



ANÁLISE CITOLÓGICA DO LÍQUIDO PLEURAL NO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ (UFPR)

*Cytological examination of pleural fluid at the Hospital das Clínicas
da Universidade Federal do Paraná (UFPR)*

**Samuel Ricardo Comar^[a], Nicolle de Araújo Machado^[b], Tamirys Schulz^[c],
Franciane da Silva França^[d], Patrícia Haas^[e]**

^[a] Mestre em Ciências Farmacêuticas (área de concentração: Análises Clínicas) pela Universidade Federal do Paraná (UFPR), farmacêutico bioquímico da seção de Hematologia da Unidade de Apoio Diagnóstico do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR - Brasil.

^[b] Especialista em Citologia Cérvico-Vaginal e Líquidos Corporais pela Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC - Brasil, e-mail: ni_machado@hotmail.com

^[c] Especialista em Citologia Cérvico-Vaginal e Líquidos Corporais pela Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC - Brasil.

^[d] Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC - Brasil.

^[e] Doutora em Ciência dos Alimentos pela Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), professora adjunta I da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC - Brasil, e-mail: haas@ccs.ufsc.br

Resumo

O espaço entre os folhetos pleurais é preenchido por um ultrafiltrado de plasma, denominado líquido pleural, cuja função principal é a lubrificação da superfície pleural, facilitando os movimentos respiratórios. Diversas patologias primárias e secundárias afetam a homeostasia desse líquido, provocando alterações qualitativas e quantitativas. O objetivo do trabalho é propor uma padronização da análise citológica do líquido pleural, elevando a reprodutibilidade e precisão dos resultados. O conhecimento e a execução das técnicas de forma correta são essenciais para a obtenção de resultados confiáveis. Erros em qualquer uma das etapas resultam em alterações que podem ser significativas e, conseqüentemente, prejudicar a diferenciação de transudato e exsudato, necessária para o diagnóstico e conduta terapêutica. A padronização reduz a possibilidade de erros intra e interlaboratoriais, elevando a reprodutibilidade, precisão e exatidão nos resultados, o que permite que a análise citológica do líquido pleural auxilie efetivamente o clínico na determinação da etiologia, diagnóstico e tratamento.

Palavras-chave: Líquido pleural. Derrames cavitários. Citologia de líquidos corporais.

Abstract

The space between pleural sheets is filled out with an plasma ultrafiltered called pleural fluid and its major function is the lubrication of the pleural surface helping the respiratory movements. Several primary and secondary pathologies affect the homeostasis of this liquid resulting in alterations quali and quantitative. The objective of the work is to propose a standardization of the cytological analysis of pleural fluid, increasing the reproductiveness and the precision of the results. The knowledge and execution of the techniques in the right way are essential for great results. Mistakes in any stage can result in alterations that can be significant and consequently it can damage the differentiation of transudate and exsudate, necessary for the diagnosis and therapeutic conduct. The standardization reduces the possibility of mistakes intra and inter-laboratories, increasing the reproductiveness, precision and exactness of the results, helping the doctor effectively in the determination of the etiology, diagnosis and treatment.

Keywords: *Pleural fluid. Serous effusions. Body fluids cytology.*

INTRODUÇÃO

A pleura é formada por duas membranas que são compostas por uma camada única de células mesoteliais, as quais podem variar de uma forma plana ou ovoide a colunar ou cuboidal. O espaço entre essas duas membranas forma a cavidade pleural. A camada exterior ou pleura parietal cobre a parede torácica e o diafragma enquanto a camada interior ou pleura visceral adere ao pulmão e às cisuras interlobares. A irrigação do folheto parietal é realizada pela circulação sistêmica e o folheto visceral, por sua vez, é irrigado pela circulação pulmonar. O espaço pleural contém um ultrafiltrado de plasma denominado líquido pleural, o qual entra por meio da circulação sistêmica e é removido pelos vasos linfáticos da pleura parietal, cuja função principal é a lubrificação da superfície pleural, facilitando o deslizamento das pleuras visceral e parietal durante os movimentos respiratórios (1-5).

O volume desse fluido é pequeno, em torno de 1 a 20 mL e apresenta baixa concentração de proteínas e células. As principais proteínas encontradas são a albumina, as globulinas e o fibrinogênio e os principais tipos celulares são os monócitos, os linfócitos e as células mesoteliais. O líquido pleural é renovado continuamente por meio de um balanço de forças entre a pressão hidrostática e a osmótica da microcirculação e do espaço pleural (5). A espessura uniforme desse fluido, ao longo da cavidade pleural, é mantida pela recirculação do líquido pleural dirigido pela gravidade e pelos movimentos ventilatórios e cardiogênicos (2, 3, 6).

As alterações nesse balanço homeostático provocam um derrame pleural, ou seja, o aumento do volume desse fluido na cavidade, como resultado de um aumento da produção que excede a taxa de reabsorção (7). Nesse desequilíbrio pode estar envolvido o aumento da permeabilidade da membrana pleural ou da pressão dos capilares pulmonares, a diminuição da pressão oncótica ou intrapleural e, ainda, concomitantemente ou não, a obstrução do fluxo linfático. Uma quantidade excessiva de líquido pleural pode descompensar a ventilação por limitar a expansão dos pulmões durante a inalação, levando a uma insuficiência respiratória restritiva, que se manifesta por meio de dispnéia (8, 9).

Inflamações e outras alterações na homeostasia da pleura podem ser iniciadas pela introdução de células estranhas, proteínas, microorganismos, sangue ou ar, assim como por destruição mecânica do mesotélio. Quando ocorre algum dano à cavidade pleural, as células mesoteliais são ativadas, tornando-se fagocíticas e capazes de produzir várias citocinas que estimulam e controlam a resposta inflamatória (2, 10, 11).

A etiologia do acúmulo de líquido na cavidade pleural pode ter origem na pleura, nos pulmões e, ainda, causas extrapulmonares. Seus sinais e sintomas podem ser específicos do sistema respiratório ou inespecíficos, sendo a dispnéia o principal, levando a uma piora progressiva (12, 13). Alguns pacientes apresentam derrame pleural de origem desconhecida, sendo esses casos os mais difíceis de diagnosticar (14). São muitas as patologias que podem resultar em um derrame pleural, destacando-se nos adultos a insuficiência

cardíaca congestiva, neoplasias primárias ou metastáticas, pneumonia, tuberculose e embolia pulmonar; enquanto, nas crianças, a principal é a pneumonia (15, 16). Em virtude dessas numerosas condições em que o derrame pleural pode estar presente, os derrames pleurais foram classificados em líquidos, gasosos e mistos. Os líquidos, por sua vez, subdividem-se quanto à etiologia (tuberculose, pneumonia e neoplasia), ao caráter ou aspecto (serofibrinoso, hemático ou hemorrágico, purulento e quiliforme) e à localização (grande cavidade, interlobar e mediastínico). Os gasosos ocorrem nos casos de pneumotórax, ou seja, acúmulo de gases na cavidade pleural. Já os mistos são observados nos casos de hidropneumotórax, hemopneumotórax e piopneumotórax. Entretanto, tradicionalmente ocorre uma simplificação na classificação, sobretudo para promover uma aproximação diagnóstica, na qual se classifica o derrame de acordo com a composição citológica e bioquímica, dividindo o derrame em transudatos e exsudatos (17).

Os transudatos são derrames, de origem não inflamatória, que ocorrem como um aumento da formação do ultrafiltrado de plasma pela membrana pleural resultante de um desequilíbrio da pressão hidrostática ou osmótica (18). A maioria dos transudatos ocorre em condições clinicamente aparentes, como insuficiência cardíaca congestiva, cirrose com ascite e nefrose, e a presença desse transudato usualmente permite aos clínicos tratar a condição subjacente e observar a resolução do derrame (17).

Por sua vez, os exsudatos se desenvolvem como consequência de uma doença infecciosa, inflamatória ou neoplásica, como pneumonia, tuberculose e câncer, as quais aumentam a permeabilidade capilar e permitem que moléculas de alto peso molecular entrem na cavidade pleural (17). O diagnóstico diferencial dos exsudatos é mais extenso e comumente necessita de outras análises para determinar a causa (19). O diagnóstico preciso é importante para garantir a efetividade do tratamento, sendo que o desenvolvimento do derrame e subsequente empiema pode ser debilitante e resultar em internação prolongada, aumentando a morbidade (20).

Com um diagnóstico clínico presuntivo em conjunto com uma análise laboratorial do líquido pleural, realizada de forma sensível e precisa, torna-se possível estabelecer um diagnóstico definitivo e confiável em até 95% dos pacientes, o que demonstra que o conhecimento e o aprimoramento da análise laboratorial são essenciais para a realização de um tratamento efetivo (20, 21).

ANÁLISE LABORATORIAL DO LÍQUIDO PLEURAL

Coleta de amostra

As amostras de líquido pleural são colhidas por meio de uma técnica cirúrgica chamada toracocentese, a qual é de responsabilidade do médico requisitante (22). Contudo, também se prestam para análises citológicas e bioquímicas as amostras obtidas por meio de drenagem torácica durante a toracoscopia ou pleuroscopia e até mesmo a toracotomia. A toracocentese ou punção pleural, ou ainda punção torácica, é uma técnica, considerada pouco invasiva, que apresenta baixa morbidade, baixo custo e fornece grande eficiência diagnóstica (23). Para acessar a cavidade pleural com segurança, é necessário que haja uma quantidade mínima de líquido no espaço pleural, devendo ser analisada por uma radiografia com o paciente em decúbito lateral (24), assim como também pode ser utilizada a ultrassonografia para melhorar a acurácia do procedimento (23).

A toracocentese é contraindicada em casos de alterações na coagulação sanguínea e quando existem lesões de pele, como queimaduras por radioterapia, herpes zoster e piodermite, por conta dos riscos de infecção e sangramento cutâneo (25). A complicação mais frequente do procedimento é o pneumotórax, cuja incidência é de 3% a 19% (26).

As amostras devem ser coletadas em três tubos para as análises microbiológicas, citológicas e bioquímicas: o tubo destinado à análise citológica deve conter EDTA ou heparina (1-2 gotas em 5 mL) e o tubo destinado para bioquímica não deve conter anticoagulante (22). Caso a amostra seja coletada em apenas um tubo, ela deve ser destinada primeiramente para análises microbiológicas, em seguida para análises citológicas e, após, para análises bioquímicas (27).

Transporte e armazenamento

É recomendado que a análise citológica do líquido pleural seja iniciada imediatamente após a coleta, no entanto, caso não seja possível, a amostra pode ser refrigerada entre 2 °C e 8 °C durante 24 horas (22, 28, 29). Amostras coaguladas, envelhecidas ou sem correta identificação devem ser rejeitadas para as análises citológicas (27).

Preparo da amostra

Na realização da contagem global de células, o setor de citologia deve utilizar a amostra de líquido pleural fresca, não centrifugada e devidamente homogeneizada (18), enquanto para a contagem diferencial de leucócitos deve-se utilizar o sedimento obtido por centrifugação em baixa rotação seguido de ressuspensão em solução salina. Esse procedimento melhora sensivelmente a aderência das células na lâmina e a qualidade da preparação. Uma alíquota do líquido pleural deve ser identificada e armazenada em geladeira durante 30 dias para eventual realização de outras dosagens (27).

Exame físico

A visualização de cor e aspecto deve ser realizada antes e após a centrifugação da amostra, pois essas características auxiliam na identificação da etiologia do derrame. A Tabela 1 relata as possibilidades de coloração e aspecto e sua correlação com a provável etiologia.

Contagem global de células

A contagem global de células é uma etapa muito importante para fazer a diferenciação da amostra entre transudato e exsudato. Os tipos

celulares que podem ser encontrados no líquido pleural são os eritrócitos e as células nucleadas, que incluem leucócitos e células mesoteliais (22). A contagem global dessas células é realizada comumente em câmara de Neubauer. No entanto, pode ser realizada em qualquer retículo de contagem (18).

As células nucleadas são contadas nos quatro quadrantes externos da câmara de Neubauer, cujo volume total é de 0,4 mm³. Algumas amostras podem ser contadas sem a realização de diluição e, nesse caso, o fator de conversão para microlitros é 2,5. Já em amostras com elevada celularidade, pode-se realizar uma diluição em solução aquosa de fucsina 0,2% na proporção (1:20). Essa solução otimiza a contagem, sobretudo por corar o núcleo das células nucleadas e por provocar lise dos eritrócitos, os quais, dependendo da quantidade, dificultam a contagem. Nesse caso, o fator de conversão da câmara é multiplicado pela diluição, passando a ser igual a 50 (22, 30). Para se obter uma contagem mais precisa e confiável, deve-se realizar tal contagem em ambos os lados do hemocítmetro. Se os valores obtidos resultarem em uma diferença maior que 10% entre si, o procedimento deve ser realizado novamente, pois esse fato indica erros técnicos de preenchimento e montagem da câmara (27).

A contagem de eritrócitos pode ser igualmente realizada em câmara de Neubauer, porém, a área de contagem é a parte central. O procedimento de contagem de eritrócitos varia de acordo com a celularidade da amostra (Tabela 2) (27).

TABELA 1 - Cor e aspecto do líquido pleural antes e após a centrifugação e o possível significado clínico

Aspecto	Coloração pré-centrifugação	Coloração pós-centrifugação	Etiologia
Límpido	Amarelo-claro	Amarelo-claro	Transudato Parapneumônico
Turvo/ hemorrágico	Róseo/vermelho	Xantocrômico	Empiema Neoplasia Tuberculose Quilotórax
Turvo	Turvo	Branco leitoso	Linfoma Câncer Trauma Pseudoquilotórax
Turvo	Amarelo esbranquiçado	Branco leitoso	Doenças crônicas Artrite Reumatóide Tuberculose

Fonte: Kjeldsberg; Knight, 1992 (30).

TABELA 2 - Procedimento de contagem global de eritrócitos em câmara de Neubauer, conforme a celularidade presente na amostra

Celularidade	Procedimento de contagem
Baixa	Contar os 25 quadrados maiores e multiplicar por 10.
Intermediária	Contar 5 quadrados maiores e multiplicar por 50.
Alta	Contar 1 quadrado maior e multiplicar por 250.
Altíssima (sobreposição de eritrócitos)	Fazer diluição com salina e multiplicar o resultado final pelo fator da diluição.

Fonte: Comar, 2009 (27).

Alguns trabalhos indicam que a pesquisa de sangue na cavidade pleural pode ser realizada por meio da determinação do volume globular do líquido pleural. Este, por sua vez, pode ser determinado utilizando-se a técnica de micro-hematócrito ou por analisadores hematológicos. Valores abaixo de 1% são considerados insignificantes; valores entre 1% e 20% podem indicar neoplasia, tuberculose, tromboembolismo pulmonar e trauma; e valores de pelo menos 50% do volume globular do sangue periférico indicam hemotórax (24, 31). Para diferenciar as células nucleadas dos eritrócitos na contagem global, é necessário conhecer as características apresentadas por essas células. Os eritrócitos têm um contorno regular, com halos e centro celular limpo. Se estiverem crenados, aparecem muitas projeções finas e pontudas. Os leucócitos apresentam um aspecto granular e são levemente refringentes; e as células mesoteliais e os macrófagos são geralmente células grandes e granulares com contornos irregulares (30). A diferenciação entre células mesoteliais e leucócitos é realizada na contagem diferencial e é preciso relatar, no laudo, a quantidade total de células nucleadas e especificar quantos leucócitos fazem parte desse total (27).

Contagem diferencial de leucócitos

A confecção da lâmina para a realização da contagem diferencial de leucócitos é realizada rotineiramente em câmara de suta ou em citocentrífuga, utilizando o sedimento obtido da centrifugação ressuspenso em salina (27). A câmara de suta possui um sistema de filtros de papel que absorve a parte líquida da amostra, permitindo a concentração das células. A quantidade de líquido a ser colocada nessa câmara depende da quantidade de leucócitos presentes e é mostrada na Tabela 3. Trata-se de um

processo trabalhoso e demorado, porém, fornece um esfregaço de alta qualidade (18).

TABELA 3 - Volume de amostra utilizado na câmara de suta de acordo com a celularidade da amostra

Contagem global (/ μ L)	Volume de amostra (mL)
10-50	1,5-2,0
50-100	1,2-1,8
100-200	1,0-1,5
200-500	0,8-1,0
500-1000	0,5-0,8
> 2000	0,2-0,3

Fonte: Comar, 2009 (27).

Nessa técnica, deve-se envolver a lâmina sobre um papel absorvente, o qual deve conter um halo de diâmetro discretamente menor que o diâmetro do tubo conector da câmara. Coloca-se, então, a lâmina na câmara e parafusa-se o tubo conector até ele tocar na lâmina. Não se deve apertar demasiadamente, pois pode impedir a absorção por capilaridade. Na sequência, coloca-se na câmara a quantidade de líquido necessária e espera-se a lâmina secar. Quando ela estiver seca, o tubo conector e o papel absorvente devem ser retirados com cuidado, de modo a não arrastar as células aderidas. Em seguida, realiza-se a coloração de May Grünwald-Giemsa (22, 30).

Já na técnica que emprega a citocentrífuga, coloca-se 100 μ L da amostra ressuspenso em salina na câmara cônica e centrifuga-se em 900 ± 100 rpm durante 3 minutos. A parte líquida da amostra é absorvida por um papel de filtro contendo um

pequeno orifício que envolve a lâmina, permitindo com que as células se concentrem nessa região. Após a secagem da lâmina, ela deve ser corada pela coloração de May Grünwald-Giemsa (22, 30).

A lâmina confeccionada é lida em microscópio óptico e é necessário correr a lâmina corada usando as objetivas de 10x e 40x, inicialmente, para verificar a distribuição dos tipos celulares e procurar agrupamentos de células. A contagem é realizada na objetiva de imersão e 100 células devem ser diferenciadas. Se não for possível, é necessário contar todas as células presentes e posteriormente calcular a porcentagem de cada tipo celular presente (27). É necessário diferenciar os leucócitos das células mesoteliais, que, por participarem do processo inflamatório, podem se desprender e aparecer no líquido pleural (11). O procedimento deve ser repetido quando a celularidade presente na lâmina não corresponder ao esperado, de acordo com a contagem global de células, e em casos em que houver sobreposição de células, dificultando a contagem. De acordo com o resultado obtido na contagem diferencial, deve-se calcular qual é o número de células mesoteliais e leucócitos presentes na contagem global (27).

Considerações sobre a análise morfológica das células

Primeiramente, uma visão geral da qualidade de uma amostra citológica é realizada com o auxílio das objetivas de 10x e 40x. Nessas ampliações, o examinador pode estimar a celularidade da amostra, examinar agregados celulares, identificar agentes infecciosos grandes, como, por exemplo, leveduras e elementos fungoides e determinar as melhores localizações da lâmina, onde as células estão distribuídas em uma monocamada, para se observar posteriormente em maiores aumentos.

A observação em aumento de 1000x é utilizada para examinar as bactérias, a estrutura das células e outras estruturas pequenas, tais como inclusões celulares. O citodiagnóstico enfatiza a aparência geral das células e seus núcleos. As características celulares importantes incluem a celularidade da amostra, a distribuição celular, tamanho e forma das células e a aparência citoplasmática. As características nucleares mais importantes incluem o tamanho, a forma e a posição do núcleo dentro da célula, o número de núcleos atuais, o padrão da

cromatina do núcleo, a aparência dos nucléolos e a presença de figuras de mitose.

O tamanho do núcleo das células é avaliado frequentemente em relação à quantidade de citoplasma. A relação núcleo citoplasma (N:C) é uma indicação da proporção entre o tamanho do núcleo e o volume citoplasmático. As células epiteliais maduras, bem diferenciadas, tendem a ter núcleos pequenos e uma baixa relação N:C, enquanto as células epiteliais malignas, indiferenciadas, têm frequentemente grandes núcleos e uma relação N:C elevada. A forma do núcleo varia de acordo com o tipo celular.

A maioria das células normais tem um único núcleo, entretanto, algumas células normais podem conter múltiplos núcleos. Por exemplo, algumas células mesoteliais são binucleadas e alguns macrófagos podem ser multinucleados. Os padrões apresentados pela cromatina nuclear geralmente incluem cromatina de distribuição uniforme e finamente granulada; cromatina de distribuição irregular e finamente granulada; cromatina grosseira e granular com distribuição uniforme; e cromatina grosseira e granular com distribuição irregular.

A cromatina finamente granulada indica geralmente a imaturidade nuclear. Alguns núcleos como, por exemplo, núcleos de linfócitos maduros, contêm frequentemente alguns agrupamentos de cromatina que simulam nucléolos proeminentes. As figuras de mitose indicam divisão celular ativa, que pode ser uma característica celular normal em alguns tecidos, tais como a medula óssea e o fígado, quando forem encontradas em baixas quantidades. Números elevados de figuras de mitose indicam anomalias, tais como a neoplasia. Os nucléolos aparecem como espaços desobstruídos circulares dentro do núcleo das células coradas por corantes de Romanowski. Muitas células normais contêm frequentemente um ou vários nucléolos pequenos. Os nucléolos grandes e irregulares são considerados anormais. Núcleos com numerosos nucléolos, geralmente acima de cinco, são considerados igualmente anormais (30, 32).

As características do fundo da lâmina de um espécime citológico não devem ser negligenciadas porque podem fornecer indícios quanto à natureza do material que está sendo examinado. Por exemplo, lâminas que contêm muitas células secretoras podem ter o material de fundo pesado por causa da acumulação do produto secretado. Um fundo finamente granuloso nas lâminas de exsudatos inflamatórios pode ser observado em preparações coradas com azul de metileno novo e sugere um aumento no teor de

proteínas. Um fundo grosseiro e granulado pode ser visto em lâminas preparadas com amostras contendo quantidades elevadas de mucopolissacarídeos como mucina, quando coradas por May Grünwald- Giemsa. A presença de bactérias, de cristais, de gotas de lipídeos, de materiais nucleares das células rompidas e de materiais estranhos, como, por exemplo, pólen, talco ou cristais do amido, deve ser igualmente descrita no resultado. As amostras citológicas também podem conter quantidades variáveis de sangue periférico. A contaminação excessiva de sangue periférico em uma amostra de líquido pleural mascara as células diagnósticas, dificultando a interpretação citológica (30, 32).

Diferenciação de transudato e exsudato

A análise citológica e bioquímica do líquido pleural permite a diferenciação entre transudatos e exsudatos, sendo indispensável para definir a etiologia do derrame (17). A Tabela 4 e a Tabela 5 mostram os valores que caracterizam a amostra como transudato e exsudato.

TABELA 4 - Valores que caracterizam a amostra como um transudato

Transudatos
Contagem de leucócitos < 1000/ μ L
Razão de proteínas líquido/soro < 0,5
Proteínas totais < 3 g/dL
Razão de glicose líquido/soro < 0,5
Glicose > 60 mg/dL
Razão LDH líquido/soro < 0,6
Colesterol < 60 mg/dL
pH = 7,6
Albumina soro – albumina líquido = $1,6 \pm 0,5$ g/dL
Aparência = transparente (amarelo-claro e límpido)
Amilase = de 0 a 130 UI/L
Densidade < 1,015
LDH < 200 UI/L
Coagulação espontânea = ausente
BD = 0,1-0,5 mg/dL
BT = 0,2-1,5 mg/dL
Triglicérides < 200 mg/dL

Fonte: Kjeldsberg; Knight, 1992 (30).

TABELA 5 - Valores que caracterizam a amostra como um exsudato

Exsudatos
Contagem de leucócitos > 1000/ μ L
Razão de proteínas líquido/soro > 0,5
Proteínas totais > 3 g/dL
Razão de glicose líquido/soro > 0,5
Glicose < 60 mg/dL
Razão LDH líquido/soro > 0,6
Colesterol > 60 mg/dL
pH < 7,6
Albumina soro – albumina líquido = $0,6 \pm 0,4$ g/dL
Aparência = opaca, turva
Densidade > 1,015
LDH > 200 UI/L
Coagulação espontânea = possível

Fonte: Kjeldsberg; Knight, 1992 (30).

Comentários sobre os tipos celulares que podem ser encontrados no líquido pleural

A importância em caracterizar um líquido pleural como hemorrágico foi debatida. Tinney e Olsen (25) relataram que neoplasias foram responsáveis por 95% de líquidos pleurais hemorrágicos, enquanto a insuficiência cardíaca congestiva foi descartada. Poppius et al. (33) relataram que menos de 10% de líquidos pleurais de pacientes tuberculosos eram hemorrágicos e Leuallen e Carr (34) e Paddock (35) concluíram que o sentido da presença ou da ausência do sangue era de pouco valor em indicar a origem da efusão. A falta de especificidade diagnóstica em se analisar um líquido pleural hemorrágico está provavelmente relacionada ao fato de um extravasamento de mais de 2 mL de sangue periférico em 1.000 mL de líquido pleural já ser suficiente para conferir ao líquido o aspecto hemorrágico. Light et al. (32) concluíram que líquidos pleurais hemorrágicos possuem importância diagnóstica limitada quando analisaram essa característica isoladamente. Contagens de eritrócitos nos líquidos pleurais de mais do que $100 \times 10^3/\mu$ L foram altamente sugestivas tanto de neoplasias malignas como infecções pulmonares e traumatismo.

Light et al. (32) indicaram que a contagem de leucócitos no líquido pleural é de uso muito limi-

tado no diagnóstico diferencial de efusões pleurais e que, embora contagens de leucócitos de menos do que $1 \times 10^3/\mu\text{L}$ sejam geralmente associadas com transudatos, enquanto aquelas com mais de mais de $1 \times 10^3/\mu\text{L}$ sejam associadas geralmente com os exsudatos, a contagem de leucócitos em líquidos pleurais é inferior à dosagem de desidrogenase láctica e de proteínas para separação entre transudatos e exsudatos. A contagem de leucócitos no líquido pleural não faz por si só a separação dos exsudatos que ocorrem por diferentes causas. Além de poder ser encontradas em efusões associadas com pneumonia, contagens de leucócitos de menos de $10 \times 10^3/\mu\text{L}$ são igualmente encontradas em casos de pancreatite, infarto pulmonar, doenças vasculares e ocasionalmente em neoplasias e tuberculose.

Alguns autores concluíram que a contagem diferencial de leucócitos no líquido pleural é útil. A presença predominante de leucócitos polimorfonucleares dentro do líquido pleural indica que isso é o resultado da inflamação aguda da pleura, como, por exemplo, pneumonia, infarto pulmonar e pancreatite (32).

A presença, ou a ausência, de células mesoteliais no líquido pleural foi considerada útil no diferencial diagnóstico de efusões pleurais. Em líquidos pleurais secundários à tuberculose, Light et al. (32) observaram menos de 1% de células mesoteliais. Esses resultados estão em conformidade com Spriggs e Boddington (36), os quais encontraram somente um líquido pleural em 65 amostras de pacientes tuberculosos com mais de 0,1% de células mesoteliais.

Yam (37) enfatiza que os macrófagos podem estar presentes em líquidos tuberculosos e devem ser diferenciados de células mesoteliais. Embora a presença de numerosas células mesoteliais exclua quase que completamente o diagnóstico da tuberculose, a ausência de células mesoteliais não é diagnóstico de pleurite tuberculosa. Isso simplesmente reflete a participação extensiva das superfícies pleurais e é comum com empiema e em outras circunstâncias na qual a pleura se torna revestida de fibrina (32).

Deve-se salientar que exames citológicos repetidos de um exame pleural líquido são úteis no sentido de diagnosticar neoplasias nos líquidos que forneceram resultados negativos na primeira amostra. Acredita-se que, ao examinar pelo menos três espécimes de fluido pleural, obtidos de punções diferentes, uma pode demonstrar a presença de células malignas envolvendo a pleura.

Para uma boa interpretação das alterações ocorridas em um líquido pleural, deve-se analisar o conjunto de informações físico-químicas, citológicas e microbiológicas.

Controle de qualidade

O controle de qualidade das contagens em câmara pode ser feito diluindo-se uma amostra de sangue total em EDTA e comparando-se os resultados obtidos manualmente com os obtidos em analisadores hematológicos automatizados. Para o controle da contagem de células nucleadas, deve-se escolher uma amostra com aproximadamente 1×10^3 leucócitos/ μL (valor obtido em contagem automatizada) e fazer a contagem manual em câmara de Neubauer, de preferência diluindo-se a amostra em líquido de Türk para hemólise dos eritrócitos. Quinzenalmente, deve-se verificar se houve contaminação dos diluentes (solução de fucsina, líquido de Türk e solução salina), examinando-os em câmara de contagem com aumento de 40x. Os diluentes contaminados com partículas ou fungos devem ser descartados e novas soluções devem ser preparadas. Semestralmente, é preciso realizar a manutenção preventiva da citocentrífuga para verificar a velocidade e o tempo de citocentrifugação (27).

REFERÊNCIAS

1. Agostoni E, Zocchi L. Pleural liquid and its exchanges. *Respir Physiol Neurobiol.* 2007;159(3):311-23.
2. Jantz MA, Antony VB. Pathophysiology of pleura. *Respiration.* 2008;75(2):121-33.
3. Lai-Fook SJ. Pleural mechanics and fluid exchange. *Physiol Rev.* 2004;84(2):385-410.
4. Rocha G. Pleural effusion in neonate. *Curr Opin Pulm Med.* 2007;13(4):305-11.
5. Silva G. A. Derrames pleurais: fisiopatologia e diagnóstico. *Medicina, Ribeirão Preto.* 1998;31:208-15.
6. Taratntino AB. *Doenças Pulmonares.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002.
7. Froudarakis ME. Diagnostic work-up of pleural effusions. *Respiration.* 2008;75(1):4-13.
8. Medford A, Maskell N. Pleural effusion. *Postgrad Med J.* 2005;81(961):702-10.

9. Porcel JM, Light MW. Diagnostic Approach to pleural effusions in adults. *Am Fam Phys.* 2006;73(7):1211-20.
10. Medzhitov R, Janeway CA Jr. Innate immunity: impact and the adaptive immune response. *Curr Opin Immunol.* 1997;9(4):9-33.
11. Mutsaers SE. Mesothelial cells: their structure, function and role in serosal repair. *Respirology.* 2002;7(3):171-91.
12. Makell NA, Butland RJA. BTS guideline for the investigation of a unilateral pleural effusion in adults. *Thorax.* 2003;58(suppl 2):9.
13. Rahman NM, Chapman SJ, Davies RJ. Pleural effusion: a structure approach to care. *Br Med Bull.* 2004;72:31-47.
14. Light RW. Diagnostic principles in pleural disease. *Eur Respir J.* 1997;10(2):476-81.
15. Light RW. Clinical Practice: Pleural Effusion. *N Engl J Med.* 2002;346(25):1971-7.
16. Efrati O, Barak A. Pleural Effusion in Pediatric Population. *Pediatr Rev.* 2002;23(12):417-26.
17. Heffner JE. Discriminating between transudate and exsudate. *Clin Chest Med.* 2006;27(2):241-52.
18. Lima AO, Soares JB, Greco JB, Galizzi J, Caçado JR. Métodos de Laboratório Aplicados à Clínica: Técnica e Interpretação. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001.
19. Sahn SA. The value of pleural liquid analysis. *Am J Med Sci.* 2008;335(1):7-15.
20. Mocelin HT, Fisher GB. Epidemiology, presentation and treatment of pleural effusion. *Ped Resp Rev.* 2002;3(4):292-97.
21. Garrido VV. ¿De qué nos informa el líquido pleural? *Arch Bronconeumol.* 2003;39(5):193-4.
22. Henry J. Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais. São Paulo: Manole; 2008.
23. Sales R, Onoshi R. Toracocentese e biópsia pleural. *J Bras Pneumol.* 2006;32(Supl 4):S170-S3.
24. Light RW. Pleural diseases. Lippincott: Williams Wilkins; 2001.
25. Tinney WS, Olsen AM. The significance of fluid in the pleural space. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1945;14:248-52.
26. Colt HG, Brewer N, Barbur E. Evaluation of patient-related and procedure-related factors contributing to pneumothorax following thoracentesis. *Chest.* 1999;116(1):134-8.
27. Comar SR. Procedimento operacional padrão: roteiro para análise de líquidos biológicos. Curitiba: Hospital de Clínicas – Universidade Federal do Paraná; 2009.
28. Antonangelo L, Capelozzi ZL. Coleta e preservação do líquido pleural e biópsia pleural. *J Bras Pneumol.* 2006;32(Supl 4):S163-S9.
29. Garlipp CR, Bottini PV, Souza MI, Silva DBP, Denardi CL, Moda MA. Pleural effusions: Stability of samples for White blood cells and differential counts. *Lab Med.* 2007;38(11):685-6.
30. Kjeldsberg C, Knight J. Body fluids: laboratory examination of cerebrospinal, seminal, serous & sinovial fluids. Chicago: American Society of Clinical Pathologists; 1992.
31. Mason RJ, Murray JF, Broaddus VC, Nadel JA. Murray and Nadel's Textbook of Respiratory Medicine. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005.
32. Light RW, Erozan YS, Ball WC. Cells in pleural fluid. Their value in differential diagnosis. *Arch Intern Med.* 1973;132(6):854-60.
33. Poppius H, Kokkola K. Diagnosis and differential diagnosis in tuberculous pleurisy. *Scand J Respir Dis.* 1968;63(Suppl):105-10.
34. Leuallen EC, CARR DT. Pleural effusion. *N Engl J Med.* 1955;252(3):79-83.
35. Paddock FK. The diagnostic significance of serous fluids in disease. *N Engl J Med.* 1940;223:1010-15.
36. Spriggs AI, Boddington MM. The cytology of effusions. New York: Grune & Stratton, Inc.; 1968. p. 1-39.
37. Yam LT. Diagnostic significance of lymphocytes in pleural effusions. *Ann Intern Med.* 1967;66(5):972-82.

Recebido: 17/02/2008
Received: 02/17/2008

Aprovado: 14/10/2008
Approved: 10/14/2008