



CIÊNCIA E TECNOLOGIA:
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

FEPEG

F Ó R U M
ENSINO • PESQUISA • EXTENSÃO • GESTÃO

REALIZAÇÃO:



APOIO:



ISSN: 1806-549X

COMPARAÇÃO DE QUALIDADE DA CITOLOGIA ESFOLIATIVA BUCAL SEGUNDO VÁRIAS VARIÁÇÕES DA TÉCNICA: ANÁLISE POR CITOMORFOMETRIA.

Autores: REBECA YASMIN ROCHA DOS SANTOS, WANDERSON BRUNO FERREIRA LOPES, LORRAYNE ALVES SILVA, JÉSSICA FREIRE ALMEIDA, DANIELA SILVA DE SÁ, MARCO TÚLLIO BRAZÃO SILVA

Introdução:

A citologia esfoliativa (CE) é utilizada como método para diagnóstico, que se baseia nas características morfológicas de células que estão na superfície do epitélio, e são resultados de uma descamação e renovação celular (Lucena et, al.2011). As primeiras descrições das metodologias de citologia são datadas na metade do século de XIX, no qual pesquisadores verificam anormalidade celular nos líquidos corporais, como esputo (saliva), a urina, as efusões as secreções vaginais e escarros. (Rubin E, Forber JL, 2002).

Atualmente, houve um grande aumento na aplicabilidade da citologia em diversos órgãos e tecidos humanos. Na área da medicina este método já é difundido através do exame cérvico-uterino, já na área odontológica esse recurso ainda está sendo aprimorado. (Boraks S, 2001).

Material e métodos:

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa segundo o parecer 923.249, e institucionalizado na Universidade Estadual de Montes Claros (Unimontes) pela resolução 173/2017 do respectivo Conselho de Ensino, Pesquisa e Extensão. Trata-se de um estudo experimental, quantitativo, por análise de análise imagens. O estudo compara a qualidade de lâminas citológicas com coleta de células obtidas por: raspagem com espátula convencional de Madeira (geralmente utilizada como abaixador lingual na área médica) e raspagem com *Citobrush* (escova endocervical). Foram incluídos cinco voluntários saudáveis, sem condições inflamatórias orais, sem histórico de tabagismo e etilismo. A coleta foi realizada por um único profissional, em dois regiões equivalentes de mucosa jugal dos indivíduos, totalizando dez amostras distintas. Primeiro realizou-se a limpeza das lâminas com gaze umedecida em álcool. A coleta com a espátula de madeira foi realizada a partir quatro fricções sequenciais da espátula sob a mesma região da mucosa, com pressão moderada na mucosa; em seguida segurou-se a lâmina com uma das mãos a partir de sua extremidade fosca, e com a outra mão a parte da espátula de madeira que continha o raspado foi distendida sob a região central da lâmina, formando quatro linhas paralelas (sem sobrepor-se); a lâmina então foi mergulhada em um frasco identificado contendo álcool 95%. A técnica de coleta com o *Citobrush* foi similar, exceto que para a coleta com este instrumento, fez-se dez giros (cinco pra frente e cinco pra trás) sobre a região da mucosa jugal contralateral à recém coletada por espátula de madeira, também com pressão moderada; para dispensar o material na lâmina, girou-se o *Citobrush* pelo longo eixo central da lâmina (o giro foi em sentido contrário ao movimento pela lâmina), uma única vez, visto que o diâmetro da escova já ocupa toda a região central. O protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP). A coloração das lâminas foi Papanicolaou, utilizando o kit de Hematoxilina de Gill, OG-6 e EA-36n, lote número:1709529, seguindo a recomendação do fabricante.



CIÊNCIA E TECNOLOGIA:
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

FEPEG

F Ó R U M
ENSINO • PESQUISA • EXTENSÃO • GESTÃO

REALIZAÇÃO:



APOIO:



ISSN: 1806-549X

Foram analisadas um total de 20 lâminas citológicas. Para tal, realizou-se imagens de alta definição em objetiva de 200x no microscópio Olympus FSX1000, com captura pelo software FSW BSW. As áreas fotografadas das lâminas foram sistematizadas, de forma que regiões estratégicas por onde os dois instrumentos passaram nas lâminas foram sempre avaliadas. O dispositivo para auxiliar nessa coleta foi adesivos colocados sobre as lâminas, permitindo uma janela de captura na forma de barras, medindo 20x4 mm. Os parâmetros para avaliar a qualidade do material obtido pelos métodos foram: a. quantidade total de células coletadas; b. tipo de células coletadas (superficiais vs intermediárias); c. área total de células satisfatórias para análise citológica; d. área total de células insatisfatórias para análise citológica. As comparações dos resultados foram analisadas estatisticamente com apoio do *software Graphpad Prism 6* (Versão 6.0.1, 2012). O teste Mann Whitney foi escolhido após percebermos que os valores do grupo “Espátula de Madeira” foram não paramétricos, a partir dos testes D'Agostino & Pearson *omnibus normality test* e Shapiro-Wilk *normality test*.

Para realização do cálculo computadorizado das áreas, foi utilizado o software *ImageJ* versão 1.47v ano 2012. Primeiro foi realizado a seleção de todas as áreas insatisfatórias manualmente no software e calculado sua área. O critério para definir áreas insatisfatórias foi: células sobrepostas em mais de 50% de seu volume, células dobradas em mais de 50%, artefatos diversos (ex: poeira, precipitação de corante, fragmentos de material estranho). Para a seleção da área: *File > open >* selecionar manualmente com o *mouse* as áreas insatisfatórias *> edit > cut* (a área selecionar ficará branco) e para o cálculo da área: *Analyze > measure*. Após deletar todas as áreas insatisfatórias, será calculado a área satisfatória com os seguintes passos: 1- *Image > Type > 8 bits* 2- *Image > Adjust > Threshold > Histograma* 3- *Apply 4 - Process > Binary > Fill Holes (imagem 1.2)* 5- *Analyze > Analyze Particles* (Definir valores para size: 300- inf/ Circularity:

0,00-1,0/ show: mosks). Os Resultados são demonstrados individualmente de cada célula e o total. Para contagem das células, as imagens foram abertas no *ImageJ* e então o recurso tipo *plugin* de nome *cellcounter* foi aberto no software, de foram que a cada *click* com o *mouse*, a célula contada permanece marcada e é contabilizada.

Resultados e discussão

Os resultados do presente estudo segundo os parâmetros escolhidos, de maneira geral, levam a crer que a coleta de células utilizando o *Citobrush* é melhor que a coleta utilizando espátula de madeira. A quantidade total de células coletadas utilizando o *Citobrush* leva a uma mediana de 225 (min. 92 e max. 408) células, contra 50 (min. 20 e max. 2010). A figura 1A confirma que os grupos foram estatisticamente diferentes neste parâmetro ($p < 0,05$). Com relação ao tipo de células coletadas, os grupos mostraram-se iguais estatisticamente ($p > 0,05$) em relação à proporção de células superficiais e intermediárias no material coletado, sendo a diferença apenas restrita ao maior valor numérico para coletas com *Citobrush*. A área total de células satisfatórias para análise citológica foi significativamente maior ($p < 0,05$) para as coletas com *Citobrush* (mediana 1,17 mm²; min. 0,32 e máx. 2,08) em comparação com coletas usando espátula de madeira (mediana 0,21mm²; min. 0,02 e máx. 0,98) (figura 1B). Por fim, a área total de células insatisfatórias para análise citológica foi similar pelos dois métodos ($p < 0,05$).

Dentre as limitações do presente estudo, tem-se o tamanho restrito da amostra, que acabou culminando em um coeficiente de variação de mais de 30% em ambos os grupos. Apesar disso, com a escolha de estatística por meio de testes não paramétricos, mostrou-se diferenças significantes para alguns parâmetros que são úteis para compreender a qualidade da amostra obtida de maneira a comparar o uso dos instrumentos de coleta Espátula de Madeira versus *Citobrush*.

Segundo K. B. F. C., et al (2008) a escova endocervical *Citobrush* é consideravelmente mais efetiva do que a espátula de madeira, pois apresenta uma quantidade de células maiores, melhor visualização das células e melhor dispersão celular.

OGDEN et al., (1992); JONES et al., (1994); SCIUBBA, (1999) também afirmam que o *Citobrush* apresenta maior vantagem sobre a espátula de madeira, pois dependendo da localização da área que se deseja fazer o esfregado, fica inviável pois a espátula de madeira apresenta a desvantagem por ser mais rígida e ter maior comprimento. A escova endocervical *Citobrush* é mais maleável, facilitando seu manuseio para o operador.

Não foram encontrados na literatura estudos comparando por análise citomorfométrica a espátula de madeira a escova endocervical *Citobrush* que comprovasse qual é mais eficaz, este estudo apresenta algo inédito.

Conclusão

O presente estudo mostra que o uso do *Citobrush* tende a oferecer uma amostra contendo maior número de células e maior proporção de áreas com células satisfatórias para uma avaliação. Devido à amostra limitada, ainda serão necessários mais estudos para uma conclusão objetiva e definitiva sobre a superioridade desse instrumento. Porém, aliado à literatura, os presentes resultados são úteis para indicar que a citologia oral seja realizada preferencialmente com o *Citobrush* para permitir uma maior qualidade do exame.

Agradecimentos

Este presente estudo teve apoio do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica – PIBIC e a Fundação de Amparo à Pesquisa Do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e os autores agradecem também o Laboratório de patologia AZALA, o laboratório de pesquisa em patologia bucal em especial André Luiz Sena Guimarães e Alfredo Mauricio Batista Gomes e também agradecem a Universidade Estadual de Montes Claros.

Referências bibliográficas

Boraks S. Diagnóstico bucal. 3. edição. São Paulo: Ed. Artes Médicas; 2001.

JONES, A.C.; PINK, F.E.; SANDOW, P.L.; STEWART, C.M.; MIGLIORATI, C.A.; BAUGHMAN, R.A. The Cytobrush Plus cell collector in oral cytology. Oral Surg Oral Med Oral Pathol, Sant Louis, v.77, n.1, p.95-99, Jan.1994.

K. B. F. C., et al. Contribuição da citopatologia para o diagnóstico de carcinoma de células escamosas oral • J Bras Patol Med Lab • v. 44 • n. 1 • p. 17-24 • fevereiro 2008

Lucena et, al.Rev. cir. traumatol. buco-maxilo-fac. vol.11 no.2 Camaragibe Abr./Jun. 2011

OGDEN, G.R.; COWPE, J.G.; GREEN, M. Cytobrush and wooden spatula for oral exfoliative cytology. A comparison. Acta Cytol, Chicago, v.36, n.5, p.706-710, Sept./Oct. 1992.

Rubin E, Forber JL. Patologia. 3. edição. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan; 2002.

SCIUBBA, J. J. Improving detection of precancerous and cancerous oral lesions. Computer-assisted analysis of the oral brush biopsy. J Am Dent Assoc, Chicago, v.130, n.10, p. 1445-1457, Oct. 1999.

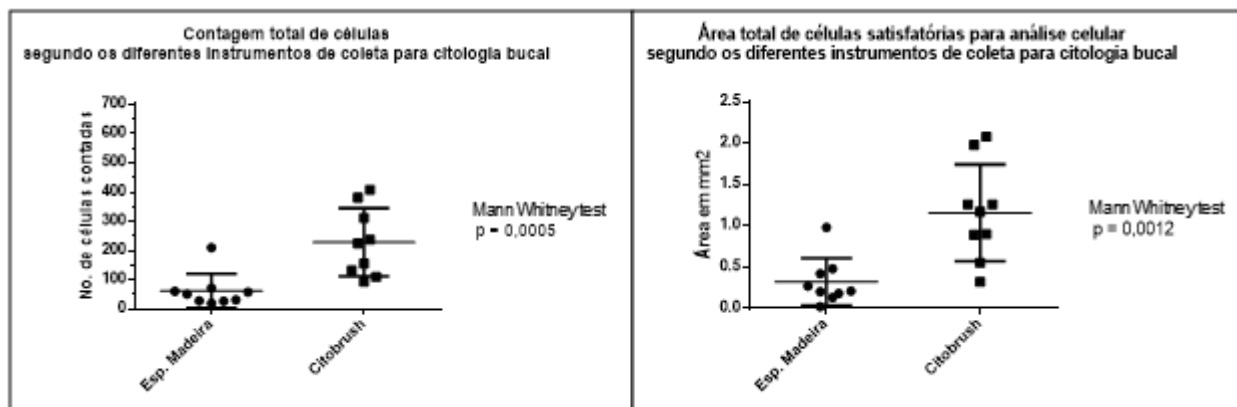


FIGURA 1A: resultados mostrando que o número total de células é significadamente maior quando se usa o *citobrush*. FIGURA 1B: gráfico mostrando que a área em mm² de células satisfatórias para análise utilizando *citobrush* é significadamente maior do que espátula de madeira