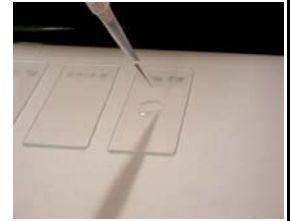


Liqui-PREP™

The Next Generation of Liquid Cytology



Technical Tips

Número: 00014

Data: 02/08/06

ASSUNTO: Ajustamento do Protocolo de Corante

VISÃO TÉCNICA GERAL:

Esse technical tip e o resultado de muitas informações solicitadas, de como ajustar o protocolo de corante. Mas antes de iniciar, temos algumas informações importantes.

- ◇ A lâmina sêca do **Liqui-PREP™** é nada mais do que uma amostra fixada em álcool.
- ◇ Não contém formaldeide ou outros químicos que possam interferir no corante.
- ◇ A cápsula formada pelo Cell Base é completamente inerte e não tem efeito nenhum no corante.

VISÃO GERAL:

Fizemos então esse Technical Tip, para esclarecer alguns dos mistérios do corante. Essa revisão é importante para aqueles que querem melhorar ou ajustar seu método de corante citológico. Embora nosso foco esteja no corante citológico (PAP stain), esse método de corante, tem valor em qualquer tipo de corante.

Antes de começar é importante entender que não existe uma forma STANDARD de corante, Patologistas em algumas áreas do mundo usam e preferem corantes claros enquanto em outras áreas do mundo esses corantes não são aceitáveis, é como se fosse preferencia do Patologista que lê as lâminas, alguns gostam de ver o citoplasma verde ou vermelho em suas lâminas, enquanto outros não tem interesse em ver o citoplasma e asseguram que o detalhe Nuclear que é importante.

Nada disso é importante, o IMPORTANTE é oque o Patologista prefere. Isso tudo acontece porque, corar é uma mistura de ciência e arte, portanto preferencia pessoal.

Adicione a isso tudo, os muitos protocolos clássicos de corante , usando os varios tipos de Hematoxicila:

- Gill 1 Hematoxylin
- Gill 2 Hematoxylin
- Gill 3 Hematoxylin
- Harris Hematoxylin
- Modified Harris Hematoxylin
- Mayer's Hematoxylin
- Modified Mayer's Hematoxylin

Todas elas tem diferentes características, assim como diferentes protocolos de indução ao corante, mais de 100 fabricantes dessas hematoxicilinas como as, Hematoxylin 7211, hematoxylin 1 e 2, produtos da Richard Alan Scientific.

Quando os resultados dos corantes são menores do que se deseja,temos muitos lugares onde buscar a razão. Se o corante foi feito no Laboratório próprio, o tecnologista pode ter errado,se comprados, o fabricantes podem ter errado ou a preservação comprometida. (se usam um pré-banho em álcool no comeco da linha,os reagentes preservativos não tem efeito no corante). Algumas dessas afirmativas podem ser falsas ou verdadeiras.

Technical Tips

Número: 00014

Data: 02/08/06

Os pontos a seguir, devem ser usados, para se conseguir um corante consistente na lâmina.

CONTROLE DE QUALIDADE DO CORANTE - Depois de encher todos os potes da linha de corantes, antes de começar a corar, é muito importante fazer um controle de qualidade dessa linha formada. Isso requer que se tenha duas lâminas, uma sem corante e outra com o corante desejado. Para uma boa prática de laboratório, se roda a lâmina limpa nessa linha fresca e se compara a lâmina corada como a referência.

MUDANCA DE LINHA DE CORANTES - As linhas de corantes tem: "data de expiração" que devem ser mudadas, pois podem causar mudanças de cor, intencidade e matiz. Dependendo do que se está corando, a expiração da linha de corante pode ser notada antes ou depois. A linha da **Liqui-PREP™** é muito sensitiva nos corantes expirados, o usuário vai perceber diferença e esse tempo varia de acordo com o tipo de corante usado. Como já foi dito, nós da LGM, testamos várias diferentes marcas e preferimos a Richard Allan Scientific, por dar um ótimo corante um tempo maior de expiração que diminua as trocas de linha.

ABAIXO damos uma amostra do tempo que devem ser trocadas as linhas para **uma boa prática de laboratório**, porem isso tudo depende do tipo de corante que se está usando, portanto é somente um exemplo.

REAGENTE	QUANDO MUDAR
Hematoxylin 1 (RAS)	Muda c/2 semanas de uso ou 2500 laminas coradas
OG-6	Muda c/2 semanas de uso ou 2500 lâminas coradas
EA-50	Muda c/2 semanas de uso ou 2500 lâminas coradas
Cyto-Stain	Muda c/2 semanas de uso ou 2500 laminas coradas
Ethanol	Muda c/500 laminas coradas
Xylene	Muda c/500 laminas coradas
Tap Water Bath	Muda c/200 lâminas coradas

REVISÃO DIÁRIA DO CONTROLE DE QUALIDADE: Deve ser feita diariamente, ou no mínimo cada semana, onde se seleciona randomicamente algumas lâminas para serem rodadas com o referência. Se houver alguma mudança nessa lâmina a linha deve ser mudada. **Para uma Boa Prática de laboratório.**

FINALMENTE: Alguns novos tipos de amostras e métodos de processar, podem requerer modificações na linha de corantes. É normal. Corantes de Citologia e Histologia querem estar em um meio de álcool. Essa é a razão para o protocolo de corante, começar com um banho de álcool o maior efeito no protocolo de corante é o tempo, idade do reagente e o pH.

Ao ler voce vai observar que as lâminas processadas com **Liqui-PREP™ Processed**, comecam o processo com um preservativo com base em álcool e termina com um meio baseado em álcool sobre a lâmina. O pH é de 7.2 a 7.5. A cápsula do Cell Base é extremamente porosa, portanto o tempo de corante vai ser reduzido na maioria dos casos.



Technical Tips

Número: 00014

Data: 02/08/06

Ajustamento da linha de corante:

Antes de avaliar as características e ajustar o protocolo precisamos estudar alguns pontos (pois tiram as variáveis no ajustamento do protocolo).

LINHA DE CORANTE NOVA: sempre mude os corantes de sua linha antes de avaliar e ajustar as características.

CQ DA LINHA DE CORANTE: faça o controle de qualidade para assegurar a performance conforme se espera.

VALIDE O AJUSTAMENTO: core novamente algumas lâminas para confirmar os ajustamentos que se vai fazer, Sómente alguns poucos são necessários.

LÂMINAS PARA CORAR: faça algumas lâminas de cada amostra, normalmente fazemos 10 ou mais lâminas de cada amostra. Com isso fazemos vários ajustamentos sem precisar rodar muitos confirmatórios.

DEPOIS DE FAZER OS PASSOS ACIMA, proceda o ajustamento do protocolo de sua linha de corante. Sugerimos fazer um quadro de anotações e mudar um de cada vez, para assegurar o claro entendimento do efeito produzido nessa mudança de protocolo. O quadro da próxima página, dará a você uma ideia clara desse ajustamento. LEMBRE DE USAR SEU PROTOCOLO USUAL COMO BASE E AJUSTAR A PARTIR DESSE PROTOCOLO.

FINALMENTE:

Não esqueça de anotar as mudanças feitas no seu protocolo. Depois de conseguir os ajustes que satisfaça seu olho, faça mais algumas lâminas. Com lâminas não conhecidas para confirmar o resultado.

Corar é Ciência com Arte. Se for usar banhos de álcool no início do protocolo, o preservativo original não tem efeito no corante. O maior efeito é o tempo e o pH. A arte do corante e o olho do leitor e a ciência do corante é o controle aumentando ou diminuindo o tempo, com o pH correto, para chegar no ponto desejado.

LGM International, Inc.
Technical Services

Technical Tips

Número: 00014

Data: 02/08/06

Traço desejado	Gill Hematoxylin Tempo	Acid Alcohol Clarifier	OG-6/ EA-50 Time Adjust together	Post EA-50 Alcohol	Post EA-50 Alcohol
NUCLEI & CYTOPLASM					
Nucleo claro sem mudança do citoplasma	Diminua o tempo decorante	Se usando, muito pouco de redução	Sem mudar	Sem mudar	Sem mudar
Nucleo mais claro, Citoplasma mais verde	Diminua o tempo de corante	Aumente o tempo de molho	Sem mudar	Sem mudar	Sem mudar
Nucleo mais claro, Citoplasma Azul	Diminua o tempo de corante	Diminua o tempo de molho	Sem mudar	Sem mudar	Sem mudar
Nucleo sem mudança, Citoplasma mais Verde	Sem mudança	Aumente o tempo de molho	Sem mudar	Sem mudar	Sem mudar
Nucleo sem mudança, Citoplasma Azul	Sem mudança	Diminua o tempo de molho	Sem mudar	Sem mudar	Sem mudar
Nucleo mais escuro, Citoplasma sem mudança	Aumente o tempo de corante	Aumente o tempo de molho	Sem mudar	Sem mudar	Sem mudar
Nucleo mais escuro, Citoplasma mais Verde	Aumente o tempo de corante	Aumente ligeiramente o tempo de molho	Sem mudar	Sem mudar	Sem mudar
Nucleo escuro, Citoplasma Azul	Aumente o tempo de corante	Diminua o tempo de molho	Sem mudar	Sem mudar	Sem mudar
CYTOPLASMA & NUCLEOLI					
Citoplasma mais claro, Mais vermelho	Sem mudar	Sem mudar	Diminua os dois corantes em tempo igual	Diminua o tempo de molho	Diminua o tempo de molho
Citoplasma mais claro, Algum matiz	Sem mudar	Sem mudar	Diminua os dois corantes em tempo igual	Sem mudar	Sem mudar
Citoplasma mais claro, Menos vermelho	Sem mudar	Sem mudar	Diminua os dois corantes em tempo igual	Aumente o tempo de molho	Aumente o tempo de molho
Citoplasma sem mudança, Mais vermelho	Sem mudar	Sem mudar	Sem mudar	Diminua o tempo de molho	Diminua o tempo de molho
Citoplasma sem mudança, Menos vermelho & Mais laranja	Sem mudar	Sem mudar	Sem mudar	Aumente o tempo de molho	Aumente o tempo de molho
Citoplasma mais escuro, Mais vermelho	Sem mudar	Sem mudar	Aumente os 2 corantes em tempo igual	Diminua o tempo de molho	Diminua o tempo de molho
Citoplasma mais escuro, Algum matiz	Sem mudar	Sem mudar	Aumente os 2 corantes em tempo igual	Sem mudar	Sem mudar
Citoplasma mais escuro, mais vermelho	Sem mudar	Sem mudar	Aumente os 2 corantes em tempo igual.	Aumente o tempo de molho	Aumente o tempo de molho
Nucleoli mais vermelho	Diminua o tempo de molho	Aumente o tempo de molho	Sem mudar	Diminua o tempo de molho	Diminua o tempo de molho