

# LAVADO BRONCOALVEOLAR CON COLORACIONES DE WRIGHT Y PAPANICOLAOU

## Estudio citológico comparativo

*Derly Giraldo H., Diana Monroy R., Juliana Díaz\*.*

### Resumen

En el Hospital de San José las muestras del lavado broncoalveolar (LBA) son procesadas y teñidas con la coloración de rutina Papanicolaou (PAP), en la cual se diagnostican neoplasias y se realizan recuentos diferenciales. En este estudio se utilizó la coloración de Wright para determinar si permitía mayor detalle celular y de esta manera facilitar el recuento diferencial. Se estudiaron 25 pacientes a los que se les realizó LBA, atendidos de marzo a octubre de 2003. Se valoró el aspecto del extendido, el fondo, la preservación y degeneración en células inflamatorias y epiteliales. La conclusión es que la coloración de Wright no es útil para las muestras de LBA, pues ocasiona un grado alto de degeneración, lo que impide la valoración citológica correcta. Es por ello que la PAP sigue siendo la de elección.

### Introducción

La técnica de Wright es un método de tinción hematológico utilizado en extendidos de muestras de sangre periférica y médula ósea,<sup>1</sup> caracterizándose por una buena diferenciación morfológica de las células sanguíneas, lo cual facilita el recuento diferencial y al mismo tiempo descarta ciertas patologías sanguíneas. Pero no sólo en este tipo de muestras se realizan recuentos diferenciales; también en el LBA se realiza este procedimiento que ayuda al estudio de enfermedades intersticiales no infecciosas del pulmón.<sup>2</sup>

Conociendo las propiedades de esta tinción, se empleó en las muestras de LBA para saber si los atributos que muestra en los extendidos de sangre periférica y médula ósea se ven en los extendidos de LBA para facilitar la diferenciación de las células inflamatorias que allí se presentan, en comparación con la coloración de rutina de PAP (utilizada para descartar neoplasias) que se emplea en el Hospital de San José.

Teniendo en cuenta lo anterior, este estudio evaluó la tinción de Wright en el LBA mediante la valoración de los componentes celulares detallando la morfología, preservación o degeneración de las células inflamatorias que son la base para realizar los recuentos diferenciales y determinar si esta coloración puede utilizarse conjuntamente con la PAP.

### Materiales y métodos

La recolección de las muestras de LBA se realizó en el periodo de marzo a octubre de 2003 en el Hospital de San José de la ciudad de Bogotá D.C. Se recogieron 25 muestras que se procesaron en el laboratorio de patología del mismo hospital. Los materiales utilizados en el procedimiento fueron tubos de ensayo, centrifuga convencional, láminas portaobjetos, hisopos y las coloraciones de Wright y PAP. El método de procesamiento al que se sometieron las muestras de LBA se basó en emplear dos tubos de ensayo para centrifugar a 1500 revoluciones de 5 a 10 minutos. De cada tubo se realizaron dos extendidos, para un total de cuatro, los cuales se colorearon.

Dos láminas se fijaron al aire hasta que se secarán por completo y se cubrieron con el colorante de Wright

\* Citohistotecnólogas, Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud, Hospital de San José.

\*\* Este trabajo fue realizado bajo la tutoría de la Dra. Pilar Archila, médica patóloga del Hospital de San José y Profesora Asociada de la Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud. y de la citohistotecnóloga. Diana Patricia Miranda, Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud.

durante cinco minutos. Al transcurrir este tiempo se le agregó agua cubriéndolas durante diez minutos. Luego se lavaron en el chorro y se dejaron escurrir.

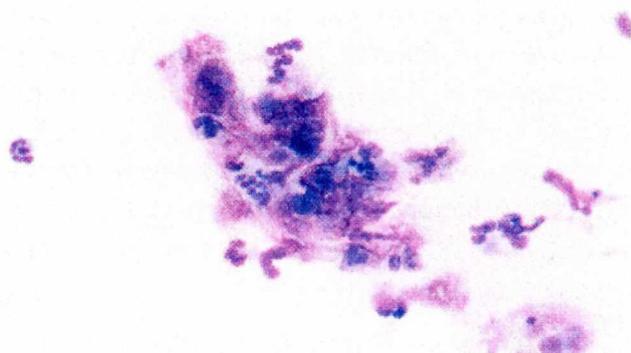
Las otras dos láminas se fijaron en alcohol por diez minutos para realizar la coloración de PAP. Después de fijación se lavaron y se introdujeron en hematoxilina de Harris por tres minutos, se hizo un pase rápido por agua amoniacal, se sumergieron en cada uno de los alcoholes y de allí se pasó directamente a *orange g* por tres minutos. Se pasaron de nuevo por alcoholes y se siguió con eosina por tres minutos, para finalizar con pases sucesivos por alcoholes (es importante aclarar que después de cada colorante y del agua amoniacal, se lava hasta que deje de salir exceso de coloración y por último se escurren muy bien).

Después de realizar el procedimiento se hizo el montaje y por último se llevaron a análisis microscópico donde se evaluó el aspecto del extendido, sustancias de fondo y características celulares presentes en el extendido.

## Resultados

Se obtuvieron 25 muestras que se tiñeron con Wright. El resultado es satisfactorio para estudio en el 48% (12 muestras), insatisfactorio por acelularidad en el 8% (2 muestras) e insatisfactorias por mala preservación en el 44% (11 muestras).

De los 23 extendidos con células, las inflamatorias presentaban mala preservación en 19 (83%) (**Figura 1**). Otros componentes evaluados fueron los de origen



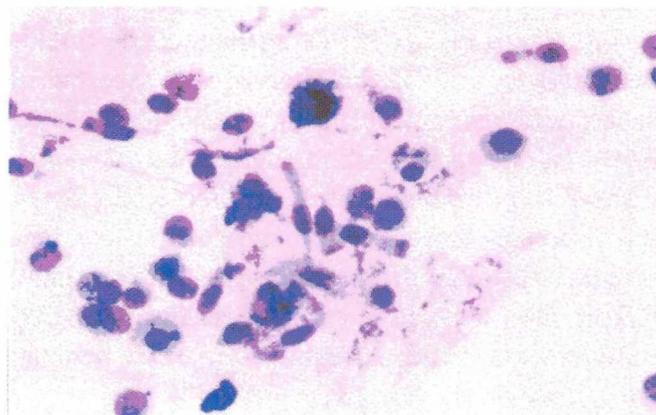
**Figura 1.** Neutrófilos mal preservados. Wright 10X.

epitelial como son: células bronquiales y escamosas. Estas últimas se consideran contaminación en el LBA. Las bronquiales se vieron en 12 láminas (63%) y las contaminantes en 7 (37%). Las células bronquiales presentaron cambios degenerativos en 10 casos (83%) (**Figura 2**).

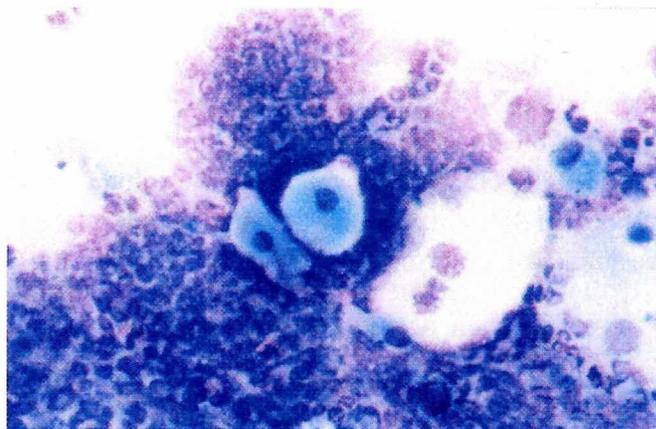
De las siete muestras con células escamosas todas mostraron cambios degenerativos (**Figura 3**). En cuanto a la coloración de PAP, 21 muestras fueron satisfactorias para evaluación por su celularidad y calidad del extendido (84%) y el 16% restante (4 muestras) fueron insatisfactorias, dos por acelularidad y dos por mala preservación. Las células inflamatorias mantuvieron su morfología celular indicando un nivel de preservación de 87% (20 extendidos) (**Figura 4**).

De los otros componentes celulares se observaron células bronquiales en 8 preparaciones, con buena preservación celular en el 87% (**Figura 5**).

Las células escamosas se vieron en siete placas con buena preservación en el 71% (5 muestras) (**Figura 6**).



**Figura 2.** Células bronquiales Wright 10X.



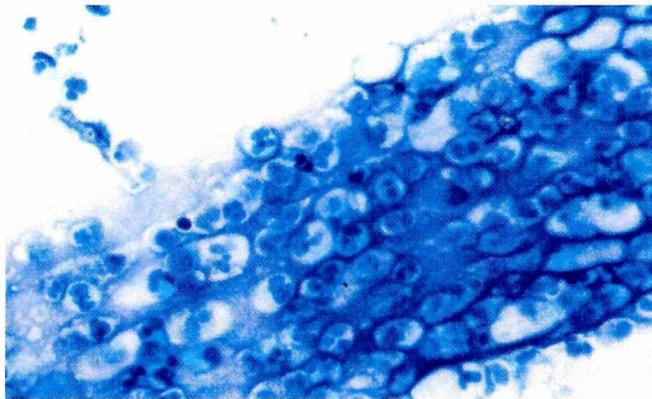
**Figura 3.** Células escamosas mal preservadas Wright 10X.

Las características con las dos coloraciones se muestran en la **Tabla 1**.

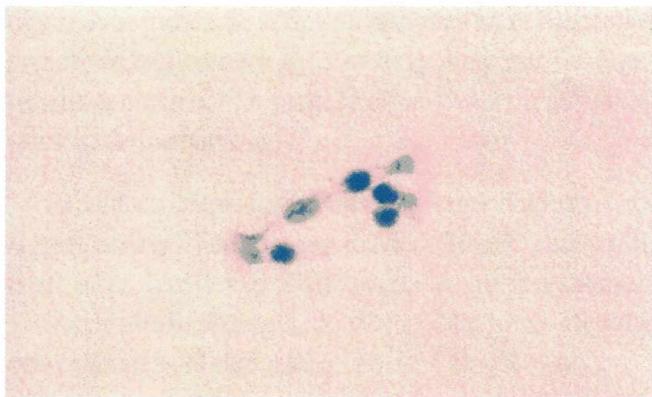
Se encontraron otros elementos no celulares, como cuerpos de asbesto en un extendido teñido con PAP y con Wright se evidenció un espiral de Curschmann. Como agentes infecciosos se hallaron con PAP y Wright infecciones por hongos de género *Candida*, observando pseudohifas y esporas. Por último, se observó un carcinoma de célula grande en los dos extendidos, pero evidenciándose mejor su malignidad con PAP.

## Discusión

El método de fijación mediante secado al aire que se utiliza en tinciones de tipo Romanovsky, como la de Wright, no permite observar en buen detalle la cromatina nuclear, que reviste especial interés para el citólogo y patólogo.<sup>1</sup> La coloración de Wright en muestras hematológicas permite la diferenciación de los gránulos citoplasmáticos e impide la oxidación celular. En el LBA



**Figura 4.** Neutrófilos PAP 10x.



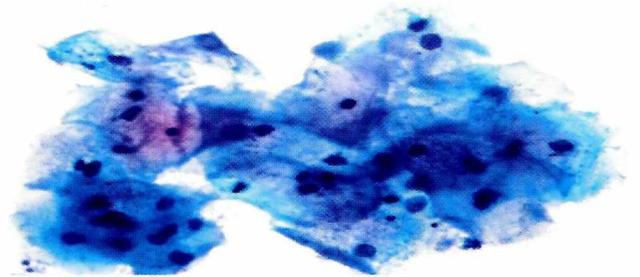
**Figura 5.** Células bronquiales preservadas PAP 10X.

el secado al aire produce oxidación y dificulta la interpretación citológica, ocasionando que los núcleos aumenten de tamaño, la cromatina sea más vesicular, haya pérdida de membranas nucleares y de citoplasma, lo cual contribuye al diagnóstico de falsos positivos.

Por el contrario, la coloración de PAP utilizando como método de fijación el alcohol al 95%, mantiene la celularidad bien preservada evitando la degeneración. Por ello, esta técnica sigue siendo una de las mejores para diferenciar las características morfológicas nucleares y citoplasmáticas, y así dar informe sobre la benignidad y malignidad de las células.

## Conclusiones

La coloración de Wright no es un método fiable para procesar las muestras de LBA, ya que presentan un alto porcentaje de degeneración celular tanto en el componente inflamatorio (macrófagos, linfocitos y neutrófilos) como en el epitelial (bronquiales y escamosas). En algunos casos, los cambios degenerativos no permiten la diferenciación nuclear ni citoplasmática, en especial en las células inflamatorias, lo que impide realizar recuentos diferenciales. Es de anotar que este grado de degeneración



**Figura 6.** Células escamosas preservadas. PAP 10X.

**Tabla 1. Características observadas en las dos coloraciones.**

Fondo	WRIGHT		PAP	
	Valor	%	Valor	%
Limpio	3	6%	11	32%
Hemorrágico	6	18%	7	21%
Inflamatorio	9	12%	7	21%
Núcleos sueltos	14	29%	0	0%
Moco	17	35%	9	26%

ración puede ocasionar falsos positivos. Por último, el moco es un factor que limita la observación citológica, y esta coloración lo resalta aun más e impide detallar elementos celulares allí presentes.

### Glosario:

- **LAVADO BRONCOALVEOLAR:** es un procedimiento que se empezó a utilizar como tratamiento del asma. Desde 1979 se ha venido usando junto con el fibrobroncoscopio para analizar la composición celular y realizar estudios citopatológicos para el diagnóstico de enfermedades intersticiales no infecciosas del pulmón.
- **COLORACIÓN DE PAPANICOLAOU:** técnica, que ayuda a diferenciar las características morfológicas nucleares y citoplasmáticas, para determinar benignidad y malignidad. Consiste en un baño nuclear y dos citoplasmáticos.
- **COLORACIÓN DE WRIGHT:** técnica de coloración hematológica utilizada para extendidos de sangre o médula ósea, que obtiene una amplia gama de colores a nivel de las células sanguíneas. Constituye la base de su observación morfológica permitiendo diferenciarlas con claridad.
- **RECUESTO DIFERENCIAL:** es un procedimiento que se aplica al LBA para el estudio de enfermedades intersticiales no infecciosas del pulmón. Se realiza sobre un número que varía entre 100 a 300 células inflamatorias, determinando el porcentaje de cada una de ellas.

### Referencias

1. Fariña J, Rodríguez J. Citopatología respiratoria y pleural. Madrid, España: Médica Panamericana, 1996 p. 9; 71-2.
2. Fernández A. Citopatología ginecológica y mamaria. Barcelona: Edic. Científicas y Técnicas 1993. p.30.

