

U. PORTO



INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR
UNIVERSIDADE DO PORTO

Relatório Final de Estágio

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

SER OU NÃO SER DIAGNÓSTICO

CITOLOGIA EM MEDICINA VETERINÁRIA DE ANIMAIS DE COMPANHIA

Cathy Thora Kruchem

Orientador:

Augusto Manuel Rodrigues Faustino

Co-orientadores:

Nazaré Pinto da Cunha

Porto 2015

“Logic will take you from A to B. Imagination will take you anywhere.”

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente ao ICBAS, por ser o palco de tantas experiências que me moldaram e cuja memória será sempre doce. Muito obrigada, aos docentes pela transmissão de conhecimentos valiosos, que tentarei preservar e amplificar tanto quanto me for possível. Um especial obrigado ao prof. Augusto Faustino, meu orientador, por me apoiar quando me esqueci de respirar, e incentivar quando me esqueci de lutar. Obrigada prof. Pablo Payo, por me ensinar o que é *paixão* e compreender o poder que implica, nunca mais vou ter de trabalhar na vida. Obrigada profs. Carla Mendonça e Margarida Araújo, pelo vosso gosto pelo ensino e amor pelos alunos. Obrigada prof. Paulo Costa, por me fazer ver que os tentáculos da nossa profissão se estendem além da imaginação do comum mortal, e que não são independentes uns dos outros. Obrigada prof. “Capitão” Armando, por tantas vezes que me pôs em sentido e me fez querer Ser mais.

A toda a equipa do CEDIVET por me acolherem de braços abertos no seu meio, espero ter conseguido retribuir todo o carinho que me mostraram. À Dra. Nazaré Cunha, minha co-orientadora com quem pude sempre contar, obrigada pelas gargalhadas e os puxões de orelha, pela experiência e pela paciência, pelos “cod fish cakes”. Os quatro meses seriam certamente mais longos sem si. Um obrigado especial ao Dr. Hugo Carvalho e Dr. Rui Gil da Costa, pelo companheirismo e pela boa disposição constante.

Obrigada ao Dr. Hugo Lopes e família RIAS, pela amizade e honestidade.

A todos vós que me abriam as portas para o futuro, espero não vos ter desiludido. Muito.

Obrigada animais, domésticos ou selvagens, do glorioso ao arrepiante, por despertarem em mim amor por tudo o “resto” que vive. Somos todos feitos de pó estelar, um só Organismo.

Danke Papa-moscas, por todas as paletas sobre micro-escala. Sem elas os olhos da minha alma continuariam míopes para tudo o que é belo neste mundo, e sem ti nunca teria embarcado nesta viagem de conhecimento. Obrigada por ensinares o que é o amor, e por mo lembrares, cada vez que me esqueço. Obrigada pelos segredos para Ser o Universo.

Obrigada Mãe por me ensinares a acreditar, em mim, nos outros, os que estão e os que já estiveram. Obrigada por me ensinares a cair e levantar, espero algum dia conseguir fazê-lo com metade da tua graciosidade. *Keep calm and breathe.*

Obrigada Meta C, pelo apoio e admiração que me propulsionaram a ser a melhor versão de mim que conseguia. Ensinaste me que consegues fazer tudo o que a tua mente decida.

Obrigada Francisco, que continuas a desafiar e apoiar-me desde que me lembro. *“Home” is not a place. It’s a person.* Obrigada por me fazeres sentir completa.

Obrigada aos amigos, que me salvaram a vida mais do que uma vez. Aos que estão longe, Mariana, Isa, Régi, Mafalda, Daniela, Palhinhas, Fabi, Maria, Chico, Paulo e Martim. Aos que estão perto, Beni, Vone, Rola, Sandy, Rita, Rakas, Zé Pete, Roms, Gil, Gustavo, Miguel, Fonseca, Freitas, Camone, Corli, Magas, Raul, Marcos, Pepito, Bouças, Costinha. Este trabalho também é vosso, e o meu mundo é muito mais brilhante porque pisam o mesmo chão que eu.



RESUMO

Como culminar do percurso académico, a realização do presente estágio tem como objetivo a inserção dos conhecimentos adquiridos durante o curso, num contexto dinâmico e real, com posterior avaliação das capacidades adquiridas. A escolha da área laboratorial foi despoletada, principalmente pelo gosto pela análise citológica, mas também pela necessidade de compreensão de uma área pouco explorada a nível didático durante o curso. O local de estágio, Centro Diagnóstico Veterinário CEDIVET, foi escolhido pelo seu reconhecimento nacional e também baseado em referências dadas por vários professores e colegas.

A técnica citológica é uma técnica amplamente usada como procedimento diagnóstico, sendo por vezes inconclusiva por diferentes razões. A maioria dos estudos publicados na literatura atribuem-lhe bons valores de especificidade e sensibilidade diagnóstica, mas raros averigam as causas de inconclusividade citológica (celularidade, integridade celular, contaminação hemática e má qualidade da amostra). O objetivo do estudo foi averiguar estas causas e relacioná-las com os diagnósticos histopatológicos e fatores de variação (tipo e localização da lesão, informação clínica ausente), com fim de perceber quais as causas mais relevantes na inconclusividade citológica e se são ou não incontornáveis. Foram selecionados 78 relatórios citológicos de análises inconclusivas e comparadas ao diagnóstico histopatológico. Foram obtidas 27 casos acelulares, 44 com escassa celularidade, 4 moderadamente celulares e 3 com elevada celularidade. Em casos celulares, 45% apresentaram células de morfologia preservada. A maior parte dos casos (75%) apresentaram vários níveis de contaminação hemática e 26% das amostras eram de má qualidade (sem esfregaço ou com detritos). Confirmou-se com o estudo que a causa maioritária limitante da emissão de um diagnóstico citológico foi o tipo de tecido recolhido, com predominância de diagnósticos de neoplasias mesenquimatosas. A segunda causa limitante foi a presença de contaminação hemática, apesar desta não ter sido estatisticamente significativa.

ABSTRACT

With the end of my academic journey, this internship's goal is to insert the acquired knowledge in a dynamic and real context, with further evaluation of the acquired skills. The choice of the laboratory analysis area arose mainly due to an interest in cytopathology, and also for the need to understand more of this poorly explored area, on a didactic level along the course. The place of internship, veterinary diagnostic center CEDIVET, was chosen for its national recognition and also based on references given by tutors and colleagues.

The cytology technique is broadly used as a diagnostic complementary procedure, being sometimes inconclusive for different reasons. Most of the studies published in literature recognize its good diagnostic specificity and sensitivity, but rarely delve deeper into the causes of undiagnostic cytology (cellularity, cellular integrity, blood contamination and sample quality). The goal of this study was to uncover these causes and relate them with histopatologic diagnosis and other factors (type, size and location of the lesion, absent clinical information) to understand the major causes, and whether or not they are unavoidable. Seventy eight cytologic cases with corresponding histopatologic analysis were selected. Of these, 27 were acellular, 44 had low cellularity, 4 were moderately cellular and 3 had high cellularity. In cellular samples, 45% presented cells with preserved morphology. Most of the samples (75%) had different levels of blood contamination and 26% samples were considered bad quality samples. This study revealed that the major cause for undiagnostic cytology is the type of tissue collected, with a predominance of mesenchymal neoplasia. The second major limiting cause was the presence of blood contamination, although it was not statistically significant.

ÍNDICE GERAL

Dedicatória	ii
Agradecimentos	iii
Resumo	v
Abstract	vi
Índice geral	vii
Índice de tabelas	viii
Índice de figuras	viii
Índice de gráficos	viii
Descrição do estágio curricular	1
Tarefas desenvolvidas	2
PARTE I: Citologia Diagnóstica em Medicina Veterinária de Animais de Companhia	3
Abordagem à Citologia Diagnóstica Veterinária	4
Populações celulares e suas principais características	6
Análise Citológica	7
Recolha e processamento de amostras citológicas	7
Técnicas de recolha	8
Interpretação Citológica	10
Lesões inflamatórias e Neoplásicas	10
Transmissão de Resultados	14
PARTE II: Avaliação dos factores de inconclusividade em relatórios citológicos.....	15
Introdução	16
Materiais e Métodos	16
Caracterização Dos Animais.....	16
Resultados	17
Discussão	22
Conclusão.....	25
Bibliografia.....	26
Anexos	viii

Índice de tabelas

Tabela 1 - Casos citológicos de 19 de Janeiro a 18 de Maio de 2015.....	2
Tabela 2 - Populações celulares.....	6
Tabela 3 - Características citológicas de malignidade celular.....	13
Tabela 4 - Diagnósticos citológicos inconclusivos.....	17
Tabela 5 - Casos inconclusivos com follow up citológico e histopatológico.....	17

Índice de figuras

Figura 1 – Tipos de inflamação: aguda, crónica, granulomatosa.....	10
Figura 2 - Tipos de inflamação: séptica, eosinofílica, fúngica.....	11
Figura 3 - Aspectos neoplásicos: benigno, maligno vs reactividade celular.	13
Figura 4 – Critérios de malignidade citológica: gerais e nucleares.	13
Figura 5 - Critérios de malignidade citológica: nucleares e citoplasmáticos.	14

Índice de gráficos

Gráfico 1 - Progresso percentual anual dos casos inconclusivos.....	18
Gráfico 2 - Processos patológicos e caracterização de processos não neoplásicos e neoplásicos.....	18
Gráfico 3 - Populações celulares em processos neoplásicos.....	19
Gráfico 4 - Tipo de lesão, localização anatómica e método de recolha utilizado.....	19
Gráfico 5 - Descrição microscópica das amostras: Celularidade, integridade celular, contaminação hemática.	20
Gráfico 6 – Qualidade da amostra e Informação ausente na história clínica.	20

DESCRIÇÃO DO ESTÁGIO CURRICULAR

Dum ponto de vista esquemático, considero que o estágio pode ser dividido em 3 fases: uma fase inicial de adaptação e integração, uma fase de desenvolvimento pessoal e uma fase final, onde a percepção da responsabilidade era já algo de palpável.

Nos primeiros dias de atividade laboratorial, nota-se uma diferença significativa quando comparável à atividade clínica, com a qual já estava mais familiarizada. O ambiente silencioso é quebrado pelo toque dos telefones, com chamadas de várias clínicas veterinárias, com pedidos para recolhas de vários tipos de amostras (citologias, sangues, urinas, fezes...), efetuadas pelos vários estafetas do laboratório. Em vez de cães a ladrar, existe um chiar constante de toda a maquinaria do laboratório. Em vez de aves a esvoaçar, ouve-se o folhear de papéis das requisições que entram às dezenas. No âmbito da medicina veterinária, este contexto pode parecer estranho à maior parte dos meus colegas. Uma vez familiarizada com o trabalho do laboratório a minha função era por simples termos, a “pré-análise”, função que contribuiu significativamente para a minha capacidade diagnóstica, uma vez que todas as análises passavam por mim, e pelo meu julgamento clínico, antes de serem revistas e corrigidas pelo patologista responsável. A minha confiança enquanto futura médica veterinária também beneficiou desta liberdade, aumentando com cada diagnóstico correto, e aprendendo lições valiosas por cada diagnóstico falhado.

Consoante o ritmo exigido para determinado dia, as tarefas laboratoriais eram distintas. Poderia estar responsável por análises sanguíneas e rever esfregaços sanguíneos e hemogramas, por registar as análises citológicas recebidas e fixá-las, por elaborar relatórios citológicos, etc. Usualmente as manhãs eram passadas a rever análises citológicas com a Dra. Nazaré Cunha, as tardes com o Dr. Hugo Carvalho ou a Dra. Inês Cardoso em análises sanguíneas, e uma vez por semana acompanhei casos de histopatologia com o Dr. Rui Gil da Costa.

Numa última fase do estágio, e não menos importante, foi incutido em mim um profundo sentido de responsabilidade. Confesso que enquanto jovem médica veterinária sentia alguma urgência na emissão de um diagnóstico e aprendi prontamente que a brevidade não é um fator determinante no maneio clínico de cada caso. Aprendi também, de várias maneiras, que um diagnóstico não deve ser forçado.

Tarefas desenvolvidas

Durante o meu percurso contei participação mais ativa em 828 diagnósticos citológicos (Tab. 1), e em menor incidência na casuística do laboratório com 607 casos de hematologia, 46 casos de histopatologia, 4 casos de urianálise e 3 de pesquisa de dermatófitos. Durante e a partir das férias de uma técnica, participei mais ativamente no funcionamento do laboratório, auxiliando na realização de esfregaços sanguíneos (365) e na preparação e processamento (inclui-se registo de aspetos macroscópicos das amostras, identificação das lâminas e coloração) de amostras citológicas (130), atividades que contribuíram para o desenvolvimento não só de capacidades veterinárias, mas também de capacidades técnicas de laboratório.

Tive ainda o prazer de elaborar o meu primeiro *poster* científico, fora de um contexto académico, participando com o tema “Síndrome Dígito-Pulmonar Felino: Um diagnóstico citológico” no XI Congresso de Medicina Veterinária do Montenegro, o que confesso ter despertado em mim um interesse pela publicação científica. Participei também em dois Almoços Científicos do CEDIVET, evento “interno” mensal, realizado com o fim de discutir artigos no âmbito da Patologia Clínica. Na estreia, dia 9 de Março, fiz uma apresentação sobre a “Fase Pré-Analítica em Medicina Veterinária”, particularmente na área laboratorial.

Tabela 1 - Casos citológicos de 19 de Janeiro a 18 de Maio de 2015. No anexo I do presente trabalho encontra-se uma versão mais detalhada desta tabela.

Processo Patológico	Espécie			Total
	Canino	Felino	Outros*	
Inflamatório	145	70	1	216
Não Inflamatório	350	68	1	419
Sem alterações	29	11	2	42
Inconclusivos	125	25	1	151
Total	649	174	5	828

PARTE I: CITOLOGIA DIAGNÓSTICA EM
MEDICINA VETERINÁRIA DE ANIMAIS
DE COMPANHIA

ABORDAGEM À CITOLOGIA DIAGNÓSTICA VETERINÁRIA

Citopatologia define-se como o ramo da patologia que estuda doença, a um nível celular, através da observação microscópica das células, sendo considerada em medicina veterinária e humana uma técnica de diagnóstico auxiliar, na minha opinião com grande valor em medicina veterinária. Parte integrante da patologia clínica, especialidade relativamente recente na Europa, quando comparada p.e. aos EUA, com a fundação da Sociedade Europeia de Patologia Clínica Veterinária em 1998 (ECVCP - European Society of Veterinary Clinical Pathology). Quando questionados, médicos veterinários nos EUA (Christopher et al 2008) e no Reino Unido (Skeldon e Dewhurst 2009) sobre o porquê do uso da técnica, a resposta mais comum foi “para orientação de exames complementares adicionais” e “para obter um diagnóstico definitivo” respetivamente, refletindo uma melhor compreensão da técnica por parte dos colegas transatlânticos.

Esta técnica apresenta várias vantagens, como a versatilidade (interpretações de diferentes tipos de tecidos, lesões e processos patológicos), a rapidez e simplicidade de execução, o baixo custo, baixo risco e boa tolerância por parte dos pacientes, e a boa qualidade da informação que transmite. (Meyer et al 20010, Meinkoth^b et al 2008, Sharkey^a et al 2014) As suas principais limitações estão relacionadas com sensibilidade e especificidade, com resultados inconclusivos devido a baixa celularidade das amostras, falta de arquitetura celular, ou presença de artefactos na amostra (Sharkey et al 2007, Christopher et al 2008). Em determinados casos, e especialmente no nosso contexto socioeconómico nacional, onde questões financeiras limitam a utilização de testes complementares adicionais ou face à necessidade de tratamentos dispendiosos, a citologia pode ser a única base para decisões médicas importantes, especialmente no caso de sofrimento ou declínio da qualidade de vida do animal. Um dos usos de excelência para a citologia em medicina veterinária, é a distinção entre processos inflamatórios e neoplásicos. O facto de, com base na análise citológica, podermos apresentar aos proprietários a hipótese de eutanásia dos seus animais, é um aspeto único e exclusivo da medicina veterinária.

Porém, apesar de nem sempre ser possível inferir um diagnóstico final, “não existem dúvidas quanto ao seu papel na redução da lista de diagnósticos diferenciais” (Meinkoth^b et al 2008), uma vez que a técnica pode ser usada como exame complementar, para estadiamentos oncológicos, decisões e monitorização de tratamento, decisões cirúrgicas. Para isto é conjugada com outras técnicas diagnósticas, imagiológicas (p.e. ecografia) ou de interpretação morfológica (p.e. histopatologia), aumentando a sua sensibilidade e especificidade diagnóstica.

Uma vez que a esperança média de vida dos nossos animais de companhia aumenta de ano para ano, será esperado também um aumento da incidência de alterações neoplásicas, que muitas vezes se manifestam como um “crescimento anormal” em diversas localizações anatómicas. Nestes casos a citologia pode ser usada como teste inicial a ser complementado pela histopatologia, ainda considerada o “*gold standard*” para avaliação morfológica tecidual (Sharkey et al 2007). Esta técnica, normalmente mais dispendiosa e representando maior risco para o animal, não deixa de ser necessária para emissão de um diagnóstico definitivo, em grande parte das lesões avaliadas. Apesar de tudo, serão sempre áreas complementares, pela eficácia da citologia e pela informação dada pela histopatologia.

Populações celulares e suas principais características

A identificação de uma população celular é inicialmente feita com base em características comparáveis à população progenitora: epitelial, mesenquimatosa ou redonda/hematopoiética (Tab. 2). A falta de arquitetura celular pode ser um fator limitante da interpretação citológica mas, na presença de um padrão (especialmente em células epiteliais), a categorização e classificação morfológica pode ser facilitada, e ainda permitir informações adicionais relacionadas com terapêutica e prognóstico. As características arquitetônicas dependem em parte de recolhas (p.e. agulhas com gauge muito alto) e esfregaços não traumáticos, mas também do tipo de lesão (número de células e da presença de matriz ou estroma) e em menor grau das preparações efetuadas (fixação e coloração). (Masserdotti 2006, Raskin 2010, Cunha 2015 comunicação pessoal)

Tabela 2 - Principais características citológicas das diferentes populações celulares (Masserdotti 2006, Meinkoth et al 2008, Raskin 2010).

Tipo Celular	Características				
	Celularidade	Distribuição	Tamanho e forma	Arquitetura	Outras
Epitelial	Moderada a elevada	Agregados de células coesivas.	Depende do tecido: Podem ser pequenas a grandes, de morfologia colunar, cuboide, poligonal, redonda. Geralmente com limites bem definidos.	Pavimentosa, em colmeia, paliçada, acinar, trabecular ou papilar	O citoplasma pode ser abundante, com vacúolos de secreção ou diferenciação escamosa.
Mesenquimatoso	Variável: baixa a elevada	Agregados de células unidos por matriz ou isoladas.	Fusiformes a estreladas. Podem ser arredondadas (tecido ósseo). Geralmente de limites pouco definidos.	Arranjos ondulados ou perivasculares	Presença de matriz eosinofílica extracelular. Podem apresentar vacuolização.
Redondo	Elevada	Uniforme (células isoladas).	Pequenas a médias, redondas, de limites bem definidos	Baixa preservação da arquitetura celular	Morfologia muito característica

Análise Citológica

Recolha e processamento de amostras citológicas

A recolha de amostras é geralmente simples, rápida e pouco invasiva. Está indicada a recolha de amostras na presença de efusões (torácicas, abdominais e pericárdicas), sedimentos urinários, lavagens vesicais, aspirados ou lavagens de próstata, linfadenopatia focal ou generalizada, doenças metastáticas, organomegalias (hepática, renal, esplénica), massas e lesões ulcerativas cutâneas e subcutâneas, lesão ocular (conjuntiva, vítreo ou aquoso), aspirados e lavagens do aparelho respiratório (nasal, traqueal, bronco alveolar e pulmonar), massas intra-abdominais e massas detetadas em cirurgia. (Meinkoth^b et al 2008, Meyer et al 2010)

Antes da recolha, devem ser tomados devidos cuidados de limpeza da área a puncionar, semelhantes aos de uma vacinação para lesões cutâneas ou subcutâneas, e cuidados de assépsia cirúrgica para lesões intratorácicas ou intra-abdominais. Na presença de lesões ulceradas ou exsudativas deve ainda ter-se o cuidado adicional de limpar os tecidos com um toalhete de papel, uma vez que a presença de sangue ou plasma diminui a probabilidade de adesão celular ao vidro. (Meinkoth^b et al 2008)

Devem ainda ser consideradas recomendações específicas de acordo com a localização da lesão a puncionar ou suspeita do processo patológico em curso. Em recolhas de gânglios linfáticos na evidência de linfadenopatia generalizada, por exemplo, devem no mínimo ser recolhidas amostras de dois gânglios distintos (Cowell et al 2003), e devem ser evitadas áreas centrais de linfonodos muito aumentados, com risco de obter amostras não diagnósticas (centro com detritos necróticos). (Meyer et al 2010) A consistência e margens das lesões cutâneas ou subcutâneas devem ser definidas, estando consistências moles e firmes associadas a diferentes tipos de processos patológicos. Sempre que possível, deverão ser recolhidas amostras de áreas diferentes de lesões heterogéneas. Lesões quísticas com conteúdo líquido devem ser tratadas como análise de fluídos, inicialmente removendo-se todo o líquido e, idealmente aspirando uma parte sólida da lesão. Em lesões internas, a citologia é geralmente eficaz na avaliação de organomegalias (fígado, baço p.e.), e menos eficaz na presença de lesões focais (Meyer et al 2010). Isto devido à possibilidade de ser uma lesão pouco exfoliativa, ou de punção do tecido peri-lesional, resultando em interpretações erróneas. Em tecidos vascularizados ou fluídos, pode ser colocado EDTA estéril na agulha e ponta da seringa, ou pode ser feita a recolha para um tubo de EDTA, para redução da formação de coágulos na amostra e preservação da morfologia celular no transporte para o laboratório. (Meinkoth^b et al 2008, Rebar & Thompson 2010)

O **equipamento** para recolha de amostras deverá incluir seringas (de 6 a 12 cc), agulhas de diferentes calibres (com 20 a 22 gauge) e tamanhos (1 e 1 1/2 polegadas para lesões superficiais, ou agulhas espinhais com 2 1/2 a 3 1/2 polegadas para lesões mais profundas), várias lâminas limpas, tubos de recolha EDTA, uma superfície plana onde se possam colocar todas as lâminas, e lápis ou caneta de acetato para identificação das amostras. As lâminas devem ser espalhadas numa superfície e limpas com um toalhete de papel antes de ser recolhida a amostra. Pode ainda ser utilizado um secador para acelerar o processamento, contudo é preferível que sequem ao ar.

Técnicas de Recolha

Citologia por Aspiração com Agulha Fina (CAAF) é a técnica mais amplamente utilizada. Após acoplar a agulha à seringa, a lesão é puncionada. Enquanto é aplicada pressão negativa devemos avançar e retrain a agulha em diferentes direções, passo que facilitará a exfoliação celular. Deveremos cessar a pressão negativa antes da retirada da agulha, para que não haja risco de espalhar o conteúdo citológico no barril da seringa. Uma vez retirada a agulha é desacoplada da seringa, o êmbolo retraído, a seringa novamente acoplada à agulha e o material aspirado é expulso sobre uma lâmina. Com uma segunda lâmina, é feito o esfregaço através do deslizamento perpendicular de ambas as lâminas, num movimento único, e sem pressão. Em lesões pouco esfoliativas a pressão negativa deverá ser aplicada de forma pulsátil para maximizar a retirada de material (Meinkoth^p et al 2008, Meyer et al 2010). O uso de aspiração nem sempre é necessário para a recolha de uma amostra com significativa celularidade, podendo ser usada a técnica sem aspiração, que se baseia no princípio da capilaridade, em tecidos de morfologia mais frágil, como gânglios linfáticos, ou em tecidos altamente vasculares passivos de serem contaminados com demasiado sangue, como por exemplo fígado, baço, rim e tiróide. (Cowell et al 2003, Meyer et al 2010) O conteúdo citológico é depositado no tubo da agulha à medida que esta é redirecionada na lesão entre 3-6 vezes.

Citologia Ecoguiada é uma técnica utilizada principalmente em lesões intratorácicas ou intra-abdominais. Esta técnica pode ser efetuada de duas maneiras, usando uma mão livre, o que geralmente requer maior experiência por parte do veterinário, ou com o auxílio de um guia fixo ao transdutor. Esta última torna mais fácil o acompanhamento da agulha, mas limita o movimento do transdutor. O gel de ecografia deve ser limpo pré-punção para evitar posteriores artefactos nas preparações, usando-se álcool ou água como meio de interface. As agulhas

usadas para esta técnica devem, de preferência, ter um gauge maior para diminuir o risco de hemorragia, com a exceção de aspiração de fluídos com maior viscosidade. (Meyer et al 2010)

Citologias por Aposição ou Zaragatoa são feitas principalmente em amostras cirúrgicas ou de lesões ulceradas/exsudativas (aposição), ou em lesões anatomicamente desafiantes (p.e. ouvido, cavidade nasal, canal vaginal). Após limpeza da área, é aplicada pressão com a lâmina limpa sobre o tecido lesionado. Os problemas mais comumente associados a este tipo de análise são: ausência de limpeza da lesão (*blotting*), lesões pouco esfoliativas e baixa representatividade para processos extensos, uma vez que apenas é avaliada a parte superficial da lesão. (Meinkoth^b et al 2008, Meyer et al 2010)

Citologias de Fluidos são em tudo semelhantes à realização de um esfregaço sanguíneo, sendo utilizadas em lesões quísticas, lavagens ou efusões, com uma componente líquida. Existe ainda a possibilidade de centrifugação (citocentrifugação) na evidência de líquidos translúcidos ou com baixa contagem celular, e em fluídos evidentemente sanguinolentos pode ser feito um *buffy-coat* da amostra. (Meyer et al 2010)

Interpretação Citológica

Antes de qualquer interpretação, é feita uma revisão da história clínica do animal, seja ela existente ou não. É feita uma avaliação macroscópica da preparação e posteriormente procede-se à análise microscópica, avaliando a amostra em termos de qualidade e representatividade, com base em aspetos como o número de células intactas, os agregados celulares, os tipos celulares presentes e presença de contaminação hemática ou bacteriana. (Raskin 2010, Sharkey & Wellman 2011)

O clínico deve fornecer ao patologista informações consideradas essenciais à interpretação, como espécie animal e idade. A raça nem sempre é especificada, mas é recomendável uma vez que pode ser relevante na prevalência de certa patologia. Também é essencial que esteja especificado o método de recolha, já que diferentes métodos de recolha afetam a qualidade da amostra citológica, de acordo com o tecido/lesão avaliada. (Cowell et al 2003, Sharkey et al 2007, Meinkoth^a et al 2008, Meyer et al 2010, Cunha 2015 comunicação pessoal)

Primeiramente é feita uma observação numa objetiva de menor ampliação (4/10x) para avaliação da distribuição celular na lâmina, e de seguida o detalhe celular com uma objetiva de maior ampliação (40/60x).

Lesões inflamatórias e Neoplásicas

Em lesões inflamatórias, a população presente é normalmente mista, estando presentes neutrófilos, eosinófilos, macrófagos, linfócitos e plasmócitos em números variáveis. A classificação da inflamação é feita de acordo com a predominância de um ou outro tipo celular, em neutrofílica, linfocítica-plasmocítica, granulomatosa, eosinofílica ou mista (Fig 1).

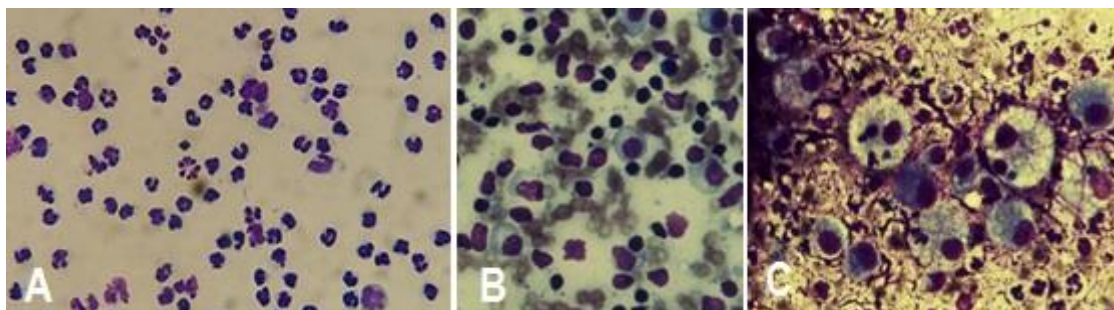


Figura 1 – Diff-Quick **A.** Inflamação neutrofílica, com presença de neutrófilos degenerados (cariólise e cariorrexis) (10x). **B.** Inflamação linfocítica-plasmocítica, com pequenos linfócitos e plasmócitos (40x). **C.** Inflamação granulomatosa, com vários macrófagos reativos, em fagocitose de detrito celular (40x).

Inflamações neutrofílicas (geralmente agudas) caracterizam-se por uma predominância de neutrófilos, podendo ser acompanhadas por números mais baixos de macrófagos, e estão associadas a infecções bacterianas, fúngicas ou a reações de corpo estranho, p.e. a pêlos e queratina alojados no tecido subcutâneo. É importante o aspeto morfológico dos neutrófilos, já que um estado de degeneração (cariólise e cariorrexis) é fortemente indicativo da presença de um agente infeccioso. Uma vez que pode haver contaminação bacteriana da amostra, devemos apenas considerar verdadeiros patogénicos, agentes que se encontrem fagocitados, uma vez que a fagocitose é um fenómeno que ocorre *in vivo* (Fig. 2A). (Meinkoth^a et al 2008, Raskin 2010) Em certas espécies veterinárias (aves, coelhos, répteis) existem células inflamatórias equivalentes aos neutrófilos, mas com grânulos eosinofílicos citoplasmáticos, denominados de heterófilos. Nestas espécies torna-se difícil para alguém com pouca experiência, distingui-los de eosinófilos.

Derivados de monócitos circulantes, os macrófagos, células de morfologia variável, chegam aos tecidos inflamados em 2-3 horas, não sendo necessariamente indicadores de cronicidade, apesar de os seus números aumentarem com o decorrer do tempo. Uma vez nos tecidos, o seu citoplasma aumenta, podendo tornar-se vacuolizado e conter detritos celulares, bactérias, fungos, material estranho ou eritrócitos fagocitados. (Meinkoth^a et al 2008)

Podem ainda estar presentes em reações inflamatórias números variáveis de eosinófilos (Fig. 2B), geralmente associados a reações de hipersensibilidade, parasitismo, infeções víricas cutâneas em gatos, foliculite e furunculose canina e infeções fúngicas (Fig. 2C). (Raskin 2010)

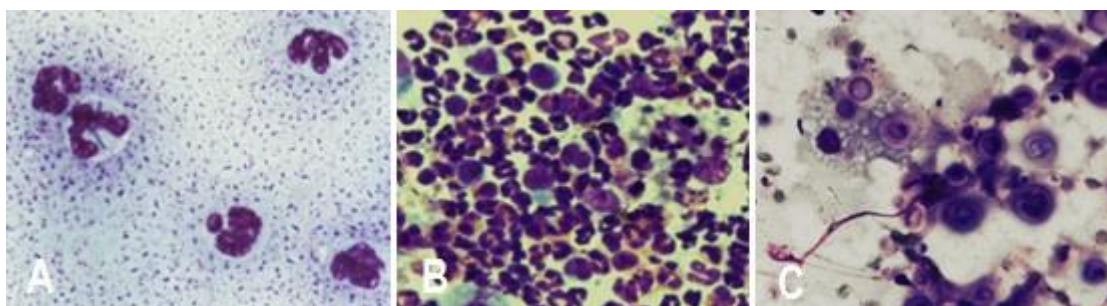


Figura 2 – Diff-Quick. **A.** Inflamação neutrofílica séptica (fagocitose de bactérias) (100x). **B.** Gato. Granuloma eosinofílico felino (40x). **C.** Gato. Criptococose. À esquerda um macrófago fagocita vários esporos fúngicos (40x).

A presença de fibroblastos é também comum em lesões inflamatórias. Estas não são células inflamatórias mas respondem a lesão tecidular. Caracteristicamente são células de aspeto alongado, com moderado citoplasma e margens indistintas, encontrando-se com o núcleo aumentado, com um discreto nucléolo quando reativas (Fig. 8). Nestes casos, e uma vez que estas células tendem a esfoliar pouco, devemos esperar pouco número de fibroblastos, tomando cuidado na interpretação de maiores números, ou na presença de grandes agregados celulares. (Meinkoth et al 2008)

Em reações inflamatórias linfocítica-plasmocíticas (geralmente crônicas) observam-se predominantemente linfócitos ou plasmócitos, aparecendo no local alguns dias após início da reação inflamatória. Este tipo de infiltrado está também associado com infecções virais, e reações autoimunes ou alérgicas. Os linfócitos maduros são células pequenas, com pouco citoplasma e cromatina homogênea densa, normalmente não apresentando nucléolos, mas podem ser vistos também menores números de linfócitos imaturos, médios a grandes. (Cowell et al 2003, Raskin 2010) Na presença de grande número de linfócitos imaturos pode levantar-se a suspeita de linfoma. No contexto de inflamação crônica, macrófagos podem estar presentes, apresentando multinucleação (p.e, reações de corpo estranho) e conformação epiteloide (Meinkoth^a et al 2008, Raskin 2010), formando grupos de aspeto coesivo semelhantes a células epiteliais, mas ao contrário destas, não formam agregados celulares tridimensionais.

Ao contrário de lesões inflamatórias, lesões com populações celulares relativamente homogêneas, podem indicar tecido normal, hiperplasia ou neoplasia. Tecidos normais ou hiperplásicos são compostos principalmente por células diferenciadas com uniformidade celular, nuclear e nucleolar. (Raskin 2010) O primeiro passo será identificar o tecido recolhido, determinando se a população presente é ortotópica ou heterotópica. Quando esta classificação não é possível, o diagnóstico de neoplasia é feito com base no número de células e sua distribuição na lâmina, e em características morfológicas gerais, nucleares ou citoplasmáticas, indicadoras ou não de malignidade (Tab. 3), sendo suspeitas de neoplasia populações que apresentem pelo menos três destes critérios. Neoplasias benignas tendem a exibir uma população uniforme de células (Fig. 3A), com pouca variação morfológica e semelhantes às células progenitoras, enquanto neoplasias malignas se caracterizam por heterogenicidade celular (Fig. 3B) denunciando falta de diferenciação celular. Para avaliação de malignidade, os critérios nucleares são normalmente mais fiáveis que os critérios gerais, e critérios citoplasmáticos são muito úteis na classificação do tipo celular presente. Em casos suspeitos de neoplasia deve ainda ser considerada a displasia reativa de certos tipos celulares, como células epiteliais escamosas, fibroblastos (Fig 3C), células mesoteliais e células de transição (Meinkoth^a et al 2008, Raskin 2010, Rebar & Thompson 2010, Cunha 2015 comunicação pessoal). Na elaboração de um relatório devemos ser conservativos, sendo preferível um falso negativo que um falso positivo, uma vez que este último pode levar à eutanásia do animal. (Cunha 2015 comunicação pessoal)

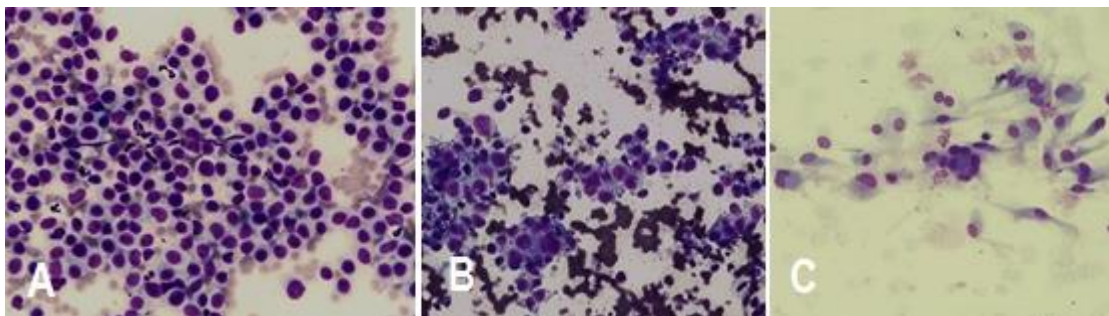


Figura 3 – Diff-Quick. **A.** Neoplasia benigna - Histiocitoma cutâneo (40x). **B.** Neoplasia maligna – Carcinoma (10x). **C.** Fibroblastos reativos (40x).

Na presença de populações mistas, p.e. casos de neoplasia com uma forte resposta inflamatória associada, pode ser mais difícil a emissão de um diagnóstico definitivo. Na presença de uma população massiva de células inflamatórias, com raras células de outra linhagem, a resposta inflamatória é geralmente primária. Em lesões neoplásicas cutâneas ou subcutâneas, a ulceração pode produzir uma resposta inflamatória superficial, mas esta geralmente não se estende aos tecidos subjacentes, sendo importante a recolha de tecidos mais profundos (Cunha comunicação pessoal 2015).

Tabela 3 - Características citológicas de malignidade celular (Meinkoth^a et al 2008, Raskin 2010).

<u>Gerais</u> (Fig. 4)	<u>Nucleares</u> (Fig. 4 e 5)	<u>Citoplasmáticas</u>
Hipercelularidade	Anisocariose/ Macrocariose	Vacúolos secretórios
Heteropatia	Índice mitótico e figuras de mitose atípicas	Queratinização
Necrose		
Pleomorfismo (anisocitose, macrocitose)	Multinucleação	Adesão celular
	Moldagem nuclear	
Relação núcleo:citoplasma	Padrão cromatínico	
	Presença e forma de nucléolos	

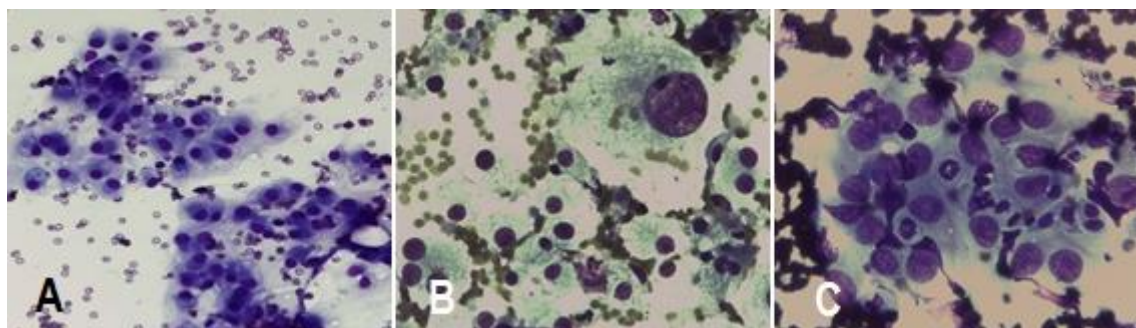


Figura 4 – Critérios gerais e nucleares (Diff-Quick): **A.** Neoplasia mesenquimatosa evidenciando alta celularidade e pleomorfismo celular (10x). **B.** Neoplasia epitelial, em cima à direita uma célula com evidente macrocitose e macrocariose (40x). **C.** Neoplasia epitelial com moderado pleomorfismo celular. Ao centro observam-se duas figuras mitóticas (40x).

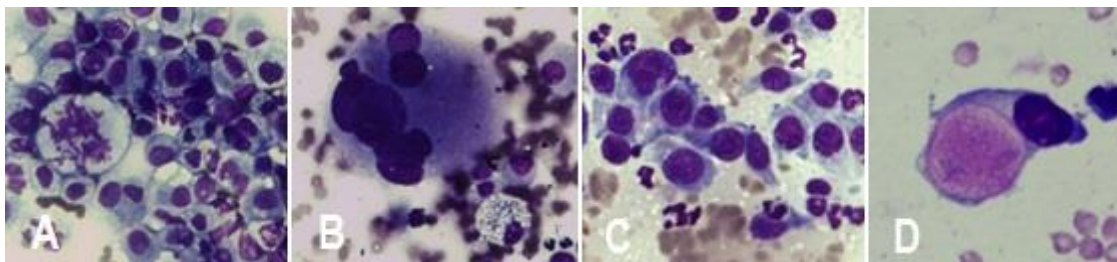


Figura 5 - Critérios nucleares e citoplasmáticos (Diff-Quick): A. População neoplásica (40x). À esquerda uma célula em divisão mostra um padrão mitótico atípico com dispersão cromossômica. B. Macrocitose, com multinucleação e anisocariose (40x). C. Células com evidente pleomorfismo celular exibindo evidentes nucléolos (60x). D. Secreção eosinofílica citoplasmática (60x).

Transmissão de Resultados

Uma vez interpretada a amostra citológica, as observações do patologista são transmitidas ao clínico, através de um relatório escrito. O relatório deve conter para além dos dados administrativos (identificação do proprietário, da clínica de origem e médico veterinário responsável, identificação do laboratório/departamento que emite o relatório), todos os dados clínicos inerentes ao animal, que assumem grande importância na interpretação do conteúdo citológico. Deve ainda ser registado o número e tipos de preparações observadas (p.e. esfregaços, citocentrifugação) bem como o tipo de coloração utilizada, e o uso ou não de aditivos (p.e. anticoagulantes, fixadores).

Segue-se um processo descritivo que deve ser completo e preciso, com recurso a uma terminologia definida e uso de vocabulário consistente, e suficientemente objetivo e sucinto para ser eficazmente assimilada pelo clínico. É elaborada uma conclusão ou secção de comentários, onde são incluídas as interpretações do patologista. Nesta parte incluem-se também possíveis diagnósticos diferenciais, prognóstico e recomendações para exames adicionais e/ou tratamentos. É importante ainda transmitir ao clínico o grau de confiança do patologista no diagnóstico obtido (p.e. “suspeito”, “provável”, “possível”) (Christopher & Hotz 2004, Sharkey & Wellman 2011). Deve ainda ser feita referência à qualidade das amostras ao clínico, informando-o no caso de esta não ser a desejada. Se assim for, devem também ser fornecidas medidas para melhorar a qualidade das amostras.

Finalmente, o relatório deve ser assinado pelo patologista responsável. Poderão haver laboratórios com uma assinatura geral (p.e. Médico Veterinário) devido à rotatividade de pessoal, mas é desaconselhável em termos de rastreabilidade e eficácia.

PARTE II: AVALIAÇÃO DOS FACTORES
DE INCONCLUSIVIDADE EM
RELATÓRIOS CITOLÓGICOS

Introdução

Existem raras referências na literatura acerca de citologia não diagnóstica, que investigam as causas (celularidade, integridade celular, contaminação hemática, etc) e fatores (tipo de lesão, técnica utilizada, acondicionamento da amostra) de inconclusividade citológica. (Forlani et al 2014, Amores-Fuster et al 2015) Este estudo tem como objetivos a quantificação de relatórios inconclusivos (e se possível relacioná-la com a quantidade descrita na literatura), e compreender as razões de inconclusividade citológica.

Materiais e Métodos

Foram analisados através de um sistema informatizado (LIS – *Laboratory Information System*: LabPets, até 2013 e SisLab, até 2015) todos os relatórios citológicos não diagnósticos elaborados por um diplomado em patologia clínica veterinária, desde 1 de Janeiro de 2012 a 30 de Abril de 2015. Uma vez que o texto escrito na conclusão dos relatórios inconclusivos era muito variado, a seleção dos casos baseou-se em relatórios que incluíssem os seguintes termos na secção de comentários: “não permite/permitem efetuar um diagnóstico”, “demasiado escasso/a/os/as”, “demasiado reduzido/a”, “inconclusivo/a”.

Para avaliação da inconclusividade citológica, foram analisados a pormenor (caracterização animal, tipos de lesão e relatórios escritos) apenas casos com *follow up* histopatológico. Foram realizados testes de variáveis independentes para avaliação da relação entre diferentes fatores (Anexo II).

As análises histopatológicas foram elaboradas pelo departamento de histopatologia do ICBAS UP até Dezembro de 2014, sendo a partir de Janeiro de 2015 avaliadas no CEDIVET pelo anatomopatologista residente.

Os relatórios foram ainda analisados em relação à **localização** anatómica, **órgão** avaliado, ao **método de recolha** utilizado, **dimensão** das lesões e **descrição microscópica** das amostras. Foi considerada apenas a descrição microscópica da última análise citológica.

Caracterização Dos Animais

Os 87 casos não diagnósticos com *follow up* histopatológico correspondem às análises de 69 cães e 18 gatos. Neste estudo não houve um grupo de controlo positivo, não sendo possível comparar a inconclusividade nas duas espécies. Um resumo desta caracterização pode ser encontrado no anexo III.

Resultados

Foram identificadas 87 correspondências entre análise citológica e histopatológica, mas em 9 casos não foi possível determinar se a análise histopatológica era correspondente à análise citológica, tendo estes casos sido retirados da amostra (n=78). Como ilustrado na tabela 4, verificou-se uma percentagem de relatórios inconclusivos de 22%, dos quais 30% seguiram com *follow up* citológico e 9% com *follow up* histopatológico. De um ponto de vista cronológico (Graf 1) verifica-se uma taxa relativamente constante de relatórios inconclusivos por ano, com uma média de 22% de resultados inconclusivos no total.

A tabela 5 faz referência ao *follow up* clínico, citológico e histopatológico, com respetivas designações “conclusivo”, “inconclusivo” e “sem alterações”, verificando-se para o *follow up* citológico um aumento progressivo anual, representando uma percentagem total média de 32% dos casos.

Tabela 4 - Total de diagnósticos citológicos inconclusivos e a sua relação com o *follow up* clínico histopatológico e citológico.

Ano	RI (%)	FUC (%)	FUH (%)
2012	212/818 (26)	23/212 (11)	23/212 (11)
2013	355/16677 (21)	89/355 (25)	27/355 (8)
2014	213/955 (22)	84/213 (39)	22/213 (10)
2015	103/544 (19)	40/103 (39)	6/103 (6)
Total	883/3994 (22)	262/883 (30)	78/883 (9)

Legenda: RI – Total de relatórios inconclusivos; RT – Relatórios citológicos totais; FUH – Casos com *follow up* histopatológico; FUC – Casos com *follow up* citopatológico.

Tabela 5 - Total anual de casos inconclusivos com *follow up* e resultado clínico (2012 a 2015).

Ano	2ª Citologia		Histopatologia	
	inc	d	inc/sa	d
2012	23	26	1	22
2013	43	46	-	27
2014	43	41	2	20
2015	21	19	-	6
Total	130	132	3	75

Legenda: RI – Total de relatórios inconclusivos; FUH – Casos com *follow up* histopatológico; FUC – Casos com *follow up* citopatológico; inc – Inconclusivo; d – Diagnóstico; sa – Sem alterações.

Dos 78 resultados histopatológicos, 75 (96%) foram diagnósticos, e 3 (4%) foram inconclusivos, com 2 casos sem alterações de relevo e 1 caso não representativo do processo patológico. Quanto ao tipo de processo patológico, 21 (27%) foram não-neoplásicos, e 54 (69%) neoplásicos (Gráfico. 2A).

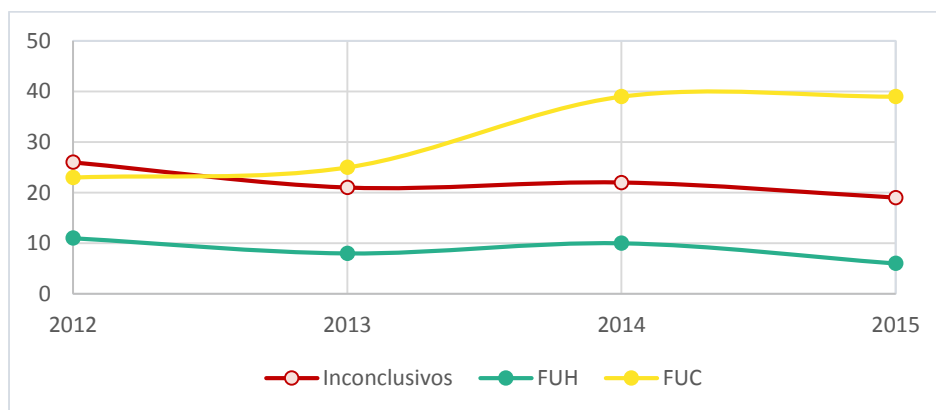


Gráfico 1 - Progresso percentual anual dos casos inconclusivos, casos com follow up histopatológico e casos com follow up citopatológico.

Dentro dos casos não neoplásicos, registaram-se 17 (22%) processos inflamatórios e 4 (5%) processos de hiperplasia, e dos casos neoplásicos resultaram 20 processos benignos e 34 processos malignos (Gráfico. 2B), dos quais 10 foram classificados como neoplasias de células redondas, 16 neoplasias epiteliais e 28 neoplasias mesenquimatosas (Gráfico. 3). Os diagnósticos histopatológicos mais comuns foram neoplasias mesenquimatosas (28), incluindo fibrossarcoma (4), sarcoma (4), schwannoma (4), hemangioma cavernoso (5), seguidas de carcinoma (7), mastocitoma (5), adenoma das glândulas hepatóides (3), inflamação granulomatosa (3), linfoma (3) e paniculite (3). Um resumo dos diagnósticos histopatológicos efectuados pode ser encontrado no anexo VII.

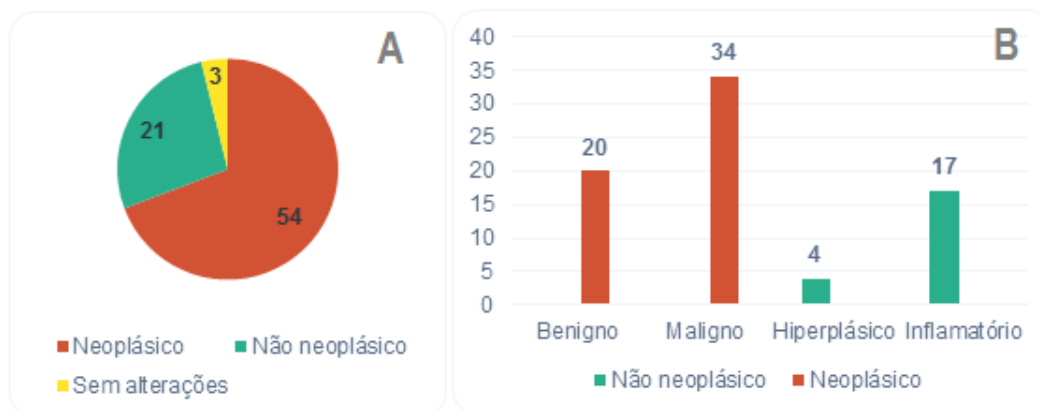


Gráfico 2 - A. Tipo de processos patológicos diagnosticados. B. Caracterização de processos não neoplásicos e neoplásicos.

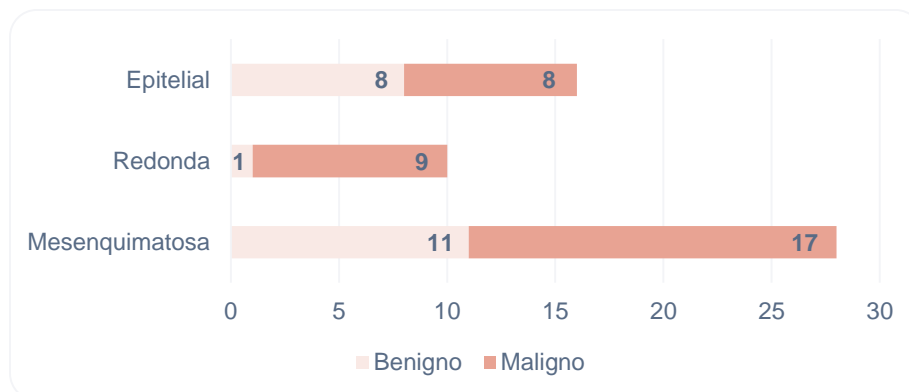


Gráfico 3 - Classificação das populações celulares em processos neoplásicos.

A localização anatómica das lesões foi dividida em **externa** (para lesões cutâneas, subcutâneas, gânglios linfáticos superficiais e lesões da glândula mamária) e **interna** (órgãos intratorácicos, intra-abdominais, cavidade oral, globo ocular, osso, próstata e músculo esquelético). Foram obtidos 55 casos de lesões externas, 10 casos de lesões internas (Gráfico.4A). Os órgãos analisados foram, por ordem de frequência, pele (37), tecido subcutâneo (14), intestino (4), fígado (3), glândula mamária (3), gânglio linfático (3), osso (2), cavidade oral (1), mesentério (1), músculo-esquelético (1), globo ocular (1), próstata (1), pulmão (1).

O método predominante para recolha de amostras foi CAAF com 67 casos, registando-se 1 amostra recolhida por aposição, 2 amostras com CAAF ecoguiada, 1 amostra apresentou dois métodos de recolha (CAAF e aposição) (Gráfico 4B).

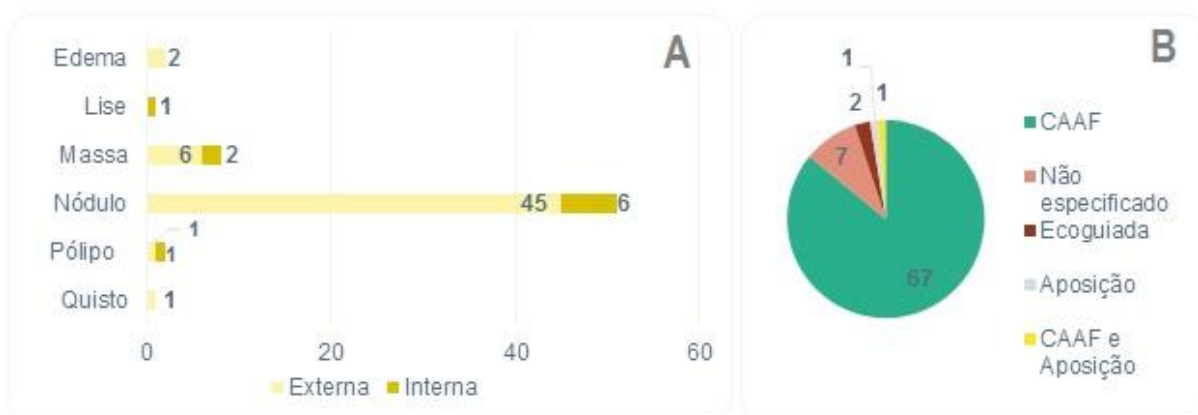


Gráfico 4 - A. Tipo de lesão analisada de acordo com a localização anatómica. B. Método de recolha utilizado.

Foram também categorizados os aspetos descritivos dos relatórios citológicos com base na **celularidade** da amostra (Graf. 5A - 27 amostras acelulares, 44 com escassa celularidade, 4 com modera e 3 com elevada celularidade), **integridade e morfologia celular** (Graf. 5B - 4

amostras com necrose celular, 10 com células prevalentemente rupturadas e 35 com células íntegras), **contaminação hemática** (Graf. 5C - sem contaminação em 12 amostras, levemente hemático em 19 amostras, moderadamente em 32 e contaminação intensa em 15 amostras) e **fraca qualidade** (21 amostras). Foi ainda contabilizada a informação em falta nas requisições das amostras (Graf 6).



Gráfico 5 - Descrição microscópica das amostras: **A.** Celularidade. **B.** Integridade celular. **C.** Contaminação hemática.

Nas amostras de lesões não neoplásicas (21) foi identificada a presença de inflamação em 4 amostras, e em 4 amostras identificaram-se células reativas. Seis amostras apresentaram má qualidade (2 sem esfregaço e 4 amostras com detritos celulares e proteináceo) e 17 apresentaram diferentes níveis de contaminação hemática.

Em lesões neoplásicas (54), foi identificada inflamação em 11 amostras e em 10 foram identificadas células reativas. Doze amostras apresentaram má qualidade (5 sem esfregaço e 7 com detritos celulares e proteináceo) e 47 apresentaram vários níveis de contaminação hemática.



Gráfico 6 – **A.** Qualidade da amostra. **B.** Diferentes tipos de informação ausente na história clínica.

Foram efetuados quatro testes de independência (χ^2), mostrando correlação entre a dimensão da lesão e celularidade com tipo de processo patológico ($P > 0,05$). A relação entre contaminação hemática com o processo patológico, e entre a celularidade e a população neoplásica não foi estatisticamente significativa ($P < 0,05$).

Nos anexos podem ser encontradas informações em relação ao processo patológico (IV), às populações celulares (VI), aos órgãos recolhidos (VIII), método de recolha (XI) e descrição microscópica das amostras (X).

Discussão

De maneira geral, a percentagem de casos inconclusivos permanece relativamente constante nos anos analisados, e com uma percentagem mais baixa (22%) quando comparada a outros estudos (>30%) (Forlani et al 2014, Amores-Fuster et al 2015). Os casos com *follow up* citológico aumentaram progressivamente durante o tempo estudado, correspondendo à expectativa de que esta técnica é cada vez mais utilizada e compreendida pelos veterinários. Ainda assim, uma vez que em todos os relatórios inconclusivos é recomendável a repetição da análise citológica, as repetições citológicas foram em baixo número (apenas 32%). O progresso percentual dos casos com *follow up* histopatológico não demonstrou um padrão tão evidente como o *follow up* citológico, mas o curto espaço de tempo do estudo (apenas 2012, 2013 e 2014 representam 365 dias/ano) não permitiu que este padrão se revelasse.

Analisados os dados recolhidos, verifica-se que a razão maioritária para a inconclusividade citológica é o tipo de lesão avaliada. Esta conclusão pode ser devida a uma aumentada prevalência da realização de biópsias em casos neoplásicos. Baseado nos termos descritivos nos relatórios citológicos, as causas de inconclusividade estiveram mais fortemente relacionadas com celularidade da amostra (91% das amostras acelulares ou com escassa celularidade) e com a presença de contaminação hemática (60% das amostras com moderada e abundante contaminação). Face aos diagnósticos obtidos na histopatologia, a fraca celularidade das amostras pode ser explicada pela prevalência de neoplasias de tipo mesenquimatoso, naturalmente pouco exfoliativas devido a presença de matriz extracelular, e a contaminação hemática pela prevalência de neoplasias *altamente* vascularizadas (hemangiomas cavernosos, hemangiossarcomas). Após realização de um teste χ^2 , verificou-se que para a celularidade existe uma relação com o processo patológico, sendo mais provável a obtenção de amostras com escassa celularidade em processos neoplásicos (neste caso, mesenquimatosos). O mesmo não se verificou para uma relação entre contaminação hemática e processo patológico ($P < 0,05$).

Verificou-se também que a presença de células íntegras não é um bom indicador para a emissão de um diagnóstico conclusivo, uma vez a maior parte das amostras possuía células íntegras. Se a celularidade for baixa, o facto de haverem células íntegras não dão ao patologista confiança suficiente para emitir um diagnóstico.

Em relação aos métodos de recolha, a literatura apoia o facto de diferentes métodos de recolha terem diferentes níveis de eficácia. (Cowell et al 2003, Sharkey et al 2007, Meinkoth^b et

al 2008, Meyer et al 2010) No presente estudo, visto que a grande maioria das amostras foram recolhidas com CAAF, o estudo não permitiu confirmar esta hipótese.

A dimensão da lesão deve também ser considerada uma causa importante de inconclusividade, uma vez que em lesões menores poderá haver punção acidental de tecidos peri-lesionais, pelo pouco espaço de manobra na punção, e em lesões maiores, devido à sua heterogenicidade, as amostras recolhidas poderão não ser representativas (centro necrótico, inflamação superficial, cápsula fibrosa). Apesar de no presente estudo o tipo de lesão predominante ser “nódulo” (<2cm), não se podem tirar conclusões sobre este aspeto, já que na maioria das lesões não houve especificação das dimensões. Colocou-se também a hipótese de lesões internas serem mais propícias ao diagnóstico inconclusivo, uma vez que o acesso é dificultado e a probabilidade de contaminação hemática aumenta. Pela prevalência de lesões cutâneas e subcutâneas nas lesões avaliadas, a análise estatística não seria significativa sem um grupo de controlo.

A dimensão da lesão foi a informação que esteve mais em falta por parte dos clínicos, tendo sido determinado que esta se tem relação com o processo patológico ($P>0,05$). A ausência de informações sobre tipo de lesão, órgão recolhido, localização ou idade não foram estatisticamente avaliadas em relação ao processo patológico, mas certamente foram determinantes nalguns casos (p.e. num diagnóstico de osteossarcoma, com uma análise citológica com moderada celularidade e morfologia preservada, com células moderadamente atípicas, mas sem especificação da idade). Uma amostra moderadamente celular com células epiteliais queratinizadas moderadamente atípicas é compatível com um processo reativo numa colheita da superfície da lesão, mas pode levantar a suspeita de neoplasia se a colheita for efetuada por aspiração do tecido mais interno.

Houve também uma considerável percentagem de amostras de má qualidade (25,6%) (por falta de esfregaço, presença de detritos e alterações artefactuais) nos casos analisados, e apesar de não serem a causa maioritária de emissão de diagnósticos inconclusivos, constituem um ponto importante na inconclusividade citológica.

Pensou-se também que diferentes espécies pudessem representar maior ou menor dificuldade na colheita de amostras, representando maior ou menor probabilidade de obter análises inconclusivas. A falta de um grupo de controlo, não permitiu uma análise estatisticamente viável para fazer esta distinção.

Apesar de não ser o objetivo do estudo deste trabalho, foi possível observar que 19 casos inconclusivos tinham uma suspeita clínica associada, e apenas 2 casos não apresentavam acordo entre as análises citológicas e histopatológicas. Geralmente existe uma boa correlação

da citologia com a histopatologia, apesar das diferenças observadas relacionadas com a localização e natureza da lesão a ser analisada, com altos valores de especificidade e sensibilidade para lesões cutâneas, subcutâneas, músculo-esqueléticas e fluídas, e valores mais baixos de correlação citológica-histopatológica em lesões de órgãos internos, p.e. baço ou fígado. Em vários estudos, é geral a atribuição de piores valores de correlação para lesões da glândula mamária. (Cohen et al 2003, Ghisleni et al 2006, Sharkey et al 2007)

Um dos pontos negativos do estudo é o facto de não haver um grupo de controlo positivo (conclusivo) citológico, que por sua vez reduz o peso estatístico dos dados analisados. O curto tempo de estágio não permitiu que fossem recolhidos e processados todos os dados necessários. Teria sido interessante esta análise, assim como uma avaliação dos 883 relatórios inconclusivos, independentemente dos relatórios histopatológicos, determinando-se o tipo de lesão, localização, dimensões, descrição microscópica e qualidade da amostra, com fim de perceber com que frequência determinada característica ocorre (celularidade, contaminação, má qualidade, etc). Também, e uma vez que a descrição macroscópica da primeira citologia inconclusiva não foi considerada, os resultados obtidos podem ser até mais otimistas do que inicialmente previsto, já que recomendações específicas podem ter sido feitas pelo patologista.

Apesar das falhas do estudo, a sua metodologia pode ser alterada e o conceito aplicado na avaliação de qualidade noutros laboratórios, e até mesmo ser adaptado a um formato que permita um estudo mais realista, num contexto nacional e/vs internacional.

CONCLUSÃO

Concluindo o meu tempo de prática e reflexão, considero que a técnica citológica é uma técnica simples e eficaz, com ótimo valor diagnóstico, que para além da obtenção de um diagnóstico definitivo, pode ser usada noutros procedimentos médico-veterinários.

Com o estudo efetuado pude avaliar o seu sucesso, ou melhor insucesso, comprovando que este depende em grande parte de fatores biológicos incontornáveis, relacionados com a lesão a analisar (natureza da lesão), da qualidade da amostra recolhida (contaminação hemática, realização de esfregaço), mas também da informação fornecida pelo clínico, sendo fundamental uma boa comunicação entre patologista e clínico. Foi possível atribuir uma correlação entre a celularidade e o tipo de processo neoplásico (amostras escassamente celulares são mais prováveis em processos neoplásicos). O método de recolha, apesar de não comprovado pelo estudo, constitui também um fator no sucesso citológico, uma vez que existem recomendações específicas para diferentes tipos de tecidos (epitelial, mesenquimatoso e hematopoiético) que devem ser tidas em consideração aquando recolha das amostras.

Considero também que a área citopatológica é uma área muito pouco aprofundada, a nível académico, tendo reconhecido essas mesmas falhas na minha formação. Apesar disto, considero também que é uma técnica em crescente utilização e compreensão por parte dos médicos veterinários.

BIBLIOGRAFIA

Amores-Fuster I, Cripps P, Graham P, Marrington AM, Blackwood L (2015) "The diagnostic utility of lymph node cytology samples en dogs and cats" **Journal of Small Animal Practice** vol56: 125-9

Christopher MM, Hotz CS, Shelly S, Pion P (2008) "Use of cytology as a diagnostic method in veterinary practice and assessment of communication between veterinary practitioners and veterinary clinical pathologists" **Journal of American Veterinary Medicine Association** vol 232: 747-54

Christopher MM, Hotz CS (2004) "Cytologic diagnosis: expression of probability by clinical pathologists" **Veterinary Clinical Pathology** vol 33: 84-95

Cowell RL, Dorsey KE, Meinkoth JH (2003) "Lymphnode cytology" **The Veterinary Clinics Small Animal Practice**. Vol 33: 47:67

Cohen M, Bohling MW, Wright JC, Welles EA, Spano JS (2003) "evaluation of sensitivity and specificity of cytologic examination: 269 cases (1999-2000) **Journal of American Veterinary Medicine Association** vol 222: 964-7

European Collage of Veterinary Clinical Pathology (2010) "Laboratory standards Committee Guidelines for veterinary Clinical Pathology Reporting"

Forlani A, Caruso M, Ghisleni G, Roccabianca P, Caniatti M (2014) "Non-diagnostic fine needle aspiration biopsy of cutaneous masses in dogs and cats"

Ghisleni G, Roccabianca P, Ceruti R, Stefanello D, Bertazzolo W, Bonfanti U, Caniatti M. (2006) "Correlation between fine-needle aspiration cytology and histopathology in the evaluation of cutaneous and subcutaneous masses from dogs and cats" **Veterinary Clinical Pathology** Mar;35(1):24-30

Masserdotti C (2006) "Architectural patterns in cytology: correlation with histology" **Veterinary Clinical Pathology** vol 35: 388-395

Meinkoth JH (a), Cowell RL, Tyler RD (2008) "Cell Types and criteria of malignancy"
Diagnostic Cytology and Hematology of the dog and cat. Third Edition: 20-46

Meinkoth JH (b), Cowell RL, Tyler RD, Morton RJ (2008) "Sample collection and preparation"
Diagnostic Cytology and Hematology of the dog and cat. Third Edition: 1-20

Meyer DJ, Connolly SL, Heng HG (2010) "Chapter 1: The acquisition and management of cytology specimens"
Canine and Feline Cytology: A color atlas and interpretation guide. Second Edition 1-13

Raskin R (2010) "Chapter 2: General categories of cytologic interpretation"
Canine and Feline Cytology: A color atlas and interpretation guide. Second Edition: 15-25

Rebar AH, Thompson CA (2010) "Chapter 6: Body cavity fluids"
Canine and Feline Cytology: A color atlas and interpretation guide. Second Edition:171-191

Sharkey LC, Dial SM, Matz ME (2007) "Maximizing the diagnostic value of cytology in small animal practice"
Veterinary Clinics Small Animal Practice vol 37: 351-372

Sharkey LC, Wellman ML. (2011) "Diagnostic cytology in veterinary medicine: a comparative and evidence-based approach"
Clinical Laboratory Medicine

Sharkey LC (a), Seelig DM, Overmann J. (2014) "All lesions great and small, part 1: diagnostic cytology in veterinary medicine"
Diagnostic Cytopathology vol 42:535-43.

Sharkey LC (b), Seelig DM, Overmann J. (2014) "All lesions great and small, part 2. Diagnostic cytology in veterinary medicine"
Diagnostic Cytopathology vol;42:544-52.

Skeldon N, Dewhurst E (2009) "The perceived and actual diagnostic utility of veterinary cytological samples"
Journal of Small Animal Practice vol 50: 180-5

ANEXOS

Anexo I - Descrição pormenorizada dos diagnósticos citológicos efetuados durante o estágio.

Processo Patológico	Canino	Felino	Outros*
Inflamatório	100	38	1
Displásico/Hiperplásico	97	20	-
Neoplásico	Benigno	31	1
	Border-line	14	4
	Maligno	147	33
Infecioso	37	15	-
Tóxico	2	1	-
Lesão Quística	43	3	-
Transudado	-	3	8
	Modificado	5	9
Vaginal	11	-	-
Esteatose	-	2	-
Mucocelo	2	-	-
Amiloidose	1	1	-
Efusão	Hemorrágica	2	-
	Quilo	-	3
Sem Alterações	29	11	2
Inconclusivos	125	25	1
Total	649	174	5

Anexo II – Testes de probabilidade com variáveis independentes

$$(x^2 = \sum(\frac{O - E}{E})^2 / \sum E); \alpha=0,05$$

H₀: A dimensão da lesão é independente do processo patológico.

H_a: A dimensão da lesão e o processo patológico estão relacionados.

	<2cm	>2cm	Total
Não neoplásico	10	1	11
Neoplásico	39	6	45
Total	49	7	56

G.I=1; P=3,841; $x^2 = 13,23$

P > 0,05, Rejeita H₀

H₀: A celularidade da amostra é independente do processo patológico.

H_a: A celularidade da amostra está relacionada com o processo patológico.

	Acelular	Escassa	Moderada	Elevada	Total
Não neoplásico	8	12	0	1	21
Neoplásico	20	28	4	2	54
Total	28	40	4	3	75

G.l=3; P=7,815; $x^2 = 11,24$

P > 0,05, Rejeita H₀

H₀: A celularidade da amostra não está relacionada com a população neoplásica.

H_a: a celularidade e a população neoplásica estão relacionadas.

	Acelular	Escassa	Moderada	Elevada	Total
Epitelial	5	10	1	0	16
Mesenquimatosa	13	13	1	1	28
Redonda	2	5	2	1	10
Total	20	28	4	2	54

G.l= 6; P=12,592; $x^2 = 2,49$

P < 0,05, Não rejeita H₀

H₀: A contaminação hemática é independente do processo patológico.

H_a: A contaminação hemática está relacionada com o processo patológico.

	Não neoplásico	Neoplásico	Total
Intensa	3	12	15
Leve	4	14	18
Moderada	10	21	31
s/ contaminação	4	7	11
Total	21	54	75

G.l=3; P=7,815; $x^2 = 1,43$

P < 0,05, Não rejeita H₀

Anexo III - Caracterização dos animais usados no estudo.

Espécie	Sexo		Total	Média Idades
	F	M		
Canina	27	33	60	8,25
Felina	13	5	18	10

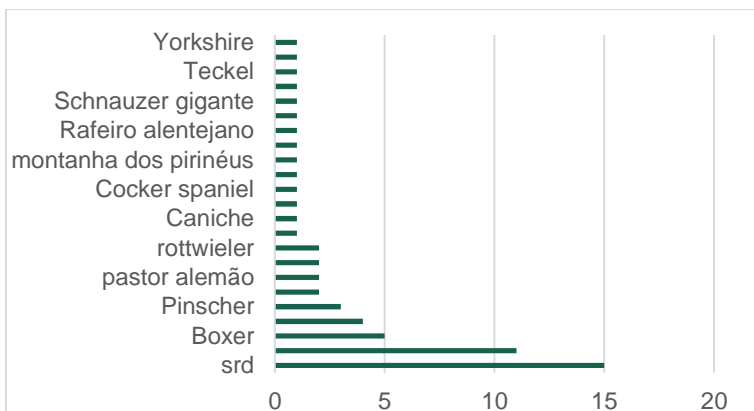


Gráfico 7 - Raças de cães encontradas no estudo.

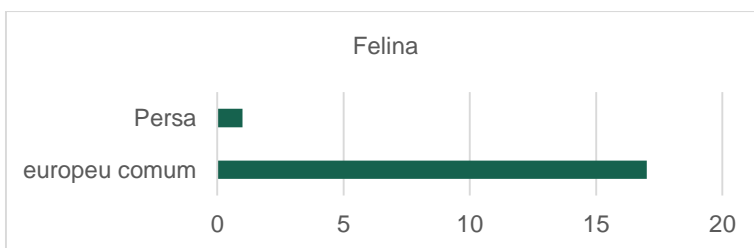


Gráfico 8 - Raças de gatos encontrados no estudo.

Anexo IIIIV - Processo patológico.

Processo Patológico	n	%
Neoplásico	54	69%
Não neoplásico	21	27%
Sem alterações	3	4%
Total	78	100%

Anexo IV - Caracterização do processo patológico.

Carácter do Processo	n	%
Neoplásico Benigno	20	26%
Neoplásico maligno	34	44%
Inflamatório	17	22%
Hiperplásico	4	5%
Total	75	96%

Anexo VI - População celular em processos neoplásicos.

População neoplásica	n Benigno	n Maligno	%
Mesenquimatosa	11	17	36%
Redonda	1	9	13%
Epitelial	8	8	21%
Total	20	34	69%

Anexo V – a) Diagnósticos histopatológicos não neoplásicos; b) Diagnósticos histopatológicos de processos neoplásicos; c) Diagnósticos histopatológicos inconclusivos.

a) Não neoplásico	n
Inflamação granulomatosa	3
Paniculite	3
Epúlide fibromatosa	2
Linfocitose cutânea	2
Angiomatose Progressiva	1
Colite crónica	1
Enterite linfoplasmocitária ulcerativa crónica	1
Fibrose da glândula mamária	1
Hiperplasia da glândula mamária	1
Hiperplasia das glândulas sebáceas	1
Hiperplasia fibroadenomatosa da glândula mamária	1
Inflamação neutrofílica	1
Inflamação piogranulomatosa e enterite crónica	1
Inflamação subaguda	1
Pneumonia broncointersticial e antracose	1

b) Neoplásicos	n
Carcinoma	8
Hemangioma cavernoso	5
Mastocitoma	5
Fibrossarcoma	4
Sarcoma	4
Schwannoma	4
Adenoma das glândulas hepatóides	3
Fibroma cutâneo	3
Hemangiossarcoma	3
Linfoma	3
Osteossarcoma osteoblástico	2
Hamartoma biliar	1
Hamartoma fibroanexal	1
Hamartoma sebáceo	1
Hemangiopericitoma	1
Histiocitoma	1
Histiocitoma fibroso maligno	1
Leiomioma vaginal	1
Mixoma subcutâneo	1
Quisto dermóide	1
Tricoepitelioma	1

c) Inconclusivos	n
Hematoma	1
Pele e tecido adiposo	1
Tecido ósseo/Periósteo	1

Anexo VIII - Órgãos recolhidos e Tipo de recolha efetuado.

Órgão	n Órgão	%
Pele	37	47%
Tecido subcutâneo	14	18%
Não especificado	6	8%
Intestino	4	5%
Fígado	3	4%
Glândula mamária	3	4%
Gânglio linfático	3	4%
Osso	2	3%
Cavidade Oral	1	1%
Mesentério	1	1%
Músculo-esquelético	1	1%
Globo ocular	1	1%
Próstata	1	1%
Pulmão	1	1%
Total	78	100%

Anexo IX - Tipo de recolha efetuado.

Tipo de Recolha	n	%
CAAF	67	86%
Não especificado	7	9%
Ecoguiada	2	3%
Aposição	1	1%
CAAF e Aposição	1	1%

Anexo X - Descrição microscópica: Celularidade, Integridade celular, Morfologia celular e Contaminação hemática.

Celularidade	n	%
Escassa	44	56%
Acelular	27	35%
Moderada	4	5%
Elevada	3	4%

Integridade Celular	n	%
Necrose	4	5%
Preservada	35	45%
Rupturadas	10	13%

Morfologia celular	n	%
Impossível avaliar	32	41%
Reativas	15	19%
Monomorfos	14	18%
Moderada atipia	11	14%
Leve atipia	5	6%
Evidente atipia	1	1%

Contaminação Hemática	n	%
Intensa	15	19%
Moderada	32	41%
Leve	19	24%
Sem contaminação	12	15%