



Repertorio de Medicina y Cirugía

www.elsevier.es/repertorio



Artículo de investigación

Hallazgos del lavado broncoalveolar procesado con técnica de cytopspin y citología convencional



José Fernando Polo^{a,*}, Victoria Elena Peña^b y Cristian Jair Pérez^b

^a Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud, Bogotá, Colombia

^b Departamento de Patología, Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud, Bogotá, Colombia

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 2 de junio de 2015

Aceptado el 23 de septiembre de 2015

On-line el 29 de marzo de 2016

Palabras clave:

Lavado broncoalveolar

Recuento celular

Cytopspin

Técnica convencional

R E S U M E N

Actualmente la interpretación de la citología en lavado broncoalveolar (BAL) se realiza por medio de técnicas de citología convencional o en cytopspin. Esta última obtiene preparaciones concentradas en un área de 6 mm para su visualización, con lo que se disminuye el tiempo de lectura por cada muestra, sin deterioro de la calidad.

Objetivo: Determinar la diferencia del tiempo de lectura y la calidad de la técnica convencional comparada con la técnica en cytopspin.

Diseño del estudio: Estudio de corte transversal. Se incluyeron muestras de BAL. Las muestras se procesaron con técnica convencional y con técnica por cytopspin. Se comparó el tiempo de lectura para el diagnóstico de cada técnica. Se evaluó la calidad considerando: preservación celular y extendido inflamatorio. La diferencia de tiempos entre las técnicas se determinó por la prueba de Wilcoxon.

Resultados: Se procesaron 80 láminas de BAL: 40 casos con la técnica convencional y 40 casos con la técnica en cytopspin. A 6 casos no se les realizó conteo diferencial, 4 por exceso de células escamosas y 2 casos en la técnica convencional por no completar 300 células. Se encontró degeneración marcada de las células epiteliales en la técnica convencional con diferencia significativa en el tiempo de lectura con un valor p (0,0000).

Conclusiones: Se obtuvo diferencia significativa en los tiempos de lectura de cada técnica. Este fue mayor en la técnica convencional que en la técnica con cytopspin, con extendidos de mejor calidad en la técnica por cytopspin.

© 2016 Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud-FUCS. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: polonieto@gmail.com (J.F. Polo).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.reper.2016.02.008>

0121-7372/© 2016 Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud-FUCS. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Findings in bronchoalveolar lavage processed using a cytospin technique and conventional cytology

A B S T R A C T

Keywords:

Bronchoalveolar lavage
Cell count
Cytospin
Conventional technique

The cytological interpretation of bronchoalveolar lavage (BAL) specimen is currently performed using conventional cytology and cytospin preparations. The latter features concentrated preparations in a 6-mm area for sample visualisation and reduced reading time, with no deterioration in quality.

Objective: To determine the differences in reading time and quality, between the conventional technique and the cytospin technique.

Study design: A cross-sectional study was conducted on BAL specimens that were processed using the conventional technique and the cytospin technique. Reading time for diagnosis between the 2 techniques was compared. Quality was assessed taking into account, cell preservation and inflammatory cells in smears. The difference in time was calculated using the Wilcoxon test.

Results: Eighty (80) BAL slides were examined, 40 by the conventional technique and 40 by the cytospin technique. A differential count was not performed in 6 cases, in 4 due to excessive number of squamous cells and in 2 cases, processed by the conventional technique, due to exhibiting less than 300 cells. A marked degeneration of epithelial cells was observed using the conventional technique, showing a significant difference in reading time ($P < .001$).

Conclusions: A significant difference was found between reading times of the 2 techniques, which was longer when using the conventional technique. Better quality smears were observed when using the cytospin technique.

© 2016 Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud-FUCS. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

El lavado broncoalveolar (BAL) es una técnica para el estudio de neumopatías intersticiales difusas y el diagnóstico de infecciones oportunistas. Su aplicabilidad ha ido aumentando progresivamente como técnica esencial en el aislamiento de patógenos oportunistas en pacientes inmunocomprometidos, además de aportar información también en los procesos neoplásicos^{1,2}.

El BAL es un método diagnóstico que consiste en colocar un fibrobronoscopio en un bronquio subsegmentario para realizar sucesivos lavados con solución salina. Posteriormente, se recoge el producto del lavado y se obtiene material celular que debe ser representativo de las alteraciones presentes en el tracto respiratorio³. Por otra parte, el BAL, sobre otras técnicas, puede estudiar amplias aéreas pulmonares, así como también puede controlar la evolución del cuadro, con o sin intervención terapéutica, mediante estudios sucesivos^{4,5}.

En Colombia, las muestras de BAL se realizan en algunos laboratorios bajo la técnica de citología convencional. Esta puede generar una desventaja considerable al tener que evaluar todo el extendido que abarca casi la totalidad de la superficie de la lámina, lo cual conlleva un mayor tiempo de lectura y, en la práctica, es un elemento considerable a tener en cuenta, porque puede incidir en el rendimiento del observador a medida que los casos se acumulan. Por tanto, el riesgo latente de un diagnóstico impreciso por mala interpretación debido al cansancio del profesional que interpreta la muestra llevaría a un diagnóstico incorrecto y se reflejaría en un manejo inadecuado^{6,7}.

Sin embargo, existe también la citología en cytospin, técnica que permite reducir el tamaño del extendido, obtener preparaciones uniformemente concentradas en un área de 6 mm de diámetro, mejorar la recuperación celular y la morfología, lo que posibilita un mejor estudio de la muestra y permite realizar de forma más rápida la lectura de la lámina, al ser menor la superficie a observar. Este procedimiento se ha usado en el procesamiento de citología urinaria, de líquido cefalorraquídeo y en el BAL. Por tanto, al determinar la diferencia de tiempo de lectura, de diagnóstico y de calidad de la técnica de citología convencional comparada con la citología en cytospin, se pretende generar información sobre cuál técnica brinda un mejor tiempo de diagnóstico que facilite la identificación y diferenciación de los distintos componentes en la muestra y conduzca a un diagnóstico más rápido y preciso, con mejor caracterización de los elementos del espécimen (celulares y microbianos), con el fin de tener una ventaja técnica para el patólogo que proporcione información adecuada para el médico tratante y un manejo más oportuno^{7,8}.

Materiales y métodos

Se realizó un estudio de corte transversal. Se efectuó un cálculo previo de muestra para 60 casos necesarios como mínimo para realizar este estudio. Sin embargo, se recolectaron 80 muestras de BAL en 40 pacientes durante el periodo de selección. Se incluyeron las citologías de BAL remitidas del Servicio de Neumología del Hospital San José al Servicio de Patología (laboratorio de cuarto nivel), en los meses de noviembre y diciembre de 2014 y enero y febrero de 2015.

Un BAL era representativo al cumplir los criterios de Chamberlain tanto en la técnica convencional como con cytospin⁹: grado de degeneración menor del 20% en las muestras procedentes de la citocentrífuga; el líquido obtenido debía ser un mínimo de 3 cc; debía haber una distribución monocapa de las células en el extendido y no tener excesiva contaminación hemática.

Se excluyeron láminas rotas o incorrectamente montadas, material con contaminantes externos, con más de 72 h de refrigerado; láminas de coloraciones especiales sin control positivo y material con células epiteliales que sobrepasaran el 4% de la población celular total.

Se recabó información de identificación personal y antecedentes médicos. Se revisó la nota de procedimientos de neumología para valorar la descripción endoscópica. Cada muestra se procesó con las 2 técnicas. La de cytospin se citocentrifugó a 1.500 rpm por 10 min (Cytospin III, Shandon Instruments, Sewickley), se procesaron 4 láminas cada una con tinción de Papanicolaou, tinción de plata gomori, giemsa y ziehl-neelsen previa fijación en alcohol al 96%. En la técnica convencional se centrifugó el líquido a 500 rpm durante 5 min. Se realizó el extendido en forma de zeta sobre toda la lámina, se fijó en alcohol al 96% y se tiñeron con tinción de Papanicolaou, tinción de plata gomori, giemsa y ziehl-neelsen (fig. 1). Se mostraron ambas técnicas procesadas al mismo patólogo y se midió el tiempo desde la postura de la lámina en campo de bajo poder (10x), hasta la revisión completa de la muestra y posterior realización de conteo celular en un campo de alto poder (40x) con tinción de Papanicolaou.

La base de datos se realizó en Excel y el análisis en Stata 12. Las variables cualitativas se analizaron con frecuencias absolutas y relativas. Las cuantitativas con medidas de tendencia

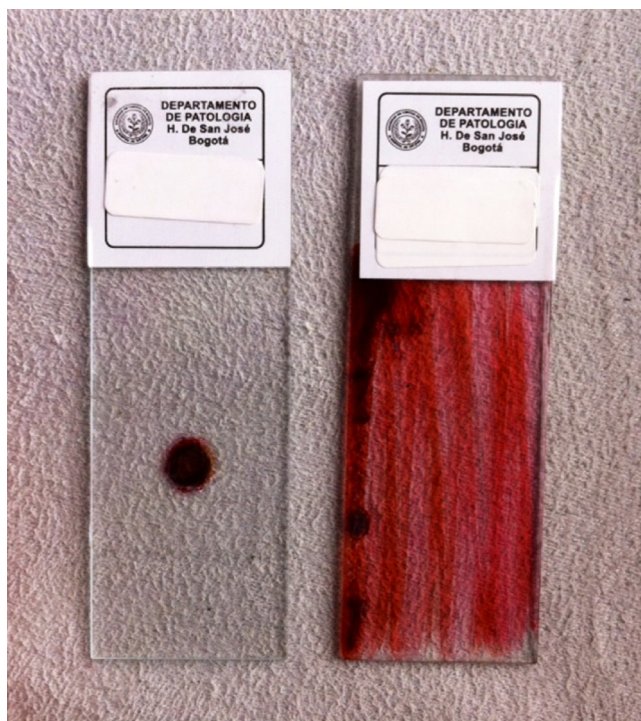


Figura 1 – Láminas con BAL en tinción de Papanicolaou con técnica cytospin (izquierda) y convencional (derecha).

central y dispersión. Se realizó una prueba de Wilcoxon para comparar la diferencia de tiempo de lectura entre las técnicas. El trabajo fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación de Seres Humanos. HSJ-FUCS (CEISH) 157-2013.

Resultados

En el periodo de estudio se evaluaron 80 láminas repartidas en 40 pacientes enviados al laboratorio. A cada caso se le realizaron las 2 técnicas. El 50% eran hombres; el 92% fumaban al momento del estudio. Las características clínicas, previas al procedimiento, que predominaron fueron masa pulmonar (20%) y neumonía (20%). Se realizó lavado pulmonar bilateral en el 70% de los casos, con un diagnóstico posterior al procedimiento de masa pulmonar en el 40% de los casos (tabla 1).

Tabla 1 – Características demográficas

Características	n (%)
Sexo^a	
Masculino	20 (50)
Fumador actual^a	
Sí	3 (7,5)
No	37 (92)
Tiempo del procedimiento mediana (RIQ)	18 (15-20,5)
Diagnóstico pre-procedimiento^a	
Neumonitis	5 (12,5)
Tuberculosis	7 (17,5)
Masa pulmonar	8 (20)
Neumonía	8 (20)
Atelectasia	3 (7,5)
Hemoptisis	2 (5)
Fibrosis	1 (2,5)
Síndrome pulmonar hipereosinofílico	1 (2,5)
Aspergilosis	5 (12,5)
Área de lavado^a	
Bilateral	28 (70)
Derecho	5 (12,5)
Izquierdo	7 (17,5)
Diagnóstico posprocedimiento^a	
Neumonitis	7 (17,5)
Tuberculosis	3 (7,5)
Masa pulmonar	16 (40)
Neumonía	4 (10)
Atelectasia	2 (5)
Endobronquitis	3 (7)
Aspergilosis	4 (10)
Síndrome pulmonar hipereosinofílico	1 (2,5)
Segmento de lavado^a	
Lsi, lli	7 (17,5)
Lsi, lsd, lmd lingula	28 (70)
Lmd, lsd	5 (12)
Volumen total infundido cc promedio (DE)	22 (9,11)
Volumen total cc promedio (DE)	12,7 (5,9)

lli: lóbulo inferior izquierdo; lmd: lóbulo medio derecho; lsd: lóbulo superior derecho; lsi: lóbulo superior izquierdo.

^a Datos tomados de la historia clínica.

La mediana de tiempo de lectura para las muestras leídas en citología convencional fue de 5 min (RIQ: 3,02 a 7), mientras la mediana de tiempo de lectura para las muestras procesadas con cytopsin fue de 2,49 min (RIQ: 1,55 a 3,3) con diferencia estadísticamente significativa (p 0,0000) (tabla 2).

Con la técnica convencional se identificaron un 30% de células escamosas degeneradas y un 20% con la técnica de cytopsin. Se observaron células respiratorias degeneradas en un 27,5% con la técnica convencional y un 10% de estas con la técnica de cytopsin (tabla 2).

Se evidenciaron un 97,5% de macrófagos en la técnica convencional y un 87,5% en la técnica por cytopsin. No se encontró diferencia en el conteo de eosinófilos (tabla 2). En 2 casos no se pudo hacer conteo por abundantes células escamosas en citología convencional, lo cual no ocurrió en los procesados con cytopsin.

En las láminas estudiadas con citología convencional se diagnosticaron 90% de los casos como negativos para malignidad, el 7,5% fueron extendidos inflamatorios y el 2,5% como positivos para malignidad; en los hallazgos de la técnica con cytopsin el diagnóstico definitivo de negativo para malignidad fue en el 80% de los casos, extendidos inflamatorios en el 15%, y el 5% fueron diagnosticados como positivo para malignidad (tabla 2).

En cuanto a las células inflamatorias, ninguna técnica mostró predominancia sobre la distinción de cada una de las líneas celulares. Sin embargo, es llamativo el recuento bajo de linfocitos en los casos que eran estudiados para tuberculosis: todos los casos tenían un recuento de entre 0 y 15%, el 66% de los casos correspondía a la técnica convencional y el 50% a la técnica con cytopsin (tabla 3). De los casos que se enviaron con diagnóstico de neumonitis tuvieron linfocitosis del 16 al 30%, un caso (14,3%) en la técnica por cytopsin y 0 en la técnica convencional.

Se realizó una prueba de Wilcoxon matched, pairs signed-rank test, para comparar la diferencia de los tiempos con la mediana de la técnica convencional de 5 min (RIQ: 3,02 a 7) y

Tabla 2 – Diferencial del conteo celular en los extendidos

Características	Convencional n = 40	Cytopsin n = 40
Tiempo mediana (RIQ)	5 (3,02-7)	2,49 (1,55-3,3)
Evaluación células escamosas n (%)		
Células escamosas normales	2 (5)	9 (22,5)
Células escamosas reactivas	0 (0)	2 (5)
Células escamosas degeneradas	12 (30)	8 (20)
Sin células escamosas	22 (55)	19 (47,5)
Evaluación de células respiratorias n (%)		
Células respiratorias normales	9 (22,5)	17 (42,5)
Células respiratorias reactivas	1 (2,5)	1 (2,5)
Células respiratorias degeneradas	11 (27,5)	4 (10)
Sin células respiratorias	19 (47,5)	18 (45)
Células inflamatorias n (%)		
Histiocitos %		
1-31	7 (18,4)	6 (18,1)
32-69	17 (44,74)	9 (27,2)
70-98	14 (36,8)	18 (54,5)
Eosinófilos %		
0-4	35 (92,1)	30 (90,9)
5-10	1 (2,6)	1 (3,0)
11-20	2 (5,2)	2 (6,0)
Linfocitos %		
0-15	27 (71,0)	26 (78,7)
16-30	8 (21,0)	4 (12,1)
31-50	3 (7,8)	3 (9,0)
Neutrófilos %		
0-30	29 (76,3)	24 (72,7)
31-60	6 (15,7)	6 (18,1)
61-99	3 (7,8)	3 (9,09)
Diagnóstico definitivo n (%)		
Negativo para malignidad	36 (90)	32 (80)
Extendido inflamatorio	3 (7,5)	6 (15)
Positivo para malignidad	1 (2,5)	2 (5)

RIQ: rango intercuartílico.

Tabla 3 – Población celular inflamatoria según la técnica y la enfermedad predominante evaluada

n (%) Recuento %	Neumonitis n: 7		Masa pulmonar n: 16		Neumonía n: 4		Tuberculosis n: 3	
	Convencional	Cytopsin	Convencional	Cytopsin	Convencional	Cytopsin	Convencional	Cytopsin
Eosinófilos								
0-4	7 (100)	7 (100)	12 (85,7)	10 (83,3)	3 (75)	3 (75)	3 (100)	2 (100)
5-10	0	0	0	0	1 (25)	1 (25)	0	0
11-20	0	0	2 (14,3)	2 (16,7)	0	0	0	0
Linfocitos								
0-15	6 (85,7)	6 (85,7)	9 (64,3)	10 (83)	2 (50)	2 (50)	2 (66)	1 (50)
16-30	0	1 (14,3)	4 (28,5)	1 (8,3)	1 (25)	1 (25)	0	0
31-50	1 (14,3)	0	1 (7,1)	1 (8,3)	1 (25)	1 (25)	0	0
Neutrófilos								
0-31	6 (85,7)	5 (71,4)	10 (71,4)	9 (75)	4 (100)	4 (100)	2 (66)	2 (100)
32-60	0	1 (14,3)	3 (21,4)	2 (16,7)	0	0	0	0
61-99	1 (14,3)	1 (14,3)	1 (7,1)	1 (8,3)	0	0	1 (33)	0
Histiocitos								
1-31	2 (28,6)	1 (14,3)	2 (14,3)	2 (16,7)	0	0	1 (33,3)	0
32-69	1 (14,3)	1 (14,3)	7 (50)	4 (33,3)	3 (75)	3 (75)	1 (33,3)	1 (50)
70-98	4 (57,1)	5 (71,4)	5 (35,7)	6 (50)	1 (25)	1 (25)	1 (33,3)	1 (50)

la técnica de cytopspin, con una mediana de 2,49 min (RIQ: 1,55 a 3,3), obteniéndose diferencia significativa ($p < 0,0000$).

Discusión

El BAL es un procedimiento útil y seguro para el muestreo de elementos celulares del pulmón. Como herramienta de diagnóstico, se puede utilizar con precisión en diversas infecciones y también se puede obtener material para cultivo y antibiograma. Este puede ser muy útil en el diagnóstico de infecciones fúngicas con una sensibilidad de 98%. Es casi igual a la biopsia bronquial en sensibilidad y especificidad¹⁰⁻¹².

La tuberculosis fue un diagnóstico importante estudiado por los clínicos. En nuestra serie no encontramos microorganismos tales como hongos o micobacterias en ninguna de las 2 técnicas, lo cual se correlaciona con los cultivos realizados en el Laboratorio de Microbiología.

Las lesiones neoplásicas del pulmón son un reto diagnóstico para los neumólogos porque algunas lesiones imitan condiciones infecciosas o inflamatorias, en un entorno clínico adecuado el BAL tiene un papel relevante en la detección de células neoplásicas^{13,14}. En este estudio, la principal indicación clínica fue masa pulmonar con 16 casos (40%). Nosotros detectamos 3 casos neoplásicos: 2 (5%) positivos para neoplasia maligna con la técnica de cytopspin y uno (2,5%) con la citología convencional.

Las células epiteliales se encontraron por debajo del 5% en la mayoría de las muestras, sin diferencia significativa entre las 2 técnicas. Las células epiteliales se presentaron degeneradas en la técnica convencional; es decir, que la técnica por cytopspin proporcionó mejor silueta celular con una adecuada disposición monocapa, sin exceso de contaminación hemática, con una mejor visualización para el patólogo (fig. 2). El 90% de las muestras estudiadas con citología convencional fueron negativas para malignidad, sobre el 80% de negativos que se obtuvieron con la técnica de cytopspin, es decir, 4 de las muestras valoradas con la técnica convencional no demostraron la

presencia de células malignas, las cuales sí estuvieron representadas en la técnica con cytopspin, por lo cual esta técnica aumentaría el rendimiento del BAL en este tipo de enfermedad y justificaría su realización en los BAL enviados con la sospecha clínica de tumor.

Conclusiones

Al disminuir el tiempo de lectura con la técnica de cytopspin, obtendríamos un diagnóstico más rápido y menor tiempo por patólogo; es decir que cada médico podría leer un mayor número de casos en un tiempo determinado, comparado con la citología convencional, no solo por la extensión de la muestra representada por un botón de 6 mm, sino por la adecuada representación celular tanto en morfología como en disposición. Esto, además, implica disminución en la dificultad interpretativa para el patólogo, por la fatiga ocular producida por encontrarse durante mucho tiempo al frente del microscopio en la evaluación de las láminas procesadas con citología convencional, y disminución de costos en los servicios de salud.

Lo anterior indica que se puede extender el uso de esta técnica en otros hospitales donde se realiza todavía la citología convencional, inclusive para otros líquidos. Sin embargo, en la actualidad no hay estudios en la literatura médica que refuercen lo planteado y, por tal motivo, debemos ampliar los interrogantes hacia estas 2 técnicas en el escenario del estudio del BAL, tales como cuál técnica es mejor para detectar microorganismos o cuál de las 2 técnicas tiene ventaja costo efectiva, teniendo en cuenta que la técnica de cytopspin disminuye el tiempo de lectura y de personal médico para su interpretación, pero requiere un equipo especializado para su realización.

La principal limitación del presente trabajo es que no se trata de un estudio diseñado para conocer la rentabilidad diagnóstica del BAL, en términos de sensibilidad y especificidad según poblaciones de riesgo, lo que puede suponer un sesgo al interpretar los resultados, sobre todo, en el diagnóstico de microorganismos. A pesar de esto, nuestro estudio tiene relevancia clínica en cuanto al hallazgo de malignidad, siendo este grupo poblacional uno de los más estudiados también en nuestro hospital.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

- Weinberger SE, Kelman JA, Elson NA, Young RC Jr, Reynolds HY, Fulmer JD, et al. Bronchoalveolar lavage in interstitial lung disease. *Ann Intern Med.* 1978;89:459-66.
- Meyer KC. The clinical utility of bronchoalveolar lavage in interstitial lung disease - is it really useful? *Expert Rev Respir Med.* 2014;8:133-5.
- García E. Lavado bronquioloalveolar. En: Rodríguez J, de Agustín D, editores. Cuadernos de citopatología. Aparato

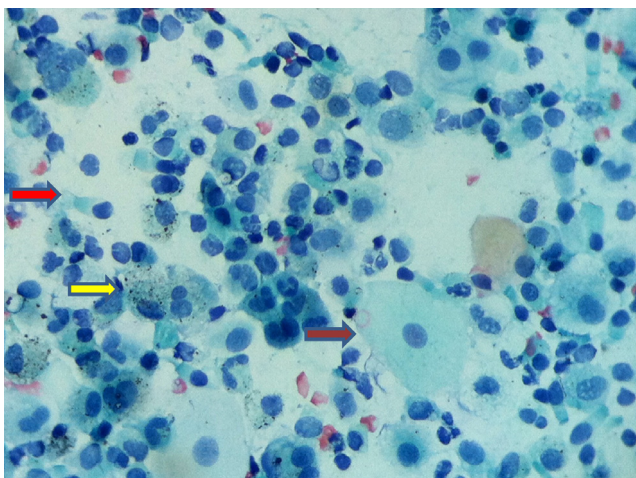


Figura 2 – Extendido con cytopspin. El volumen y detalle celular es notable, junto con poca representación de hematíes en este campo. Papanicolaou 40x. flecha roja: célula respiratoria; flecha amarilla: macrófago; flecha marrón: célula escamosa.

- respiratorio-I (Técnicas. Células normales lavado bronquioloalveolar). Colombia: Diaz de Santos; 2003. p. 9-11.
4. Fariña González J, Rodríguez Costa J. Citología respiratoria y pleural. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 1996. p. 194.
 5. Gold WM, Murray JF. Atlas de técnicas en medicina respiratoria. Madrid: S.A. Elsevier España; 2003. p. 512.
 6. Díaz J, García P, De la Barra R, Gasep J, Levican J, Quiroga T. Utilidad de la citocentrifugación en el diagnóstico bacteriológico microscópico de fluidos corporales. *Rev Chil Infectol.* 2002;19:167-73.
 7. Solomides C, Johnston W, Elson C. Respiratory tract. En: Bibbo M, Wilbur D, editores. *Comprehensive Cytopathology.* Londres: Elsevier; 2008. p. 247-87.
 8. Laportadez R, López García-Gallo C, Mora G, Trisán A. Indicaciones e interpretación del lavado broncoalveolar. *Medicine.* 2006;9:4343-5.
 9. Chamberlain DW, Braude AC, Rebeck AS. A critical evaluation of bronchoalveolar lavage. Criteria for identifying unsatisfactory specimens. *Acta Cytol.* 1987;31:599-605.
 10. Baughman RP, Dohn MN, Loudon RG, Frame PT. Bronchoscopy with bronchoalveolar lavage in tuberculosis and fungal infections. *Chest.* 1991;99:92-7.
 11. Allaouchiche B, Jaumain H, Dumontet C, Motin J. Early diagnosis of ventilator-associated pneumonia. Is it possible to define a cutoff value of infected cells in BAL fluid? *Chest.* 1996;110:1558-65.
 12. Varón FA, Buitrago AF. Concordancia entre el gram y el cultivo del lavado broncoalveolar en pacientes con neumonía asociada al ventilador. [trabajo de grado]. Bogotá: Universidad del Rosario; 2010.
 13. Levy H, Horak DA, Lewis MI. The value of bronchial washings and bronchoalveolar lavage in the diagnosis of lymphangitic carcinomatosis. *Chest.* 1988;94:1028-30.
 14. Poletti V, Poletti G, Murer B, Saragoni L, Chilosi M. Bronchoalveolar lavage in malignancy. *Semin Respir Crit Care Med.* 2007;28:534-45.