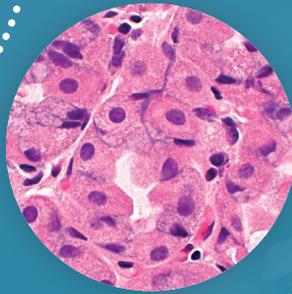


IMP DIAGNOSTICS
MOLECULAR & ANATOMIC PATHOLOGY



Manual de Colheita

PROCEDIMENTOS OPERATIVOS PARA COLHEITA, ARMAZENAMENTO
E ENVIO DE MATERIAL PARA O IMP DIAGNOSTICS

ÍNDICE

1. Introdução e objetivos	1
2. Identificação e informação	2
3. Guia de utilização do saco de transporte de amostras biológicas	3
4. Amostras inadequadas	3
5. Pedido de material	3
6. Marcação de Exames Extemporâneos	4
7. Amostras para Exames Histológicos	4
7.1. Tipos de exame	4
7.1.1. Biópsia múltipla por órgão (> 1 tubo)	4
7.1.2. Peça cirúrgica simples	4
7.1.3. Peça cirúrgica complexa	4
8. Amostras para Exames Citológicos	4
8.1. Citologia ginecológica	5
8.1.1. Cuidados a ter antes e durante a colheita	5
8.1.2. Exame citológico ginecológico em meio líquido (ThinPrep® Pap Test)	6
8.1.3. Exame citológico ginecológico em lâmina (Citologia Convencional)	7
8.2. Citologia não ginecológica	7
8.2.1. Exame citológico de Biópsia Aspirativa por Agulha Fina	8
8.2.2. Exame citológico de Líquidos, Lavados e Secreções	8
9. Amostras para Exames de Biologia Molecular	9
9.1. Testes de HPV	9
9.1.1. Aptima® HPV-GT, Papillocheck® HPV em utentes do sexo feminino	9
9.1.2. Papillocheck® HPV em utentes do sexo masculino	9
9.2. Painel DST	10
9.3. Progensis® PCA3	11
10. Exames de imunohistoquímica: necessidade e objetivos	12
11. Recolha de amostras e condições de transporte	13
12. Alterações	14

1 INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

Este Manual de Colheita tem como principal finalidade, dar a conhecer as normas internas dos laboratórios **IMP Diagnostics** para a correta colheita, acondicionamento e envio das amostras biológicas, enquadrando os procedimentos por nós praticados com as regras estabelecidas pelo Manual de Boas Práticas Laboratoriais em Anatomia Patológica.

A integridade morfológica celular é fundamental para um correto diagnóstico e só é preservada se forem respeitados os princípios adequados da fixação. Sem uma fixação adequada, as células sofrem autólise, o que irá dificultar ou impossibilitar o diagnóstico.

É por isso essencial que desde a colheita até à entrada no laboratório, sejam respeitados certos procedimentos pré-estabelecidos, para que o diagnóstico final possa ser realizado com precisão.

Fig. 1 Receção do IMP Diagnostics (Porto).



2 IDENTIFICAÇÃO E INFORMAÇÃO

A correta identificação das amostras enviadas, bem como a informação anexa a estas, são de extrema importância para que se consiga dar uma resposta mais célere e um diagnóstico preciso. O preenchimento da requisição (Fig. 2) deve ser o mais exaustivo possível.

Informações necessárias:

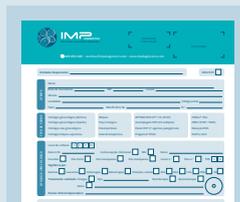
- › Identificação do utente (nome, idade, NIF, morada, contacto, subsistema).
- › Nome da entidade e médico que solicitou o exame, de forma legível.
- › Natureza da amostra.
- › Tipo de exame pretendido.
- › Informações clínicas relevantes relacionadas com a situação atual.
- › Doenças prévias.
- › Cédula do médico.

Fig. 2 Requisição do IMP Diagnostics.

As amostras enviadas para o IMP Diagnostics devem estar acondicionadas em recipientes próprios, corretamente identificados e fechados, para evitar derrames, quebra das lâminas ou outros acidentes durante o transporte.



- › Sacos de dupla bolsa, com a amostra e respetiva requisição.



- › As requisições de exames e o relatório médico dos exames histológicos.



- › O pagamento, se aplicável.



- › Protocolo de envio de exames.



- › Cópia legível de cartão de subsistema.

Fig. 3 Elementos a incluir no saco de transporte.

As amostras devem ser colocadas individualmente, dentro de sacos de dupla bolsa (Fig. 3), com a respetiva requisição. Antes de serem enviadas para o IMP Diagnostics deverão ser colocadas dentro de sacos de transporte (Fig. 4), previamente disponibilizados.

A entidade que envia as amostras biológicas deverá colocá-las num saco fornecido pelo IMP (personalizado com os dados do laboratório).

Fig. 4 Sacos de envio de amostras biológicas.

3

GUIA DE UTILIZAÇÃO DO SACO DE TRANSPORTE DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS

Vantagens do novo saco de transporte de amostras biológicas:

- Maior Segurança;
- Maior Resistência;
- Informações atualizadas do IMP Diagnostics.



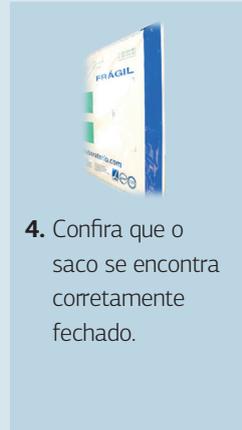
1. Coloque o material a enviar dentro do saco, sem retirar a fita vermelha.



2. Certifique-se que as partes a colar se encontram juntas e sobrepostas.



3. Retire a fita vermelha que protege a zona adesiva da fita de segurança.



4. Confira que o saco se encontra corretamente fechado.



5. Não volte a abrir o saco! **A abertura do saco depois de fechado, evidencia a sua tentativa de manipulação.**

4

AMOSTRAS INADEQUADAS

A correta identificação de qualquer amostra de Citologia/Histologia enviada para análise no IMP é da inteira responsabilidade da entidade requisitante. O IMP Diagnostics reserva-se o direito de devolver as amostras que se encontrem nas seguintes situações:



- Não identificadas;
- Informação discrepante entre a requisição e a amostra;
- Sem requisição;
- Sem pagamento;
- Sem informação relevante na requisição (nome do utente, data de nascimento, natureza da amostra, tipo de exame pretendido e informação clínica).

5

PEDIDO DE MATERIAL

O IMP Diagnostics disponibiliza aos seus clientes o seguinte material:



- Bolsas duplas;
- Requisições/Protocolo de receção de exames;
- Envelopes correio;
- Escovilhões;
- Frascos citologia líquida;
- Frascos para biópsia aspirativa;
- Frascos biópsia;
- Lâminas/Porta lâminas;
- Sacos de transporte IMP.



Para efetuar o pedido deste material, contactar previamente o IMP Diagnostics através do endereço de e-mail recolhas@impdiagnostics.com. O pedido deve ser feito utilizando o Protocolo de Pedido de Material ao Laboratório, cedido pelo IMP.

6 MARCAÇÃO DE EXAMES EXTEMPORÂNEOS



Fig. 5 Microtomo portátil para exames extemporâneos.

Os exames extemporâneos podem ser marcados em todo o território nacional, com deslocação de patologista e técnico de anatomia patológica ao bloco operatório. Para fazer o pedido solicita-se um contacto prévio com o IMP Diagnostics (22 60 54 481) com a antecedência mínima de 24 horas, indicando o local, dia, hora, médico responsável e o tipo de cirurgia em questão.

7 AMOSTRAS PARA EXAMES HISTOLÓGICOS

A fixação é um passo fundamental do processo do exame histológico. Evita a degradação do produto e preserva a estrutura do tecido ou órgão enviado.

Um tecido mal preservado não se pode reconstituir. A negligência neste passo pode impossibilitar o êxito do exame.

Após ser realizada a colheita da biópsia ou peça operatória, esta deve ser:

- › Imediatamente acondicionada num recipiente de tamanho adequado (de boca larga e se possível com fecho de segurança).
- › Totalmente mergulhada em formol tamponado a 10%.
- › O tempo de fixação mínimo é de 24h para peças de maior dimensão, e algumas horas no caso de biópsias/peças pequenas, variando de acordo com o tamanho e características de cada amostra.

Sempre que a peça tiver dimensão elevada que impossibilite atingir a proporção ideal de formol, deve efetuar-se o seu rápido transporte para o laboratório no sentido de minimizar a autólise. Se porventura, não for possível o envio rápido da peça, esta deve ser colocada no frigorífico (4 °C) até ser enviada.



Fig. 6 Amostra com fixador e respetiva requisição.

! As amostras não podem permanecer mais de 1 hora sem qualquer fixação.

7.1. Tipos de exame

7.1.1 Biópsia múltipla por órgão (> 1 tubo)

- › Determinados exames clínicos geram necessidade de realização de várias biópsias no mesmo órgão como, por exemplo, as endoscopias digestivas altas e baixas. Nestes casos poder-se-á assinalar este item, devendo registar o nº de tubos que são enviados.

7.1.2 Peça cirúrgica simples

- › Exame que inclui descrição macroscópica detalhada, por vezes com marcação de margens (pele), com dimensão superior a 1cm.

7.1.3 Peça cirúrgica complexa

- › Exame constituído por vários órgãos (ex.: útero e anexos) ou por um órgão completo ou parte de órgão, com processo neoplásico. Estes exames implicam um estudo macroscópico detalhado, com marcação de margens, pesquisa de gânglios e colheita para processamento de um número elevado de fragmentos.

Exemplos descritivos auxiliares para classificação de exames

Biópsia múltipla por órgão

Biópsia Cólon
Biópsia Recto
Biópsia Colo/ Endocolo
Biópsia Prostática
Biópsia Bexiga

Peça cirúrgica simples

Apêndice Ileo-cecal
Curetagem do Endocolo
Hemorróidas
Lipoma
Miomias/Pólipos
Peça de Conização
Pólipos \geq 2cm
Pólipos Nasais
Produto de Abortamento
Produto de Ressecção Prostática
Retalhos de Pele
Trompas
Vesícula Biliar
Quisto

Peça cirúrgica complexa

Peça de Colectomia
Peça de Gastrectomia
Peça de Mastectomia
Peça de Nefrectomia
Peça de Prostatectomia
Peça de Tireoidectomia
Peça de Tumorectomia (Mama)
Segmento de Intestino
Útero

8 AMOSTRAS PARA EXAMES CITOLÓGICOS

Os exames citológicos enviados para o IMP pertencem aos seguintes grupos:

Citologia ginecológica

- › O exame citológico cérvico-vaginal é um exame fundamental para o rastreio do cancro do colo do útero.
- › Permite detetar lesões precursoras do carcinoma do colo, sendo que o diagnóstico e tratamento precoce destas lesões tem permitido diminuir a incidência do carcinoma do colo nas mulheres.
- › Pode contribuir para o diagnóstico de patologia ovárica e endometrial.
- › É um método de fácil realização, não invasivo e económico.
- › Atualmente os exames de citologia cérvico-vaginal podem ser realizados de forma convencional ou através de citologia em meio-líquido.
- › Em relação ao método de colheita utilizado, **a citologia em meio líquido oferece uma maior acuidade diagnóstica**, relativamente ao método convencional. Permite ainda a realização de outros tipos de exame, como os testes de biologia molecular (ex. testes de HPV).

8.1. Citologia ginecológica

8.1.1. Cuidados a ter antes e durante a colheita

Antes da colheita deve ter-se em consideração as seguintes situações:



- Colheitas muito abrasivas podem originar sangramento e obscurecer a amostra, interferindo assim no processo técnico e na visualização microscópica;
- Deve ser evitado o uso de ácido acético antes da colheita em utentes que se preveja a execução de testes de biologia molecular, devido à possível degradação do ADN;
- Relativamente ao uso de lubrificantes, estes devem ser hidrossolúveis, utilizados apenas nos casos estritamente necessários e com moderação.

Cuidados pré colheita 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.

8.1.2. Exame citológico ginecológico em meio líquido (ThinPrep® Pap Test)

Procedimento a efetuar:

- O frasco pode ser conservado à temperatura ambiente.
- Identificar o frasco com o nome da utente.
- Efetuar a colheita das células com o instrumento de recolha adequado (“broom”, “cervex-brush”, ou outro), mergulhá-lo de imediato dentro do frasco e fazer rodar o instrumento de recolha contra a parede do frasco, 4 a 5 vezes.
- Fechar o frasco até que os dois traços pretos fiquem alinhados.
- Preencher a requisição de exame com os dados da utente, tipo de amostra, informação clínica, data da colheita, médico prescriptor e eventuais dados relevantes.



Fig. 7 Frasco de citologia líquida, escovilhão e lâmina.

A partir da mesma colheita em meio líquido é possível, para além do exame citológico, realizar técnicas de biologia molecular, desde que haja células suficientes.

PapilloCheck®
HPV – Técnica de PCR com tipificação de 24 subtipos de HPV.

Aptima® HPV-GT
– Técnica de amplificação e deteção dos oncogenes E6/E7 dos HPV de alto risco mais prevalentes.

Painel DST – teste que permite identificar a presença de sete agentes patogénicos suscetíveis de provocar infeções genitais.

Pesquisa de sete agentes infecciosos (*Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Trichomonas vaginalis*, *Ureaplasma urealyticum* e *Ureaplasma parvum*), detetados por PCR através da amplificação da sequência de ADN de cada microrganismo.

O Painel DST permite ainda a deteção de diferentes agentes patogénicos na mesma amostra (co-infeção).

8.1.3. Exame citológico ginecológico em lâmina (Citologia Convencional – Papanicolaou)

Procedimento a efetuar:

- ▶ Identificar a(s) lâmina(s) na área esmerilada e no porta-lâminas com o nome da utente.
- ▶ Efetuar a colheita das células com o instrumento de recolha adequado:
 - a. O material colhido deve ser esfregado sobre a lâmina de forma regular, para obter um esfregaço o mais fino possível;
 - b. Toda a superfície da espátula ou da escova deve encostar na lâmina para se fazer o esfregaço;
 - c. O movimento para preparação do esfregaço deve ser delicado, porém firme e num sentido único;
 - d. **Evitar movimentos circulares, pois frequentemente causam artefactos como esmagamento e distorção das células.**
- ▶ Imediatamente após à realização do esfregaço, deve-se proceder à sua fixação.



Fig. 8 Porta lâminas e respectiva lâmina.

! O fixador utilizado deve ser aplicado entre 15 a 30 cm de distância da lâmina, devendo cobrir toda a superfície do esfregaço. O esfregaço não deverá ficar sem fixador por um período superior a 10 segundos, para evitar artefactos de secagem.

- ▶ Secar a lâmina à temperatura ambiente na horizontal durante 2 a 3 minutos e colocar no porta-lâminas previamente identificado com o nome da utente.
- ▶ Não submeter o esfregaço a aquecimento nem refrigeração.
- ▶ Preencher a requisição de exame com os dados da utente, tipo de amostra, informação clínica, data da colheita, médico prescriptor e outros dados considerados relevantes.

A partir do exame citológico ginecológico em lâmina não é possível realizar técnicas de biologia molecular, mas é possível realizar o método CINtec® PLUS.

8.2. Citologia não ginecológica

- ▶ Nos exames de citologia não ginecológica, incluem-se os exames citológicos de biópsia aspirativa por agulha fina e o exame citológico de líquidos, lavados e secreções.
- ▶ A biópsia aspirativa por agulha fina é um exame que se destina a retirar células de nódulos palpáveis em diversos órgãos ou tecidos, com o objetivo de caracterizar o tipo de lesão responsável pelo seu aparecimento.
- ▶ Pode também ser realizado em nódulos não palpáveis profundos, com a colaboração de técnicas de imagiologia.
- ▶ Como em todos os exames anteriores, a qualidade da amostra é importante, daí ter de se cumprir rigorosamente os procedimentos de colheita, fixação e transporte.

8.2.1. Exame citológico de Biópsia Aspirativa por Agulha Fina

Procedimento geral:

- ▶ Identificar a(s) lâmina(s), a lápis, na área esmerilada e o porta-lâminas com o nome do utente. De seguida efetuar a colheita das células com o material de recolha adequado.
- ▶ Proceder de imediato à realização do esfregaço e respetiva fixação:
 - a. A fixação dos esfregaços pode ser realizada com spray fixador, laca de fixação forte ou álcool a 95%, de modo a que todo o esfregaço fique fixado.
 - b. Deixar as restantes lâminas secar ao ar, à temperatura ambiente.



Fig. 9 Execução de um exame citológico por biópsia aspirativa de agulha fina.



A utilização destes 2 tipos de fixação permite realçar diferentes componentes celulares.

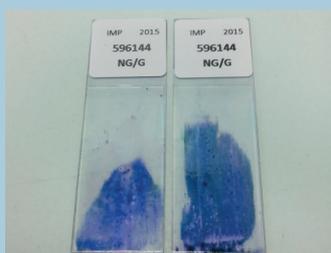
- ▶ Colocar as lâminas fixadas com spray e as lâminas secas ao ar em porta-lâminas diferentes, previamente identificados a lápis com o nome do utente e com o tipo de fixação efetuado. No caso de se optar por fixação com álcool a 95%, as lâminas deverão ser colocadas em recipiente próprio, que deverá ser estanque.
- ▶ Adicionalmente, poderá proceder-se à lavagem da agulha numa solução de Cytolyt®.
- ▶ Preencher a requisição do exame com os dados da utente, natureza da amostra, sede da lesão, informação clínica, diagnóstico clínico provável, número de lâminas enviado, data da colheita, médico prescriptor e outros dados considerados relevantes.



Procedimento recomendado pelo IMP Diagnostics

Vantagem: Diminuição do número de casos com diagnóstico inconclusivo ou com representatividade insuficiente da lesão. Por utente, enviar o seguinte material:

1 2 lâminas "secas ao ar"



2 2 lâminas fixadas em álcool (álcool a 95% ou outro fixador alcoólico);



3 Lavagem ("rising") da agulha em Cytolyt (Fixador fornecido pelo IMP).



8.2.2. Exame citológico de Líquidos, Lavados e Secreções

Entre as citologias não ginecológicas, destacamos algumas particularidades das citologias de urina e expetoração. Relativamente às primeiras, o utente não necessita de estar em jejum para efetuá-la, sendo aconselhável que ingira líquidos antes da colheita. Não deve ser usada a primeira urina da manhã para amostra. No que diz respeito às expetorações aconselha-se que o utente proceda a uma lavagem da boca antes de efetuar a colheita.

Procedimento a efetuar:

- ▶ Efetuar a colheita das células segundo o procedimento médico adequado.
- ▶ Colocar a amostra num frasco previamente identificado com o nome do utente e com álcool a 50%. A proporção de amostra colhida e de álcool a 50% deve ser de 1:1.
- ▶ Conservar a amostra no frigorífico, sempre que possível, até ser enviada para o laboratório (não congelar).

› Solicitar de imediato a recolha da amostra para ser recolhida no próprio dia; Evitar que a colheita e respetiva recolha sejam realizadas às sextas-feiras, prevenindo deste modo que a amostra fique retida nas instalações da empresa transportadora durante o fim de semana.

› Se for necessária a execução de esfregaços, seguir os passos executados para o exame citológico de biópsia aspirativa por agulha fina.

› Preencher a requisição do exame com os dados do utente, natureza da amostra, sede da lesão, informação clínica, diagnóstico clínico provável, quantidade de líquido enviado, tipo de fixador utilizado, data da colheita, médico prescritor e outros dados considerados relevantes.



Fig. 10 Urina armazenada após colheita.

9 AMOSTRAS PARA EXAMES DE BIOLOGIA MOLECULAR

9.1. Testes de HPV

9.1.1. Aptima® HPV-GT, Genotipagem HPV (24 subtipos) em utentes do sexo feminino

Devido à grande variedade de líquidos fixadores usados, nem todas as marcas de frascos/fixadores de amostras são compatíveis com as técnicas de biologia molecular.



Sendo assim, o IMP Diagnostics aconselha o uso do método mais testado e com maior aceitação no mercado para citologia e testes de biologia molecular, o método ThinPrep® Pap Test.

Procedimento a efetuar:

› Identificar o frasco com o nome da utente.

› Evitar o uso de ácido acético previamente à colheita da amostra para o teste Papillocheck® HPV.

› Efetuar a colheita das células com o instrumento de recolha adequado (“broom”, “cervex-brush” ou outro), mergulhá-lo de imediato dentro do frasco, agitar vigorosamente durante 10 segundos e rejeitar o instrumento de recolha.



Colheitas muito abrasivas podem originar sangramento e obscurecem a amostra, interferindo no processamento técnico.

Não serão aceites amostras enviadas em “Specimen Transport Medium” da Quiagen para Aptima® HPV por incompatibilidade dos reagentes usados no teste.

› Fechar o frasco até que os dois traços pretos fiquem alinhados e preencher a requisição de exame com todos os dados necessários.

› Se a amostra já tiver sido enviada para o laboratório para exame citológico em meio líquido, **pode ser solicitada a realização do teste de HPV na mesma amostra**, sendo apenas necessário:

- Confirmar com o laboratório se há material suficiente;
- Certificar se o IMP ainda possui a amostra (amostras com alterações citológicas são arquivadas durante 3 meses e as amostras com resultado normal ou inflamatório são arquivada durante 1 mês);
- Enviar a requisição com o respetivo pedido.

9.1.2. Genotipagem HPV (24 subtipos) em utentes do sexo masculino

Recomenda-se que o utente não tenha relações sexuais nas 24h anteriores à colheita e que não lave a área genital no dia da colheita.

Procedimento a efetuar:

- ▶ Realizar a colheita na área desejada (preferencialmente glândula, prepúcio, sulco coronal, corpo do pénis e meato uretral) recorrendo a uma escova tipo “cytobrush” e lavar a escova no líquido fixador do frasco de PapTest previamente identificado com o nome completo do utente.
- ▶ Repetir várias vezes o procedimento para aumentar a representatividade de células.
- ▶ Preencher a requisição de exame com os dados do utente, tipo de amostra, informação clínica, resultados de exames anteriores, data da colheita, médico prescriptor e outros dados relevantes.
- ▶ Conservar o frasco à temperatura ambiente.

9.2. Painel DST

O Painel DST (Doenças Sexualmente Transmissíveis) é um teste que permite identificar a presença de sete agentes patogénicos – *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Trichomonas vaginalis*, *Ureaplasma urealyticum* e *Ureaplasma parvum* – suscetíveis de causar infeções genitais. A deteção é feita através da amplificação da sequência de ADN de cada microrganismo por PCR. O exame pode ser executado em amostras génito-urinárias, desde que colhidas em meio líquido – método ThinPrep Pap Test – sendo que as urinas devem ser colhidas sem adição de fixadores.

Procedimento a efetuar:

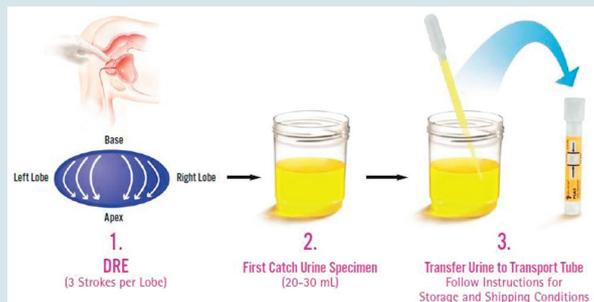
- ▶ Para amostras de citologia líquida, identificar o frasco com o nome completo do utente.
- ▶ Para utentes do sexo feminino, proceder à colheita das células com o instrumento de recolha adequado (“broom”, “cervix-brush”, ou outro), mergulhá-lo de imediato dentro do frasco, agitar vigorosamente durante 10 segundos e rejeitar o instrumento de recolha.
- ▶ Para utentes do sexo masculino, realizar a colheita na área desejada (preferencialmente glândula, prepúcio, sulco coronal, corpo do pénis e meato uretral), recorrendo a uma escova tipo “cytobrush”. Lavar a escova no líquido fixador do frasco de Pap Test, previamente identificado com o nome completo do utente.
- ▶ Fechar o frasco até que os dois traços pretos fiquem alinhados.
- ▶ A amostra poderá ser refrigerada (2-8°C) ou mantida à temperatura ambiente até ao envio para o laboratório.
- ▶ Para amostras de urina deverá ser colhido para frasco estéril e sem fixador, 30 a 50ml do primeiro jato de urina, preferencialmente da primeira urina da manhã, ou então não urinar pelo menos durante duas horas antes da colheita.
- ▶ A amostra deverá ser mantida refrigerada (2-8°C) e deverá ser entregue no laboratório no prazo máximo de 24 horas.
- ▶ Preencher o formulário de requisição de exame com os dados do utente, tipo de amostra, informação clínica, resultados de exames anteriores, data da colheita, médico prescriptor e outros dados relevantes.

9.3. Progensa® PCA3

O Progensa® PCA3 é um novo teste de biologia molecular não invasivo, realizado sobre uma amostra de urina, colhida após toque rectal. Este teste quantifica o número de moléculas de mRNA do gene PCA3 (cuja expressão está aumentada em tecido de carcinoma da próstata) e de mRNA do PSA estabelecendo uma relação entre esses valores, referida como PCA3 score. Este score é muito mais específico de cancro do que os níveis séricos de PSA, que são influenciados por vários fatores como volume prostático, idade, processos inflamatórios ou medicação.

Sendo assim, quanto mais elevado for o PCA3 score, maior é a probabilidade da biópsia ser positiva, podendo vir a constituir um elemento de prognóstico e decisão terapêutica.

O teste Progensa® PCA3 é feito a partir do primeiro jacto de urina após massagem prostática (3 toques em cada lobo) processada no “Progensa PCA3 urine specimen transport kit”.



Procedimento a efetuar:

- › Recomendar ao utente que beba cerca de 500 ml de água para garantir urina suficiente para colheita. Realizar um exame de toque retal imediatamente antes da colheita de urina. Realizar exatamente 3 toques em cada lobo.
- › Instruir o utente para recolher a primeira urina (cerca de 20 a 30 ml de fluxo de urina inicial) num copo de colheita de urina previamente identificado, sem qualquer agente fixador.
- › Tapar o frasco e inverter cinco vezes para misturar as células.
- › Retirar a tampa e com a pipeta descartável transferir 2,5 ml para o tubo de transporte fornecido, previamente identificado com o nome do utente.
- › Garantir que o volume de urina adicionado se encontra entre as linhas de enchimento pretas da etiqueta do tubo de transporte.
- › Fechar o tubo de transporte de urina e inverter 5 vezes para homogeneizar a amostra (esta mistura é agora urina processada).
- › Devem ser efetuados preparativos de expedição de modo a assegurar que as amostras de urina processada são recebidas no laboratório para análise nos 5 dias posteriores à colheita. Caso este ponto não seja cumprido poderá ser necessário uma nova colheita.
- › A amostra de urina processada pode ser conservada e enviada para o laboratório à temperatura ambiente (sem controlo de temperatura) desde que fique assegurado o ponto anterior.
- › Preencher a requisição do exame com os dados do utente, informação clínica, resultados de eventuais exames prostáticos anteriores; data da colheita, médico prescriptor e outros dados relevantes.
- › Contactar o laboratório para se recolher a amostra com a maior brevidade possível.

O objetivo principal das técnicas de imunohistoquímica consiste em identificar determinadas estruturas tecidulares. Assim, o princípio básico das referidas técnicas reside num conjunto de reações específicas (interacções antigénio-anticorpo), que conferem cor aos compostos que se pretendem identificar. O valor prático desta técnica, específica da Anatomia Patológica, resulta da possibilidade de conjugar um marcador com um anticorpo, outra proteína ou composto, sem provocar qualquer alteração à ligação específica estabelecida entre o antigénio e o anticorpo. Este facto propicia a observação microscópica dos locais onde se encontra o anticorpo, e consequentemente o antigénio.

Podemos dizer que a imunohistoquímica se apresenta como um meio fundamental de identificação de determinadas estruturas celulares normais e patológicas (neoplásicas, ou não), bem como das consequências, quer a nível funcional, quer a nível morfológico, da ação desses mesmos elementos.

A imunohistoquímica tem as suas principais aplicações ao nível de:

1. ESTUDO DE NEOPLASIAS:

► Diagnóstico:

- Caracterização histogenética;
- Diagnóstico de neoplasias com baixa diferenciação morfológica e avaliação de carcinomas mistos;
- Distinção do carácter maligno ou benigno de determinadas proliferações celulares (por exemplo, 34βE12 e p504s em neoplasias da próstata);
- Caracterização da origem de metástases de neoplasias primárias desconhecidas;
- Caracterização de linfomas e tumores neuroendócrinos.

► Prognóstico:

- Identificação da presença de recetores hormonais (recetores de progesterona e recetores de estrogénio, por exemplo, nas neoplasias da mama);
- Caracterização da expressão de proto-oncogenes (ex.: Her2/neu – neoplasias da mama);
- Estudo de proteínas supressoras e tumores;
- Caracterização de presença de indicadores de proliferação celular (Ki67) – neoplasias de mama e linfomas.

► Indicação terapêutica:

- Quantificação da expressão de Her2/neu em carcinoma da mama;
- Identificação da presença de CD117 em tumores do estroma gastrointestinal (GIST).

2. ESTUDO DE DOENÇAS INFECIOSAS:

Caracterização de agentes etiológicos (bactérias, vírus, protozoários), como por exemplo, pesquisa de *Helicobacter pylori* em biópsias gástricas, pesquisa de *Treponema* em biópsia, entre outros.

3. ESTUDO DE OUTRAS PATOLOGIAS (Ex.: Doenças auto-imunes).

Assim sendo, o estudo complementar por técnicas de imunohistoquímica permite uma melhor sensibilidade e especificidade no diagnóstico e caracterização das patologias, identifica fatores de prognóstico e permite uma orientação terapêutica mais precisa.

A utilização de técnicas complementares de imunohistoquímica é assim fundamental em muitos exames anatomopatológicos, constituindo um garante de qualidade e rigor.

11 RECOLHA DE AMOSTRAS E CONDIÇÕES DE TRANSPORTE

Tipo de amostra	Descrição	Material a enviar/ Meio fixador	Armazenamento e transporte	Recolha
Biópsia incisional/ excisional histológica	Colheita de um ou mais fragmentos de tecido de uma área anatómica específica.	Formol tamponado 10%	Após a colheita, a amostra deverá ser imediatamente imersa em formol e conservada à temperatura ambiente.	Recolha programada
Peça anatómica	Excisão de peça anatómica por meio de cirurgia	Formol tamponado 10%	A peça anatómica deve ser totalmente imersa em formol, em recipiente de tamanho adequado e que não provoque a deformação da peça. Conservação à temperatura ambiente.	24 a 36 horas
Amostras para imunofluorescência/ citometria fluxo (amostras a fresco)	As amostras deverão chegar ao laboratório a fresco ou em solução preservante de Michel	Nenhuma ou em solução preservante de Michel	No caso de utilização de solução preservante de Michel, a amostra deverá dar entrada no laboratório 24h após a colheita. Se a amostra for enviada a fresco, deve garantir-se que chega ao laboratório num prazo máximo de 30 minutos Para serem efetuados os preparativos para a colheita/ processamento, é necessário contactar o IMP com antecedência.	Imediata
Citologia de Biópsia Aspirativa por Agulha Fina	Exame que se destina a retirar células de nódulos palpáveis ou de nódulos não palpáveis profundos, com a colaboração de técnicas de imagiologia.	<ul style="list-style-type: none"> - 2 lâminas fixadas com spray ou álcool a 95% - 2 lâminas secas ao ar - lavagem da agulha em Cytolyt® 	Temperatura ambiente	Recolha programada, sem ultrapassar os 15 dias após a colheita.
Citologia de Líquidos e Lavados	Citologia urinária, conteúdo de cisto, líquido ascítico, entre outros.	Álcool a 50% (na proporção de 1:1)	Armazenamento no frigorífico (não congelar) e transporte à temperatura ambiente.	Solicitar a recolha de imediato.
Escorrência mamilar	Colheita de escorrência mamilar unilateral ou bilateral.	Lâminas fixadas com spray	Temperatura ambiente	Recolha programada, sem ultrapassar os 15 dias após a colheita.
Citologia ginecológica	Citologia convencional	Lâmina(s) fixada(s) com spray	Temperatura ambiente	Recolha programada
	Citologia meio líquido	ThinPrep		
Amostra para painel DST, Aptima HPV e Genotipagem	Ver características da colheita em detalhe no corpo de texto do Manual.	ThinPrep	Conservar entre 2 a 30°C até ao envio. Transportar à temperatura ambiente.	Recolha programada

12 ALTERAÇÕES

Edição	Data	Descrição
1	20/12/2012	Edição inicial
2	09/04/2015	Alterações introduzidas ao saco de transporte fornecido pelo IMP
3	20/07/2015	Exames citológico ginecológico em meio líquido – acrescentado o exame de imunohistoquímica a realizar a partir da mesma colheita em meio líquido (CINtec® PLUS). Exame Citológico de Biópsia Aspirativa por Agulha Fina – acrescentada a frase “Adicionalmente poderá proceder-se à lavagem da agulha numa solução de Cytolyt®”. Progensa® PCA3 - Requisitos de temperatura para conservação e transporte do tubo de urina processada (passa para apenas temperatura ambiente).
4	02/01/2017	Alteração do título do procedimento de “Guia de Exames” para “Manual de Colheita”. Acrescentada a informação “Cédula do Médico” (Ponto 2). Atribuição à entidade da responsabilidade pela identificação das amostras (Ponto 4). Forma de marcação dos exames extemporâneos (Ponto 6). Introdução da enumeração e descrição dos diferentes tipos de exames histológicos (Ponto 7.1). Exame Citológico ginecológico em meio líquido ThinPrep Pap Test – Alteração das técnicas de BM possíveis de realizar (Ponto 8.1.2). Alteração do título na expressão Papillocheck HPV para Genotipagem HPV (24 subtipos) (Pontos 9.1.1 e 9.1.2). Eliminação da análise Aptima Combo2 e substituição pela análise Painel DST (Ponto 9.2). Introdução de texto sobre a necessidade e os objetivos dos exames de imunohistoquímica (Ponto 10). Atualização das moradas, dos contactos e do logótipo PME líder 2015 na contracapa. Introdução de páginas destacáveis com as informações essenciais sobre a recolha e as condições de transporte das amostras. Introdução do Guia de Utilização do Saco de Transporte de Amostras Biológicas.
5	09/08/2018	Atualização do documento para a nova marca IMP Diagnostics - Molecular & Anatomic Pathology

Elaborado	Aprovado
<p>Rita Vieira</p> <p>João Martins</p> <p>Helena</p>	

Siga os nossos canais de divulgação!



www.facebook.com/implaboratorio



www.linkedin.com/company/imp-diagnostics



IMP
 DIAGNOSTICS
 MOLECULAR & ANATOMIC PATHOLOGY

IMP Diagnostics
 Porto · Lisboa · Praia · Maputo
Sede: Edif. Trade Center do Bom Sucesso, 61, Sala 809 · 4150-146 Porto

☎ 226 054 481
 geral@impdiagnostics.com
 www.impdiagnostics.com

