

FUNDACIÓN UNIVERSITARIA DE CIENCIAS DE LA SALUD – FUCS

FACULTAD DE TECNOLOGÍAS EN SALUD

TECNOLOGÍA EN CITOHIISTOLOGÍA

PROYECTO DE GRADO
PASANTÍA DE LÍQUIDO PLEURAL

INTEGRANTES:

ADELINE AURORA GOMEZ GUERRA
SHARON NATALIA PAREDES ROZO
MAIREN DARYELIS DUQUE GARCIA

BOGOTÁ D.C.
COLOMBIA

Tabla de contenido

▪ Introducción	3
▪ Objetivo general	4
▪ Objetivo específico	5
▪ Fluidos serosos y cavidades que los contienen	6
▪ Obtención de muestras	6
▪ Líquido pleural	8
▪ Composición del líquido pleural	8
▪ Procedimiento técnico del líquido pleural	9
▪ Cito centrífuga	9
▪ Ventajas y desventajas de la cito centrífuga	12
▪ Coloraciones a utilizar	12
▪ Posibles interpretaciones en la citología del líquido pleural	16
▪ Artículo: contribución del análisis del líquido pleural al diagnóstico de los derrames pleurales	16
▪ Referencias bibliográficas	18
▪ Lista de figuras	18

INTRODUCCIÓN

El estudio de los fluidos serosos normales o de tipo patológico se realiza preferiblemente por medio de un análisis citológico gracias a su sensibilidad, rapidez y a que es menos invasivo que una biopsia, esto se debe a que los fluidos son ejemplos más representativos de la serosa para el estudio de citología en base líquida. El rango estimado de sensibilidad en el diagnóstico de serosas por medio de citología va desde un 58% a un 71% y en la detección de patologías malignas mediante la citología se incrementan también los valores, estos desde un 2% a un 38% cuando una secuencia múltiple de especímenes es examinada.

La toracoscopia siendo el procedimiento utilizado para la obtención del líquido pleural (toracocentesis), será nuestro aliado para poder llevar a cabo el examen anteriormente explicado: citología en base líquida (en este caso del líquido pleural). Este procedimiento además es la elección a proceder para los pacientes con una fuerte sospecha clínica de una enfermedad en pleura, pero con un resultado citológico anteriormente negativo.

El análisis del líquido pleural, así como el de otros fluidos serosos, presenta ciertos componentes celulares de los cuales hablaremos en detalle en el desarrollo del proyecto. El porcentaje de concentración y las atipias de estos serán los determinantes para la interpretación de la muestra. Es importante tener en cuenta que, para la interpretación de estas, será fundamental la realización de ciertas coloraciones especiales.

OBJETIVO GENERAL

Conocer la constitución citológica de los fluidos serosos, principalmente el líquido pleural, su procedimiento técnico para su interpretación microscópica, de las muestras citológicas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar las características macroscópicas y microscópicas del líquido pleural, aplicando los conocimientos adquiridos mediante la formación.
- Relacionar el líquido pleural con otros fluidos serosos con los cuales comparte características.
- Reconocer las diferentes coloraciones y sus resultados, para la identificación de los posibles microorganismos y componentes del extendido del líquido pleural.

FLUIDOS SEROSOS Y CAVIDADES QUE LOS CONTIENEN

Tanto las superficies de los órganos como las cavidades corporales tienen paredes denominadas visceral, en el caso de los órganos, y parietal si hablamos de cavidades, las cuales a su vez están recubiertas por membranas serosas.

Entre las membranas serosas tenemos:

- El peritoneo; que recubre y contiene todos los órganos de la pared abdominal.
- El pericardio; el cual recubre y mantiene el corazón en su lugar dentro del tórax.
- Finalmente, la pleura; la cual es la capa delgada de tejido que recubre los pulmones.

Dentro de lo normal las membranas serosas están recubiertas por una sola capa de células planas mesoteliales. Las capas tanto parietal como visceral son continuas, formando un espacio cerrado con contenido seroso, el cual les permitirá lubricar evitando que colapsen. Un volumen superior a lo normal del fluido encontrado entre estas capas, desencadenara procesos de tipo patológico ameritando de estudios, para evitar el aumento y posterior derrame del líquido.

Obtención de muestras:

Espacio peritoneal: Paracentesis.

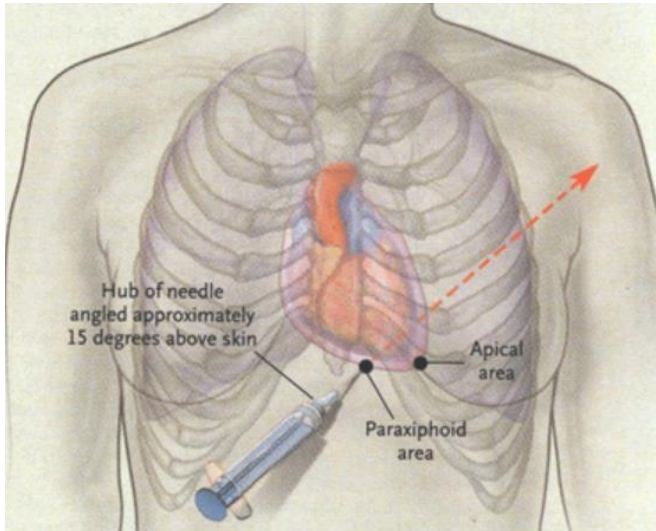
Figura 1: Técnica que permite detectar la presencia de ascitis



Fuente: <https://rinaldipedia.com/sources/paracentesis/paracentesis.png>

Espacio pericárdico: Pericardiocentesis.

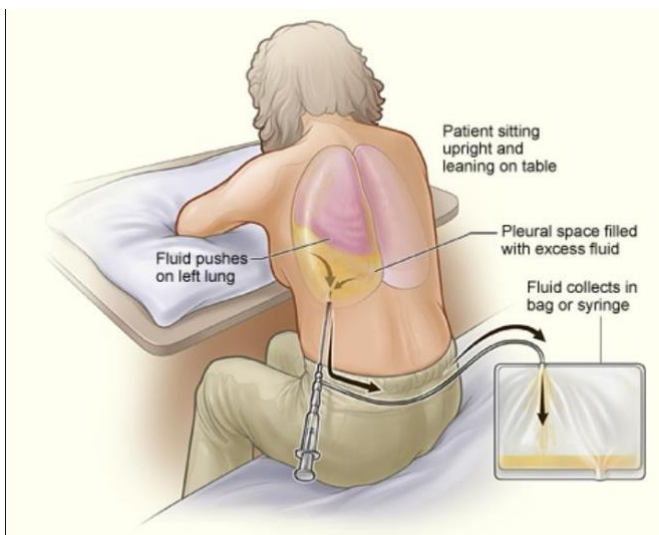
Figura 2: procedimiento en el que se emplea una aguja para extraer líquido del sacopericárdico



Fuente: <https://www.rccc.eu/images/cardTamp.gif>

Espacio pleural: Toracocentesis.

Figura 3: procedimiento de invasión mínima para diagnosticar y tratar las efusiones pleurales, existe fluido excesivo en el espacio pleural.



Fuente: <https://www.redaccionmedica.com/images/enfermedades/toracocentesis.jpg>

EL LÍQUIDO PLEURAL

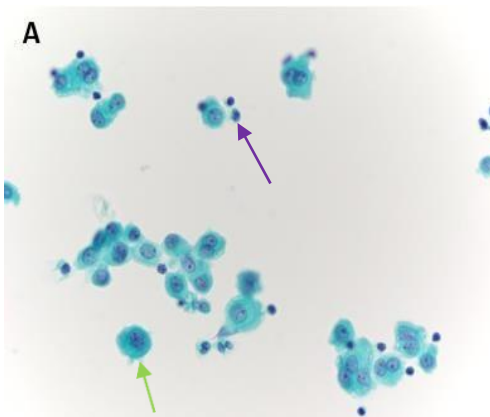
Es un ultra filtrado plasmático procedente de ambas hojas pleurales y su reabsorción se realiza vía linfática, a través de la pleura parietal con un intercambio de flujo diario de solo unos pocos milímetros al día. Encontrado entre las capas de la pleura. El líquido pleural mantiene la pleura húmeda, encargado de reducir la fricción entre las membranas al respirar.

En la obtención de este fluido se debe tener cuidado al extraer grandes cantidades de líquido pleural debido a la complicación rara pero potencialmente mortal del edema pulmonar por re expansión. Por el contrario, la paracentesis de gran volumen (4 a 6 l) es relativamente segura.

Composición del líquido pleural:

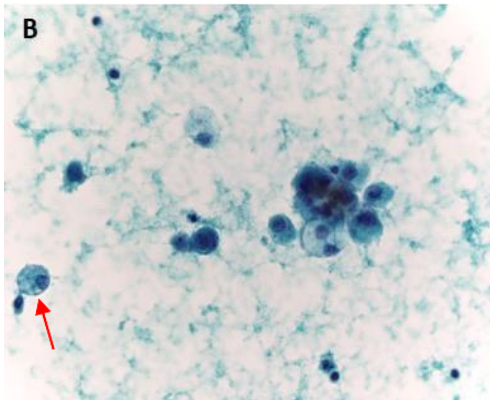
Los elementos normales que podemos encontrar en el líquido pleural son, glóbulos blancos, macrófagos, de linfocitos, histiocitos, células mesoteliales marginalmente presentes, neutrófilos y eosinófilos. (1)

Figura 4: presencia de células mesoteliales (flecha verde) y linfocitos (flecha morada).



Fuente: <https://lh3.googleusercontent.com/7hkke08mcrAS449JXF7xfvhJSzAiFAGXBy6RFU0kej-sxWy4aMrFUUbF2AxkvwLk7IPr=s151>

Figura 5: presencia de histiocitos (flecha roja).



Fuente: https://lh3.googleusercontent.com/_2dfo5-iEyW0wWGbTB--wE71qUElFojxR-t2Uo0dFkQJrOynCT5WStGP8qjMQpngMkxTog=s151

PROCEDIMIENTO TÉCNICO DEL LÍQUIDO PLEURAL

1. Recibir la muestra y verificar los datos (nombre, tipo de muestra y tipo de punción).
2. Descripción macroscópica (en que se recolecto la muestra, volumen, color, datos demográficos, cantidad de láminas y tipo de coloración), si evidenciamos que la muestra llega con tejido se procede a colocarlo en papel filtro, luego en un casete y se realiza el procedimiento de técnica histológica.
3. Marcar laminas (nombre, numero de documento, consecutivo y fecha)
4. Montar el portaobjetos sobre el soporte junto al papel filtro, verificar que todo esté bien ajustado y colorarlo en el cytopsin.
5. Procedemos a mezclar la muestra y con una pipeta agregar 7 gotas al cono de plástico y cerrar la tapa del cytopsin
6. Cerrar tapa del rotor.
7. Encender el equipo a 2.000 revoluciones por 3 minutos.
8. Una vez finalizado el proceso abrir la tapa del rotor y la del cytopsin.

9. Sacar los soportes, retirar el filtro con cuidado (si quitamos muy fuerte el filtro podríamos arrastrar las células).
10. El soporte y el cono de plástico colocarlos en agua con hipoclorito (para desinfección) y el papel filtro desecharlo.
11. Tomamos la muestra en botón para así realizarle la coloración correspondiente (si la muestra está muy hemorrágica es preferible realizar el extendido en toda la lámina).
12. A la muestra se le realiza la coloración de HyE, PAP.

CITOCENTRIFUGA

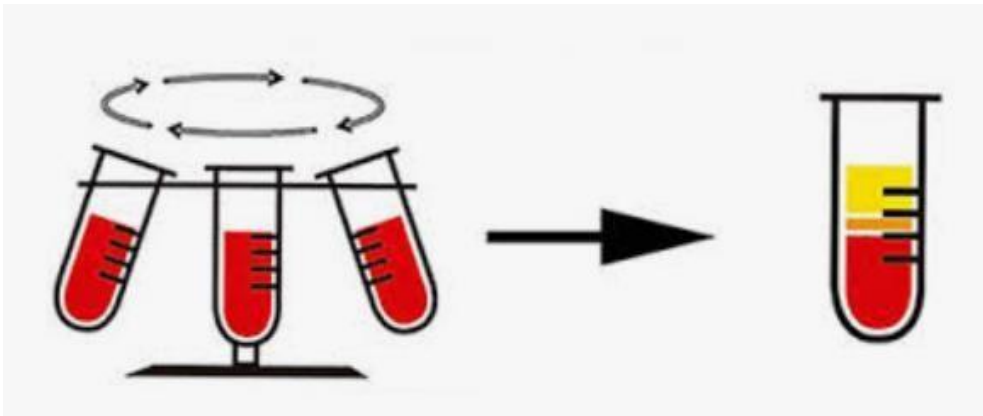
Aparato de menor tamaño que la convencional, se utiliza para identificación rápida de microorganismos y que necesita un volumen no superior a 2 ml sobre un portaobjeto.

Proceso de la centrifuga:

Desde que llegan muestras al laboratorio:

- Verificación de datos con la historia clínica.
- Previamente descripción macroscópica: en que llega la muestra, tipo de muestra, aspecto de la muestra, cantidad de muestras, especificar si la muestra es derecha o izquierda.
- Toda muestra se traslada a un tubo.
- Si llega alguna muestra con espécimen de tejido se lleva a fijación para su posterior procedimiento técnico e inclusión.
- Si la muestra es muy hemorrágica, se debe llevar a la centrifuga convencional.
- Agitamos el recipiente para que queden dispersas uniformemente las células y luego pasar a centrifugar.
- Desechamos el sobrante.
- El sedimento que queda en el tubo se utiliza para la preparación del frotis.
- El portaobjetos se fija en alcohol y normalmente se tiñe con Papanicolaou.
- El sedimento que puede llegar en la muestra se envuelve en papel filtro y se coloca en un casete, se penetra en parafina y se procede a cortar para así teñir con las coloraciones correspondientes.

Figura 6: procedimiento para realizar la separación del sedimento.



Fuente: https://lh3.googleusercontent.com/Lhuhx355BrZ3N6E_eQGIzuBqtW5TjOWrQ1k7hi7oRi-Nv9ZFZjWQwTOGZeIS6pPYV1YOwQ=s151

El propósito es determinar en el extendido los componentes celulares y así identificar la existencia de alguna lesión ya sea benigna o maligna, también se puede identificar flora patógena, y para este se necesita de la tinción ya sea de Papanicolaou o coloraciones especiales como Ziehl Neelsen, Giemsa, Gomori.

Figura 7: Cito centrifuga.



Fuente: <https://assets.fishersci.com/TFS-Assets/APD/product-images/F82238~p.eps-650.jpg>

Figura 8: Cito centrifuga



Fuente: <https://beta-static.fishersci.com/images/euimages/F47591~wl.jpg>

Figura 9: Láminas con BAL en tinción de Papanicolaou con técnica cytopspin (izquierda) y convencional (derecha).



Fuente: https://lh3.googleusercontent.com/_jemz1KqttGj_jx7E36WmvRr5ZGSc7jEMWTIz oyCU7AEu3gQuk3_3jR4VYuvQ5PJZxkWYw=s85

CITOCENTRIFUGA, VENTAJAS Y DESVENTAJAS

Ventajas	Desventajas
Las células se concentran en zona muy pequeña, facilitando la visualización de las mismas.	No se utiliza para muestras muy hemorrágicas.
Permite detección de células aún en fluidos poco concentrados.	
Permite preparar especímenes fijados y no fijados.	Costo elevado.
El control de aceleración y velocidad permite manipular con seguridad especímenes delicados.	

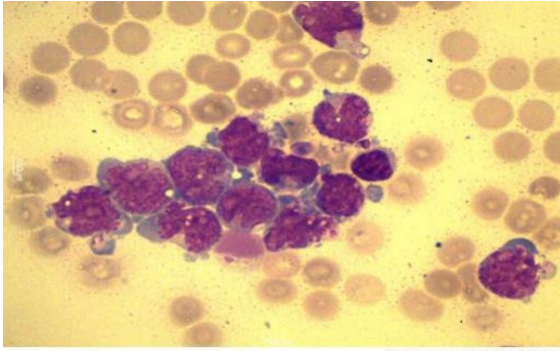
COLORACIONES A UTILIZAR.

PROCEDIMIENTO TÉCNICO DE LA COLORACIÓN DE PAS:

1. Desparafinar – deshidratar – hidratar
2. Oxidar con ácido peryodico 10 min
3. Lavar
4. Reactivo de shiff o Coleman 15min
5. Lavar
6. Lavar con agua tibia 10min
7. Hematoxilina de Harris 5min
8. Lavar
9. Agua amoniaca (pases) 2-3
10. Lavar
11. DAMRE

Resultados: mucopolisacaridos neutros magenta, nucleos azules, sin fondo

Figura 10: Células mesoteliales redondeadas



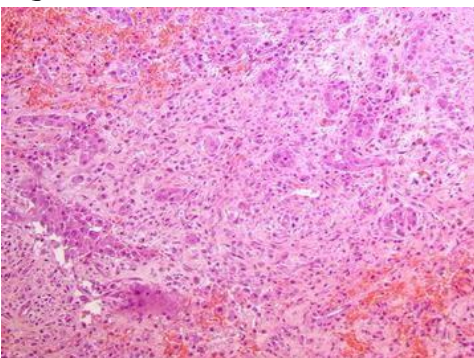
Fuente: https://lh3.googleusercontent.com/ETnEH4hjXtAiKk8aQslGzJb7QbYAPt39vRo_r_PSvx1LY4bOGrlw4xmY9UOHXSpWEC3D=s107

PROCEDIMIENTO TÉCNICO DE LA COLORACIÓN DE HEMATOXILINA Y EOSINA:

1. Desparafinar – deshidratar – hidratar
2. Hematoxilina de harris 5min
3. Lavar
4. Alcohol acido 2-3 pases
5. Lavar
6. Agua amoniacal 2-3 pases
7. Lavar
8. Eosina 2min
9. DAMRE

Resultados: nucleos azules, estructura rosada

Figura 11:

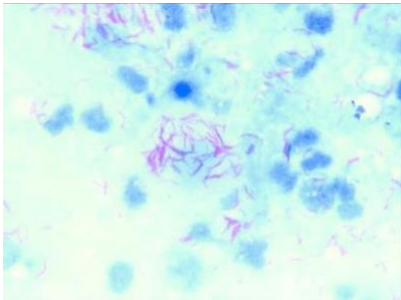


PROCEDIMIENTO TÉCNICO DE LA COLORACIÓN DE ZIEHL NEELSEN:

1. Control positivo
2. Desparafinar – deshidratar – hidratar
3. Filtrar carbol fuscina 10 min (flamear hasta obtener humo)
4. Lavar
5. Oh acido para diferenciar
6. Lavar
7. Contrastar con azul de metileno 3 min o verde brillante (secar al aire libre)
8. DAMRE

Resultados: bacilos en fondo de la luz rosados, fondo verde o azul dependiendo

Figura 12: bacilos en liquido pleural



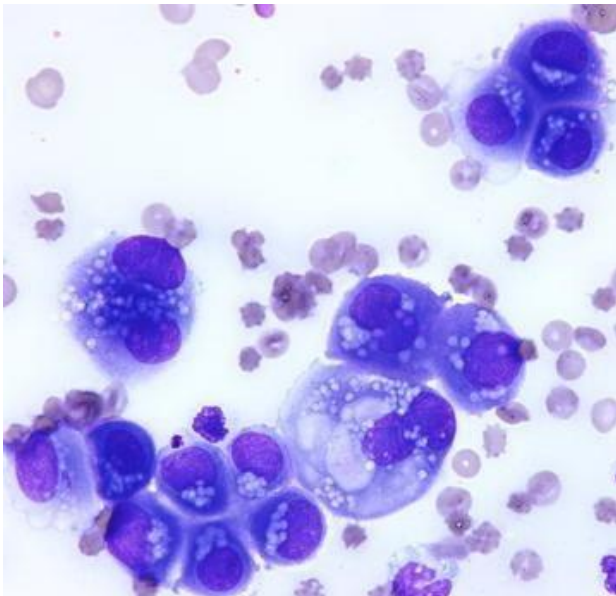
Fuente:<https://lh3.googleusercontent.com/URyDPkUSuAJOQ9Aww8Abqs1LrfgbOSVLDbiuArSaFuEBGLDT7N1yxt7L70NVLJbdYDii6Q=s114>

PROCEDIMIENTO TÉCNICO DE LA COLORACIÓN DE GIEMSA:

1. Desparafinar – deshidratar – hidratar
2. Giemsa 30–45min
3. Lavar
4. DAMRE

Resultados: bacterias azul violeta, fondo rosado

Figura 13: Células mesoteliales reactivas



Fuente: https://lh3.googleusercontent.com/atw1M-58-XAUCucA4yolgtzeAnmPZOUV65ku0p_XliPqsC4M8zgUEUr-nQDMF5TpVavl=s88

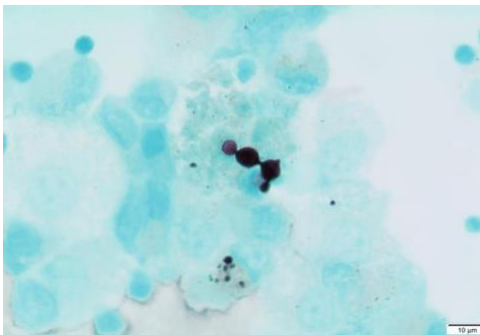
PROCEDIMIENTO TÉCNICO DE LA COLORACIÓN DE GOMORI:

1. Desparafinar – deshidratar – hidratar
2. Oxidar con permanganato 1 min
3. Lavar
4. Diferenciar con metadisulfito 1 min
5. Lavar

6. Sensibilizar con alumbre férrico o cloruro férrico 2min
7. Lavar 2min agua destilado
8. Impregnación argéntica 15seg microondas (o hasta coloración café)
9. Lavar
10. Cloruro de oro (retirar rápidamente)
11. Lavar
12. Reducir con metadisulfito de potasio 1 min
13. Lavar
14. Fijar con tiosulfato 1 min
15. Lavar
16. Contrastar con verde brillantes
17. Montar– revisar – entregar

Resultados: hongos cafés, fondo verde brillante

Figura 14:



Fuente: https://lh3.googleusercontent.com/FNa~TpUyxnk9FvBhVBFfzyRrBZNzVKVnBHSbjEAY3UcQA78iADZGkILdPOIdWCxMWJ_c0CE=s124

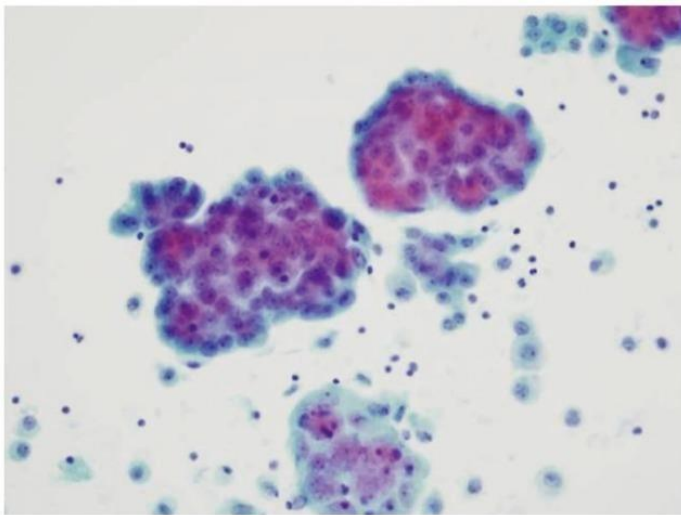
PROCEDIMIENTO TÉCNICO DE LA COLORACIÓN DE PAP:

1. Hidratar 1 min
2. Hematoxilina 4min
3. Lavar
4. 2 Alcoholes 15– 20 pases

5. Orange G 2–3min
6. Lavar
7. 2 Alcohol 15–20 pases
8. Eosina 3–4min
9. DAMRE.

Resultados: núcleos azules, citoplasma rojo rosado, proteínas del citoplasma naranjabrillante

Figura 15: Células mesoteliales agrupadas



Fuente: https://lh3.googleusercontent.com/OOfmgSsfIBKNdSfdFU2xYqtShxyGvrDD3vjV_Y0KYacCwte4l9OuQB9S5D6dP-I-ZNIdcBA=s113

2

¿POSIBLES INTERPRETACIONES EN LA CITOLOGÍA DE LÍQUIDO PLEURAL?

- Las categorías como "no se identificaron células malignas" y "positivo para células malignas" se utilizan para informar los resultados porque comunican una interpretación de manera inequívoca.
- Cuando las células anormales están muy mal conservadas o muy escasas para respaldar un diagnóstico definitivo de malignidad, se informan normalmente como "células atípicas presentes" (un bajo

grado de sospecha) o "sospechoso de malignidad" (un alto grado de sospecha).

ARTÍCULO:

CONTRIBUCIÓN DEL ANÁLISIS DEL LÍQUIDO PLEURAL AL DIAGNÓSTICO DE LOS DERRAMES PLEURALES

Los aportes de otros estudios al análisis del líquido pleural nos acercan a un diagnóstico más confiable, reconocer la diferencia entre exudado y trasudado, y que a la vez nos permita conocer las causas patológicas por el cual se produce el derrame pleural.

En el pasado se estimó que la toracentesis proporcionaba un diagnóstico definitivo en el 18% de los casos y de presunción en otro 55%³ Con el grado de entendimiento de hoy del ALP, el clínico debe ser capaz, tras la toracocentesis inicial y con la ayuda de la historia clínica, de llegar a un diagnóstico definitivo, o de presunción, entorno al 95% de los casos.

La sensibilidad diagnóstica de la toracocentesis incrementará de manera importante si el ALP se combina con la ejecución de una historia clínica y una investigación física detalladas y se evalúan de manera idónea las pruebas analíticas pertinentes y los hallazgos de las pruebas de imagen. La conjunción de todo ello puede entablar un diagnóstico definitivo, o de alta posibilidad, en un alto porcentaje de pacientes, para lo que es preciso un profundo entendimiento de las maneras que da el ALP. Si esto no es de esta forma, el número de DP no diagnosticados, o problemáticos, puede ser alto y difícilmente aceptable en la práctica clínica de hoy (3) (4) (5)

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

1. Chandra A, Chandra B, Chandra D, Chandra F. The international system for serous fluid cytopathology. Springer. 2007.
2. Researchgate.net. disponible:
https://www.researchgate.net/figure/benign-pleural-fluid-specimen-from-a-patient-with-a-history-of-breast-carcinoma-the-case-fig1_314102391.
3. Michael CW, Bedrossian CCWM. La implementación de la citología de base líquida para enfermedades de base pulmonar y pleural. Departamento de Patología, Universidad Case Western Reserve, Hospital Universitario 2014.
4. Ferreira L, Toubes ME, Valdés L. Contribución del análisis del líquido pleural al diagnóstico de los derrames pleurales. Medicina Clínica. 2015-08-21: Páginas 171-7.
5. Pérez JMP. Seminarios de la fundación española de reumatología revisión ABC del líquido pleural. junio 2010.

LISTA DE FIGURAS:

- Figura 1: Mauro B. Técnica que permite detectar la presencia de ascitis [Internet]. rinaldipedia. 2011 [citado 23 septiembre 2021]. Disponible en: <https://rinaldipedia.com/sources/paracentesis/paracentesis.png>
- Figura 2: S R. procedimiento en el que se emplea una aguja para extraer líquido del sacopericárdico [Internet]. orbi. 2003 [citado 23 septiembre 2021]. Disponible en: <https://www.rccc.eu/images/cardTamp.gif>
- Figura 3: procedimiento de invasión mínima para diagnosticar y tratar las efusiones pleurales, existe fluido excesivo en el espacio pleural. [Internet]. redaccionmedica. 2004 [citado 23 septiembre 2021]. Disponible en: <https://www.redaccionmedica.com/images/enfermedades/toracocentesis.jpg>

- Figura 4:
<https://lh3.googleusercontent.com/7hkke08mcrAS449JXF7xfvhJSzAiFAgXBy6RFU0kej-sxWy4aMrFUUbF2AxkvwLk7IPr=s151>
- Figura 5: https://lh3.googleusercontent.com/_2dfo5-iEyW0wWGbTB--wE71qUEIFoJxR-t2Uo0dFkOJrOynCT5WStGP8qjMQpngMkxTog=s151

- Figura 6:
https://lh3.googleusercontent.com/Lhuhx355BrZ3N6E_eQGIzuBqtW5TjOWrQ1k7hi7oRi-Nv9ZFZjWQwTOGZeiS6pPYV1YOWQ=s151
- Figura 7: cytospin [Internet]. epredia. 2010 [citado 23 septiembre 2021]. Disponible en: <https://assets.fishersci.com/TFS-Assets/APD/product-images/F82238~p.eps-650.jpg>
- Figura 8: <https://beta-static.fishersci.com/images/euimages/F47591~wl.jpg>
- Figura 9: Hospital san jose [Internet]. 2021 [citado 23 septiembre 2021]. Disponible en: https://lh3.googleusercontent.com/_jemz1KqttGj_jx7E36WmvRr5ZGSc7jEMWTIzoyCU7AEu3gQuk3_3jR4VYuvQ5PJZxkWYw=s85
- Figura 10: Derrames pleurales linfocíticos: etiología y frecuencia en un hospital general de distrito del Reino Unido [Internet]. 2019 [citado 23 septiembre 2021]. Disponible en: https://lh3.googleusercontent.com/ETnEH4hjXtAiKk8aQslGzJb7QbYAPt39vRo_r_PSVx1LY4bOGr1w4xmY9UOHXSpWEC3D=s107
- Figura 11:
https://lh3.googleusercontent.com/KI_Qhm_do8iyFAae5iSuCoYaGh-ySjumMc8Jkh207z52h0zUWkZKoN9tneg7mVBfxTYrKQ=s114
- Figura 12: Guillen AL. Morfología microscópica [Internet]. wordpress. 2020 [citado 23 septiembre 2021]. Disponible en: <https://lh3.googleusercontent.com/URyDPkUSuAJOQ9AvwBAbqs1LrfgbOSVLDbiuArSaFuEBGLDT7N1yxt7L70NVLJbdYDii6Q=s114>
- Figura 13: Células mesoteliales reactivas [Internet]. 2017 [citado 23 septiembre 2021]. Disponible en: https://lh3.googleusercontent.com/atw1M-58-XAUCucA4yolgtzeAnmPZOUV65ku0p_XliPqsC4M8zgUEUr-nQDMF5TpVavl=s88

- Figura 14: <https://lh3.googleusercontent.com/FNa-TpUyxnk9FvBhVBffizyRrBZNzVKVnBHSbjEAY3UcQA78iADZGkILdPOldWCxMWJc0CE=s124>
- Figura 15: Células mesoteliales agrupadas [Internet]. 2018 [citado 23 septiembre 2021]. Disponible en: <https://lh3.googleusercontent.com/OOfmgSsfIBKNdSfdfU2xYqtShxyGvrDD3vjVY0KYacCwte4l9OuQB9S5D6dP-l-ZNldcBA=s113>