

# Avaliação comparativa da qualidade da coloração de Papanicolaou em diferentes tempos de fixação em álcool etílico a 96%

## *Comparative evaluation of the quality of Papanicolaou staining at different intervals of fixation times using 96% ethyl alcohol*

Shirley Borges S. Quintana<sup>1</sup>; Fabiano L. Carvalho<sup>1</sup>; Glória Regina F. Silva<sup>1</sup>; Maria Beatriz T. Campos<sup>1</sup>; Maria Conceição S. Maia<sup>1</sup>; Mario Lucio C. Araújo Júnior<sup>1</sup>; Marcel S. B. Quintana<sup>2</sup>

1. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA), Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

2. Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

### RESUMO

**Introdução:** A fixação dos esfregaços citológicos consiste na imersão imediata em fixador adequado para preservar as características morfológicas celulares, sendo essencial para a análise microscópica e a interpretação diagnóstica. **Objetivo:** Avaliar a influência dos tempos de fixação nas características morfológicas e tintoriais de amostras fixadas em álcool etílico e coradas pelo método de Papanicolaou. **Método:** Realizou-se pesquisa experimental, quantitativa e qualitativa de 99 amostras de raspado da mucosa jugal de 33 participantes, fixadas em álcool etílico 96% em três tempos diferentes. Grupo A: 15 minutos; grupo B: 30 minutos; grupo C: sete dias. A qualidade da coloração foi categorizada em ótima, boa, regular e ruim, com posterior recategorização em ótimo e não ótimo. Para verificar a associação entre os grupos e as categorias, realizou-se teste exato de Fisher, com nível de significância de 0,05. **Resultado:** Das 99 lâminas coradas, 19 foram desprezadas por acelularidade, restando 80 lâminas para serem analisadas. Destas, foram avaliadas 28 no grupo A, 26 no grupo B e 26 no grupo C. No grupo A, foi encontrada qualidade ótima – 60,7% (n = 17); boa – 28,6% (n = 8); regular – 10,7% (n = 3) e ruim – 0% (n = 0). No grupo B, ótima – 61,5% (n = 16); boa – 30,8% (n = 8); regular – 7,7% (n = 2); e ruim – 0% (n = 0). E no Grupo C, ótima – 92,3% (n = 24); boa – 7,7% (n = 2); regular – 0% (n = 0); e ruim – 0% (n = 0). Nos três grupos não houve representação na categoria ruim. **Conclusão:** Os resultados sugerem que há diferença significativa na qualidade da coloração (p = 0,01) de acordo com o tempo de fixação.

**Unitermos:** controle de qualidade; fixadores; biologia celular.

### ABSTRACT

**Introduction:** Fixation of cytological smears consists of immediate immersion in appropriate fixative, in order to preserve cellular morphological characteristics, it is essential for the microscopic examination and diagnostic interpretation. **Objective:** To evaluate the influence of fixation times on the morphological and staining characteristics of samples fixed in ethanol and stained by the Papanicolaou method. **Method:** Experimental, quantitative and qualitative research was carried out on 99 samples of the jugal mucosa scrapings from 33 participants, fixed in 96% ethyl alcohol in three different times. Group A: 15 minutes; group B: 30 minutes; group C: seven days. The quality of staining was categorized in Optimal, Good, Regular and Poor, with subsequent recategorization at optimal and non-optimal. To verify the association among the groups and the categories, Fisher's exact test was performed, with significance level of 0.05. **Results:** From the 99 stained slides, 19 were discarded due to acellularity, remaining 80 slides. From these, 28 in group A, 26 in group B and 26 in group C were evaluated. In Group A, optimal quality was found in 60.7% (n = 17), good in 28.6% (n = 8), regular in 10.7% (n = 3) and poor in 0% (n = 0). In group B optimal was found in 61.5% (n = 16), good in 30.8% (n = 8), regular in 7.7% (n = 2) and poor in 0% (n = 0). In group C optimal was found in 92.3% (n = 24), good in 7.7% (n = 2) and poor in 0% (n = 0). In all three groups there was no representation in the poor category. **Conclusion:** The results suggest that there is a significant difference in the quality of staining (p = 0.01) according to the fixation time.

( $n = 0$ ). In group C, optimal was found in 92.3% ( $n = 24$ ), good in 7.7% ( $n = 2$ ), regular in 0% ( $n = 0$ ) and poor in 0% ( $n = 0$ ). In the three groups, there was no representation of the Poor category. **Conclusion:** The results suggest that there is a significant difference in the staining quality ( $p$ -value = 0.01) according to the fixation time.

**Key words:** quality control; fixatives; cell biology.

## RESUMEN

**Introducción:** La fijación de extensiones citológicas consiste en la inmersión inmediata en fijador adecuado para preservar la morfología celular, siendo esencial para el análisis microscópico y la interpretación diagnóstica. **Objetivo:** Evaluar la influencia de los tiempos de fijación en las características morfológicas y de tinción de muestras fijadas con metanol y teñidas con el método de Papanicolaou. **Método:** Se realizó una investigación experimental, cuantitativa y cualitativa de 99 muestras de raspado de la mucosa yugal de 33 participantes, fijadas con etanol al 96% en tres tiempos distintos. Grupo A: 15 minutos; grupo B: 30 minutos; grupo C: 7 días. La calidad de la tinción fue categorizada en óptima, buena, regular y mala, con posterior reclasificación en óptima y no óptima. Para determinar la asociación entre los grupos y las categorías, se realizó la prueba exacta de Fisher, con un nivel de significación del 0,05. **Resultado:** De las 99 muestras teñidas, 19 fueron desechadas por acelularidad, quedando 80 para ser analizadas. De estas muestras, 28 fueron evaluadas en el grupo A, 26 en el grupo B y 26 en el grupo C. En el grupo A, hemos encontrado calidad óptima – 60,7% ( $n = 17$ ); buena – 28,6% ( $n = 8$ ); regular – 10,7% ( $n = 3$ ) y mala – 0% ( $n = 0$ ). En el grupo B, óptima – 61,5% ( $n = 16$ ); buena – 30,8% ( $n = 8$ ); regular – 7,7% ( $n = 2$ ); y mala – 0% ( $n = 0$ ). En el grupo C, óptima – 92,3% ( $n = 24$ ); buena – 7,7% ( $n = 2$ ); regular – 0% ( $n = 0$ ) y mala – 0% ( $n = 0$ ). En los tres grupos no hubo representación en la categoría mala. **Conclusión:** Los resultados sugieren que hay diferencia significativa en la calidad de la tinción ( $p = 0,01$ ) de acuerdo con el tiempo de fijación.

**Palabras clave:** control de calidad; fijadores; biología celular

## INTRODUÇÃO

O processo de fixação dos esfregaços citológicos consiste na imersão imediata do esfregaço no fixador adequado para conservar as características bioquímicas e morfológicas celulares, sendo essencial para a análise microscópica e a interpretação diagnóstica. O fixador ideal recomendado para colpocitologia é o álcool a 96% (92,8°GL-INPM). De acordo com vários autores, os principais motivos de dessecação são demora na fixação do material e fixador inadequado para conservação das amostras<sup>(1-3)</sup>.

A fixação adequada é um passo fundamental na preparação dos esfregaços cervicais, pois garante que as células possam ser bem coradas e claramente visíveis para análise microscópica imediata ou para futuras reavaliações. Segundo o Manual de Gestão da Qualidade para Laboratórios de Citopatologia do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA)<sup>(4)</sup>, é comum a troca do álcool por outros produtos habitualmente utilizados nos serviços de saúde para outros fins. Equivocadamente, na falta do

álcool indicado é utilizado o álcool a 70%, útil para desinfecção de bancadas, porém totalmente inadequado como fixador para exames citopatológicos.

Segundo Koss e Gompel (2006)<sup>(5)</sup>, 15 minutos é tempo suficiente para fixar o material em álcool. A amostra poderá permanecer na solução durante alguns dias, ou até semanas. É importante que os esfregaços fiquem totalmente imersos no tubete fechado que contém a solução, evitando, ao máximo, a evaporação. Entretanto, alguns autores afirmam que, em situações especiais e para facilitar o transporte, pode-se desprezar o álcool e manter a lâmina dentro do tubete devidamente fechado para enviar ao laboratório<sup>(4,6)</sup>.

Uma alternativa é a fixação utilizando *spray* fixador, composto por uma base de álcool e carboximetilcelulose a 2,5% (Carbowax), que fornece uma fina camada protetora sobre a lâmina. O Carbowax deve ser removido após imersão da lâmina em álcool antes da coloração. Esfregaços que forem fixados com esse método devem chegar ao laboratório de citopatologia no máximo em 15 dias<sup>(4)</sup>.

## OBJETIVO

---

Avaliar a influência de diferentes tempos de fixação nas características morfológicas e tintoriais de amostras fixadas em álcool etílico e coradas pelo método de Papanicolaou.

## METODOLOGIA

---

Trata-se de uma pesquisa experimental, realizada em três fases, no período de abril a maio de 2015, na qual foram analisadas quantitativa e qualitativamente 99 amostras de raspado da mucosa jugal obtidas com auxílio de espátula de madeira, em uma população de 33 funcionários e alunos do curso técnico em citopatologia do INCA.

Foram colhidas três amostras de cada participante, fixadas em álcool etílico a 96%, formando três grupos:

- grupo A – 33 amostras com fixação de 15 minutos;
- grupo B – 33 amostras com fixação de 30 minutos;
- grupo C – 33 amostras com fixação em sete dias.

### Fase 1 – Obtenção das amostras de raspado da mucosa jugal (coleta e fixação)

Nesta primeira fase, o estudo baseou-se no convite a 33 funcionários e/ou alunos do curso de nível médio em Citotecnologia da Seção Integrada de Tecnologia em Citopatologia (SITEC) para atuarem como participantes do experimento. O critério de escolha dos profissionais e/ou alunos entrevistados foi a concordância para assinar o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

Cada participante teve acesso ao TCLE, com as instruções e os esclarecimentos feitos pelo profissional responsável pela pesquisa, preencheu o documento e o assinou. Em seguida, recebeu uma espátula de madeira e coletou o próprio material de sua mucosa jugal de forma abrasiva (raspagem), entregando-o imediatamente aos profissionais responsáveis. Estes distenderam a amostra em uma camada fina, uniforme e homogênea sobre três lâminas de vidro separadamente, com bordas foscas previamente identificadas por lápis preto, como grupo A (15 minutos), grupo B (30 minutos) e grupo C (sete dias), sendo prontamente acondicionadas em três frascos (tubete) contendo álcool etílico a 96%.

Para cada grupo o material foi fixado em tempos diferentes. No grupo A, após 15 minutos de fixação, o álcool foi desprezado e a lâmina acondicionada no frasco sem álcool até o momento

da coloração; no grupo B, após 30 minutos de fixação, o álcool também foi desprezado e a lâmina seguiu o mesmo procedimento do grupo A; já as lâminas do grupo C ficaram imersas no álcool por sete dias. Transcorrido esse período, todas as lâminas dos grupos A, B e C foram coradas no mesmo dia e no mesmo carrinho de coloração. A coloração realizada foi a preconizada por Papanicolaou, utilizando-se coradora automatizada modelo Leica ST5020 acoplada à montadora automática modelo Leica CV5030. Utilizaram-se como meio de montagem resina Entellan® e lamínula.

Os avaliadores que participaram da pesquisa são profissionais altamente capacitados, habilitados e experientes em citopatologia, pertencentes ao quadro de funcionários do INCA. Este projeto faz parte do programa de qualidade encaminhado ao Comitê Permanente de Ética em Pesquisa (COPEP) do Instituto Nacional de Câncer, sendo aprovado sob o no. 040628/2016. Todos os participantes da pesquisa assinaram o TCLE.

### Fase 2 – Avaliação analítica: qualidade da coloração

Nesta fase foi realizada a avaliação da qualidade da coloração por cinco avaliadores que observaram todas as lâminas em microscópio binocular *multibead* (capacidade para cinco observadores); após análise, eles chegaram a um consenso. As lâminas dos grupos A, B e C foram devidamente comparadas e analisadas, atribuindo os conceitos ótimo, bom, regular e ruim de acordo com a qualidade da coloração, a afinidade tintorial e as alterações morfológicas. Os resultados das avaliações das amostras foram registrados em planilha eletrônica. Foram avaliados os detalhes das colorações nucleares e citoplasmáticas de células epiteliais e não epiteliais (hemácias, leucócitos), muco e microbiota.

Para que a amostra tenha sido classificada como ótima, foi encontrada maior nitidez nos detalhes citoplasmáticos, como cianofilia, orangeofilia, eosinofilia, contorno de membrana e granulação citoplasmática (cerato-hialina, nucleoproteínas) e nuclear (cromatina, contorno de membrana nuclear). Para amostra classificada como boa, foi encontrada cromatina pouco opaca e menor nitidez da cianofilia, eosinofilia ou orangeofilia (menor densidade), além de dificuldades para visualização de grânulos citoplasmáticos (cerato-hialina, nucleoproteínas). Para amostra classificada como regular, foram observadas ausência de detalhes de grânulos citoplasmáticos (cerato-hialina, nucleoproteínas), cromatina opaca, ausência na definição do contorno de membrana nuclear e quase ausência de cianofilia e/ou orangeofilia. Apesar de não ter sido encontrada, a amostra para ser classificada como ruim deveria apresentar ausência de

diferenciação nuclear e citoplasmática, com intensa perda da nitidez citoplasmática cianófila, bem como presença de cromatina intensamente opaca, sem definição de contorno de membranas, além de ausência de nitidez na coloração nuclear de neutrófilos e grânulos citoplasmáticos.

### Fase 3 – Análise dos resultados

O procedimento desta fase baseou-se na análise estatística dos resultados comparativos entre os três grupos do material fixado, utilizando-se *software*<sup>(7)</sup> R versão 3.2.2.

Para avaliar se existiam associações significativas entre os grupos e as classificações, foi utilizado o teste exato de Fisher<sup>(8)</sup> e definido o nível de significância de 0.05.

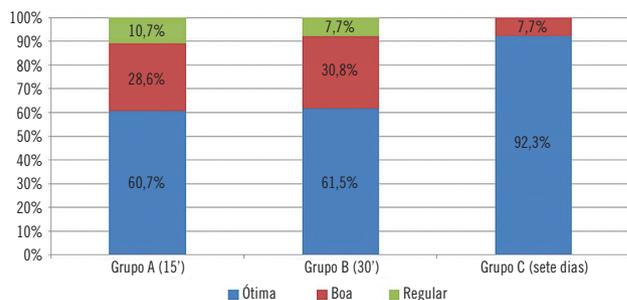
## RESULTADOS

Das 99 lâminas coradas, 19 foram desprezadas devido à ausência de material (esfregaço acelular), impossibilitando qualquer tipo de avaliação, restando apenas 80 lâminas para serem analisadas. Destas, foram avaliadas 28 no grupo A, 26 no grupo B e 26 no grupo C. A **Figura 1** apresenta a distribuição dos percentuais das classificações em cada grupo. O grupo C apresentou o maior percentual de amostras com a classificação ótima (92,3%). Agregando as categorias bom, regular e ruim (devido à baixa frequência) à categoria “não ótimo”, o teste Exato de Fisher indicou que existe associação entre as classificações e os grupos ( $p = 0,01$ ).

Os achados deste estudo mostram que os esfregaços fixados com sete dias apresentaram maior nitidez nas colorações citoplasmáticas e nucleares, contudo não demonstraram classificação regular, diferentemente das com 15 e 30 minutos, que apresentaram, respectivamente, 10,7% e 7,7%, sugerindo que o menor tempo de fixação influenciou na avaliação da amostra.

As amostras fixadas em 15 e 30 minutos tiveram resultados próximos na avaliação de coloração ótima (60,7% e 61,5%, respectivamente), muito abaixo das amostras fixadas em sete dias (92,3%).

Em nosso estudo observamos que a orangeofilia celular não foi significativamente influenciada pelo tempo de fixação, enquanto cianofilia e metacromasia sofreram influência devido à redução do tempo de fixação. Em sete dias notou-se maior nitidez, com redução de sua densidade à medida que o tempo de fixação diminuiu.



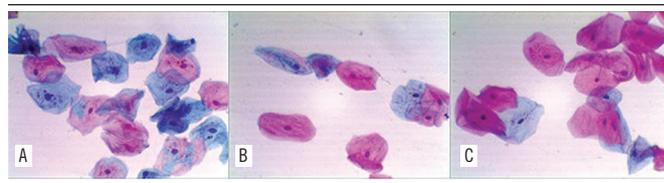
**FIGURA 1** – Avaliação da coloração em amostras com tempos diferenciados de fixação. Coloração classificada em ótima, boa e regular

Dos três corantes utilizados na coloração de Papanicolaou, o que sofreu maior influência no tempo de fixação foi hematoxilina, sendo também o que mais influenciou na classificação das amostras.

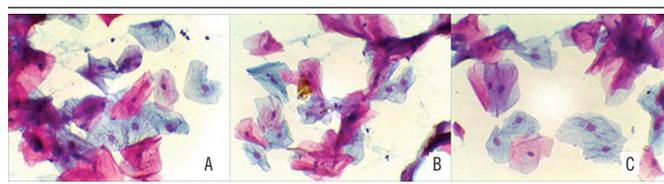
Amostras classificadas como ótima apresentaram maior nitidez no contorno de membranas nucleares e citoplasmáticas e melhor definição da cromatina e das granulações, bem como coloração nuclear de neutrófilos, conforme mostra a **Figura 2**.

Amostras classificadas como boa apresentaram diminuição da nitidez citoplasmática cianófila e presença de cromatina um pouco mais opaca em relação à classificação ótima. Houve manutenção na definição de contorno de membranas, porém com redução na coloração nuclear de neutrófilos e grânulos citoplasmáticos, de acordo com a **Figura 3**.

Amostras classificadas como regular mostraram perda da nitidez citoplasmática cianófila, bem como presença de



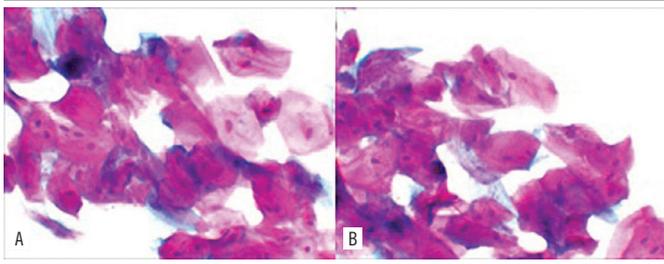
**FIGURA 2** – Coloração classificada como ótima em três tempos de fixação  
A) fixação em sete dias; B) fixação em 30 minutos; C) fixação em 15 minutos.



**FIGURA 3** – Coloração classificada como boa em três tempos de fixação  
A) fixação em sete dias; B) fixação em 30 minutos; C) fixação em 15 minutos.

cromatina opaca, sem definição de contorno de membranas, além de ausência de nitidez na coloração nuclear de neutrófilos e grânulos citoplasmáticos, conforme apresentado na **Figura 4**.

Nos três grupos não houve representação na categoria ruim.



**FIGURA 4** – Coloração classificada como regular em dois tempos de fixação

A) fixação em 30 minutos; B) fixação em 15 minutos.

## DISCUSSÃO

Este estudo avalia a influência de diversos tempos de fixação por álcool etílico a 96% na qualidade da coloração de amostras citológicas.

Na literatura, são raros os trabalhos a respeito do tempo de fixação das amostras. Koss e Gompel (2006)<sup>(5)</sup> relatam que o tempo mínimo de fixação das amostras citológicas é de 15 minutos. Em nosso estudo identificamos que o tempo de fixação de 15 e/ou 30 minutos influencia as características citomorfológicas e tintoriais das células. Ainda constatamos que amostras fixadas por sete dias apresentaram melhores resultados na qualidade das colorações, quando comparadas com as de fixação por 15 e 30 minutos.

Em face do grande número de amostras dessecadas recebidas pelos laboratórios e do trâmite, desde a coleta do exame até a entrega do resultado ao paciente – um longo caminho que envolve muitas etapas e muitos profissionais e procedimentos –, a fixação adequada do esfregaço tem a função de preservar a estrutura celular e conservar os detalhes. Tal papel evita a distorção celular, o aparecimento de artefatos e a perda da afinidade tintorial, além de possibilitar uma coloração satisfatória e avaliar os critérios citomorfológicos, o que garante a qualidade dos resultados<sup>(4)</sup>.

Tomando como exemplo o câncer do colo do útero, o rastreamento mais efetivo se faz a partir do exame preventivo de Papanicolaou<sup>(4)</sup>, um exame rápido, de baixo custo, com grande efeito na detecção de lesões precursoras. Para tanto utiliza-se uma coloração que recebe o mesmo nome e tem sido utilizada de forma universal na citologia esfoliativa porque permite

demonstrar as diferenças entre as variações das camadas epiteliais, possibilitando a identificação precoce do câncer e de outras doenças<sup>(5)</sup>. No Brasil, entre 2006 e 2013, cerca de 290 mil exames foram classificados como insatisfatórios, tendo 50% o dessecamento pela má fixação como principal motivo<sup>(9)</sup>, uma vez que ele dificulta a entrada dos corantes nas células, segundo o Painel de Indicadores do Câncer do Colo do Útero<sup>(10)</sup>. Esse método consiste em múltiplas etapas e possui um conjunto de corantes destinados a evidenciar as variações na morfologia, nos graus de maturidade e na atividade metabólica celular<sup>(11-13)</sup>.

A hematoxilina de Harris, corante básico que reage com os ácidos nucleicos, confere ao núcleo uma coloração azulada. O EA36 (eosina, verde-luz ou verde-brilhante e pardo de Bismarck) é um corante ácido que fixa os componentes básicos do citoplasma. A eosina cora o citoplasma das células superficiais, os nucléolos, a mucina endocervical e os cílios. O verde-luz cora o citoplasma de células metabolicamente ativas, células intermediárias, parabasais, profundas, células colunares e histiócitos com coloração cianófila (esverdeada). O orange G6 é um corante ácido monocromático que apresenta afinidade por componentes básicos do citoplasma, corando as células anucleadas (escamas córneas), as células queratinizadas, os grânulos de eosinófilos e as hemácias com uma coloração alaranjada<sup>(13,14)</sup>.

Ainda no processo de coloração, as funções de três outros elementos são indispensáveis para um bom resultado. O xilol, um solvente orgânico, tem a função de tornar as células translúcidas e participa na etapa de clarificação, cuja fase promove a transparência celular. Já o álcool etílico (70%, 96% e absoluto) tem a função de lavar e preparar o material para receber o corante alcoólico. A goma de Damar e o bálsamo do Canadá ou sintético (Entellan) servem para fazer a ligação entre a lâmina e a lamínula. Essa ligação protege o esfregaço da dessecação e confere maior durabilidade em relação à coloração<sup>(14)</sup>.

O Manual de Gestão da Qualidade em Citopatologia menciona que se a amostra for fixada com álcool poderá permanecer na solução durante alguns dias ou mesmo semanas. É importante que os esfregaços fiquem totalmente imersos no tubete que contém a solução e que este esteja devidamente fechado, evitando-se ao máximo a evaporação. Ressalta, ainda, que em situações específicas, o álcool pode ser desprezado para fins de transporte. Entretanto, as amostras necessitam de pelo menos 15 minutos totalmente imersas para que a fixação seja adequada, e o material deve ser encaminhado o quanto antes para o laboratório<sup>(4)</sup>. Não foram encontrados na literatura estudos referentes ao tempo máximo entre a coleta da amostra e a chegada ao laboratório capaz de preservar os detalhes citológicos da célula.

É primordial destacar que o material biológico deve ser bem fixado, uma vez que a fixação preserva as características citomorfológicas e tintoriais das células<sup>(15)</sup>. A amostra deve ser fixada imediatamente após a coleta do material para evitar o dessecamento pelo ar ou o ressecamento por alguma fonte de calor. Oliveira *et al.* (2010)<sup>(16)</sup> afirmam que o tempo para colocar a lâmina no tubo contendo o fixador não deve ultrapassar 15 segundos, entretanto, Mikel (1994)<sup>(17)</sup>, em estudo realizado no Instituto de Patologia das Forças Armadas Americana, destaca que para uma ótima preservação a fixação deve ser imediata, enquanto o espécime ainda está úmido, pois mesmo uma mínima dessecação ao ar, de uma amostra, alterará os aspectos celulares. Além disso, comenta que o álcool etílico absoluto pode ser substituído por outros álcoois que dão resultados equivalentes, como o metanol a 100%, álcool desnaturado a 95%, isopropanol a 80% e vários fixadores em *spray* disponíveis comercialmente. O fixador ideal não pode ser tóxico, não deve evaporar a temperatura ambiente e o custo deve ser aceitável. Por tais razões, o álcool é considerado mundialmente o melhor fixador para os esfregaços citológicos<sup>(15)</sup>.

## REFERÊNCIAS

1. Husain OAN, Butler EB, Evans DMD, Macgregor JE, Yule R. Quality control in cervical cytology. *J Clin Pathol.* 1974 Dec; 27(12): 935-44.
2. Arcuri RA, Cunha KCF, Alves EC, et al. Controle interno da qualidade em citopatologia ginecológica: um estudo de 48.355 casos. *J Bras Patol Med Lab.* 2002; 38(2): 141-7.
3. Anderson GH, Flynn KJ, Hickey LA, Leriche JC, Maticic JP, Suen KC. A comprehensive internal quality control system for a large cytology laboratory. *Acta Cytol.* 1987; 31: 895-9.
4. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. INCA. Manual de gestão da qualidade para laboratório de citopatologia. 2 ed. rev. ampl. Rio de Janeiro: Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, Coordenação de Prevenção e Vigilância, Divisão de Detecção Precoce e Apoio a Organização de Rede; 2016.
5. Koss LG, Gompel C. Introdução à citopatologia ginecológica com correlações histológicas e clínicas. São Paulo: Ed. Roca; 2006.
6. Arbyn M, Herbert A, Schenck U, et al. European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening: recommendations for collecting samples for conventional and liquid-based cytology. *Cytopathology.* 2007; 18: 133-9.
7. R Development Core Team. A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria; 2008. ISBN 3-900051-07-0. Disponível em: <http://www.R-project.org>.
8. Medronho RA, Bloch KV, Luiz RR, Werneck GL. *Epidemiologia.* 2 ed. São Paulo: Atheneu; 2009.

## CONCLUSÃO

Este estudo demonstrou que há diferença significativa na qualidade da coloração ( $p = 0,01$ ) quando a amostra é fixada em diferentes tempos, sendo melhor quando fixadas por mais de 30 minutos. Esse dado é importante na prática da citopatologia, e outros estudos devem ser realizados a fim de padronizar condutas técnicas de forma a obter resultados melhores possíveis, beneficiando os pacientes e facilitando o processo de trabalho dos profissionais da citopatologia.

## AGRADECIMENTOS

Nosso agradecimento ao profissional Emerson Pinto de Mesquita por sua participação na avaliação qualitativa dos esfregaços, junto aos demais profissionais citotecnologistas da SITEC/INCA.

9. DATASUS. Informações estatísticas. versão 4.0. Exame citopatológico cérvico-vaginal e microflora. Seleção: Brasil, município residência, adequabilidade do mat.: insatisfatório, período: 2006-2013. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?siscolo/ver4/DEF/Brasil/BRCCOLO4.def> [Acesso em: 6 abril 2017].
10. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. INCA. Portal de indicadores, 2015. Disponível em: [http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/acoos\\_programas/site/home/nobrasil/programa\\_nacional\\_controle\\_cancer\\_colo\\_uterio/indicadores/p3m\\_percentual-de-amostras-insatisfatorias-nos-municipios](http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/acoos_programas/site/home/nobrasil/programa_nacional_controle_cancer_colo_uterio/indicadores/p3m_percentual-de-amostras-insatisfatorias-nos-municipios). Acesso em 29/09/2015 às 21h00min.
11. Eleuterio Jr J. Noções básicas de citologia ginecológica. São Paulo: Livraria Santos Editora Ltda; 2003.
12. Gupta S, Chachra KL, Bhadola P, Sodhani P. Modified Papanicolaou staining protocol with minimum alcohol use: a cost-cutting measure for resource-limited settings. *Cytopathology.* 2010 Aug; 21(4): 229-33.
13. Araujo Jr MLC, Santana DA, Almeida LB, et al. Monitoramento da qualidade da coloração de Papanicolaou no Instituto Nacional de Câncer. *RBAC.* 2016; 48(1): 58-62.
14. Ministério da Saúde (BR). Caderno de referência 1: citopatologia ginecológica. Barros ALS, Lima DNO, Azevedo MD, Oliveira ML, editores. Rio de Janeiro: CEPESC; 2012.
15. Brasil. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de atenção básica. Controle dos cânceres do colo do útero e da mama. Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. Brasília: Ministério da Saúde; 2006. xx p. il.

16. Oliveira NC, Moura ERF, Diogenes MAR. Desempenho de enfermeiras na coleta de material cervicouterino para exame de Papanicolaou. Acta Paul Enferm. 2010; 23(3): 385-91.

17. Mikel UV, editor. Armed Forces Institute of Pathology. Advanced laboratory methods in histology and pathology. Washington, DC: American Registry of Pathology; 1994.

---

**AUTOR CORRESPONDENTE**

Shirley Borges de Souza Quintana  0000-0001-7684-2026  
e-mail: shi.quintana@gmail.com or squintana@inca.gov.br



This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License.