

Título

Imunocitoquímica de Secreções Brônquicas processadas em ThinPrep™: comparação de três métodos de pós-fixação

Autores

Amadeu Borges Ferro¹, Catarina Barata¹, Marli Anágua¹, Rúben Roque^{1,2}

1- Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa

2- Instituto Português de Oncologia de Lisboa FG

Introdução: A imunocitoquímica possui diversas aplicações em citopatologia, nomeadamente no diagnóstico diferencial e identificação de neoplasias. No entanto apresenta, por vezes, uma reduzida precisão e reprodutibilidade, principalmente ao nível dos falsos-negativos e da uniformidade da marcação. Sabendo que a preservação estrutural e a qualidade da imunomarcação são fulcrais em citopatologia, definiu-se como objetivo deste trabalho avaliar o impacto da etapa de pós-fixação das lâminas de secreções brônquicas processadas em ThinPrep na técnica de imunocitoquímica, no sentido de selecionar a melhor metodologia para aplicação prática.

Metodologia: Com recurso a 26 amostras de secreções brônquicas prepararam-se 90 lâminas, nas quais foram aplicados três métodos de pós-fixação baseados em etanol, acetona e formaldeído. A avaliação da imunomarcação de Citoqueratinas (clones AE1/AE3), Citoqueratinas 8/18 e Vimentina, foi efetuada por 3 avaliadores independentes, com base numa grelha de avaliação que contempla os parâmetros: i. Preservação morfológica; ii. Intensidade/proporção de marcação específica; iii. Marcação inespecífica; iv. Contraste. O resultado final varia entre 0 e 100 pontos. Para o tratamento estatístico foi utilizado o teste *one-way* ANOVA (alfa = 0.05).

Resultados: Quando sujeitas a técnicas de pós-fixação baseadas em etanol, acetona e formaldeído obtiveram-se as classificações (média/desvio-padrão): 85,76/4,25; 84,40/6,67 e 91,18/5,25, respetivamente. Verificou-se ainda que existe diferença estatística na globalidade dos resultados obtidos ($p < 0.001$).

Conclusão: Apesar de todos os métodos de pós-fixação permitirem uma qualidade aceitável da imunomarcação, o melhor método, de entre os que foram testados neste estudo, é o que utiliza formaldeído.

Palavras-chave: Imunocitoquímica em amostras de secreções brônquicas; ThinPrep; Pós-fixação.

Nota: Este trabalho não envolveu experiências diretas com seres humanos. A utilização das amostras de líquidos das cavidades serosas foi devidamente autorizada.

Bibliografia

1. Shidham VB, Chang C-C, Rao RN, Komorowski R, Chivukula M. Immunostaining of cytology smears: a comparative study to identify the most suitable method of smear preparation and fixation with reference to commonly used immunomarkers. *Diagn Cytopathol.* 2003;29(4):217–221. doi:10.1002/dc.10364.
2. Fowler LJ, Lachar WA. Application of immunohistochemistry to cytology. *Arch Pathol Lab Med.* 2008;132(3):373–383. doi:10.1043/1543-2165(2008)132[373:AOITC]2.0.CO;2.
3. Leong AS-Y, Suthipintawong C, Vinyuvat S. Immunostaining of Cytologic Preparations: A Review of Technical Problems. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 1999;7(3). Available at:

http://journals.lww.com/appliedimmunohist/Fulltext/1999/09000/Immunostaining_of_Cytologic_Preparations__A_Review.7.aspx.

4. Suthipintawong C, Leong AS, Vinyuvat S. Immunostaining of cell preparations: a comparative evaluation of common fixatives and protocols. *Diagn Cytopathol.* 1996;15(2):167–174. doi:10.1002/(SICI)1097-0339(199608)15:2<167::AID-DC17>3.0.CO;2-F.
5. Fadda G, Rossi ED, Mulè A, Miraglia A, Vecchio FM, Capelli A. Diagnostic efficacy of immunocytochemistry on fine needle aspiration biopsies processed by thin-layer cytology. *Acta Cytol.* 2006;50(2):129–135.