

Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**

**Fundação Oswaldo Cruz**

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ**  
**INSTITUTO DE PESQUISA CLÍNICA EVANDRO CHAGAS**  
**DOCTORADO EM PESQUISA CLÍNICA EM DOENÇAS**  
**INFECCIOSAS**

**LEONARDO PEREIRA QUINTELLA**

**DIAGNÓSTICOS DIFERENCIAIS**  
**HISTOPATOLÓGICOS DAS LESÕES CUTÂNEAS DE**  
**LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA**

Rio de Janeiro

2010

TESE DPCDI – IPEC L. P. QUINTELLA 2010

DIAGNÓSTICOS DIFERENCIAIS  
HISTOPATOLÓGICOS DAS LESÕES CUTÂNEAS DE  
LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA

LEONARDO PEREIRA QUINTELLA

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas para obtenção do grau de Doutor em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas.

Orientadores: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sonia Regina Lambert Passos e Prof. Dr. Armando de Oliveira Schubach.

Rio de Janeiro

2010

Ficha catalográfica elaborada pela  
Biblioteca de Ciências Biomédicas/ ICICT / FIOCRUZ - RJ

Q78

Quintella, Leonardo Pereira.

Diagnóstico diferenciais histopatológicos das lesões cutâneas de  
Leishmaniose Tegumentar Americana. / Leonardo Pereira Quintella. –  
Rio de Janeiro, 2010.  
xii, 68 f. : il. ; 30 cm.

Tese (doutorado) – Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas,  
Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infeciosas, 2010.  
Bibliografia: f. 57-60

1. Leishmaniose cutânea. 2. Esporotricose. 3. Técnicas. 4.  
Procedimentos. 5. Diagnóstico. 6. Diagnóstico diferencial. 7. Patologia.  
8. Regra preditiva. I. Título.

CDD 616.9364

LEONARDO PEREIRA QUINTELLA

DIAGNÓSTICOS DIFERENCIAIS HISTOPATOLÓGICOS DAS  
LESÕES CUTÂNEAS DE LEISHMANIOSE TEGUMENTAR  
AMERICANA

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação do  
Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas para  
obtenção do grau de Doutor em Pesquisa Clínica em  
Doenças Infecciosas.

Orientadores: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sonia Regina Lambert Passos.  
Prof. Dr. Armando de Oliveira Schubach

Aprovada em 10 de dezembro de 2010.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Inês Fernandes Pimentel (presidente)  
Doutora em Dermatologia pela Universidade Federal do Rio de Janeiro

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Tullia Cuzzi Teichner  
Doutora em Dermatologia pela Universidade Federal do Rio de Janeiro

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Daurita Darci de Paiva  
Doutora em Medicina Tropical pela Fundação Oswaldo Cruz, RJ

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Yara Hahr Marques Hökerberg  
Doutora em Saúde Coletiva pela Universidade Estadual do Rio de Janeiro

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Albanita Viana de Oliveira  
Doutora em Patologia pela Universidade de São Paulo

## DEDICATÓRIA

À minha saudosa mãe Júlia.

Às minhas saudosas avós Themis e  
Deca.

Ao meu pai Odair, minha irmã Dani,  
minha Tia Silvinha e meu Tio Luiz.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que estiveram ao meu lado nesses anos e de alguma forma me ajudaram a chegar até aqui e, correndo o inevitável risco de esquecer alguém, cito nominalmente:

**Dr. Armando de Oliveira Schubach**, coordenador do Programa de Pós-Graduação do IPEC, que passou inexoravelmente de orientador a ídolo pela serenidade, sensatez e paciência;

**Dr.<sup>a</sup> Sonia Regina Lambert Passos**, pesquisadora da FIOCRUZ, que comprou nossas idéias, topou entrar na canoinha sem saber se era furada, e remar contra a maré com afinco e, também, paciência (eu sei ser teimoso...);

**Dr.<sup>a</sup> Tullia Cuzzi** por sempre me jogar, incondicionalmente, “para o alto e avante”, pelos conselhos, pelos ensinamentos e pela excelente referência profissional que é; Meu pai **Eng.<sup>o</sup> Odair Mesquita Quintella** pelo exemplo, pelo apoio e pelo cegamento dos casos para a análise histopatológica;

**Dr.<sup>a</sup> Veterinária Luisa Helena Monteiro de Miranda**, pela condução de grande parte do abortado estudo imuno-histoquímico, com o exame das lâminas e proposição oportuna de inúmeras alterações do protocolo, e pelo exame das lâminas para o estudo de confiabilidade;

Às colegas patologistas do Serviço de Anatomia Patológica do IPEC, **Dr.<sup>as</sup> Janice Mery Chicarino Oliveira Coelho, Luciana Wernersbach Pinto e Patrícia Fonseca Pereira**, pela cobertura nas horas de aperto;

**Sr. <sup>s</sup> Antônio Corrêa, Antônio Carlos da Silva e Francisco das Chagas de Carvalho Rodrigues**, colaboradores técnicos do Serviço e Anatomia Patológica do IPEC pelos inúmeros “recortes”, “colorações” e “remontagens”, sempre primorosos;

**Sr.<sup>a</sup> Maria Dulce Portugal Estrada Espinoza** pelo competente apoio administrativo no desenvolvimento deste trabalho e de muitos outros;

**Sr. Marcos Francisco Lucas de Almeida** pelo alto nível de qualidade na supervisão técnica do laboratório do Serviço de Anatomia Patológica do IPEC;

Aos amigos do **Grupo de Estudo do Baque Virado**, do **Maracutaia** e do **Rio Maracatu** que me propiciaram catarse nos momentos necessários;

**Dr.<sup>a</sup> Danielle da Silva Carvalho Sousa**, meu projeto, findo este.

## EPÍGRAFE

Apesar da nossa compreensível relutância em pensar no valor das observações médicas em termos estatísticos, quando a alternativa à estatística são conceitos como “às vezes”, “ocasionalmente”, “poderia ser” ou “na minha experiência”, a abordagem estatística começa a parecer menos bizarra  
(...)

Quer seja baseado em anormalidades estruturais no genótipo ou no fenótipo, um teste é um teste. Como todos os outros testes, os testes genéticos devem ser avaliados baseados na acurácia de suas previsões para o paciente e para a família do paciente, e não baseado na tecnologia utilizada para gerar o resultado do teste.

### **Diagnostic decision making in anatomic pathology**

*Am J Clin Pathol* 2001, 116 (Suppl 1):S21-S33

Eliot Foucar

A vida não dá certeza  
pois tudo se movimenta  
cada dia representa  
a chance de uma surpresa”

### **Tempo II**

Sérgio Roberto Veloso de Oliveira (Siba)



Quintella, L. P. **Diagnósticos diferenciais histopatológicos das lesões cutâneas de leishmaniose tegumentar americana**. Rio de Janeiro, 2010.60 f. Tese [Doutorado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas] – Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas

## RESUMO

A leishmaniose cutânea (LC) se caracteriza por lesões granulomatosas, comumente ulceradas, e a esporotricose é importante diagnóstico diferencial. O presente trabalho objetivou determinar alterações histopatológicas úteis para essa diferenciação e relatar um caso de LC em que houve hiperplasia pseudoepiteliomatosa exuberante que foi confundida com carcinoma de células escamosas. Foi realizado um estudo das alterações histopatológicas de 119 lesões cutâneas ativas de esporotricose em lâminas coradas pela hematoxilina e eosina e, posteriormente, uma comparação entre as alterações em 171 lesões ativas de LC e 97 de esporotricose em que não se encontrou o microorganismo ao exame histopatológico. Todos os casos foram diagnosticados pelo isolamento do agente em cultura. A esporotricose se caracterizou histopatologicamente por uma dermatite difusa granulomatosa supurativa com necrose. A LC apresentou granulomas dos tipos “clareira de Montenegro” e “tuberculóide” e degeneração da matriz extracelular de forma significativamente mais freqüente do que a esporotricose. A esporotricose apresentou granulomas dos tipos “supurativo” e “estrelado”, células gigantes de diferentes tipos, granulomas associados a tecido de granulação e abscessos não associado aos granulomas de forma significativamente mais freqüente do que a LC. Uma análise múltipla dessas alterações por regressão logística demonstrou que elas podem distinguir as duas doenças corretamente em cerca de 90% dos casos. Assim, o exame histopatológico pode fornecer informações importantes na condução do diagnóstico diferencial entre a LC e a esporotricose. A hiperplasia pseudoepiteliomatosa na LC pode simular um carcinoma de células escamosas.

Palavras-chave: 1. Leishmaniose cutânea. 2. Esporotricose. 3. Técnicas e procedimentos diagnósticos. 4. Diagnóstico diferencial. 4. Patologia. 5. Regra preditiva.

Quintella, L. P. **Histopathological differential diagnoses of American tegumentary leishmaniasis skin lesions**. Rio de Janeiro, 2010. 60 f. Thesis [Doctorate in Clinical Research in Infectious Diseases] – Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas

## ABSTRACT

Cutaneous leishmaniasis (CL) is characterized by granulomatous lesions, often ulcerated, and sporotrichosis is an important differential diagnosis. This study aimed to determine histopathological changes that could assist in this differentiation and to report a case of CL which presented exuberant pseudoepitheliomatous hyperplasia that was mistaken for squamous cell carcinoma. A study of histopathological changes of 119 active cutaneous lesions of sporotrichosis in hematoxylin-eosin stained slides was conducted, and then a comparison between the changes in 171 CL and 97 sporotrichosis active lesions in which the microorganism was not found on histopathological examination. All cases were diagnosed by isolation of the agent in culture. Sporotrichosis was histopathologically characterized by a diffuse suppurative granulomatous dermatitis with necrosis. CL showed granuloma of "Montenegro clearing" and "tuberculoid" types and degeneration of extracellular matrix significantly more frequent than sporotrichosis. Sporotrichosis presented granulomas of "suppurative" and "stellate" types, giant cells of different types, granulomas associated with granulation tissue, and abscesses not associated with granulomas significantly more frequent than CL. A multiple analysis of these changes by logistic regression demonstrated that they can correctly distinguish the two diseases in about 90% of cases. Thus, the histopathological examination can provide important information in guiding the differential diagnosis between CL and sporotrichosis. Pseudoepitheliomatous hyperplasia in CL can mimic squamous cell carcinoma.

Keywords: 1. Leishmaniasis, cutaneous. 2. Sporotrichosis. 3. Diagnostic techniques and procedures. 4. Differential diagnosis. 4. Pathology. 5. Predictive rule.

## LISTA DE ABREVIATURAS UTILIZADAS

ATL	American tegumentary leishmaniasis
AUC	Area under the curve
CL	Cutaneous leishmaniasis
E	Especificidade
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
IC	Intervalo de confiança
IDRM	Intradermorreação de Montenegro
IPEC	Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas
LC	Leishmaniose cutânea
LHMM	Luisa Helena Monteiro de Miranda
LM	Leishmaniose mucosa
LPQ	Leonardo Pereira Quintella
LTA	Leishmaniose tegumentary americana
OR	Odds ratio (razão de chances)
PABAK	Prevalence-adjusted bias-adjusted kappa (kappa ajustado para prevalência e viés)
PESH	Pseudoepitheliomatous squamous hyperplasia
Pmed	Prevalência média
Pneg	Proporção de concordância negativa
Ppos	Proporção de concordância positiva
Ptotal	Proporção de concordância total observada
ROC	Receiver Operation Characteristics
RV-	Razão de Verossimilhança para teste negativo
RV+	Razão de Verossimilhança para teste positivo
S	Sensibilidade
SCC	Squamous cell carcinoma
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
STARD	The Standards for Reporting of Diagnostic Accuracy
VP+	Valor preditivo positivo
VP-	Valor preditivo negativo

## LISTA DE TABELAS, QUADROS E FIGURAS

### PRIMEIRO ARTIGO

- Tabela 1:** Definição das alterações histopatológicas..... 15
- Tabela 2:** Freqüência das alterações histopatológicas analisadas como presentes e predominantes em 119 casos de esporotricose..... 16
- Tabela 3:** Freqüência das alterações histopatológicas classificadas apenas como presentes em 119 casos de esporotricose..... 16
- Tabela 4:** Alterações histopatológicas significativamente associadas à ausência da visualização do fungo, prevalência da ausência da visualização do fungo de acordo com as alterações histopatológicas, respectivos razões de prevalência e intervalos do confiança de 95% em 119 casos de esporotricose..... 19
- Figura 1:** A) Granuloma supurativo; B) Granuloma epitelióide, sem outras especificações; C) Granuloma tuberculóide; C) Granuloma tipo corpo estranho.. 17
- Figura 2:** A) Necrose liquefativa; B) Necrose fibrinóide; C) Caso positivo (3+); D) Caso positivo (4+)..... 18

## LISTA DE TABELAS, QUADROS E FIGURAS

### SEGUNDO ARTIGO

<b>Quadro 1:</b> Definição dos marcadores histopatológicos.....	27
<b>Tabela 1:</b> Odds ratio (OR) brutas e ajustadas por modelo logístico e, respectivos betas da equação de regressão, para o diagnóstico de LTA confirmado por cultura, segundo a presença de marcadores histopatológicos, em pacientes ambulatoriais no período 1998 a 2009 (N total = 268).....	32
<b>Tabela 2:</b> Parâmetros de acurácia dos marcadores histopatológicos para o diagnóstico de LTA (N total= 268).....	33
<b>Tabela 3:</b> Parâmetros de acurácia dos marcadores histopatológicos para o diagnóstico de esporotricose (N total= 268).....	34
<b>Tabela 4:</b> Concordância positiva, negativa, total e kappa simples com IC de 95% para os marcadores histopatológicos de interesse no diagnóstico diferencial de LTA e esporotricose (N = 211).....	35
<b>Figura 1:</b> Fluxograma de inclusão de amostras de lesões cutâneas ativas de LTA e esporotricose.....	29
<b>Figura 2:</b> Marcadores histopatológicos diretamente associados ao diagnóstico de LTA. A) Granuloma Tuberculóide e Clareira de Montenegro. B) Degeneração da Matriz Extracelular.....	36
<b>Figura 3:</b> Marcadores histopatológicos inversamente associados ao diagnóstico de LTA. A) Granuloma Supurativo. B) Granuloma Estrelado. C) Granulomas no Tecido de Granulação. D) Abscesso fora do Granuloma.....	37
<b>Figura 4:</b> Curva Receiver Operating Characteristic (ROC) para o modelo histopatológico do diagnóstico de Leishmaniose Cutânea e ponto de corte com maior acurácia.....	39
<b>Figura 5:</b> Distribuição dos casos (N=268) segundo o escore histopatológico diferencial entre LC e esporotricose.....	40

## LISTA DE TABELAS, QUADROS E FIGURAS

### TERCEIRO ARTIGO

**Figura 1:** Úlceras com bordas firmes e elevadas no antebraço direito (A) e no lobo da orelha (B) direita. Proliferação de células epiteliais escamosas com aspecto infiltrativo (C), com cordões e pequenos ninhos (D), pérolas córneas (E) e uma rara forma amastigota (detalhe)..... 53

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	1
1.1. LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA.....	1
1.2. ESPOROTRICOSE.....	3
1.3. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DAS LESÕES ULCEROSAS CUTÂNEAS .....	4
1.4. VALIDADE DIAGNÓSTICA.....	5
2. JUSTIFICATIVA.....	9
3. OBJETIVOS.....	11
3.1. OBJETIVOS GERAIS .....	11
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	11
4. PRIMEIRO ARTIGO.....	12
5. SEGUNDO ARTIGO.....	21
6. TERCEIRO ARTIGO .....	49
7. CONCLUSÕES.....	55
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA

A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) é endêmica no Brasil e é causada por várias espécies de *Leishmania*. As espécies mais encontradas são: *Leishmania (Viannia) guyanensis*, restrita à margem norte do Rio Amazonas; *L.(Leishmania) amazonensis*, com uma larga distribuição geográfica, embora com menor número de casos; e *L. (V.) braziliensis*, com ampla distribuição geográfica e a maior prevalência de casos, principalmente fora da Região Amazônica, em áreas modificadas pelo homem e onde a transmissão rural e periurbana são dependentes da adaptação dos vetores (família Phlebotominae - Diptera - Psychodidae) a estes novos ambientes modificados (Lainson, Shaw et al. 1994).

A úlcera típica da leishmaniose cutânea (LC) é única, arredondada, indolor, medindo até alguns centímetros. Tem base infiltrada e endurecida, bordas bem delimitadas, elevadas e eritematosas, e fundo granuloso e avermelhado. Costuma apresentar-se localizada em áreas expostas do corpo, mais acessíveis às picadas dos vetores (Rangel, Azevedo et al. 1990). Apresentações menos freqüentes como úlceras sem os aspectos característicos e lesões papulosas, eritematosas, eritêmato-descamativas, nodulares ou verrucosas também são observadas. Tratadas ou não, as lesões tenderiam à cura com formação de cicatrizes (Marsden, Tada et al. 1984; Berman 1988).

Acredita-se que, através de um mecanismo de disseminação parasitária por via hematogênica (Bowdre, Campbell et al. 1981; Martinez, Alba et al. 1992), os pacientes poderiam evoluir secundariamente para a forma mucosa de leishmaniose (LM), com o surgimento de lesões em vias aéreas superiores concomitantes com as lesões cutâneas ou mesmo muitos anos após a cicatrização destas (Walton, Chinel et al. 1973; Lainson 1983).

A comprovação parasitológica na LTA nem sempre é possível, uma vez que *L.(V.) braziliensis* não cresce facilmente em meios de cultura, infecta com dificuldade animais de experimentação e aparece em pouca quantidade nos esfregaços e cortes histológicos obtidos das lesões (Marsden 1986; Barral, Almeida et al. 1987; Oliveira-Neto, Pirmez et al. 1988). Assim, o diagnóstico de LTA é comumente feito com base



em evidências epidemiológicas, no aspecto clínico, na intradermorreação de Montenegro (IDRM), sorologia e sempre que possível apoiado no aspecto histopatológico. A resposta terapêutica constitui outro critério para a confirmação diagnóstica (Oliveira-Neto, Pirmez et al. 1988).

A utilização de outros métodos diagnósticos para a demonstração do parasito, como a imuno-histoquímica (Sells and Burton 1981; Livni, Abramowitz et al. 1983; Sotto, Yamashiro-Kanashiro et al. 1989; Kenner, Aronson et al. 1999; Schubach, Cuzzi-Maya et al. 2001; Quintella, Cuzzi et al. 2009) e a reação em cadeia da polimerase (PCR) (Pirmez, da Silva Trajano et al. 1999; Medeiros, Rodrigues et al. 2002; Rodrigues, Felinto de Brito et al. 2002; Gomes, Armelin et al. 2008), foram anteriormente estudados e começam a se integrar na rotina diagnóstica de grandes centros (Quintella, Cuzzi et al. 2009; Fagundes, Schubach et al. 2010), observando-se maior sensibilidade, mas ainda não estão disponíveis na maior parte dos laboratórios.

O quadro histopatológico típico da LC é uma dermatite granulomatosa difusa ulcerada. Os granulomas vistos na maioria dos casos são mais apropriadamente classificados como “tuberculóides” (com infiltrado inflamatório linfoplasmocitário associado e, ocasionalmente, necrose) (Weedon 2002). Entretanto, granulomas mal formados, constituídos de agregados mal delimitados de macrófagos ativados, chamados de “clareiras de Montenegro”, são considerados mais característicos (Montenegro 1924). Quando há representação da borda da úlcera, nota-se hiperplasia de epitélio escamoso da epiderme ou de anexos cutâneos. Do mesmo modo que o quadro clínico, os achados do exame microscópico apresentam grande variabilidade de apresentações, supostamente relacionada a fatores como o tempo de evolução e o aspecto macroscópico (clínico) da lesão, a amostragem e o *status* imunológico do paciente entre outros (Gutierrez, Salinas et al. 1991). Assim, podem-se observar, por vezes, reações menos características como granulomas de outros tipos (“supurativos”, “sarcóides”, “em paliçada” etc.), dermatites inespecíficas ou, raramente, dermatites perivasculares ou perineurais, paniculites, vasculites, foliculites, abscessos ou ainda células inflamatórias menos habituais compondo o infiltrado.

## 1.2. ESPOROTRICOSE

A esporotricose, micose causada pelo fungo dimórfico *Sporothrix* sp., vem ocorrendo de forma epidêmica na região metropolitana do Rio de Janeiro desde 1998, como zoonose associada ao gato doméstico (Barros, Schubach et al. 2001; Barros, Schubach Ade et al. 2004; Barros, Schubach et al. 2007). Nos seres humanos, o fungo encontra-se em pequena quantidade nas lesões e a pesquisa do agente freqüentemente é, segundo a experiência do nosso grupo, negativa no exame histopatológico (Lima Barros, Schubach et al. 2005). Ainda que o isolamento por cultura micológica seja considerado o método diagnóstico padrão ouro por sua sensibilidade maior, e, geralmente, seja suficiente para o diagnóstico, podem ocorrer resultados falso-negativos ou situações em que este exame não seja realizado ou que seu resultado não esteja disponível.

Do ponto de vista histopatológico, a esporotricose também se apresenta caracteristicamente como uma dermatite granulomatosa difusa. Os granulomas, contudo, são do tipo “supurativo” ou “piogranulomas”, com infiltrado neutrofilico associado mais intenso (Chandler, Kaplan et al. 1980). Afora isto, os demais achados descritos são sobrepostos aos de leishmaniose, inclusive o infiltrado inflamatório linfoplasmocitário associado (DeBeurmann and Gougerot 1907). Há também grande variabilidade de achados, constituindo, assim como na clínica, importante diagnóstico diferencial com a LC.

Há ainda controvérsia quanto à facilidade do encontro dos fungos no tecido pelo exame histopatológico. Alguns autores relatam a positividade em menos de 30% (Lima Barros, Schubach et al. 2005). Em relato de série de 19 casos nos Estados Unidos, apenas um foi positivo (Byrd, El-Azhary et al. 2001); em uma série de nove casos na Índia, apenas dois foram positivos (Agarwal, Gopal et al. 2008). Outros relatam cerca de 80% de positividade (Rosa, Scroferneker et al. 2005). Há ainda quem afirme que o diagnóstico poderá ser realizado em todos os casos se cortes seriados forem examinados para a pesquisa do fungo (Bullpitt and Weedon 1978).

### 1.3. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DAS LESÕES ULCEROSAS CUTÂNEAS

O diagnóstico diferencial da LC depende da apresentação clínica. Lesões ulceradas típicas, como as anteriormente descritas devem ser distintas da paracoccidiodomicose, da esporotricose, da cromoblastomicose, da tuberculose e de piodermites, dentre as doenças infecciosas, e também de úlceras de etiologia isquêmica ou neoplásica. Outras apresentações requerem diagnóstico diferencial mais amplo que deve incluir também sífilis, hanseníase e sarcoidose, por exemplo (Grevelink and Lerner 1996; Bari and Rahman 2008).

No diagnóstico diferencial da LC, de particular interesse é a esporotricose em que além da lesão ativa poder simular lesões de leishmaniose, a IDRM e a sorologia ocasionalmente resultam positivas (Lima Barros, Schubach et al. 2005). Assim, a comprovação parasitológica, em alguns casos, torna-se imprescindível.

Nos textos clássicos (artigos ou livros-texto), a descrição histopatológica da LC e da esporotricose ocorre de forma isolada, sem considerar este diagnóstico diferencial. Alguns textos realizam correlações entre os achados histopatológicos e a fisiopatogênese (Magalhães, Moraes et al. 1986; Ridley, Magalhães et al. 1989) ou os aspectos clínicos (Ridley, Marsden et al. 1980) e epidemiológicos (Ridley 1980), mas a questão da distinção entre o quadro microscópico das duas doenças ainda não foi adequadamente enfrentado.

As demais doenças que podem se assemelhar clinicamente à LC e à esporotricose não costumam impor maiores dificuldades no diagnóstico histopatológico, visto que são doenças infecciosas em que o microorganismo pode ser encontrado com facilidade (cromoblastomicose, paracoccidiodomicose, e.g.) ou neoplasias e doenças vasculares, por exemplo, que têm achados histopatológicos bastante distintos da LC ou da esporotricose (Weedon and Strutton 2002).

A rotina diagnóstica de exames histopatológicos em doenças infecciosas mostra que é possível se ter uma impressão diagnóstica relativamente precisa baseada apenas na reação tecidual, mesmo sem a visualização do agente, que muitas vezes é confirmada posteriormente no próprio exame histopatológico (com o emprego de técnicas histoquímicas especiais de demonstração de microorganismos), por imuno-histoquímica, por cultura ou outro método

microbiológico. Outras vezes, os achados podem prenunciar a presença ou ausência de parasitos visualizáveis no tecido.

#### 1.4. VALIDADE DIAGNÓSTICA

Estudos diagnósticos são idealmente realizados a partir de uma coorte de suspeitos em que o diagnóstico diferencial é relevante. O exame índice de que se pretende investigar o desempenho é comparado a um padrão de referência já estabelecido nos estudos denominados de validade de critério. Ambos os testes devem ser realizados contemporaneamente de maneira independente e mascarada. Esses estudos pressupõem a existência de dois grupos mutuamente excludentes de portadores e não portadores de uma determinada condição ou doença. Avalia-se então a capacidade desses testes de discriminar esses dois grupos, através de seus parâmetros de desempenho. Assim, a capacidade do teste de detectar a doença entre os portadores é chamada de sensibilidade (S) e é dada pela divisão dos verdadeiros positivos pelo total de doentes. A capacidade do teste de detectar a ausência da doença é chamada especificidade (E) e é calculada pela divisão dos verdadeiros negativos pelo total de não doentes. A probabilidade pós-teste chamada de valor preditivo positivo (VP+) refere-se à proporção de verdadeiros positivos, dentre todos os resultados positivos e o valor preditivo negativo (VP-), à proporção de verdadeiros negativos dentre todos os resultados negativos. A acurácia corresponde ao total de classificações corretas do teste (verdadeiros positivos mais verdadeiros negativos) dividido pelo total de amostras em que o teste foi realizado. Todos esses parâmetros de desempenho podem ser expressos sob a forma de porcentagens ou de proporções que variam de 0,0 a 1,0 e quanto mais próximo de 100% (ou 1,0) melhor é o teste.

As razões de verossimilhança refletem as chances de um determinado resultado do teste quando a doença em questão está presente, relacionadas ao mesmo resultado quando a doença está ausente, ou seja, é a porcentagem deste resultado em quem tem a doença dividida pela porcentagem do resultado em quem não a tem. Assim, a razão de verossimilhança do teste positivo (RV+) é a sensibilidade (verdadeiros positivos) dividida pela porcentagem dos falsos positivos (ou  $1-E$ ). A razão de verossimilhança do teste negativo (RV-) é divisão dos falsos

negativos (ou 1-S) pela especificidade (verdadeiros negativos) (Grimes and Schulz 2005). Por se tratarem de razões, seus valores podem variar entre 0,0 e infinito, e quanto mais distante da unidade, mais úteis serão. Uma vantagem das razões de verossimilhança em relação às outras medidas de desempenho dos testes diagnósticos é o fato serem chances pós-teste que consideram no cálculo de seu valor todos os possíveis resultados (verdadeiros positivos, falsos positivos, verdadeiros negativos e falsos negativos). O resultado de um teste diagnóstico deve alterar consideravelmente a probabilidade ou chance pré-teste da presença da condição e servir assim para auxiliar na tomada de decisão (Grimes and Schulz 2002).

No contexto da validade diagnóstica, é necessário considerar também a reprodutibilidade dos resultados de um teste, a qual se refere ao achado dos mesmos resultados quando o teste é realizado por diferentes observadores. Ao se avaliar a concordância dos resultados em escala nominal, essa consideração é ainda mais importante quando o resultado do um teste é fruto de um julgamento complexo e subjetivo. A medida dessa concordância pode ser realizada pelo coeficiente de kappa ( $\kappa$ ) proposto por Cohen (Cohen 1960). Esse coeficiente não visa avaliar a correção da classificação, pois se supõe que os dois julgamentos são realizados por observadores de competência semelhante. No cálculo de  $\kappa$  utilizam-se dois valores relevantes: a proporção de observações em que há concordância, denominado concordância observada ( $po$ ), e a proporção de observações em que se espera concordância se apenas houver o acaso, denominado concordância esperada ( $pc$ ). Assim,  $1-pc$  seria a discordância entre as observações caso haja apenas o acaso e  $po-pc$  seria a proporção de concordância atribuída a fatores diferentes do acaso. O primeiro valor serve de denominador para o coeficiente e o segundo, de numerador. Então

$$\kappa = \frac{po - pc}{1 - pc}$$

Kappa então seria a proporção de discordância ao acaso que deixa de ocorrer, ou, alternativamente, a proporção de concordância quando o acaso é retirado de consideração. Da fórmula matemática se depreende que quando concordância observada for igual à observada ao acaso, o valor de  $\kappa$  será igual a

zero. Quando a concordância observada for maior que a esperada ao acaso, o valor de  $\kappa$  será positivo e poderá chegar a 1 se houver concordância perfeita, ou seja, resultados idênticos nos dois julgamentos. O valor de  $\kappa$  será negativo quando a concordância observada for menor do que a esperada ao acaso. Na interpretação do valor de  $\kappa$  para a força da concordância, utilizam-se divisões arbitrárias (Landis and Koch 1977):

< 0,00	Pobre
0,00 - 0,20	Discreta
0,21 - 0,40	Razoável
0,41 - 0,60	Moderada
0,61 - 0,80	Substancial
0,81 - 1,00	quase Perfeita

As regras clínicas preditivas ou de decisão vêm sendo desenvolvidas e aplicadas em diversos contextos como uma ferramenta da chamada medicina baseada em evidências. Em sua maior parte, são fundamentadas na coleta de determinadas informações clínicas, laboratoriais ou epidemiológicas relativamente simples e objetivas e na quantificação ou estimativa da contribuição isolada de cada componente do quadro clínico-epidemiológico-laboratorial a favor de um diagnóstico ou prognóstico. Resultam então na formulação de um escore e a conseqüente avaliação do risco para um determinado desfecho. Tal estimativa pode auxiliar na tomada de decisão e na condução de diferentes situações (McGinn, Guyatt et al. 2000). As regras preditivas constituem desta forma uma maneira de se retirar parte da subjetividade inerente à prática clínica e visam a aumentar a efetividade dos diagnósticos clínicos, e podem contribuir também para simplificar o exame clínico e reduzir custos, sem comprometer a qualidade do atendimento.

As regras preditivas devem passar por três fases antes de sua adoção na prática clínica. Primeiro, a regra é criada com base no cálculo da importância de cada variável independente no desfecho em estudo, através de análises múltiplas por regressão logística. Posteriormente, a regra é validada pela sua aplicação e a verificação de seus parâmetros de desempenho, tais como sensibilidade, especificidade, valores preditivos e acurácia, comparados a um padrão de

referência. Por último, é realizada uma análise de impacto, quando então se avalia a adesão dos envolvidos na utilização da regra, diferentes desfechos de cada caso em grupos que utilizaram ou que não utilizaram a regra, além de possíveis reduções de custos (Reilly and Evans 2006).

Em 1983, Weigle e cols. (Weigle, Escobar et al. 1993) conduziram um estudo em que foi criada e validada uma regra preditiva clínica para a LTA na Colômbia. Tal regra resultava num sistema de pontuações (score) e o valor de corte poderia ser ajustado caso se desejasse aumentar a sensibilidade ou a especificidade, na dependência do contexto clínico. Mais tarde, pesquisadores do mesmo grupo realizaram outro estudo em que a regra foi reformulada, novamente validada e teve seu impacto analisado (Rojas, Weigle et al. 2002).

Na prática da anatomia patológica e da patologia cirúrgica há exemplos bem estabelecidos e bastante utilizados de sistemas de pontuação para gradação e prognóstico de neoplasias, como as neoplasias mamárias (Bloom and Richardson 1957; Elston and Ellis 1991) e doenças inflamatórias, como as hepatites (Ishak, Baptista et al. 1995), dentre os quais poucos são tão populares como a gradação do adenocarcinoma da próstata desenvolvida por Gleason em 1966 (Bailar, Mellinger et al. 1966; Gleason 1966) em que cada padrão morfológico da neoplasia recebe um score de 1 a 5, dependendo do seu grau de diferenciação, e os dois padrões predominantes são somados resultando numa pontuação que pode variar de 2 a 10. Este sistema de pontuação após mais de quarenta anos permanece em uso, sofreu apenas poucas modificações (Epstein, Allsbrook et al. 2006), e apresenta alta correlação com o prognóstico. Entretanto, existem poucos sistemas de pontuação histopatológicos propostos para o diagnóstico, como um proposto para o diagnóstico da esofagite de refluxo em crianças (Esposito, Valente et al. 2004) e outro que auxiliaria no diagnóstico diferencial entre nevos melanocíticos e melanomas (Veronese, Corrente et al. 2006).

## 2. JUSTIFICATIVA

A leishmaniose cutânea e a esporotricose constituem importante diagnóstico diferencial clínico com sobreposição de aspectos epidemiológicos, laboratoriais e histopatológicos. A cultura é tida como método diagnóstico padrão, mas pode ser negativa em alguns casos. Métodos moleculares começam a se estabelecer com resultados promissores, mas, assim como a cultura, não estão disponíveis em todos os serviços de saúde. O exame histopatológico apresenta baixa sensibilidade na detecção do agente dessas duas doenças, mas é método diagnóstico altamente específico no que tange a esta detecção, além de ser rápido, barato, largamente disponível e dispensar maiores cuidados com o material biológico coletado depois de fixado.

A esporotricose vem ocorrendo de forma epidêmica nos últimos 10 anos no Rio de Janeiro (Schubach, Barros et al. 2008) e os relatos dessa epidemia fazem descrição apenas sucinta do quadro histopatológico (Lima Barros, Schubach et al. 2005). As descrições detalhadas da histopatologia da esporotricose mais recentes são de de 1963 (Lurie 1963) e 1978 (Bullpitt and Weedon 1978).

O quadro histopatológico geral de dermatite difusa granulomatosa é comum à leishmaniose e à esporotricose. A principal diferença que se observa é no tipo do granuloma, que tende a ser tuberculóide na LC e supurativo na esporotricose. Essa diferença não é, contudo, totalmente específica, havendo alguns casos em que uma doença simula a outra. A visualização do agente infeccioso é, assim, imprescindível para se estabelecer o diagnóstico diferencial no exame histopatológico.

As regras preditivas são instrumentos em que se busca retirar parte da subjetividade do exame, formulando-se um sistema numérico de pontuação a partir de achados simples tomados isoladamente e procurados sistematicamente. Esta pontuação possibilita a estimativa da probabilidade de diferentes desfechos frente a diferentes achados. Não há na literatura estudos sistemáticos de diagnóstico diferencial histopatológico entre LC e esporotricose.

A proposta do presente trabalho representa uma tentativa de desenvolver um ou mais métodos de análise histopatológica sistemática e objetiva capazes de, dentro de um determinado contexto clínico e epidemiológico e mesmo sem a demonstração do organismo infectante, distinguir a LC da esporotricose, quantificar



a probabilidade de cada diagnóstico frente a diferentes quadros histopatológicos ou, ao menos, verificar a possibilidade de se firmar um ou outro diagnóstico baseado em determinadas alterações microscópicas. Tais objetivos, se alcançados, teriam grande aplicabilidade na rotina diagnóstica não só de serviços especializados no diagnóstico histopatológico de doenças infecciosas, mas também na prática de patologistas generalistas. A possibilidade de se distinguir a LC da esporotricose ao exame histopatológico seria de grande utilidade em regiões de ocorrência das duas doenças, notadamente em serviços de saúde sem instalações laboratoriais sofisticadas, e colocaria o exame histopatológico como importante ferramenta diagnóstica que poderia agregar o bom desempenho à conveniência e ao baixo custo.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. OBJETIVOS GERAIS**

Desenvolver e avaliar uma regra preditiva no diagnóstico diferencial histopatológico entre a LC e a esporotricose em casos sem a demonstração do agente etiológico no exame histopatológico.

#### **3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Descrever as características histopatológicas das lesões cutâneas ativas de esporotricose;
- Verificar a associação entre as alterações histopatológicas das lesões cutâneas ativas de esporotricose e a ausência de visualização do fungo no tecido;
- Descrever e comparar as características histopatológicas das lesões cutâneas ativas de LC e de esporotricose sem a visualização do agente etiológico;
- Desenvolver um sistema de pontuação (score) para os diferentes achados histopatológicos;
- Desenvolver e avaliar a acurácia diagnóstica de uma regra preditiva histopatológica para o diagnóstico diferencial entre a LC e a esporotricose;
- Avaliar a confiabilidade da identificação das alterações histopatológicas nas lesões cutâneas ativas de LC e de esporotricose e
- Relatar um caso de LC simulando um carcinoma de células escamosas.

#### 4. PRIMEIRO ARTIGO

Quintella LP, Lambert Passos SR, Francesconi do Vale AC, Gutierrez Galhardo MC, De Lima Barros MB, Cuzzi T, Dos Santos Reis R, Figueiredo de Carvalho MH, Zappa MB, De Oliveira Schubach A.

***Histopathology of cutaneous sporotrichosis in Rio de Janeiro: a series of 119 consecutive cases.*** J Cutan Pathol. 2010 Sep 30.

doi: 10.1111/j.1600-0560.2010.01626.x.

Artigo aceito, publicação eletrônica prévia à publicação impressa (“Epub ahead of print”).

Neste artigo foram descritas as características histopatológicas das lesões cutâneas ativas de esporotricose e verificada a associação entre as alterações histopatológicas das lesões cutâneas ativas de esporotricose e a ausência de visualização do fungo no tecido.



Continuing Medical Education Article  
Visit [www.asdp.org/cme](http://www.asdp.org/cme) to learn more.

# Histopathology of cutaneous sporotrichosis in Rio de Janeiro: a series of 119 consecutive cases

**Background:** Sporotrichosis is the most common subcutaneous mycosis in Rio de Janeiro. Histopathological examination reveals diffuse granulomatous and suppurative dermatitis, and the fungus is rarely identifiable in tissue. We describe the histopathological features of cutaneous sporotrichosis, and investigate the association between them and the lack of visualization of the fungus.

**Methods:** A total of 119 samples of confirmed sporotrichosis cases were studied. The characteristics of the inflammatory infiltrate, the presence of epidermal changes, necrosis and fibrosis, and the parasite burden were analyzed. The association between histopathological changes and the lack of visualization of the fungus was evaluated using prevalence ratios.

**Results:** Granulomas were observed in all samples, suppurative granulomas in 100 (84%) and diffuse dermatitis in 114 (95.8%). Liquefaction and caseous necrosis were present in 78 (65.5%) and 52 (43.7%) samples, respectively. The fungus was not seen in 77 (64.7%) samples. Epithelioid, tuberculoid or foreign-body-type granulomas, caseous, fibrinoid or absent necrosis, predominance of lymphocytes among nonphagocytic cells and fibrosis were associated with the lack of visualization of the fungus.

**Conclusion:** The histopathological characteristics of sporotrichosis were variable when the causative fungus was not seen. In a proper context, the diagnosis of sporotrichosis remains a potential consideration even in the absence of demonstrable yeast.

**Leonardo Pereira Quintella<sup>1</sup>,  
Sonia Regina Lambert Passos<sup>2</sup>,  
Antônio Carlos Francesconi do  
Vale<sup>3</sup>, Maria Clara Gutierrez  
Galhardo<sup>3</sup>, Monica Bastos de  
Lima Barros<sup>4</sup>, Tullia Cuzzi<sup>1</sup>,  
Rosani dos Santos Reis<sup>5</sup>, Maria  
Helena Galdino Figueiredo de  
Carvalho<sup>5</sup>, Mônica Barbato  
Zappa<sup>6</sup> and Armando de  
Oliveira Schubach<sup>7</sup>**

<sup>1</sup>Serviço de Anatomia Patológica, Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil,

<sup>2</sup>Laboratório de Epidemiologia Clínica, Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil,

<sup>3</sup>Laboratório de Pesquisa Clínica em Dermatologia Infecciosa, Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil,

<sup>4</sup>Serviço de Infectologia, Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil,

<sup>5</sup>Laboratório de Micologia, Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil,

<sup>6</sup>Serviço de Anatomia Patológica, Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil, and

<sup>7</sup>Laboratório de Vigilância em Leishmanioses, Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil

Leonardo Pereira Quintella,  
Serviço de Anatomia Patológica,  
Instituto de pesquisa Clínica Evandro Chagas,  
Av. Brasil,  
4365. Manguinhos, 21045-900 Rio de  
Janeiro, Brazil  
Tel: +55 (21) 3865 9517  
Fax: +55 (21) 2590 9988  
e-mail: leonardo.quintella@ipecc.fiocruz.br;  
leopq.ipecc@gmail.com

Quintella LP, Passos SRL, Francesconi do Vale AC, Galhardo MCG, Barros MBL, Cuzzi T, Reis RS, Carvalho MHGF, Zappa MB, Schubach AO. Histopathology of cutaneous sporotrichosis in Rio de Janeiro: a series of 119 consecutive cases.

J Cutan Pathol 2011; 38: 25–32. © 2010 John Wiley & Sons A/S.

Accepted for publication September 01, 2010

Sporotrichosis caused by *Sporothrix* species is the most frequent subcutaneous mycosis in Latin America. Clinically, cutaneous sporotrichosis manifests as a fixed form characterized by a single ulcerated lesion or as the lymphocutaneous form characterized by nodular lymphangitis ascending from the initial inoculation lesion. The latter is regarded as the most characteristic and most frequent form. In addition, there is a disseminated form which results from hematogenous dissemination and involves multiple anatomic sites.<sup>1</sup>

Isolation of the fungus in culture medium, although not always available, is the gold standard diagnostic method. False-negative results may occur because of the lack of fungal growth or bacterial contamination. Histopathologically, sporotrichosis appears as chronic diffuse granulomatous dermatitis. The most characteristic granulomas are 'suppurative granulomas' or 'pyogranulomas' (abscess-centered granulomas).<sup>2</sup> The presence of a lymphoplasmacytic infiltrate surrounding the granulomas has also been described. Some investigators refer to pyogranulomas surrounded by this type of infiltrate as 'sporotrichotic granulomas'.<sup>3</sup> Other types of granulomas are also observed.<sup>4</sup>

In human tissue, *Sporothrix* can be seen in the form of yeasts or asteroid bodies, which are fungal structures surrounded by radial eosinophilic projections.<sup>2,5-7</sup> The frequency of detection of *Sporothrix* by histopathological examination is controversial. According to some investigators, the fungus is present in small numbers in the lesions and the search for the agent is frequently negative.<sup>8</sup> However, others report that asteroid bodies are present in all cases and their detection depends only on the analysis of serial histological sections.<sup>9</sup>

Sporotrichosis has occurred in an epidemic form in the metropolitan region of Rio de Janeiro, since 1998, as a zoonosis associated with the domestic cat: infection commonly results from bites or scratches.<sup>10-13</sup> Characteristics of the current epidemic, including the mode of transmission and the fungal form transmitted (yeast-like phase), besides fungal virulence and host susceptibility, may theoretically result in peculiar tissue alterations.

The objective of the present study was to characterize the histopathological features of the sporotrichosis epidemic that is occurring in Rio de Janeiro, and to investigate the association between histopathological changes and the lack of visualization of the fungus.

## Material and methods

### Eligibility criteria and study group

All patients seen in an outpatient clinic between 1998 and 2004 with a diagnosis of cutaneous sporotrichosis

confirmed by isolation of *Sporothrix* species in culture were eligible for the study. Of these patients, were included those who had a skin lesion biopsy sent for histopathological analysis and whose samples were available in the archive (slides and tissue blocks) during the course of this study.

Criteria for exclusion were unsatisfactory histological technique (inadequate fixation, processing or staining), superficial samples (not including at least the reticular dermis), and samples supposedly not representative of a macroscopic lesion (not exhibiting diffuse dermatitis, granulomatous dermatitis or inflammatory infiltration covering more than one third of the surface of the sample).

Data including age, gender, duration of the lesion, clinical form and outcome were collected from the medical records. The epidemiological and clinical characteristics of these patients, as well as basic histopathological features, have been previously reported.<sup>14</sup>

The study was approved by the Institution Ethics Committee and all patients signed a free informed consent form.

### Histopathological analysis

The original hematoxylin/eosin (H/E)-stained slides retrieved from the archive were examined by a pathologist who was unaware of the original histopathological report. The following microscopical changes were analyzed: composition, distribution and organization of the inflammatory infiltrate and the presence of necrosis, ulceration and epidermal changes as shown in Table 1. These changes were classified as present or absent. For 'distribution of inflammation', 'type of granuloma', 'cells of the mononuclear phagocytic system', 'inflammatory cells, nonmononuclear phagocytic system', 'type of necrosis' and 'location of necrosis', more than one alternative was accepted within the same group, and for these a predominant category was also registered when it was more extensive than others.

Parasite burden was semiquantitatively evaluated in Grocott's silver-stained slides using an arbitrary scale as shown in Table 1. All fields of at least two histological sections of the fragments were examined at high magnification ( $\times 400$ ). Asteroid body-like structures were also investigated in H/E-stained sections.

### Data analysis

The data were entered into the EpiData Entry program, version 3.1, and analyzed using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS), version 16.0. Simple frequencies and measures of central tendency, and dispersion of the histopathological changes and

Table 1. Definition of histopathological changes

Organization of the inflammatory infiltrate	
Nonspecific	Absence of granulomas
Poorly formed granuloma	Macrophages or poorly cohesive epithelioid cells in poorly delimited aggregates
Well-formed granuloma	Cohesive epithelioid cells in round and well-delimited aggregates
Type of granuloma*	
Foreign body	Predominance of activated macrophages compared to epithelioid cells and presence of foreign body-type giant cells
Tuberculoid	Well-formed granulomas with central caseous necrosis, Langhans giant cells and surrounding lymphoplasmacytic infiltrate
Sarcoidal	Juxtaposed, small, round granulomas composed of epithelioid cells, Langhans and foreign body-type giant cells, without a lymphocytic halo
Palisaded	Granulomas with a necrotic center and histiocytes arranged in a palisade around this
Suppurative	Neutrophils permeating a histiocytic aggregate
Epithelioid NOS	Poorly formed granulomas without necrosis or suppuration
Ulceration	
Present	Loss of epithelial lining, exudate forming a crust or necrotic material on granulation tissue
Supposed	Only granulation tissue or exudate
Absent	Intact epidermis
Squamous hyperplasia	
Absent or minimal	Epidermis of normal thickness
Regular	Epidermal cones of similar width and height
Irregular	Wide variation in the width and height of epidermal cones
Pseudocarcinomatous	Lumps of squamous hyperplasia of variable shape, width and height extending deep into the dermis and showing an infiltrative aspect
Parasite burden	
0	No fungus
1+	Up to five fungal elements per section (standard: 5 mm punch)
2+	From six fungal elements per section to five per field at high magnification ( $\times 400$ )
3+	From 6 to 50 per field at high magnification
4+	More than 50 per field at high magnification

\*The same granuloma may receive more than one classification, except for those classified as epithelioid NOS (not otherwise specified).

clinical variables were obtained. For the variable 'lesion duration', the normal distribution was rejected by the Kolmogorov–Smirnov test and means of this variable were compared by the nonparametric Mann–Whitney test between cases with and without visualization of the fungus. The chi-square test with continuity correction was used to compare proportions of the histopathological changes between cases with and without visualization of the fungus. The level of significance was set at 5% for all tests. Prevalence ratios and the respective 95% confidence intervals were calculated as measures of association.

## Results

### Sample

A total of 759 patients with a final diagnosis of cutaneous sporotrichosis were seen between January 1998 and December 2004. Of these, 128 patients fulfilled the inclusion criteria and were selected for preliminary evaluation. More than one skin biopsy was obtained from some patients for a total of 144 samples. Twenty-five samples were excluded:

1 because of unavailability of archival material, 22 for nonrepresentative nature, and 2 for unsatisfactory histological technique. None was considered superficial. Finally, 119 skin samples from 110 patients were studied.

### Clinical and epidemiological variables

Sixty-four (52.8%) of the 110 patients were females. Patient age ranged from 6 to 89 years (mean: 41; median: 43). Sixty-two (56.4%) patients had the lymphocutaneous form, 28 (25.4%) the fixed cutaneous form and 20 (18.2%) the disseminated form. The duration of the lesions at the time of diagnosis ranged from 1 to 108 weeks (mean: 12; median: 6). Seventy-nine (71.8%) patients were clinically cured and no recurrence was observed during a six-month follow-up period after the end of treatment. Eleven (10.0%) patients abandoned follow up after clinical cure and 18 (16.4%) abandoned treatment before cure. One patient presented spontaneous cure and abandoned follow up. One patient's condition worsened, with dissemination to the mucosa four months after the beginning of treatment.

Table 2. Frequency of histopathological changes analyzed as present and predominant in the 119 cases of sporotrichosis

	Present*	Predominant†
<b>Distribution of inflammation</b>		
Diffuse	114 (95.8%)	103 (86.6%)
Interstitial	53 (44.5%)	5 (4.2%)
Hypodermic	32 (26.9%)	5 (4.2%)
Perivascular	64 (53.8%)	3 (2.5%)
Band-like	9 (7.6%)	2 (1.7%)
Periadnexal	29 (24.4%)	1 (0.8%)
Vasculitis type	8 (6.7%)	0 (0%)
Perineural	5 (4.2%)	0 (0%)
Total	—	119 (100%)
<b>Type of granuloma</b>		
Suppurative	100 (84.0%)	65 (54.6%)
Epithelioid NOS	71 (59.7%)	30 (25.2%)
Tuberculoid	49 (41.2%)	19 (16.0%)
Palisaded	27 (22.7%)	3 (2.5%)
Foreign body	25 (21.0%)	2 (1.7%)
Sarcoidal	1 (0.8%)	0 (0%)
Total	—	119 (100%)
<b>Cells of the MP system</b>		
Epithelioid cells	118 (99.2%)	99 (83.2%)
Macrophages	87 (73.1%)	18 (15.1%)
Langhans giant cells	95 (79.8%)	1 (0.8%)
Foamy cells	18 (15.1%)	1 (0.8%)
Foreign body-type cells	63 (52.9%)	0 (0%)
Total	—	119 (100%)
<b>Inflammatory cells, non-MP system</b>		
Lymphocytes	119 (100.0%)	66 (55.5%)
Plasma cells	109 (91.6%)	33 (27.7%)
Neutrophils	104 (87.4%)	20 (16.8%)
Eosinophils	36 (30.3%)	0 (0%)
Absent or rare	0 (%)	0 (0%)
Total	—	119 (100%)
<b>Type of necrosis</b>		
Liquefaction	78 (65.5%)	59 (49.6%)
Caseous	52 (43.7%)	34 (28.6%)
Fibrinoid	40 (33.6%)	10 (8.4%)
Coagulative	3 (2.5%)	1 (0.8%)
Absent	15 (12.6%)	15 (12.6%)
Total	—	119 (100%)
<b>Location of necrosis</b>		
Center of granuloma	83 (69.7%)	59 (49.6%)
Associated with granuloma‡	74 (62.2%)	36 (30.3%)
Associated with ulceration	19 (16.0%)	6 (5.0%)
Associated with nongranulomatous infiltration	19 (16.0%)	3 (2.5%)
No apparent association	1 (0.8%)	0 (0.0%)
Absent	15 (12.6%)	15 (12.6%)
Total	—	119 (100%)

MP, mononuclear phagocytic; NOS, not otherwise specified.

\*More than one alternative accepted.

†Only one alternative accepted.

‡except center.

### Histopathological changes

The frequencies of the histopathological changes analyzed as present and predominant are shown in Table 2. Changes classified only as present or absent

Table 3. Frequency of histopathological changes classified only as present in the 119 cases of sporotrichosis

Organization*	
Nonspecific	0 (0%)
Poorly formed granuloma	74 (62.2%)
Well-formed granuloma	45 (37.8%)
Total	119 (100%)
<b>Ulceration</b>	
Present	22 (18.5%)
Absent	83 (69.7%)
Supposed	14 (11.8%)
Total	119 (100%)
<b>Squamous hyperplasia</b>	
Absent or minimal	39 (32.8%)
Regular	9 (7.6%)
Irregular	22 (18.5%)
Pseudocarcinomatous	41 (34.5%)
Not analyzable	8 (6.7%)
Total	119 (100%)
<b>Epidermal changes</b>	
Spongiosis	34 (28.6%)
Parakeratosis	56 (47.1%)
Exocytosis	77 (64.7%)
<b>Other changes</b>	
Fibrosis	55 (46.2%)
Hemorrhage	72 (60.5%)
Thrombosis	7 (5.9%)
Vascular proliferation	103 (86.6%)
<b>Parasite burden</b>	
0	77 (64.7%)
1+	16 (13.4%)
2+	11 (9.2%)
3+	8 (6.7%)
4+	7 (5.9%)
Total	119 (100%)

\*Organization of the inflammatory infiltrate considering the highest degree of organization present.

are shown in Table 3. Among the 119 samples examined, there was a predominance of diffuse dermatitis and suppurative granulomas associated with a lymphoplasmacytic and neutrophilic infiltrate and with liquefaction necrosis in the center of the granuloma (Table 2).

Granulomas were detected in all samples, with a predominance of poorly formed granulomas (Table 3). Suppurative granuloma was the most frequent type, although all types of granulomas studied were detected as predominant or only present (Table 2).

Up to five different granuloma types were observed in the same sample (mean: 2.29; median: 2). Only one type of granuloma was detected in 39 (32.8%) samples, two types in 29 (24.4%) and three types in 31 (26.1%). Four and five different types of granulomas were seen in 17 (14.3%) and 3 (2.5%) samples, respectively.



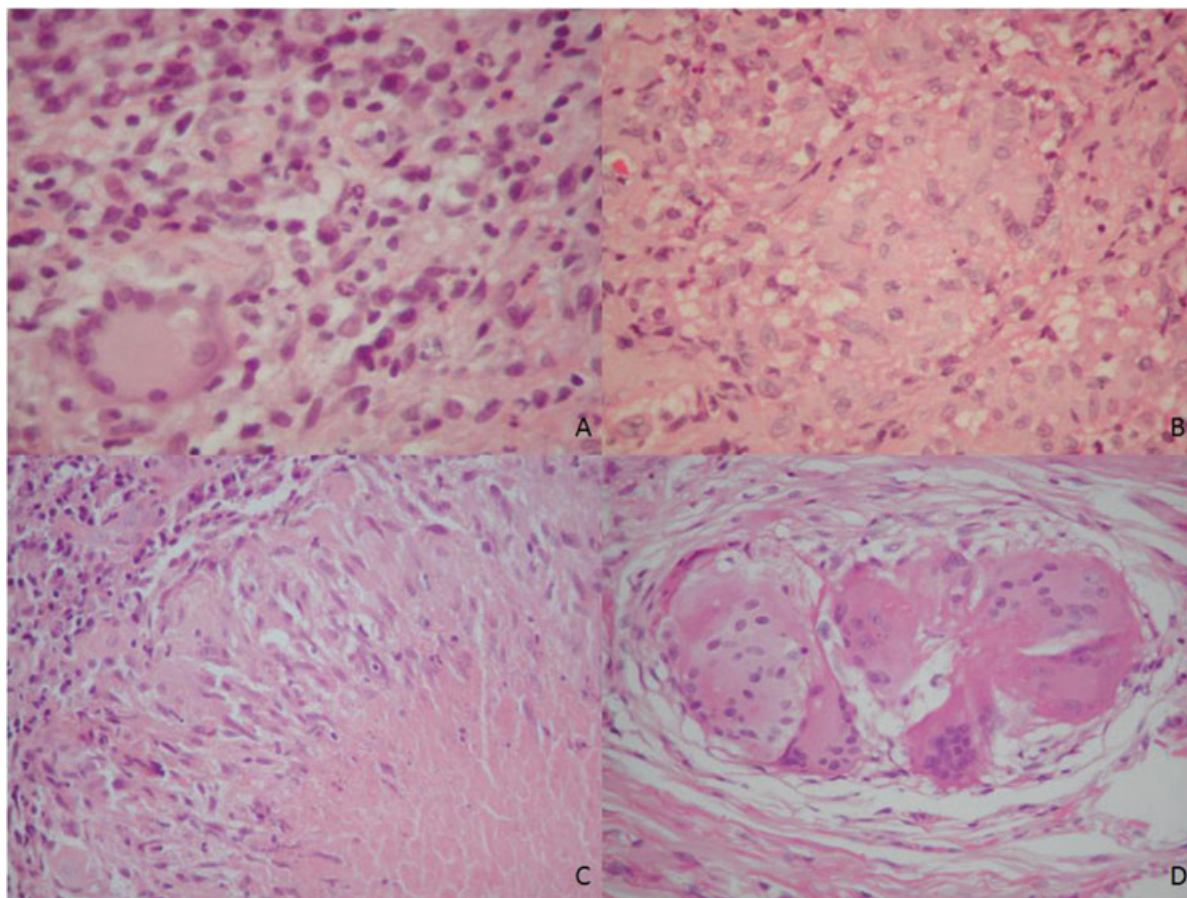


Fig. 1. A) Suppurative granuloma, B) epithelioid granuloma, not otherwise specified, C) tuberculoid granuloma, D) foreign body granuloma. 254 × 191 mm (96 × 96 DPI).

Necrosis was detected in most cases ( $n = 104$ , 87.4%) and liquefaction necrosis was the most frequent type. Up to three different types of necrosis were found in the same sample (mean: 1.45; median: 1), with two types in 41 (34.5%) and three types in 14 (11.8%) samples.

The fungus was not visualized in 77 (64.7%) cases. The frequency of the lack of fungal visualization significantly differed depending on the observation of some histopathological changes (Figs. 1 and 2 and Table 4). Lack of visualizable fungus was associated with the following factors: presence or predominance of epithelioid (not otherwise specified) granulomas, predominance of tuberculoid granulomas, presence of foreign body-type granulomas, predominance of lymphocytes, presence or predominance of caseous necrosis, predominance of fibrinoid necrosis and fibrosis. When the fungus was not observed, the suppurative granulomas, neutrophils and liquefaction necrosis and exocytosis were uncommon. The mean duration of the lesion did not differ between cases with and without fungal visualization (six weeks in both cases,  $p = 0.73$ ). No asteroid bodies were observed.

### Discussion

A comprehensive, detailed and systematic histopathological study of cutaneous sporotrichosis lesions was performed. To the best of our knowledge, this study analyzed the largest sample of sporotrichosis cases that has been presented in the literature. A classical, qualitative and poorly systematized description of sporotrichosis histopathology was published in 1907.<sup>4</sup> Another classical study described 12 different histopathological variables in 63 cases.<sup>3</sup> A large series of 2441 cases originating from a sporotrichosis outbreak in South Africa<sup>15</sup> provided only a brief description of the histopathology of 15 cases.<sup>16</sup> Most clinical series or reports of outbreaks, epidemics and endemics provide short descriptions of the histopathological changes or simply report the sensitivity of histopathological analysis in the detection of the fungus in tissue.<sup>8,14,17-22</sup>

In the samples studied, sporotrichosis was characterized by chronic, diffuse granulomatous and suppurative necrotizing dermatitis, which was commonly associated with a lymphoplasmacytic infiltrate and epidermal changes, as described by other investigators.<sup>3,4,9</sup> Although histopathological



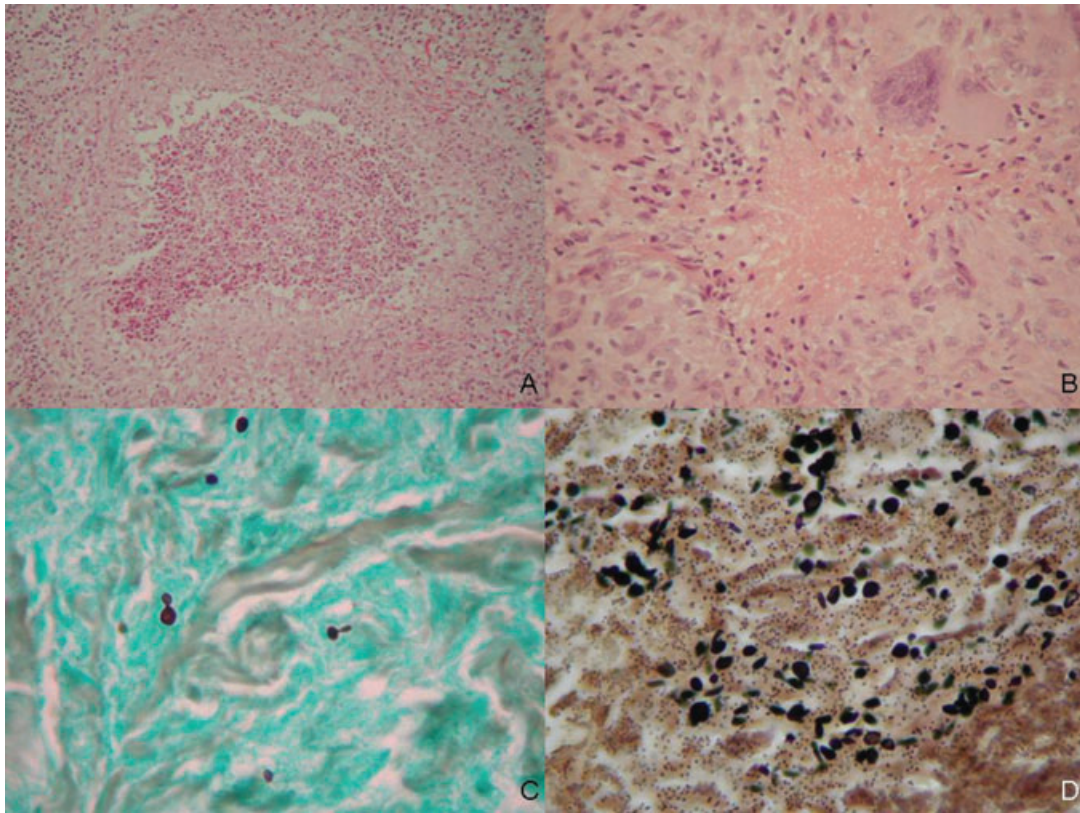


Fig. 2. A) Liquefaction necrosis, B) fibrinoid necrosis, C) positive case (3+), D) positive case (4+). 254 × 190 mm (96 × 96 DPI).

examination is interpretative and subjective, the adoption of definitions for the most complex histopathological changes might have contributed to the uniform interpretation of the present findings.

In the present study, two silver-stained histological sections were examined per sample and the fungus was detected only in a minority of cases (35.3%). Organisms, when detectable, were generally present in small numbers. This low sensitivity is in agreement with a previous report on the current epidemic in Rio de Janeiro.<sup>8,14</sup> Studies reporting a high sensitivity of histopathological examination report analysis of multiple serial H/E-stained sections<sup>9</sup> or up to 60 periodic acid-Schiff (PAS)-stained sections.<sup>22</sup> The mean number of fungal elements can be as low as 1 per 15 sections depending on the size of the tissue fragment examined.<sup>9</sup> The discrepancy in the sensitivity of histopathology between different studies might be explained, at least in part, by the method used for detection of the fungus in tissue, which is not always mentioned or not reported in sufficient detail. Search for the fungus in multiple serial sections, although adequate in experimental studies, is difficult to be successfully implemented in routine diagnostic laboratories.

Asteroid bodies may be the result of the deposition of immunoglobulins on the surface of the parasite<sup>3</sup>

and are frequently observed in sporotrichosis,<sup>2</sup> either by histopathological examination<sup>4,9,18,23</sup> or in smears obtained from skin lesions.<sup>5,6</sup> No asteroid bodies were found in the present study. Similar findings have been reported in a Mexican study including 50 cases<sup>19</sup> and in cases studied in Rio de Janeiro.<sup>8</sup> The variability between studies might be attributed to different antigenic properties of the fungus or to immunological factors of the host populations investigated, but the issue is yet to be adequately analyzed.

An experimental study of cutaneous sporotrichosis lesions showed that the onset of evolution of these lesions is characterized by suppuration and a large number of fungi. Granulomatous formations and plasma cells appear over the following 28 days, accompanied by an increase in lymphocytic infiltration and a reduction in the number of neutrophils and fungal elements.<sup>24</sup> In the present study, no correlation was observed between the clinical variable 'lesion duration' and the presence of the fungus. However, histopathological changes related to older lesions or to a specific, more developed immune response (epithelioid or tuberculoid granulomas, epithelioid cells, lymphocytes, caseous or fibrinoid necrosis and fibrosis) were directly associated with the absence of the fungus. In contrast, an inverse relationship with the absence of the fungus was observed in

## Histopathology of cutaneous sporotrichosis

Table 4. Histopathological changes significantly associated with the lack of the visualization of the fungus, prevalence of the lack of visualization of the fungus according to histopathological changes, respective prevalence ratios (PR) and 95% confidence intervals (95% CI) in the 119 cases of sporotrichosis

	Histopathological change		Prevalence	PR (95% CI)
Type of granuloma	Suppurative (present)	Yes	60/100 (60.0%)	0.67 (0.54–0.84)
		No	17/19 (89.5%)	
	Suppurative (predominant)	Yes	30/65 (46.2%)	0.53 (0.40–0.70)
		No	47/54 (87.0%)	
	Epithelioid NOS (present)	Yes	55/71 (77.5%)	1.69 (1.21–2.36)
		No	22/48 (45.8%)	
	Epithelioid NOS (predominant)	Yes	26/30 (86.7%)	1.51 (1.20–1.90)
		No	51/89 (57.3%)	
	Tuberculoid (predominant)	Yes	16/19 (84.2%)	1.38 (1.08–1.77)
		No	61/100 (61.0%)	
Foreign body (present)	Yes	22/25 (88.0%)	1.50 (1.20–1.88)	
	No	55/94 (58.5%)		
Non-MP cells	Lymphocytes (predominant)	Yes	49/66 (74.2%)	1.40 (1.05–1.88)
		No	28/53 (52.8%)	
	Neutrophils (present)	Yes	64/104 (61.5%)	0.71 (0.55–0.91)
		No	13/15 (86.7%)	
	Neutrophils (predominant)	Yes	6/20 (30.0%)	0.42 (0.21–0.83)
		No	71/99 (71.7%)	
Type of necrosis	Liquefaction (present)	Yes	41/78 (52.6%)	0.60 (0.47–0.76)
		No	36/41 (87.8%)	
	Liquefaction (predominant)	Yes	27/59 (45.8%)	0.55 (0.41–0.74)
		No	50/60 (83.3%)	
	Caseous (present)	Yes	40/52 (76.9%)	1.39 (1.07–1.81)
		No	37/67 (55.2%)	
	Caseous (predominant)	Yes	27/34 (79.4%)	1.35 (1.06–1.73)
		No	50/85 (58.8%)	
	Fibrinoid (predominant)	Yes	9/10 (90.0%)	1.44 (1.12–1.86)
		No	68/109 (62.4%)	
	Absent	Yes	13/15 (86.7%)	1.41 (1.10–1.81)
		No	64/104 (61.5%)	
Location of necrosis	Associated with granuloma (present)	Yes	43/74 (58.1%)	0.77 (0.60–0.99)
		No	34/45 (75.6%)	
Epidermal changes	Exocytosis	Yes	42/77 (54.5%)	0.66 (0.51–0.84)
		No	35/42 (83.3%)	
Other changes	Fibrosis	Yes	43/55 (78.2%)	1.47 (1.12–1.93)
		No	34/64 (53.1%)	

MP, mononuclear phagocytic; NOS, not otherwise specified.

cases in which the changes found suggested a recent lesion associated with inflammatory activity or the development of specific ongoing immunity (presence of neutrophils or abscesses and predominance of macrophages). These results suggest that objectively evaluated histopathological changes are more important predictors of the absence of the fungus than the subjective variable of lesion duration obtained based on the clinical history.

### Conclusion

The histopathological characteristics observed in skin lesions of sporotrichosis patients with detectable fungi from the current epidemic in Rio de Janeiro

are similar to those described previously. However, in samples in which these characteristics were not observed, the fungus was less frequently visualized by histopathological examination. Familiarity with a spectrum of histopathology may suggest a diagnosis of sporotrichosis in the absence of visualization of yeast.

### Acknowledgements

The authors thank Marcos Francisco Lucas de Almeida, Francisco das Chagas de Carvalho Rodrigues, Antônio Carlos da Silva, Dulce Portugal Estrada Espinoza and Antônio Corrêa for technical assistance, Danielle da Silva Carvalho Sousa for a critical reading of the manuscript and Fabio Maciel for assistance with the images. This study was supported by PAPES V CNPq/Fiocruz, CNPq and

FAPERJ. Armando de Oliveira Schubach is a productivity fellowship holder from CNPq.

## References

1. Lacaz CS, Porto E, Martins JEC. *Micologia medica: fungos, actinomicetos e algas de interesse medico*. Sao Paulo: Sarvier, 1991.
2. Chandler FW, Kaplan W, Ajello L. *Sporotrichosis. Color atlas and text of the histopathology of mycotic diseases*. Chicago: Year Book Medical Publishers, 1980; 112.
3. Lurie HI. Histopathology of sporotrichosis. Notes on the nature of the asteroid body. *Arch Pathol* 1963; 75: 421.
4. DeBeurmann L, Gougerot H. Sporotrichoses tubercuoides. *Ann Dermatol Syphiligr* 1907; 8: 497.
5. Civila ES, Bonasse J, Conti-Diaz IA, Vignale RA. Importance of the direct fresh examination in the diagnosis of cutaneous sporotrichosis. *Int J Dermatol* 2004; 43: 808.
6. Gezuele E, Da Rosa D. Importance of the sporotrichosis asteroid body for the rapid diagnosis of sporotrichosis. *Rev Iberoam Micol* 2005; 22: 147.
7. Rodriguez G, Sarmiento L. The asteroid bodies of sporotrichosis. *Am J Dermatopathol* 1998; 20: 246.
8. Lima Barros MB, Schubach A, Francesconi-do-Valle AC, et al. Positive Montenegro skin test among patients with sporotrichosis in Rio De Janeiro. *Acta Trop* 2005; 93: 41.
9. Bullpitt P, Weedon D. Sporotrichosis: a review of 39 cases. *Pathology*. 1978; 10: 249.
10. Barros MBL, Schubach TM, Galhardo MC, et al. Sporotrichosis: an emergent zoonosis in Rio de Janeiro. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001; 96: 777.
11. Barros MB, Schubach Ade O, do Valle AC, et al. Cat-transmitted sporotrichosis epidemic in Rio de Janeiro, Brazil: description of a series of cases. *Clin Infect Dis* 2004; 38: 529.
12. Schubach A, Schubach TM, Barros MB, Wanke B. Cat-transmitted sporotrichosis, Rio de Janeiro, Brazil. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 1952.
13. Barros MB, Schubach AO, Schubach TM, Wanke B, Lambert-Passos SR. An epidemic of sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: epidemiological aspects of a series of cases. *Epidemiol Infect* 2007; 136: 1192.
14. Schubach A, Barros MB, Wanke B. Epidemic sporotrichosis. *Curr Opin Infect Dis* 2008; 21: 129.
15. Helm MAF, Berman C. The clinical, therapeutic and epidemiological features of the sporotrichosis infection on the mines. Proceedings of the Transvaal Mine Medical Officers' Association. Johannesburg: The Transvaal Chamber of Mines, 1947; 59.
16. Simsom FW, Helm MAF, Bowen JW, Brandt FA. The pathology of sporotrichosis in man and experimental animals. Proceedings of the Proceedings of the Transvaal Mine Medical Officers' Association. Johannesburg: The Transvaal Chamber of Mines, 1947; 34.
17. Agarwal S, Gopal K, Umesh KB. Sporotrichosis in Uttarakhand (India): a report of nine cases. *Int J Dermatol* 2008; 47: 367.
18. Rosa AC, Scroferneker ML, Vettorato R, Gervini RL, Vettorato G, Weber A. Epidemiology of sporotrichosis: a study of 304 cases in Brazil. *J Am Acad Dermatol* 2005; 52: 451.
19. Espinosa-Taxis A, Hernandez-Hernandez F, Lavalle P, Barba-Rubio J, Lopez-Martinez R. Study of 50 patients with sporotrichosis. Clinical and laboratory assessment. *Gac Med Mex* 2001; 137: 111.
20. Byrd DR, El-Azhary RA, Gibson LE, Roberts GD. Sporotrichosis masquerading as pyoderma gangrenosum: case report and review of 19 cases of sporotrichosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2001; 15: 581.
21. Kusahara M, Hachisuka H, Sasai Y. Statistical survey of 150 cases with sporotrichosis. *Mycopathologia* 1988; 102: 129.
22. Itoh M, Okamoto S, Kariya H. Survey of 200 cases of sporotrichosis. *Dermatologica* 1986; 172: 209.
23. Symmers WS. Sporotrichosis in Ireland. *Ulster Med J* 1968; 37: 85.
24. Mohri S. Study in sporotrichosis - III. Histological and immunohistochemical study in experimental cutaneous sporotrichosis in man. *Yokohama Med Bull* 1987; 38: 37.

## 5. SEGUNDO ARTIGO

Quintella LP, Lambert Passos SR, Miranda LHM, De Lima Barros MB, Francesconi do Vale AC, Gutierrez Galhardo MC, Cuzzi T, De Oliveira Schubach A.

***Proposta de uma Regra Preditiva Histopatológica no Diagnóstico Diferencial entre Lesões Cutâneas de Leishmaniose e Esporotricose.***

Artigo em elaboração.

Neste artigo foram comparadas as características histopatológicas das lesões cutâneas ativas de LC e de esporotricose sem a visualização do agente etiológico. Foi realizada uma análise múltipla logística com as diferentes alterações histopatológicas e avaliada a acurácia diagnóstica deste modelo para o diagnóstico diferencial entre a LC e a esporotricose. Foi estimada a acurácia do diagnóstico histopatológico intuitivo. A confiabilidade (concordância interobservador) também foi avaliada.

# PROPOSTA DE UMA REGRA PREDITIVA HISTOPATOLÓGICA NO DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL ENTRE LESÕES CUTÂNEAS DE LEISHMANIOSE E ESPOROTRICOSE

Leonardo Pereira Quintella, Sonia Regina Lambert Passos, Luisa Helena Monteiro de Miranda, Tullia Cuzzi, Monica Bastos de Lima Barros, Antonio Carlos Francesconi-do-Vale, Maria Clara Gutierrez Galhardo, Armando de Oliveira Schubach.

## RESUMO

**Introdução:** O exame histopatológico da leishmaniose tegumentar americana (LTA) e da esporotricose apresentam quadros semelhantes e baixa frequência de detecção dos microorganismos. O presente estudo busca determinar alterações microscópicas capazes de distinguir essas duas doenças.

**Materiais e Métodos:** Foram pesquisadas alterações histopatológicas referentes à organização e constituição do infiltrado inflamatório, alterações epidérmicas e do tecido conjuntivo dérmico em lâminas coradas em hematoxilina e eosina de 171 amostras de lesões cutâneas ativas de LTA e 97 de esporotricose, diagnosticadas pelo isolamento do agente em cultura, nas quais não se encontrava o agente. Para cada lâmina foi atribuído um diagnóstico intuitivo. Os achados histopatológicos isoladamente tiveram seus parâmetros de desempenho diagnóstico determinados e a força de sua associação com o diagnóstico foi estimada pela razão de chances bruta e ajustada por regressão logística. Foi construída uma curva ROC para determinar o poder de discriminação do modelo de regressão e foi elaborado um escore baseado nos achados histopatológicos. Foi realizado um estudo de confiabilidade interobservador dos achados histopatológicos e do diagnóstico intuitivo, pelo cálculo dos coeficientes de kappa simples e ajustado para prevalência.

**Resultados:** O diagnóstico intuitivo obteve acurácia diagnóstica de 82,5% e confiabilidade substancial. “Clareira de Montenegro”, “Granuloma Tuberculóide” e “Degeneração da Matriz Extracelular” estiveram associados ao diagnóstico de LTA. “Granuloma Supurativo”, “Granuloma Estrelado”, “Células Gigantes de Diferentes Tipos”, “Granulomas no Tecido de Granulação” e “Abscesso fora do Granuloma” estiveram associados ao diagnóstico de esporotricose. “Clareira de Montenegro” e “Granuloma Supurativo” obtiveram as melhores acurácias (70,9% e 81,3%, respectivamente) e confiabilidade (substancial e quase perfeita, respectivamente). O modelo de regressão obteve acurácia de 92,0%.

**Conclusão:** Considerando o contexto clínico e epidemiológico, em casos nos quais o agente etiológico não seja visualizado, algumas alterações histopatológicas podem ser úteis na condução do diagnóstico diferencial entre em lesões cutâneas de LTA e esporotricose.

## INTRODUÇÃO

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) e a esporotricose apresentam aspectos clínicos epidemiológicos, laboratoriais e histopatológicos semelhantes e constituem, portanto, importante diagnóstico diferencial, principalmente no estado do Rio de Janeiro, Brasil, onde ocorrem nas mesmas áreas endêmicas [1]. O isolamento e identificação do agente etiológico em meio de cultura é o método diagnóstico padrão para as duas doenças, mas pode ser negativo em alguns casos, principalmente na LTA [2]. Métodos diagnósticos imuno-histoquímicos [3-5] e moleculares [6] são superiores ao exame histopatológico de rotina, mas, assim como a cultura, não estão disponíveis em todos os serviços de saúde.

O exame histopatológico na LTA apresenta sensibilidade variando entre 14% e 63,7% na detecção de amastigotas [2, 3, 5, 7-11]. Na esporotricose, a sensibilidade pode variar de 5% (um caso positivo em 19) [12] a 80% [13] ou mais de 90% [14]. Na epidemia em curso no Rio de Janeiro, a sensibilidade do exame histopatológico encontra-se em torno de 30% [1, 15]. Entretanto, o exame histopatológico é um método específico no que tange a detecção de microorganismos, além de ser relativamente rápido, barato, largamente disponível e dispensar maiores cuidados com o material biológico coletado depois de fixado, além de possibilitar estabelecer outros diagnósticos diferenciais, como as neoplasias cutâneas.

O quadro histopatológico geral da leishmaniose e da esporotricose é semelhante, correspondendo a uma dermatite difusa granulomatosa [11, 14, 16-20]. A principal diferença que se observa é no tipo do granuloma, que tende a ser tuberculóide na LTA e supurativo na esporotricose. Essa diferença não é, contudo, totalmente específica, havendo casos em que uma doença simula a outra. Assim, ainda que nem sempre obtida, a visualização agente infeccioso é indispensável para se estabelecer o diagnóstico no exame histopatológico. Deste modo, torna-se importante buscar outros parâmetros morfológicos que não a visualização do agente etiológico para diferenciar a LTA da esporotricose.

As regras preditivas são instrumentos em que se busca retirar parte da subjetividade do exame, formulando-se um sistema numérico de pontuação a

partir de achados simples tomados isoladamente e procurados sistematicamente [21]. Esta pontuação possibilita a estimativa da probabilidade de diferentes desfechos frente aos achados presentes. Não há na literatura estudos sistemáticos de diagnóstico diferencial histopatológico entre LTA e esporotricose.

O presente estudo tem por objetivo criar um método objetivo e sistemático de análise histopatológica que permita diferenciar a LTA da esporotricose ou, ao menos, estimar a probabilidade de cada diagnóstico diante de determinadas alterações microscópicas isoladas e em conjunto, em casos onde o microorganismo não seja visualizado no tecido e comparar o método criado com o diagnóstico histopatológico intuitivo.

## *MATERIAIS E MÉTODOS*

### ***Seleção de Amostras***

Foram consultados os registros médicos de pacientes atendidos no Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas entre 1998 e 2009. Foram selecionados aqueles com lesão cutânea ativa diagnosticada como LTA ou esporotricose pelo isolamento do agente etiológico em cultura, e que realizaram exame histopatológico da lesão cutânea. Foi realizado um estudo diagnóstico seccional com delineamento segundo a diretriz “The Standards for Reporting of Diagnostic Accuracy” (STARD) [22].

Foram utilizadas amostras selecionadas retrospectivamente de arquivo de lâminas histológicas coradas em hematoxilina e eosina e blocos de parafina, processadas na rotina diagnóstica com fixação em formol tamponado e inclusão em parafina histológica.

Foram incluídas amostras representativas (que continham ao menos derme reticular intermediária e apresentavam dermatite difusa ou presença de granuloma) e com qualidade técnica satisfatória (fixação, processamento e coloração) que permitissem a avaliação de detalhes microscópicos. Amostras com visualização de formas amastigotas ou de leveduras no exame histopatológico foram excluídas.

### ***Análise Histopatológica***

As amostras incluídas foram examinadas ao microscópio óptico por um observador treinado (LPQ) de forma mascarada quanto ao diagnóstico, pesquisando-se características detalhadas do infiltrado inflamatório, dos granulomas e alterações epidérmicas, consideradas marcadores histopatológicos dicotômicos (isto é, presentes ou ausentes), previamente determinados e definidos segundo o Quadro 1. Foi ainda atribuído um diagnóstico histopatológico intuitivo para cada caso, baseado na impressão diagnóstica subjetiva.

### ***Estudo de Confiabilidade Histopatológica (Concordância Interobservador)***

A mesma análise histopatológica foi realizada por um segundo observador treinado (LHMM), de forma independente e mascarada quanto ao diagnóstico e quanto à detecção dos marcadores e do diagnóstico intuitivo atribuído pelo primeiro observador. Essas observações foram utilizadas para um estudo de confiabilidade interobservador. A confiabilidade dos achados histopatológicos dicotômicos foi estimada pelo cálculo do coeficiente kappa de Cohen (K) simples e ajustado para prevalência e viés (PABAK) [23] e os valores foram interpretados de acordo com a proposição de Landis & Koch [24]: concordância pobre (< 0,00), discreta (0,00 - 0,20), razoável (0,21 - 0,40), moderada (0,41 - 0,60), substancial (0,61 - 0,80) e quase perfeita (0,81 - 1,00). A fim de permitir a melhor interpretação dos resultados foi apresentada a proporção de concordância média (Pmed), nos positivos (Ppos) e negativos (Pneg). Para marcadores histopatológicos com prevalências variando de 15% a 85%, este tamanho de amostra foi suficiente para estimar valores de kappa maiores do que 0,80 com erro absoluto de 0,15 e intervalos de 95% de confiança (IC 95%).

### ***Coleta e Análise de Dados***

Os dados coletados em formulários foram inseridos em banco de dados utilizando o software EpiData 3.1 [25] e analisados no software “Statistical Package for the Social Sciences” (SPSS) Win versão 17.0. Foram realizadas análises exploratórias de frequências dos diferentes marcadores histológicos nas duas doenças. A força da associação de cada marcador com o diagnóstico foi estimada com o cálculo de razão de chances (OR) brutas e respectivos intervalos



de confiança de 95%. Foi realizada uma análise de regressão logística múltipla, com método “backward”, para investigar associações independentes de cada marcador histopatológico com o diagnóstico de LTA, expressas por OR ajustadas (OR aj) com respectivos IC 95%. Foram inicialmente testadas no modelo todas as variáveis que foram significativas ao nível de 0,10 nas análises exploratórias. O critério para a manutenção das covariáveis no modelo final foi uma significância menor do que 5% no teste da razão de verossimilhança.

Com as probabilidades preditas pela análise logística múltipla foi construída uma curva “Receiver Operating Characteristics” (ROC) e calculada a área sob a curva (AUC) com IC 95%. Foram calculados os parâmetros de desempenho para o diagnóstico de LTA, sensibilidade, especificidade, acurácia total e razões de verossimilhança dos marcadores histopatológicos isolados, do diagnóstico intuitivo e do modelo predito pela análise logística. O coeficiente beta ( $\beta$ ) de cada variável na equação de regressão, arredondado para o inteiro mais próximo, foi utilizado para a ponderação de cada marcador histopatológico na elaboração de um escore.

Quadro 1: Definição dos marcadores histopatológicos

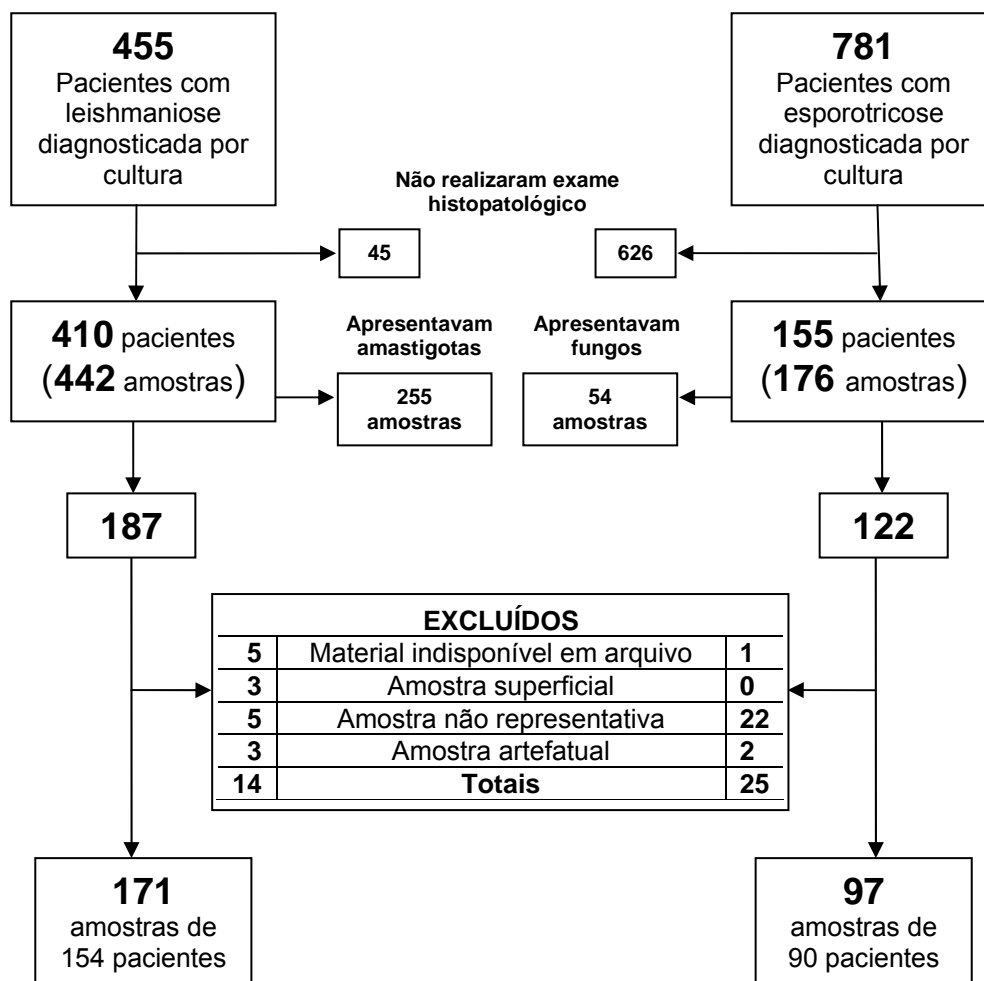
<b>Marcador Histopatológico</b>	<b>Definição</b>
<b>Granuloma</b>	Qualquer agregado de células mononucleares fagocitárias
<b>Granuloma tipo Corpo Estranho</b>	Granuloma contendo células gigantes tipo corpo estranho, macrófagos e células epitelióides pouco coesas e pouco ou nenhum linfócito
<b>Granuloma Tuberculóide</b>	Granuloma bem formado, arredondado com células epitelióides coesas e bem diferenciadas, células gigantes tipo Langhans e infiltrado linfoplasmocitário associado
<b>Clareira de Montenegro</b>	Agregados frouxos, mal formados e mal delimitados de células epitelióides em meio a infiltrado linfoplasmocitário
<b>Granuloma Esporotricótico</b>	Granuloma com abscesso central, células epitelióides e infiltrado linfoplasmocitário organizado em camadas concêntricas
<b>Piogranuloma</b>	Granuloma com abscesso
<b>Granuloma Supurativo</b>	Granuloma com neutrófilos entre as células mononucleares, sem formar abscesso, exceto imediatamente abaixo de uma úlcera
<b>Granuloma Intersticial</b>	Células mononucleares fagocitárias bem diferenciadas permeando ou em contato direto com feixes colágenos
<b>Granuloma Estrelado</b>	Granuloma espiculado com necrose central de qualquer tipo
<b>Fagócitos mais Numerosos que Outras Células</b>	Macrófagos, células epitelióides e células gigantes em maior quantidade que a soma das outras células inflamatórias
<b>Células Gigantes de Diferentes Tipos</b>	Mais de um tipo de célula gigante multinucleada
<b>Granulomas no Tecido de Granulação</b>	Proliferação de pequenos vasos e acentuado edema relacionado aos granulomas, exceto abaixo ou próximo a uma úlcera
<b>Agregado Plasmocitário</b>	Coleção de dez plasmócitos ou mais com pouco ou nenhum tecido ou célula inflamatória interveniente
<b>Abscesso fora do Granuloma</b>	Coleção de neutrófilos e piócitos distante dos granulomas, com pouco ou nenhum tecido ou célula inflamatória interveniente, não associada ao fundo de uma úlcera
<b>Supuração fora do Granuloma</b>	Neutrófilos no infiltrado inflamatório, sem formar abscesso, não associados a um granuloma ou ao fundo de uma úlcera
<b>Degeneração da Matriz Extracelular</b>	Alterações na afinidade tintorial e perda da definição de feixes colágenos
<b>Neutrófilos na Epiderme</b>	Presença de neutrófilos entre as células escamosas da epiderme
<b>Eliminação Trans-epidérmica de Neutrófilos</b>	Hiperplasia escamosa pseudoepiteliomatosa simulando uma doença perfurante com eliminação trans-epidérmica de um abscesso
<b>Eliminação Trans-epidérmica de Fagócitos</b>	Hiperplasia escamosa pseudoepiteliomatosa simulando uma doença perfurante com eliminação trans-epidérmica de um granuloma
<b>Fibrose</b>	Proliferação de pequenos vasos e deposição intensa de matriz extracelular, como em uma cicatriz. Espessamento de feixes colágenos não foi considerado

## RESULTADOS

### **Grupos Estudados:**

Foram analisados os registros médicos de 455 pacientes atendidos no Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC) entre 1998 e 2009 com diagnóstico de LTA confirmado pelo isolamento de *Leishmania* sp. em meio de cultura. Foram consultados os registros médicos de 781 pacientes atendidos no mesmo período, com diagnóstico de esporotricose confirmado pelo isolamento de *Sporothrix* sp. em meio de cultura. Foram incluídas no estudo 171 amostras de lesões cutâneas de 154 pacientes de LTA e 97 amostras de lesões cutâneas de 90 pacientes de esporotricose, conforme fluxograma da Figura 1.

Os pacientes com LTA tinham idade entre 2 e 90 anos (média de 39 e mediana de 37 anos) e eram 94 (61%) do sexo masculino. Os pacientes com esporotricose tinham idade entre 2 e 89 anos (média de 42 e mediana de 45) e eram 54 (60%) do sexo feminino.



**Figura 1:** Fluxograma de inclusão de amostras de lesões cutâneas ativas de LTA e esporotricose.

### **Análise de dados:**

Os marcadores histopatológicos que permaneceram diretamente associados ao diagnóstico de LTA (com OR > 1) no modelo logístico final (Tabela 1) foram: “Clareira de Montenegro”, “Degeneração da Matriz Extracelular” e “Granuloma Tuberculóide” e inversamente associados (OR < 1): “Granuloma Supurativo”, “Granuloma Estrelado”, “Granulomas no Tecido de Granulação”, “Abscesso fora do Granuloma” e “Células Gigantes de Diferentes Tipos”. As Figuras 2 e 3 ilustram estes marcadores histopatológicos. Não foram testados no modelo logístico: “Fagócitos mais Numerosos que Outras Células” e “Agregado Plasmocitário” devido a p-valores elevados e “Neutrófilos na Epiderme” pelo pequeno número de observações.

Os parâmetros de desempenho para o diagnóstico de LTA de cada um dos marcadores investigados evidenciam que nenhum deles isoladamente é capaz de discriminar entre os dois diagnósticos (Tabela 2) e as melhores Razões de Verossimilhança para o teste positivo atingem valores não superiores a 3. O diagnóstico intuitivo, que não foi considerado um marcador histopatológico, teve Razão de Verossimilhança para o teste positivo de 5,6. Os parâmetros de desempenho para o diagnóstico de esporotricose são apresentados na Tabela 3.

As probabilidades preditas pelo modelo final logístico apresentam discriminação de casos de LTA com a AUC ROC totalizando 0,92 (IC 95% 0,88 - 0,95), significativo ao nível de  $p < 0,001$  (Figura 4). No ponto de corte com maior acurácia, a sensibilidade foi de 92,4% (IC 95% 87,4 - 95,9), a especificidade 77,3% (IC 95% 66,7 - 85,2), a razão de verossimilhança do teste positivo 4,07 (IC 95% 3,6 - 4,6) e a razão de verossimilhança do teste negativo 0,09 (IC 95% 0,05 - 0,2).

Os coeficientes da equação de regressão (tabela 1) foram arredondados para o inteiro mais próximo de modo que a presença da variável incluída no modelo recebeu uma pontuação entre -2 e 2 e cada caso poderia receber um escore total que variava entre -9 e 5. A distribuição dos casos segundo este escore histopatológico é apresentada na Figura 5, onde se observa uma variação entre -7 e 5. Nenhum caso de LTA obteve escore menor do que -3 e apenas cinco casos de esporotricose obtiveram escore maior do que 1. Nota-se

também que a partir do escore 0 a LTA passa a ter maior número de casos do que a esporotricose.

### ***Estudo de Confiabilidade***

Foram analisadas 211 amostras pelo segundo observador. Nenhum marcador histopatológico apresentou confiabilidade quase perfeita para o kappa simples (Tabela 4). Os marcadores: “Granuloma tipo Corpo Estranho”, “Abscesso fora do Granuloma”, “Eliminação Trans-epidérmica de Neutrófilos” e “Granuloma Esporotricótico” apresentaram prevalências médias menores que 5% não justificando o cálculo do índice com IC de 95%.

Os marcadores “Clareira de Montenegro”, “Piogranuloma”, “Granuloma Supurativo”, “Agregado Plasmocitário” e o “Diagnóstico Intuitivo” apresentaram concordância interobservador substancial, com kappas  $\geq 0,61$ . Os demais apresentaram somente concordância moderada (“Granulomas no Tecido de Granulação” e “Fibrose”), razoável (“Granuloma Tuberculóide”, “Granuloma Intersticial”, “Fagócitos mais Numerosos que Outras Células”, “Supuração fora do Granuloma”, “Neutrófilos na Epiderme” e “Eliminação Trans-epidérmica de Fagócitos”) ou discreta (“Degeneração da Matriz Extracelular”, “Granuloma Estrelado” e “Células Gigantes de Diferentes Tipos”).

Os valores de PABAK para “Piogranuloma” e “Granuloma Supurativo” atingiram valores compatíveis com confiabilidade quase perfeita ( $> 0,80$ ). Porém, a confiabilidade permaneceu razoável ou discreta, mesmo observando-se o PABAK para os marcadores “Granulomas Tuberculóide”, “Intersticial” e “Estrelado” além de “Degeneração da Matriz Extracelular”.

**Tabela 1:** Odds ratio (OR) brutas e ajustadas por modelo logístico e coeficientes betas da equação de regressão para o diagnóstico de LTA confirmado por cultura, segundo a presença de marcadores histopatológicos, em pacientes ambulatoriais no período 1998 a 2009 (N total = 268)

Marcador histopatológico	LTA (N=171)		Esporo (N=97)		OR*	OR aj**	IC 95%	Betas*** (inteiros)
	n	%	n	%				
Clareira de Montenegro	116	67,8	23	23,7	6,79	5,19	2,41- 11,20	1,65 (2)
Degeneração da Matriz Extracelular	49	28,6	10	10,3	3,49	4,54	1,61- 12,82	1,51 (2)
Granuloma Tuberculóide	68	39,7	21	21,6	2,39	3,83	1,53 - 9,59	1,34 (1)
Granuloma Supurativo	26	15,2	73	75,2	0,06	0,08	0,04 - 0,18	-2,49 (-2)
Abscesso fora do Granuloma	2	1,20	12	12,4	0,08	0,15	0,02 - 0,94	-1,89 (-2)
Granulomas no Tecido de Granulação	14	8,19	33	34,0	0,17	0,18	0,06 - 0,50	-1,71 (-2)
Granuloma Estrelado	13	7,60	17	17,5	0,39	0,21	0,06 - 0,70	-1,54 (-2)
Células Gigantes de Diferentes Tipos	29	16,9	34	35,1	0,38	0,28	0,12 - 0,67	-1,27 (-1)
Granuloma Intersticial	99	57,9	36	37,1	2,33			
Piogranuloma	8	4,6	43	44,3	0,06			
Granuloma Esporotricótico	4	2,3	21	21,6	0,09			
Supuração fora do Granuloma	32	18,7	62	68,0	0,13			
Granuloma tipo Corpo Estranho	17	9,9	21	21,6	0,40			
Fibrose	51	29,8	45	46,4	0,49			
Fagócitos mais Numerosos <sup>1</sup>	38	22,2	19	19,6	1,17			
Agregado Plasmocitário <sup>2</sup>	91	53,2	58	59,8	0,77			
Neutrófilos na Epiderme <sup>3</sup>	12	7,0	13	13,4	0,49			
Eliminação Epidérmica de Neutrófilos	9	5,2	17	17,5	0,26			
Eliminação Epidérmica de Fagócitos <sup>4</sup>	30	17,5	26	26,8	0,58			

LTA: Leishmaniose tegumentar americana

Esporo: Esporotricose

\*  $p < 0,01$  exceto <sup>1</sup> ( $p=0,61$ ), <sup>2</sup> ( $p=0,29$ ), <sup>3</sup> ( $p=0,13$ ) e <sup>4</sup> ( $p=0,07$ );

\*\*  $p < 0,05$  (OR ajustadas por regressão logística para os demais marcadores significativos na bivariada).

\*\*\* coeficientes betas da equação de regressão logística (arredondamentos para os inteiros mais próximos).

**Tabela 2:** Parâmetros de desempenho diagnóstico dos marcadores histopatológicos para o diagnóstico de LTA (N total= 268)

Marcador histopatológico	Sensibilidade		Especificidade		Acurácia %	RV+ (IC 95%)	RV- (IC 95%)
	%	IC 95%	%	IC 95%			
Clareira de Montenegro	67,8	60,3 - 74,8	76,3	66,6 - 84,3	70,9	2,86 (1,97 - 4,15)	0,42 (0,33 - 0,54)
Granuloma Tuberculóide	39,8	32,4 - 47,5	78,4	68,8 - 86,8	53,7	1,84 (1,20 - 2,80)	0,77 (0,66 - 0,90)
Granuloma Intersticial	57,9	50,1 - 65,4	62,9	52,5 - 72,5	59,7	1,56 (1,17 - 2,08)	0,67 (0,53 - 0,85)
Degeneração da Matriz Extracelular	28,7	22,0 - 36,1	89,7	81,9 - 94,9	50,7	2,79 (1,48 - 5,23)	0,79 (0,71 - 0,89)
Agregado Plasmocitário	53,2	45,5 - 60,9	40,2	30,7 - 50,7	48,5	0,89 (0,72 - 1,10)	1,16 (0,87 - 1,56)
Fibrose	29,9	23,1 - 37,3	53,6	43,2 - 63,8	38,4	0,64 (0,47 - 0,88)	1,31 (1,06 - 1,61)
Eliminação trans-epidérmica de fagócitos	17,6	12,2 - 21,1	73,2	63,2 - 81,7	37,6	0,65 (0,41 - 1,04)	1,13 (0,98 - 1,29)
Neutrófilos na Epiderme	7,2	3,8 - 12,3	86,6	78,2 - 92,7	35,8	0,52 (0,25, 1,11)	1,07 (0,98 - 1,17)
Granuloma Estrelado	7,6	4,1 - 12,6	82,5	73,4 - 89,4	34,7	0,43 (0,22 - 0,85)	1,12 (1,01 - 1,24)
Células Gigantes de Diferentes Tipos	17,0	11,7 - 23,4	64,9	54,6 - 74,4	34,3	0,48 (0,32 - 0,74)	1,28 (1,09 - 1,50)
Granuloma tipo Corpo Estranho	9,9	5,9 - 15,4	78,4	68,8 - 86,1	34,7	0,46 (0,25 - 0,83)	1,15 (1,02 - 1,29)
Eliminação Trans-epidérmica de Neutrófilos	5,3	2,4 - 9,8	82,5	73,4 - 89,5	33,2	0,30 (0,14 - 0,65)	1,15 (1,04 - 1,27)
Abscesso fora do Granuloma	1,2	0,1 - 4,2	87,5	79,4 - 93,4	32,4	0,09 (0,02 - 0,41)	1,13 (1,04 - 1,22)
Granuloma Esporotricótico	2,3	0,7 - 5,9	78,4	68,8 - 86,0	29,8	0,11 (0,04 - 0,31)	1,25 (1,12 - 1,39)
Granulomas no Tecido de Granulação	8,2	4,5 - 13,4	66,0	55,6 - 75,3	29,1	0,24 (0,14 - 0,43)	1,39 (1,20 - 1,62)
Supuração fora do Granuloma	18,7	13,2 - 25,4	36,1	26,6 - 46,5	25,0	0,43 (0,21 - 0,41)	2,25 (1,71 - 2,96)
Piogranuloma	4,7	2,0 - 9,0	55,7	45,2 - 65,8	23,1	0,11 (0,05 - 0,22)	1,70 (1,43 - 2,05)
Granuloma Supurativo	15,2	10,2 - 21,5	24,7	16,5 - 34,5	18,7	0,20 (0,14 - 0,29)	3,43 (2,41 - 4,88)
Diagnóstico Intuitivo	80,7	74,0 - 86,3	85,6	77,0 - 91,9	82,5	5,60 (3,43 - 9,13)	0,23 (0,16 - 0,31)

IC95%: Intervalo de 95% de confiança; RV+: Razão de verossimilhança para o teste positivo; RV-: Razão de verossimilhança para o teste negativo.



**Tabela 3:** Parâmetros de desempenho diagnóstico dos marcadores histopatológicos para o diagnóstico de esporotricose (N total= 268)

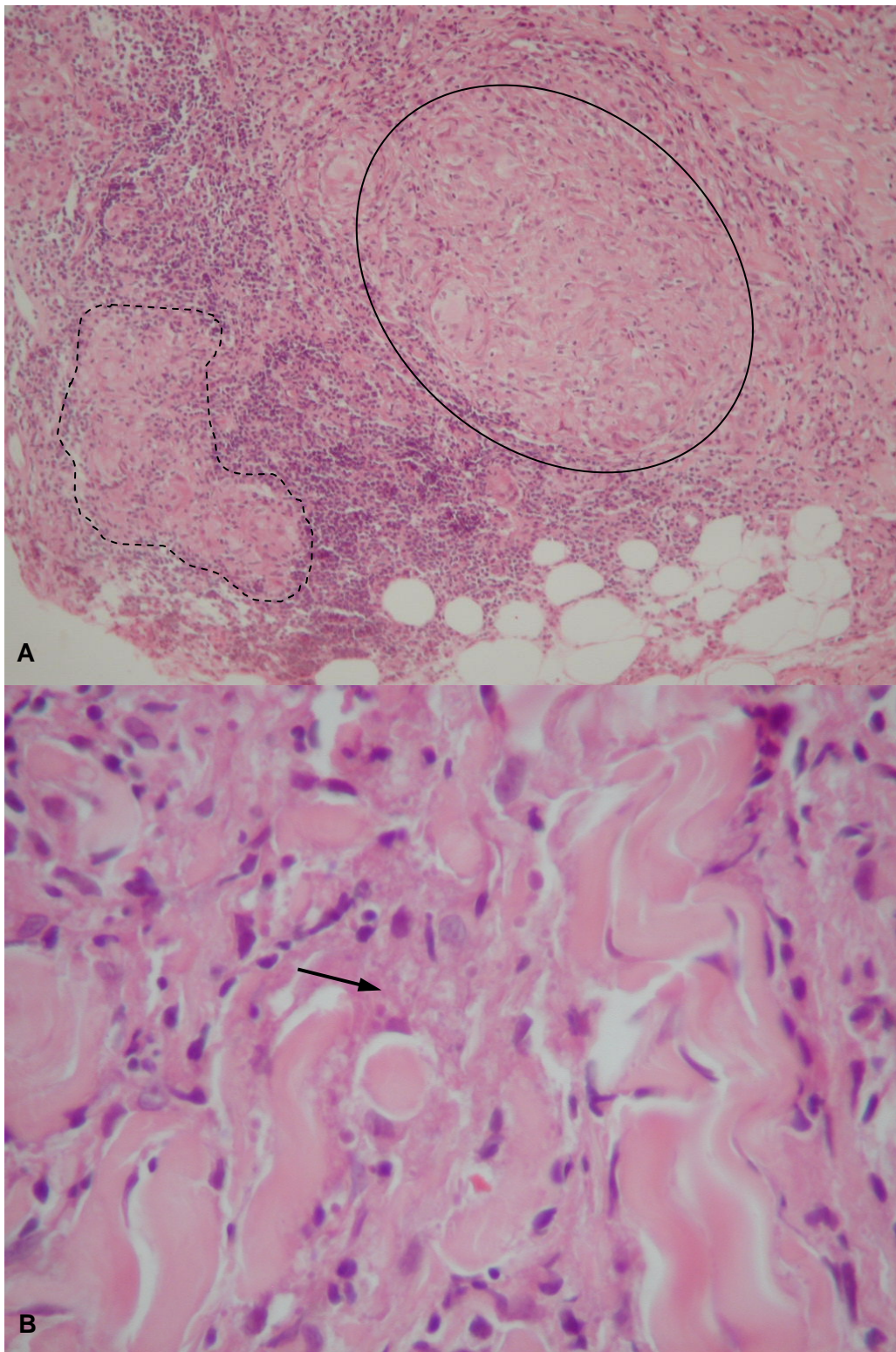
Marcador histopatológico	Sensibilidade		Especificidade		Acurácia %	RV+ (IC 95%)	RV- (IC 95%)
	%	IC 95%	%	IC 95%			
<b>Granuloma Supurativo</b>	75,3	65,5 - 83,5	84,8	78,5 - 89,8	81,3	4,95 (3,41 - 7,18)	0,29 (0,21 - 0,42)
<b>Piogranuloma</b>	44,3	34,2 - 54,8	95,3	91,0 - 98,0	76,9	9,43 (4,65 - 19,3)	0,58 (0,49 - 0,70)
<b>Supuração fora do Granuloma</b>	63,9	53,5 - 73,4	81,3	74,6 - 86,8	75,0	3,42 (2,42 - 4,83)	0,44 (0,34 - 0,58)
<b>Granulomas no Tecido de Granulação</b>	34,0	24,7 - 44,4	91,8	86,6 - 95,5	70,9	4,15 (2,34 - 7,37)	0,71 (0,62 - 0,84)
<b>Granuloma Esporotricótico</b>	21,6	14,0 - 31,2	97,7	94,1 - 99,3	71,2	9,39 (3,27 - 26,18)	0,80 (0,72 - 0,89)
<b>Abscesso fora do Granuloma</b>	12,5	6,6 - 20,6	98,8	95,8 - 99,9	67,6	10,33 (2,42 - 46,29)	0,89 (0,82 - 0,96)
<b>Eliminação Trans-epidérmica de Neutrófilos</b>	17,5	11,5 - 26,6	94,7	90,2 - 97,6	66,8	3,30 (1,54 - 7,18)	0,87 (0,79 - 0,96)
<b>Granuloma tipo Corpo Estranho</b>	21,6	13,9 - 31,2	90,1	86,6 - 94,1	65,3	2,18 (1,21 - 3,92)	0,87 (0,78 - 0,98)
<b>Células Gigantes de Diferentes Tipos</b>	35,1	25,6 - 45,4	83,0	76,6 - 88,3	65,7	2,06 (1,35 - 3,17)	0,78 (0,67 - 0,92)
<b>Granuloma Estrelado</b>	17,5	10,6 - 26,6	92,4	87,4 - 95,9	65,3	2,30 (1,17 - 4,54)	0,89 (0,81 - 0,99)
<b>Neutrófilos na Epiderme</b>	13,4	21,8 - 7,3	92,8	87,7 - 96,2	64,2	1,86 (0,91 - 4,02)	0,93 (0,85 - 1,02)
<b>Eliminação Trans-epidérmica de fagócitos</b>	26,8	18,3 - 36,8	82,4	78,9 - 87,8	62,4	1,52 (0,96 - 2,43)	0,88 (0,77 - 1,02)
<b>Fibrose</b>	46,4	36,2 - 56,7	70,1	62,7 - 76,9	61,6	1,56 (1,14 - 2,13)	0,76 (0,62 - 0,94)

IC 95%: Intervalo de 95% de confiança; RV+: Razão de verossimilhança para o teste positivo; RV-: Razão de verossimilhança para o teste negativo.

**Tabela 4** Concordância positiva, negativa, total e kappa simples com intervalo de 95% de confiança para os marcadores histopatológicos de interesse no diagnóstico diferencial de LTA e esporotricose (N = 211)

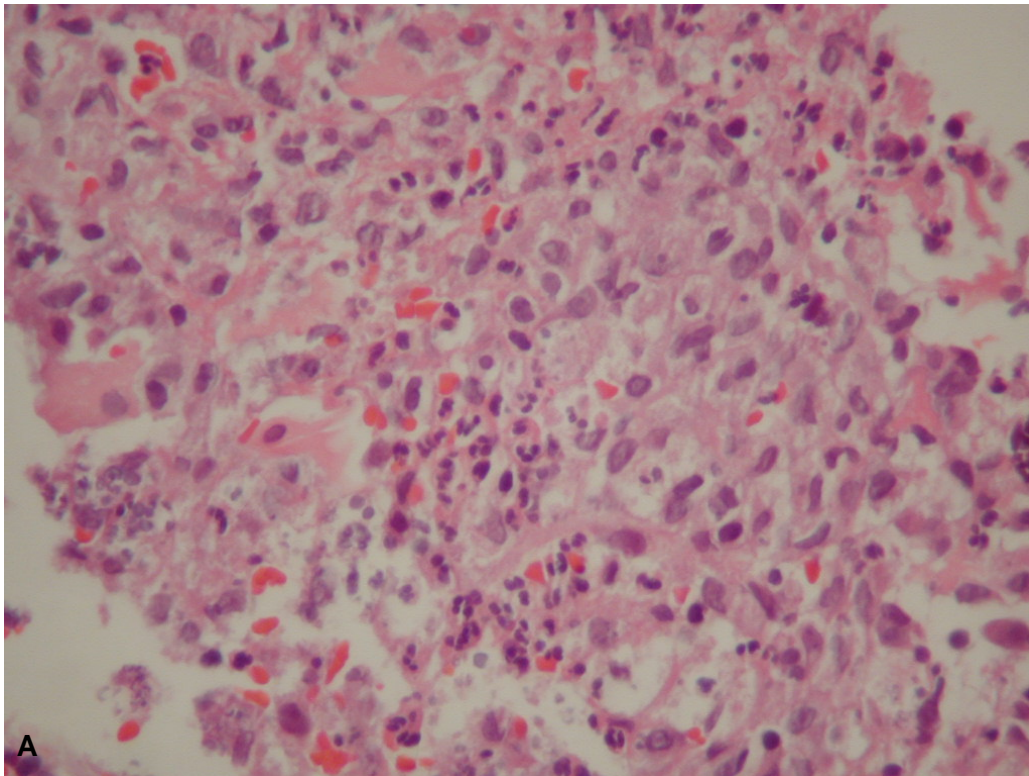
Marcador Histopatológico	N	Pmed (%)	Ppos	Pneg	P total	Kappa	IC 95%	PABAK
Agregado Plasmocitário	105	55,0	0,87	0,82	0,85	0,69	0,59 - 0,79	0,70
Piogranuloma	27	15,6	0,73	0,94	0,90	0,67	0,54 - 0,81	0,81
Clareira de Montenegro	103	61,0	0,84	0,78	0,82	0,62	0,52 - 0,73	0,63
Granuloma Supurativo	63	31,3	0,88	0,94	0,92	0,62	0,54 - 0,90	0,84
Granuloma no Tecido Granulação	25	22,3	0,61	0,91	0,85	0,52	0,37 - 0,66	0,70
Fibrose	31	15,6	0,53	0,86	0,78	0,41	0,29 - 0,53	0,57
Supuração fora do Granuloma	35	24,0	0,57	0,82	0,75	0,40	0,27 - 0,53	0,50
Fagócitos mais Numerosos	24	23,7	0,52	0,87	0,79	0,39	0,24 - 0,54	0,58
Granuloma Intersticial	57	34,6	0,63	0,46	0,68	0,37	0,25 - 0,49	0,36
Eliminação Epidérmica de Fagócitos	12	7,6	0,41	0,91	0,84	0,34	0,18 - 0,50	0,68
Neutrófilos na Epiderme	10	9,5	0,38	0,91	0,84	0,29	0,12 - 0,47	0,69
Granuloma Tuberculóide	20	10,0	0,40	0,81	0,72	0,27	0,15 - 0,39	0,44
Células Gigantes de Diferentes Tipos	14	13,7	0,34	0,21	0,75	0,20	0,05 - 0,34	0,49
Granuloma Estrelado	20	12,0	0,29	0,18	0,16	0,13	0,05 - 0,21	0,11
Degeneração da Matriz Extracelular	43	22,7	0,39	0,34	0,37	0,06	0,00 - 0,11	0,27
Diagnóstico intuitivo	115	64,9	0,87	0,78	0,83	0,65	0,54 - 0,75	0,67

**Pmed:** Prevalência média; **Ppos e Pneg:** Proporção de concordância positiva e negativa; **PABAK:** Kappa ajustado para prevalência e viés; **Ptotal** – proporção de concordância total observada.

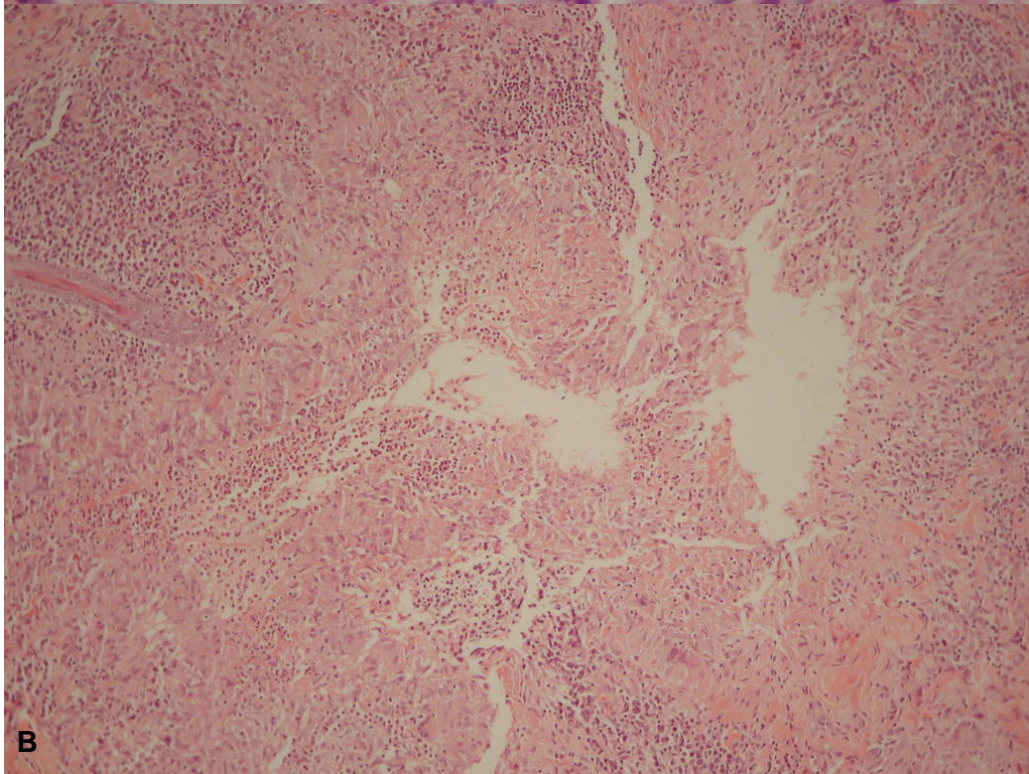


**Figura 2:** Marcadores histopatológicos diretamente associados ao diagnóstico de LTA. A) Granuloma Tuberculóide (linha cheia) e Clareira de Montenegro (linha tracejada). B) Degeneração da Matriz Extracelular (seta).





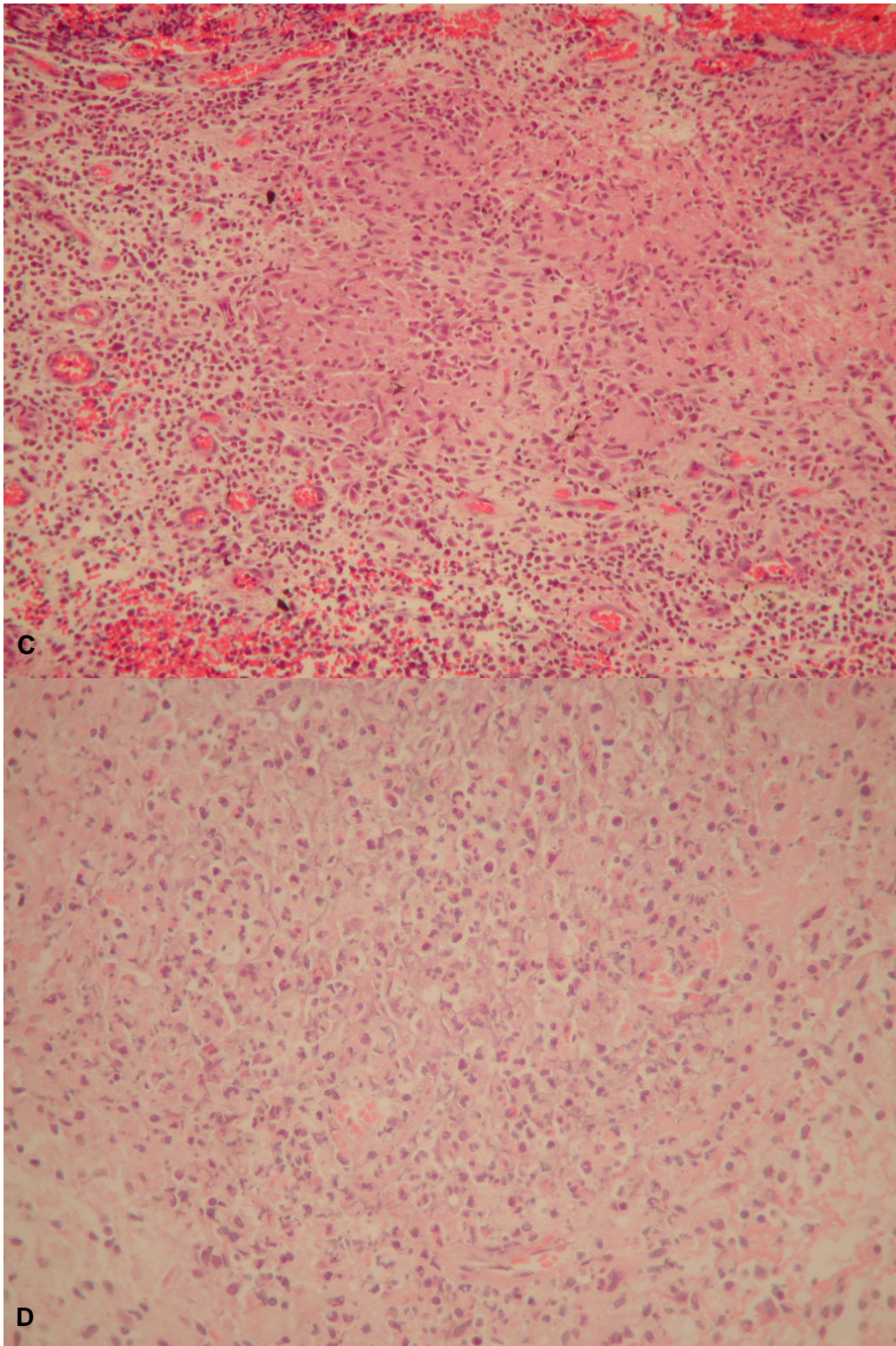
A



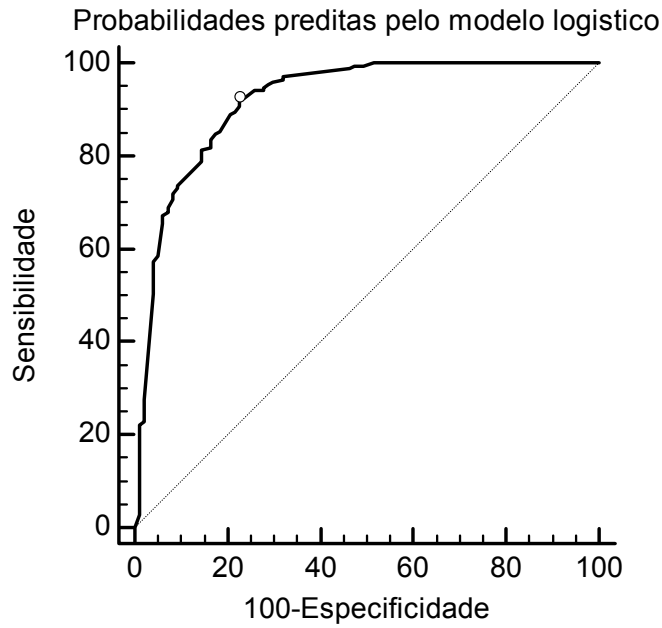
B

**Figura 3:** Ver legenda na página seguinte

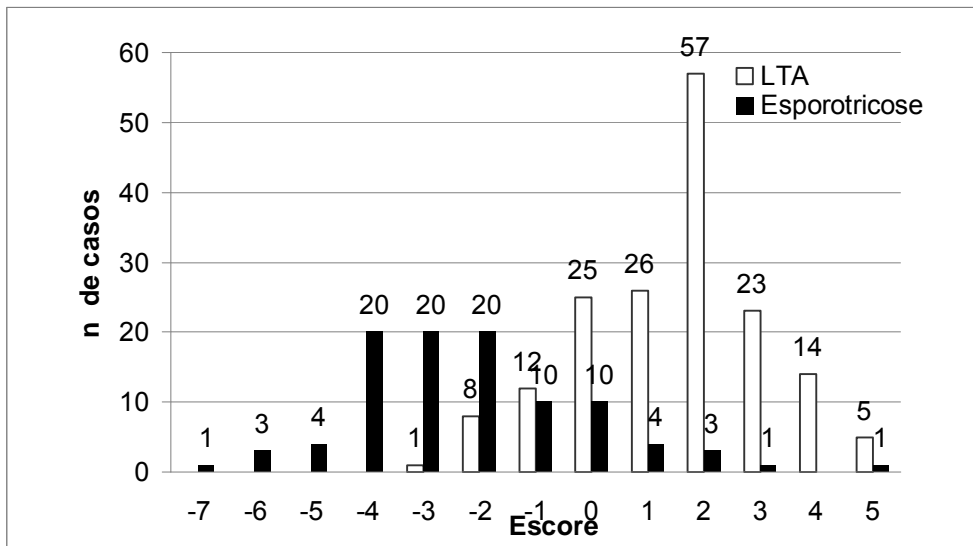




**Figura 3:** Marcadores histopatológicos inversamente associados ao diagnóstico de LTA. A) Granuloma Supurativo. B) Granuloma Estrelado. C) Granulomas no Tecido de Granulação. D) Abscesso fora do Granuloma.



**Figura 4:** Curva Receiver Operating Characteristic (ROC) para o modelo histopatológico do diagnóstico de Leishmaniose Tegumentar Americana e ponto de corte com maior acurácia (Sensibilidade: 92,4% [87,4 - 95,9]; Especificidade: 77,3 [66,7 - 85,2]; Razão de Verossimilhança do Teste Positivo: 4,07 [3,6 - 4,6]; Razão de Verossimilhança do Teste Negativo: 0,09 [0,05 - 0,2]; Área sob a Curva (AUC) = 0,92 [0,88 - 0,95]).



**Figura 5:** Distribuição dos casos (N= 268) segundo o escore histopatológico para LC e esporotricose.

## DISCUSSÃO

Foi realizado um estudo do diagnóstico diferencial histopatológico entre lesões cutâneas ativas de LTA e de esporotricose em seres humanos. As alterações histopatológicas analisadas foram, em sua maioria, selecionadas dentre as descritas na literatura consultada a respeito das descrições histopatológicas da LTA e da esporotricose.

Magalhães e colaboradores [11] e Ridley e colaboradores [26] relatam granulomas tuberculóides na LTA. De Beurmann & Gougerot [20, 27], por outro lado, relatam granulomas do tipo epitelióide na esporotricose. No trabalho de 1907 fazem extensa consideração a respeito do diagnóstico diferencial entre a esporotricose e a tuberculose cutânea e chegam a afirmar que “não há doença mais tuberculóide do que a esporotricose”. O livro texto de Chandler, Kaplan e Ayello, no capítulo sobre a esporotricose, relata inclusive necrose caseosa nos granulomas da esporotricose [17].

Quanto ao granuloma do tipo corpo estranho, em dois de uma série de quatro artigos de 1986, com extensa descrição histopatológica da LTA, Magalhães e colaboradores relatam a presença de células gigantes tipo corpo estranho [11, 28]. Lurie descreve granulomas do tipo corpo estranho “típicos” como freqüentes, presentes em 7 casos de esporotricose, de 32 analisados [18].

Os granulomas aqui definidos como clareiras de Montenegro foram primeiramente descritos na LTA em 1924 [19]. Posteriormente, um padrão semelhante, denominado “reação exsudativa granulomatosa” também foi relatada. [11]. Na esporotricose há a descrição de “áreas granulomatóides”, semelhantes às clareiras de Montenegro, geralmente associadas também a supuração [14].

Granulomas associados à presença de neutrófilos, muitas vezes com abscesso central, é a descrição histopatológica clássica da esporotricose [14, 17, 18, 20, 27, 29]. Há ainda a descrição de “granulomas difusos” [17] e “áreas granulomatóides” [14] associadas a supuração, sem abscessos e uma permeação por neutrófilos da zona de células epitelióides em piogranulomas [27]. A reação tecidual na LTA é descrita primordialmente como não supurativa [19]. Entretanto, há descrição de neutrófilos associados a uma reação do tipo vasculite [30] ou a necrose [11, 31] ou mesmo de granulomas supurativos [32, 33].



A presença de reação inflamatória de mononucleares entre feixes colágenos, que poderia ser considerada reação granulomatosa intersticial, é relatada na esporotricose [27]. Não foi encontrado relato de granuloma intersticial na LTA na literatura consultada. Curiosamente, no presente trabalho, os granulomas intersticiais estiveram associados à LTA, ainda que não de forma independente.

Os granulomas estrelados são descritos na esporotricose como “ramificantes” e seriam decorrentes da coalescência de vários piogranulomas [18]. Não encontramos referências a granulomas estrelados ou “ramificados” na LTA e este tipo foi bastante raro nos casos de LTA ora estudados.

A relação quantitativa entre as células que compõem o infiltrado inflamatório é pouco pesquisada. As duas doenças são por vezes descritas como “plasmomas” [19, 27], sugerindo a abundância de plasmócitos, sem, contudo, qualquer comparação com a quantidade das outras células inflamatórias. Magalhães e colaboradores afirmam que na reação tecidual mais comum da LTA, a “reação exsudativa celular”, haveria um equilíbrio na composição do infiltrado [11].

Células gigantes tipo Langhans e tipo corpo estranho são descritas na LTA [11, 19, 26]. Dentre os nossos casos de LTA, observamos uma célula gigante do tipo Touton (dado não apresentado), não encontrada na literatura. Na esporotricose, alguns autores relatam células gigantes sem especificar o tipo [20, 27, 34]. Outros dizem que as células gigantes são principalmente do tipo corpo estranho [17, 35]

Os granulomas associados a tecidos de granulação não foram encontrados na literatura consultada e é uma observação pessoal do nosso grupo. Há relato de edema acentuado relacionado a “granulomas pós-necróticos” na LTA [26] e proliferação de fibroblastos ao redor do granuloma de esporotricose [29], mas não refletem exatamente o achado aqui pesquisado.

A riqueza de plasmócitos nas lesões de LTA e de esporotricose é conhecida. Na LTA, a resposta imune humoral é considerada importante [36] e a presença de plasmócitos é considerada indicativa do diagnóstico, embora reconhecidamente não totalmente específica [28]. Na esporotricose, além dos plasmócitos no interior ou na periferia do granuloma, há a descrição de corpúsculos de Russel [18] e de zonas escuras perivasculares na periferia da lesão, distantes dos granulomas, que correspondem a um infiltrado plasmocitário [20, 27].

O caráter supurativo da reação tecidual na esporotricose pode se manifestar como abscessos [18] ou “focos supurativos” [35] fora dos granulomas. Na LTA a

presença de neutrófilos foi relatada em lesões sem granulomas [26]. Trabalho recente mostra, por imuno-histoquímica, a participação de neutrófilos mesmo em lesões antigas de LTA [37].

Na LTA a degeneração ou necrose da matriz extracelular, especificamente do colágeno, é descrita desde o trabalho de Montenegro [19] e mais recentemente em estudo de cerca de 400 casos [26]. É atribuída ao depósito de imunocomplexos [30] e relacionada a uma forma “anérgica” ou “não reativa” com riqueza parasitária [38]. Esse achado não foi previamente descrito ou valorizado na esporotricose.

Outra possível manifestação do caráter supurativo da esporotricose é a presença de neutrófilos em meio à epiderme, que na série de Lurie esteve presente em todos os casos de lesão primária como abscessos intra-epidérmicos e é considerado por esse autor como indicação importante do diagnóstico [18]. Weedon [35] refere este achado, que parece fortemente relacionado à eliminação trans-epidérmica de tecido necrótico, quando associada a hiperplasia escamosa pseudoepiteliomatosa (HEPE), também relatado em estudo experimental [34].

A HEPE também é vista na LTA [11, 19] assim como a eliminação trans-epidérmica de material necrótico [38]. A eliminação trans-epidérmica de granulomas foi incluída dentre as alterações pesquisadas por observação pessoal, mas não esteve associada de forma significativa a nenhuma das doenças.

A fibrose é relatada na esporotricose, principalmente na área mais externa do nódulo esporotricótico [27], chamada de “cápsula fibrocelular de encistamento” [20], foi vista como achado importante em 46 de 63 casos na série de Lurie [18] e é considerado um dos três aspectos histopatológicos mais característicos da esporotricose, ao lado do granuloma e da supuração [17]. Na LTA, como é esperado em qualquer processo inflamatório crônico, também há fibrose, mas essa alteração não é enfatizada na composição do quadro histopatológico, e é relatada por poucos autores [38].

Através de análise múltipla logística identificou-se que um conjunto dessas alterações histopatológicas foi mais acurado na discriminação entre as duas doenças do que qualquer alteração tomada isoladamente. O modelo baseado nas variáveis incluídas permitiu a proposta de um escore para classificar os casos na dependência da presença ou ausência dessas alterações. Este é o primeiro estudo do tipo de que os autores têm conhecimento. Foi também avaliado o diagnóstico diferencial intuitivo entre essas duas doenças.

A discriminação entre as doenças pelo modelo de regressão obteve a maior acurácia indicando que os marcadores estudados que permaneceram no modelo são úteis no diagnóstico diferencial histopatológico. Entretanto, “Granuloma Tuberculóide”, “Granuloma Estrelado” e “Degeneração da Matriz Extracelular” apresentaram confiabilidade apenas razoável ou discreta, mesmo considerando-se PABAK, indicando que os resultados obtidos podem não ser reproduzíveis. Uma definição mais estrita e detalhada dos marcadores histológicos, bem como o treinamento na execução do exame, poderiam aumentar sua confiabilidade e permitir sua utilização. A maioria dos marcadores histopatológicos teve baixa prevalência, de maneira que o PABAK elevou a estimativa da confiabilidade.

O escore proposto tem potencial uso na prática diagnóstica permitindo estipular ponto de corte mais alto ou baixo, caso se deseje aumentar a sensibilidade ou especificidade, dependendo do contexto clínico.

O diagnóstico histopatológico intuitivo foi mais acurado que qualquer marcador histopatológico isolado, mas não do que o modelo logístico. Além disso, essa impressão histopatológica é subjetiva, depende diretamente da experiência do observador e pode estar baseado em aspectos quantitativos ou alterações histopatológicas qualitativas, que não foram considerados na análise microscópica do presente estudo. A concordância substancial interobservador verificada nesse diagnóstico pode também estar relacionada a esta experiência.

Os marcadores histopatológicos tomados isoladamente são simples, e poderiam ser utilizados mais amplamente, por patologistas menos habituados ao exame dessas duas doenças. Entretanto, de interesse para o diagnóstico diferencial apenas “Clareira de Montenegro” e “Granuloma Supurativo” apresentaram boa confiabilidade interobservador com concordância substancial ou superior, considerando-se índices que levam em conta a concordância obtida por acaso (kappa e PABAK). Tendo em vista a concordância substancial do diagnóstico intuitivo e a baixa concordância nos demais marcadores pode-se supor que esses marcadores com concordância mais elevada influenciam de forma mais decisiva o diagnóstico intuitivo.

O método proposto de análise histopatológica se mostrou capaz de auxiliar no diagnóstico diferencial entre a LTA e a esporotricose. A possibilidade de se realizar esta distinção por meio de uma análise histopatológica simples e sistemática seria de grande utilidade em regiões de ocorrência das duas doenças, notadamente em

serviços de saúde sem instalações laboratoriais sofisticadas, e colocaria o exame histopatológico como importante ferramenta diagnóstica que poderia agregar o bom desempenho à conveniência e ao baixo custo. Ainda que não se consiga determinar precisamente o diagnóstico em uma grande proporção dos casos, a combinação da análise estatística com a análise subjetiva e qualitativa dos dados histopatológicos permite quantificar as incertezas e pode ser útil na tomada de decisão [39].

Ainda que o exame histopatológico possa eventualmente distinguir em alguns casos a LTA da esporotricose, mesmo na ausência da visualização do microorganismo, não se espera que ele substitua ou permita prescindir dos resultados de cultura ou dados clínicos e epidemiológicos. Este estudo não incluiu critérios clínicos e laboratoriais sabidamente relevantes para o diagnóstico de LTA e esta distinção [40]. Além disso, os valores preditivos não foram calculados e a generalidade externa não pode ser adequadamente avaliada devido à opção por aumento da validade interna com casos e controles diagnosticados por cultura em vez de diagnóstico apenas clínico, sorológico ou epidemiológico, o que poderia implicar numa proporção desconhecida de classificação errônea. Assim, um ou mais estudos de validação do escore e de análise de impacto de sua aplicação ainda seriam necessários antes da adoção deste método.

Cabe ressaltar que o presente estudo foi realizado em amostras sem a detecção do microorganismo ao exame histopatológico de rotina, embora positivas na cultura. Como os casos ricos em parasitas podem ter respostas teciduais diferentes daqueles em que o parasita não pode ser encontrado [15, 31, 41], os marcadores histopatológicos só devem ser aplicados após uma procura cuidadosa pelo microorganismo resultar negativa.

## References

1. Lima Barros, M.B., et al., *Positive Montenegro skin test among patients with sporotrichosis in Rio de Janeiro*. Acta Trop, 2005. **93**(1): p. 41-7.
2. Weigle, K.A., et al., *Diagnosis of cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis in Colombia: a comparison of seven methods*. Am J Trop Med Hyg, 1987. **36**(3): p. 489-96.
3. Quintella, L.P., et al., *Immunoperoxidase technique using an anti-Leishmania (L.) chagasi hyperimmune serum in the diagnosis of culture-confirmed American tegumentary leishmaniasis*. Rev Inst Med Trop Sao Paulo, 2009. **51**(2): p. 83-6.
4. Marques, M.E., et al., *Comparison between histochemical and immunohistochemical methods for diagnosis of sporotrichosis*. J Clin Pathol, 1992. **45**(12): p. 1089-93.
5. Schubach, A., et al., *Leishmanial antigens in the diagnosis of active lesions and ancient scars of American tegumentary leishmaniasis patients*. Mem Inst Oswaldo Cruz, 2001. **96**(7): p. 987-96.
6. Fagundes, A., et al., *Evaluation of polymerase chain reaction in the routine diagnosis for tegumentary leishmaniasis in a referral centre*. Mem Inst Oswaldo Cruz, 2010. **105**(1): p. 109-12.
7. Gomes, A.H., et al., *Leishmania (V.) braziliensis: detection by PCR in biopsies from patients with cutaneous leishmaniasis*. Exp Parasitol, 2008. **119**(3): p. 319-24.
8. Rodrigues, E.H., et al., *Evaluation of PCR for diagnosis of American cutaneous leishmaniasis in an area of endemicity in northeastern Brazil*. J Clin Microbiol, 2002. **40**(10): p. 3572-6.
9. Medeiros, A.C., S.S. Rodrigues, and A.M. Roselino, *Comparison of the specificity of PCR and the histopathological detection of leishmania for the diagnosis of American cutaneous leishmaniasis*. Braz J Med Biol Res, 2002. **35**(4): p. 421-4.
10. Dimier-David, L., et al., *[Histopathology of mucocutaneous leishmaniasis caused by Leishmania (Vianna) braziliensis]*. Ann Dermatol Venereol, 1994. **121**(5): p. 387-92.
11. Magalhães, A.V., et al., *Histopathology of cutaneous leishmaniasis by Leishmania braziliensis braziliensis. 1. Histopathological patterns and study of the course of the lesions*. Rev Inst Med Trop Sao Paulo, 1986. **28**(4): p. 253-62.
12. Byrd, D.R., et al., *Sporotrichosis masquerading as pyoderma gangrenosum: case report and review of 19 cases of sporotrichosis*. J Eur Acad Dermatol Venereol, 2001. **15**(6): p. 581-4.
13. Rosa, A.C., et al., *Epidemiology of sporotrichosis: a study of 304 cases in Brazil*. J Am Acad Dermatol, 2005. **52**(3 Pt 1): p. 451-9.
14. Bullpitt, P. and D. Weedon, *Sporotrichosis: a review of 39 cases*. Pathology, 1978. **10**(3): p. 249-56.
15. Quintella, L.P., et al., *Histopathology of cutaneous sporotrichosis in Rio de Janeiro: a series of 119 consecutive cases*. J Cutan Pathol, 2010.
16. Weedon, D., *The granulomatous reaction pattern*, in *Skin Pathology*, D. Weedon, Editor. 2002, Churchill Livingstone: London; New York. p. 193-220.

17. Chandler, F.W., W. Kaplan, and L. Ajello, *Sporotrichosis*, in *Color atlas and text of the histopathology of mycotic diseases*. 1980, Year Book Medical Publishers: Chicago. p. 112-115.
18. Lurie, H.I., *Histopathology of sporotrichosis. Notes on the nature of the asteroid body*. Arch Pathol, 1963. **75**: p. 421-37.
19. Montenegro, J.B.F., *Anátomo-Pathologia da leishmaniose cutânea: úlcera de Bauru*. An Paul Med Cirurg, 1924. **15**: p. 5-11.
20. DeBeurmann, L. and H. Gougerot, *Sporotrichoses tuberculoïdes*. Annales de dermatologie et de syphiligraphie, 1907. **8**: p. 497-544.
21. McGinn, T.G., et al., *Users' guides to the medical literature: XXII: how to use articles about clinical decision rules. Evidence-Based Medicine Working Group*. JAMA, 2000. **284**(1): p. 79-84.
22. Bossuyt, P.M., et al., *Towards complete and accurate reporting of studies of diagnostic accuracy: the STARD initiative*. BMJ, 2003. **326**(7379): p. 41-4.
23. Cohen, J., *A coefficient of agreement for nominal scales*. Educ Psychol Meas, 1960. **20**(1): p. 37-46.
24. Landis, J.R. and G.G. Koch, *The measurement of observer agreement for categorical data*. Biometrics, 1977. **33**(1): p. 159-74.
25. Lauritsen, J.M. and M. Bruus, *EpiData Entry (Version 3.1). A comprehensive tool for validated entry and documentation of data*. 2003-2004, The EpiData Association: Odense, Denmark.
26. Ridley, D.S., A.V. Magalhães, and P.D. Marsden, *Histological analysis and the pathogenesis of mucocutaneous leishmaniasis*. J Pathol, 1989. **159**(4): p. 293-9.
27. DeBeurmann, L. and H. Gougerot, *Sporotrichoses hypodermiques*. Annales de dermatologie et de syphiligraphie, 1906. **7**: p. 914-922.
28. Magalhães, A.V., et al., *Histopathology of tegumentary leishmaniasis caused by Leishmania braziliensis braziliensis. 3. Cellular reactions in tissues*. Rev Inst Med Trop Sao Paulo, 1986. **28**(5): p. 300-11.
29. Sinsom, F.W., et al. *The pathology of sporotrichosis in man and experimental animals*. in *Proceedings of the Transvaal Mine Medical Officers' Association*. 1947. Johannesburg: The Transvaal Chamber of Mines.
30. Ridley, D.S., et al., *A histological classification of mucocutaneous leishmaniasis in Brazil and its clinical evaluation*. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1980. **74**(4): p. 508-14.
31. Mariscotti, C., et al., *Histological and immunohistochemical aspects of cutaneous leishmaniasis in Nicaragua*. Rev Inst Med Trop Sao Paulo, 1987. **29**(4): p. 213-8.
32. Price, S.M. and D.N. Silvers, *New world leishmaniasis. Serologic aids to diagnosis*. Arch Dermatol, 1977. **113**(10): p. 1415-6.
33. Weedon, D., *Protozoal Infections*, in *Skin Parthology*, D. Weedon, Editor. 2002, Churchill Livingstone: London; New York. p. 719-730.
34. Mohri, S., *Study in Sporotrichosis - III. Histological and immunohistochemical study in experimental cutaneous sporotrichosis in man*. Yokohama Med Bull, 1987. **38**(1-2): p. 37-48.
35. Weedon, D., *Mycoses and Algal Infections*, in *Skin Parthology*, D. Weedon, Editor. 2002, Churchill Livingstone: London; New York. p. 659-90.
36. Magalhães, A.V., et al., *Histopathology of tegumentary leishmaniasis caused by Leishmania braziliensis braziliensis. 2. Tissue humoral response*. Rev Inst Med Trop Sao Paulo, 1986. **28**(5): p. 293-9.

37. Morgado, F.N., et al., *Is the in situ inflammatory reaction an important tool to understand the cellular immune response in American tegumentary leishmaniasis?* Br J Dermatol, 2008. **158**(1): p. 50-8.
38. Ridley, D.S., *A histological classification of cutaneous leishmaniasis and its geographical expression.* Trans R Soc Trop Med Hyg, 1980. **74**(4): p. 515-21.
39. Foucar, E., *Diagnostic decision-making in anatomic pathology.* Am J Clin Pathol, 2001. **116 Suppl**: p. S21-33.
40. Weigle, K.A., et al., *A clinical prediction rule for American cutaneous leishmaniasis in Colombia.* Int J Epidemiol, 1993. **22**(3): p. 548-58.
41. Gutierrez, Y., et al., *Correlation between histopathology, immune response, clinical presentation, and evolution in Leishmania braziliensis infection.* Am J Trop Med Hyg, 1991. **45**(3): p. 281-9.

## 6. TERCEIRO ARTIGO

Quintella LP, Cuzzi T, Madeira MF, Valete-Rosalino CM, Salgueiro MM, Vasconcellos ECF, Mouta-Confort E, Passos SRL, De Oliveira Schubach A.

***Cutaneous Leishmaniasis with Pseudoepitheliomatous Hyperplasia Simulating Squamous Cell Carcinoma.***

Artigo aceito no *The American Journal of Dermatopathology*.

Nesse artigo, em forma de carta ao editor, é relatado um caso de LC em que o exame histopatológico exhibe hiperplasia escamosa pseudoepiteliomatosa exuberante simulando um carcinoma de células escamosas, cujo resultado de cultura permitiu que se realizasse o diagnóstico correto.



CUTANEOUS LEISHMANIASIS WITH PSEUDOEPITHELIOMATOUS  
HYPERPLASIA SIMULATING SQUAMOUS CELL CARCINOMA.

L P Quintella, T Cuzzi, M F Madeira, C M Valete-Rosalino, M M Salgueiro, E C F Vasconcellos, E Mouta-Confort, S R L Passos, A O Schubach.

Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, Brasil.

Correspondence:

L P Quintella

Serviço de Anatomia Patológica

Instituto de pesquisa Clínica Evandro Chagas - FIOCRUZ

Av. Brasil, 4365. Manguinhos.

Rio de Janeiro, RJ. 21045-900

Telephone: +55 (21) 3865-9517

Fax: +55 (21) 2590-9988

[leonardo.quintella@ipec.fiocruz.br](mailto:leonardo.quintella@ipec.fiocruz.br); [leopquintella@gmail.com](mailto:leopquintella@gmail.com)

## **ABSTRACT**

American tegumentary leishmaniasis (ATL) usually presents with ulcers that must be distinguished from mucosal and skin cancer. Inflammatory ulcers sometimes present in histopathological examination with florid epithelial hyperplasia called pseudoepitheliomatous. Distinction between hyperplastic and neoplastic processes is best made with histopathological examination. We report a case of a skin ATL ulcer in which the hyperplasia was so intense as to raise strong consideration for squamous cell carcinoma. Promastigotes growth in culture established the correct diagnosis. Our report suggests that a multi-professional approach and a close communication between laboratories and the clinician can avoid unnecessary procedures.

In Rio de Janeiro state, Brazil, American tegumentary leishmaniasis (ATL) is caused by *Leishmania (Viannia) braziliensis*. The main clinical presentation is a single skin ulcer located in areas exposed to vector bites. Diagnosis is established by isolation of *Leishmania* in culture, or by amastigote detection in smears or histological sections, but parasitological demonstration is not always attained [1]. Histopathological findings include granulomatous dermatitis and occasionally pseudoepitheliomatous squamous hyperplasia (PESH) [2]. PESH is considered a response to chronic epithelial irritation of various etiologies and can simulate squamous cell carcinoma (SCC) [3, 4]. Cutaneous neoplasms are also frequently located on exposed areas of the body and are important leishmaniasis differential diagnosis [5]

A 59-year-old male from an endemic leishmaniasis rural area in Rio de Janeiro presented with swelling and redness of the left ear and a nodule on the right forearm, both evolving into ulceration in three months. Physical examination disclosed ulcers with raised firm edges on the right forearm (Fig. 1a), on the lower pendular portion of the left ear lobe (Fig. 1b), a palpable lymph node beneath the angle of the jaw and no lesions on mucosae of the upper aero-digestive tract.

Leishmanin skin test was positive, with 21 mm of induration. Indirect immunofluorescence and ELISA for leishmaniasis were negative on admission. Biopsy tissue sample submitted to histological examination measured 9 x 4 mm and was 3 mm thick. On microscopy, there was a squamous epithelial down-growing proliferation with irregular contours and infiltrating aspect (Fig. 1c), arranged in cords and small nests (Fig. 1d) or, occasionally, in concentric disposition, forming horny pearls (Fig. 1e). Some cords and nests were situated deep in the dermis. Cytological atypia or atypical mitoses were absent. There was mild mixed inflammatory infiltrate (Fig. 1c) and no granulomas. Two pathologists examined the slides and reported “atypical squamous proliferation consistent with well-differentiated SCC”, with notices that the lesion was partially resected, the sample was superficial and that a hyperplastic process could not be ruled out. Parasitological culture in Novy-Nicolle-McNeal medium and subsequent isoenzyme analysis identified *Leishmania (Viannia) braziliensis*. Histological slide review revealed rare structures consistent with *Leishmania* sp. amastigotes (Fig 1e, insert).

Treatment was started with meglumine antimoniate for 30 days. Three months after the end of therapy, lesions were re-epithelialized. Histopathology of a new biopsy sample of the arm lesion showed fibrosis and very focal small granulomas. No

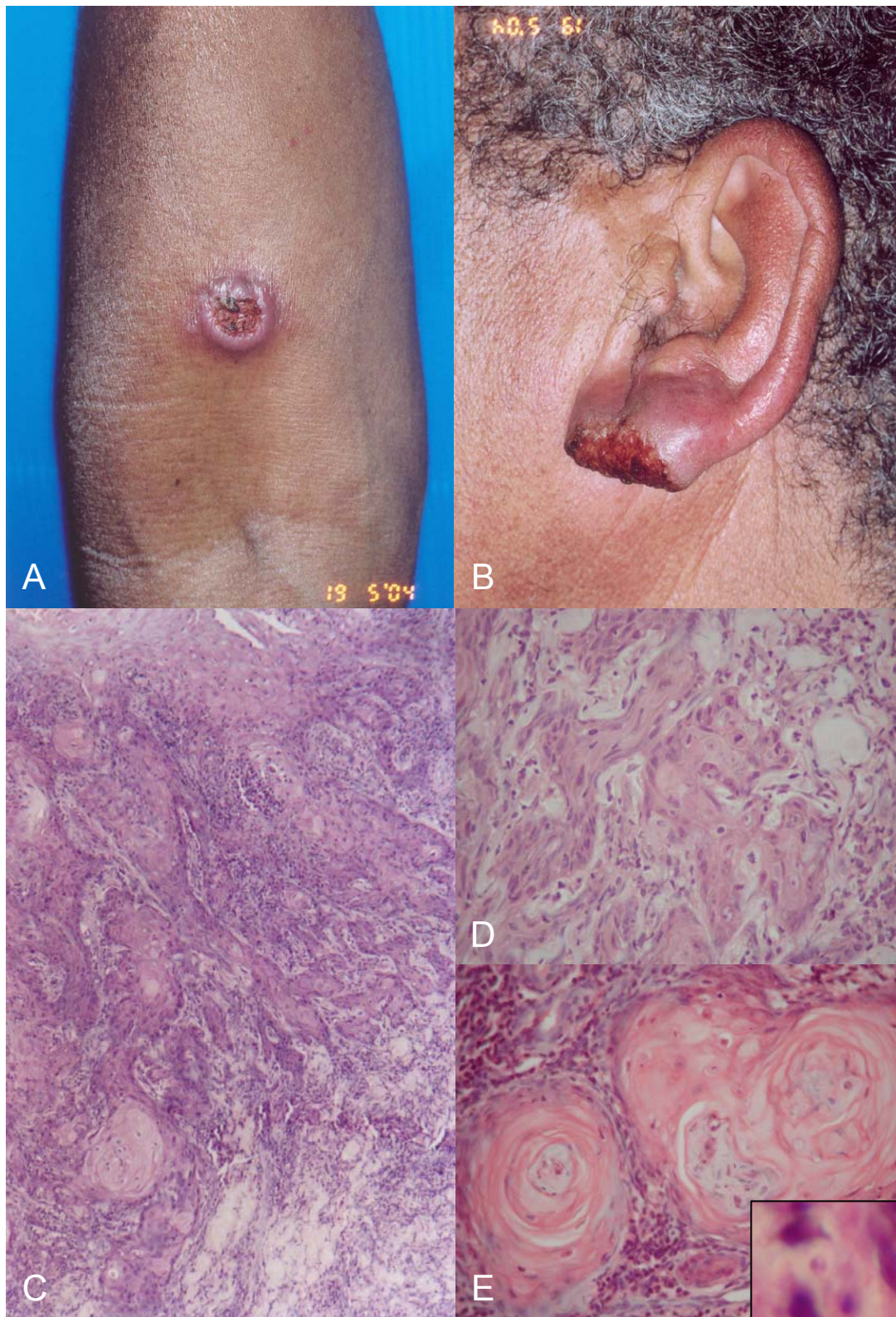
epithelial proliferation or amastigotes were seen and the lesion was considered consistent with a healing process.

Patient was lost to follow up.

PESH is a microscopic pattern of tissue reaction characterized by uneven growth of squamous cells toward underlying connective tissue. It can be distinguished from SCC by the co-existence of an exuberant inflammatory infiltrate and the lack of histological and cytological signs of malignancy [6]. Grunwald and Ackerman [3] stated that horny pearls are more frequent in SCC, but can be seen in PESH.

Close clinic-pathological correlation beside good communication between attending physicians and pathologists can avoid mistaken diagnoses and unnecessary therapeutic procedures [7, 8]. Our case also emphasizes the importance of generous sampling and multidisciplinary approach in the differential diagnosis of cutaneous ulcers. A diagnosis of SCC may also be missed if histopathological examination is not included in this investigation [9].

Concomitance of ATL and cutaneous neoplasms is theoretically possible and was recently reported [10] but the patient's evolution and findings on second biopsy make this possibility extremely unlikely.



**Figure 1.** Ulcers with firm raised edges on the right forearm (A) and earlobe (B). Squamous epithelial cell proliferation with infiltrating aspect (C) with cords, small nests (D), horny pearls (E) and rare amastigote forms (insert).

## References

1. de Oliveira-Neto MP, Mattos MS, Perez MA, et al., *American tegumentary leishmaniasis (ATL) in Rio de Janeiro State, Brazil: main clinical and epidemiologic characteristics*. Int J Dermatol, 2000. **39**(7): p. 506-514.
2. Dimier-David L, Ravisse P, Bustillos R, et al., [*Histopathology of mucocutaneous leishmaniasis caused by Leishmania (Vianna) braziliensis*]. Ann Dermatol Venereol, 1994. **121**(5): p. 387-392.
3. Grunwald MH, Lee JY, and Ackerman AB, *Pseudocarcinomatous hyperplasia*. Am J Dermatopathol, 1988. **10**(2): p. 95-103.
4. Hurwitz RM, *Pseudocarcinomatous or infundibular hyperplasia*. Am J Dermatopathol, 1989. **11**(2): p. 189-192.
5. Grevelink SA and Lerner EA, *Leishmaniasis*. J Am Acad Dermatol, 1996. **34**(2 Pt 1): p. 257-272.
6. Murphy GF and Elder DE, *Non-melanocytic tumors of the skin*. Atlas of tumor pathology, fasc. 1, ed. Rosai J and Sobin LH. 1991, Washington, D.C.: Armed Forces Institute of Pathology: Available from the American Registry of Pathology.
7. Khorsandi-Ashtiani MT, Hasibi M, Yazdani N, et al., *Auricular leishmaniasis mimicking squamous cell carcinoma*. J Laryngol Otol, 2009. **123**(8): p. 915-918.
8. Gacek MR, Gacek RR, Gantz B, et al., *Pseudoepitheliomatous hyperplasia versus squamous cell carcinoma of the external auditory canal*. Laryngoscope, 1998. **108**(4 Pt 1): p. 620-623.
9. Fagundes A, Schubach A, de Paula CC, et al., *Evaluation of polymerase chain reaction in the routine diagnosis for tegumentary leishmaniasis in a referral centre*. Mem Inst Oswaldo Cruz, 2010. **105**(1): p. 109-112.
10. Karabekmez FE, Duymaz A, Keskin M, et al., *Squamous cell carcinoma on cutaneous leishmaniasis lesion*. Dermatol Surg, 2008. **34**(12): p. 1742-1743.

## 7. CONCLUSÕES

- As lesões cutâneas ativas de esporotricose se caracterizaram do ponto de vista histopatológico por uma dermatite granulomatosa, mais freqüentemente difusa, com granulomas mal formados, supurativos, com células epitelióides, associados a infiltrado inflamatório linfoplasmocitário e com necrose liquefativa central. O fungo foi detectado em 35,3% dos casos;
- No exame histopatológico das lesões cutâneas ativas de esporotricose a ausência da visualização do fungo foi mais freqüente na presença de: granulomas dos tipos epitelióide sem outras especificações, tuberculóides ou corpo estranho, linfócitos como células não mononucleares fagocitárias predominantes no infiltrado inflamatório, necrose caseosa, fibrinóide ou ausente ou fibrose;
- Lesões cutâneas ativas de esporotricose sem visualização do fungo foram menos freqüentes com: granulomas supurativos, neutrófilos dentre as células não mononucleares fagocitárias no infiltrado inflamatório, necrose liquefativa, necrose de qualquer tipo fora do centro do granuloma e exocitose;
- Nas lesões cutâneas ativas de LC ou esporotricose em que o agente etiológico não foi visualizado, a presença de granulomas tuberculóides, clareiras de Montenegro e degeneração da matriz extracelular indicaram chances duas a quatro vezes maiores do diagnóstico de LC em relação à esporotricose;
- Nas lesões cutâneas ativas de LC ou esporotricose em que o agente etiológico não foi visualizado, a presença de granulomas supurativos, granulomas estrelados células gigantes de mais de um tipo, granulomas associados ao tecido de granulação ou abscessos não associados aos granulomas indicaram chances de duas a onze vezes maiores do diagnóstico de esporotricose em relação à LC;

- A estimativa da força da associação entre as alterações histopatológicas e o diagnóstico de LC ou esporotricose através de uma análise múltipla por regressão logística permitiu estabelecer uma pontuação que pondera a importância dessas alterações no diagnóstico;
- O modelo de regressão logística baseado na análise em conjunto das alterações histopatológicas apresentou alta acurácia para o diagnóstico diferencial entre a LC e a esporotricose;
- Nenhuma alteração histopatológica teve confiabilidade (concordância interobservador) perfeita ou quase perfeita. Dentre as alterações relevantes para o diagnóstico diferencial entre LC e esporotricose, apenas clareira de Montenegro e granuloma supurativo apresentaram confiabilidade substancial. As demais alterações apresentaram confiabilidade moderada, razoável ou discreta, o que pode comprometer a reprodutibilidade da regra proposta;
- A hiperplasia pseudoepiteliomatosa na LC pode simular um carcinoma de células escamosas, ressaltando a importância da abordagem multidisciplinar na investigação das lesões ulcerosas da pele.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agarwal, S., K. Gopal, et al. (2008). "Sporotrichosis in Uttarakhand (India): a report of nine cases." Int J Dermatol **47**(4): 367-71.
- Bailar, J. C., 3rd, G. T. Mellinger, et al. (1966). "Survival rates of patients with prostatic cancer, tumor stage, and differentiation--preliminary report." Cancer Chemother Rep **50**(3): 129-36.
- Bari, A. U. and S. B. Rahman (2008). "Many faces of cutaneous leishmaniasis." Indian J Dermatol Venereol Leprol **74**(1): 23-7.
- Barral, A., R. P. Almeida, et al. (1987). "The relevance of characterizing Leishmania from cutaneous lesions. A simple approach for isolation." Mem Inst Oswaldo Cruz **82**(4): 579.
- Barros, M. B., O. Schubach Ade, et al. (2004). "Cat-transmitted sporotrichosis epidemic in Rio de Janeiro, Brazil: description of a series of cases." Clin Infect Dis **38**(4): 529-35.
- Barros, M. B., A. O. Schubach, et al. (2007). "An epidemic of sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: epidemiological aspects of a series of cases." Epidemiol Infect: 1-5.
- Barros, M. B. L., T. M. Schubach, et al. (2001). "Sporotrichosis: an emergent zoonosis in Rio de Janeiro." Mem Inst Oswaldo Cruz **96**(6): 777-9.
- Berman, J. D. (1988). "Chemotherapy for leishmaniasis: biochemical mechanisms, clinical efficacy, and future strategies." Rev Infect Dis **10**(3): 560-86.
- Bloom, H. J. and W. W. Richardson (1957). "Histological grading and prognosis in breast cancer; a study of 1409 cases of which 359 have been followed for 15 years." Br J Cancer **11**(3): 359-77.
- Bowdre, J. H., J. L. Campbell, et al. (1981). "American mucocutaneous leishmaniasis. Culture of a Leishmania species from peripheral blood leukocytes." Am J Clin Pathol **75**(3): 435-8.
- Bullpitt, P. and D. Weedon (1978). "Sporotrichosis: a review of 39 cases." Pathology **10**(3): 249-56.
- Byrd, D. R., R. A. El-Azhary, et al. (2001). "Sporotrichosis masquerading as pyoderma gangrenosum: case report and review of 19 cases of sporotrichosis." J Eur Acad Dermatol Venereol **15**(6): 581-4.
- Chandler, F. W., W. Kaplan, et al. (1980). Sporotrichosis. Color atlas and text of the histopathology of mycotic diseases. Chicago, Year Book Medical Publishers: 112-115.
- Cohen, J. (1960). "A coefficient of agreement for nominal scales." Educ Psychol Meas **20**(1): 37-46.
- DeBeurmann, L. and H. Gougerot (1907). "Sporotrichoses tubercuoïdes." Annales de dermatologie et de syphiligraphie **8**: 497-544.
- Elston, C. W. and I. O. Ellis (1991). "Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up." Histopathology **19**(5): 403-10.
- Epstein, J. I., W. C. Allsbrook, Jr., et al. (2006). "Update on the Gleason grading system for prostate cancer: results of an international consensus conference of urologic pathologists." Adv Anat Pathol **13**(1): 57-9.
- Esposito, S., G. Valente, et al. (2004). "Histological score for cells with irregular nuclear contours for the diagnosis of reflux esophagitis in children." Hum Pathol **35**(1): 96-101.



- Fagundes, A., A. Schubach, et al. (2010). "Evaluation of polymerase chain reaction in the routine diagnosis for tegumentary leishmaniasis in a referral centre." Mem Inst Oswaldo Cruz **105**(1): 109-12.
- Gleason, D. F. (1966). "Classification of prostatic carcinomas." Cancer Chemother Rep **50**(3): 125-8.
- Gomes, A. H., I. M. Armelin, et al. (2008). "Leishmania (V.) braziliensis: detection by PCR in biopsies from patients with cutaneous leishmaniasis." Exp Parasitol **119**(3): 319-24.
- Grevelink, S. A. and E. A. Lerner (1996). "Leishmaniasis." J Am Acad Dermatol **34**(2 Pt 1): 257-72.
- Grimes, D. A. and K. F. Schulz (2002). "Uses and abuses of screening tests." Lancet **359**(9309): 881-4.
- Grimes, D. A. and K. F. Schulz (2005). "Refining clinical diagnosis with likelihood ratios." Lancet **365**(9469): 1500-5.
- Gutierrez, Y., G. H. Salinas, et al. (1991). "Correlation between histopathology, immune response, clinical presentation, and evolution in Leishmania braziliensis infection." Am J Trop Med Hyg **45**(3): 281-9.
- Ishak, K., A. Baptista, et al. (1995). "Histological grading and staging of chronic hepatitis." J Hepatol **22**(6): 696-9.
- Kenner, J. R., N. E. Aronson, et al. (1999). "Immunohistochemistry to identify Leishmania parasites in fixed tissues." J Cutan Pathol **26**(3): 130-6.
- Lainson, R. (1983). "The American leishmaniasis: some observations on their ecology and epidemiology." Trans R Soc Trop Med Hyg **77**(5): 569-96.
- Lainson, R., J. J. Shaw, et al. (1994). "The dermal leishmaniasis of Brazil, with special reference to the eco-epidemiology of the disease in Amazonia." Mem Inst Oswaldo Cruz **89**(3): 435-43.
- Landis, J. R. and G. G. Koch (1977). "The measurement of observer agreement for categorical data." Biometrics **33**(1): 159-74.
- Lima Barros, M. B., A. Schubach, et al. (2005). "Positive Montenegro skin test among patients with sporotrichosis in Rio De Janeiro." Acta Trop **93**(1): 41-7.
- Livni, N., A. Abramowitz, et al. (1983). "Immunoperoxidase method of identification of Leishmania in routinely prepared histological sections." Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol **401**(2): 147-51.
- Lurie, H. I. (1963). "Histopathology of sporotrichosis. Notes on the nature of the asteroid body." Arch Pathol **75**: 421-37.
- Magalhães, A. V., M. A. Moraes, et al. (1986). "Histopathology of cutaneous leishmaniasis by Leishmania braziliensis braziliensis. 1. Histopathological patterns and study of the course of the lesions." Rev Inst Med Trop Sao Paulo **28**(4): 253-62.
- Marsden, P. D. (1986). "Mucosal leishmaniasis ("espundia" Escobel, 1911)." Trans R Soc Trop Med Hyg **80**(6): 859-76.
- Marsden, P. D., M. S. Tada, et al. (1984). "Spontaneous healing of Leishmania braziliensis braziliensis skin ulcers." Trans R Soc Trop Med Hyg **78**(4): 561-2.
- Martinez, J. E., Alba, et al. (1992). "Haemoculture of Leishmania (Viannia) braziliensis from two cases of mucosal leishmaniasis: re-examination of haematogenous dissemination." Trans R Soc Trop Med Hyg **86**(4): 392-4.
- McGinn, T. G., G. H. Guyatt, et al. (2000). "Users' guides to the medical literature: XXII: how to use articles about clinical decision rules. Evidence-Based Medicine Working Group." Jama **284**(1): 79-84.

- Medeiros, A. C., S. S. Rodrigues, et al. (2002). "Comparison of the specificity of PCR and the histopathological detection of leishmania for the diagnosis of American cutaneous leishmaniasis." Braz J Med Biol Res **35**(4): 421-4.
- Montenegro, J. B. F. (1924). "Anátomo-Pathologia da leishmaniose cutânea: úlcera de Bauru." An Paul Med Cirurg **15**: 5-11.
- Oliveira-Neto, M. P., C. Pirmez, et al. (1988). "An outbreak of American cutaneous leishmaniasis (*Leishmania braziliensis braziliensis*) in a periurban area of Rio de Janeiro city, Brazil: clinical and epidemiological studies." Mem Inst Oswaldo Cruz **83**(4): 427-35.
- Pirmez, C., V. da Silva Trajano, et al. (1999). "Use of PCR in diagnosis of human american tegumentary leishmaniasis in Rio de Janeiro, Brazil." J Clin Microbiol **37**(6): 1819-23.
- Quintella, L. P., T. Cuzzi, et al. (2009). "Immunoperoxidase technique using an anti-*Leishmania* (L.) *chagasi* hyperimmune serum in the diagnosis of culture-confirmed American tegumentary leishmaniasis." Rev Inst Med Trop Sao Paulo **51**(2): 83-6.
- Rangel, E. F., A. C. Azevedo, et al. (1990). "Studies on sandfly fauna (Diptera: Psychodidae) in a foci of cutaneous leishmaniasis in mesquita, Rio de Janeiro State, Brazil." Mem Inst Oswaldo Cruz **85**(1): 39-45.
- Reilly, B. M. and A. T. Evans (2006). "Translating clinical research into clinical practice: impact of using prediction rules to make decisions." Ann Intern Med **144**(3): 201-9.
- Ridley, D. S. (1980). "A histological classification of cutaneous leishmaniasis and its geographical expression." Trans R Soc Trop Med Hyg **74**(4): 515-21.
- Ridley, D. S., A. V. Magalhães, et al. (1989). "Histological analysis and the pathogenesis of mucocutaneous leishmaniasis." J Pathol **159**(4): 293-9.
- Ridley, D. S., P. D. Marsden, et al. (1980). "A histological classification of mucocutaneous leishmaniasis in Brazil and its clinical evaluation." Trans R Soc Trop Med Hyg **74**(4): 508-14.
- Rodrigues, E. H., M. E. Felinto de Brito, et al. (2002). "Evaluation of PCR for diagnosis of American cutaneous leishmaniasis in an area of endemicity in northeastern Brazil." J Clin Microbiol **40**(10): 3572-6.
- Rojas, C. A., K. A. Weigle, et al. (2002). "Surveillance and screening of American cutaneous leishmaniasis by Colombian primary health care workers using a clinical prediction rule." Trans R Soc Trop Med Hyg **96**(4): 405-10.
- Rosa, A. C., M. L. Scroferneker, et al. (2005). "Epidemiology of sporotrichosis: a study of 304 cases in Brazil." J Am Acad Dermatol **52**(3 Pt 1): 451-9.
- Schubach, A., M. B. Barros, et al. (2008). "Epidemic sporotrichosis." Curr Opin Infect Dis **21**(2): 129-33.
- Schubach, A., T. Cuzzi-Maya, et al. (2001). "Leishmanial antigens in the diagnosis of active lesions and ancient scars of American tegumentary leishmaniasis patients." Mem Inst Oswaldo Cruz **96**(7): 987-96.
- Sells, P. G. and M. Burton (1981). "Identification of *Leishmania* amastigotes and their antigens in formalin fixed tissue by immunoperoxidase staining." Trans R Soc Trop Med Hyg **75**(3): 461-8.
- Sotto, M. N., E. H. Yamashiro-Kanashiro, et al. (1989). "Cutaneous leishmaniasis of the New World: diagnostic immunopathology and antigen pathways in skin and mucosa." Acta Trop **46**(2): 121-30.

- Veronese, L. A., J. E. Corrente, et al. (2006). "Cutaneous malignant melanoma: scoring system to assist in the histopathologic diagnosis." J Bras Patol Med Lab **42**(5): 375-383.
- Walton, B. C., L. V. Chinel, et al. (1973). "Onset of espundia after many years of occult infection with *Leishmania braziliensis*." Am J Trop Med Hyg **22**(6): 696-8.
- Weedon, D. (2002). Protozoal Infections. Skin Parthology. D. Weedon. London; New York, Churchill Livingstone: 719-730.
- Weedon, D. and G. Strutton (2002). Skin pathology. London; New York, Churchill Livingstone.
- Weigle, K. A., M. Escobar, et al. (1993). "A clinical prediction rule for American cutaneous leishmaniasis in Colombia." Int J Epidemiol **22**(3): 548-58.

**Lista de Verificação de Achados Histopatológicos Descritivos da  
Esporotricose Cutânea (Versão Abr/2009)**

Caso número:

Data:        /        /

**40x**

**I) Distribuição do Infiltrado Inflamatório (Predominante: 1~8)**

- 1) Difusa (S/N)
- 2) Perianexial (S/N)
- 3) Perivascular (S/N)
- 4) Perineural (S/N)
- 5) Panículo (S/N)
- 6) Vasculite (S/N)
- 7) Faixa (S/N)
- 8) Intersticial (S/N)

**II) Ulceração (1~3)**

**1) Caracterizada**

Perda do revestimento epitelial, exsudato formando crosta ou material necrótico sobre tecido de granulação.

**2) Suposta**

Apenas tecido de granulação ou exsudato.

**3) Ausente**

Epiderme íntegra

**III) Hiperplasia Escamosa (1~5)**

**1) Regular**

Cones epidérmicos de largura e altura semelhantes.

**2) Irregular**

Cones epidérmicos de largura e altura com grande variação.

**3) Pseudoepiteliomatosa**

Maçãos escamosos de formato, largura e altura variáveis, com extensão profunda na derme e aspecto infiltrativo.

**4) Ausente ou mínima**

**5) Epiderme ausente (não avaliável)**

## 100x

### IV) Outras Alterações Epidérmicas

- 1) Espongiose (S/N)
- 2) Paraceratose (S/N)
- 3) Exocitose (S/N)

### ADEQUAÇÃO DA AMOSTRA PARA AVALIAÇÃO

- 1) Boa técnica histológica (S/N)
- 2) Amostra representativa (S/N)  
Representação de, pelo menos, derme reticular alta
- 3) Lesão representativa
  - a. Dermatite difusa (S/N)
  - b. Dermatite granulomatosa (S/N)
  - c. Infiltrado inflamatório ocupa mais de 1/2 da superfície do corte (S/N)

## 400x

### COMPOSIÇÃO DO INFILTRADO INFLAMATÓRIO:

#### Células do Sistema Mononuclear Fagocitário

#### A) Tipos: (Predominante: 1~5)

- 1) Macrófagos (S/N)
- 2) Outras células (espumosas, vacuoladas, Touton...) (S/N)
- 3) Células gigantes tipo corpo estranho (S/N)
- 4) Células epitelióides (S/N)
- 5) Células gigantes tipo Langhans (S/N)

#### B) Organização (1~3):

- 1) Inespecífico  
Sem granulomas
- 2) Granuloma mal formado  
Agregados macrofágicos ou células epitelióides pouco coesas em agregados mal delimitados.
- 3) Granuloma bem formado  
Células epitelióides coesas em agregados arredondados e bem delimitados.

C) Tipo do granuloma (Predominante 1~5):

1) Corpo estranho (S/N)

Predomínio de macrófagos ativados e células gigantes tipo corpo estranho

2) Tuberculóide (S/N)

Granulomas bem formados, com necrose caseosa central, células gigantes tipo Langhans e infiltrado linfoplasmocitário ao redor.

3) Sarcóide (S/N)

Granulomas nus, justapostos, pequenos, arredondados, com células gigantes tipo Langhans e tipo corpo estranho.

4) Paliçada (S/N)

Granulomas com centro necrótico ou necrobiótico e histiócitos arranjados em paliçada ao redor da necrose.

5) Supurativo (piogranuloma) (S/N)

Associado a necrose liquefativa

6) Epitelióide SOE (S/N)

Mal formado, sem necrose ou supuração

D) Outras células (não mononucleares fagocitárias) (Predominante: 1~5)

1) Plasmócitos (S/N)

2) Linfócitos (S/N)

3) Neutrófilos (S/N)

4) Eosinófilos (S/N)

5) Ausentes ou raríssimas (S/N)

## NECROSE

A) Tipo (Predominante: 1~5)

1) Caseosa (S/N)

2) Liquefativa (S/N)

3) Coagulativa (S/N)

4) Fibrinóide (S/N)

5) Ausente (S/N)

B) Localização (Predominante 1~5)

1) Centro do granuloma (S/N)

2) Associada ao granuloma (S/N)

3) Associada ao infiltrado inflamatório não granulomatoso (S/N)

4) Associada à ulceração (S/N)

5) Sem associação aparente (S/N)

## OUTRAS ALTERAÇÕES

1) Hemorragia (S/N)

2) Trombose (S/N)

3) Fibrose (S/N)

4) Proliferação vascular (S/N)

HISTOPATOLOGIA LTA x Esporo 2010

IDENTIFICAÇÃO

Número de Registro \_\_\_\_\_

Data do Exame HP:     /     /

Examinador \_\_\_\_\_

1-LPQ; 2-LHMM

**REAÇÕES TECIDUAIS (1-SIM; 2-NÃO)**

Granulomas tuberculóides \_\_\_\_\_

Granulomas tipo corpo estranho \_\_\_\_\_

Clareiras de Montenegro \_\_\_\_\_

Granulomas esporotricóticos \_\_\_\_\_

Piogranulomas \_\_\_\_\_

Granulomas supurativos \_\_\_\_\_

Granulomas intersticiais \_\_\_\_\_

Granulomas estrelados \_\_\_\_\_

Fagócitos mais numerosos que outras células \_\_\_\_\_

Células gigantes de vários tipos \_\_\_\_\_

Granulomas associados a tecido de granulação \_\_\_\_\_

Agregados plasmocitários \_\_\_\_\_

Abscessos não associados ao granuloma \_\_\_\_\_

Supuração não associada ao granuloma \_\_\_\_\_

Degeneração da matriz extracelular \_\_\_\_\_

Neutrófilos na epiderme \_\_\_\_\_

Aspirador de pó escamoso com neutrófilos \_\_\_\_\_

Aspirador de pó escamoso com fagócitos \_\_\_\_\_

Fibrose \_\_\_\_\_

**DIAGNÓSTICO (1-LTA; 2-Esporo)**

Diagnóstico intuitivo histopatológico \_\_\_\_\_

Diagnóstico de cultura \_\_\_\_\_

APÊNDICE C – Comprovante de aceitação do terceiro artigo

De: "American Journal of Dermatopathology" [ajdermpath@wfubmc.edu](mailto:ajdermpath@wfubmc.edu)

Assunto: AJD Decision

Data: Dom, Novembro 28, 2010 11:14 pm

Para: "Leonardo Pereira Quintella" <[leonardo.quintella@ipecc.fiocruz.br](mailto:leonardo.quintella@ipecc.fiocruz.br)>

---

Nov 28, 2010

RE: AJD-D-10-00337, titled "CUTANEOUS LEISHMANIASIS WITH PSEUDOEPITHELIOMATOUS HYPERPLASIA SIMULATING SQUAMOUS CELL CARCINOMA"

Dear Dr. Quintella,

I am pleased to inform you that your work has now been accepted for publication in The American Journal of Dermatopathology. All manuscript materials will be forwarded immediately to the production staff for placement in an upcoming issue.

Thank you for submitting your interesting and important work to the journal.

<http://ajd.edmgr.com/>

Your username is: leopq  
Your password is: xxxxxxxx

With Kind Regards,

Dr. Omar P. Sangüeza  
Editor-in-Chief  
The American Journal of Dermatopathology

---