar con lo que se extiende en el portaobjetos siguiendo los lineamientos de todo extendo laminar.

Hecha la extensión por cualquiera de estas variantes que hemos hecho mención, se deja pasar el tiempo necesario para que la lámina se seque completamente y en esta forma estará en condiciones de ser coloreada.

Coloración. Hemos utilizado el Leishman como colorante de elección y los resultados que hemos obtenido son satisfactorios. Se cubre

el preparado con Leishman y se deja pasar 5', al cabo de este tiempo se agrega gota a gota agua destilada hasta llenar completamente la lámina, de tal manera, que se produzca en el acto una dilución al 50% aproximadamente, y en estas condiciones se deja por espacio de 15'. Cumplido este tiempo se procede inmediatamente a lavar la lámina o preparado con un chorro de agua corriente por unos segundos y, finalmente, se espera el lapso suficiente hasta que se seque completamente, quedando así listo para el examen microscópico.

Examen Citológico. Se coloca el preparado en la platina del microscopio de luz corriente y para apreciar panorámicamente el preparado, primero se utiliza los lentes de poco aumento, pero, para estudiar las características morfológicas y tintoriales es menester acudir al lente de inmersión. Blanck (13) anota que la presencia de muchos hematíes en el campo microscópico indica una técnica deficiente.

ESTUDIO MICROMETRICO

El segundo aspecto que abordamos en este trabajo, se refiere al estudio micrométrico, que no es otra que la medición hecha de los diámetros núcleo-celulares expresada en micras. Para una mejor comprensión de este tópico, hacemos conocer primero, sintéticamente, la técnica de la metrología y luego el procedimiento seguido.

Técnica de la Metrología Microscópica. Las mediciones de los diámetros celulares, en la actualidad y a la luz de los nuevos adelantos en la metrología microscópica, ya no representa problema alguno. Es posible medir diámetros celulares o nucleares de manera simple, tal como lo hemos llevado a cabo, previo reajuste de algunos datos numéricos según las indicaciones del catálogo Wild Heerbrugg (37), adaptado al microscopio simple de luz.

En primer lugar, es necesario conocer 2 aditamentos fundamentales que se adaptan al microscopio corriente: el Micrométrico-Ocular y el Micrométrico-Objetivo.

Se llama micrométrico-objetivo a una placa de cristal de las mismas dimensiones que una lámina portaobjetos y que lleva trazada una escala de medida de 5 mm. de longitud y está subdividida a la vez en las siguientes dimensiones:

- 5 mm. con 10 subdivisiones de 0.5 mm. o sea 500 micras.
- 2 mm. con 20 subdivisiones de 0.1 mm. o sea 100 micras.
- 0.2 mm. con 20 subdivisiones de 0.01 mm. o sea 10 micras.

Se llama micrométrico-ocular a un ocular con un factor de aumento de 10 x, el que detrás del lente de campo tiene una plaquita de cristal que lleva grabada una escala que en el momento de enfocar aparece simultáneamente con el objeto materia de estudio; esto es explicable por encontrarse esta escala en el plano de la imagen real intermedia. Nosotros hemos utilizado una lente de campo con escala de 10 mm. con 10 subdivisiones grandes, 20 subdivisiones medianas y 100 más pequeñas.

Contraste de los Oculares Micrométricos. Conociendo estos aditamentos y sus correspondientes escalas, se coloca en sus respectivos lugares del microscopio corriente; seguidamente se averigua qué distancia, en el micrométrico-objetivo, corresponde a una división de la escala del micrométrico-ocular, dicha distancia se llama Valor Micrométrico, que es la unidad de medida que hemos utilizado.

El valor micrométrico se lee en micras y para ello hay que realizar una serie de pequeñas operaciones que no detallamos en este trabajo por las limitaciones de espacio y por la existencia de un catálogo (37) que pormenoriza estos aspectos. Así:

- | | | | |
|----|------|-----|-------------------------------------|
| 1. | 10 x | 10 | C/ división grande vale 70 micras. |
| 2. | 10 x | 40 | C/ división grande vale 18 micras. |
| 3. | 10 x | 100 | C/ división grande vale 4.3 micras. |

Teniendo como unidad de medida la cifra de 4.3 (micras), según el resultado de nuestras deducciones, hemos realizado la medición de los diámetros celulares y nucleares de tres tipos representativos de células fácilmente detectables y diferenciables en todos los preparados correspondientes a cada enfermo de nuestra casuística. En efecto, esta tipificación hemos realizado tomando en cuenta únicamente el tamaño núcleo-celular.

1. Tamaño "standard" (tamaño predominante en cada preparado)
2. Tamaño de las células más grandes y sus núcleos correspondientes. (Tamaño núcleo-celular máximo).
3. Tamaño de las células más pequeñas y sus núcleos correspondientes. (Tamaño núcleo-celular mínimo).

Hecha la medición de estos tres grandes grupos citológicos, hemos procedido a llevar a cabo la deducción de los promedios correspondientes en cada una de las tres fases de evolución de la vesícula varicelosa: Vesícula transparente, Vesícula turbia y Pústula. Es decir:

1. Tamaño promedio de las células standard.
2. Tamaño promedio de las células más grandes.
3. Tamaño promedio de las células más pequeñas.

Para establecer estos promedios fue necesario medir un número determinado de células en cada preparado para luego sumar estas dimensiones y, finalmente, dividir las entre el número de células medidas. Igual procedimiento se ha seguido para los núcleos.

ESTUDIO CUANTITATIVO PORCENTUAL

El análisis cuantitativo porcentual de las células gigantes características, en relación con los elementos formes de la sangre presentes en cada preparado, se ha llevado a cabo siguiendo el mismo criterio que se toma en cuenta para el recuento en la determinación de la fórmula leucocitaria, de tal manera, que una vez realizado en forma individual en la totalidad de nuestra casuística, se ha calculado las cifras correspondientes (porcentajes) para cada uno de los tres grupos: grupo de la vesícula transparente, grupo de la vesícula turbia y grupo de la pústula.

CORRELACION HISTOPATOLOGICA

Se ha realizado biopsias quirúrgicas de las lesiones de los casos representativos correspondientes a las tres fases de evolución del elemento lesional de la varicela, o sea, lesión en fase de vesícula transparente, en fase de vesícula opalescente y en fase de pústula. El Dr. Manuel Cuadra nos ha proporcionado los preparados histopatológicos de la lesión dermatológica de cada uno de los tres casos de viruela, practicado también por biopsia quirúrgica.

RESULTADOS OBTENIDOS

Se ha hecho el estudio citológico de 100 pacientes de varicela en las tres fases de evolución del exantema vesicular: vesícula transparente, vesícula turbia y pústula. Dicho estudio se ha llevado a cabo a partir de frotises obtenidos mediante el "raspado metódico" del lecho vesicular. Igual procedimiento de trabajo se ha seguido para el estudio citológico de los tres casos de Viruela.

Como ya hemos señalado anteriormente, la totalidad de nuestra casuística la hemos dividido en tres grupos; para ello hemos tenido en consideración únicamente el estadio o la fase del exantema vesicular variceloso:

1. Primer Grupo. Constituido por 25 pacientes con predominio absoluto de lesiones en fase de vesícula transparente o "gotas de rocío", corresponde a 25%. La edad del exantema de estos casos entre 25 a 35 horas.

2. Segundo Grupo. Hemos observado 60 casos de varicela con predominio de lesiones exantemáticas en fase de vesícula turbia u opalescente, 60%. La edad del exantema fue de 36 a 48 horas.

3. Tercer Grupo. Hemos estudiado 15 pacientes de varicela, cuyas lesiones exantemáticas predominantes eran del tipo de pústula (varicela pustulosa). Corresponde al 15% de nuestra casuística. La edad promedio de estas lesiones ha oscilado entre 48 a 62 horas como término medio.

El estudio citológico de estos tres grupos de casos ha sido dirigido a tres aspectos fundamentales; y uno complementario:

1. Estudio de los caracteres morfológico-tintoriales.
2. Estudio cuantitativo porcentual.
3. Estudio micrométrico del tamaño núcleo-celular.
4. Correlación histopatológica complementaria.

ESTUDIO MORFOLOGICO TINTORIAL

Este aspecto del estudio citológico, hacemos conocer independientemente en cada una de las fases o estadios del exantema vesicular variceloso; así: el estudio morfológico tintorial, mediante el microscopio corriente de luz en la fase de vesícula transparente, muestra gran abundancia de células gigantes características en ausencia casi absoluta de otro tipo celular; al mismo tiempo se puede apreciar aquellos rasgos morfológicos y tintoriales propios. El preparado citológico muestra un panorama peculiar, sugestivo, donde destaca nítidamente la presencia de abundantes células gigantes características de forma variable; unas, más o menos redondeadas; otras, alargadas, aisladas o formando pequeñas "colonias". El citoplasma de estos elementos es, generalmente, escaso, de coloración basófila en comparación con la masa nuclear que es moderadamente acidófila. El núcleo está rodeado de un halo periférico claro, transparente, que no adquiere coloración alguna que destaca nítidamente entre citoplasma y el núcleo. Las células más pequeñas, en esta fase, que podían interpretarse como elementos dege-

nerados, tienen un citoplasma de coloración tendiente a la acidofilia con el colorante que hemos empleado o sea el Leishman.

En este estadio, el núcleo de estas células es generalmente único, redondeado o lobulado que no guarda relación con la masa citoplasmática. En aquellas células de gran tamaño se observan más de dos núcleos, de ahí el nombre de multinucleados, pero éstas, en número, son ostensiblemente menores, por lo que el termino de multinucleados no se puede generalizar, especialmente en esta fase de vesícula transparente. El núcleo muestra gran afinidad por los colorantes ácidos y presenta abundante material cromático dispuesto en grandes mallas, que da la impresión de cierta basofilia, algunas veces.

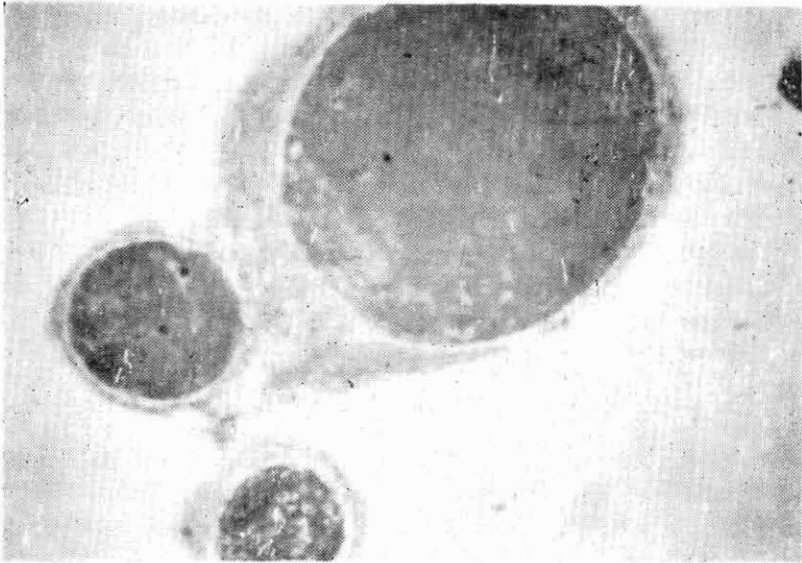


Fig. N^o 1.—Células gigantes características, "Atípicas" o "Pseudotumorales" en fase de vesícula transparente; forma ovalada con escaso citoplasma basófilo (coloración de Leishman) y con gran núcleo acidófilo. Se observa el "halo" perinuclear claro limitante del citoplasma. No se observa nucleolo. No se observa otro tipo celular.

Igualmente llama la atención en estos preparados citológicos la presencia de muy escasos polinucleares o ausencia de ellos, pero sí se observan en mayor o menor cantidad las células epiteliales de descamación. El citoplasma carece de inclusiones.

En la fotografía N^o 1, puede observarse la presencia de estas células acompañadas de algunos polinucleares con todas las características morfológico-tintoriales que hemos anotado en líneas anteriores.

Si bien es cierto que la fórmula citológica en la vesícula transparente es característica, el curso evolutivo de transformación de la lesión exantemática varicelosa, determina, en primer término, rápidos cambios, en horas, del contenido líquido vesicular que se torna turbio u opalescente y que un observador acucioso puede señalar variaciones sutiles de la turbidez, hasta la grosera turbidez opalescente limitante de la pústula. En esta fase de la pústula el estudio citológico muestra una expresión microscópica diferente a la anterior. Las células atípicas aparentemente muestran haber disminuido cuantitativamente a la par que

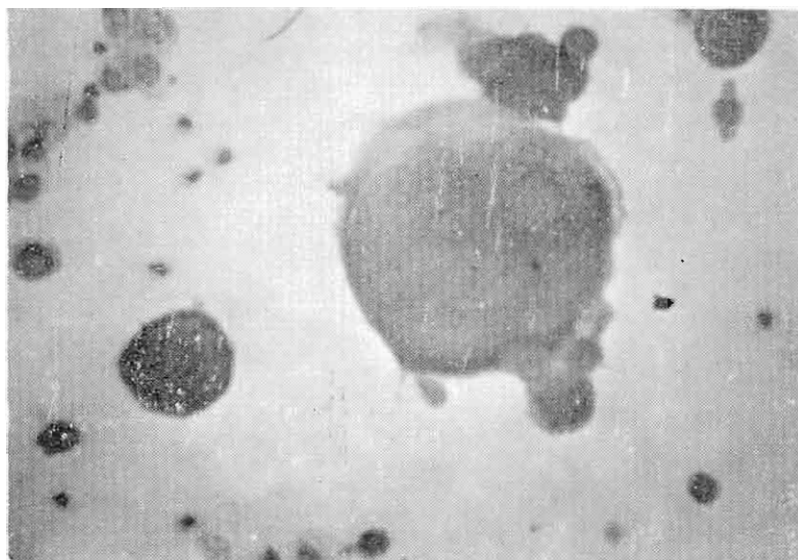


Fig. N° 2.—Células gigantes características en fase de vesícula turbio u opalescente. Células de diverso tamaño; escaso citoplasma y gran núcleo, halo perinuclear claro. Presencia de apreciable número de polimorfonucleares. Expresión citológica característica de esta fase.

se constata la presencia de abundantes polinucleares difusamente distribuidos dentro del campo microscópico, dando la impresión de gran celularidad. Las características tintoriales y morfológicas poseen aspectos propios dignos de ser señalados; con suma facilidad muestran su disposición en grandes acúmulos celulares y con mayoritaria multisegmentación nuclear con mayor carga de impregnación tintorial acidófila. Esta multisegmentación nuclear, ostensiblemente predominante en el campo microscópico, da una apariencia peculiar, tal como podemos apreciar en la fotografía N° 2. El citoplasma se observa invariablemente basófilo. Igualmente la masa nuclear es monstruosa y al-

gunas veces ocupa el 90% de la masa celular, marginando completamente el citoplasma.

En el cuadro N° 9, mostramos 15 casos de varicela en fase de pústula (varicela pustulosa). El estudio citológico de la lesión varicelosa en esta fase, igualmente posee características singulares. Los frotises muestran exagerada celularidad con absoluto predominio de polimorfo-nucleares; muchos de ellos con cambios degenerativos, fenómenos de pignosis y cariólisis. Se observan también las células gigantes caracte-

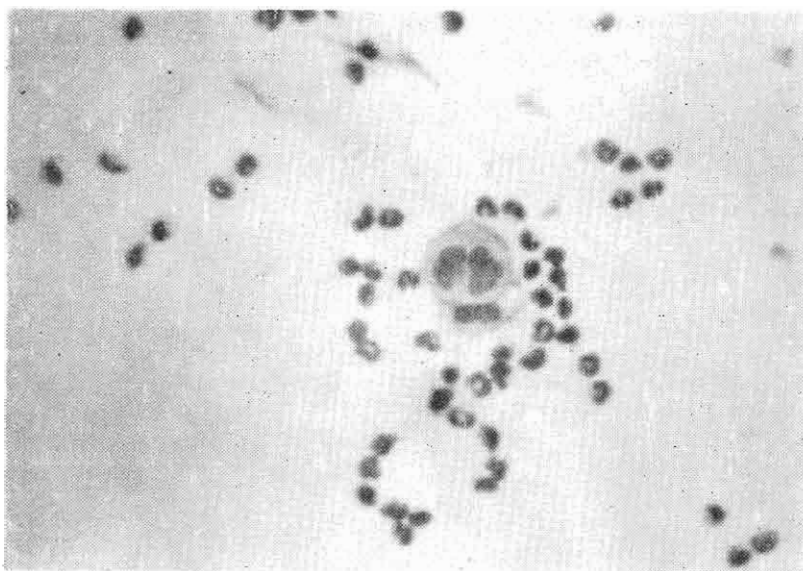
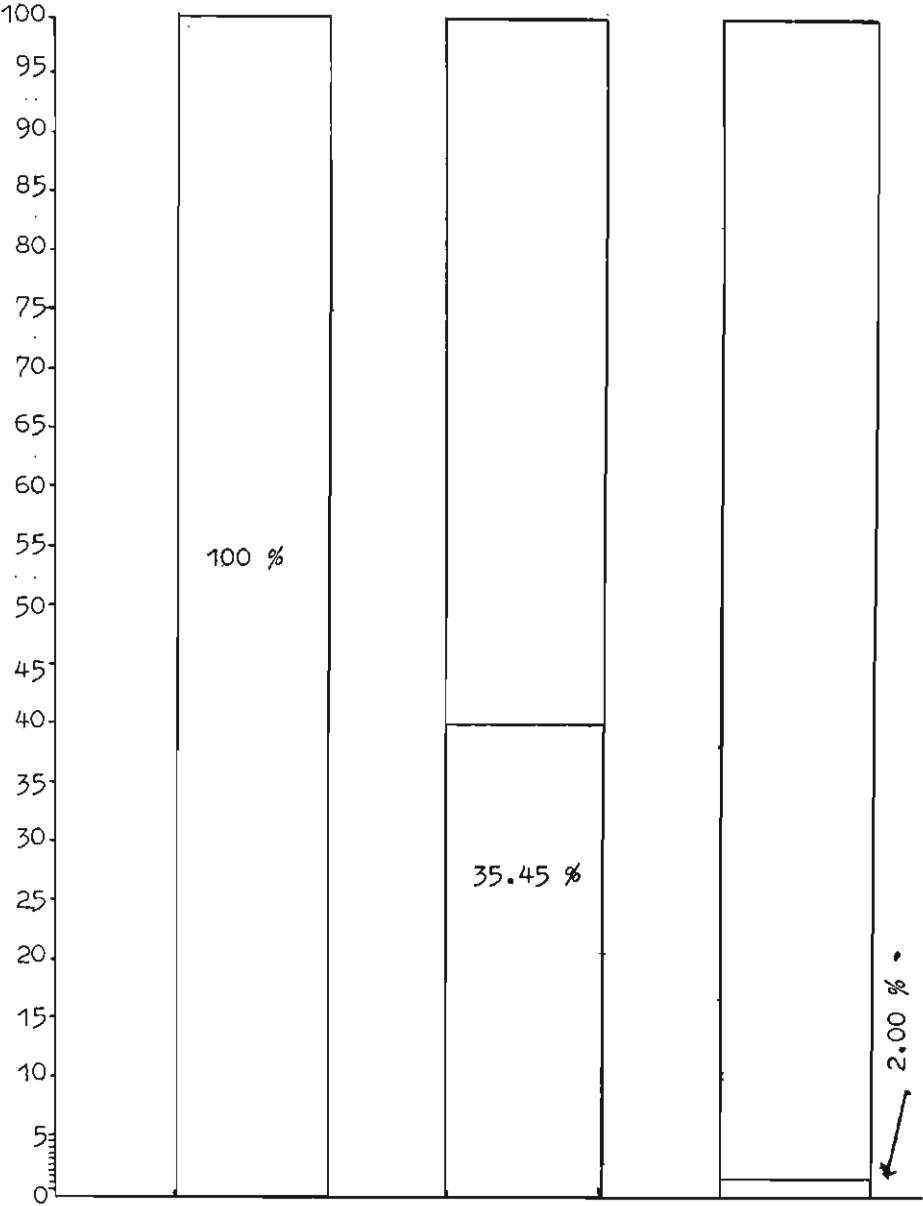


Fig. N° 3.—Células gigantes características o multinucleadas (como también se les denomina) en fase de vesícula pustulosa de tamaño y número ostensiblemente menor que en las fases anteriores. Citoplasma basófilo y núcleo acidófilo. Gran celularidad por la presencia exagerada de polimorfo-nucleares.

terísticas, pero en proporción porcentual mínima; su forma se muestra generalmente esférica y de tamaño considerablemente menor. Según la comunicación personal del Dr. Jorge Campos Rey de Castro, "la mayoría de estas células, en esta fase, sufren un proceso degenerativo nuclear (fragmentación y lisis) y vacuolización citoplasmática. Desde el punto de vista tinte llama la atención la basofilia citoplasmática, muy manifiesta en comparación con la encontrada en las fases o estadios anteriores, y el núcleo presenta una coloración francamente acidófila. Fotografía N° 3.

CUADRO No. 9



ESTUDIO MICROMETRICO

Ya anotamos en el capítulo de Material y Métodos, que la introducción de la metrología microscópica en el estudio citológico, en general, representa un método de gran utilidad, ya que, es posible, por su intermedio, determinar los diámetros celulares como nucleares, en micras. Nosotros nos hemos servido de este método para dar a conocer los diámetros celulares en su integridad como los diámetros nucleares independientemente. A la vez hemos realizado comparaciones dimensionales en cada una de las fases o estadios de la lesión vesicular varicelosa catalogadas en tres grupos: Grupo de la V. T. Grupo de la V. O. y Grupo de la pústula.

Los resultados obtenidos de estas mediciones exponemos gráficamente en el cuadro N^o 10, ellos corresponden: a los promedios generales, o tamaño "standard"; promedios del tamaño máximo celular y del tamaño mínimo celular en los tres estadios de lesión varicelosa.

Primero. El tamaño promedio de las células "Standard" en la fase de vesícula transparente es de 17.23 micras de diámetro mayor y el promedio del tamaño nuclear 13.38 micras (ver primera columna de la figura N^o 10). Estas cifras se han obtenido de la medición directa de 25 casos de varicela en el estadio de vesícula transparente.

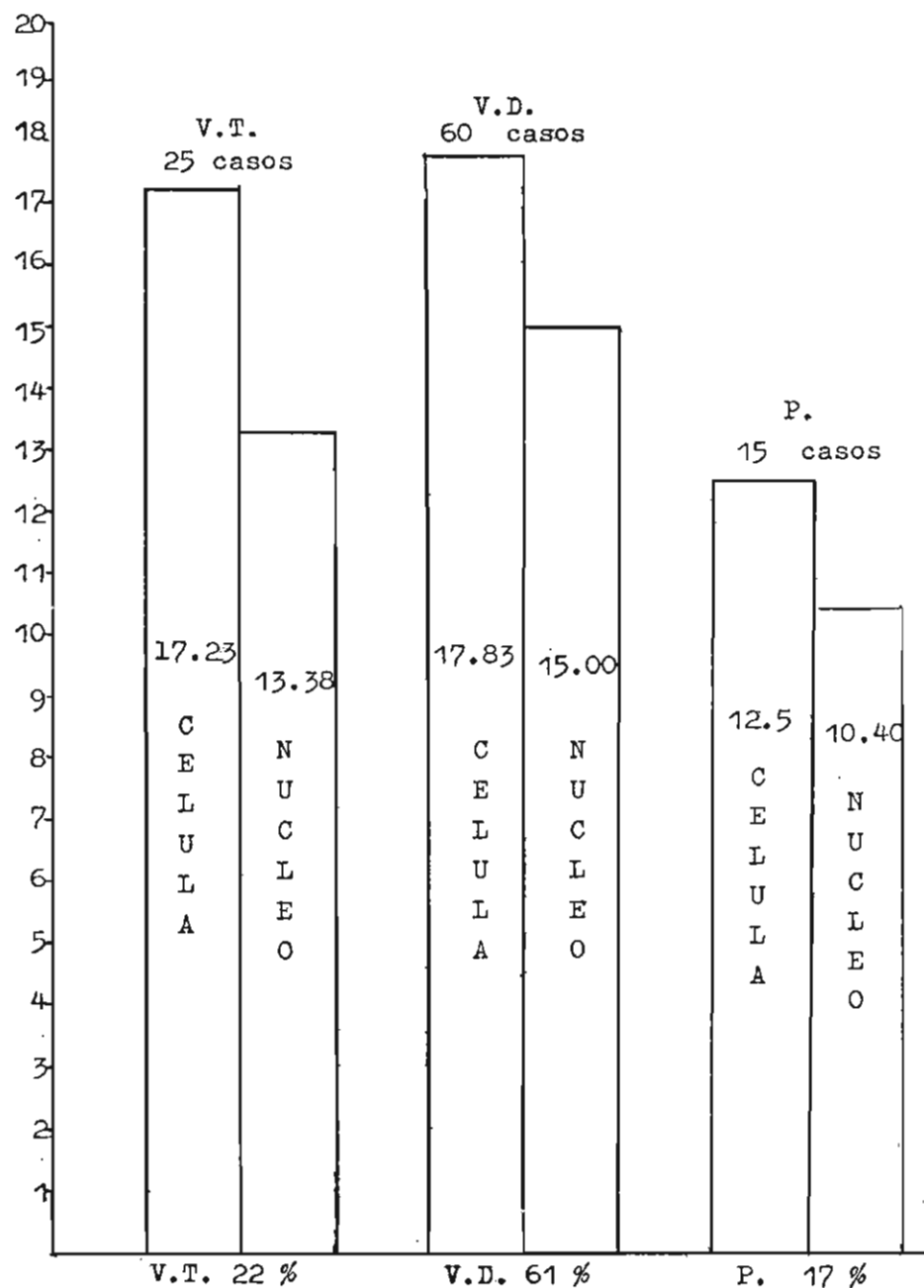
Segundo. El grupo de la fase de vesícula turbia u opalescente está constituido por 60 casos y el tamaño promedio de estas células, en esta fase, es de 17.83 micras de diámetro mayor y el núcleo mide 12.50.

Tercero. Finalmente, las mediciones citológicas de 15 casos de varicela pustulosa ha dado como resultado un promedio de 12.50 de diámetro mayor, para las células y 10.5 micras para el núcleo.

Igualmente hemos realizado mediciones núcleo-celulares del tamaño máximo (las células más grandes) y mínimo (las células más pequeñas) en la totalidad de nuestros casos. En el cuadro N^o 11 podemos observar que, en la fase de vesícula transparente, el promedio del tamaño celular máximo es de 25.55 micras y el promedio del tamaño celular mínimo de 8.09 micras. El promedio del tamaño nuclear máximo (en esta misma fase o estadio) es de 22.41 y para el mínimo 7.05 micras.

En la fase de vesícula turbia u opalescente hemos obtenido la cifra de 29.69 micras de diámetro mayor para el promedio del tamaño celular máximo y 8.91 para el mínimo. Los promedios para los núcleos

CUADRO No. 10
 PROMEDIOS GENERALES DEL TAMAÑO CELULAR Y NUCLEAR EN
 LAS TRES FASES DEL EXAMEN VARICELOSO



correspondientes máximo y mínimo son de 23.40 y 7.74 micras respectivamente.

En la fase pustulosa hemos obtenido el promedio del tamaño celular máximo de 20 micras y para el núcleo 16.58. El promedio del tamaño celular mínimo de 7.45 micras y para el núcleo 6.40 micras.

ESTUDIO CUANTITATIVO PORCENTUAL

El estudio cuantitativo porcentual de las células gigantes características no es otra cosa que la evaluación de estas células porcentualmente en relación con los elementos formes de la sangre en las diferentes fases y estadios de la evolución del exantema vesicular variceloso. Así, en la fase de vesícula transparente en un total de 25 casos estudiados, hemos encontrado 100% de células gigantes atípicas y ausencia de elementos formes de la sangre, hecho digno de ser destacado.

En la fase de vesícula turbia u opalescente esta relación cuantitativa experimenta un cambio fundamental en comparación con la fase anterior. En sesenta (60) casos estudiados correspondientes todos a la misma fase hemos encontrado un promedio de 40% para las células gigantes características y el 60% son polimorfonucleares.

En la fase de pústula (varicela pustulosa), estos porcentajes son aun muy diferentes. Así, las células gigantes características se encuentran en una proporción del 2% en todos los preparados y el 98% están constituidas por polimorfonucleares.

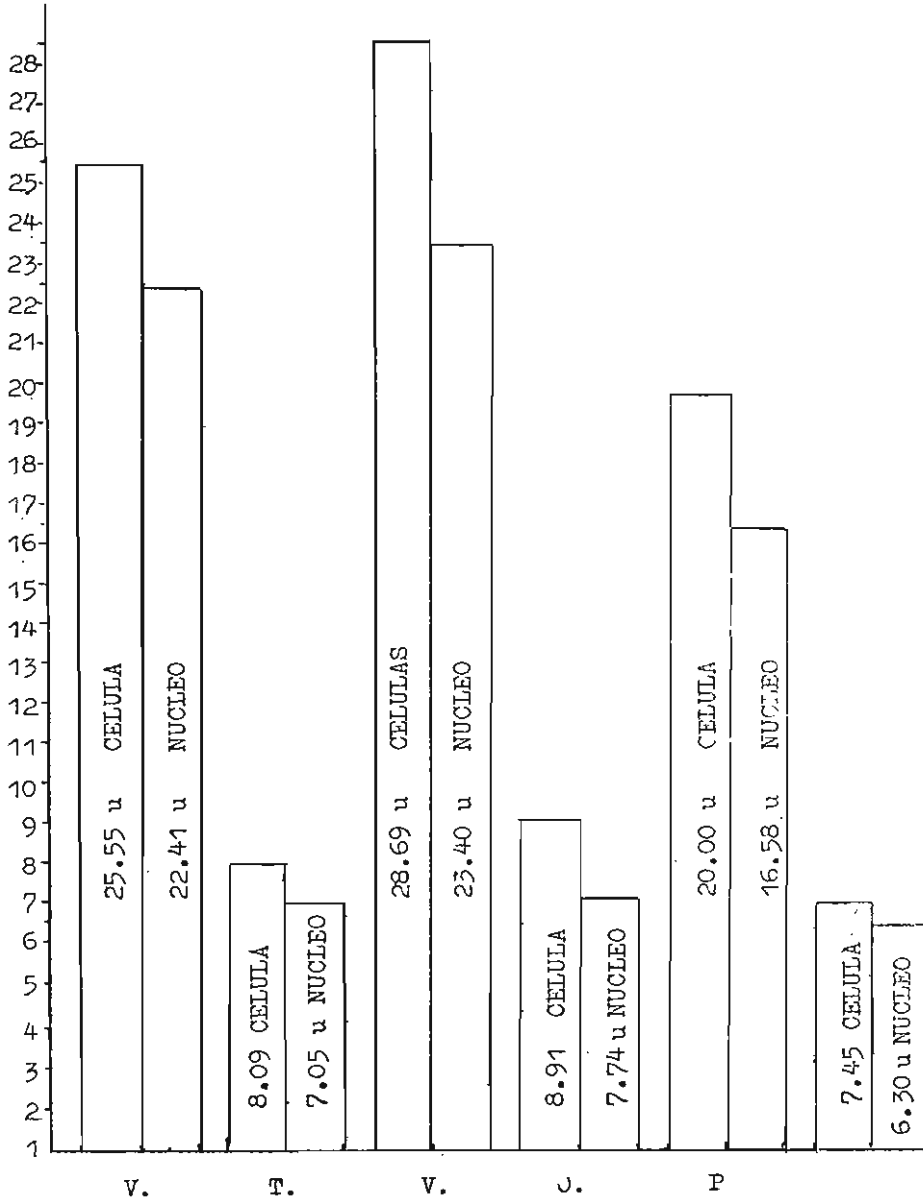
Estas diferencias porcentuales esquematizamos en el cuadro Nº 9 tratando de objetivar nuestros resultados obtenidos.

CITOLOGIA DE LA VIRUELA

En los tres casos de viruela en los que hemos realizado el estudio citológico siguiendo el mismo procedimiento hecho en la varicela, no hemos obtenido en ninguno de ellos las células gigantes características, pseudotumorales o atípicas, expresión citológica característica de la varicela. Los preparados citológicos sólo muestran en el campo microscópico gran cantidad de células de descamación epitelial de tamaño normal, acompañadas en mayor o menor cuantía de leucocitos polimorfonucleares; algunos acúmulos celulares que podían simular células gigantes de la varicela, pero, una atenta observación de estos fenómenos descarta esta posibilidad de confusión.

PROMEDIO DE LAS CIFRAS MAXIMAS Y MINIMAS, TANTO DE LAS CELULAS COMO LOS NUCLEOS EN LAS TRES FASES DEL

EXANTEMA VARICELOSO



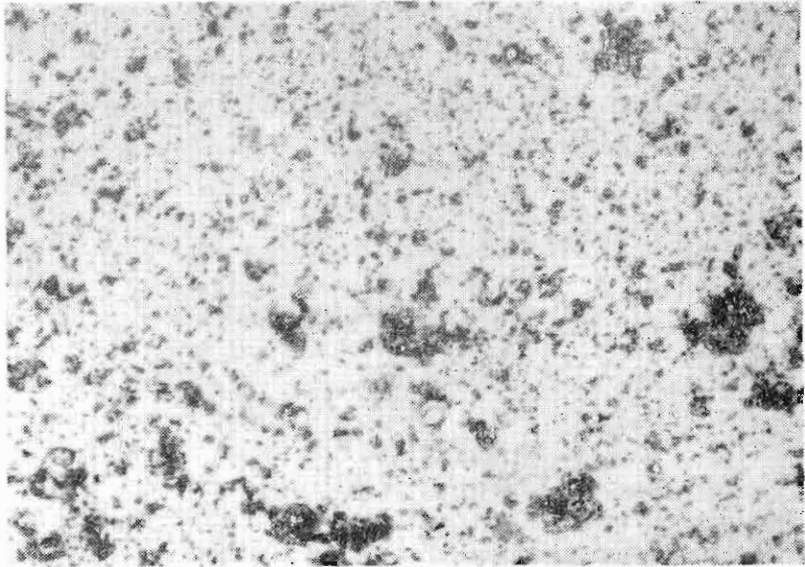


Figura 4

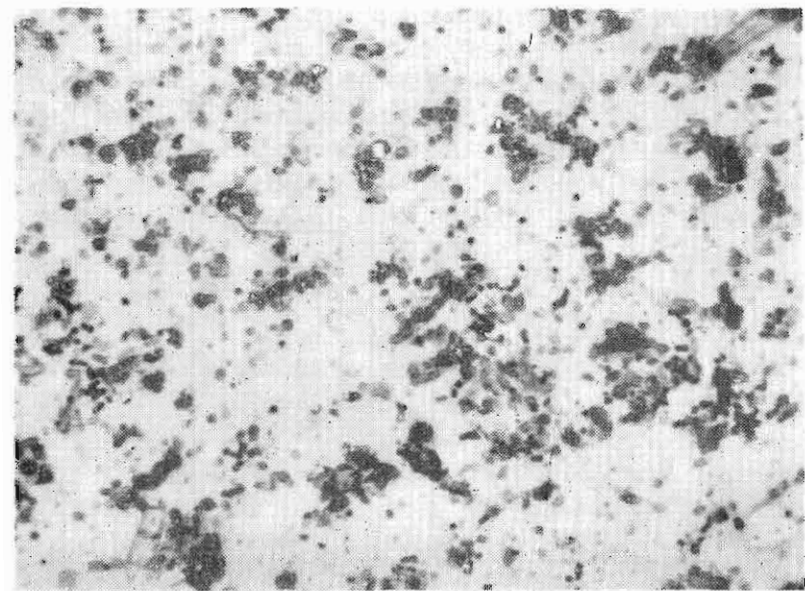


Figura 5

CORRELACION HISTOPATOLOGICA

Después de abordar aspectos eminentemente citológicos en la totalidad de nuestra casuística tanto de varicela como viruela, hemos creído conveniente complementar con estudios anatomopatológicos de la lesión exantemática de ambos procesos eruptivos, empleando para ellos el método de la biopsia quirúrgica.

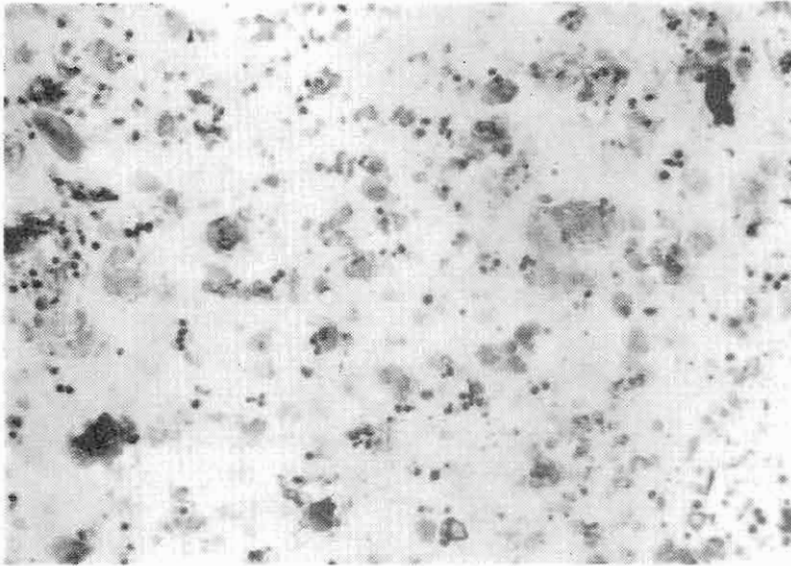


Fig. Nos. 4-5-6.—Expresión citológica de los casos 1, 2 y 3 de viruela. En ninguna de ellas se observa las células gigantes características o "atípicas". Se ve abundante cantidad de células epiteliales descamadas de forma y tamaño normales. Algunas se encuentran en acúmulos que pueden simular células gigantes, pero un examen atento descarta tal posibilidad. Se aprecian también en estos preparados abundantes leucocitos polimorfonucleares. 10 x 10.

En la varicela esto se ha llevado a cabo en forma seriada en las 3 fases de evolución del exantema vesicular.

Las características histopatológicas del exantema variceloso han sido estudiadas ampliamente por gran número de autores (51), (52), (53), (54) y en diferentes etapas de la infección viral. Según estos autores las células infectadas por el virus de la varicela, observan varias anomalías del núcleo celular: hipertrofia, multiplicación y cambio estructural, que reflejan diferentes fases de la evolución reproduc-

tiva del virus en cada núcleo. Todos los núcleos afectados tienen la cromatina marginada contra la membrana nuclear a la que amplían. Dentro del núcleo puede haber material homogéneo basófilo Foulgen Positivo. Cuando no se encuentra material basófilo puede verse dentro del núcleo, ocupando casi toda su integridad, el cuerpo de inclusión intranuclear acidófilo Foulgen Negativo. Por otro lado, el citoplasma sufre un proceso de "degeneración glcbulosa" y edema intracelular con la consiguiente desintegración, entrada del líquido tisular y formación de la vesícula varicelosa típica unilocular. Generalmente la base de

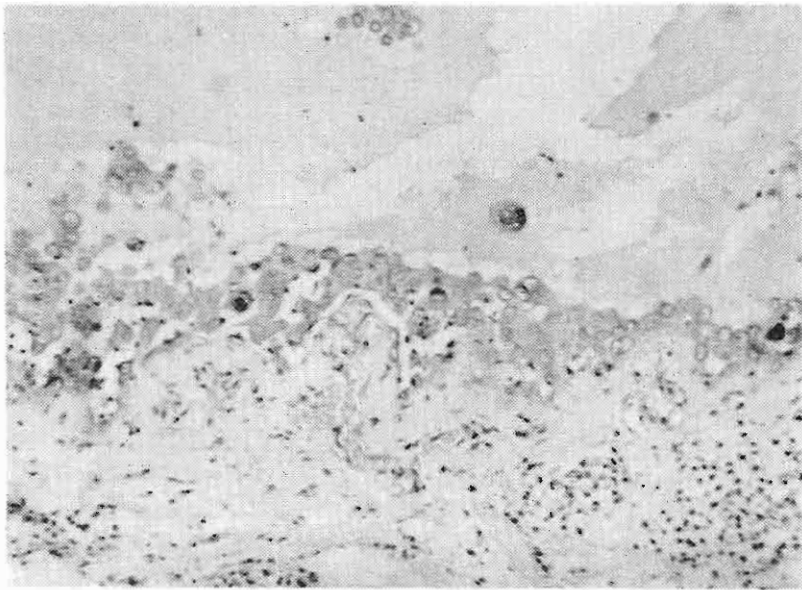


Fig. Nº 7.—Corte histológico de lesión exantemática varicelosa en fase de vesícula transparente (Aumento -10 x 10). Obsérvanse en el lecho de la lesión, abundantes células gigantes características con muy escasos elementos formes de la sangre. Dentro del contenido vesicular mismo hay células atípicas.

estas vesículas está tapizada por una o dos filas de células gigantes características; y cuando la vesícula es muy grande llega hasta el corium, que en ningún caso llega a transponer. En nuestros estudios histopatológicos hemos encontrado la típica vesícula unilocular con algunas características propias de cada fase; en la fase de vesícula transparente hemos observado la presencia de abundantes células atípicas tapizando la base o lecho de la vesícula que contiene un líquido translúcido y con muy escasos leucocitos.

En la fase de vesícula opalescente o turbia se observa, en el contenido vesicular, mayor o menor cantidad de leucocitos y siempre, con presencia de las células en estudio dispuestas, igualmente, en la base de la lesión.

En la fase de pústula (varicela pustulosa) es bastante laborioso identificar las células gigantes características por la gran invasión de leucocitos en el lecho vesicular. Figs. N° 7, 8.

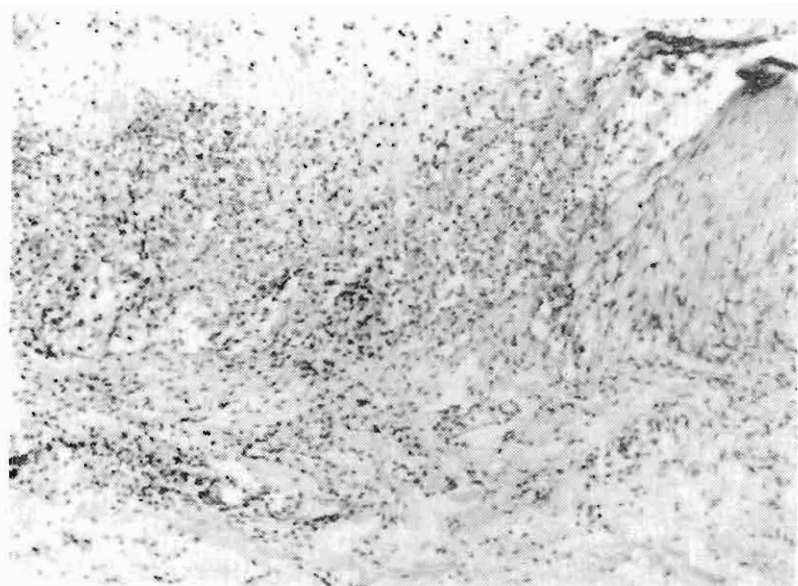


Fig. N° 8.—Corte histológico de la lesión varicelosa en fase de pústula. La expresión histológica es completamente diferente que en las fases anteriores. Gran invasión leucocitaria que imposibilita observar una célula gigante característica.

El substratum histopatológico de la viruela es completamente diferente al de la varicela; no solamente porque no están presentes las células gigantes características, sino el componente lesional presenta características inconfundibles.

Desde el año de 1904, en el que Councilman y col. (55) realizaron una de las primeras descripciones histopatológicas de la lesión exantemática variolosa, otros autores (56), (57), (58) y (59), poco han aportado. A la luz de la opinión de estos autores la evolución de la lesión exantemática sigue el camino siguiente: el primer cambio observado en la piel es la dilatación capilar de la capa papilar del corium; hay infiltración perivascular de linfocitos e his-

focitos; los cambios aparecen luego en la epidermis suprayacente, donde la infección del virus a las células epiteliales determina: engrosamiento de la epidermis, formación de los Cuerpos de Inclusión de Guarnieri, desintegración de los Cuerpos de Inclusión. La desintegración de este elemento viral invade todo el citoplasma originando la degeneración vacuolar citoplasmática y finalmente estallan las células originando un pequeño espacio vesicular. Las vesículas tienden a tabicarse a expensas de restos celulares destruidos incompletamente, determinando la vesícula multilocular (degeneración reticular del epitelio).

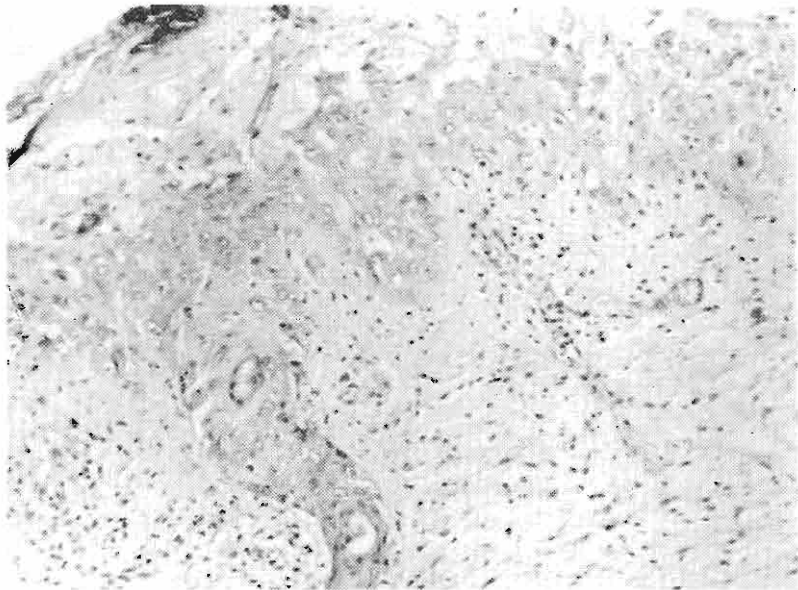


Fig. N° 9.—Corte histológico de la lesión exantemática variolosa (aumento 10 x 10). Se observa el engrosamiento de la epidermis, lesión multilocular (degeneración reticular de la epidermis). Corpúsculos de Guarnieri intracitoplasmáticos e infiltración celular.

En vesículas completamente desarrolladas, la cúpula está formada por células del estratum espinoso y córneo comprimidas. La base está formada por células de la capa malphigiana que desaparecen posteriormente, de suerte que la cavidad de la vesícula se extiende hasta el corium. La pústula se forma cuando pasan leucocitos polimorfonucleares a la vesícula desde la dermis, desapareciendo los tabiques que anteriormente la cruzaban. Nosotros hemos comprobado: el engrosamiento de la epidermis, corpúsculos de Guarnieri, degeneración reticular vesícula multilocular, e infiltración celular. Fotografía N° 9.

DISCUSION

La varicela, enfermedad viral de curso benigno, es un cuadro clínico-patológico bien definido; posee características propias, y en la mayoría de las veces no demanda esfuerzo alguno para realizar un diagnóstico correcto. En algunas oportunidades este planteamiento deja de tener vigencia y esto sucede en aquellas formas clínicas de varicela que, prácticamente, son limitantes con otra enfermedad viral de gran contagiosidad y malignidad como es la viruela; presentándose en esta forma un serio problema de diagnóstico diferencial que no se puede desentrañar sin el concurso del laboratorio.

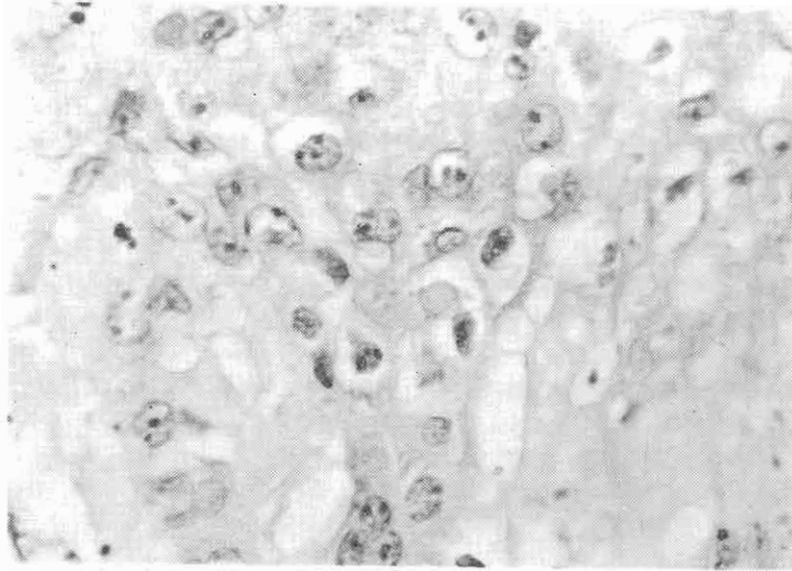


Fig. N° 10.—Una vista en mayor aumento del corte anterior (N° 9) para visualizar mejor los Corpúsculos de Guarnieri: pequeñas masas esféricas intracitoplasmáticas, de coloración acidófila.

Ante estos hechos, y basándose en la revisión bibliográfica que hemos realizado, es que ciertamente consideramos importante llevar a cabo este trabajo del citodiagnóstico diferencial entre varicela y viruela.

En la actualidad se cuenta con una serie de procedimientos de laboratorio que permiten diferenciar perfectamente uno y otro proceso por métodos a cual más perfeccionados, incluyendo el aislamiento del virus; todos ellos requieren para su ejecución de cierto tiempo y con-

diciones materiales adecuadas, pero las circunstancias nos obligan a pronunciarnos de inmediato, y frente a tal disyuntiva, el test citológico adquiere importancia capital.

Los resultados obtenidos del estudio citológico de 100 enfermos de varicela y tres de viruela y la comprobación histopatológica de casos representativos de varicela y la totalidad de viruela, nos permiten señalar y remarcar ciertos aspectos citológicos que consideramos importantes. En la totalidad de casos de varicela fue posible encontrar las células gigantes características, atípicas o "pseudotumorales" o células gigantes multinucleadas de H. Blanck (13). Ya hemos señalado los rasgos citológicos importantes en lo morfológico, tintorial, cuantitativo y micrométrico diferenciables en cada una de las fases o estadios de la lesión exantemática varicelosa.

Específicamente, en lo que respecta al tamaño de estas células hay una gran variabilidad, pudiendo encontrarse ejemplares hasta de 40 micras de diámetro mayor y las más pequeñas de 8 micras; pero, entre estas cifras extremas es posible detectar la predominancia de un tamaño standard en cada una de las fases o estadios de la vesícula varicelosa. Los núcleos son igualmente gigantes, algunos monstruos con marcada alteración de la relación núcleo-citoplasmática a favor del núcleo y pignosis acentuada. En ningún caso hemos encontrado nucleolo.

En una proporción aproximadamente del 90% de casos hemos observado un halo perinuclear claro perfectamente circunscrito. Desde el punto de vista tintorial, el citoplasma presenta afinidad por los colorantes básicos y el núcleo discretamente acidófilo en la fase de vesícula transparente y turbia y francamente acidófilo en la fase pustulosa. Por otra parte, hacemos notar que las deformaciones celulares son mucho más manifiestas en la fase de vesícula transparente y luego en la fase de vesícula turbia u opalescente. En la pústula estos cambios núcleo-celulares sufren un proceso involutivo, debido al fenómeno degeneración y lisis, razón por la cual es común constatar, que las células adoptan una forma esferoidal, pero fácilmente identificables.

En cuanto al significado y la etiopatogenia de las células atípicas en la varicela, hemos consultado la opinión del Dr. Manuel Cuadra C. (38) por ser difícil de llegar a un concepto preciso basándonos en lo que hemos visto y las opiniones aisladas de los diferentes investigadores. El Dr. Cuadra nos manifiesta que él ha estudiado detenidamente estas células desde el punto de vista morfológico: que son células en trance de degeneración, morfológicamente indistinguibles de las células atípicas del Herpes Simple y Herpes Zona; que el virus de la varicela

no es fácilmente cultivable como lo es el Herpes Simple con el que ha trabajado detenidamente. El Dr. Cuadra considera, por analogía con lo observado en el Herpes Simple (estudios de frotises de lesiones en el hombre, en la membrana corioalantoidea de gallina y en el cultivo de células Hela), que los núcleos alterados que vemos en las células de la varicela corresponden a los denominados Cuerpos de Inclusión Intranuclear. Con determinados fijadores (Cornoy y Zenker) es posible ver separadas ambas sustancias: una periférica que corresponde a los restos de la cromatina nuclear y la otra sustancia enclaustrada o Cuerpo de Inclusión propiamente y que corresponde a la cromatina alterada conteniendo partículas virales diseminadas (microscopio electrónico); entre ambos generalmente existe un espacio vacío "halo perinclusional". Con los colorantes derivados del Romanowsky (Giemsa, Leishman, Right) no se diferencian las dos sustancias ni el halo, apareciendo toda una masa; de manera que toda célula atípica de la varicela encierra o presenta un cuerpo de inclusión.

La expresión cuantitativa porcentual de las células atípicas, tal como hemos señalado, varían según la fase del exantema vesicular. En la fase de vesícula transparente solamente se aprecia las células gigantes características con ausencia absoluta de otro tipo celular, excepto algunas células epiteliales de descamación; esto es explicable, ya que en este estadio de evolución de la vesícula varicelosa no hay infiltración celular inflamatoria. Esta expresión citológica hemos considerado 100% positiva a células gigantes características.

En la fase de vesícula turbia u opalescente la cantidad de células atípicas es aparentemente menor; en esta fase hay invasión de la cavidad vesicular por gran cantidad de elementos formes de la sangre que alteran francamente la relación de células atípicas-leucocitos, llegando a invertirse la proporcionalidad. Según nuestra opinión no es exacto sostener que en esta fase disminuye el número de células gigantes multinucleadas; existe una disminución relativa mas no absoluta.

Según nuestros resultados, en esta fase la cantidad promedio de células gigantes características corresponde a 40 y 60% y el resto son elementos formes.

En la fase pústula ocurre un fenómeno contrario, se asiste a una verdadera disminución de las células gigantes características; esto tiene explicación, se atribuye a un fenómeno degenerativo destructivo. La cifra de positividad porcentual es aproximadamente el 2% como pro-

medio en estas células y el resto corresponde a células sanguíneas invasoras.

En cuanto a las dimensiones núcleo-celulares cabe puntualizar que estas presentan variaciones significativas de una fase a otra del exantema vesicular variceloso. Estas variaciones se encuentran reflejadas en los promedios que hemos obtenido de las mediciones del tamaño standard, del tamaño máximo y del mínimo en cada una de las fases.

Así, en la fase de vesícula transparente el promedio de las células más grandes (tamaño máximo celular), según nuestra experiencia, es de 25.55 micras y 22.41 micras para el núcleo. El tamaño promedio para las células más pequeñas (tamaño mínimo celular) fue de 8.09 micras y para el núcleo 7.05. El tamaño considerado como standard en esta misma fase dio como resultado 17.23 micras de diámetro para la célula y 13.30 micras para el núcleo.

En la fase de vesícula turbia u opalescente estos mismos promedios hemos encontrado más altos; el promedio del tamaño máximo celular fue de 28.69 micras y el promedio máximo nuclear de 23.40 micras; el promedio del tamaño mínimo celular 8.98 y el promedio del tamaño mínimo nuclear de 7.44 micras; igualmente, el tamaño promedio general corresponde a 17.83 micras y para el promedio general del núcleo 15 micras.

En la fase pustulosa hemos constatado todos estos promedios obtenidos considerablemente bajos que en las dos fases anteriores. El promedio de las células más grandes fue de 20.5 micras y el núcleo 16.55 micras; el promedio de las células más pequeñas fue de 7.45 micras y para el núcleo 6.30 micras; el tamaño promedio general en esta fase se encontró 12.50 y para el núcleo 10.40 micras.

Indiscutiblemente estas variaciones de tamaño núcleo-celulares en cada fase o estadio de la vesícula varicelosa tiene significación, ya que nos permite tener en consideración, primero: que no todas estas células características son de gran tamaño y por ende fácil de reconocer, sino que hay una verdadera anisocitosis que es necesario tener en mente para formular el diagnóstico citológico acertado.

Estos estudios citológicos en la varicela, llevados a cabo en las tres fases o estadios de evolución de la lesión vesicular, han sido complementados con trabajos anatómopatológicos de especímenes obtenidos por biopsia quirúrgica de casos representativos de la vesícula transparente, vesícula turbia u opalescente y pústula. El resultado fue que el substratum histopatológico es característico en cada uno de los estadios de la vesícula varicelosa. Así, en la vesícula transparente se puede ob-

servar una lesión unilocular con presencia estratificada de células gigantes características tapizando el lecho vesicular y con muy escasas células polimorfonucleares. En la vesícula opalescente o turbia la expresión histológica es más o menos similar, pero con la diferencia de mayor cantidad de leucocitos polimorfonucleares.

Contrariamente, en la fase pustulosa hay una anarquía completa desde el punto de vista patológico; la gran celularidad muchas veces mimetiza la presencia de las células atípicas, pero, un estudio mucho más minucioso permite demostrar estas células dentro del gran amarrado inflamatorio.

Paralelamente a los estudios citohistológicos llevados a cabo en la varicela, se han realizado las investigaciones comparativas en los tres (3) casos de viruela diagnosticados por el Dr. Manuel Cuadra en el último brote epidémico en nuestra capital.

El resultado del estudio citológico ha sido negativo para las células gigantes características detectadas en la totalidad de nuestros casos de varicela; algunos conglomerados de células de descamación podían simular células gigantes, pero mediante un examen atento podemos diferenciar perfectamente. Este hecho tiene su explicación desde el punto de vista etiopatogénico, por cuanto en la varicela el virus causante es de localización intranuclear, mientras que en la viruela el virus es de localización intracitoplasmática que origina los cuerpos de inclusión de Guarnieri. Con el microscopio electrónico se ha demostrado que lo que con el microscopio de luz se nos presenta como cuerpos acidófilos intracitoplasmáticos en las células epiteliales infectadas por el virus varioloso o sea los corpúsculos de Guarnieri o los cuerpos de inclusión de la viruela; estos corresponden a un conglomerado apretado de partículas virales con poca matriz, sustancia protoplasmática que se interpone entre las partículas. Hay, pues, una diferencia fundamental entre varicela y viruela; en la primera las partículas virales ejercen su acción a nivel nuclear y en la segunda a nivel citoplasmático. Por lo tanto, creemos equivocada la tesis que se sostuvo y expuso en (10) y que el Dr. Urteaga sigue sosteniendo de que en ambas enfermedades se encuentra el mismo tipo de alteración celular; más aun, los cortes muestran una diferencia tajante, ya que en la lesión variolosa no están presentes las células gigantes características y, además, la expresión histopatológica es característica: engrosamiento de la epidermis, cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos de Guarnieri, degeneración reticular de la epidermis, infiltración celular. la lesión traspone la capa basal (comunicación personal del Dr. Cuadra).

De todo lo expuesto podemos recalcar que el cuadro citológico de la varicela que hemos estudiado y puesto en consideración, según nuestra experiencia adquiere valor diagnóstico de gran importancia. Presentamos como un examen simple, fácil de realizar y de poco costo económico. Creemos que su mayor utilidad radica en la posibilidad de diferenciar varicela y viruela, no precisamente en aquellos casos típicos, donde no existe confusión alguna, sino en aquellas formas clínicas de ambos procesos, donde una y otra se imitan imposibilitando al médico a pronunciarse categóricamente, máxime si no se tiene a disposición la valiosa ayuda de los exámenes de laboratorio.

No podíamos dejar pasar el hecho de que lo ideal habría sido realizar estudios citohistopatológicos de la lesión eruptiva tanto de la varicela como la viruela en igual número de casos, pero, como es obvio, ante la ausencia del número necesario de variolosos en nuestro medio no tenemos otra alternativa que encomendar la realización donde fuera posible, indagaciones sistemáticas en la viruela y, en esa forma, se podrá reafirmar la tesis sostenida por varios investigadores (6), (13), (7), (2), de que la viruela y la varicela son fácilmente diferenciables mediante el test citológico. En nuestro país donde no es posible llevar a cabo vacunación antivariólica hasta los últimos rincones, la viruela constituirá siempre un peligro, por lo que estamos obligados a adoptar y difundir el Test Citológico que proponemos en el presente trabajo.

RESUMEN

Se dan a conocer las características citológicas de un tipo celular con valor diagnóstico en la varicela, llamada Células Gigantes Características, Células Gigantes Multinucleadas, Células Atípicas o "Pseudotumorales".

Estas células adquieren particularidades citológicas diferenciables en lo morfológico, tintorial, cuantitativo, porcentual y micrométrico, según la fase en que se encuentre el exantema variceloso.

En la fase de vesícula transparente son generalmente redondeadas u ovaladas, con uno o dos núcleos gigantes, de afinidad tintorial discretamente acidófila. En la fase de vesícula turbia u opalescente hay la tendencia de deformación irregular de las células y multisegmentación nuclear (multinucleados) y adquieren coloración mucho más acidófila que en la fase anterior. En la fase de pústula son frecuentemente esféricas con núcleo gigante y toman una coloración francamente acidófila con el Leishman.

El citoplasma de estas células en general es escaso y toma coloración basófila en las tres fases del exantema variceloso. En todas ellas hay pérdida de la relación núcleo-citoplasmática. Casi la totalidad de estas células presentan un halo perinuclear claro, perfectamente destacado en el citoplasma celular. En ninguna de estas células se ha identificado el nucleolo.

El tamaño de estas células es igualmente variable (40 a 60 micras). El promedio del tamaño standard, el promedio del tamaño núcleo-celular máximo, el promedio del tamaño núcleo-celular mínimo, son mayores en la fase de vesícula turbia u opalescente que en la fase de vesícula transparente y pústula; en esta última considerablemente menor que en las anteriores.

La apreciación cuantitativa porcentual de estas células respecto a otras también varía según la fase de la vesícula varicelosa, encontrándose 100% en la vesícula transparente, 40 a 60% en la vesícula opalescente y 2% en la pústula.

Estas células no han sido encontradas en los tres casos de viruela que se han estudiado desde el punto de vista citológico, siguiendo el mismo procedimiento técnico empleado en la varicela.

Estudios anatomopatológicos complementarios de casos representativos en la varicela y en los tres casos de viruela, confirman la presencia de estas células en el primero y el corpúsculo de Guarnieri en el segundo.

BIBLIOGRAFIA

1. Tyzzer. The Philippine Journal Of Science. Vol. 1 Mayo 1906.
2. Jochmann G. y Hegler. Tratado de Enfermedades Infecciosas. Ed. Labor S. A. Barcelona 1935.
3. Tzanck Arnault. Le citodiagnostic inmediate. Bulletin et memoires de la Societe Medicale des Hopitaux de Paris. Annee 1948. Masson et Cie. 64: 84-87, 1948.
4. Tzanck A. Bourgois-Gavardin et Aronbuernitiere. Citodiagnostic Inmediate in Dermatologie. Annales de Dermatologie et de Syphiligraphie. Bulletin de la Societe Francaise de Dermatologie et de Syphiligraphie. 3: 205-208, 1948.
5. Coste M. F. et Pignet D. Maladie de Boween. Citodiagnostic non Probat. Bulletin Socie. Fran. Dermatologie Syphiligraphie. 55. 22, 1948.
6. Tzanck Arnault et Brunitiere Aron. Le Citodiagnostic Inmediate. La Semaine des Hospitaux. 25 annee. 95: 3073-3081, 1949.
7. Blanck Harvey M. D., C. F., Brugoon, M. D. G., Douglas Baldrige., M. D. Philip Mc. Carty M. C. Citologie Smears in Diagnosis of Her-

- pes Simplex, Herpes Zoster And Varicella. *J. A. M. A.* 146: 1410-1412, 1951.
8. Smith-Beamer-Vellos and Schliz M. S. M. D. Varicella. *Principles Of Human Patology.* 18: 350-351, 1959.
 9. Moore. Varicela. *Textbook Of Patology.* Chapter XLVIII. 373, 1951.
 10. Urteaga Oscar y Cuadra Calle Manuel. *Citología en el Diagnóstico de Enfermedades a Virus.* *Arch. Peruana de Patología Clínica.* 1953.
 11. Mc Nair Scott T. F. M. D. Contributions of The Virus Laboratory to Comunite Health. *The New England of Medicine.* 250: 140-143, 1954.
 12. Gerner W. D. Varicela. *Enfermedades a Virus.* 112-113, 1955.
 13. Blanck Harvey M. D. Rak Geoffrey W. M. D. D. S. *Enfermedades por Virus y Rickettsias de la piel Ojos y Mucosas del Hombre.* Boston Little Brown And Company Toronto. Capit. II y IV: 28-29, 90-92, 1955.
 14. Rodes A. J. M. D. F. R. C. P. Toronto Canadá. *Recents Advances in the Laboratory Diagnostissis of Virus Infections. Some New Technics in Virology.* *Ann Int. Med.* 45: 106, 1956.
 15. Rhodes and Van Roosen. *The Laboratory Diagnostissis Of The Virus De-seases.* *Textbook Of Virology.* 8: 111, 1958.
 16. Rhodes and Van Roosen. Chickenpox. *Laboratory Diagnostissis.* *Textbook Of Virology.* 16: 161-163, 1958.
 17. William and Burrows, Ph. D. Varicela. *Textbook of the Microbiology.* 37: 819-822, 1959.
 18. Mc. Nair Scott T. S. M. D. *The Herpes Simplex Group. Viral And Rickettsial Infections of Man.* 38: 762, 1959.
 19. Stokes Joseph Jr. M. D. *Varicela And Herpes Simplex Group. Viral And Rickettsial Infections of Man.* 39: 775-776, 1959.
 20. Grugman and Ward. *Infections Diseases of Children.* 2: 26-27, y 32, 1960.
 21. Smith & Conant. *Varicella y Herpes Zoster.* *Zinsser Microbiology.* 40: 704-5, 1960.
 22. Sir Jhon Conbeare W. N. Mann. *Enfermedades Originadas por Virus Fil-trables.* *Compendio de Patología.* 910-11, 1960.
 23. Kats Samuel L. Medeaes Jr. Donald N. Enders John F. *Viral Infec-tions of Infancy and Childhood. Some recents advances in Vari-cella and Measles.* 15: 215-16, 1960.
 24. De Graciansky P. *Forme Clinique des Herpes.* *La Revue Du Practicien.* 23: 2305-6, 1961.
 25. Anderson Thomas M. D. F. R. C. P. *Chickenpox.* *The Practitioner.* 187: 289, 1961.
 26. Robbins Stanley L. M. D. T. *Varicella.* *Textbook of Patology and Clinical Aplications.* 30: 130-31, 1962.
 27. Sala Ginabreda José María. *Tratado de Enfermedades Infecciosas en la Infancia.* I: 141-2, 1962.
 28. Ender y colaboradores. Citado por Blanck.
 29. Anderson W. A. D. *Herpes Zoster.* *Tratado de Anatomía Patológica.* XIV: 388, 1962.
 30. River-Horfall. *Enfermedades por Virus y Rickettsias.* Tercera Ed. 1962.
 31. River Horfall *Viral And Rickettsial Deseases.* Forut Ed. 1962.

32. Campos Rey de Castro Jorge. Comunicación Personal. 1964.
33. Ramírez P. Graciela. Contribución de la Microscopía Electrónica al Diagnóstico de Virus Viruela. (Estudio realizado en nuestro medio). Revista Peruana de Patología. Nos. 13-14: 129, 1965.
34. Councilman W. T. Magrath. The Patologycal Anatomy And Histology Of Variola. J. Med. Res. 19: 11-12-135, (Citado por River).
35. Bras G. The Morbid Anatomy Of Smallpox. Docum. Med. Geog. Et. Trop. 4: 1, 1948 (Citado por River).
36. Jong M. The Alastrin Epidemic In The Hague 1935-54. Doc. Med. Geog. Et Trop. 207-235, 1956.
37. Wild Heer Brugg. Metrología Microscópica. (Catálogo).
38. Cuadra Calle Manuel. Comunicación Personal. 1965.