

O impacto da fase pré-analítica na qualidade dos esfregaços cervicovaginais

The impact of the pre-analytical phase on the cervical smears quality

Gislaine Paes Ferreira Silva¹

Priscila Cardoso Cristovam²

Daniela Bergamo Vidotti³

Resumo

O estudo tem como objetivo realizar uma revisão bibliográfica no que refere à qualidade dos esfregaços cervicovaginais, nas etapas de fixação e coloração realizadas por técnicas citológicas convencionais. O exame citopatológico tem como base uma metodologia de diagnóstico e prevenção para a detecção do câncer do colo de útero e suas lesões precursoras; porém, sua vulnerabilidade a erros nas etapas de fixação, coloração e montagem do esfregaço pode induzir significativamente a reprodutibilidade dos observadores, levando a um diagnóstico errôneo. Portanto, é necessário que se desenvolva uma intensa atividade no controle de qualidade em todo processo, incluindo a fase pré-analítica, para se obter maior segurança nos resultados dos exames citológicos convencionais.

Palavras-chave

Esfregaço vaginal; Controle de qualidade; Detecção precoce de câncer; Prevenção de câncer de colo uterino; Displasia do colo uterino

INTRODUÇÃO

O câncer do colo do útero é um importante problema de saúde pública. Segundo os últimos dados do Instituto Nacional do Câncer, estima-se que no ano de 2014 serão registrados 15.590 casos novos de câncer do colo de útero no Brasil, com um risco estipulado de 15,33 casos a cada 100 mil mulheres. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), quando é realizado o rastreamento adequado com, no mínimo, 80% de cobertura, e realizado dentro dos padrões de qualidade, é possível diminuir em média de 60% a 90% a ocorrência do câncer cervical invasivo.^(1,2)

Para o seu rastreamento, o exame citológico proposto por Papanicolaou (1941) baseia-se em uma metodologia de diagnóstico presuntivo e preventivo para a detecção do câncer do colo de útero e suas lesões precursoras. Como é um procedimento totalmente manual, desde a coleta do material até a liberação do resultado pelo laboratório, sua vulnerabilidade a erros é considerável e pode interferir na acurácia do diagnóstico. Deste modo, as etapas que compreendem a coleta, fixação, coloração do esfregaço, montagem da lâmina e a subjetividade na interpretação dos re-

sultados são fatores que podem comprometer drasticamente a sensibilidade do exame.⁽³⁻⁵⁾

No Brasil, o Ministério da Saúde,⁽⁶⁾ na tentativa de aumentar a eficácia do rastreamento e diagnóstico do câncer do colo útero, tem implantado sistemas de controle de qualidade interno e externo nos laboratórios que realizam exames para o Sistema Único de Saúde (SUS), os quais visam garantir a organização e a integridade de qualidade do serviço prestado. Na fase pré-analítica, são avaliados os procedimentos técnicos relacionados à qualidade de confecção do esfregaço, fixação, coloração e montagem. Estas etapas de execução podem influenciar significativamente, na qualidade do laudo e na produtividade entre os observadores.^(7,8)

Assim, a conscientização dos profissionais envolvidos e o conhecimento de cada etapa da fase pré-analítica, como ação dos fixadores, dos corantes, manipulação, armazenamento adequado, a estabilidade dos reagentes, além dos procedimentos de montagem adequada, são de grande relevância para garantir uma melhor confiabilidade dos resultados citológicos.⁽⁵⁾ Perante estes dados, este estudo tem por objetivo realizar uma revisão bibliográfica no que refere à qualidade das etapas de fixação e coloração dos esfregaços cervicovaginais realizados por técnicas

¹Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas – FMU – São Paulo, SP, Brasil.

²Ph.D. Universidade Federal de São Paulo (pós-doutoranda) – São Paulo, SP, Brasil.

³Ph.D. Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas – FMU – São Paulo, SP, Brasil.

Instituição: Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas – FMU – São Paulo, SP, Brasil.

Artigo recebido em 02/02/2016

Artigo aprovado em 14/03/2016

DOI: 10.21877/2448-3877.201600470

citológicas convencionais. A escolha desse método visa o embasamento científico que permite, por meio de pesquisas já realizadas, tendo como parâmetro a visão de alguns autores, proporcionar uma melhor compreensão do tema de interesse.

FASE PRÉ-ANALÍTICA: FATORES QUE COMPROMETEM O DIAGNÓSTICO

A fase pré-analítica consiste em conjunto de ações que visam garantir representatividade e adequabilidade da amostra. Devem-se adotar critérios padronizados de controle interno da qualidade que contemplem o registro do material recebido, a fixação, a coloração e a montagem das lâminas.^(9,10)

Segundo recomendações do Ministro da Saúde,⁽¹¹⁾ com base nos critérios de qualidade para boa visualização do exame de citologia convencional, o material coletado deve ser espalhado sobre a lâmina de modo uniforme, fixado imediatamente após a coleta e posteriormente transportado ao laboratório em suporte plástico de lâmina devidamente identificada. As lâminas devem permanecer íntegras e acondicionadas adequadamente, devem acompanhar a requisição preenchida do médico solicitante, e, em seguida, submetidas à coloração pelo método de Papanicolaou, tradicional ou modificado.^(12,13)

Para melhor compreensão sobre fatores que comprometem o diagnóstico na fase pré-analítica e de acordo com o objetivo deste artigo, as etapas foram descritas em Fixação dos esfregaços, Coloração e Montagem das lâminas citológicas cervicais.

FIXAÇÃO DOS ESFREGAÇOS CITOLÓGICOS CERVICAIS E FIXADORES

Após a obtenção da amostra, ocorre o procedimento de fixação, que é uma etapa importante e essencial para a realização de todos os passos subsequentes, imprescindíveis à qualidade do exame citológico.^(14,15) O fixador utilizado reage com diferentes componentes celulares promovendo a estabilidade molecular de proteínas, ácidos nucleicos, polissacarídeos, lipídios entre outros. O fixador reage com diferentes componentes celulares promovendo a estabilidade molecular de proteínas, ácidos nucleicos, polissacarídeos, lipídios, entre outros, prevenindo a autólise ou a degradação das estruturas celulares, conservando os detalhes, além de evitar o dessecamento que deforma as células e altera as afinidades tintoriais.^(16,17)

Os métodos de fixação são divididos em três categorias: fixação úmida, fixação úmida com secagem ao ar e fixação por nebulização ou cobertura do esfregaço.

O método de fixação úmida é composto de etanol a 96%. Esta substância age como agente coagulante, pene-

trando na célula, desidratando-a e intensificando a diferenciação nuclear após a coloração. Os esfregaços fixados por esse método poderão permanecer por uma semana ou mais quando acondicionados individualmente em seus respectivos tubetes devidamente fechados.^(18,19) As principais vantagens do etanol como fixador, comparado com outros métodos, baseiam-se na sua elevada velocidade de difusão e na capacidade de preservar as estruturas celulares. Por outro lado, o etanol provoca uma retratação significativa do citoplasma e perde rapidamente as suas atividades celulares.^(18,20)

Já na fixação úmida com secagem no ar, é importante que os esfregaços fiquem totalmente imersos em álcool pelo menos por trinta minutos, evitando-se ao máximo a evaporação. Após este período, o álcool é desprezado e o material pode ser enviado ao laboratório.⁽²¹⁾ A desvantagem deste método é que o esfregaço citológico, após fixado pelo álcool, é secado ao ar, podendo ocorrer possível edema nuclear à distorção, com perda de detalhes cromáticos, e o citoplasma pode não ser corado adequadamente.⁽²²⁾

No caso dos fixadores em spray, os mais utilizados são os compostos por polietilenoglicol (Carbowax) e álcool a 95%. Recomenda-se que a pulverização do aerosol sobre o esfregaço celular deva ocorrer a uma distância entre 15 cm a 25 cm, evitando o espalhamento do esfregaço.^(14,22) De acordo com Manrique,⁽¹⁹⁾ quando ocorre algum problema na etapa de fixação celular, por exemplo, um longo tempo entre a coleta e a fixação, a coloração poderá ficar comprometida, alterando a afinidade celular pelos corantes usados na técnica de Papanicolaou, levando a mudanças citoplasmática e nucleares.

Posteriormente, os esfregaços citopatológicos fixados em álcool seguem para a bateria de coloração, sendo que os esfregaços fixados pelo método de cobertura devem ser submetidos a banhos de álcool a 96% (pelo menos duas cubas, no mínimo 15 minutos cada) antes da coloração, para eliminar a película de cobertura. Essa película inibe a penetração apropriada da coloração, especialmente da hematoxilina.^(13,21)

Coloração de Papanicolaou

A técnica de coloração de Papanicolaou consiste em uma sequência de etapas que utiliza um conjunto de corantes com a finalidade de evidenciar a morfologia e os diferentes graus de maturação celular. Sua descoberta foi por meio de estudos iniciados pelo Dr. George Nicolau em 1917, após analisar alterações celulares das regiões da cérvix e vagina, além de alterações apresentadas nas diferentes fases do ciclo menstrual. Depois de vários estudos, o exame preventivo passou a ser utilizado na década de 40, recebendo a denominação de exame de Papanicolaou, devido ao sis-

tema de coloração utilizado.^(23,24) É um método que se baseia em sequência de ações de um corante básico, a Hematoxilina de Harris; um corante ácido, o Orange G e corante policromático EA-65, que oferece tonalidades de cores diferentes no citoplasma das células.⁽²²⁾

A hematoxilina é o primeiro corante utilizado, reage com os ácidos nucleicos, confere ao núcleo uma coloração azulada. A coloração final do corante pode ser alterada pela mistura com outros agentes, tais como alúmen de ferro (preto), alúmen de potássio (azul) e os sais de estanho (vermelho).⁽²⁵⁾ Posteriormente, os esfregaços são corados por uma solução ácida de Orange G, que apresenta afinidade por componentes básicos do citoplasma, com capacidade de penetrar nas células queratinizadas ou precursores de queratina, evidenciando também os grânulos de querato-hialina das células superficiais, corando-os de laranja intenso e brilhante. O segundo componente do corante policromático EA-36 é a eosina Y (eosina *yellowish*, eosina solúvel e eosina amarelada), o qual cora o citoplasma celular de rosa pela ação da eosina Y através de verde brilhante.^(22,26)

Os tempos de imersão da lâmina nos diversos álcoois são calculados em segundos e podem ser substituídos por 10 a 12 imersões, porém o tempo na coloração poderá ser modificado conforme o procedimento operacional padrão do laboratório. Dependendo do tempo pode influenciar na coloração do núcleo, e, conseqüentemente, o núcleo pode corar fracamente ou fortemente, tornando-se pálido ou hiper cromático, o mesmo ocorrendo com os corantes Orange G e EA - 36, tornando o citoplasma da célula pálido, sem coloração diferencial do citoplasma.

O controle de qualidade dos corantes utilizados na bateria de coloração deve ser acessado diariamente por meio da análise microscópica. Assim, uma amostra de raspado bucal deve ser submetida ao protocolo de coloração para verificar o tempo e a qualidade dos corantes, e, então, o observador analisará quanto à intensidade de coloração nuclear, o contraste entre a coloração, entre a coloração citoplasmática eosinofílica e cianofílica, a definição da cromatina nuclear, a qualidade de desidratação da lâmina e clareza. Dessa forma, após aprovação da coloração, segue com coloração das amostras biológicas.^(5,21) Se necessário, medidas corretivas devem ser implementadas imediatamente. Recomenda-se o registro por escrito dessas atividades para o monitoramento e manutenção da qualidade técnica das lâminas.⁽¹³⁾

A qualidade da coloração citológica depende da qualidade da preservação celular e fixação do espécime, o manejo no preparo, armazenamento, estabilidade dos corantes e seguimentos do protocolo de coloração. No momento em que se passa para o procedimento de coloração da lâmina, o profissional deverá dar ênfase à necessidade da utilização de soluções filtradas e trocadas adequadamen-

te no decorrer do processo, evitando dessa forma a contaminação cruzada dos esfregaços com células flutuantes.^(27,28) Entretanto, dependendo do número de lâminas processadas, as trocas dos corantes ocorrem em periodicidade variada, enquanto que os álcoois são trocados em cada dez berços rodados.

A hematoxilina, quando estocada em ótimas condições de conservação, permanece sem precipitados por sete meses.⁽²⁹⁾ Em consonância a este achado, o Instituto Nacional de Câncer (INCA)⁽¹³⁾ demonstrou, em um estudo elaborado em 2012, que os corantes devem ser armazenados em sua embalagem original quando comparados prontos, bem fechados, à temperatura ambiente, pois podem precipitar quando submetidos às baixas temperaturas. Enquanto os corantes são preparados no próprio laboratório, as soluções devem ser guardadas em recipientes escuros, em locais protegidos de luz e calor. Permanecem estáveis até a data de vencimento e sob as condições de estocagem indicadas no rótulo do frasco. A solução de hematoxilina é aquosa. Os demais corantes, OG-6 e EA-36, são soluções alcoólicas e devem ser mantidos tanto nos frascos como nas cubas de coloração, permanentemente tampados, para evitar evaporação do álcool, além de serem armazenados em recipientes escuros, em locais protegidos de luz e calor.⁽³⁰⁾

O exame de Papanicolaou convencional é extensamente conhecido como ferramenta de grande sucesso na triagem para prevenção diagnóstica de câncer do colo de útero, porém, são sugeridas limitações por razões técnicas. Existem vários fatores que podem causar alterações nas reações dos corantes, alguns relativos à própria amostra, como o pH da secreção, e outros relativos à técnica empregada. Fatores técnicos, como espessura do material e excesso de material fora dos limites de análise da lâmina contribuem significativamente para um diagnóstico errôneo.^(12,30)

O principal problema dos laboratórios de citopatologia é manter adequabilidade da amostra cervicovaginal após a coleta, por meio da fixação, sendo que a falha na fixação torna o esfregaço dessecado, uma vez a fixação incorreta da lâmina prejudica consideravelmente o trabalho do escrutinador.⁽¹⁷⁾

Também deve-se salientar que, em muitos casos, resultados falsos negativos são emitidos por causa da má qualidade da coloração do esfregaço, ou, até mesmo, a não identificação das células anormais que se localizam fora da área da lamínula. Amaral⁽³¹⁾ cita que, dos 10.951 esfregaços analisados, 252 apresentavam fatores interferentes, sendo que 83,9% estavam com dessecamento, o que os tornou insatisfatórios para análise. Resultados semelhantes foram apresentados por Silva,⁽³²⁾ que relatou que, do total de 3.149 esfregaços analisados, 20,92% apresentaram dessecamento, o que limitou parcialmente a análise, e 88,60% dos

esfregaços dessecados comprometeram a qualidade das amostras, tornando-as insatisfatórias para análise e impossibilitando a liberação do laudo. Desta forma, estes erros pré-analíticos geram transtornos para a paciente, que terá que se submeter a nova coleta, e custos maiores para os laboratórios.⁽⁹⁾

Estudo realizado no Instituto Adolfo Lutz⁽³³⁾ em parceria com a Fundação Oncocentro de São Paulo (FOSP), em 2012, revelou aumento de 11,9% e 17,7% na adequação dos processos de coloração e fixação, respectivamente, entre o período de 2003 e 2010. Esses dados demonstram que os efeitos das ações corretivas obtiveram pouca melhora nos processos pré-analíticos.

Na etapa da diafanização dos esfregaços, a solução usada deve ser compatível tanto com o álcool como com o meio de montagem, tornando as células transparentes. O xilol (xileno ou dimetilbenzeno) é um líquido incolor, insolúvel em água e apresenta aspectos límpido e odor característico, sendo um solvente amplamente utilizado em laboratórios de citopatologia durante o processamento e confecção de lâminas.⁽³⁴⁾ O primeiro banho com xilol tem a função de remover o álcool, e o segundo banho possibilita o aumento da transparência da preparação citológica, preparando-a para a fase final, a montagem. O uso frequente de xilol em laboratórios de ensino e pesquisa, análises clínicas e patológicas pode causar agravos à saúde dos trabalhadores expostos.⁽³⁴⁾

Dergovics et al.⁽³⁵⁾ avaliaram a eficiência da utilização da mistura verniz/xilol em concentração diferente para imersão das lâminas citológicas prontas de raspado bucal e cervicovaginais, para montagem após coloração em Papanicolaou. Esse estudo mostrou bom desempenho na montagem das lâminas, sem imersão em cubas de xilol, utilizando-se para secagem com lamínula a solução verniz/xilol na concentração de 75/25%, que demonstrou ser eficaz na qualidade das amostras, na rápida secagem, facilidade na limpeza das lâminas, ausência de artefatos, redução da exposição ocupacional, melhor qualidade de refringência e refração da luz, clareamento das células e definição da coloração, ao contrário das demais concentrações de mistura verniz/xilol (70/30%, 50/50% e 40/60%), que apresentam dificuldade no processo de confecção, como deslizamento da lamínula, presença de bolhas, manipulação e limpeza da lâmina.

Além disso, o xilol, quando contaminado com água, desenvolve uma reação química que lhe dá uma aparência leitosa; as lâminas que estiverem em contato com este xilol hidratado ficarão opacas; para evitar esta perda de qualidade dos esfregaços, estas lâminas devem voltar para as cubas de álcool absoluto.⁽¹³⁾ Contudo, é importante que, durante a limpeza da cuba de xilol, seja utilizado álcool absoluto ou o próprio xilol, evitando a hidratação do mesmo.

Montagem da lâmina citológica

Os esfregaços cervicovaginais corados devem ser montados de forma permanente, utilizando-se um líquido de montagem que permite a ligação entre lâmina e lamínula. O meio de montagem age como um efetivo selador contra o oxigênio, prevenindo o desbotamento do corante. Portanto, a montagem com lamínula é uma técnica obrigatória, possibilita melhor visualização das células, preservação das estruturas contra danificação mecânica, artefatos de secagem ao ar.⁽¹³⁾ Porém, alguns laboratórios citopatológicos têm adotado o verniz como método de montagem por apresentar baixo custo e simplicidade. Por outro lado, sua desvantagem é que, nos processos de remontagem/recoloração, a qualidade do esfregaço é prejudicada, isto é, pode-se obter esfregaço turvo, embaçado e craquelado, impossibilitando a releitura das lâminas.

Além disso, a ausência de lamínula pode promover a perda da coloração celular ao longo do tempo, resultando na diminuição da qualidade durante o período de arquivamento.⁽³³⁾ Para obter-se uma boa qualidade no processo de montagem da lâmina citológica, deve-se evitar excesso de meio de montagem e aparecimento de eventuais bolhas que podem prejudicar a análise citológica. Posteriormente, as lâminas devem ser retiradas com o auxílio de uma pinça, pressionando-a contra a lamínula. Por fim, a lâmina com a lamínula aderida deve cobrir toda a superfície do esfregaço para sua secagem adequada. Portanto, uma lâmina bem preparada é primordial para a análise e, conseqüentemente, para a discussão dos resultados.⁽²⁸⁾

Bálsamo do Canadá é uma resina natural extraída da *Abies balsamea pinaceae*. É um método de montagem demorado na secagem, que pode possibilitar o aparecimento de pigmentos marrons no esfregaço citológico (*cornflakes*), dificultando a análise. Desta forma, demonstra desvantagem em relação ao meio Entellan, sendo este um meio de montagem rápida onde as lâminas secam mais rápidas, possibilitando a estabilidade de espécime para microscopia, além de ser um bom meio para rotinas automatizadas. Considerando sua composição, que contém tolueno, deve ser usado com amostras livres de água que tenham sido transformadas com xilol nas montagens anteriores. Assim, é importante que as lâminas citológicas sequem adequadamente para seguir com a montagem.⁽³⁶⁾ Após essas etapas, as lâminas devem ser encaminhadas para análise.

A citologia convencional é um método de fácil execução, acessível e, apesar das inúmeras limitações já discutidas, ainda tem sido largamente utilizada na prática clínica como ferramenta para prevenção, diagnóstico e tratamento do câncer do colo do útero. Nas últimas décadas, houve uma crescente preocupação mundial das instituições de saúde em promover a melhoria contínua da qualidade da assistência e a garantia da confiabilidade do resultado.⁽³⁷⁾

Havendo o controle de qualidade, é possível o rastreamento das falhas durante todo o processo, o que é fundamental para a detecção e resolução rápida de não conformidades. A maioria das amostras citológicas é processada manualmente. Algumas metodologias que incorporam automação nas etapas de preparo e coloração das amostras vêm sendo desenvolvidas e testadas, contudo, é indispensável o controle manual.⁽⁵⁾

Os laboratórios de citopatologia devem disponibilizar aos seus profissionais manual de procedimento que inclui princípio de procedimento, finalidade, preparo da amostra, de fixação, coloração e montagem. Em caso de rejeição da amostra na fase pré-analítica, uso de fixador inadequado e quantidade insuficiente de fixador, devem-se registrar as condições desfavoráveis, auxiliando, desta forma, na orientação das ações corretivas e na busca da qualidade.⁽⁶⁾ Vale ressaltar que alguns cuidados adotados na rotina previnem o comprometimento da adequabilidade da amostra citológica cervical.

É sabido que a qualidade do esfregaço citológico está diretamente relacionada ao desempenho dos recursos humanos envolvidos. Portanto, é importante a participação desses profissionais em cursos de capacitação, qualificação e em programas de educação permanente, possibilitando o conhecimento dos mecanismos de coloração; confecção do esfregaço; rastreabilidade da amostra por meio de registro diário, garantindo boa qualidade dos exames citológicos cervicais.^(5,38,39)

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo tem como objetivo discutir e avaliar vantagem e desvantagem envolvidas na fase pré-analítica para o diagnóstico cervicovaginal. O apontamento de fragilidades do processo e o que pode ser aperfeiçoado para garantir a confiabilidade, segurança e qualidade dos resultados dos exames citológicos constituem tema de relevância para detecção precoce de anormalidades e monitoramento das pacientes.

Abstract

The aim of this study was to making a revision about the cervical smear quality, in the stages of setting and coloration carried through by conventional cytological techniques. The cervical smear test is a method of cervical screening used to detect cervical cancer at its earliest stages and its precursor lesions, however, errors associated with the cervical screening process as smear taking and preparation can induce significantly the reproducibility of the observers leading to a false diagnosis. Therefore, it is very important to develop an intense activity in quality control in the whole process including pre-analytical phase, for greater safety on the results of conventional cytological examinations.

Keywords

Vaginal smears; Quality control; Cervix neoplasms prevention; Uterine cervical dysplasia; Early detection of cancer

REFERÊNCIAS

1. Brasil, Ministério da saúde, Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância Estimativa 2014: Incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, il. col.; mapas.p.124, 2014.
2. World health organization. National cancer control programmes: policies and managerial guidelines. 2nd ed. Geneva, 2002. 180 p.
3. Kotaska AJ, Maticic JP. Cervical cleaning improves pap smear quality. CMAJ. 2003 Sep 30;169(7):666-9.
4. Mitchell H, Medley G, Drake M. Quality control measures for cervical cytology laboratories. Acta Cytol. 1988 May-Jun;32(3):288-92.
5. Dergovics FI, Tambascia JC, Etlinger D, Pereira SMM, Namiyama GM. Técnica de coloração de papanicolaou: estratégia no controle de qualidade. Biológico, São Paulo, v.73, n.2, p.19-38, jul./dez., 2011. 2º Fórum de Qualidade em Instituições de Pesquisa. 023. 024
6. Instituto Nacional do Câncer. Ministério da saúde. Estimativa 2012; incidência de câncer no Brasil. Inca, Rio de Janeiro, 2011.
7. Andriolo A, et al. Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica / Medicina laboratorial. 2014; Coleta e preparo da amostra biológica. Barueri, SP.
8. Pereira SMM, et al. External quality control of cervical cytopathologic and the reflex in the health public laboratory. DSTJ. Bras. Doenças sex. Transm. 2006, 18:172-177. ISSN: 0103-0465.
9. Miller AB, Nazeer S, Fonn S, Brandup-Lukanow A, Rehman R, Cronje H, et al. Report on consensus conference on cervical screening and management. Int J Cancer. 2000 May 1;86(3):440-7.
10. Miraval TML, Moronc C. Manual de procedimentos para diagnóstico em citologia cérvico uterina. 2005.47p.
11. Ministério da Saúde. Prevenção do câncer do colo do útero: manual técnico: laboratórios. Brasília, DF, 2002.
12. Santos MEF, et al. Observação de algumas alterações celulares inflamatórias, pré-malignas e malignas através dos métodos de citologia convencional e citologia de base líquida. 2007 [citado em 05 fev 2014] Disponível em: <http://www.conganat.org/9congreso/index.asp>
13. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Manual de gestão da qualidade para laboratórios de citopatologia. Rio de Janeiro: INCA. 2012.
14. Koss LG, Melamed MR. Diagnostic cytology and its histopathology bases. ed. Philadelphia:JB. 2006.
15. Nowacek JC. Fixation and Tissue Processing, Dako, 2012. [citado em 9 abr 2014]. Disponível: em: <http://www.dako.com/08066>
16. Junqueira CL, Carneiro J. Histologia básica. 10 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2004. 540p
17. Silva, Heliana de Araujo. Indicadores de qualidade em citopatologia cervical: Importância da coleta, Identificação e fixação do material para o exame de Papanicolaou. 2009. ed 93; 122-131p.
18. Bancroft JD, Gamble M. Theory and practice of histological techniques: Fixation of tissues (6th ed). Edinburgh: Churchill Livingstone 2008; 53:71.
19. Manrique EJC, Tavares SBN, Albuquerque ZBP, Guimarães JV, Ázara CZS, Martins MR, et al. Factors that compromise the adequacy of cytological cervical sample. FEMINA Maio 2009;37(5).
20. Jamur MC, Oliver C. Cell fixatives for immunostaining. Methods Mol Biol. 2010;588:55-61.
21. Consolaro MEL, Engler SSM. Citologia Clínica Cérvico-vaginal: texto e atlas. São Paulo: Roca, 2012.
22. Molinaro EM. Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde: volume 2 - Organização de Etelcia Morais Molinaro, Luiza Fatima Gonçalves Caputo e Maria Regina Reis Amendoeira. Rio de Janeiro: EPSJV; IOC, 2010.
23. Silva SED, Vasconcelos EV, Santana ME, Rodrigues ILA, Mar DF, Carvalho FL. Esse tal Nicolau: representações sociais de mulheres sobre o exame preventivo do câncer cervico-uterino. Rev Esc. Enferm. USP. 2010, vol.44, n. 3, p. 554-560. ISSN 0080-6234. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0080-62342010000300002>.

24. Bondan TFF, Bittencourt MS, Panichi MA, Pinto ÁP. Avaliação da sensibilidade e especificidade dos exames citopatológico e colposcópico em relação ao exame histológico na identificação das lesões intraepiteliais cervicais. *Rev. Assoc. Med. Bras.* [Internet]. 2002 June ; 48(2): 140-144. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-42302002000200033&lng=en
25. Costa CA, De Brito KN, Gomes MA, Caliarí MV. Histopathological and immunohistochemical study of the hepatic lesion experimentally induced by *Entamoeba dispar*. *Eur J Histochem.* 2010 Aug 26;54(3):e39.
26. Copetti, N. Manual de técnicas citológicas da faculdade de medicina da UFRGS. Porto Alegre: UFRGS 2004; 31p.
27. Alves VAF, Lima MAN, Utagawa ML, Maeda MYS. Programa de controle de qualidade em citologia ginecológica do instituto Adolfo Lutz: estratégias e análise crítica dos resultados de sua implantação piloto. *AMB rev. Assoc. Med. Bras;*37(1):36-42, jan.-mar. 1991.
28. Silveira SO. Orientação para práticas de laboratório. Universidade de Santa Maria 2006; 60 p.
29. Barros JN, Mascaro VLDM, Gomes JÁP, Freitas D, Lima ALH. Citologia de impressão da superfície ocular: técnica de exame e de coloração. *Arq. Bras. Oftalmol.* 2001 Apr 64(2):127-31.
30. Eleutério J. Noções básicas de Citologia Ginecologia 2005; 20-16:21p.
31. Amaral RG, Manrique EJC, Guimarães JV, Sousa PJ, Mignoli JRQ, Xavier AF, Oliveira A. Influência da adequabilidade da amostra sobre a detecção das lesões precursoras do câncer cervical. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2008;30(11):556-6.
32. Silva PR, Gouveia DDS, Cardoso AC, Araújo LV, Manrique EJC, Souza NLA, et al. Principais causas que limitam ou tornam as amostras insatisfatórias que podem comprometer a análise dos exames citopatológicos no rastreamento do câncer do colo do útero. *Rev Eletrônica Farm.* 2005;2(2 Supl):190-3.
33. Instituto Adolfo Lutz – Setor de Citologia Oncótica, Divisão de Patologia - Secretaria da Saúde do Estado de São Paulo/Fundação Oncocentro de São Paulo. Monitoramento externo de qualidade em citopatologia cervical: avaliação do período de 2000 a 2004. *Rev Saúde Pública* 2007;41 (6):1071. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rsp/v41n6/ss2.pdf>
34. Costa KNS, Pinheiro IO, Calazans GTN, Marcia S. Avaliação dos riscos associados ao uso de xilol em laboratório de anatomia patológica e citologia. *Rev. Brás. Saúde ocup.* 2007, vol.32, n.116, p.50-56. ISSN 0303-7657.[citado 21 mar 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0303-76572007000200007>.
35. Dergovics FI, et al. Valuation of performance of solution varnish/xylene in the diaphanization of citopatology slides stained with papanicolaou technique 2012; SP, Brasil RBAC;44(1):35-6.
36. Merck KGaA, Darmstadt, Germany, pls-customerservice (at)merck; 2004. Disponível em: <http://www.merckmillipore.com/is-bin/intershop.enfinity/> . Acesso em 07 mar 2014.
37. Bohomol E. Envolvimento do paciente no gerenciamento de risco hospitalar. In: Feldman LB. Gestão de risco e segurança hospitalar: prevenção de danos ao paciente, notificação, auditoria de risco, aplicabilidade de ferramentas 2008; 1a. ed. São Paulo: Martinari. 327:38p.
38. Amaral RG, et al. Fatores que podem comprometer a qualidade dos exames citopatológicos no rastreamento do câncer do colo do útero 2006; RBAC.v.38, n1,3-6p.
39. Vicent SP. Educação permanente: componente estratégico para a implementação da política nacional de atenção oncológica. *Rev Bras Cancerol.* 2007 Jan-Mar; 53(1):79-85

Correspondência

Daniela Berguio Vidotti

Rua Carneiro da Cunha, 1266 Apt.23 – Saúde

04144-001 – São Paulo, SP

Tel: 11-3040-3400

daniela.vidotti@fmu.br