

## FINALIDADE

Sistema para coloração de células colhidas por raspagem em cavidades naturais (vagina, mucosa bucal, etc.) e concentrados celulares a partir de derrames cavitários.

**Somente para uso diagnóstico *in vitro*.**

## PRINCÍPIO

O mecanismo de coloração das células ainda é controverso, mas duas hipóteses se destacam: fenômenos de adsorção e fatores químicos. Nos dois casos, o grau de dissolução dos corantes e a forma sob a qual se encontram, aniônica ou catiônica, são fatores importantes. Admite-se que as porções celulares de pH ácido tendem a se combinar com os corantes de radical catiônico, tanto por adsorção como por reações químicas e o inverso se daria com os corantes de radical aniônico.

Enquanto o citoplasma é formado por componentes ácidos e básicos, no núcleo das células predominam os ácidos nucleicos. O primeiro corante utilizado na coloração seg. Papanicolaou é a Hematoxilina, que reage com os ácidos nucleicos, conferindo ao núcleo uma coloração azulada. Posteriormente, os esfregaços são coloridos por uma solução de *orange G*, denominada OG-6 segundo Papanicolaou. *Orange G* é um corante ácido, com dois grupos sulfônicos, muito utilizado em histologia e citologia, que apresenta afinidade por componentes básicos do citoplasma. A última coloração é realizada por um dos três corantes: EA-36, EA-50 e EA-65, idealizados por Papanicolaou. Atualmente o corante EA-50 caiu em desuso, sendo utilizados nos laboratórios o EA-36 ou o EA-65. Esses corantes apresentam formulações semelhantes, apenas variando a concentração de verde luz amarelado. Em relação ao corante EA-65, a concentração de verde luz amarelado no corante EA-36 apresenta-se 50% mais intensa.

Verde luz amarelado é um corante ácido, com dois radicais sulfônicos, que se fixa, preferencialmente, aos componentes básicos do citoplasma. O segundo componente dos corantes EA-36 ou EA-65 é a Eosina Y (eosina yellowish, eosina solúvel ou eosina amarelada). Eosina Y é uma tetrabromo fluoresceína, mas as formas derivadas, mono e dibromo, também podem estar presentes no corante, em proporções variáveis. Essas formas derivadas modificam seu tom avermelhado, que é proporcional ao íon Br presente no produto. O corante é utilizado, principalmente, na coloração de grânulos oxifílicos do citoplasma, que têm longa afinidade por corantes ácidos.

O uso dos corantes Biebrich Scarlet e Pardo de Bismark se restringe à área citológica. Coram tenuamente porções básicas do citoplasma e o resultado final da coloração é consequência da somatória dos dois corantes. O Biebrich Scarlet tem ligeira afinidade pelo núcleo, entretanto, torna-se imperceptível quando se usa Hematoxilina como corante.

## PARTICULARIDADES DOS CORANTES CITOLÓGICOS DOLES

Os corantes citológicos **Doles** seg. Papanicolaou caracterizam-se por definições diferenciais na coloração. Tal particularidade é obtida através do uso de soluções desidratantes adequadas e do respeito aos tempos de coloração. Em função do desgaste a que está sujeito o corante, devido ao seu uso intensivo, deve-se ajustar, periodicamente, os tempos de coloração.

## REAGENTES

**Hematoxilina de Gill apresenta a seguinte formulação:**

Hematoxilina	(C.I. 75290)	0,0085M (3,0g/L)
Iodato de Sódio		0,0010M (0,2g/L)

Sulfato de Alumínio	0,0500M ( 17,6g)
Etileno Glicol	4,4700M (250mL)
Ácido Acético Glacial p.a.	0,3500M (20mL/L)
Água q.s.p.	1000mL

**Tradicionalmente, as soluções corantes são expressas em g/litro, mais acessível ao citologista.**

## APRESENTAÇÃO

Frasco de 500mL

Frasco de 1000mL

## MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

- Fixador citológico
- Ácido Clorídrico p.a.
- Hidróxido de Amônio
- Cubas de coloração
- Pipetas graduadas
- Álcool absoluto
- Xilol
- Cronômetro

## ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os corantes para uso seg. Papanicolaou devem ser armazenados em sua embalagem original, bem fechados, à temperatura ambiente (20-30°C). Baixas temperaturas podem provocar precipitação de corantes. Permanecem estáveis até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco, se obedecidas as condições de armazenamento. A solução de hematoxilina é aquosa. Os demais corantes (OG-6, EA-36 e EA-65) são soluções alcoólicas e devem ser mantidos, tanto nos frascos como nas cubas de coloração, permanentemente tampados, para evitar evaporação do álcool.

## CUIDADOS E PRECAUÇÕES COM O USO DOS REAGENTES

A solução de Hematoxilina de Gill é isenta de mercúrio. Como agente oxidante, é utilizado o Iodato de Sódio, não havendo poluição ambiental. Como os demais corantes são soluções alcoólicas, deve-se tomar os cuidados equivalentes aos do manuseio de álcool em laboratório. **As soluções corantes são para uso exclusivo *in vitro*.** Seu manuseio deve ser cuidadoso, evitando-se o contato com pele e mucosas. Em caso de contaminação acidental, lavar a área afetada em água corrente. O descarte do material utilizado deverá ser feito obedecendo-se aos critérios de biossegurança estabelecidos pelo laboratório, de acordo com as normas locais, estaduais ou federais.

Observar ainda a simbologia constante nos rótulos do produto:



Irritante

## AMOSTRA

Secreção vaginal e de mucosas (bucal, nasal, anal, etc). Escarro. Concentrado de efusões cavitárias, que podem ser concentrados através de centrifugação (preferencialmente com citocentrífuga). As amostras, tão logo obtidas, devem ser fixadas para evitar autólise celular.

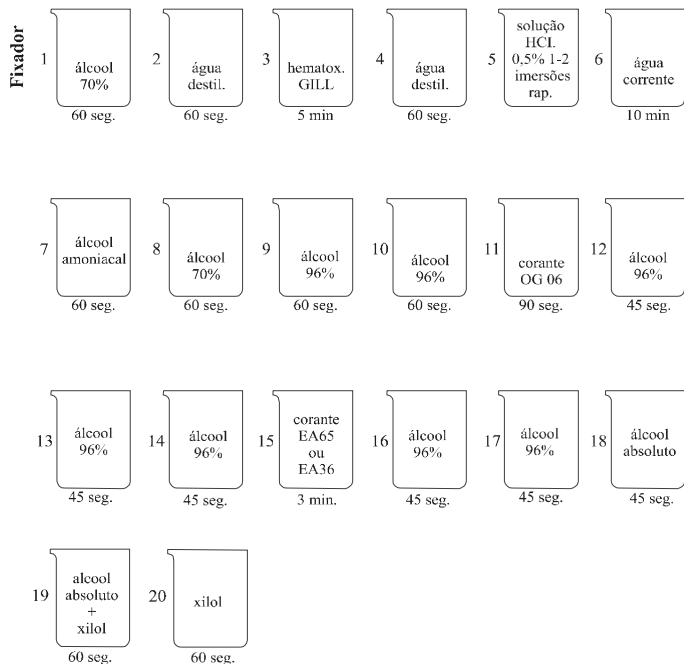
**Todas as amostras biológicas devem ser consideradas como potencialmente infectantes.**

## PROCEDIMENTO TÉCNICO

A coloração seg. Papanicolaou utiliza três corantes: Hematoxilina de Gill, OG-6 e EA-36 ou EA-65.

Segue abaixo o esquema clássico de coloração seg. Papanicolaou, com observações sobre o processo de coloração.





### Observações:

- Os tempos de imersão da lâmina nos diversos álcoois são calculados em segundos e podem ser substituídos por 10 a 12 imersões, com agitação, nas respectivas soluções.
- O tempo de imersão nos corantes deve ser observado com atenção. Devido ao enfraquecimento da capacidade tintorial do corante, resultante de seu uso prolongado, o tempo de coloração deverá ser aumentado, segundo experiência da citologista.
- Álcool Amoniacal: Hidróxido de Amônio 1,5mL + álcool 70% 98,5mL.
- Álcool 70%: álcool 96% 73mL + água destilada 27mL.
- Álcool absoluto: observar que o álcool deve ter a graduação mínima de 99,5 G.L.
- Manter os vasilhames de corantes sempre tampados.

### LIMITAÇÕES DO SISTEMA

- Para se obter ótimo desempenho do sistema, é necessário que o procedimento técnico seja rigorosamente seguido conforme instruções de uso. Qualquer alteração poderá levar a resultados errôneos.
- As soluções alcoólicas devem ser mantidas anidras e essa condição pode ser verificada com facilidade através da simples observação. Ao transferir as lâminas da cuba 18 para a 19, se o álcool já estiver hidratado, a solução da cuba 19 ficará turva, esbranquiçada, por não ser o Xilol miscível com água. Necessita-se então trocar o álcool absoluto na cuba 18.

### CONTROLE DE QUALIDADE DO SISTEMA

- O controle de qualidade em citologia depende da formação e da experiência do profissional que estuda o material citológico. Com seu uso, os corantes vão perdendo sua capacidade tintorial, sendo necessário um ajuste periódico nos tempos de coloração, o que é feito facilmente por alguém experimentado na arte da interpretação citológica.
- A limpeza e a secagem adequada do material a ser utilizado são de fundamental importância para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos. Não usar detergente à base de fosfatos.
- A água utilizada na limpeza do material e no preparo dos reagentes deve ser de boa qualidade.

### CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

**Repetitividade:** foram realizados testes com o corante Hematoxilina em coletas para citologia oncológica parasitária de 10 pacientes escolhidas aleatoriamente. Seguiu-se, rigorosamente, o procedimento técnico, conforme as instruções de uso, havendo total concordância das características tintoriais da hematoxilina que reage com os ácidos nucleicos, conferindo aos mesmos uma coloração azulada.

A repetitividade do corante está relacionada com a qualidade da água, conservação dos corantes nas cubas de coloração, limpeza da lâmina onde foi confeccionado o esfregaço e do tempo gasto em cada coloração.

**Reprodutibilidade:** no espaço de doze meses, foram realizados testes consecutivos em esfregaços vaginais, confeccionados e corados em condições ideais. Durante todo o período, houve concordância das características tintoriais dos testes. Foi observado que, para o sucesso da reprodutibilidade da coloração de Papanicolaou, as soluções alcoólicas deverão ser mantidas anidras. Tal condição pode ser verificada com facilidade ao se transferir as lâminas da cuba 18 para a 19. Se o álcool já estiver hidratado, a solução da cuba 19 ficará turva, esbranquiçada, por não ser o Xilol miscível em água. Nesse caso, deve-se trocar o álcool absoluto na cuba 18. O uso prolongado enfraquece a capacidade tintorial do corante, tornando-se necessário um ajuste periódico nos tempos de coloração. Tais ajustes devem ser feitos pelo técnico que estiver trabalhando com o produto, por relacionar-se tal ocorrência com a rotina laboratorial e, especialmente, com a correta conservação do corante no frasco original e nas cubas de coloração.

### BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- Ayre, J.E.: *Cancer cytology of the uterus*; 35-39; 1956.
- Ishizuka Y.; Oota K; Masubuchik: *Citodiagnóstico practico* 213-242; 1975.
- Doles: dados de arquivo.

### TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

As garantias do fabricante ao consumidor seguem estritamente as relacionadas na Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1.990 - **Código de Defesa do Consumidor**.

Todos os reagentes que compõem este sistema para diagnóstico são garantidos na sua performance, reprodutibilidade e qualidade até a data de vencimento dos mesmos, se obedecidas as condições abaixo:

- O usuário do sistema seguir, rigorosamente, o procedimento técnico.
- As condições de armazenamento deverão estar de acordo com o estabelecido nas instruções de uso.
- Os materiais necessários e não fornecidos deverão estar em boas condições técnicas.

**Todos os produtos que apresentarem problemas técnicos comprovados serão substituídos, sem ônus para o consumidor.**

Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratórios Ltda.  
 CNPJ: 01.085.513/0001-05  
 Rodovia BR 153, Km 1273, Lt.07, Chácara Retiro  
 CEP: 74001-970 Goiânia - GO - Brasil  
 Caixa Postal 1051  
 e-mail: doles@doles.com.br

M.S.: nº 10231810017

Revisão: 10 (06/2009)

### NBR ISO 9001

**Sistema da Qualidade certificado desde 1999**