

Comparação da técnica de preparo em citologia de base líquida versus convencional nas amostras de urina e lavado vesical: estudo preliminar

Yuriko Ito SAKAI¹, Neuza Kasumi SHIRATA¹, Luzia Setuko Umeda YAMAMOTO¹, Daniela ETLINGER¹, Luciana Silva AGUIAR¹, Sonia Maria Miranda PEREIRA¹, Américo Toshiaki SAKAI², Celso di LORETO¹

¹Núcleo de Anatomia Patológica, Centro de Patologia, Instituto Adolfo Lutz

²Hospital Universitário, Universidade de São Paulo, USP

O câncer de bexiga é a quarta neoplasia entre os homens e a oitava entre as mulheres nos Estados Unidos (EUA), enquanto que na literatura brasileira nada consta. Dados epidemiológicos e estudos experimentais permitiram identificar em 30% a 60% dos fatores de risco relacionados com o desenvolvimento de câncer de bexiga, dentre eles aminas aromáticas (Exposições ocupacionais em indústrias de tinta, borracha, couro, gráfica e têxtil), tabaco, metabólitos de triptofano, abuso no consumo de analgésicos contendo fenacetina, irradiação pélvica, *Schistosoma haematobium* (área endêmica do oriente médio) e emprego de ciclofosfamida (quimioterapia)^{1,2}.

Pacientes portadores de carcinoma do epitélio urotelial de bexiga necessitam de avaliação periódica para o controle do aparecimento de recidivas ou tumores associados. A citologia oncótica é utilizada como método de triagem para prevenção e seguimento do câncer do trato urinário inferior, porém sua eficácia depende de fatores pré-analíticos e analíticos, dentre eles a adequabilidade da amostra, celularidade, tipo de amostra (urina ou lavado vesical), preservação,

volume, técnica de preparo, coloração, profissional com experiência no diagnóstico de citomorfologia urinária. Nos estudos da citologia oncótica de amostra urinária tem a vantagem de ser um método simples, de baixo custo, com boa sensibilidade (40% a 100%) e alta especificidade (92%)³⁻⁶.

O objetivo deste estudo foi comparar a qualidade das técnicas de preparo adotadas no Núcleo de Anatomia Patológica do Instituto Adolfo Lutz (NPA-CP-IAL) com o método de Citologia de Base Líquida (CBL); avaliar tempo de preparo, tempo de escrutínio, celularidade, fundo do esfregaço e área de escrutínio.

Para o estudo piloto foram utilizadas seis amostras de urina e lavado vesical de amostras sabidamente positivas. O volume urinário total de cada paciente foi centrifugado a 1500 rpm por 5 minutos. O sedimento foi dividido em 4 alíquotas iguais sendo 3 utilizadas para a realização das técnicas de rotina do NPA-CP-IAL e 1 para a CBL.

Na técnica da CBL foi adicionado 1mL da solução PreservCyt (ThinPrep®) no sedimento da alíquota, realizada a ressuspensão, homogenizado

e segunda centrifugação a 1500rpm/5minutos. O sedimento obtido foi adicionado ao frasco de procedimento da ThinPrep® e fixado por 15 minutos. Em seguida a amostra foi processada no aparelho da ThinPrep® segundo instrução do fabricante para amostra urinária, obtendo esfregaço circular que foi fixado imediatamente em álcool absoluto (área aproximada de 393 mm²). Para o preparo da citologia convencional na rotina do NPA-CP-IAL utilizamos amostras de urina e lavado vesical a fresco ou pré-conservadas em álcool etílico a 50%. Todo o volume da amostra foi centrifugado para obtenção do sedimento para otimizar a celularidade. As outras técnicas seguiram os procedimentos padrões adotados no NPA-CP-IAL que foram realizadas pelas técnicas de: 1) esfregaço direto (ED) com 50 µL do sedimento em lâminas dupla untada com preparado de glicerina/albumina de acordo com Mayer (área aproximada 1250 mm²); 2) esfregaço por citocentrifugação (CC): primeiramente o sedimento foi avaliado quanto a concentração celular (1 a 4 cruzes) e o volume utilizado foi de 500, 400, 300 e 200 µL respectivamente, colocados no CITOSPIN (citofunil + citofiltro + lâmina) e posteriormente citocentrifugação a 1500 rpm/10 minutos, obtendo um esfregaço de 6 mm de diâmetro (área aproximada de 28 mm²); 3) filtro de membrana (FM) de procedimento manual da “Millipore CO®”, foi colocado a membrana (25 mm de diâmetro) a base de celulose com 5 µ de microporo no suporte (SW0025) acoplado a uma seringa. Na seringa adicionou-se 1 mL da solução salina ao sedimento, pressionou-se o embolo eliminando toda solução e o material celular retido na membrana numa área aproximada de 491 mm². Os esfregaços foram coradas pelo método de Papanicolaou modificado utilizado no NPA-CP-IAL e seladas com verniz e lamínula para análise ao microscópio óptico.

Num total de 30 lâminas (6CBL, 12ED, 6CC, 6FM) foram realizadas leituras (escrutínio) por pesquisadores e citopatologistas. Cinco parâmetros foram avaliados

(tempo de preparação, tempo de escrutínio, fundo do esfregaço, celularidade, citomorfologia) com pontuação de 1 a 4 (1 = ruim, 2 = regular, 3 = bom e 4 = ótimo). Os resultados foram expressos por meio da média ponderada dos pontos (Tabela 1).

Tabela 1. Distribuição da avaliação dos parâmetros de escrutínio em relação ao procedimento das quatro técnicas citológicas (ED, CC, FM, BL)

Parâmetros	Procedimentos			
	ED*	CC**	FM***	BL****
Área de escrutínio	1250mm ²	28mm ²	491mm ²	393mm ²
Tempo de preparo	1	3	2	3,5
Tempo de escrutínio	1,2	3,8	1,5	3,5
Fundo do esfregaço	1,83	3,3	1,33	3,83
Celularidade	1,7	2,1	1,93	3,23
Citomorfolgia	2,83	3,5	2,6	3,6
Total	8,56	15,7	9,36	17,66

Pontuações: 1-ruim, 2-regular, 3-bom, 4-ótimo

*Esfregaço direto

**Citocentrifugação

***Filtro de membrana

****Base líquida

A técnica de CBL apresentou melhor desempenho quanto à celularidade, melhor qualidade do fundo do esfregaço que cooperou na melhora do tempo de escrutínio e menor tempo de preparo da amostra. O método de CC apresentou menor área de escrutínio, com tempo reduzido de leitura dos esfregaços em até 4 vezes menor ao esfregaço de CBL segundo a literatura, seguido pela técnica de FM e por fim o ED, com desempenho inferior em todos os parâmetros, com exceção da discreta melhora na citomorfologia.

A disposição arquitetural aglomerado celular foi preservada com menos distinção na CBL, onde se apresentaram camadas finas que permitiram melhor avaliação citomorfológicas, porém com perda de nitidez na borda das células.

Concluimos neste estudo preliminar que as técnicas de citocentrifugação e base líquida foram as que apresentaram melhor avaliação quando comparadas com o esfregaço simples e filtro de membrana. Ainda não podemos afirmar qual o melhor método para a rotina de citologia urinária, mas vários estudos têm mostrado que a citologia de base líquida pode trazer benefícios em casos com acentuada hemorragia, inflamação e debris celular, melhorando assim a qualidade do esfregaço e consequentemente o diagnóstico citopatológico.

REFERÊNCIAS

1. Sakai YI. Estudo Comparativo entre amostras de Urina e de Lavado vesical e entre técnicas de esfregaço, de filtro de membrana e de citocentrifugação em citologia oncológica para câncer de bexiga. [dissertação de doutorado]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina, Departamento de Urologia; 2002.
2. Sakai YI, Sakai AT, Srougi M, Maeda MYS, Shirata NK, Yamamoto LSU, Utagawa ML and di Loreto C. Comparative study of urinary cytology in urine and bladder washing sample smear, membrane filter and cytocentrifugation techniques. *Rev Inst Adolfo Lutz* 2003; 62(2): 143.
3. Shin BK, Yung Suk Lee, Jeong H, Lee SH, Kim H, Kim A, Kim I and Kim HK. *Korea J Cytopathol* 2008; 19 (2):136-43.
4. Piaton E, Faynel J, Hutin K, Ranchin M-C and Cottier M. Conventional liquid-based techniques versus Cytoc ThinPrep processing of urinary samples: a qualitative approach. *BMC Clin Pathol*. 2005; 5(9):1-7
5. Nassar H, Ali-Fehmi R, Madan S. Use of ThinPrep monolayer technique and Cytospin preparation in urine cytology: a comparative analysis. *Diag Cytopathol* 2003; 28:115-8.
6. Leung CS, Chiu B and Bell V. Comparison of ThinPrep and conventional preparations: nongynecologic cytology evaluation. *Diag Cytopathol*. 1977; 16: 368-71