

COMPARAÇÃO ENTRE AS COLORAÇÕES DO TIPO ROMANOWSKY RÁPIDO E NOVO AZUL DE METILENO NO DIAGNÓSTICO CITOPATOLÓGICO DE NEOPLASIAS MAMÁRIAS

Thalita Evani Silva de Oliveira¹, Marlene Isabel Vargas Vilória²,
João Paulo Machado³

Resumo: *As neoplasias mamárias são o tipo de câncer mais comum em cadelas. Objetivou-se, neste trabalho, comparar a eficácia dos corantes novo azul de metileno (NAM) e derivados de Romanowsky (diff-quick) no diagnóstico de neoplasias mamárias. Foi verificado que o corante NAM mostrou eficácia superior para análise de anisocariose e evidênciação nucleolar, e o diff-quick, para policromasia e contornos celulares. Ambos os corantes demonstraram características peculiares que permitem ao patologista adotá-los na rotina médica.*

Palavras-chave: adenocarcinoma, CAAF, citopatologia, diff-quick, oncologia.

Introdução

O câncer de mama é a neoplasia mais comum em cadelas, representando 25 a 50% de todos os tumores diagnosticados (CAVALCANTI; CASSALI, 2006; DALECK et al., 2008). Todas as raças podem ser afetadas por essa doença, mas a maior incidência ocorre em Pastor Alemão, Dobermann, Poodle e Cocker Spaniel (DALECK et al., 2008), Fox Terrier e naquelas cadelas sem raça definida (MISDORP, 2002). Com maior frequência, a doença surge em fêmeas com idade avançada, em torno de 10 anos, esterilizadas após vários estros, com emprego de contraceptivos e alimentação rica em gordura (DALECK et al., 2008).

¹Estudante do Curso de Medicina Veterinária – UNIVIÇOSA, Viçosa, MG, e-mail: thalitamvet@gmail.com

²Professora Associada III do Curso de Medicina Veterinária – UFV, Viçosa, MG, e-mail: bebel@ufv.br

³Professor do Curso de Medicina Veterinária – UNIVIÇOSA, Viçosa, MG, e-mail: jpmvet@gmail.com

O novo azul de metileno (NAM) é um corante básico temporário que impregna o núcleo da maioria dos microrganismos, as plaquetas e os mastócitos. É útil na identificação de células nucleadas, bactérias, fungos e leveduras (MEYER, 2003; DALECK *et al.*, 2008). Segundo Olsonet *et al.* (1984a), Meyer (2003) e Daleck *et al.* (2008), o NAM é uma coloração rápida, cujos esfregãos corados não podem ser guardados para posterior consulta, uma vez que, por ser aquoso, a sua evaporação não permite a preservação dos esfregãos. Para Olsonet *et al.* (1984a), o contraste de cor não é bem demonstrado, evidenciando apenas núcleo e nucléolo. A tinção pelos corantes de Romanowsky despende um pouco mais de tempo que com o NAM, porém fornece detalhes celulares e contrastes melhores entre núcleo e citoplasma e é considerado coloração permanente. Em contrapartida, os detalhes intranucleares não ficam bem definidos (MEYER, 2003; DALECK *et al.*, 2008).

O objetivo deste trabalho foi comparar a eficácia dos corantes NAM e corantes rápidos derivados de Romanowsky (*diff-quick*) para diagnosticar neoplasias mamárias de cadelas atendidas no Hospital Veterinário da FACISA/UNIVIÇOSA.

Material e Métodos

Foram avaliadas oito amostras de neoplasias mamárias de cadelas atendidas no Hospital Veterinário da Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde, FACISA/UNIVIÇOSA, durante o período de outubro de 2011 a abril de 2012. Os animais tinham idade média de 10 anos e peso médio 11,3 kg. As cadelas doentes pertenciam a raças diversas. Entre as amostras avaliadas, 62,5% (5/8) apresentaram neoplasma na cadeia mamária esquerda e direita, 25% (2/8) apenas na cadeia mamária esquerda, e 12,5% (1/8) na cadeia mamária direita. Conforme o histórico e os sinais clínicos, foi solicitado exame citológico. No mínimo, duas amostras de cada animal foram obtidas por meio de citologia aspirativa com agulha fina (CAAF), utilizando-se agulha 26G (0,45x13) e seringa de 10 mL. O material foi colocado em uma lâmina de vidro limpa com emprego da técnica de *squash preparation*, descrita por Meyer (2003). Após a secagem ao ar, uma lâmina foi corada com NAM, sem utilização de fixador, e outra, do mesmo animal, com corante *diff-quick*, com fixador à base de metanol. As leituras foram realizadas por meio de microscópio de luz, em objetiva de imersão (100X). As análises citológicas foram submetidas a um observador cego.

Resultados e Discussão

Em todos os tumores mamários avaliados, os diagnósticos citopatológicos foram idênticos com o uso dos dois corantes. Na Tabela 1, estão apresentados os resultados obtidos em cada amostra avaliada.

Tabela 1- Características celulares observáveis nas amostras citopatológicas de cadelas, obtidas por CAAF de neoplasias mamárias, com técnicas de coloração NAM e *Diff-Quick*, no Hospital Veterinário da FACISA/UNIVIÇOSA, no período de outubro de 2011 a abril de 2012

Animal	Corante avaliado	Alterações nucleares			Alterações citoplasmáticas		Diagnóstico
		Anisocariose	Evidenciação nucleolar	Mitoses atípicas	Policromasia	Contornos celulares	
1	NAM	+++	+++	+	+	-	Adenocarcinoma
	<i>Diff-Quick</i>	-	+	-	+++	+++	Adenocarcinoma
2	NAM	+++	+	+	+	-	Adenocarcinoma
	<i>Diff-Quick</i>	+	-	-	+++	+++	Adenocarcinoma
3	NAM	+++	+++	-	+	+	Carcinoma
	<i>Diff-Quick</i>	-	-	-	+++	+++	Carcinoma
4	NAM	+++	+++	-	+	-	Carcinomamisto
	<i>Diff-Quick</i>	-	-	-	+++	++	Carcinoma misto
5	NAM	+++	+++	+	-	+	Carcinoma
	<i>Diff-Quick</i>	-	-	+++	+++	++	Carcinoma
6	NAM	+++	++	+++	-	+	Adenocarcinoma
	<i>Diff-Quick</i>	++	+	+	+++	+++	Adenocarcinoma
7	NAM	+++	+++	+++	-	+	Adenocarcinoma
	<i>Diff-Quick</i>	++	+	+	+++	+++	Adenocarcinoma
8	NAM	+++	+++	+++	-	-	Carcinoma
	<i>Diff-Quick</i>	++	++	++	+++	+++	Carcinoma

Legenda: - observação não possível; +observação possível; ++observação boa; e +++ observação excelente.

O NAM mostrou eficiência superior ao *diff-quick* na observação de anisocariose e na evidenciação nucleolar, pois, em 100% das amostras, a observação desses critérios foi excelente. Porém, o *diff-quick* não permitiu avaliação confiável em 50% dos casos. De acordo Meyer (2003) e Daleck et al. (2008), o NAM demonstrou essa qualidade por ser um corante básico que tem tropismo pelo núcleo.

Para a visualização dos contornos celulares, o *diff-quick* permitiu avaliação excelente em 75% das amostras e boa em 25%. Como mesmo critério, o NAM permitiu observação possível, mas difícil. O *diff-quick* sobressaiu por ser um corante ácido-básico, com afinidade com estruturas nucleares e citoplasmáticas. O critério policromasia teve observação excelente com o *diff-quick* em 100% das amostras. Em contrapartida, em 50% dessas, o NAM não permitiu avaliação satisfatória. Isso aconteceu por sua característica inespecífica de coloração de estruturas básicas, as quais podem ser encontradas no citoplasma e no núcleo, conforme descrito por Olson et al. (1984a); Meyer (2003) e Daleck et al. (2008).

Não foi possível avaliar a eficácia real do NAM e de *diff-quick* em mitoses atípicas, pois essas estavam presentes em apenas seis das oito amostras avaliadas. ***Não foi observada*** a superioridade de nenhum dos dois corantes. Isso pode ter ocorrido pela impossibilidade de obter amostras homogêneas em diferentes aspirados citológicos.

Conclusões

Ambos os corantes apresentaram características peculiares que permitem ao patologista adotá-los na rotina médica do Hospital Veterinário da FACISA/UNIVICOSA. Verificou-se que os dois se complementam, pois cada um favorece a visualização de qualidade em critérios distintos. O corante NAM permitiu maior contraste entre núcleo e nucléolo, mostrando-se uma valiosa ferramenta no diagnóstico de malignidades relacionadas ao núcleo. O *diff-quick* permitiu o armazenamento da lâmina por tempo ilimitado, maior detalhamento das alterações citoplasmáticas e **visualização fácil** de policromasia e contornos celulares.

Agradecimentos

A Deus, por me guiar e instruir durante a minha caminhada. À UNIVIÇOSA, pela concessão da bolsa de Iniciação Científica. Ao meu orientador, João Paulo Machado, pela força e confiança em mim depositadas. Aos **Técnicos Sylvio Miguel**, Vitor Vilela Milagres e Lucimar Martins, pela imprescindível ajuda e pelo zelo no processamento das amostras.

Referências Bibliográficas

CAVALCANTI, M. F., CASSALI, G. D. Fatores prognósticos no diagnóstico clínico e histopatológico dos tumores mamários de mama em cadelas – revisão. **Clínica Veterinária**, n. 61, p. 56-64, 2006.

DALECK, C.R.; NARDI, A.B.; DALECK, S. **Oncologia em cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2008, 612p.

MEYER D.J. Obtenção e manuseio das amostras para exame citológico. In: RASKIN, R.E.; MEYER, D.J. **Atlas de citologia de cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2003, cap.1, p. 1-14.

MISDORP, W. Tumors of mammary gland. In: MEUTEN, D.J. **Tumors in Domestic Animals**. California: Iowa State Press, 2002, cap.12, p.575-587.

OLSON, P.N.; THRALL, M.A.; WYKES, P.M. e NETT, T.M. 1984a. In: MAGALHÃES, A.M.; RAMADINHA, R.R.; BARROS, C.S.L.; PEIXOTO, P.V. Estudo comparativo entre citopatologia e histopatologia no diagnóstico de neoplasias caninas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.1, n.21, p.23-32, 2001.

