MQ-001 MANUAL DE COLETA, ACONDICIONAMENTO E PRESERVAÇÃO DE AMOSTRAS					
Controle Histórico					
Versão	**Data**	**Modificações**	**Elaborado por**	**Aprovado por**	**Assinatura**
00	07/02/2019	Emissão inicial	Marcio Cunha de Miranda	Giuliano F. Morgantetti	
01	02/09/2019	- Adicionados itens 5.1.1 e 5.1.2 - Item 5.2 - identificação de frasco e lâmina ao invés de "ou". - Item 5.2 B – Adição de critérios para citologia urinária e recomendação de uso do álcool 95%. - Item 7.1 – atualização de critérios para rejeição de amostra. - Item 7.2 – adição	Marcio Cunha de Miranda	Giuliano F. Morgantetti	
02	11/03/2020	Alterações nos itens: 5.1.2; 5.2 e 5.3 - principal alteração foi na adequabilidade das amostras de mama para anatomopatológico	Marcio Cunha de Miranda	Giuliano F. Morgantetti	

1.0 Objetivos:

Este Manual tem como finalidade padronizar e informar sobre as normas do laboratório para a correta coleta, acondicionamento e envio das amostras biológicas, respeitando certos procedimentos pré-estabelecidos, para que o diagnóstico final possa ser realizado com precisão.

2.0 Abrangência:

Clínicas clientes, pacientes, convênios clientes e o setor de logística do laboratório.

3.0 Referências:

POP-011 – COLETA DE EXAMES.

4.0 Principais Definições:

Não aplicável

5.0 Procedimentos:

5.1 <u>IDENTIFICAÇÃO E INFORMAÇÃO DAS AMOSTRAS</u>

5.1.1 Guia Médica

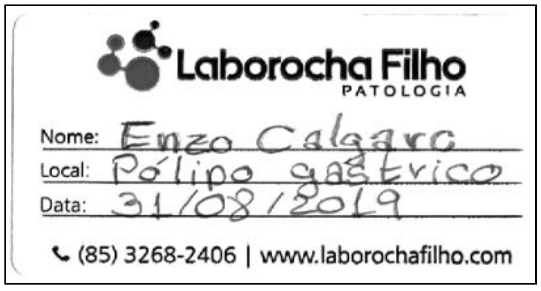
A identificação das amostras enviadas e informações clínicas são indispensáveis para um diagnóstico preciso e a composição do laudo. O preenchimento da requisição deve ser completo. Seguem listadas as informações mínimas que devem estar contidas na requisição do exame citológico ou anatomopatológico:

- Identificação do paciente (nome, nome da mãe, data de nascimento, RG, CPF, sexo, dados do convênio ou pagamento quando particular);
- Identificação e rótulo do frasco que contém a amostra;
- Nome do médico solicitante do exame;
- Número do conselho regional de medicina (CRM) do médico solicitante e carimbo com assinatura;
- Natureza da amostra;
- Tipo de exame pretendido;
- Informações clínicas relevantes relacionadas com a situação atual (história da moléstia atual, demais dados clínicos relevantes, antecedentes pessoais e familiares, e todas informações pertinentes ao manejo diagnóstico);
- Data da coleta.

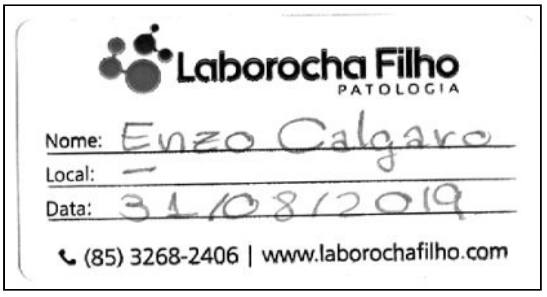
5.1.2 Identificação dos frascos

- As etiquetas para identificação dos frascos (embalagem primária) deverão ser feitas no computador ou escritas com lápis preto. Deve-se evitar escrever com caneta, pois se houver vazamento do fixador, os dados da etiqueta poderão ficar ilegíveis, confundindo ou inviabilizando a leitura;
- Todo recipiente deve ter na superfície externa etiqueta de identificação que contenha informações legíveis e permanente, pois o acondicionamento das peças nos respectivos recipientes deve ser por três meses;
- Na etiqueta de identificação deve conter o nome do paciente, data de coleta e local (topografia) da biópsia (ex.: gástrica, pólipo endometrial, colo do útero, etc...);

CORRETO



INCORRETO



5.2 EXAMES CITOLÓGICOS

A - Citologia ginecológica (cervicovaginal)

O exame citológico cervicovaginal é usado para o rastreio do câncer do colo do útero. Estes exames podem ser realizados de forma convencional (esfregaços) ou através de citologia em meio líquido. São métodos de fácil realização, não invasivos e custo-efetivos, que permitem detectar lesões precursoras do câncer do colo uterino.

Cuidados na coleta:

Antes das coletas devem ser consideradas as seguintes situações:

- Coletas com sangramento podem obscurecer a amostra, interferindo assim no processo técnico e na análise;
- Deve ser evitado o uso de ácido acético antes da coleta em pacientes que tenham necessidade de execução de testes de biologia molecular (pesquisa de HPV, por exemplo), devido à possível degradação do DNA;
- Relativamente ao uso de lubrificantes, estes devem ser hidrossolúveis, utilizados apenas nos casos estritamente necessários e com moderação.

Procedimento a efetuar:

- Identificar o esfregaço (citologia convencional) e/ou frasco (citologia em meio líquido) com o nome ou iniciais da paciente e, idealmente, outro dado pessoal como sua data de nascimento (duplas identificações diminuem o risco de troca de amostras);
- Preencher a requisição de exame com os dados completos da paciente, tipo de amostra, dados clínicos, data da coleta, médico solicitante e demais informações que sejam relevantes.

Cuidados antes da coleta, na mulher:

- Não fazer lavagens ou aplicações de medicamentos intravaginais nas últimas 48 horas;
- Não ter relações sexuais nas últimas 24 horas;
- Não estar no período menstrual.

B - Citologia especial não ginecológica (PAAF de mama, tireoide, outras)

O exame citopatológico é o estudo das células através de punção por agulha fina (PAAF) ou coleta de líquido de cavidades (ex: lavado peritoneal, lavado brônquico, líquidos pleurais, derrames articulares, etc). Há que identificar as lâminas na extremidade fosca e frascos (em

caso de citologias de líquidos) que contenham amostras de diversas regiões como, por exemplo, mama esquerda e direita, tireoide lobos direito e esquerdo ou mesmo setores diferentes do mesmo órgão (ex: mama direita 9 h e 12 h). O pedido médico deve ser devidamente preenchido com todos os dados pessoais e clínicos do paciente. No caso de líquidos cavitários e secreções, é recomendada à fixação em álcool 95% em partes iguais (10 ml de líquido / 10 ml de álcool), caso o álcool 95% não esteja disponível, é possível a utilização de álcool 70%, também em partes iguais (10 ml de líquido / 10 ml de álcool). Neste material também poderá ser realizado exame de emblocado celular (*cell block*) para maior eficiência nas reações de imunocitoquímica em casos que a técnica complementar seja necessária. No caso de esfregaços é recomendada a dupla identificação da extremidade fosca da lâmina (iniciais do paciente e data de nascimento, por exemplo) com imediata fixação por imersão em álcool absoluto ou 95%. A citologia urinária oncótica deve ser colhida na 2ª urina da manhã, após deambulação de 20 min e ingestão de 300 a 500 ml de água. Deve ser colhida em frasco coletor, estéril e enviada imediatamente ao laboratório. Se optar por refrigeração está poderá ficar no máximo 12h até ser processada.

5.3 ANATOMIA PATOLÓGICA

A - Biópsias

Amostra: a amostra deverá ser colocada em formalina tamponada a 10%, logo após a sua obtenção. O volume ideal de formalina para boa preservação do tecido deve ser de pelo menos dez vezes superior ao volume da amostra.

Os frascos também devem ter o tamanho ideal para uma fixação adequada. É recomendado, nas biópsias endoscópicas, utilizar papel filtro para colocar a amostra dentro do frasco, garantindo assim a melhor orientação dos fragmentos para posterior preparo no laboratório. Não é recomendado a colocação das amostras em papel filtro, com designações diferentes, no mesmo frasco, pois estas podem se descolar do papel e misturar-se, perdendo-se assim a designação. Exemplo: biópsias seriadas do intestino grosso.

Requisitos: é fundamental a correlação com dados clínicos, laboratoriais e radiológicos para a adequada interpretação do quadro morfológico e manejo diagnóstico. No caso de excisão de tumores com avaliação de margens, se for desejada a identificação de qualquer margem comprometida específica, pede-se que seja designada por um ponto de reparo anatômico (como, por exemplo, margem superior) e que o ponto seja identificado para referência topográfica.

Método: depois de feita a descrição macroscópica, material representativo é processado, incluído em parafina e corado pela hematoxilina e eosina. Colorações especiais são solicitadas pelo patologista quando necessário.

Amostras inadequadas: artefatos pré-analíticos podem prejudicar o diagnóstico morfológico. Dentre estes, os artefatos de fixação e fulguração são dignos de nota. A fixação inadequada, geralmente se dá devido a uma proporção insuficiente de formol em relação ao volume da amostra e/ou falta de preparo da peça para a boa penetração do formol (ex: a definição de grau histológico, índice mitótico e identificação de carcinoma ductal *in situ* podem ser totalmente inviabilizados após 6 horas de lesão sem exposição ao formol). O preparo prévio das peças para uma boa penetração do formol, com um volume adequado do fixador pode prevenir o seu aparecimento (ex: mamas com abundante quantidade de gordura devem ser seccionadas na altura do tumor para a conservação deste). Os artefatos de fulguração surgem quando instrumentos cauterizantes (ex: eletrocautério) são utilizados em fragmentos de tecido muito pequenos ou por muito tempo, deformando suas características citológicas e arquiteturais ao exame histopatológico. O uso do eletrocautério com cautela pode auxiliar na redução destes artefatos. Demais critérios de inadequabilidade que geram retorno da peça cirúrgica à origem incluem problemas de identificação de pedidos e frascos referente a dados de paciente e/ou amostras.

Amostras com especificidades: algumas amostras necessitam de atenção especial a alguns detalhes, são estas:

- ***Biópsias***
  - ***Endométrio***
    - Recomenda-se não utilizar gaze na captura do material para posterior transferência da amostra para o frasco, pois a gaze retém partes do endométrio. Isto é importante, principalmente após a menopausa, em que a quantidade de endométrio disponível é pequena. O mesmo se aplica à curetagem endocervical. Pede-se incluir na requisição a idade, data da última menstruação e terapêutica hormonal.
  - ***Mama (core biopsies)***
    - O tempo de fixação de biópsias não pode ultrapassar 72 horas até seu processamento, pois o excesso de exposição à formalina pode levar à redução da sensibilidade de exames de imuno-histoquímica e biologia molecular, frequentemente utilizados em patologia mamária. Isto é de particular importância em sábados ou dias prévios a feriados, em que amostras podem ser transportadas ao laboratório dias após sua coleta. Nestes casos, é recomendado o contato com o laboratório para a logística adequada.
  - ***Medula óssea***
    - Biópsia de medula óssea para diagnóstico de patologia hematológica ou pesquisa de metástases. Informações adicionais solicitadas: no caso de distúrbios hematológicos, pede-se um hemograma e esfregaço de sangue recente, bem como os esfregaços do

mielograma para fins de correlação com o quadro histológico. No caso de estadiamento, se o diagnóstico primário não foi feito pelo LABOROCHA FILHO, solicitam-se as lâminas e/ou laudo de biópsia que estabeleceu o diagnóstico de neoplasia maligna para fins de correlação. Amostras inadequadas incluem osso sem componente medular, fixação inadequada, fragmentação excessiva.

- ***Osso (biópsia e curetagem)***
  - Fragmentos excisionais ou incisionais, curetagens, biópsias por agulha e exéreses ósseas. As biópsias ósseas necessitam procedimento de descalcificação. No laboratório utilizamos o método químico com ácido para a descalcificação. É imprescindível que seja enviado, junto como o espécime, as imagens correspondentes (Raios X, Tomografia Computadorizada, Ressonância Magnética Nuclear e/ou Cintilografia) disponíveis, para que seja feita correlação integrada entre clínica, radiologia e patologia, indispensável para a conclusão diagnóstica, principalmente em lesões tumorais do osso.

- ***Peças cirúrgicas***
  - ***Embriões e fetos***
    - A definição de feto usada para recebimento do material é: peso inferior a 500 gramas, comprimento inferior a 25 cm e idade gestacional inferior a 20 semanas. Embriões e fetos menores devem ser colocados em frascos ou sacos de plástico com formalina, acompanhados da placenta. Informações adicionais solicitadas:
    - dados clínicos da mãe (e do pai, quando for indicado para doenças genéticas), dados sobre a gestação e o parto.
  - ***Linfonodos***
    - O linfonodo deve ser bem fixado, porém sua cápsula retarda a penetração do formol, principalmente em espécimes maiores. Sugere-se que o linfonodo seja cortado ao meio em seu eixo longitudinal antes de ser colocado no formol. Informações adicionais solicitadas: No caso de neoplasias linfoides ou mieloides, é útil ter um esfregaço de sangue e os dados de um hemograma recente. Amostras inadequadas incluem tecido mal fixado, demasiadamente fragmentado ou esmagado.
  - ***Mamas (nodulectomia, quadrantectomia e mastectomia)***
    - O tecido adiposo possui características que levam a muito baixa penetração pelo formol. Espécimes cirúrgicos com grande quantidade de gordura necessitam de secções múltiplas, preservando a anatomia da peça, em particular em tumorações, pois estas podem ter seu diagnóstico prejudicado rapidamente pela autólise. O tempo de

fixação dos tumores não pode ultrapassar 72 horas até seu processamento, pois o excesso de exposição à formalina pode levar à redução da sensibilidade de exames de imuno-histoquímica e biologia molecular, frequentemente utilizados em patologia mamária. Isto é de particular importância em sábados ou dias prévios a feriados, em que amostras podem ser transportadas ao laboratório dias após a cirurgia. Nestes casos, é recomendado o contato com o laboratório para a logística adequada.

- ***Demais peças cirúrgicas***
  - O espécime deve ser fixado em formol tamponado a 10%, logo após a sua obtenção. Usar vasilhame compatível ao tamanho da peça, o qual deverá ser devidamente vedado para evitar o vazamento de formol. O volume ideal de formol para tecido é de três volumes de formol para um volume de tecido, pelo menos. Quando a peça for muito grande para se atingir uma proporção adequada de formol para tecido, deve se providenciar o transporte imediato da mesma para o laboratório a fim de minimizar sua autólise. É importante rotular o invólucro com nome e a idade do paciente e o nome do médico que está solicitando o exame, além das designações pertinentes às relações anatômicas quando aplicável, como por exemplo: mama e conteúdo axilar. Informações adicionais solicitadas: no caso de dissecção de linfonodos, pede-se que as suas origens anatômicas, como os diversos níveis, sejam indicadas na requisição. No caso de excisão de lesões maligna da pele, é útil não só utilizar um ponto de referência anatômica, como, no caso de peças de configuração irregular, pode-se fazer a orientação do patologista ou descrever detalhadamente as relações anatômicas das margens cirúrgicas na requisição. Amostras inadequadas incluem aquelas com fixação insuficiente, geralmente devido a proporção insuficiente de formol em relação ao volume da amostra, frascos pequenos para o tamanho da amostra e falta de rótulo com identificação do paciente.

B - Exame Intraoperatório (exame de congelação)

Os métodos utilizados para este tipo de exame são a citologia e o corte de congelação. Este tipo de exame deve ser agendado com antecedência para assegurar o ideal preparo do instrumental (ex: ajuste de temperatura, preparo de reagentes, dentre outros), bem como a liberação da agenda do patologista de plantão.

Importante: a amostra de tecido deverá ser encaminhada diretamente ao patologista fora de substância fixadora, devidamente identificada e rotulada, com requisição médica

correspondente solicitando o exame intraoperatório, contendo dados clínicos adequados e orientações anatômicas, quando necessário, principalmente em se tratando de avaliação de margem ou mais de uma amostra.

C – Imuno-histoquímica

Esta técnica pode ser utilizada para pesquisar o padrão de imunoexpressão de células, ou seja, a presença de antígenos específicos que podem demonstrar proteínas que definem histogênese (tecido originado, ex: em caso de metástases sem sítio primário definido), presença de vírus (ex: CMV), diagnósticos diferenciais morfológicos ou moléculas de interesse para terapia alvo (ex: HER2 na terapia-alvo do carcinoma da mama). Como são necessários estudos específicos e conhecimento dos anticorpos a serem usados, tanto o patologista quanto o médico assistente pode determinar quais serão os painéis de anticorpos utilizados. Embora, na maioria das vezes, a imuno-histoquímica se aplique a biópsias, ela também pode ser aplicada a material citológico. Para algumas técnicas é necessário utilizar tecido congelado, para outras, tecido fixado em formol é adequado. Em caso de dúvidas a equipe solicitante pode entrar em contato com o laboratório para detalhes procedimentais sobre o tipo de material e sua preservação. De acordo com nível de complexidade do painel de anticorpos necessário, o laboratório poderá realizar as técnicas por sua equipe de imuno-histoquímica ou enviar os casos para serem realizados por laboratórios de apoio.

6.0 Responsabilidades do Cliente

Cadastro dos materiais: é de responsabilidade do CLIENTE as informações do cadastro com todas as informações necessárias do paciente, inclusive o envio de Listagens de Envio de Amostras ou Protocolos.

Embalagem: é de responsabilidade do CLIENTE a identificação da embalagem primária dos materiais. As amostras devem ser embaladas separadas do papel (requisição e/ou listagem).

7.0 Devolução de amostras não-conformes

O recebimento criterioso do material enviado ao laboratório garante o processo adequado das amostras.

7.1 Critérios para rejeição de amostras

Anatomopatológicos e Líquidos

✔ Identificação ilegível na requisição e/ou no material;
✔ Ausência de identificação na requisição e/ou no material;
✔ Ausência de descrição do material (após avaliação do médico patologista);
✔ Material enviado sem requisição médica e/ou danificada;
✔ Ausência de amostra, incompleta ou danificada (após avaliação do médico patologista);
✔ Identificação do material e/ou requisição não confere;
✔ Material seja qual for, enviado em seringa COM AGULHA;
✔ Material de laboratório clínico;
✔ Material sem fixação ou fixado em outras soluções que não formalina (formol 10%)
✔ Outros (especificar).

Colpocitologias

✔ Identificação ilegível na requisição e/ou na lâmina;
✔ Ausência de identificação na requisição e/ou na lâmina;
✔ Ausência de Lâmina, danificada e/ou quebrada;
✔ Identificação da lâmina e/ou requisição não confere;
✔ Lâmina enviada sem requisição médica e/ou danificada;

Todas as devoluções de materiais não-conformes serão protocoladas. Pedimos a compreensão e colaboração dos clientes com o retorno das tratativas, firmando assim uma parceria na interação dos processos e ações preventivas, visando a melhoria contínua e segurança dos processos.

8.0 Critérios de urgência dos exames

São considerados exames urgentes:

- Exames de pacientes pediátricos (menores de 18 anos);
- Exames de pacientes internados em Unidade de Terapia Intensiva (UTI);
- Exames de pacientes internados necessitando de Transplante de órgãos;
- Exames com solicitação de urgência feita pelo médico solicitante;
- Exames com suspeitas diagnósticas de neoplasias com conhecido crescimento rápido / evolução agressiva, identificados pelos médicos patologistas do laboratório;

Laborocha Filho
PATOLOGIA

Os exames urgentes terão suas requisições internas identificadas através de carimbo / escrita com a designação “URGENTE” e terão seus processos internos acelerados, dentro da possibilidade de cada amostra, que garanta a qualidade do exame, visando liberação antecipada do laudo. Estes, quando as informações de contato estiverem atualizadas, serão encaminhados para solicitantes no momento da liberação do laudo.

Giuliano F. Morgantetti
Diretor Técnico
CRM-CE 18283