



**Ministério da Saúde**

**Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva**

**Coordenação de Ensino**

**Curso de Educação Profissional Técnica de Nível Médio**

**Formação em Citopatologia**

**RENAN PEREIRA DE CARVALHO**

**APLICABILIDADE DAS COLORAÇÕES EM LABORATÓRIOS DE  
CITOPATOLOGIA**

**Rio de Janeiro  
2020**

**RENAN PEREIRA DE CARVALHO**

**APLICABILIDADE DAS COLORAÇÕES EM LABORATÓRIOS DE  
CITOPATOLOGIA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva e Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio - FIOCRUZ como requisito parcial para a conclusão do curso de Educação Profissional de Nível Médio Formação em Citopatologia.

Orientador(a): Fabiano Lacerda Carvalho

**Rio de Janeiro  
2020**

**RENAN PEREIRA DE CARVALHO**

**APLICABILIDADE DAS COLORAÇÕES EM LABORATÓRIOS DE  
CITOPATOLOGIA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva e Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio - FIOCRUZ como requisito parcial para a conclusão do curso de Educação Profissional de Nível Médio Formação em Citopatologia.

Aprovada em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_\_.

Banca Examinadora:

---

Orientador - Fabiano Lacerda Carvalho

---

Avaliador 1 - Leandro Medrado

---

Avaliador 2 - Neimar de Paula Silva

**Rio de Janeiro  
2020**

## RESUMO

CARVALHO, Renan Pereira. **Aplicabilidade das colorações em laboratórios de citopatologia. 2020.** Revisão Bibliográfica. ( Curso Técnico em Citopatologia) - Instituto Nacional do Câncer José Alencar da Silva , Rio de Janeiro, 2020.

As colorações citológicas são tão importante quanto o rastreo, sendo a qualidade da mesma um ponto chave entre o resultado positivo e o negativo. Todo material fixado em álcool é submetida à uma série de diluições ao preparo de corantes básicos com substratos catiônicos e ácidos com substrato aniônicos. Além da técnica de rotina Papanicolaou existem outras duas, também de rotina, a serem utilizadas em laboratório que são Shorr com resultados parecidos com a de Papanicolaou e excelentes para citologia hormonal e a May-Grunwald-Giemsa que se difere das anteriores, sendo composta por corantes neutros e coram células de sangue periférico. Problemas de má fixação, instabilidade no corante, contaminação microbiana ou química e formação de precipitados podem prejudicar a leitura da lâmina. A modificação ecológica da técnica de Papanicolaou foi desenvolvida visando a redução aos danos ambientais e permitindo substancialmente a redução ou eliminação de reativos cancerígenos como a retirada de substâncias como xilol e ácidos. Devido ao crescimento ao rastreo do controle de câncer a coloração está cada vez menos rentável, demorada e complicada, necessitando de métodos mais simplificados e baratos e sem comprometer a qualidade do resultado.

**Palavras-chave:** coloração, citopatologia, papanicolaou

## **ABSTRACT**

**CARVALHO**, Renan Pereira. Applicability of staining in cytopathology laboratories. 2020. Bibliographical Review. (Technical Course on Cytopathology) - José Alencar da Silva National Cancer Institute, Rio de Janeiro, 2020.

Cytological stains are as important as screening, and the quality of it is a key point between the positive and negative result. Every material fixed in alcohol is subjected to a series of dilutions to the preparation of basic dyes with cationic substrates and acids with anionic substrate. In addition to the routine technique Papanicolaou there are two others, also routine, to be used in a laboratory that are Shorr with results similar to that of Papanicolaou and excellent for hormonal cytology and May-Grunwald-Giemsa that differs from the previous ones, composed of neutral dyes and bluish peripheral blood cells. Problems of poor fixation, dye instability, microbial or chemical contamination and precipitate formation can impair slide reading. The ecological modification of the Papanicolaou technique was developed aiming at reducing environmental damage and substantially allowing the reduction or elimination of carcinogenic reagents such as the removal of substances such as xylene and acids. Due to the growth of cancer control screening, staining is increasingly less profitable, time-consuming and complicated, requiring more simplified and inexpensive methods and without compromising the quality of the result.

**Keywords:** staining, cytopathology, pap smear

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	7
2 DESENVOLVIMENTO .....	9
2.1 PRINCÍPIOS DA COLORAÇÃO CITOLÓGICA .....	9
2.2 COLORAÇÕES DE ROTINA CITOLÓGICA.....	9
2.2.1 Coloração de Papanicolaou .....	10
2.2.2 Coloração de Shorr .....	14
2.2.3 Coloração de May-Grunwald-Giemsa .....	16
Figura 4 : Corante de May-Grunwald-Giemsa .....	17
2.3 PROBLEMAS E CORREÇÕES NA COLORAÇÃO .....	18
2.4 PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS NA COLORAÇÃO.....	19
2.5 ECOLOGIZAÇÃO DA COLORAÇÃO .....	20
3 CONCLUSÃO .....	23
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	24

## 1 INTRODUÇÃO

A coloração em laboratório de citopatologia é uma ferramenta extremamente importante na precisão do diagnóstico final, a mesma sendo aplicada dentro do que se pode chamar ideal, otimiza o trabalho dos profissionais de saúde no rastreamento da história natural das lesões precursoras (lesões intraepiteliais escamosas e glandulares) (INCA, 2016).

A coloração é a parte artesanal que precede a microscopia, por isso a qualidade da mesma baseia-se em medidas destinadas a detectar, corrigir e reduzir ao máximo a deficiência em seu processo a fim de obter o aperfeiçoamento nos seus procedimentos e ocasionando o mínimo de ocorrência de erros nos diagnósticos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012).

Um cientista de origem grega chamado Georgius Papanicolaou foi um grande pioneiro na elucidação e das características citológicas do sistema reprodutor feminino, suas pesquisas entraram na história da medicina por ter desenvolvido um teste que tem o seu nome (Papanicolaou) para a detecção precoce câncer do colo de útero. Em seus testes desenvolveu a coleta, coloração e análise das células surgindo assim o laboratório de citopatologia que utiliza essa técnica até hoje junto a outras que foram desenvolvidas com o tempo. Os tipos de colorações mais utilizadas em citologia são a de Papanicolaou (clássica e modificadas). (CIÊNCIA E SAÚDE G1, 2019).

O princípio de coloração em citologia é realizado pela natureza das reações químicas (interações eletrostáticas, ligações covalentes, interações hidrofóbicas), suas afinidades basofílicas (substrato carregado negativamente - aniônico) e afinidades acidófilas (substrato carregado positivamente - catiônico). (KOOS, 2006 )

As condutas para controle de qualidade consistem num processo preventivo para que não haja interferência em seu padrão usual, acompanhar: data de validade de sais utilizados na formulação de corantes, corantes prontos (caso venha a ser adquirido assim), concentração de agentes químicos e definição de número de lâminas padrão para troca de corantes, antes de haver uma sensível diluição dos mesmos. Agentes externos também podem influenciar na fluidez dos processos de coloração, por esse fato

todos os dias antes de iniciar a rotina escolhe-se aleatoriamente algumas lâminas analisando-as e promovendo uma intervenção caso necessário. (ARAUJO, 2016).

Este trabalho justifica-se pelo fato da importância da coloração no processo de otimização e da eficácia de um diagnóstico preciso, quando o profissional de saúde tem todos os elementos em suas mãos de forma qualitativa os resultados emergem de forma positiva, o tema amplia a visão técnica não só ao rastreio mas também em conhecimento do procedimento que antecede.

O principal objetivo deste trabalho é analisar a aplicabilidade das colorações utilizadas em laboratórios de citopatologia. São também objetivos: classificar os corantes e seus componentes químicos e reações utilizadas para a elaboração dos corantes; distinguir quais tipos de técnicas a serem utilizadas em seus respectivos materiais biológicos; apontar quais métodos a serem utilizados para controle de qualidade de coloração e descrever possíveis intervenções a serem tomadas caso necessário; descrever as técnicas para ecologização da coloração de papanicolaou e identificar precauções e cuidados especiais com corantes.

Neste trabalho de conclusão de curso utilizou-se de abordagem qualitativa através em uma revisão bibliográfica, bem como pesquisa dados obtidos dos sites e de experiência pessoal. Pretendeu-se fazer uma análise de artigos científicos de revistas, jornais e consultar livros, relatórios, leis, regulamentos, decretos, regras e normas técnicas referentes à laboratórios de citopatologia.

A busca foi realizada em publicações impressas e também nas bases de dados disponíveis online, utilizando ferramentas de busca eletrônica: Pubmed, Lilacs, Bireme, Scielo, Google Scholar (Google Acadêmico) e Google e publicações de caráter não científico, mas de comprovada idoneidade (Diário Oficial da União, Agência Brasil, Senado), para adquirir importantes informações, publicadas para a sociedade em geral.

Foram utilizadas publicações disponíveis na língua portuguesa e outros idiomas, com menos de 10 anos, através de pesquisa dos seguintes descritores ou palavras-chave: citopatologia, coloração, controle de qualidade.

## 2 DESENVOLVIMENTO

### 2.1 PRINCÍPIOS DA COLORAÇÃO CITOLÓGICA

O material fixado em lâmina é submetido a ação de uma série de diluições de etanol (absoluto até 70%), submetido a ação de um corante nuclear (Hematoxilina de Harris), posteriormente a ação de álcoois, e corantes citoplasmáticos (orange G e EA36) e finalmente a ação desidratante de álcool e xilol.

A técnica de Papanicolaou é um chamada progressiva pois o primeiro corante de substrato catiônico ( básico ) necessita de um preparo para aproximar as substâncias, o encharcamento em água corrente promove um hipercoramento celular havendo a necessidade da retirada desse excesso com água corrente posteriormente, já os corantes citoplasmáticos de substratos aniônicos ( ácidos ) tem a aproximação das substâncias na sua própria formulação nos ácidos mordentes.

### 2.2 COLORAÇÕES DE ROTINA CITOLÓGICA

Hoje, a coloração de Papanicolaou é universalmente usada em citologia oncológica, sendo no Brasil a coloração de Harris – Shorr usada alternativamente, uma vez que essa metodologia é muito mais rápido e com menor custo, além de atender às expectativas dos recursos de morfocoloração. Isto é porque usa apenas um corante e uma sequência de poucas cubas de álcool em seu procedimento.( CAPUTO et al,2010 )

A técnica de rotina utilizada para esfregaço de sangue clássico, periféricos e amostras e amostras de medula óssea é a May Grünwald-Giemsa usando o corante de mesmo nome e água. (CAPUTO et al, 2010 )

### 2.2.1 Coloração de Papanicolaou

A coloração de Papanicolaou é uma técnica de coloração citológica multicromática desenvolvida por George Papanicolaou em 1942 e posteriormente modificada por ele em 1954 e 1960. (KOOS, 2006)

A coloração de Papanicolaou possui uma bateria de corantes formado por Hematoxilina (corante básico), Orange G (corante ácido) e EA (corante ácido) este último sendo um corante policrômico pois sua formulação possui 3 três corantes, soluções como água, álcool e xilol compõem a técnica. (PEREIRA et al, 2016)

A coloração de Papanicolaou clássica passou por modificações, reduzindo o número de lavagens e/ou alterando substâncias químicas, a fim de diminuir os custos e o tempo, além de reduzir os prejuízos ao meio ambiente (ARAUJO et al., 2016).

Amostras fixadas em spray necessitam permanecer imersas em álcool absoluto por no mínimo 1 hora para retirada da película do mesmo.( ARAUJO et al., 2016).

Após recebimento das amostras fixadas em álcool absoluto ou fixador spray as amostras passam por cubas contendo as substâncias abaixo.

- Água corrente – a lavagem em água corrente tem a função de preparação do esfregaço para o corante que tem a sua base aquosa o tempo estimado 1’.

- Hematoxilina de Harris – esse é um corante básico pois na sua formulação tem em sua base 95% de água destilada e 5% de álcool absoluto, os sais que compõem sua fórmula são : 5 g Hematoxilina ( cristais ), 100 g sulfato de potássio, 2 g de óxido de mercúrio. Seu substrato catiônico ( básico) coram substratos aniônicos ( ácidos ) sendo assim sua afinidade na estrutura celular são os núcleos, por serem ácidos, corando-os de azul ou violeta escuro, o tempo estimado é de 1’30”.

- Água corrente – o processo de viragem é a retirada do excesso de corante do esfregaço ( hipercoloramento da hematoxilina) deixando somente o que interessa dentro da técnica que são os núcleos, o tempo estimado é de 3’.

- Álcool Absoluto – esse agente químico tem função em dar continuidade ao processo de viragem ( retirada do excesso ) e dá início a desidratação do esfregaço, o número de cubetas e a quantidade em ml de álcool varia pelo quantitativo diário, o número estimado de dips ( mergulhos ) são 10.

- Orange G – é um corante ácido, pois contém na fórmula básica 90% de álcool absoluto e 10% em água destilada, seus sais são 5 g de Alaranjado e 0,15 g de ácido fosfotúngstico . Seu substrato aniônico ( ácidos ) têm afinidade em estruturas catiônicas (básicas) corando o citoplasma de células ceratinizadas corando os citoplasmas de cor alaranjada, o tempo estimado 15 segundos.

- Álcool Absoluto – essa etapa o agente tem função de retirar o excesso de corante que o antecedeu e dar sequência ao processo de desidratação, o número de cubetas e mls variam com a frequência da rotina, o quantitativo ideal de dips são de 10.

- EA 36 – Como o Orange G, é um corante ácido de composição alcoólica de 90% e água destilada, sua fórmula possui 3 corantes; Eosina Amarela 2,5 g, Pardo de Bismarck 1 g, Verde Luz 2,5 g e um ácido Fosfotúngstico 2 g corando citoplasma cianófilas, fungos e bactérias. Seu substrato aniônico cora estruturas catiônicas corando os citoplasmas de azul e os fungos de rosa, o tempo estimado é de 2'30"

- Álcool absoluto – agora o agente químico não só têm função da retirada do excesso do corante mas o processo de desidratação precisa ser completa preparando o esfregaço para o agente seguinte, o número de mergulhos aumenta 20 dips.

- Xilol – essa etapa finaliza a bateria de coloração tem a função de diafanização ou clareamento do esfregaço, o número de dips são de 20.

O monitoramento da coloração de Papanicolaou deve ser diário, todos os dias antes de começar a rotina na bateria deve-se escolher de forma salteada 4 ou 5

lâminas e corá-las, ao observar no microscópio óptico que todos padrões celulares estão coradas de forma qualitativa segue-se a rotina. (ARAÚJO, 2016)

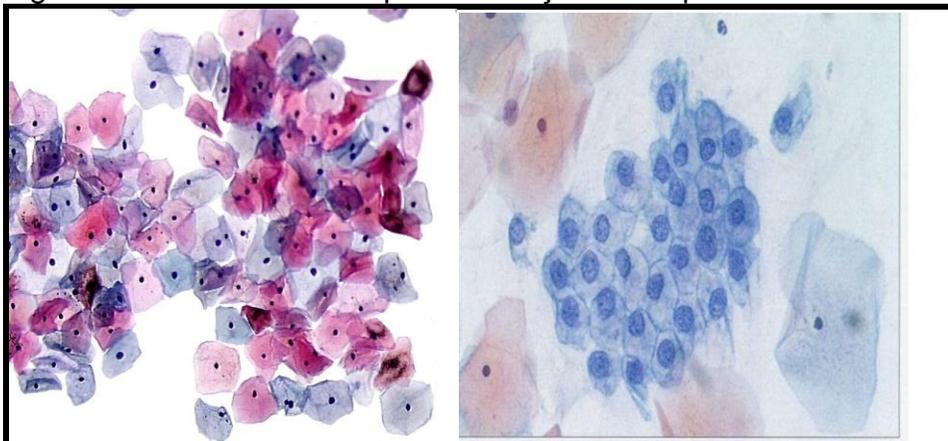
No quadro 1 estão listados os resultados da qualidade da coloração esperada nas células.

Quadro 1 : Controle de qualidade recomendado com resultados esperados.

CÉLULA	COLORAÇÃO
Células superficiais	citoplasma rosa, núcleo picnótico escuro
Células intermediárias	Citoplasma azul núcleo róseo
Células glandulares	Células arredondadas com citoplasma azul e núcleo róseo
Hemácias	Vermelha
Polimorfonucleares	Azuis com núcleo visível
Flora normal	Bacilos e cocos azuis e roxos

Nas figuras 1 e 2 são mostradas células coradas pela coloração de Papanicolaou.

Figura 1 : Células coradas pela coloração de Papanicolaou



Fonte: kasvi.com.br

Na figura 2 é apresentada uma foto da bateria de coloração de Papanicolaou com as cubas contendo os corantes. A figura 3 mostra os corantes utilizados na bateria de coloração de Papanicolaou.

Figura 2 : Células coradas pela coloração de Papanicolaou



Fonte: farmaciaminhavida.blogspot.br

Figura 3 : Corantes : Hematoxilina, Orange G e EA 36



Fonte: sabresafety.com.br

Diariamente haverá a troca dos primeiros álcoois posteriores aos corantes garantindo assim o 100% do agente químico, ao observar a queda da estabilidade dos corantes se fará troca de pelo menos 50% do corante respectivo. (ARAÚJO et al, 2016).

### 2.2.2 Coloração de Shorr

A técnica de Shorr também pode ser considerada de rotina pois possui o mesmo resultado da papanicolaou utilizando Hematoxilina de Harris e Shorr como corantes e soluções aquosas e alcalinas, porém ela é mais utilizada em citologia hormonal. (LOIOLA, 2018).

A grande diferença entre a técnica de Papanicolaou e Shorr é que esta última é mais curta e econômica, o corante Shorr dá contraste mais marcantes em citoplasmas de células Malpighianas.

A coloração de Shorr é realizada em etapas conforme descrito abaixo:

- Álcool 70% - Solução preparada para haver uma hidratação progressiva das células, número de dips varia de 5 a 10 .
- Água destilada – Hidratação completa do esfregaço preparando-o para o corante aquoso a seguir.
- Hematoxilina de Harris – corante nuclear , seu efeito torna o núcleo azul/roxo, tempo estimado '1"30.
- Ácido Clorídrico 1% - caso haja necessidade de diferenciação para retirada de excesso de Hematoxilina, 1 mergulho.
- Água corrente – Lavar até sair de forma completa todo excesso.
- Álcool 95% - Processo de desidratação gradual, o número de cubetas assim como em Papanicolaou depende do tamanho da rotina, o número de mergulhos varia entre 5 e 10.
- Shorr – Corante de substrato aniônico com afinidade aos catiônicos, sua formulação é composta de; Biebrich Scarlet 5 g, Orange 2,5 g, Fast Green 1 g, Ácido fosfomolibdico 5 g, Ácido Fosfotúngstico 5 g, Ácido Acético Glacial 10 ml, Álcool 50% 1 L, o resultado é corar as células cianófilas de azul/esverdeado e as eosinófilas vermelho/laranja, tempo estimado é de 1'.
- Álcool Absoluto – desidratação completa do esfregaço para não levar água para o agente clarificador, o número de cubetas variam, número de mergulhos são 20.

- Xilol – diafanizador ou clarificador, o número de mergulhos são 20.

O controle de qualidade dessa técnica de coloração é semelhante a de Papanicolaou por serem semelhantes em vários aspectos.

### **2.2.3 Coloração de May-Grunwald-Giemsa**

É um método que se difere de outras por não usar corantes ácidos e básicos, porém usa corantes neutros por meio de dois corantes.(GRUNWALD, 2018). A coloração é realizada em etapas conforme descrito abaixo:

- Cobrir a lâmina com a solução de dois corantes, May Grunwald ( 2 G de May Grunwald e 1 L Metanol ) Giemsa ( 6 G de Giemsa, 500 ml de metanol e 500 ml Glicerol ) por 3 minutos, o resultado são núcleos de leucócitos azul-pálido, citoplasma azul-incolor, granulações neutrófilas vermelho-claro, granulações basófilas azul-escuro e eosinófilos e eritrócitos vermelho-alaranjado.
- Acrescentar 20 gotas de água destilada tamponada atuando por 1'.
- Lavar com água corrente tomando cuidado de não deixar cair diretamente no material corado.

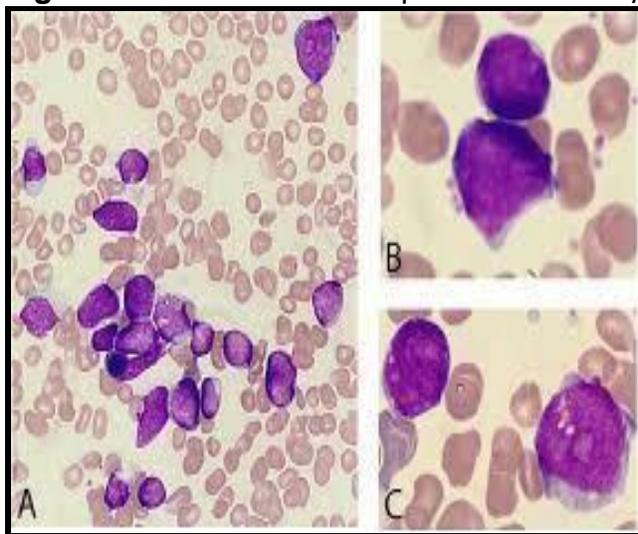
No controle de qualidade da coloração é necessário verificar a proximidade da data de validade dos reagentes antes da perda de suas propriedades químicas. Na figura 4 observa-se os corantes utilizados, na figura 5 o resultado desejado.

**Figura 4** : Corante de May-Grünwald-Giemsa



Fonte: amazon.co.uk

**Figura 5** : Células coradas pelo corante May-Grünwald-Giemsa



Fonte: pt.wikipedia.org

## 2.3 PROBLEMAS E CORREÇÕES NA COLORAÇÃO

Os resultados falsamente aumentados ou diminuídos, riscos associados à instabilidade, que poderiam levar a resultados errôneos, danos relacionados ao usuário.

Após abertos, os componentes tornam-se suscetíveis a contaminações químicas ou microbianas que podem inviabilizar sua utilização. Para evitar as contaminações, deve-se manter os frascos dos padrões sempre fechados de maneira a evitar alterações em concentrações.

É comum aos corantes com o tempo formarem precipitados, neste caso, recomenda-se a filtração dos mesmos sempre que se perceber tal situação.

Deve-se evitar deixar os frascos abertos desnecessariamente, pois pode haver evaporação de solventes e conseqüente alteração na concentração dos componentes. Os produtos destinam-se ao uso diagnóstico in vitro, não devendo ser ingeridos ou entrar em contato com a pele e mucosas, sendo que todos os reagentes podem ser adquiridos separadamente.

Esfregaços muito delgados ou muito espessos dificultam o processo de coloração. Problemas frequentes decorrem da má fixação do material, os esfregaços fixados com polietilenoglicol devem ser colocados imersos em álcool 95% por alguns minutos antes de serem corados.

Não utilizar corantes que se apresentem contaminados ou com precipitados e a quaisquer sinais de hidratação do álcool etílico absoluto ou xilol implicam em substituição destes componentes.

Conforme a rotina diária, deve-se estabelecer cronograma de troca dos corantes, normalmente ocorrendo quando as colorações começam a ficar mais fracas. Evitar a utilização de reagente vencido, contaminado ou em condições inadequadas, não utilizar água tamponada adequada para a realização da coloração, erro na conservação dos reagentes, evitar o uso de materiais que possam contaminar os reagentes, tais como ponteiros plásticos de micropipetador reaproveitados, evitar o uso de materiais que possam contaminar os reagentes, tais como tubos para a reação, tempo excessivo ou insuficiente de coloração, armazenamento ou transporte de amostra inadequado.

## 2.4 PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS NA COLORAÇÃO

Para fins de transporte e armazenamento, o produto pode permanecer em temperatura ambiente. Recomenda-se manter o produto protegido de incidência direta de luz (natural ou artificial) e evitar grandes variações de temperatura até a utilização.

Os corantes são destinados apenas para o uso diagnóstico in vitro, com uso restrito por profissionais. Mesmo se tratando de produto livre de agentes infecciosos, recomenda-se tratá-los como potencialmente infeccioso, observando o uso de equipamentos de proteção individual e coletivo.

É importante não inalar ou ingerir e não utilizar produto com sinais de contaminação, ressecamento ou com alterações de cor ou espessura, bem como não usar materiais com o prazo de validade expirado, ou que apresentem selo de qualidade rompido ou violado.

Para acondicionamento e descarte do material usado, autoclavar a 121°C por 20 minutos com a utilização de sacos Detrilab e procedimentos de manuseio referentes ao processamento e manuseio para o descarte deverá estar de acordo com a RDC 222 que dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde.

Todas as amostras devem ser manipuladas com extrema cautela, pois podem veicular diversas doenças infectocontagiosas (hepatite, SIDA etc.).

## 2.5 ECOLOGIZAÇÃO DA COLORAÇÃO

A modificação ecológica da coloração de Papanicolaou foi desenvolvida visando uma redução dos danos ambientais, permitindo reduções substanciais e/ou eliminação de reativos causadores de câncer como o xilol, o ácido clorídrico e o amoníaco, utilizados na coloração convencional de Papanicolaou. (ROJAS-ZUMARAN, 2018)

A ecologização prevê na fase de coloração nuclear a hematoxilina de Harris convencional com a metodologia progressiva, que não requer as soluções ácidas e alcalinas que utilizam ácido clorídrico e solução amoniacal respectivamente (Quadro 2) .

Durante a coloração citoplasmática, utiliza-se as fases de coloração com Orange G e EA-36 numa solução policromática em um único passo, reduzindo as cubas com álcool entre as fases. (ROJAS-ZUMARAN, 2018)

Por fim, durante a fase de clareamento e montagem são removidas as cubas de xileno com o uso da resina de montagem rápida Entellan® ou similar, visto que os acrilatos mistos que compõem esta resina permitem o clareamento completo e eficaz dos componentes citológicos nos preparados cervicais. (ROJAS-ZUMARAN, 2018)

Quadro 2 - Protocolo de coloração ecológica de Papanicolaou (Eco-Pap)

Fases	Reativo	Tempo
Hidratação	Água corrente	10 imersões
Coloração nuclear	Hematoxilina progressiva de Harris	1 a 3 minutos
Viragem	Água corrente	10 imersões
Desidratação	Álcool 96%	1 minuto

Coloração citoplasmática	Solução policromática	30 a 60 segundos
Retirada corante	Álcool 96%	1 minuto
Clareamento	Álcool 96%	1 minuto
Montagem	Resina Entellan	-

Devido à quantidade crescente do programa de rastreio do câncer, a coloração de Papanicolaou está cada vez menos rentável, complicada e demorada. Assim, a busca por uma coloração menos cara e rápida, mas ao mesmo tempo não comprometendo a qualidade é uma busca dos laboratórios, visto que a de Papanicolaou usa álcool em vários estágios de coloração que é caro e também difícil de obter. (DESHPANDE, 2015)

Alguns autores propuseram a substituição do álcool por ácido acético, sendo portanto mais barata e rápida, sendo denominada Rapid economic acetic acid papanicolaou stain (REAP). (BISWAS, 2008)

O método mais comum utiliza quantidade considerável quantidade de álcool e leve cerca de 20 minutos, no entanto essa técnica é obtido um resultado em 3 minutos, na Índia, um laboratório precisa de uma licença para adquirir etanol a granel e obter uma licença e sua renovação é uma tarefa difícil. Além disso, a concentração do álcool fornecido às vezes é questionável.

Portanto, em busca de um método rápido padronizado adequado para citologia triagem do colo do útero. A técnica modificada é referida como Rápida, econômica, corante ácido de Papanicolaou (REAP) tendo como objetivo projetar um método que requer quase nenhum álcool durante a coloração da citologia e, assim, reduzir a despesa, procurar manchas de citologia que sejam qualitativamente tão boas quanto

coloração padrão de Papanicolaou.(BISWAS, 2008)

Abaixo o método rápido e mais barato:

- Ácido acético 1% - 10 mergulhos
- Hematoxilina de Harris pré-aquecida em banho-maria para haver penetração mais rápida - 10 mergulhos.
- Água corrente - processo de viragem ou azulamento - 10 mergulhos.
- Ácido acético 1% - desidratação do esfregaço e preparo do esfregaço pela ação do mordente contido no ácido - 10 mergulhos.
- Orange G - 10 mergulhos.
- Ácido acético 1% - desidratação e entrada do mordente - 10 mergulhos
- EA 50 - 10 mergulhos.
- Ácido acético 1% - desidratação - 10 mergulhos.
- Metanol - desidratação final - 10 mergulhos.
- Solução Xilol/Álcool - diafanização ou clarificação - mergulhos

### 3 CONCLUSÃO

Após revisão das literaturas consultadas concluiu-se as técnicas utilizadas em rotina nos laboratórios de citologia são : Papanicolaou, Shorr, May-Grunwald-Gyemsa aplicados em amostras de esfregaços cérvico-vaginal e amostras de sangue.

As técnicas mencionadas possuem corantes classificados como nucleares de substrato catiônico ( básico ), citoplasmáticos de substrato aniônico ( ácido ) e neutro.

Os métodos de controle de qualidade devem ser diários escolhendo lâminas salteadas, havendo eventualidade verificar o quantitativo de lâminas já coradas no mesmo corante, pois o corante tem um número de lâminas limite para se manter no padrão, realizando a troca, observar o tempo de validade dos mesmos.

A técnica modificada de forma ecológica tem como finalidade reduzir danos ambientais e eliminar reativos cancerígenos como: Xilol, Ácido Clorídrico e Amoniacal, também há modificações tornando-a mais baratas e rápidas tirando substituindo os alcools por ácido acético a 1%.

Devidos cuidados após abertos devem ser tomados como: precipitados filtrando diariamente, manter invasado em lugar escuro e vidro opaco além de outros, cuidados pessoais são necessários como: não inala e manusear sem luva e máscara.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAUJO JUNIOR, Mario Lucio Cordeiro et al. Monitoramento da qualidade da coloração de Papanicolaou no Instituto Nacional do Câncer. **Revista Brasileira de Análises Clínicas ( RBAC)**

BARROS, ALS et al. **Caderno de referência 1: Citopatologia Ginecológica**. Brasília: Ministério da Saúde; 1a Ed, Rio de Janeiro: CEPESC, 2012.

BISWAS, R.R.; PARAL, C.C.; DEY, R.; BISWAS, S.C. Rapid economic acetic acid papanicolaou stain (REAP) - Is it suitable alternative to standard PAP stain? **Al Ameen J Med Sci**. v.12, p.99-103, 2008.

CHANTZANTONIOU et al. Inception and Development of the Papanicolaou Stain Method. **Acta Cytologica** . n.61, p. 266–280, 2017.

CIÊNCIA E SAÚDE G1, Quem foi George Papanicolaou, criador do exame considerado uma das armas mais poderosas contra o câncer Disponível em: <<https://g1.globo.com/ciencia-e-saude/noticia/2019/05/13>. Acesso em: 16 out 2019.

DESHPANDE, A.K.; BAYYA, P.; VEERAGANDHAM, S. Comparative study of papanicolaou stain [pap] with rapid economic acetic acid papanicolaou stain (reap) in cervical cytology. **J of Evolution of Med and Dent Sci**. v.4, n.41, p. 7089-95, 2015.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. **Estimativa 2016**. Manual de gestão da qualidade para laboratório de citopatologia. Rio de Janeiro: INCA, 2016.

KOSS, L.G.: Cytologic techniques, diagnostic cytology and its histopathologic basis, fifth edition, Bales CE, 2006; Vol. 2 Pg1592-1601.

ROJAS-ZUMARAN, Víctor; MOYA-SALAZAR, Jeel. La ecologización de la coloración del Papanicolaou en el diagnóstico del cáncer de cuello uterino. **Rev Med Inst Mex Seguro Soc.** v. 56, n.3, p.217-25,2018.

SAKUMA, Takahiko et. al. Rapid on-site cytologic examination of 1500 breast lesions using the modified Shorr's stain. **Breast Cancer.** v.22, p.280–286, 2015.

SOUZA, P.C. et al. Prevalence of Candida sp. in the cervical–vaginal cytology stained by Harris–Shorr. **Arch Gynecol Obstet,** n.279, p.625–629, 2009.

STORTI-FILHO, Agenor et al. Oncotic Colpocytology Stained With Harris–Shorr in the Observation of Vaginal Microorganisms. **Diagnostic Cytopathology,** v. 36, n.6, p. 358-362, 2008.

SON, Sang-Yong et al. Rapid Staining Using the Shorr Method for Intraoperative Peritoneal Washing Cytology in Advanced Gastric Cancer: a Pilot Study from a Single Institution. **J Gastric Cancer.** v.19, n.2, p. 173-182, 2019.