

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO NACIONAL DE INFECTOLOGIA EVANDRO CHAGAS
MESTRADO PROFISSIONAL EM PESQUISA CLÍNICA

MARIA DULCE PORTUGAL ESTRADA

**MANUAL TÉCNICO PARA OTIMIZAÇÃO DO FLUXO DE AMOSTRAS PARA
DIAGNÓSTICO ANATOMOPATOLÓGICO FRENTE A EPIDEMIAS DE DOENÇAS
INFECCIOSAS EMERGENTES: A EXPERIÊNCIA DO SERVIÇO DE ANATOMIA
PATOLÓGICA NOS SURTOS DE FEBRE AMARELA EM PRIMATAS NÃO HUMANOS**

Rio de Janeiro

2020

MARIA DULCE PORTUGAL ESTRADA

**MANUAL TÉCNICO PARA OTIMIZAÇÃO DO FLUXO DE AMOSTRAS PARA
DIAGNÓSTICO ANATOMOPATOLÓGICO FRENTE A EPIDEMIAS DE DOENÇAS
INFECCIOSAS EMERGENTES: A EXPERIÊNCIA DO SERVIÇO DE ANATOMIA
PATOLÓGICA NOS SURTOS DE FEBRE AMARELA EM PRIMATAS NÃO
HUMANOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação do Mestrado Profissional em Pesquisa Clínica do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI) para obtenção do grau de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Caldas Menezes
Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Luisa Helena Monteiro de Miranda

Rio de Janeiro

2020

Portugal Estrada, Maria Dulce.

Manual técnico para otimização do fluxo de amostras para diagnóstico anatomopatológico frente a epidemias de doenças infecciosas emergentes: a experiência do serviço de anatomia patológica nos surtos de febre amarela em primatas não humanos / Maria Dulce Portugal Estrada. - Rio de Janeiro, 2020.

139 f.; il.

Dissertação (Mestrado Profissional) - Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Pós-Graduação em Pesquisa Clínica, 2020.

Orientador: Rodrigo Caldas Menezes.

Co-orientadora: Luisa Helena Monteiro de Miranda.

Bibliografia: f. 128-139

1. Doenças infecciosas. 2. Anatomia patológica. 3. Indicadores da qualidade. I. Título.

MARIA DULCE PORTUGAL ESTRADA

**MANUAL TÉCNICO PARA OTIMIZAÇÃO DO FLUXO DE AMOSTRAS PARA
DIAGNÓSTICO ANATOMOPATOLÓGICO FRENTE A EPIDEMIAS DE DOENÇAS
INFECCIOSAS EMERGENTES: A EXPERIÊNCIA DO SERVIÇO DE ANATOMIA
PATOLÓGICA NOS SURTOS DE FEBRE AMARELA EM PRIMATAS NÃO HUMANOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação do Mestrado Profissional em Pesquisa Clínica do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI) para obtenção do grau de Mestre.
Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Caldas Menezes
Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Luisa Helena Monteiro de Miranda

Aprovada em: 18/fevereiro/2020.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Marília Santini (Presidente)
Doutora em: pesquisa clínica em doenças infecciosas
Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas

Prof. Dr. Flávio Fernando Batista Moutinho
Doutor em: medicina veterinária
Universidade Federal Fluminense

Prof.^a Dr.^a Janice Mery Chicarino de Oliveira Coelho
Doutora em: pesquisa clínica em doenças infecciosas
Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas

Prof. Dr. Leonardo Pereira Quintella
Doutor em: pesquisa clínica em doenças infecciosas
Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas

Aos meus pais, Paulo Márcio (*in memoriam*) e Maria Célia, pelo apoio e carinho.

À minha irmã, Patrícia, pela amizade e carinho.

Ao meu esposo, Rubén, pelo amor, dedicação e amizade infinitos.

Ao meu filho, Davi, meu amor, minha vida...

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Rodrigo Caldas Menezes, pela dedicação, empenho e por ter aceitado esse desafio, muito além dos meus pensamentos.

À minha coorientadora, Prof.^a Dr.^a Luisa Helena Monteiro de Miranda, uma grande amiga, agradeço pela parceria, amizade e dedicação de todas as horas. Você foi muito especial nessa minha trajetória.

À Prof.^a Dr.^a Janice Coelho, chefe do SeAP/INI, uma grande amiga de longa data, agradeço pela amizade, confiança e incentivo. Sem a sua acolhida nada disso seria possível.

À minha família pelo carinho e pela amizade de sempre. Em especial aos meus cunhados, Marco Antonio, que há 18 anos me apresentou a anatomia patológica, e Yanina pela amizade e carinho.

À equipe do SeAP/INI, pela ajuda nos momentos de ausência para as aulas do mestrado profissional e pelas fotografias tiradas do serviço, em especial a Queren, Kamila e Alessandra.

Ao meu amigo querido Marcos Francisco, pelos muitos dias de parceria e amizade.

A todos os alunos do Mestrado Profissional 2018 que venceram os obstáculos de cada dia junto a mim.

As minhas amiguinhas queridas do mestrado profissional, mas que levarei para a vida toda, Maria Helena, Nathália e Valéria, meu sincero agradecimento. Vencemos, meninas!

Aos membros da banca pela disponibilidade em participar da minha defesa e pelas contribuições oportunas.

PORTUGAL, MD. **Manual técnico para otimização do fluxo de amostras para diagnóstico anatomopatológico frente a epidemias de doenças infecciosas emergentes: a experiência do Serviço de Anatomia Patológica nos surtos de febre amarela em primatas não humanos.** Rio de Janeiro, 2019. Dissertação [Mestrado Profissional em Pesquisa Clínica] – Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz.

RESUMO

A emergência de novas doenças infecciosas e a reemergência daquelas que provocaram grandes epidemias no passado têm sido um desafio aos programas de vigilância. Nessa conjuntura, os surtos de febre amarela ocorridos entre 2017 e 2018 levaram a um aumento expressivo do quantitativo de amostras recebidas pelos laboratórios da rede de Laboratórios de Referência, incluindo o Serviço de Anatomia Patológica (SeAP) do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI), gerando uma demanda reprimida e atraso no tempo de resposta diagnóstica. Dessa forma, mecanismos de controle da qualidade das atividades laboratoriais foram reformulados e intensificados para a otimizar o fluxo dos processos relacionados ao diagnóstico histopatológico e imuno-histoquímico e garantir uma resposta ágil e efetiva aos órgãos de vigilância. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi elaborar um manual técnico para otimização do fluxo laboratorial de amostras para diagnóstico anatomopatológico frente a situações emergenciais, com base na experiência do SeAP/INI nos surtos de febre amarela em primatas não humanos (PNH). O mapeamento do processo foi realizado para identificar e categorizar os pontos críticos no fluxo técnico do laboratório e implementar ações para melhoria. Os dados referentes ao tempo de resposta diagnóstica foram extraídos das amostras de PNH recebidas pelo SeAP no período de janeiro de 2017 a junho de 2018 e utilizados para o cálculo de indicadores de desempenho para avaliar a implementação das alterações do processo no fluxo de amostras, com base no tempo médio de resposta diagnóstica e no percentual de resultados com atraso. Dentre os pontos críticos determinados, destacam-se a morosidade nos processos de aquisição de insumos, a equipe sem treinamento para atuar em altas demandas, a falta de equipamentos de reserva para agilizar os processos, o espaço da área técnica reduzido, a padronização de anticorpos e a desagregação das amostras de um mesmo caso ao longo de todo o processo. A identificação dos pontos críticos e a implementação de mudanças, aliadas a manutenção do sistema da qualidade, se refletiu na diminuição do tempo de resposta diagnóstica e do percentual de resultados fora do prazo. Em vista disso, o manual foi desenvolvido para que possa nortear e contribuir para o manejo de surtos em laboratórios de anatomia patológica, ampliando sua capacidade de resposta frente a situações de emergência em saúde pública.

Palavras-chave: Doenças infecciosas, anatomia patológica, indicadores de qualidade.

PORTUGAL, MD. Technical manual for the optimization of the flow of samples for pathological diagnosis towards epidemics of emerging infectious diseases: an experience of the Serviço de Anatomia Patológica in the outbreaks of yellow fever in non-human primates. Rio de Janeiro, 2019. Dissertation of Professional Master in Clinical Research] - National Institute of Infectious Diseases Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz.

ABSTRACT

The emergence of new infectious diseases and the reemergence of those that have caused major epidemics in the past has been a challenge for surveillance programs. In this context, the outbreaks of yellow fever that occurred between 2017 and 2018 led to a significant increase in the number of samples received by the reference laboratory network, including the Serviço de Anatomia Patológica (SeAP) of the Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI), generating a pent-up demand and a delay in the turn-around time. Thus, mechanisms for the quality control of the laboratory activities were reformulated and intensified to optimize the flow of processes related to histopathological and immunohistochemical diagnosis, and to ensure an agile and effective response to surveillance agencies. In this context, the objective of this study was to develop a technical manual for optimizing the laboratory flow of samples for anatomical-pathological diagnosis towards emergency situations, based on the experience of SeAP / INI in the outbreaks of yellow fever in non-human primates (PNH). The process was mapped to identify and categorize bottlenecks in the technical flow and implement actions for improvement. The data related to the turn-around time were extracted from the PNH samples received by SeAP in the period from January 2017 to June 2018 and used for the calculation of performance indicators to evaluate the implementation of the process changes in the sample flow, based on the average turn-around time and the percentage of delayed results. Among the established bottlenecks, the delay in the supplies acquisition, the lack of training focused on high demands in the workplace, the lack of back-up equipment to enhance the processes, the reduced technical space, the standardization of antibodies and the split of samples from the same case throughout the process. The identification of bottlenecks and the implementation of changes, along with the maintenance of the quality system, resulted in a decrease in the turn-around time and in the percentage of delayed results. Having said that, the manual was developed to guide and contribute to the management of outbreaks in anatomical pathology laboratories, expanding their capacity to respond to emergency situations in public health.

Keywords: Infectious diseases, pathological anatomy, quality indicators.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA	17
1.2 GESTÃO DA QUALIDADE	18
1.3 O PAPEL DO LABORATÓRIO DE ANATOMIA PATOLÓGICA NOS SURTOS E EPIDEMIAS DE DOENÇAS INFECCIOSAS	19
2 JUSTIFICATIVA	21
3 OBJETIVOS	23
3.1 OBJETIVO GERAL	23
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
4 METODOLOGIA	24
4.1 DESENHO DO PROJETO	24
4.2 MATERIAIS, PROCEDIMENTOS E TÉCNICAS	24
4.2.1 Identificação dos pontos críticos no fluxo do processo laboratorial	24
4.2.2 Fluxograma de amostras no SeAP/INI	24
4.2.3 Avaliação do tempo médio de resposta diagnóstica e indicador de qualidade	26
4.2.4 Consolidação de dados para elaboração de manual técnico	26
5 RESULTADOS	27
5.1 DEFINIÇÃO DOS PONTOS CRÍTICOS DO PROCESSO	27
5.2 FLUXOGRAMA	28
5.3 INDICADORES DA QUALIDADE	30
5.3.1 Tempo médio de liberação dos laudos e quantitativo de casos que ultrapassaram o prazo de 30 dias	30
5.4 ELABORAÇÃO DE MANUAL TÉCNICO	32
5.5 MANUAL TÉCNICO PARA OTIMIZAÇÃO DO FLUXO DE AMOSTRAS PARA O DIAGNÓSTICO ANATOMOPATOLÓGICO FRENTE A EPIDEMIAS DE DOENÇAS INFECCIOSAS	34
5.5.1 Introdução do manual	34
5.5.1.1 Iniciativa One Health	37
5.5.1.2 Vigilância Epidemiológica	38
5.5.2 Sistema de Gestão da Qualidade	38
5.5.2.1 Importância do sistema da qualidade na padronização de fluxos laboratoriais	39
5.5.2.2 Processo laboratorial: etapas pré-analítica, analítica e pós-analítica	40
5.5.2.3 Rastreabilidade de amostras, dados e resultados	41
5.5.2.4 Procedimento Operacional Padrão (POP)	41
5.5.2.5 Formulários e planilhas de controle dos processos	44

5.5.2.6 Equipamentos	45
5.5.2.7 Biossegurança e prevenção de acidentes.....	46
5.5.2.7.1 <i>Laboratório</i>	47
a) Ventilação adequada.....	47
b) Espaço físico	47
c) Salas	47
d) Bancadas de laboratório.....	47
e) Acesso as salas	48
f) Detectores de fumaça	48
g) Limpeza.....	48
5.5.2.7.2 <i>Equipamento de proteção individual (EPI)</i>	48
a) Luvas.....	48
b) Máscaras.....	48
c) Óculos	49
d) Jaleco	49
e) Protetor facial	49
f) Touca capilar	49
g) Calçados de segurança.....	49
5.5.2.7.3 <i>Equipamento de proteção coletiva (EPC)</i>	49
a) Exaustores	49
b) Armários corta fogo	49
c) Cabine de fluxo laminar	49
d) Cabine de exaustão	49
e) Extintores de incêndio	49
f) Coletores de resíduos	50
g) Chuveiro de emergência e lava-olhos	50
h) Placas de sinalização ou etiquetas	50
5.5.2.7.4 <i>Gerenciamento de resíduos</i>	50
5.5.3 Laboratório de Anatomia Patológica	51
5.5.4 Procedimentos histotécnicos	52
5.5.4.1 Fase Pré-analítica: coleta, fixação e transporte de amostras.....	53
5.5.4.1.1 <i>Coleta de amostras</i>	53
5.5.4.1.2 <i>Fixação</i>	56
a) Fixação física	57
b) Fixação química	57

5.5.4.1.3 <i>Transporte</i>	60
5.5.4.2 Fase Pré-analítica: recebimento de amostras biológicas	62
5.5.4.2.1 <i>Identificação da amostra</i>	63
5.5.4.2.2 <i>Pedido de exame</i>	63
5.5.4.2.3 <i>Conferência da solução fixadora</i>	64
5.5.4.2.4 <i>Descalcificação de tecidos ósseos</i>	67
5.5.4.2.5 <i>Registro das amostras recebidas</i>	70
5.5.4.3 Fase Analítica: macroscopia e clivagem das amostras	71
5.5.4.4 Fase Analítica: processamento das amostras	75
5.5.4.4.1 <i>Desidratação</i>	77
5.5.4.4.2 <i>Clarificação (diafanização)</i>	78
5.5.4.4.3 <i>Embebição</i>	78
5.5.4.5 Fase Analítica: inclusão em parafina.....	83
5.5.4.6 Fase Analítica: microtomia	85
5.5.4.6.1 <i>Itens e equipamentos necessários para dar início aos cortes histológicos</i>	86
5.5.4.6.2 <i>Preparo das lâminas histológicas</i>	87
5.5.4.6.3 <i>Prender o bloco no porta bloco</i>	87
5.5.4.6.4 <i>Desbaste do material</i>	87
5.5.4.6.5 <i>Cortes histológicos</i>	88
5.5.4.6.6 <i>Distensão e aderência dos cortes</i>	88
5.5.4.7 Fase Analítica: técnicas histoquímicas.....	91
5.5.4.7.1 <i>Seletividade dos corantes</i>	91
a) Corantes ácidos	91
b) Corantes básicos.....	91
5.5.4.7.2 <i>Ação do corante</i>	91
a) Direta.....	91
b) Indireta	92
5.5.4.7.3 <i>Desenvolvimento da coloração</i>	92
a) Progressiva	92
b) Regressiva	92
5.5.4.7.4 <i>Cromatização</i>	92
a) Monocrômica.....	92
b) Bicrômica.....	93
c) Tricrômica.....	93

d) Policrômica.....	93
e) Metacromática.....	93
5.5.4.7.5 <i>Itens e equipamentos necessários para realização das colorações histológicas</i>	93
5.5.4.7.6 <i>Coloração de base - Hematoxilina & Eosina (H&E)</i>	95
5.5.4.7.7 <i>Colorações especiais</i>	96
5.5.4.8 Fase Analítica: técnica imuno-histoquímica	99
5.5.4.8.1 <i>Anticorpos (Ac) policlonais e monoclonais</i>	99
a) Anticorpos policlonais.....	100
b) Anticorpos monoclonais	100
5.5.4.8.2 <i>Métodos Direto e Indireto</i>	102
a) Método Direto.....	102
b) Método Indireto	102
i) Simples	102
ii) Método Peroxidase Antiperoxidase (PAP)	103
iii) Método fosfatase alcalina antifosfatase alcalina (APAAP).....	103
iv) Métodos do complexo avidina-biotina (ABC)	103
v) Métodos por polímero	104
5.5.4.8.3 <i>Recuperação antigênica</i>	104
a) Calor úmido	105
b) Digestão enzimática	105
5.5.4.8.4 <i>Controles para imuno-histoquímica</i>	105
a) Positivo.....	106
b) Negativo	106
5.5.4.9 Fase Analítica: Selagem ou montagem das lâminas histológicas	107
5.5.4.10 Fase Analítica: microscopia/análise histopatológica	107
5.5.4.11 Fase Analítica: relatório anatomopatológico (laudo/resultado).....	109
5.5.4.12 Fase Pós-analítica: digitação do relatório anatomopatológico (laudo/resultado).....	110
5.5.4.13 Fase Pós-analítica: arquivo de laudo, lâmina histológica e bloco de parafina.....	110
5.5.4.13.1 <i>Espaço físico</i>	111
5.5.4.13.2 <i>Organização</i>	111
5.5.4.13.3 <i>Tempo de permanência</i>	114
5.5.4.13.4 <i>Rastreabilidade</i>	115
5.5.4.13.5 <i>Segurança</i>	115

5.5.4.14 Fase Pós-analítica: Controle da cessão de material	115
5.6 INDICADORES DA QUALIDADE	117
5.7 NOÇÕES DE GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS DE SERVIÇO DE SAÚDE.....	121
6 DISCUSSÃO	126
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	128
REFERÊNCIAS	129

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 - Fluxograma dos processos laboratoriais das amostras recebidas pelo Serviço de Anatomia Patológica do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas.....	27
Quadro 2 - Notações BPMN utilizadas no fluxograma do Serviço de Anatomia Patológica do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas.	30
Quadro 3 - Seções e subseções abordadas no manual técnico.	32
Quadro 4 - Mecanismo de ação, os fixadores mais utilizados e a aplicabilidade em laboratórios de anatomia patológica.....	58
Quadro 5 - Principais fatores de interferência na fixação de tecidos.....	58
Quadro 6 - Soluções fixadoras mais utilizadas, suas particularidades, tempo ideal de fixação e protocolo.	59
Quadro 7 - Exemplos de não conformidades encontradas no recebimento de amostras para exame histopatológico e as soluções recomendadas.	63
Quadro 8 - Protocolo de preparo do teste colorimétrico para aldeídos.	66
Quadro 9 - Modelo de carimbo ou formulário utilizado no registro das etapas do processo técnico.	67
Quadro 10 - Protocolos de métodos de descalcificação mais utilizados em laboratórios de anatomia patológica.....	69
Quadro 11 - Vantagens e desvantagens dos métodos de descalcificação mais utilizados na rotina histológica.....	69
Quadro 12 - Características usuais para o relatório do exame macroscópico.	72
Quadro 13 - Substâncias mais utilizadas nas fases do processamento.....	77
Quadro 14 - Sugestões de cuidados que devem ser observados nas fases de desidratação, clarificação e embebição do processamento histológico.	79
Quadro 15 - Protocolos dos processamentos automatizados utilizados no SeAP- INI.	79
Quadro 16 - Protocolos para os processamentos manuais utilizados no SeAP-INI.	80
Quadro 17 - Problemas técnicos mais usuais em microtomia.....	90
Quadro 18 - Procedimentos gerais que são utilizados em quase todos os protocolos de coloração para amostras fixadas em formol a 10% e embebidas em parafina. Fonte: elaborado pela autora.	94
Quadro 19 - Protocolo para a técnica de coloração de Hematoxilina & Eosina pelos métodos de Harris e de Mayer.	96
Quadro 20 - Principais métodos de coloração especial, categoria, estruturas observadas e cor resultante.	97
Quadro 21 - Comparação entre as especificações principais dos anticorpos policlonal e monoclonal.....	101
Quadro 22 - Exemplos de anticorpos para doenças infecciosas e suas padronizações.....	102
Quadro 23 - Roteiro básico para o método imuno-histoquímico.	105
Quadro 24 - Exemplos de tipos de indicadores de desempenho por fases do processo técnico para uso em laboratório de anatomia patológica.....	121
Quadro 25 - Descrição resumida das etapas de classificação de resíduos de serviço de saúde e as diretrizes para consulta.....	122
Quadro 26 - Classificação dos resíduos de serviços de saúde. Fonte adaptada: Brasil, 2018b.	123
Quadro 27 - Classificação dos resíduos mais comuns gerados por um laboratório de	

anatomia patológica.	125
Quadro 28 - Compatibilidade das categorias de resíduos químicos para armazenamento temporário.	125
Figura 1 - Frequência de amostras recebidas pelo SeAP/INI oriundas dos Laboratórios Centrais (LACEN), de janeiro de 2016 a junho de 2018.....	22
Figura 2 - Fluxograma dos processos laboratoriais das amostras recebidas pelo Serviço de Anatomia Patológica do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas.....	25
Figura 3 - Fluxograma das amostras recebidas pelo Serviço de Anatomia Patológica do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas.	29
Figura 4 - Tempo médio de resposta diagnóstica dos casos de primatas não humanos com diagnóstico imuno-histoquímico positivo para febre amarela recebidos pelo Serviço de Anatomia Patológica do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, de janeiro de 2016 a junho de 2018.....	31
Figura 5 - Porcentagem do número de casos de primatas não humanos com diagnóstico imuno-histoquímico positivo para febre amarela com tempo de liberação do diagnóstico superior a 30 dias, no período de janeiro de 2017 a junho de 2018.	31
Figura 6 - Sugestão de tópicos a serem abordados na elaboração de um procedimento operacional padrão (POP).	42
Figura 7 - Informações básicas para elaboração de um formulário de revalidação de um Procedimento Operacional Padrão.	44
Figura 8 - Fases pré-analítica, analítica e pós-analítica do sistema de melhoria da qualidade de um laboratório de anatomia patológica.	52
Figura 9 - Recipientes com as características ideais para o melhor manuseio da amostra histológica.	54
Figura 10 - Sugestão de normas estabelecidas pelo laboratório sobre o recebimento de amostras.....	55
Figura 11 - Sistema triplo de embalagens para transporte de amostras biológicas e a rotulagem ideal da caixa.....	61
Figura 12 - Representação do teste colorimétrico para presença de formol.	65
Figura 13 - Exemplo de informações que devem constar em um mapa para ser utilizado na clivagem das amostras de material biológico.	74
Figura 14 - Exemplo de um mapa para ser utilizado no descarte da reserva de amostras teciduais provenientes da macroscopia.....	75
Figura 15 - Processador de tecido de uso na rotina do SeAP-INI.	76
Figura 16 - Mapa de controle das amostras que seguem para processamento. Fonte: elaborado pela autora.	81
Figura 17 - Mapa de controle de troca de reagentes do processador de tecidos.....	82
Figura 18 - Mapa de controle dos equipamentos. Fonte: elaborado pela autora. ...	82
Figura 19 - Central de inclusão utilizada na rotina do SeAP-INI.....	84
Figura 20 - Moldes de metal utilizados na inclusão em parafina.....	84
Figura 21 – Etapas da inclusão em parafina, conforme protocolo utilizado no SeAP-INI.....	85
Figura 22 - Micrótomo rotativo manual.....	86
Figura 23 - Etapas da microtomia dos materiais emblocados em parafina, conforme protocolo utilizado no SeAP-INI. Fonte: Michalany, 1998. Nota: imagens cedidas pelo SeAP-INI.	89
Figura 24 - Sistema de coloração manual.....	94
Figura 25 - Mapa para controle das soluções preparadas pela técnica.	98

Figura 26 - Controle para troca de reagentes e corantes das baterias de coloração.	99
Figura 27 - Consultas intra e extra departamental em diagnóstico histopatológico.	109
Figura 28 - Arquivo de metal para armazenagem de lâminas histológicas e arquivo de papelão para blocos de parafina, utilizados no SeAP-INI.	113
Figura 29 - Arquivo em caixa box dos resultados/laudos.	114
Figura 30 - Roteiro para formulário de cessão de lâmina e bloco.	117
Figura 31 - Ficha técnica para elaboração de indicadores.	119
Figura 32 - Erros mais comuns encontrados em laboratório de anatomia patológica em cada fase do processo.	120

1 INTRODUÇÃO

As doenças infecciosas apresentam características singulares que as distinguem das outras: possuem expressiva capacidade adaptativa e de transmissibilidade e causam grande impacto na humanidade. Até os dias atuais, representam um sério problema de saúde pública, sendo importante causa de morbidade e mortalidade humana. A emergência de novas doenças e a reemergência daquelas que provocaram grandes epidemias no passado têm sido um desafio aos programas de prevenção (FAUCI; MORENS, 2012; LIMA-CAMARA, 2016; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018).

As modificações sociais e econômicas globais, assim como o desenvolvimento de vacinas e antimicrobianos, facilitaram o controle e a erradicação de algumas doenças infecciosas, entretanto, essas mudanças também levaram ao surgimento e a reemergência de outras doenças, uma vez que afetam a movimentação dos patógenos, a diversidade, a resistência a medicamentos e a persistência da virulência (NII-TREBI, 2017; ROMANELLI et al., 2015). Além disso, fatores como sistemas de saúde e vigilância frágeis, com capacidade limitada de diagnóstico laboratorial, globalização da circulação humana e animal, urbanização desordenada, mudanças climáticas e a expansão geográfica dos vetores artrópodes propiciam o surgimento e a rápida disseminação de doenças epidêmicas (BULIVA et al., 2017).

Algumas doenças como, chikungunya, dengue, doença de Chagas, febre amarela, febre maculosa, febre mayaro, filariose linfática, hantavirose, influenza, leishmanioses tegumentar e visceral, leptospirose, malária, febre do oeste do Nilo, oncocercose, oropouche, peste, poliomielite/paralisia flácida aguda, raiva, rubéola, Zika e síndrome congênita do vírus Zika possuem potencial de dispersão, adaptação a novos ambientes, variedade de hospedeiros e uma importante capacidade de causar grandes epidemias. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) as doenças transmitidas por vetores, como a dengue, febre amarela, malária, esquistossomose, leishmaniose, doença de Chagas e peste, representam mais de 17% das doenças infecciosas no mundo, causando mais de 700 mil mortes por ano (OPAS/OMS BRASIL, 2018).

No Brasil, questões ambientais, como a urbanização desordenada, a modificação de ecossistemas e o desmatamento apresentam um grande impacto no

adocimento e morte da população, uma vez que favorecem a proliferação de vetores e, conseqüentemente, a ocorrência das doenças por eles veiculadas. Além disso, a situação socioeconômica de desigualdade de condições de infraestrutura, saneamento básico e saúde são grandes complicadores nas epidemias de doenças infecciosas. O atual aumento expressivo do número de casos de arboviroses no Brasil representa um potencial desafio para a saúde pública. Nos últimos anos as epidemias de Zika, chikungunya e febre amarela, em regiões endêmicas para dengue, provocaram sérias complicações para os serviços de saúde e, conseqüentemente, para a população (LIMA-CAMARA, 2016; LOPES; NOZAWA; LINHARES, 2014; OPAS/OMS BRASIL, 2018).

Em 2019, foram registrados 1.439.471 casos prováveis de dengue, sendo 1.111 casos de dengue grave e 591 óbitos, 9.813 casos prováveis de Zika, sendo 447 em gestantes e 1 óbito e 110.627 casos prováveis de chikungunya, sendo 57 óbitos e destes 47 ocorreram no estado do Rio de Janeiro (BRASIL, 2019d). Entre 2017/2018 a febre amarela registrou a sua epidemia mais expressiva na região Sudeste do Brasil, com 1.376 casos humanos e 483 óbitos, além de 864 epizootias (BRASIL, 2019a).

A emergência de diversos patógenos e a conseqüente ocorrência de surtos e epidemias têm sido descritas nos últimos anos, gerando grandes demandas para o sistema de saúde. Deste forma, investimentos estratégicos em infraestrutura, na qualificação profissional e no apoio ao desenvolvimento de pesquisas devem ser assegurados, permitindo a interação entre a ciência laboratorial e a epidemiologia para otimizar a prática da vigilância em saúde (ELLWANGER; KAMINSKI; CHIES, 2019; OPAS/OMS BRASIL, 2018)

1.1 VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA

A vigilância epidemiológica é um importante instrumento para a coleta sistemática, análise e interpretação de dados específicos sobre endemias e epidemias de doenças transmissíveis, sendo esses dados utilizados como base para o planejamento, a implementação e a avaliação de políticas públicas (ALMEIDA FILHO; BARRETO, 2011; CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION; MORBIDITY AND MORTALITY WEEKLY REPORT, 1998).

A vigilância possui funções que visam o alerta precoce às autoridades competentes de possíveis ameaças a população, estabelece e implementa sistemas eficazes de resposta para a detecção de ameaças a saúde de importância nacional e internacional e monitora tendências de endemias (BAGHERIAN et al., 2017; LIMA et al., 2019; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018) .

Atualmente, muitos esforços estão sendo direcionados para o desenvolvimento e o fortalecimento do sistema de vigilância, de modo que possa se desenvolver uma rede de informação, dotados de recursos operacionais, para conduzir os problemas de saúde pública de forma célere e eficaz (BRASIL, 2004, 2019b).

1.2 GESTÃO DA QUALIDADE

O Sistema de Gestão da Qualidade (SGQ) é um conjunto de processos e procedimentos organizacionais necessários para o planejamento, execução, monitoramento e registro de atividades laboratoriais e para a provisão de meios adequados para realizá-las. Um SGQ bem estruturado promove relatórios completos e precisos e estabelece um meio pelo qual a veracidade das atividades pode ser conferida. A criação de tal sistema envolve a definição da estrutura organizacional, de responsabilidades, procedimentos, processos e recursos necessários para atingir os objetivos de prevenir riscos, detectar desvios, corrigir erros, melhorar a eficiência e garantir a qualidade e integridade dos dados (WORLD HEALTH ORGANIZATION; DEPARTMENT OF IMMUNIZATION, VACCINES AND BIOLOGICALS, 2004).

Dentro desse contexto encontra-se o programa de controle de qualidade, projetado para monitorar todas as etapas dos procedimentos laboratoriais, desde a coleta até a finalização do exame. Este programa é utilizado não só para monitorar as etapas do processo técnico, mas também os equipamentos, os reagentes utilizados, a qualificação da equipe multidisciplinar e os testes de proficiência. Por esta razão, este controle é uma barreira para possíveis erros no processo e, uma vez que faz parte do SGQ, deve ser contínuo. Um programa de controle de qualidade bem articulado deve incluir um manual de procedimentos laboratoriais que contenha todas as informações pertinentes para cada etapa, um registro de todos os equipamentos usados no decorrer do processo, bem como de equipamentos reserva, de

manutenções preventiva e corretiva realizadas, calibrações e, ainda, o controle e registro da temperatura e da umidade dos ambientes, diariamente (MOHAMMEDSALEH, 2014; WORLD HEALTH ORGANIZATION; DEPARTMENT OF IMMUNIZATION, VACCINES AND BIOLOGICALS, 2004).

Um programa de melhoria contínua da qualidade deve ser implementado na rotina laboratorial com o objetivo de reconhecer os potenciais problemas ou erros antes que eles possam ocorrer e propor medidas de melhoria para o processo. O programa de melhoria contínua desempenha um importante papel, uma vez que visa prevenir falhas, ajudando a definir metas futuras (ADYANTHAYA; JOSE, 2013; MOHAMMEDSALEH, 2014).

1.3 O PAPEL DO LABORATÓRIO DE ANATOMIA PATOLÓGICA NOS SURTOS E EPIDEMIAS DE DOENÇAS INFECCIOSAS

A anatomia patológica compreende a análise morfológica de órgãos, tecidos e células, com o objetivo de determinar ou contribuir para o diagnóstico de lesões e das respectivas doenças, com implicações no tratamento e prognóstico (ADYANTHAYA; JOSE, 2013; MOHAMMEDSALEH, 2014). Sua importância é estabelecida não só por sua atividade de diagnóstico na assistência em saúde, mas por sua contribuição na pesquisa, na vigilância e na prevenção de surtos e epidemias, uma vez que possibilita o diagnóstico em tecidos fixados e parafinados de seres humanos e animais, de casos fatais ou não (MOHAMMEDSALEH, 2014).

Devido a sua singular importância e com o objetivo fundamental de garantir resultados precisos e de qualidade, os laboratórios de anatomia patológica estão buscando cada vez mais a qualidade nos seus processos, e a gestão de qualidade se tornou uma parte essencial da operação diária desses laboratórios (MUKHOPADHYAY, 2011).

Laboratórios de anatomia patológica têm peculiaridades em seu complexo processo técnico, onde a amostra é repetidamente manuseada gerando vários pontos que necessitam de verificação e controle diários (GUPTA et al., 2009). Assim sendo, todas as etapas do processo histológico devem ser descritas, individualmente, em procedimentos operacionais padrão (POP) para uniformizar a rotina, garantindo a

qualidade do processo e, conseqüentemente, minimizando erros. Dessa forma, a elaboração de um programa de melhoria contínua da qualidade deve se concentrar nas principais fases do processo laboratorial (RAO et al., 2016; VALENSTEIN; SIROTA, 2004).

Serviços de alta qualidade podem ser alcançados, porém para que isso ocorra de maneira efetiva, é necessário implementar um sistema de gestão da qualidade, onde haja integração entre técnicos, gestores e patologistas, para que todos os profissionais, de todos os setores, possam estar sensibilizados com as diretrizes propostas (ADYANTHAYA; JOSE, 2013).

2 JUSTIFICATIVA

As doenças infecciosas, até os dias atuais, constituem um sério problema de saúde pública, por representarem uma importante causa de morbidade e mortalidade humana e um desafio aos programas de prevenção com a introdução de novas doenças e o ressurgimento daquelas que provocaram grandes epidemias no passado (BRASIL, 2010; FAUCI; MORENS, 2012).

No Brasil, as questões ambientais, como a urbanização desordenada, a modificação dos ecossistemas e o desmatamento, bem como a situação socioeconômica de desigualdade de condições de infraestrutura, saneamento básico e saúde são grandes complicadores nas epidemias de doenças infecciosas, que apresentam ainda um grande impacto no adoecimento e morte da população e favorecem a proliferação de vetores e, conseqüentemente, a ocorrência das doenças por eles veiculadas, como demonstrado nas recentes epidemias de arboviroses como a dengue (DENV), Zika (ZIKV), chikungunya (CHIKV), febre do oeste do Nilo (WNV), febre mayaro (MAYV) e febre amarela (FA), configurando um grande desafio para a saúde pública. (LIMA-CAMARA, 2016; LOPES; NOZAWA; LINHARES, 2014).

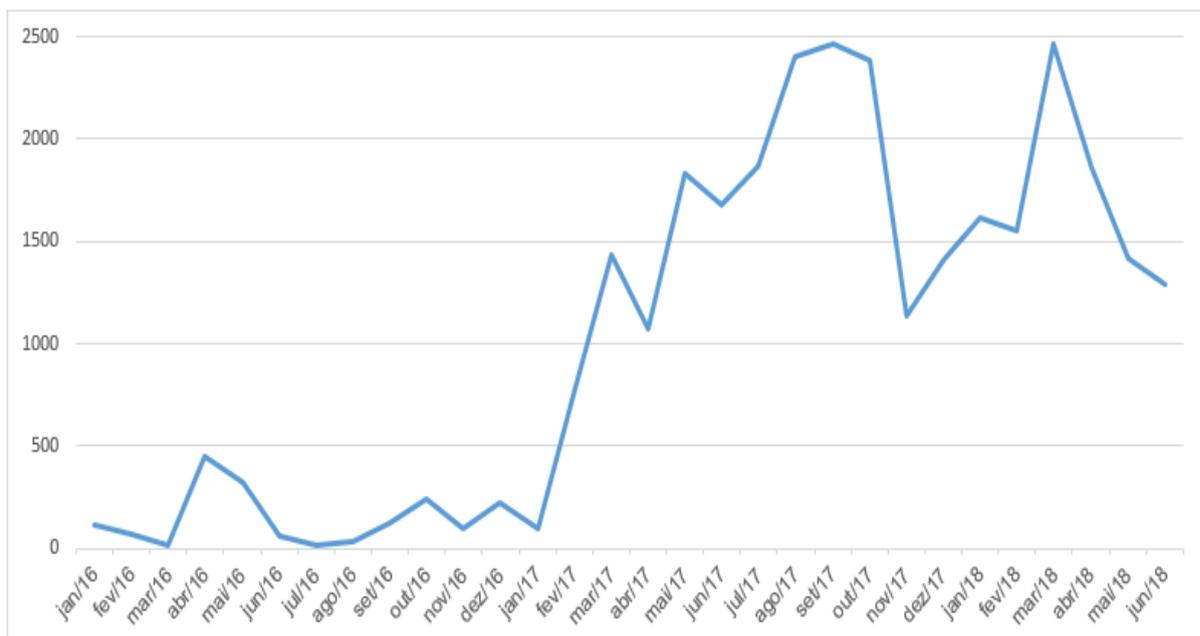
Podemos citar, como exemplo desse impacto na saúde pública, a epidemia de FA ocorrida no Brasil, a partir de 2017, que levantou a questão sobre o risco da reurbanização da transmissão da doença, uma vez que a epidemia atingiu regiões densamente povoadas, onde o vetor do ciclo urbano, *Aedes aegypti*, é abundante (BRASIL, 2004; VASCONCELOS, 2003). Nesse cenário de incertezas e grande volume de casos, ações foram estabelecidas para minimizar o impacto de uma potencial reurbanização da FA, como a coleta dos dados epidemiológicos, ambientais e entomológicos para subsidiar a tomada de decisão, e o estabelecimento de uma rede de laboratórios para trabalhar no apoio diagnóstico, fornecendo uma resposta rápida aos órgãos competentes. Nesse contexto, os laboratórios de anatomia patológica são estratégicos na detecção precoce da circulação viral, através do diagnóstico histopatológico e imuno-histoquímico (BRASIL, 2004, 2017a, 2017b).

O SeAP/INI, atua como colaborador na rede de Laboratórios de Referência e, durante a epidemia de FA de 2017 na região Sudeste, recebeu uma demanda súbita e expressiva de amostras de primatas não humanos (PNH) em um curto espaço de tempo, impactando na rapidez da resposta diagnóstica, como demonstrado na figura

1.

Em situações de grande demanda, surtos ou epidemias, a manutenção dos princípios de boas práticas de laboratório é particularmente importante para adaptação do fluxo às necessidades do serviço, sem prejuízo da qualidade da resposta diagnóstica. A experiência vivenciada pelo SeAP/INI nesta epizootia desencadeou a otimização do fluxo dos processos relacionados ao diagnóstico histopatológico e imuno-histoquímico da FA para garantir uma resposta ágil e efetiva a vigilância da febre amarela.

Figura 1 - Frequência de amostras recebidas pelo SeAP/INI oriundas dos Laboratórios Centrais (LACEN), de janeiro de 2016 a junho de 2018.



Fonte: GAL/Fiocruz.

Neste contexto, a proposta de uniformização de processos e a implementação de sistema de controle de qualidade laboratorial por meio de um manual técnico pode contribuir para o manejo de processos laboratoriais pelos laboratórios de anatomia patológica, com ampliação de sua capacidade de resposta frente a situações de emergência em saúde pública.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Elaborar um manual técnico para otimização do fluxo laboratorial frente a situações emergenciais, que possam ocorrer em consequência do aumento do número de amostras e com base na experiência do Serviço de Anatomia Patológica/Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas na epidemia de febre amarela em primatas não humanos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Identificação dos pontos críticos no fluxo de amostras de PNH recebidas pelo SeAP/INI que impactam no tempo de resposta diagnóstica e de suas possíveis causas;

Descrever os intervalos de tempo entre as etapas do processo de recebimento da amostra e de liberação de resultados e comparar os tempos de resposta diagnóstica ao longo do período estudado, por meio de indicadores de qualidade;

Elaborar um manual técnico com a descrição das etapas do processo técnico realizado nas amostras recebidas no SeAP/INI, salientando a implementação e manutenção do controle de qualidade frente a situações emergenciais.

4 METODOLOGIA

4.1 DESENHO DO PROJETO

Trata-se de um estudo descritivo das etapas do processo técnico realizado nas amostras de recebidas no SeAP/INI, salientando a implementação e manutenção do controle de qualidade.

4.2 MATERIAIS, PROCEDIMENTOS E TÉCNICAS

4.2.1 Identificação dos pontos críticos no fluxo do processo laboratorial

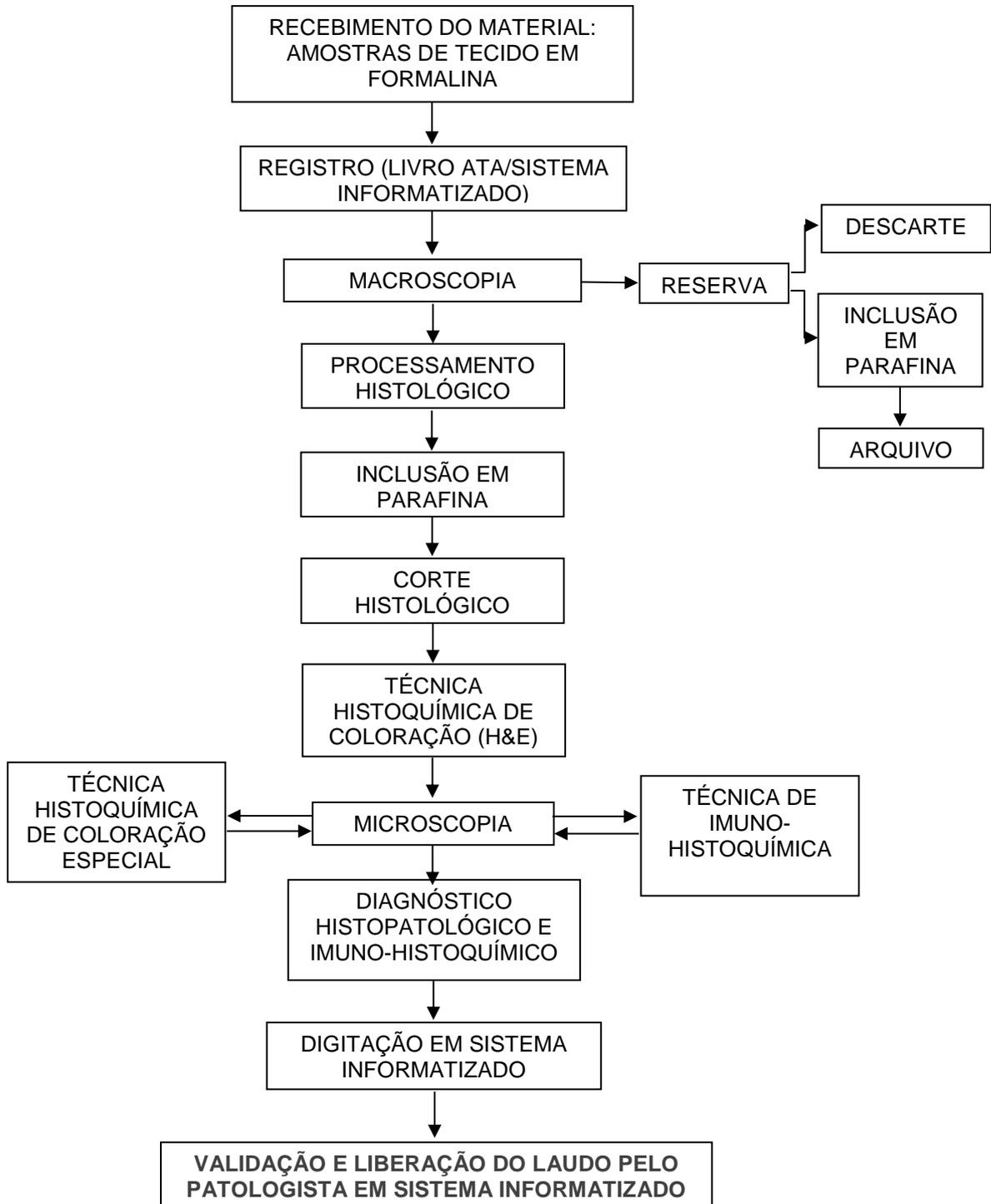
A determinação dos pontos críticos no fluxo de amostras de PNH recebidas pelo SeAP/INI que impactam no tempo de resposta diagnóstica e de suas possíveis causas foi realizada por intermédio de diálogos com a equipe técnica, composta por um biólogo e quatro histotécnicos, e pela chefia do serviço. Esses diálogos foram sendo elaborados no decorrer do tempo, à medida que houve a necessidade de ir aprimorando o fluxo. Os pontos críticos encontrados foram descritos em uma planilha, juntamente com as soluções encontradas para cada caso.

4.2.2 Fluxograma de amostras no SeAP/INI

Os processos representados no fluxograma da figura 2 serão remodelados e estratificados, por meio do software Bizagi Modeler versão 3.1, utilizando uma notação padrão (BPMN - Business Process Modeling Notation), de modo a mapear os pontos críticos expostos no tópico anterior e incluir pontos de checagem e proposta de soluções ("Bizagi BPM software - Our story", [s.d.]).

As etapas do fluxograma, assim como as medidas relacionadas a manutenção do controle de qualidade, incluindo métodos de rastreabilidade de amostras e correção de erros foram descritos.

Figura 2 - Fluxograma dos processos laboratoriais das amostras recebidas pelo Serviço de Anatomia Patológica do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas.



Fonte adaptada: fluxograma do Serviço de Anatomia Patológica do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas/Fiocruz.

4.2.3 Avaliação do tempo médio de resposta diagnóstica e indicador de qualidade

Os casos utilizados foram selecionados a partir do Sistema Gerenciador de Ambiente Laboratorial/GAL (BRASIL/DATASUS, [s.d.]), do qual foram filtradas 3.344 amostras de fígado de PNH, cujo resultado da análise imuno-histoquímica foi positivo para FA em 326 casos, dentro do período do estudo de janeiro de 2017 a junho de 2018.

As requisições correspondentes às amostras selecionadas foram resgatadas do arquivo do SeAP. Os números de identificação dessas amostras, assim como as datas da realização de diferentes etapas do seu processamento foram extraídos dessas requisições e do Sistema GAL e inseridas em banco de dados Excel, onde o intervalo de tempo em dias entre cada etapa foi calculado.

O tempo de resposta diagnóstica corresponde ao tempo de liberação dos resultados e é representado pelo número de dias corridos, desde o recebimento da amostra no SeAP até a liberação do resultado final no Sistema GAL. Foram utilizados como indicadores da implementação de alterações de processos no fluxo de amostras o tempo médio de resposta diagnóstica e o percentual de casos liberados fora do prazo estabelecido, analisados mês a mês, ao longo do tempo de estudo, utilizando como meta o tempo preconizado pelo Lacen/Ministério da Saúde de trinta (30) dias para finalização do laudo no Sistema GAL.

4.2.4 Consolidação de dados para elaboração de manual técnico

Um sumário preliminar foi construído, com a apresentação dos tópicos a serem considerados e sua organização dentro do manual.

Os resultados obtidos nos tópicos anteriores foram consolidados e incorporados ao manual, conforme disposição a ser apresentada no sumário. A avaliação do tempo de resposta diagnóstica, conforme proposto no tópico 4.2.3, foi considerada como indicador da implementação do fluxograma.

5 RESULTADOS

5.1 DEFINIÇÃO DOS PONTOS CRÍTICOS DO PROCESSO

Os diálogos realizados com a equipe técnica foram utilizados na identificação dos pontos críticos mais frequentes no tempo de resposta diagnóstica.

Foram identificados, preliminarmente, seis (6) pontos críticos com impacto no tempo de liberação do resultado. De acordo com os achados definiu-se soluções para minimizar o impacto na resposta diagnóstica, conforme observado no quadro 1.

Quadro 1 - Fluxograma dos processos laboratoriais das amostras recebidas pelo Serviço de Anatomia Patológica do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas.

PONTOS CRÍTICOS	SOLUÇÕES DEFINIDAS	RESULTADO DA IMPLEMENTAÇÃO DAS SOLUÇÕES
Demora no processo de compra dos insumos (kits, reagentes, entre outros).	Informar precocemente a demanda de insumos aos órgãos competentes.	Configuração de mecanismos de aquisição dos insumos necessários para o diagnóstico laboratorial, em especial para os insumos importados e com escassa oferta em território nacional.
Equipe sem treinamento para grandes demandas.	Realizar reuniões com a equipe a respeito dos pontos de maior dificuldade procurando sensibilizar os colaboradores sobre os problemas existentes em momento de grande demanda; Treinamento continuado da equipe nos processos de rotina.	Melhoria na comunicação entre os colaboradores envolvidos, na manutenção das práticas de qualidade e na padronização das etapas.
Mão de obra escassa.	Definir quais são as áreas críticas e qual o perfil dos profissionais a serem contratados. Informar aos órgãos competentes as necessidades do serviço.	Contratação de dois profissionais.
Equipamentos sem backup e sem contrato de manutenção preventiva e corretiva	Informar aos setores competentes: - A necessidade de aquisição de novos equipamentos para backup, salientando sua importância para momentos de alta demanda, visto que possibilitam a substituição nos casos de avaria e minimizam o desgaste dos aparelhos utilizados diariamente na rotina; - A importância da realização de contrato de manutenção preventiva e corretiva, que garante o funcionamento adequado dos equipamentos.	Aquisição de novos equipamentos de maior impacto no processo, melhorando o fluxo das amostras, devido a possibilidade de aumentar a capacidade de processamento das amostras, além de permitir que não haja interrupções no processo, no caso da ocorrência de avaria em um dos aparelhos. Contrato de manutenção preventiva e corretiva para os equipamentos de maior produtividade na rotina.

Espaço físico inadequado e/ou insuficiente para o quantitativo de amostras recebidas para análise.	Reorganização da área técnica, utilização de paletes para arrumação das caixas de amostras no piso sob as bancadas. Identificação e organização das caixas por estado de origem e data de chegada ao laboratório.	Melhoria na organização interna. A identificação das caixas de amostras logo após o seu recebimento possibilitou maior agilidade na rastreabilidade das amostras em especial as consideradas de caráter emergencial.
Padronização dos novos anticorpos e implementação e/ou adequação de novas técnicas e protocolos de acordo com a nova demanda.	Parcerias com instituições de referência para implementação e aperfeiçoamento de protocolos. Padronização de técnicas e protocolos dentro das normas de qualidade.	Estabelecimento de técnicas e protocolos padronizados proporcionou maior agilidade e segurança na confecção das técnicas de histoquímica e imuno-histoquímica.
Identificação de não conformidades na fase pré-analítica.	Promover o reconhecimento imediato das inconsistências referentes as informações das amostras recebidas com comunicação imediata aos setores responsáveis.	Tratamento ágil das não conformidades e a inclusão da amostra no fluxo laboratorial para sua análise no prazo adequado.
Extravio de amostras ou desagregação das amostras de um mesmo caso durante o processo.	Readequação do fluxo laboratorial realizado em cada amostra, desde o seu recebimento no serviço até o diagnóstico histopatológico. As amostras relativas a um mesmo caso passaram a ser mantidas juntas e anexadas a requisição correspondente em todas as etapas, sendo o técnico responsável por verificar se cada requisição está acompanhada das respectivas amostras antes de dar continuidade a próxima etapa do fluxo.	Readequação do fluxo laboratorial das amostras possibilitou a redução de erros no processo e minimizou o tempo de espera do patologista para obter todas as lâminas do mesmo caso e dar início ao diagnóstico histopatológico e, consequentemente, a liberação do resultado.

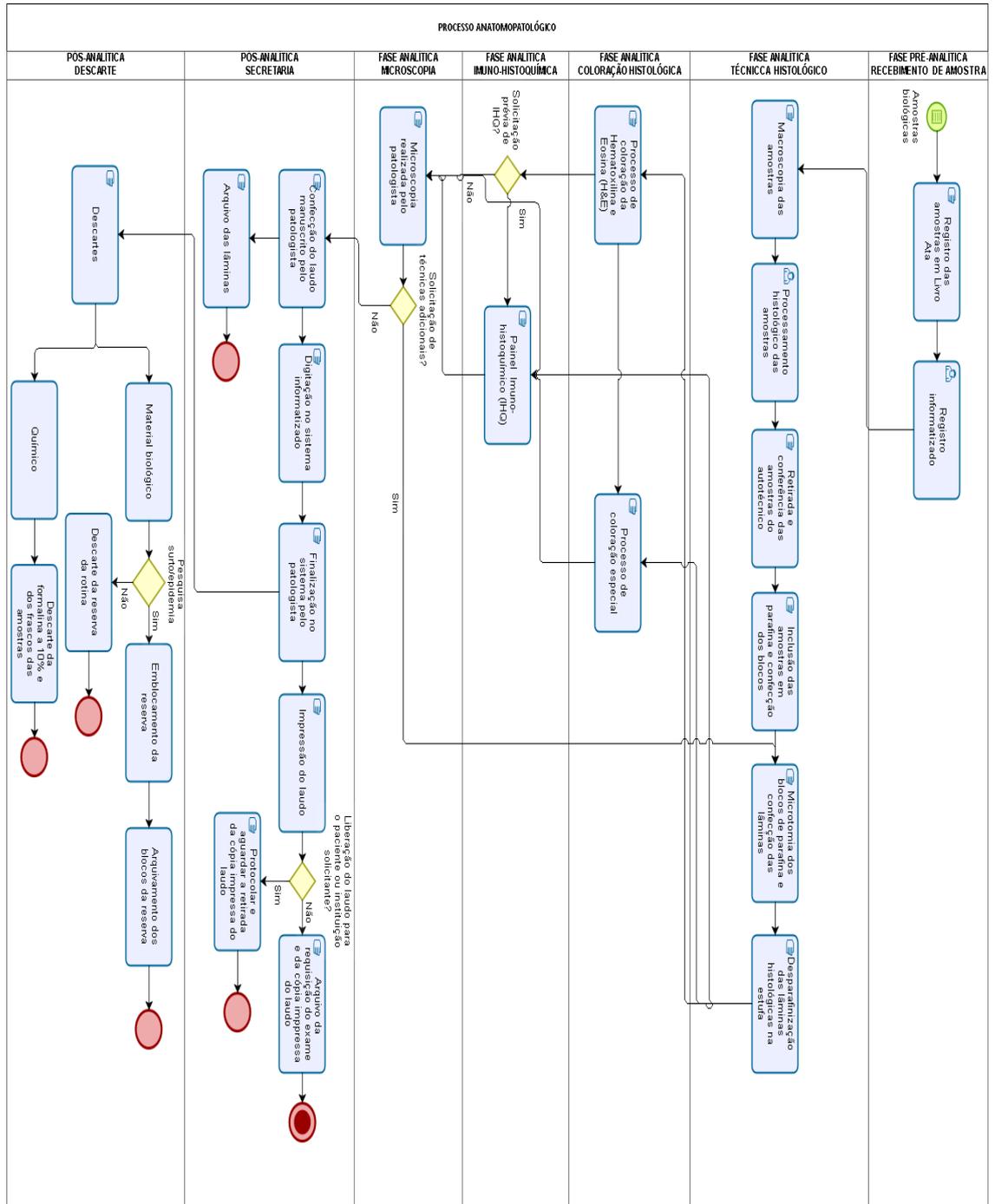
Fonte: elaborado pela autora.

5.2 FLUXOGRAMA

O fluxograma do processo técnico das amostras recebidas pelo SeAP/INI, apresentado na figura 3, mostra as etapas do fluxo desde a entrada do material até a finalização do laudo no sistema informatizado. As notações BPMN utilizadas no

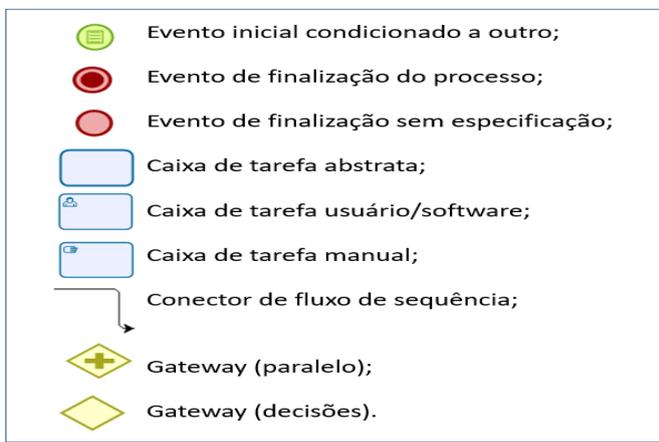
fluxograma modelado pelo Bizage Modeler 3.1 estão demonstradas no quadro 2.

Figura 3 - Fluxograma das amostras recebidas pelo Serviço de Anatomia Patológica do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas.



Nota: adaptado do fluxograma do Serviço de Anatomia Patológica do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas/Fiocruz.
 Fonte: Bizagi Modeler 3.1.

Quadro 2 - Notações BPMN utilizadas no fluxograma do Serviço de Anatomia Patológica do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas.



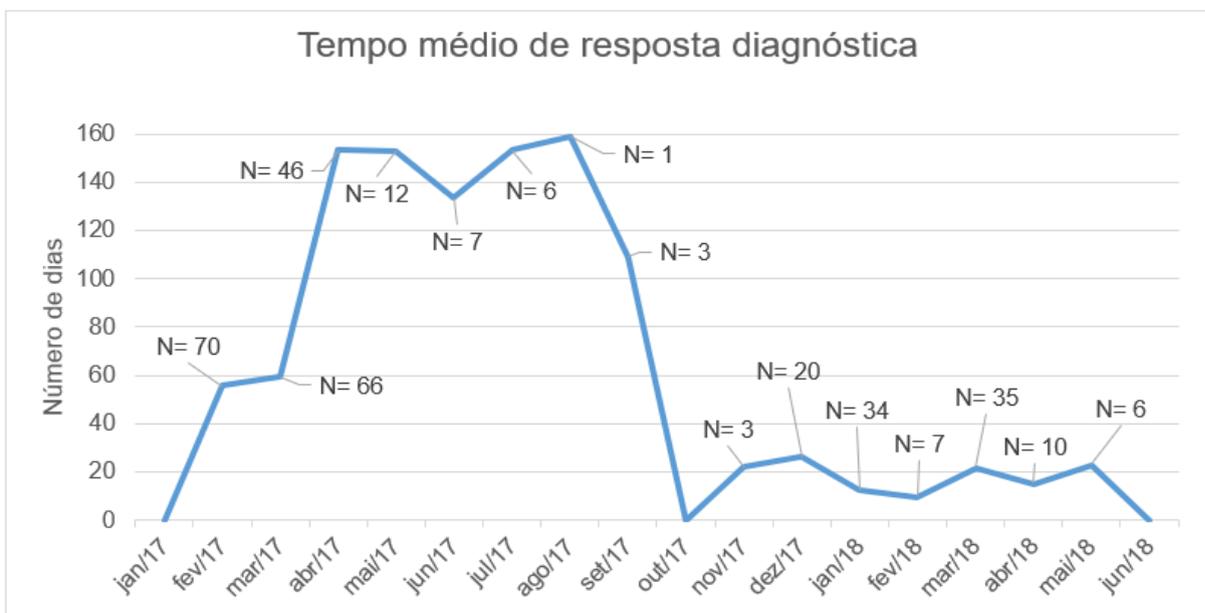
Fonte adaptada: software Bizagi Modeler 3.1.

5.3 INDICADORES DA QUALIDADE

5.3.1 Tempo médio de liberação dos laudos e quantitativo de casos que ultrapassaram o prazo de 30 dias

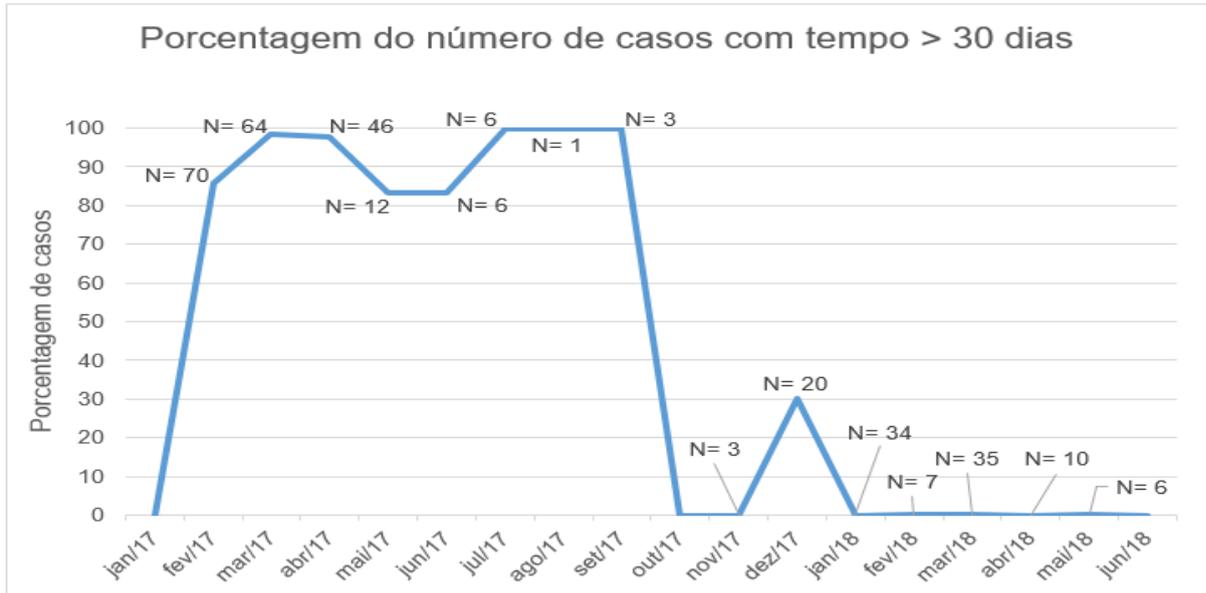
No início da epizootia de FA, o tempo médio de liberação dos laudos era superior a 150 dias e a porcentagem do número de casos que ultrapassaram 30 dias para liberação do diagnóstico chegava a quase 100%. Após implementação das melhorias apresentadas no quadro 1 e na figura 3, houve diminuição do tempo médio de resposta diagnóstica e do percentual de casos com resultados liberados fora do prazo (figuras 4 e 5). A partir de janeiro de 2018 até o final do período avaliado, todos os casos recebidos tiveram resultados liberados dentro do prazo.

Figura 4 - Tempo médio de resposta diagnóstica dos casos de primatas não humanos com diagnóstico imuno-histoquímico positivo para febre amarela recebidos pelo Serviço de Anatomia Patológica do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, de janeiro de 2016 a junho de 2018.



Legenda: "N" - número de casos positivos para febre amarela ao longo do período de estudo.
 Nota: dados extraídos do sistema GAL.
 Fonte: elaborado pela autora.

Figura 5 - Porcentagem do número de casos de primatas não humanos com diagnóstico imuno-histoquímico positivo para febre amarela com tempo de liberação do diagnóstico superior a 30 dias, no período de janeiro de 2017 a junho de 2018.



Legenda: "N" - numérico de casos positivos para febre amarela ao longo do período de estudo.

Nota: dados extraídos do sistema GAL.

Fonte: elaborado pela autora.

5.4 ELABORAÇÃO DE MANUAL TÉCNICO

Para a elaboração do manual técnico, foi construído um sumário preliminar, apresentado no quadro 3 no qual se encontram elencadas as seções e subseções abordadas, assim como uma breve proposta para cada uma delas.

Quadro 3 - Seções e subseções abordadas no manual técnico.

Sumário		
Tópicos	Subtópicos	Descrição
Introdução		Aspectos gerais das doenças infecciosas emergentes; Vigilância Epidemiológica.

Sistema de Gestão da Qualidade		<p>Importância do Sistema da qualidade na padronização de fluxos laboratoriais; Etapas pré-analítica, analítica e pós-analítica; Rastreabilidade de amostras, dados e resultados; Procedimentos Operacionais Padrão (POP) e formulários de controle dos processos; Biossegurança e prevenção de acidentes; Validações, calibrações e manutenções de equipamentos; Treinamentos e educação continuada da equipe; Descrição das não conformidades.</p>
Laboratório de Anatomia Patológica		<p>Atribuições do laboratório de anatomia patológica; A importância do laboratório de anatomia patológica para a vigilância de doenças.</p>
Fluxo dos procedimentos técnicos	Coleta, Recebimento e transporte de amostras	<p>Importância e particularidades de cada etapa; Descrição de procedimentos/técnicas. Documentos necessários para o controle interno dos processos e manutenção do sistema da qualidade; Situações críticas e solução de problemas; Justificativas para rejeição de amostras.</p>
	Registro de amostras	
	Macroscopia/clivagem de amostras	
	Processamento de amostras	
	Inclusão em parafina	
	Microtomia	
	Coloração Hematoxilina-Eosina	
	Técnicas histoquímicas especiais	
	Técnica de Imuno-histoquímica	
	Microscopia/Análise histopatológica	
Diagnóstico/Resultado	<p>Resultado manuscrito e normas aplicáveis; Digitação de laudos; Checagem e liberação de laudo no</p>	

		sistema informatizado.
Arquivamento de laudo, lâminas e blocos de parafina		Arquivamento de amostras de origem humana/animal e em instituições de assistência e pesquisa; Formas de controle da cessão de material.
Gerenciamento de rejeitos químicos e biológicos		Rejeitos de um laboratório de anatomia patológica; Programa de Gerenciamento de Resíduos de Serviços de Saúde.
Indicadores da Qualidade		Meta estabelecida para o tempo de resposta diagnóstica; Tempo médio de liberação do resultado; Número de casos que ultrapassaram o prazo para resposta diagnóstica.

Fonte: Elaborado pela autora.

5.5 MANUAL TÉCNICO PARA OTIMIZAÇÃO DO FLUXO DE AMOSTRAS PARA O DIAGNÓSTICO ANATOMOPATOLÓGICO FRENTE A EPIDEMIAS DE DOENÇAS INFECCIOSAS

5.5.1 Introdução do manual

As doenças infecciosas apresentam características singulares que as distinguem das outras: possuem expressiva capacidade adaptativa e de transmissibilidade e causam grande impacto na humanidade. Até os dias atuais, elas representam um sério problema de saúde pública, sendo importante causa de morbidade e mortalidade humana. A emergência de novas doenças e a reemergência daquelas que provocaram grandes epidemias no passado têm sido um desafio aos programas de prevenção (FAUCI; MORENS, 2012; LIMA-CAMARA, 2016; WORLD

HEALTH ORGANIZATION, 2018).

As modificações sociais e econômicas globais, assim como o desenvolvimento de vacinas e antimicrobianos, facilitaram o controle e a erradicação de algumas doenças infecciosas, entretanto, essas mudanças também levaram ao surgimento e a reemergência de outras doenças, uma vez que afetam a movimentação dos patógenos, a diversidade, a resistência a medicamentos e a persistência da virulência (NII-TREBI, 2017; ROMANELLI et al., 2015). Além disso, fatores como sistemas de saúde e vigilância frágeis, com capacidade limitada de diagnóstico laboratorial, globalização da circulação humana e animal, urbanização desordenada, mudanças climáticas e a expansão geográfica dos vetores artrópodes propiciam o surgimento e a rápida disseminação de doenças epidêmicas (BULIVA et al., 2017).

Algumas doenças como chikungunya, dengue, doença de Chagas, febre amarela, febre maculosa, febre mayaro, filariose linfática, hantavirose, influenza, leishmanioses tegumentar e visceral, leptospirose, malária, febre do Nilo Ocidental, oncocercose, oropouche, peste, poliomielite/paralisia flácida aguda, raiva, rubéola, Zika e síndrome congênita do vírus Zika possuem potencial de dispersão, adaptação a novos ambientes, variedade de hospedeiros e uma importante capacidade de causar grandes epidemias. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), as doenças transmitidas por vetores, como a dengue, febre amarela, malária, esquistossomose, leishmaniose, doença de Chagas e peste, representam mais de 17% das doenças infecciosas no mundo, causando mais de 700 mil mortes por ano e prejuízos na economia dos países afetados (OPAS/OMS BRASIL, 2018).

No Brasil, questões ambientais, como a urbanização desordenada, a modificação de ecossistemas e o desmatamento apresentam um grande impacto no adoecimento e morte da população, uma vez que favorecem a proliferação de vetores e, conseqüentemente, a ocorrência das doenças por eles veiculadas. Além disso, a situação socioeconômica de desigualdade de condições de infraestrutura, saneamento básico e saúde são grandes complicadores nas epidemias de doenças infecciosas. O aumento expressivo do número de casos de arboviroses no Brasil tem representando um potencial desafio para a saúde pública, visto que, nos últimos anos, as epidemias de Zika, chikungunya e febre amarela, em regiões endêmicas para dengue, provocaram sérias complicações para os serviços de saúde e, conseqüentemente, para a população (LIMA-CAMARA, 2016; LOPES; NOZAWA; LINHARES, 2014; OPAS/OMS BRASIL, 2018).

Em 2019 foram registrados 1.439.471 casos prováveis de dengue, sendo 1.111 casos de dengue grave e 591 óbitos, 9.813 casos prováveis de Zika, sendo 447 em gestantes e 1 óbito e 110.627 casos prováveis de chikungunya, sendo 57 óbitos e destes 47 ocorreram no estado do Rio de Janeiro (BRASIL, 2019d). Entre 2017/2018, a febre amarela registrou o seu surto mais expressivo na região sudeste do Brasil, com 1.376 casos humanos e 483 óbitos, além de 864 epizootias (BRASIL, 2019a).

A emergência de diversos patógenos e a consequente ocorrência de surtos e epidemias têm sido descritas nos últimos anos, gerando grandes demandas para o sistema de saúde. Deste forma, investimentos estratégicos em infraestrutura, na qualificação profissional e no apoio ao desenvolvimento de pesquisas devem ser assegurados, permitindo a interação entre a ciência laboratorial e a epidemiologia para otimizar a prática da vigilância em saúde (BAGHERIAN et al., 2017; ELLWANGER; KAMINSKI; CHIES, 2019; OPAS/OMS BRASIL, 2018; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018).

Nessa conjuntura, a epidemia de febre amarela ocorrida entre 2017 e 2018 levou a um aumento expressivo do quantitativo de amostras recebidas pela rede de Laboratórios de Referência (LR), incluindo o Serviço de Anatomia Patológica (SeAP) do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI), gerando atraso na resposta diagnóstica. Dessa forma, mecanismos de controle da qualidade das atividades laboratoriais foram reformulados e intensificados para otimizar o fluxo dos processos das fases pré-analítica, analítica e pós analítica relacionados ao diagnóstico histopatológico e imuno-histoquímico e garantir uma resposta ágil e efetiva aos órgãos de vigilância.

O SeAP possui um papel estratégico para a vigilância da FA em PNH, uma vez que os exames histopatológico e imuno-histoquímico constituem uma importante ferramenta para o diagnóstico de casos fatais, nesses animais, permitindo a detecção precoce da circulação viral (BRASIL, 2017a; MASCHERETTI et al., 2013).

Com base na experiência do SeAP/INI na epidemia de FA em PNH, observou-se que não há dados na literatura que direcionem as atividades de um laboratório de anatomia patológica em momentos críticos. Em vista disso, o manual foi desenvolvido para que possa nortear e contribuir para o manejo de processos laboratoriais pelos laboratórios de anatomia patológica, ampliando sua capacidade de resposta frente a situações de emergência em saúde pública.

5.5.1.1 Iniciativa One Health

One Health é uma iniciativa que busca uma maior integração entre a medicina humana e veterinária, bem como o estabelecimento de colaborações em atendimento clínico, vigilância e controle de doenças infecciosas emergentes e reemergentes, educação, pesquisas médicas, diagnóstico, vacinação, entre outros para atingir a saúde global (DAY, 2016; PALATNIK-DE-SOUSA; DAY, 2011).

O conceito abrange tanto a população humana, quanto os animais domésticos, silvestres e de produção (p. ex., gado, porco e ave) e a interação com o meio ambiente e o impacto das mudanças antropogênicas no mundo (HARDER et al., 2016).

O foco principal da iniciativa One Health tem sido a reemergência de doenças infecciosas compartilhadas por seres humanos e animais, visto que 75% das infecções humanas recém-relatadas surgiram de um reservatório animal (DAY et al., 2012; KLUBERG et al., 2016). Tais infecções zoonóticas podem ser dos seguintes tipos:

- Infecções transmitidas diretamente de animais para seres humanos;
- Infecções transmitidas por vetores nas quais um animal ou humano é infectado pelo vetor;
- Infecções nas quais os animais atuam como um reservatório para a transmissão de doenças, potencializando a contaminação de alimentos e fontes de água.

As diretrizes da One Health se concentraram na vigilância para minimizar o potencial surgimento de novas doenças zoonóticas ou o ressurgimento de outras já estabelecidas (TAKASHIMA; DAY, 2014).

A mobilidade humana global, a conectividade intercontinental, a expansão da produção animal e a invasão de habitats silvestres contribuem para moldar a complexidade da epidemiologia das doenças infecciosas e é por essa razão que o conceito One Health prioriza o trabalho conjunto em prol da saúde global (ROMANELLI et al., 2015)

Dessa forma, a interação interdisciplinar do One Health possibilita a vigilância integrada na identificação de indicadores de alerta precoce em associação com a rápida implementação de medidas de prevenção e controle para reduzir a gravidade

das epidemias de doenças infecciosas (BENELLI; DUGGAN, 2018). Nesse contexto, o laboratório de anatomia patológica é uma ferramenta importante para a vigilância no diagnóstico de diversas doenças zoonóticas (PALATNIK-DE-SOUSA; DAY, 2011).

5.5.1.2 Vigilância Epidemiológica

A vigilância epidemiológica é um importante instrumento para a coleta sistemática, análise e interpretação de dados específicos sobre endemias e epidemias de doenças transmissíveis, sendo esses dados utilizados como base para o planejamento, a implementação e a avaliação de políticas públicas (ALMEIDA FILHO; BARRETO, 2011; CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION; MORBIDITY AND MORTALITY WEEKLY REPORT, 1998).

A vigilância possui funções que visam o alerta precoce às autoridades competentes de possíveis ameaças a população, estabelece e implementa sistemas eficazes de resposta para a detecção de ameaças a saúde de importância nacional e internacional e monitora tendências de endemias (BAGHERIAN et al., 2017; LIMA et al., 2019; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018).

Atualmente, muitos esforços estão sendo direcionados para o desenvolvimento e o fortalecimento do sistema de vigilância, de modo que possa se desenvolver uma rede de informação, dotada de recursos operacionais, para conduzir os problemas de saúde pública de forma célere e eficaz (BRASIL, 2004, 2019b).

5.5.2 Sistema de Gestão da Qualidade

O Sistema de Gestão da Qualidade (SGQ) é um conjunto de processos e procedimentos organizacionais necessários para o planejamento, execução, monitoramento e registro de atividades laboratoriais e para a provisão de meios adequados para realizá-las. Um SGQ bem estruturado promove relatórios completos e precisos e estabelece um meio pelo qual a conformidade das atividades pode ser conferida (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011). A criação de tal sistema envolve a definição da estrutura organizacional, de responsabilidades, procedimentos,

processos e recursos necessários para atingir os objetivos de avaliação de riscos, detectar desvios, corrigir erros, melhorar a eficiência e garantir a qualidade e integridade dos dados (WORLD HEALTH ORGANIZATION; DEPARTMENT OF IMMUNIZATION, VACCINES AND BIOLOGICALS, 2004).

Dentro desse contexto, encontra-se o programa de controle de qualidade, projetado para monitorar todas as etapas dos processos laboratoriais, desde a coleta até a finalização do exame. Este programa é utilizado não só para monitorar as etapas do processo técnico, mas também os equipamentos e os reagentes utilizados, a qualificação da equipe multidisciplinar e os testes de proficiência. Por esta razão, este controle é uma barreira para possíveis erros no processo e, uma vez que faz parte do SGQ, deve ser contínuo. Um programa de controle de qualidade bem articulado deve incluir um manual geral do laboratório e documentos individualizados das etapas laboratoriais, denominados procedimentos operacionais padrão (POP). Esses procedimentos devem conter todas as informações pertinentes a cada etapa do processo, registros de todos os equipamentos usados, equipamentos reserva, manutenções preventiva e corretiva realizadas, calibrações, registro da temperatura dos equipamentos e do ambiente, da umidade dos ambientes, cronograma de educação continuada para toda a equipe, ferramentas de monitoramento dos erros e, ainda, medidas objetivas de avaliação das práticas realizadas no laboratório como os indicadores da qualidade, que permitem analisar o desempenho técnico, por exemplo, a pontualidade no resultado (tempo de resposta), o quantitativo de perda de material ou a qualidade da técnica realizada (MOHAMMEDSALEH, 2014; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011).

Um programa de melhoria contínua da qualidade deve ser implementado na rotina laboratorial com o objetivo de reconhecer os potenciais problemas ou erros, visando prevenir falhas e ajudando a definir metas futuras de melhoria para o processo (ADYANTHAYA; JOSE, 2013; MOHAMMEDSALEH, 2014).

5.5.2.1 Importância do sistema da qualidade na padronização de fluxos laboratoriais

Precisão, confiabilidade e pontualidade definem o que é qualidade em

laboratórios. Todos os aspectos que envolvem os procedimentos laboratoriais devem ser confiáveis e os relatórios emitidos devem ser oportunos para que sejam úteis em um ambiente clínico ou de saúde pública (EL-NEGEH; MAYNARD; CORDNER, 1999; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011).

A complexidade do sistema de laboratório exige que muitos fatores sejam observados, controlados e mantidos, como o ambiente do laboratório, os procedimentos técnicos, a comunicação, a manutenção dos registros, a equipe, os reagentes e os equipamentos (EL-NEGEH; MAYNARD; CORDNER, 1999).

Desse modo, é importante desenvolver mecanismos de controle das atividades da rotina laboratorial, de treinamento contínuo do pessoal, da padronização dos processos e do fluxo técnico, uma vez que muitos procedimentos são executados ao mesmo tempo e um erro em qualquer parte do fluxo pode produzir um resultado falho (EL-NEGEH; MAYNARD; CORDNER, 1999; MOHAMMEDSALEH, 2014).

5.5.2.2 Processo laboratorial: etapas pré-analítica, analítica e pós-analítica

Ao longo dos anos houve uma grande evolução científica e tecnológica que modificou a forma de trabalho nas diferentes áreas da saúde. Nesse sentido, o maior aperfeiçoamento de técnicas laboratoriais, assim como sua maior disponibilidade têm levado ao aumento da demanda por sua utilização e por respostas rápidas. Por conseguinte, o processo laboratorial precisou eliminar trabalhos redundantes e desnecessários e criar mecanismo de controle para reduzir a possibilidade de erros no processo (SHARIF et al., 2007; SHCOLNIK, 2012; SOUSA; MENDES; SHCOLNIK, 2014).

Com a intenção de minimizar os erros e facilitar o controle da qualidade dos diversos processos que envolvem a rotina, convencionou-se a categorização dos processos em três fases denominadas: pré-analítica, analítica e pós-analítica (WORLD HEALTH ORGANIZATION et al., 2011, p. 10).

De um modo geral, a fase pré-analítica é iniciada com a coleta de amostra sucedida por sua identificação e fixação correta e por seu transporte até o laboratório, estando envolvidos nessa etapa o paciente e o profissional de saúde. A fase analítica contempla todo o processo técnico até o diagnóstico. A fase pós-analítica é o

momento da emissão do laudo e da interpretação dos resultados pelos serviços de saúde ou diretamente pelo paciente. Cada fase apresenta pontos críticos de possibilidade de erro que devem ser monitorados (RAO et al., 2016; SOUSA; MENDES; SHCOLNIK, 2014).

5.5.2.3 Rastreabilidade de amostras, dados e resultados

O controle de qualidade contínuo permite que o laboratório tenha a capacidade de rastrear qualquer etapa dos procedimentos realizados, ou seja, de conhecer todo o caminho realizado por uma amostra, desde a recepção até a emissão do laudo, bem como todo o procedimento realizado para o diagnóstico final. Assim, todas as informações pertencentes àquela amostra estão garantidas para eventuais consultas, sejam elas oriundas de auditorias, de erros detectados ou por solicitação do paciente ou de órgãos competentes (EL-NEGEH; MAYNARD; CORDNER, 1999).

Em anatomia patológica todas as etapas do processo, como, por exemplo, o recebimento de amostras ou a manutenção dos equipamentos, devem ter a data, a hora e a rubrica do profissional responsável como uma forma de controle. Outras estratégias podem ser adotadas a critério do laboratório, levando-se em consideração a manutenção do controle dos pontos de rastreabilidade de cada etapa (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011).

5.5.2.4 Procedimento Operacional Padrão (POP)

Procedimento operacional padrão (POP) é um documento criado especificamente para descrever as atividades necessárias para o laboratório de acordo com regulamentos, leis e diretrizes. O POP deve ser um passo a passo de cada atividade desenvolvida, usado para treinar funcionários, padronizar uma técnica ou cadastrar equipamentos, por exemplo (BARBÉ et al., 2016).

A utilização de POPs fornece consistência e confiabilidade aos dados e

atividades realizadas, uma vez que reduz os erros sistemáticos nos processos laboratoriais. Os POPs devem ser elaborados por pessoal técnico especializado, revisados pelo supervisor imediato e aprovados pela chefia do laboratório (ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA), 2007).

Cada POP deve ter uma apresentação padronizada, ou seja, uma vez estabelecida a formatação do documento, todos os outros devem seguir o mesmo modelo (EL-NEGEH; MAYNARD; CORDNER, 1999).

Os POPs podem ser submetidos a revisões periódicas anuais, a critério do sistema da qualidade, por solicitação da chefia, quando se identificam erros ou para mudanças de protocolo. As revisões devem ser implementadas por pessoal técnico especializado. Qualquer processo previamente definido e descrito no POP que sofra alterações deve ser validado antes de ser colocado em prática, comparando a precisão, a sensibilidade, a reprodutibilidade, a especificidade e a robustez (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011).

Na figura 6 encontra-se um modelo básico com as informações gerais, citadas, anteriormente, para elaboração de um POP.

Figura 6 - Sugestão de tópicos a serem abordados na elaboração de um procedimento operacional padrão (POP).

<p style="text-align: center;">PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRONIZADO (POP)</p> <p>TÍTULO: nome do procedimento (p. ex., técnicas histoquímicas).</p> <p>CÓDIGO DO POP: código que identifique o laboratório e um número relacionado a cada procedimento (p. ex., POP-LAB-001).</p> <p>EMISSÃO: data da elaboração do POP.</p> <p>RESPONSÁVEL: inserir os nomes do elaborador (profissional qualificado), revisor (chefia imediata) e aprovador (chefia geral).</p> <p>REVISÃO: data que o POP foi revisado e o número de vezes que o procedimento foi revisado, sendo o número zero (0) usado para identificar o documento original (p. ex.,</p>

revisão 0 em 01/01/2020).

OBJETIVO: expresso de forma clara e concisa.

ESCOPO: campo de aplicação e local específico onde o procedimento será executado.

DEFINIÇÃO/SIGLAS: significado dos termos apresentados no procedimento.

DESCRIÇÃO GERAL: elaborado de forma clara, sem ambiguidade, para que possa ser entendido por pessoas com ou sem experiência. As atividades devem ser descritas detalhadamente, sendo possível usar diagramas para melhorar o entendimento. Nesse campo, também podem ser definidas as responsabilidades sobre as atividades descritas.

PLANO DE AÇÃO: descrever o plano de contingência nos casos de pane ou inoperância de algum equipamento ou a falta de algum insumo imprescindível para a realização da etapa técnica ou qualquer outra situação que seja necessária uma intervenção para a manutenção das atividades do laboratório.

CONDIÇÕES DE SEGURANÇA: as medidas e condições de segurança devem ser escritas de forma clara, assim como os primeiros socorros. As folhas com os dados de segurança dos produtos químicos perigosos podem ser anexadas ao POP.

DOCUMENTOS: anexar todos os formulários, termos e outros documentos que são utilizados para registrar os dados e as medições, pertinentes ao procedimento em questão.

BIBLIOGRAFIA: todas as referências utilizadas para as informações técnicas apresentadas no procedimento.

DISTRIBUIÇÃO: inserir o local de destino das cópias que serão distribuídas e o número da cópia que será distribuída.

HISTÓRICO DE REVISÕES: registrar toda a movimentação de dados realizada no procedimento em questão. Informar o número da revisão, a data, a descrição das alterações e o revisor.

DESATIVAÇÃO: informar a data, o motivo da desativação do procedimento e o responsável.

Fonte adaptada: Environmental Protection Agency (EPA), 2007.

O POP que, na revisão, não apresentar alteração pode ser revalidado e, para esses casos, um formulário de revalidação pode ser anexado ao documento original. Essa revalidação pode ter a duração de um ano, caso seja apropriado para o controle

da qualidade do laboratório (BERTE; CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, 2011). As informações básicas para o formulário de revalidação estão apresentadas na figura 7.

Figura 7 - Informações básicas para elaboração de um formulário de revalidação de um Procedimento Operacional Padrão.

FORMULÁRIO DE REVALIDAÇÃO DE DOCUMENTO	
TÍTULO:	revisão sem alteração/revalidação de documento.
CÓDIGO:	sigla para identificar o formulário e o número correspondente ao formulário.
POP:	nome e número do POP que será revalidado.
REVISÃO:	número e data da revisão.
REVALIDAÇÃO:	data da revalidação, responsável pela revalidação e o aprovador (que pode ser o chefe geral do laboratório).

Fonte: elaborado pela autora.

5.5.2.5 Formulários e planilhas de controle dos processos

Os formulários e as planilhas utilizados para o controle dos processos relativos às atividades laboratoriais devem ser confeccionados a partir das necessidades de cada laboratório e de acordo com as definições previamente estabelecidas pelo sistema de gestão da qualidade. Vários exemplos de roteiros para elaboração de formulários e mapas de controle utilizados na rotina de um laboratório de anatomia patológica estão demonstrados em cada etapa do processo técnico descrita nesse manual.

Os funcionários relacionados a atividade para qual o formulário foi elaborado devem ser treinados antes da implementação do mesmo. Assim como nos POPs, os formulários e planilhas também devem passar pelo crivo da chefia imediata e da chefia geral do laboratório (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011).

5.5.2.6 Equipamentos

O gerenciamento adequado dos equipamentos no laboratório é necessário para garantir procedimentos precisos, confiáveis e resultados oportunos. Os benefícios de um bom programa de gerenciamento de equipamentos são muitos, dentre eles, o alto nível de desempenho, a redução na variação dos processos, a confiança na precisão dos resultados, o aumento da vida útil do equipamento, a redução dos períodos de interrupção dos serviços devido a falhas e reparos, além de aumentar a segurança dos profissionais do setor (FONJUNGO et al., 2011).

Quando o laboratório pretende planejar o gerenciamento dos equipamentos alguns pontos importantes devem ser observados:

- requisitos de instalação e de garantia;
- critérios de calibração e validação do funcionamento do equipamento;
- cronograma de manutenção de acordo com especificações do fabricante;
- POP que descreva as características e funcionalidades do equipamento, além de um instrutivo do procedimento de controle e a solução de problemas básicos que possam ocorrer;
- serviços de reparos necessários em sua área geográfica;
- treinamento dos profissionais que utilizarão o equipamento.

O laboratório pode realizar o gerenciamento dos equipamentos de maneira manual ou pode optar por um sistema informatizado. Contudo, nos dois sistemas, manual ou informatizado, caberá ao chefe do laboratório atribuir responsabilidades para todas as atividades, garantir que todos os profissionais sejam treinados e monitorar as atividades de gerenciamento dos equipamentos, incluindo a revisão de todos os registros de equipamentos rotineiramente e a atualização dos procedimentos de manutenção, de forma que garanta o cumprimento de todos os procedimentos (FONJUNGO et al., 2011; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011).

Formulários de manutenção, limpeza, calibração e temperatura podem ser elaborados sempre que pertinente e disponibilizados para serem preenchidos pela equipe técnica com as informações relativas à rotina de utilização do equipamento.

Gráficos, listas de verificação, relatórios, etiquetas e diários de bordo também podem ser ferramentas úteis para manter esses registros (EL-NEGEH; MAYNARD; CORDNER, 1999; FONJUNGO et al., 2011).

O laboratório deve manter um registro atualizado de inventário de todos os seus equipamentos. O inventário deve apresentar o tipo de equipamento, a marca, modelo, número de série, fabricante, código do equipamento, localização, responsável técnico, se possui contrato de manutenção preventiva, as datas de aquisição e de garantia, a data da próxima avaliação, informações de contato do fabricante/fornecedor e se possui reserva (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011).

5.5.2.7 Biossegurança e prevenção de acidentes

Segurança de laboratório é um assunto importante, visto que pode proteger a vida dos funcionários, da comunidade e do meio ambiente. Para garantir a qualidade e a segurança durante os processos de laboratório é necessário que todos os profissionais estejam cientes das regras e processos básicos de segurança e biossegurança, como por exemplo, não comer, não beber, não fumar, não usar maquiagem, não usar os cabelos soltos, não usar lentes de contato, não usar sapatos abertos ou sandálias, não pipetar com a boca, não inalar nenhum produto químico, lavar as mãos após cada procedimento, usar álcool gel, usar EPIs, respeitar as etiquetas de sinalização e conhecer os POPs relativos a cada atividade (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2004, 2011).

Dentro do contexto, a organização do laboratório, os equipamentos de segurança individual e coletiva, o descarte de material biológico e químico são alguns dos fatores que necessitam de atenção constante quando o assunto é biossegurança (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011). A avaliação de riscos potenciais é necessária e requer medidas preventivas apropriadas. É necessário desenvolver procedimentos de segurança que descrevam o que fazer em caso de acidentes, ferimentos ou contaminação. Além disso, é importante manter um registro das exposições da equipe a riscos, ações tomadas e procedimentos implementados para evitar ocorrências futuras (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2004).

Treinamentos de biossegurança e boas práticas de laboratório devem ser

ofertados a todos os profissionais, nas modalidades presencial ou por educação a distância (EAD), em períodos de tempo previamente determinados levando em consideração as necessidades do laboratório (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2004, 2011).

Na sequência estão descritos alguns itens básicos que são críticos na gestão de segurança laboratorial (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2005; BRASIL, 2014, 2018a, 2019c; NATIONAL INSTITUTE FOR OCCUPATION SAFETY AND HEALTH. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2007, 2020):

5.5.2.7.1 *Laboratório*

a) Ventilação adequada

Sistema de ar condicionado central e de exaustão, com manutenção preventiva dos filtros.

b) Espaço físico

Espaço adequado para circulação de pessoas, carrinhos de insumos e equipamentos.

c) Salas

Salas com paredes e teto com pintura que permita lavar ou revestimentos com material resistente a lavagem e a desinfecção. O piso deve ser sem arestas de fácil limpeza e desinfecção.

d) Bancadas de laboratório

As bancadas devem ser confeccionadas com materiais duráveis e fáceis de desinfetar. Sua estrutura deve ser fixa e permitir a instalação de equipamentos sem trepidação. Bancadas feitas de ladrilhos cerâmicos, apesar de fáceis de limpar e duráveis, necessitam de desinfecção regular, porque o rejunte abriga microrganismos. A madeira não deve ser usada, pois não é fácil de limpar ou desinfetar, se deteriora com o tempo e quando exposta repetidamente a desinfetantes e detergentes, além de

ser absorvente. O aço pode ser utilizado, mas enferruja quando lavado com cloro. É aconselhável que as bancadas sejam organizadas de acordo com o tipo de análise a ser realizada, que tenham pias próprias para uso em laboratório, espaço adequado para equipamentos e para evitar contaminação cruzada.

e) Acesso as salas

O acesso deve ser restrito a pessoas autorizadas e o controle deve ser realizado por meio de fechaduras ou controle eletrônico por digitais ou por meio do crachá de identificação pessoal.

f) Detectores de fumaça

Devem ser instalados em todas as salas, preferencialmente, com sistema de aviso remoto.

g) Limpeza

As áreas do laboratório devem ser limpas regularmente, principalmente as bancadas, após a conclusão dos exames e, caso ocorram, derramamentos de amostras ou reagentes. A limpeza deve ser realizada por pessoal treinado e com a utilização de substâncias pertinentes ao risco biológico inerente a cada tipo de amostra.

5.5.2.7.2 *Equipamento de proteção individual (EPI)*

a) Luvas

Descartáveis de látex e nitrílica e reutilizáveis de proteção contra altas e baixas temperaturas.

b) Máscaras

Descartáveis, para proteção contra gotículas e aerossóis PFF-2 N 95 e reutilizáveis, contra vapores orgânicos chamadas de respiradores purificadores de ar semifaciais CA 4115.

- c) Óculos
Proteção contra respingos.
- d) Jaleco
Descartável tipo avental, material impermeável, mangas longas e elástico no punho.
- e) Protetor facial
Reutilizável, contra respingos de líquidos criogênicos.
- f) Touca capilar
Descartável, material impermeável.
- g) Calçados de segurança
Fechados, de preferência que cubra todo o pé.

5.5.2.7.3 *Equipamento de proteção coletiva (EPC)*

- a) Exaustores
Contenção de vapores, gases e aerossóis.
- b) Armários corta fogo
Armazenamento dos químicos inflamáveis.
- c) Cabine de fluxo laminar
Manipulação de amostras com risco biológico.
- d) Cabine de exaustão
Para contenção dos vapores oriundos das reações químicas.
- e) Extintores de incêndio
Água ou espuma para combustíveis comuns, pó CO² para líquidos inflamáveis

e equipamentos eletrônicos e o pó multiuso para qualquer categoria de incêndio.

f) Coletores de resíduos

Para armazenamento temporário dos resíduos químico e biológico.

g) Chuveiro de emergência e lava-olhos

Para os primeiros socorros em caso de acidente.

h) Placas de sinalização ou etiquetas

Avisos e instruções para precauções de segurança.

5.5.2.7.4 *Gerenciamento de resíduos*

O gerenciamento de resíduos de laboratório é uma questão crítica. Cada instituição possui uma política interna de descarte de material biológico, químico e/ou radioativo que deve ser levada em consideração (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011).

Todos os materiais potencialmente perigosos devem ser tratados de maneira específica, antes de serem acondicionados em recipientes próprios separados e identificados de maneira clara (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2004).

Os resíduos como os perfurocortantes, agulhas ou objetos de vidro quebrados devem ter uma atenção especial. As caixas próprias para descarte desse tipo de objetos devem estar acessíveis à equipe do laboratório (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT), 1993).

Os resíduos biológicos potencialmente contaminados devem ser descartados segundo os procedimentos específicos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2004). O lixo comum ou a rede de esgoto sanitário não devem ser utilizados para descartar material biológico potencialmente infectante, químico e/ou radioativo (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2016).

Recomendações do Controle de Qualidade

Todas as etapas realizadas no fluxo laboratorial, assim como todos os protocolos utilizados devem estar descritos em um POP.

Todos os profissionais devem ser treinados em todos os POPs elaborados pelo laboratório e retreinados anualmente ou quando alguma falha for detectada.

Ao término de cada atividade o profissional deve anotar a data, a hora e rubricar todos os documentos, mapas, planilhas, livros de protocolo ou qualquer outro mecanismo de controle relacionado a atividade que estava exercendo.

5.5.3 Laboratório de Anatomia Patológica

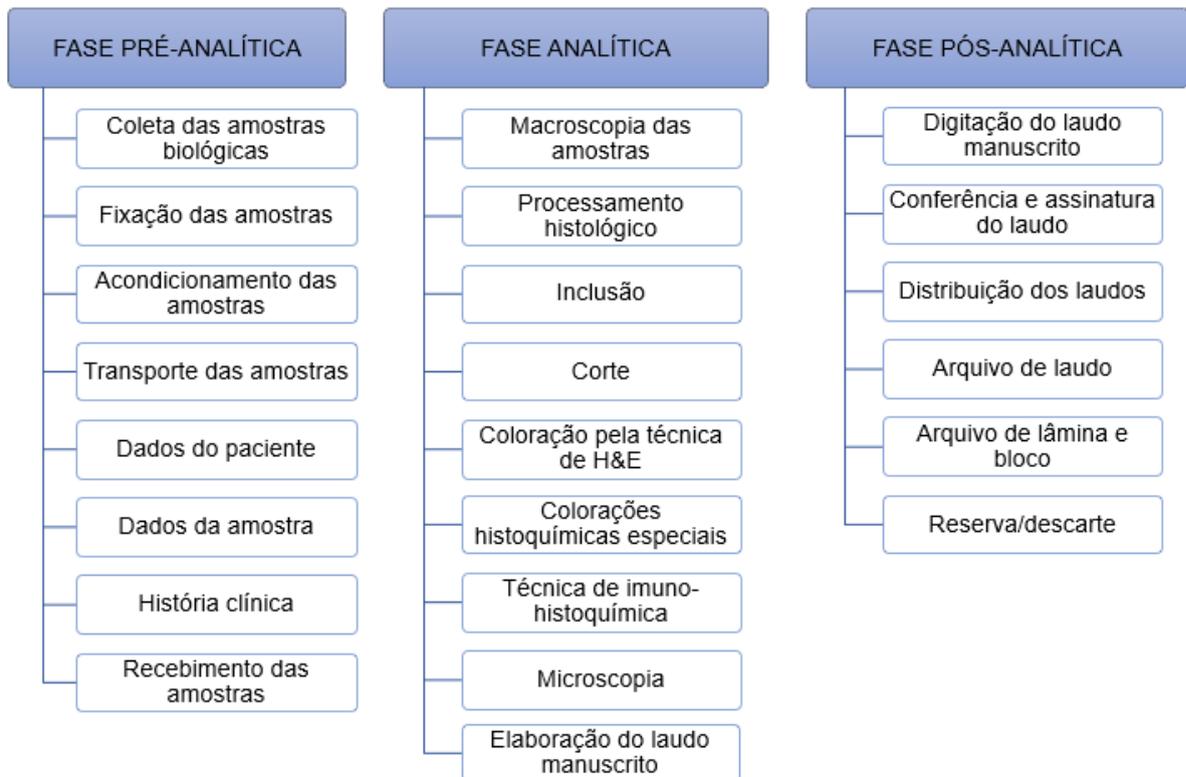
A anatomia patológica compreende a análise morfológica de órgãos, tecidos e células, com o objetivo de determinar ou contribuir para o diagnóstico de lesões e das respectivas doenças, com implicações no tratamento e prognóstico (ADYANTHAYA; JOSE, 2013). Sua importância é estabelecida não só por sua atividade de diagnóstico na assistência em saúde, mas por sua contribuição na pesquisa, na vigilância e na prevenção de surtos e epidemias, uma vez que possibilita o diagnóstico em tecidos fixados e parafinados de seres humanos e animais, de casos fatais ou não (MOHAMMEDSALEH, 2014).

Com o objetivo fundamental de garantir resultados precisos e de qualidade, os laboratórios de anatomia patológica estão buscando cada vez mais a qualidade nos seus processos, e a gestão de qualidade se tornou uma parte essencial da operação diária desses laboratórios (MUKHOPADHYAY, 2011).

Laboratórios de anatomia patológica têm peculiaridades em seu complexo processo técnico, onde a amostra é repetidamente manuseada gerando vários pontos que necessitam de verificação e controle diários (GUPTA et al., 2009). Assim sendo, todas as etapas do processo histológico devem ser descritas, individualmente, em POPs para uniformizar a rotina, garantindo a qualidade do processo e, conseqüentemente, minimizando os erros. Dessa forma, a elaboração de um programa de melhoria contínua da qualidade deve se concentrar nas fases pré-analítica, analítica e pós-analítica, conforme demonstrado na figura 8 (RAO et al.,

2016; VALENSTEIN; SIROTA, 2004).

Figura 8 - Fases pré-analítica, analítica e pós-analítica do sistema de melhoria da qualidade de um laboratório de anatomia patológica.



Fonte: elaborado pela autora.

Serviços de alta qualidade podem ser alcançados, porém para que isso ocorra de maneira efetiva, é necessário implementar um sistema de gestão da qualidade, onde haja integração entre técnicos, gestores e patologistas, para que todos os profissionais, de todos os setores, possam estar sensibilizados com as diretrizes propostas (ADYANTHAYA; JOSE, 2013).

5.5.4 Procedimentos histotécnicos

A histotécnica ou técnica histológica constitui diversos procedimentos que utilizam reações físico-químicas para preservar, cortar e corar tecidos e, assim,

favorecer sua visualização microscópica e permitir reconhecer alterações morfológicas associadas a doenças. Diversas técnicas estão disponíveis como a citoquímica, histoquímica, imuno-histoquímica e a hibridização in situ (SLAOUI; FIETTE, 2011).

Nesse manual serão apresentados os procedimentos técnicos relacionados ao preparo das amostras para visualização no microscópio óptico, de acordo com os protocolos utilizados na rotina do SeAP/INI/Fiocruz/Laboratório de Referência no Diagnóstico das Doenças Infecciosas/MS. Primando por práticas da garantia da qualidade que visam detectar, reduzir e corrigir deficiências nas fases pré-analítica, analítica e pós-analítica do processo técnico, estabelecendo mecanismos de melhoria úteis em períodos críticos e de avultamento da demanda (ODEGA, 2015).

5.5.4.1 Fase Pré-analítica: coleta, fixação e transporte de amostras

5.5.4.1.1 *Coleta de amostras*

Usualmente, a coleta de amostra biológica (biopsia, peça cirúrgica ou necropsia) não é realizada pelo laboratório de anatomia patológica. Porém, essa fase requer um controle meticuloso quanto a identificação do paciente e da amostra e/ou peça cirúrgica, assim como na escolha do recipiente e do agente fixador, no armazenamento e no transporte até o laboratório (CAPUTO; GITIRANA; MANSO, 2010; MICHALANY, 1998).

A coleta da amostra biológica, seja ela de origem humana ou animal, deve ser previamente definida levando-se em consideração as características próprias de cada amostra e o propósito do procedimento (indicação clínica, pesquisa ou ensino). Dessa forma, será possível definir o melhor tipo de fixador e a técnica mais adequada para se obter preparados histológicos de qualidade (CAPUTO; GITIRANA; MANSO, 2010; MICHALANY, 1998).

Para o melhor manuseio da amostra, o recipiente deve possuir abertura suficientemente larga para passagem da peça ou fragmento após fixação, e permitir

fechamento adequado, de preferência com tampa de rosquear, para evitar vazamentos. O frasco deve possuir um tamanho apropriado para comportar a amostra e um volume de solução fixadora 20 vezes o volume da amostra, conforme a figura 9 (MICHALANY, 1998).

A solicitação do exame precisa ser preenchida de forma legível, contendo os dados do paciente (nome, idade e sexo), gênero ou espécie (para amostras de origem animal), local de origem, informações clínicas, hipótese diagnóstica, topografia da amostra, data e hora da coleta e médico/veterinário solicitante (CAPUTO; GITIRANA; MANSO, 2010; MICHALANY, 1998).

Figura 9 - Recipientes com as características ideais para o melhor manuseio da amostra histológica.



Legenda: a e b) Sugestão de frasco adequado ao acondicionamento de amostra histológica; c) Frasco contendo solução fixadora em quantidade adequada ao tamanho da amostra; d) A amostra pode ser retirada com facilidade do frasco.
Fonte: imagem cedida pelo SeAP/INI (2019).

Recomendações do Controle de Qualidade

As normas estabelecidas pelo laboratório para o envio de amostras devem ser disponibilizadas a todas as unidades de saúde para assegurar que a amostra chegue ao laboratório dentro do padrão ideal previamente estipulado, vide figura 10.

Figura 10 - Sugestão de normas estabelecidas pelo laboratório sobre o recebimento de amostras.

INSTRUÇÕES DE ENVIO DE AMOSTRAS DE TECIDO HUMANO E/OU ANIMAL

EXAME: tipos de exame realizados pelo laboratório (p. ex., histopatológico e imuno-histoquímico).

MATERIAL: podem ser listados todos os materiais recebidos ou apenas informar que o laboratório recebe amostras de tecido humano e/ou animal e blocos de parafina e/ou lâminas histológicas.

INSTRUÇÕES: podem ser escritas todas as instruções que o laboratório achar pertinente, de forma clara e precisa, para o correto envio das amostras de tecido (p. ex., a solução fixadora mais adequada, o tipo de frasco ideal para a amostra ou dados importantes sobre o paciente e a amostra).

TEMPO DE LIBERAÇÃO DO LAUDO: o tempo estimado para liberação do laudo deve ser a critério do laboratório e levando em consideração a demanda recebida.

OBSERVAÇÕES: o objetivo deste documento é informar e esclarecer dúvidas sobre o envio de amostras de tecido humano e/ou animal para o laboratório de anatomia patológica. Sendo assim, o laboratório deve priorizar dados relevantes ao correto envio das amostras. Esse campo deve ser para os detalhes que não cabem nas instruções (p. ex., a forma que as amostras devem ser transportadas dentro da unidade de saúde até o laboratório de destino).

REJEIÇÃO DE AMOSTRA: informar quais são os critérios para rejeição de amostra preconizados pelo laboratório. Considere o exemplo a seguir como uma sugestão:

As amostras serão rejeitadas e reencaminhadas ao solicitante através do portador, quando:

- a identificação da requisição médica não é a mesma identificação do frasco;
- o frasco não apresentar nenhuma identificação;
- a requisição médica apresenta preenchimento incompleto.

Nota: para fins de controle e rastreabilidade, sugere-se inserir neste documento o número do POP em que as informações estejam contidas.

Fonte: elaborado pela autora.

5.5.4.1.2 *Fixação*

Os tecidos começam a se deteriorar logo após a sua retirada do corpo ou à morte do organismo, devido à perda do suprimento vascular, a ação de enzimas autolíticas e de bactérias, progredindo rapidamente em tecidos ricos em enzimas e mais lentamente em tecidos com grande concentração de fibras elásticas e colágeno. A autólise desconfigura a morfologia das células, além de prejudicar a afinidade tintorial das estruturas celulares. Portanto, é determinante interromper a autólise e a putrefação, imediatamente após a coleta, submergindo a amostra biológica em uma solução fixadora pertinente, pelo tempo necessário, com a finalidade de preservar o tecido, proporcionar maior rigidez e resistência a amostra para as outras etapas do processo, evitar os danos osmóticos, prevenir o inchaço ou encolhimento da amostra, preservar antígenos e os constituintes celulares. A etapa de fixação garante a preservação da amostra tecidual, determinando a qualidade final do preparado histológico (RAI; BHARDWAJ; VERMA, 2016).

Existem dois tipos de fixação: a física e a química.

a) Fixação física

Compreende o aquecimento ou congelamento da amostra biológica.

No aquecimento as proteínas se coagulam e cessam o processo de autólise, porém esse processo altera profundamente os tecidos.

No congelamento ocorre o impedimento da progressão da autólise e promove o endurecimento do tecido, o que permite o preparo de cortes para análise imediata. Esse processo não inativa a maioria das enzimas e mantém a conformação natural de muitas proteínas, sendo ideal para o estudo de lipídios contidos nos tecidos. (MICHALANY, 1998).

b) Fixação química

Compreende agentes químicos utilizados para estabilizar as biomoléculas (ARMED FORCES INSTITUTE OF PATHOLOGY (U.S.), 1995).

A combinação entre a fixação física e química é comum, pois os agentes fixadores podem interagir com a temperatura ambiente, por exemplo. Sabemos que fixadores expostos a temperaturas entre 37-40 °C penetram mais rapidamente no tecido, porém podem ocasionar uma acentuada digestão. No entanto, em baixas

temperaturas tornam-se lentos, possibilitando uma fixação morosa e menos agressiva aos componentes teciduais (ARMED FORCES INSTITUTE OF PATHOLOGY (U.S.), 1995).

A seguir o quadro 4 apresenta os fixadores mais utilizados e sua aplicabilidade em laboratório de anatomia patológica.

Quadro 4 - Mecanismo de ação, os fixadores mais utilizados e a aplicabilidade em laboratórios de anatomia patológica.

Mecanismos de ação	Fixadores mais utilizados	Aplicabilidade
Reticuladores	Formaldeído	Uso geral em histoquímica e imuno-histoquímica
	Glutaraldeído	Microscopia eletrônica
Oxidantes	Tetróxido de ósmio e permanganato de potássio	Microscopia eletrônica
Desnaturantes ou coagulantes	Metanol, etanol e acetona	Pequenos fragmentos em histoquímica
	Ácido acético	Pequenos fragmentos em histoquímica e Imuno-histoquímica

Fonte adaptada: Rai; Bhardwaj; Verma, 2016.

Diversos fatores podem interferir na fixação adequada e, conseqüentemente, no resultado final do preparado histológico. No quadro 5, encontram-se os principais fatores de interferência na fixação de tecidos, esses fatores podem atuar individualmente ou em associação.

Quadro 5 - Principais fatores de interferência na fixação de tecidos.

Fatores de interferência na fixação	Descrição dos fatores
Escolha do fixador	Encolher entre os diferentes fixadores aquele que melhor se adequa a rotina, a finalidade e a natureza bioquímica da estrutura que se deseja preservar.
pH	A concentração de ions de Hidrogênio deve ser ajustada com a utilização de um tampão. O pH 6-8 é o ideal para a preservação dos componentes celulares.
Concentração	Em geral a solução de formaldeído deve ser formulada a 10%. Concentrações maiores ou menores que 10% podem comprometer a qualidade da fixação.
Volume	O fixador deve ser suficiente para cobrir 20 vezes o volume da amostra.
Tempo	Os fixadores apresentam diferentes tempos de fixação que podem variar entre 24-72 horas.
Temperatura	Temperatura ambiente. Temperaturas baixas desaceleram a autólise e a penetração do fixador, temperaturas elevadas aceleram a penetração do fixador, mas podem danificar o tecido.
Penetração	O poder de penetração varia muito entre os tipos de fixadores, por esse motivo as amostras devem ser pequenas e delgadas para que o fixador possa atingir todo o material. Órgãos devem ser fatiados pelo mesmo motivo.

Fonte adaptada: Michalany, 1998.

Certamente os fixadores comprometem de alguma maneira a morfologia celular, no entanto são fundamentais na qualidade do preparado histológico. Nesse contexto, o formaldeído é o mais compatível com a série de procedimentos realizados nos laboratórios de histologia e pesquisa e o mais utilizado (ARMED FORCES INSTITUTE OF PATHOLOGY (U.S.), 1995; MICHALANY, 1998; RAI; BHARDWAJ; VERMA, 2016).

O formaldeído (metanal) é classificado como o aldeído mais simples, de fórmula molecular H_2CO , é um gás comercialmente vendido em solução aquosa de 37-40%. Para seu uso na rotina histológica é preciso diluir a 10% passando a ser chamado de formalina ou formol (GANJALI; GANJALI, 2013; RAI; BHARDWAJ; VERMA, 2016).

Dentre os protocolos de soluções fixadoras utilizando formalina, observam-se os mais utilizados no quadro 6.

Quadro 6 - Soluções fixadoras mais utilizadas, suas particularidades, tempo ideal de fixação e

protocolo.

Fixador	Particularidades	Tempo para fixação completa	Protocolo
Líquido de Bouin	Fixa os tecidos diminutos de maneira ideal e é um bom conservador do muco e do glicogênio.	8-24 horas	Formaldeído 37-40%..... 100 mL Água destilada ou água reagente tipo II..... 300 mL Ácido acético glacial..... 20 mL Ácido pícrico..... à saturação
Formalina a 10%	Baixo custo, pode ocorrer deposição de pigmento formalínico.*	24-48 horas	Formaldeído 37-40%..... 100 mL Água destilada ou água reagente tipo II..... 900 mL
Formalina tamponada de Carson (pH 7,2-7,4)	Fixa a maioria dos tecidos de maneira ideal, provoca menor dano às estruturas celulares, não interfere nas colorações.	24-72 horas	Formaldeído 37-40%..... 100 mL Água destilada ou água reagente tipo II..... 900 mL Fosfato de sódio monobásico..... 18,6 g Hidróxido de sódio 4,2 g
Formalina neutra tamponada 10% (pH 6,8)	Fixa a maioria dos tecidos de maneira ideal, pode ocorrer a precipitação do fosfato que deixará artefatos no tecido.**	24-72 horas	Formaldeído 37-40%..... 100 mL Água destilada ou água reagente tipo II..... 900 mL Fosfato de sódio monobásico..... 4 g Fosfato de sódio dibásico..... 6,5 g

* Antes de iniciar a coloração é necessário retirar o pigmento formalínico: desparafinizar e hidratar até a água, imergir os cortes em uma solução saturada de ácido pícrico a 95% por 24 horas, lavar as lâminas até desaparecer o tom amarelo deixado pelo ácido pícrico, seguir o protocolo de coloração.
** Para tentar inibir a precipitação do fosfato é necessário iniciar o processamento com álcool entre 50- 70% e seguir o protocolo da rotina.
Informação adicional: antes de iniciar o processamento lavar os fragmentos de tecido em água corrente por 2 horas.

Fonte adaptada: Tolosa et al., 2003.

Recomendações do Controle de Qualidade

As soluções preparadas com formaldeído devem ser guardadas em frascos de vidro âmbar, pois essas substâncias se degradam facilmente à presença da luz.

O formaldeído é carcinogênico, além de tóxico e irritante, conforme a Ficha de Informação de Segurança para Produtos Químicos (FISPQ) que acompanha o produto. A manipulação desse produto químico deve ser realizada em local que tenha exaustão e o uso de EPI's é imprescindível: jaleco, máscara com filtro para vapores orgânicos (respiradores purificadores de ar semifaciais), óculos de proteção e luvas descartáveis.

5.5.4.1.3 Transporte

O transporte das amostras biológicas deve ser controlado, pois um transporte

inapropriado, em condições de temperatura fora do ideal pode prejudicar severamente o potencial da amostra. Geralmente, as amostras precisam ser transportadas do local da coleta até o laboratório e esse trajeto pode ser realizado em um único prédio, entre unidades, entre bairros, entre cidades e até entre países. Por essa razão, criaram-se diretrizes para o transporte de amostras biológicas, visando a segurança de todos os envolvidos no processo e do meio ambiente (AIRES et al., 2015).

Neste documento, somente os procedimentos para o transporte do material biológico dentro de uma mesma instituição serão abordados. O sistema triplo de embalagem é o mais recomendado para esse tipo de transporte. Esse sistema é composto por uma embalagem primária à prova de vazamentos, um recipiente intermediário rígido (canister), que conterá a embalagem primária, e a externa que conterá a embalagem intermediária e, por esse motivo, deve ser resistente, isotérmica e proteger a amostra das condições externas que possam gerar dano (ANVISA, 2015).

A identificação da embalagem externa deve conter o local de origem, o tipo de microrganismo, a classe de risco, o pesquisador/profissional responsável e um telefone de contato para emergência. Dessa forma, as amostras podem ser transportadas ao local de destino de forma segura e adequada (AIRES et al., 2015).

A figura 11 mostra o acondicionamento das amostras biológicas de acordo com o sistema triplo de embalagens.

Figura 11 - Sistema triplo de embalagens para transporte de amostras biológicas e a rotulagem ideal da caixa.



Fonte: Comissão Interna de Biossegurança do Instituto Oswaldo Cruz (CIBio/IOC).

5.5.4.2 Fase Pré-analítica: recebimento de amostras biológicas

Quando as amostras biológicas chegam ao laboratório de anatomia patológica inicia-se a etapa do recebimento de amostras. O profissional responsável pelo recebimento deverá retirar as amostras da embalagem de transporte juntamente com os pedidos de exames e proceder a verificação dos dados tanto do paciente/animal quanto do material.

A identificação correta do paciente/animal e da amostra deve ser verificada tanto na requisição quanto no recipiente contendo a amostra, prevenindo erros que podem gerar consequências ao paciente/animal, como por exemplo, a troca e extravio de amostras. A presença de solução fixadora assim como seu volume devem ser considerados, uma vez que a fixação inadequada da amostra gera artefatos nos preparados histológicos (MICHALANY, 1998; IYENGAR, 2009).

Após a conferência de todos os dados o responsável pelo recebimento deve anotar a data e a hora do recebimento no pedido de exame e rubricar.

O protocolo com as informações sobre envio e recebimento de amostras deve ser disponibilizado a todos de interesse do laboratório e do serviço de saúde.

Em caso de uma não conformidade ser detectada na etapa de recebimento de amostra, a correção dessa não conformidade é necessária para continuidade dos processos, conforme exemplificado no quadro 7.

Quadro 7 - Exemplos de não conformidades encontradas no recebimento de amostras para exame histopatológico e as soluções recomendadas.

Não conformidades no recebimento de amostras biológicas	Soluções recomendadas
<p>Identificação da amostra/paciente Dados divergentes entre o pedido de exame e o frasco da amostra, dados incompletos ou errados.</p>	<p>Devolver o material e o pedido do exame ao portador para que sejam feitas as devidas correções pelo local de origem.</p>
<p>Fixador inadequado Álcool a 70%, soro fisiológico, água destilada.</p>	<p>Colocar a amostra imediatamente em formalina tamponada a 10%, em volume suficiente para submergir a amostra (≈ 20 vezes o volume da amostra). Anotar todo o procedimento no pedido de exame correspondente, com data, horário e rubrica do profissional.</p>
<p>Amostra com pouco ou nenhum fixador Amostras enviadas a fresco ou com a quantidade de fixador insuficiente para submergir todo o material.</p>	

Fonte: elaborado pela autora.

5.5.4.2.1 Identificação da amostra

A amostra deve estar devidamente identificada com os seguintes dados:

- Nome completo do paciente/animal;
- Número e/ou código de origem (prontuário);
- Tipo de amostra (biopsias, peças cirúrgicas, lâmina corada e bloco de parafina);
- Tipo de solução fixadora.

5.5.4.2.2 Pedido de exame

A amostra deve estar acompanhada do pedido do exame que deve conter os seguintes dados:

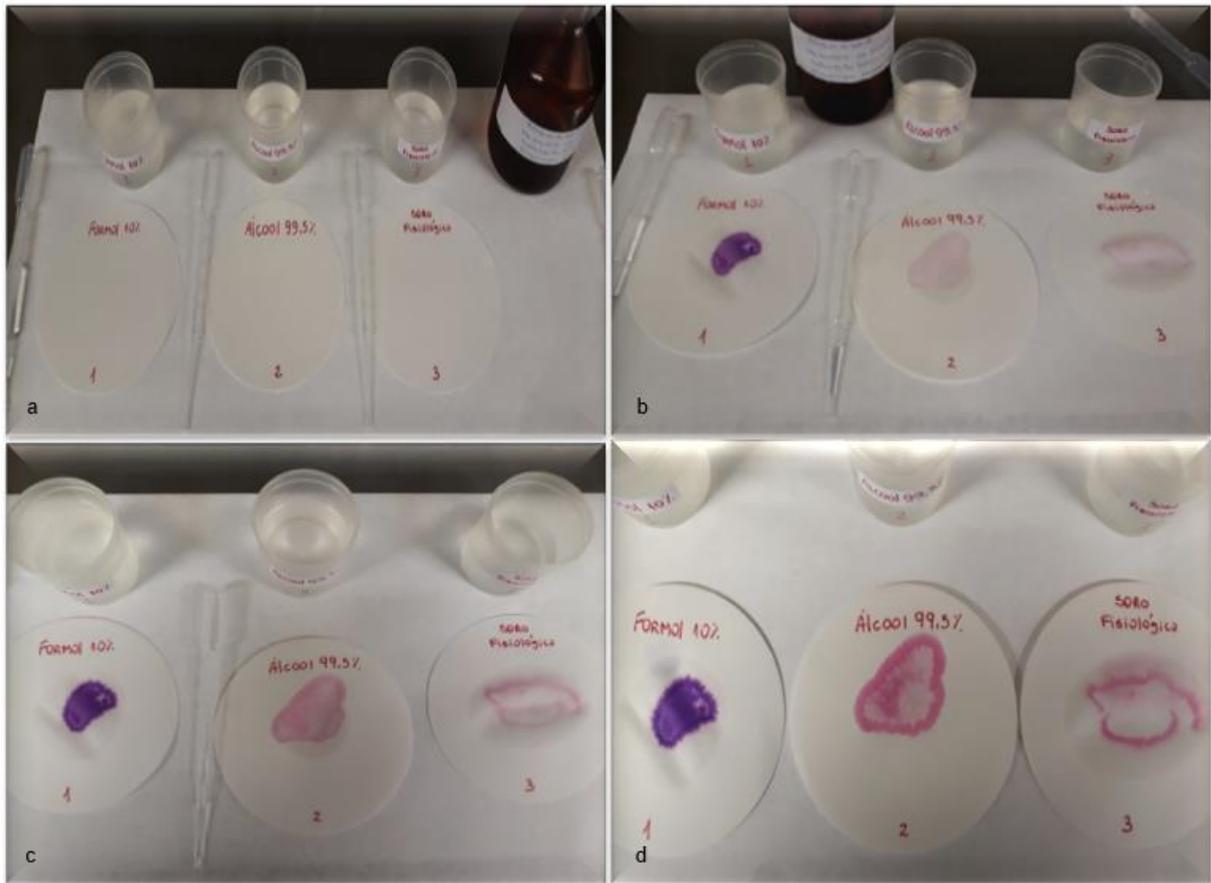
- Nome completo do paciente/animal;
- Número e/ou código de origem (prontuário);
- Nome da instituição e setor de origem;

- Data do envio;
- Assinatura do médico ou do médico veterinário com carimbo legível;
- Sexo;
- Idade ou data de nascimento (quando conhecidos em casos de amostras de origem animal);
- Nome completo da mãe (não aplicável em amostras de origem animal);
- Endereço completo (não aplicável em casos de amostras de origem animal);
- Gênero e espécie (para amostras de origem animal);
- Sítio anatômico;
- Tipo de amostra (p. ex., biópsia de pele, fragmento de fígado);
- Data e hora da coleta;
- Informações clínicas relevantes (principais dados clínicos, tempo de evolução, achados de exames físico e laboratorial);
- Hipótese diagnóstica clínica/indicação do exame histopatológico.

5.5.4.2.3 Conferência da solução fixadora

Em caso de dúvida sobre a solução fixadora enviada, a verificação pode ser realizada utilizando de 1-2 gotas de reagente/reativo de Schiff para confirmar a presença de formaldeído. Essa verificação pode ocorrer tanto no momento do recebimento da amostra quanto na macroscopia, quando o patologista solicitar. O reagente/reativo de Schiff reage instantaneamente com o formaldeído gerando um aduto de cor púrpura, indicando que a substância é um aldeído. Na ausência de aldeído, o reagente/reativo de Schiff se mantém incolor por alguns segundos, porém a sua diluição permite que a molécula *p*-rosanilina livre seja liberada mesmo na ausência do aldeído, tingindo levemente a substância testada, resultando em uma coloração rosa claro menos intensa, sendo facilmente distinguível da presença de aldeído (MARTINS; SUCUPIRA; SUAREZ, 2017), conforme demonstrado na figura 12.

Figura 12 - Representação do teste colorimétrico para presença de formol.



Legenda: a) Formol a 10%, álcool absoluto 99,5%, soro fisiológico e o reativo de Schiff, para dar início ao teste. b) No primeiro momento do teste já se percebe claramente a cor púrpura do formol a 10% e o tom rosa claro no álcool e no soro fisiológico. c e d) a evolução da liberação da molécula *p*-rosanilina mesmo na ausência de aldeído.

Fonte: elaborado pela autora.

O uso do reagente/reativo de Schiff como verificador de formaldeído já é conhecido por facilitar a identificação de substâncias fixadoras na etapa de recebimento de amostra (BUESA, 2009). O protocolo de preparo do teste colorimétrico para aldeídos é descrito no quadro 8.

Quadro 8 - Protocolo de preparo do teste colorimétrico para aldeídos.

Protocolo de preparo do Reagente/reativo de Schiff	Teste colorimétrico para aldeídos	Visualização imediata
Fucsina básica 1 g Água destilada 200 mL Metabissulfito de sódio 2 g Ácido clorídrico 10 mL Carvão ativado 1 g	Retirar, com o auxílio de uma pipeta descartável um pouco do líquido presente no frasco da amostra biológica a ser testada. Pingar de 1 a 2 gotas em um papel de filtro ou em outro recipiente a critério do laboratório. Adicionar de 1 a 2 gotas do reagente/reativo de Schiff. Se houver aldeído na substância testada, imediatamente aparecerá a cor púrpura, caso contrário o papel ficará incolor por alguns segundos.	Aldeídos - cor púrpura.
Preparo: dissolva a fucsina básica na água fervendo, deixe esfriar até atingir 60 °C. Adicione o metabissulfito de sódio e agite até esfriar. Adicione o ácido clorídrico. Tampe e guarde em local escuro por 24 horas. Após as 24 horas adicione o carvão ativado, agite e filtre. O líquido deve ser incolor. Mantenha na geladeira. Caso o líquido adquira uma coloração palha, após a filtragem, deixe mais 24 horas na geladeira. Após esse período, o líquido deve ficar incolor e estará pronto para ser utilizado.		Álcool a 99% - incolor Após alguns segundos aparecerá uma cor com tonalidades rosa claro.
		Álcool a 70%, soro fisiológico, água destilada - após alguns segundos aparecerá uma cor com tonalidades rosa claro

Fonte: elaborado pela autora.

Recomendações do Controle de Qualidade

Para facilitar a busca pelas informações pertinentes ao processo técnico, sugere-se que os registros realizados ao longo do fluxo sejam anotados em um único local do pedido de solicitação de exame. Todos os profissionais devem anotar a data, a hora e rubricar em cada etapa que for concluída. Esse controle pode ser realizado por meio de um carimbo, um formulário ou um sistema informatizado, a critério do laboratório. O quadro 9 é um exemplo de carimbo ou formulário, que pode ser anexado no verso do pedido de exame.

Quadro 9 - Modelo de carimbo ou formulário utilizado no registro das etapas do processo técnico.

		Data	Hora	Rubrica	Observações
Recebimento					
Registro					
Triagem					
Clivagem					
Inclusão					
Corte					
Técnica	H&E				
	Especiais				
	IHQ				
Digitação	Iniciado				
	Finalizado				

Fonte: elaborado pela autora.

Como proceder em casos de grande demanda?

Em períodos de grande volume de amostras, como na ocorrência de surtos ou epidemias, as amostras recebidas podem ser organizadas em caixas, enquanto aguardam a etapa seguinte do processo. Essas caixas devem ser identificadas com a data do recebimento e quaisquer dados que indiquem as amostras nela contidas a critério do laboratório, a fim de facilitar seu rastreamento caso necessário. Recomenda-se ainda que, nesses períodos, o laboratório disponha de um espaço adequado destinado a guarda temporária das caixas contendo as amostras após seu recebimento, de modo que não se acumulem na área técnica.

Sugere-se que, em casos que se recebam várias amostras de um mesmo paciente/animal (p. ex., necrópsias), todas as amostras passem por todas as etapas juntas, desde a sua organização no momento do recebimento dentro do laboratório. Isso evita que, estando cada amostra de um mesmo paciente/animal passando por diferentes etapas do processo, haja atraso na entrega do caso ao patologista e consequentemente na resposta diagnóstica.

5.5.4.2.4 Descalcificação de tecidos ósseos

Em alguns tecidos ocorre a deposição de sais de cálcio ou fosfato, seja por sua natureza (p. ex., fragmentos de tecido ósseo) ou por alguma condição patológica. Esses tecidos possuem estrutura rígida e inflexível, que torna o procedimento de microtomia difícil e sujeito a graves artefatos técnicos que prejudicam a análise histológica e podem levar a danos no equipamento. Por esse motivo, o procedimento de descalcificação deve ser utilizado para tornar o tecido propício ao corte (GUL et al., 2014; MICHALANY, 1998).

Quando necessário, o processo de descalcificação deve ser realizado entre a fixação e o processamento, pois o tecido precisa estar bem fixado para que a estrutura do osso fique protegida contra os danos da descalcificação e permita que as outras etapas sucedam com qualidade (ARMED FORCES INSTITUTE OF PATHOLOGY (U.S.), 1995).

Soluções ácidas, quelantes, meios de troca iônica e descalcificação eletrolítica são alguns dos métodos mais utilizados para a descalcificação de tecidos ósseos. A escolha do método de descalcificação deve ser criteriosa para que não cause danos aos constituintes celulares, uma vez que os danos na morfologia são proporcionais à rapidez de ação do descalcificador (CARVALHO et al., 2008).

É fundamental o uso de luva específica (nitrílica ou de látex natural) para manipulação de soluções ácidas e quelantes, da mesma maneira que o preparo dessas soluções deve ser realizado em capelas de exaustão para minimizar a incidência de gases e vapores no local de trabalho.

O quadro 10, apresenta alguns protocolos dos métodos de descalcificação mais utilizados e o quadro 11 demonstra as vantagens e desvantagens de cada método.

Quadro 10 - Protocolos de métodos de descalcificação mais utilizados em laboratórios de anatomia patológica.

Métodos	Tipo	Protocolo	Tempo	Procedimento técnico
Ácido forte	Ácido nítrico a 5%	Ácido nítrico 5 mL Água destilada 95 mL	2-24 horas, dependendo do tamanho da amostra.	Age removendo o cálcio (sais de carbonato e fosfato) presentes no tecido ósseo. A amostra deve ficar suspensa na solução descalcificadora, de forma que o cálcio liberado possa ser depositado no fundo do frasco. A cada hora a solução descalcificadora deve ser substituída e a maleabilidade e elasticidade do tecido testadas. Ao término da descalcificação, neutralizar com solução de sulfato de sódio a 5% por 24 horas e lavar o fragmento de tecido em água corrente de 2-8 horas e dar prosseguimento ao processamento histológico de rotina.
	Formalina-ácido nítrico	Ácido nítrico.....10 mL Água destilada.....80 mL Formaldeído 37-40% 10 mL		
Ácido fraco	Ácido fórmico a 5%	Ácido fórmico 90% 5 mL Água destilada 95 mL		
	Formalina-ácido fórmico	Ácido fórmico 90%10 mL Água destilada.....85 mL Formaldeído 37-40%5 mL		
Quelante	EDTA	EDTA dissódico 250 g Água destilada.....1750 mL Hidróxido de sódio \cong 25 g A solução deve ser neutralizada adicionando o hidróxido de sódio (pH 7,0)	24-120 horas, dependendo do tamanho da amostra.	Age formando moléculas pela ligação de um íon metálico a um carreador orgânico por meio de ligações covalentes. A amostra deve ficar suspensa na solução descalcificadora em agitação. Diariamente a solução descalcificadora deve ser substituída e a maleabilidade e elasticidade do tecido testadas. Ao término da descalcificação, lavar em água corrente de 2-8 horas e dar prosseguimento ao processamento histológico de rotina.

Fonte: Armed Forces Institute of Pathology (U.S.), 1995; Tolosa et al., 2003.

Quadro 11 - Vantagens e desvantagens dos métodos de descalcificação mais utilizados na rotina histológica.

Tipo de descalcificador	Vantagens	Desvantagens
Ácido nítrico a 5%	Método de ação rápida. Pode ser usado na descalcificação de ossos corticais longos ou muito mineralizados.	Prejudica muito o tecido, porque sua ação é rápida e danifica as enzimas, ácidos nucléicos e polissacarídeos, além da matriz óssea.
Formalina-ácido nítrico	Fixa e descalcifica ao mesmo tempo.	Pode provocar tumefação turva.
Ácido fórmico a 5%	Eficaz e provoca pouco prejuízo ao tecido.	Ação muito lenta.
Formalina-ácido fórmico	Fixa e descalcifica ao mesmo tempo.	Ação lenta.
EDTA	Não produz artefatos, preserva as estruturas celulares e viabiliza a coloração nuclear e citoplasmática de qualidade.	Ação muito lenta.

Fonte: Armed Forces Institute of Pathology (U.S.), 1995; Tolosa et al., 2003.

5.5.4.2.5 *Registro das amostras recebidas*

Todas as amostras recebidas no laboratório devem ser identificadas de forma inequívoca, por meio de um registro interno, numérico ou alfanumérico único, seguindo o protocolo interno do setor.

As amostras podem ser registradas, inicialmente, em um livro Ata, sequencialmente, de forma que se tenha um documento de rastreabilidade para o controle da qualidade. Esse livro deve ser preenchido de forma legível, com o uso de caneta esferográfica, sem rasuras e por profissional treinado para minimizar os erros.

De acordo com as normas de controle da qualidade não é permitida a utilização de corretivos nem rabiscos que tornem o erro ilegível. Caso seja necessária a correção de alguma informação, o profissional deve proceder riscando o erro com um traço único e retificando a informação com a inclusão do dado correto ao lado, seguido da rubrica e data.

O sistema de registro utilizado pelo laboratório deve preferencialmente conter as seguintes informações:

- Registro interno do laboratório (numérico ou alfanumérico);
- Nome do paciente (nome completo, evitando abreviações) ou identificação do animal (conforme requisição);
- Registro do Paciente/animal no local de origem;
- Material/tipo de amostra (p. ex. fragmento de pele);
- Origem (instituição ou serviço que envia a amostra);
- Exame (tipo do ensaio a ser processado pelo laboratório);
- Solicitante (quem está assinando a requisição do exame);
- Data e hora em que a amostra foi coletada;
- Data e hora de entrada (quando a amostra foi recebida no laboratório);
- Data e hora que a amostra foi registrada.

A amostra pode ser registrada, ainda, em sistema informatizado para garantir a segurança dos dados e permitir a rastreabilidade de todo o processo.

O sistema informatizado deve ser específico para uso em laboratório, a fim de permitir que sejam realizadas adequações pertinentes a rotina diagnóstica, a pesquisa e ao sistema da qualidade, como: rastreabilidade do processo técnico, digitação de laudos, controle de permissões para uso do sistema e de acesso as informações do

paciente, da amostra e do diagnóstico.

O registro manual do recebimento de amostras é fundamental para o controle do material recebido e para a rastreabilidade, porém um sistema gerenciador de dados é necessário para a organização do laboratório, além de ser pré-requisito do controle de qualidade.

Após ter recebido o número de registro interno do laboratório, a amostra juntamente com a requisição, serão encaminhadas a etapa de macroscopia.

5.5.4.3 Fase Analítica: macroscopia e clivagem das amostras

A macroscopia é um procedimento necessário para o diagnóstico, consiste na avaliação e descrição macroscópica da amostra e deve ser realizada, preferencialmente, por patologista médico ou veterinário. No entanto, a análise pode ser realizada por outros profissionais, como histotécnicos, biólogos e biomédicos (ADVANCE STAFF, 2012; CONSELHO REGIONAL DE MEDICINA DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2013; RIBEIRO-SILVA et al., 2016; SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA, 2004).

Antes de iniciar a macroscopia, é necessário organizar o ambiente de trabalho, o instrumental básico (pinças de tamanhos variados do tipo dente de rato ou para dissecação, facas, navalhas, bisturis, peneira fina de metal, régua, cassetes de plástico, frasco conta gotas contendo eosina e outros tipos de corantes, papel de filtro e papel toalha, lapiseira, caneta, borracha, luvas de procedimento de látex ou nitrílica, bombona de plástico graduada com torneira para armazenamento de formalina a 10% tamponada e bombonas de plástico para descarte da formalina usada). Em seguida, o macroscopista irá separar o pedido de exame, os seus respectivos frascos e conferir as informações descritas no frasco e no pedido do exame, após colocará, a lápis ou com a caneta (própria para marcação permanente resistente a solventes), o número de registro interno do laboratório na parte da frente do cassete histológico a ser utilizado, de forma individualizada para evitar troca de amostras. Adicionalmente, a critério do laboratório, podem ser adicionadas as iniciais do paciente/animal na lateral do cassete. Outras formas de identificação podem ser utilizadas, desde que garantam a identificação inequívoca da amostra (RIBEIRO-SILVA et al., 2016).

Ao examinar a amostra ou a peça cirúrgica, o macroscopista descreve no pedido do exame as características da amostra, conforme o quadro 12.

Quadro 12 - Características usuais para o relatório do exame macroscópico.

Características macroscópicas usuais	Descrição
Quantidade de fragmentos	Descrever a quantidade de fragmentos recebidos.
Forma	Redondo, irregular, cônico, esférico, oval, retangular, cilíndrico, papilar, nodular.
Medida	Comprimento x largura x altura em mm ou cm.
Superfície externa	Capsulada, septada, lobular, lisa, áspera, granulosa, digitiforme, homogênea, heterogênea.
Consistência	Elástica, firme, firme-elástica, pétrea, cística, pastosa, friável, mole.
Peso (apenas em caso de peças cirúrgicas)	Quilograma ou grama.
Cor	Branca, parda, pardo clara, pardo-escuro, amarela, verde claro, verde escuro, marrom, preta, cinza, vermelha.
Características adicionais	Descrever as características de lesões macroscópicas, quando presentes.
Superfície interna (aos cortes)	Descrição da superfície interna da amostra.

Fonte: Ribeiro-Silva et al., 2016.

O relatório macroscópico pode ser escrito, de preferência no verso do pedido de exame, digitado ou gravado. É um documento de comprovação do procedimento realizado e, por isso, deve ser escrito com caneta esferográfica na cor azul e não pode conter rasuras (rabiscos ou corretivo), portanto, o erro deve ser apenas grifado para que permita saber o que estava escrito anteriormente. Abaixo da descrição macroscópica deve ser indicado o número de fragmentos clivados, o número de cassetes utilizados (blocos) e se houve reserva de material ou não, conforme o exemplo: 1F/1B/CR, onde F representa o número de fragmentos, B representa o número de blocos gerados e CR - ou “com reserva” - indica que houve reserva/sobra da amostra após a clivagem. Em casos onde a amostra não gere reservas, pode-se utilizar a sigla SR, ou seja, “sem reserva”, a sigla “TI” - totalmente incluído ou outra forma de representação, a critério do laboratório, desde que garantam a rastreabilidade da amostra. Podem ser realizados, a critério do profissional, desenhos

esquemáticos da(s) lesão(ões), a colagem do rótulo/etiqueta do frasco no verso do relatório ou a transcrição para o relatório macroscópico das informações contidas no rótulo/etiqueta do frasco, especialmente, a topografia detalhada. Ao término do exame macroscópico, o profissional responsável deve assinar ou rubricar e datar a folha onde foi feita a descrição da macroscopia, além de descartar os frascos de plástico vazios na lixeira identificada como resíduo biológico (saco branco) e os frascos de vidro na bombona específica para descarte de vidros.

Os fragmentos clivados serão arrumados em cassetes histológicos de plástico. A critério do laboratório, cassetes de cores variadas podem ser utilizados (p. ex., cores distintas para diferenciar amostras humanas ou animais; destinadas a pesquisa ou rotina, etc.). Todos os cassetes preparados são acondicionados em um frasco de plástico ou de vidro, com formol a 10%, para serem encaminhados ao processamento.

Recomenda-se que fragmentos de tecido pequenos sejam marcados com eosina e embrulhados com papel filtro para que não haja perda do material no processamento. Deve-se ainda verificar o fechamento adequado da tampa do cassete antes de colocá-lo no frasco do processamento.

O descarte do material de reserva pode ser realizado três meses após a liberação do laudo e deve seguir as normas de biossegurança (CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA, 1994a).

Recomendações do Controle de Qualidade

Após a clivagem, caso a amostra tecidual não seja totalmente incluída em cassetes para processamento histológico, a reserva do material contida em seu respectivo frasco com solução fixadora deve ser armazenada em local adequado. A solução de formalina a 10% pode ser substituída por álcool a 70% para preservar as estruturas celulares por um período de tempo maior, caso esse material seja requisitado posteriormente para nova inclusão, para realização de outras técnicas ou para pesquisa.

O mapa de clivagem, conforme exemplo disponível na figura 13, é uma forma simples de controle do material clivado e de rastreabilidade do processo.

No descarte das amostras de reserva, é recomendável o preenchimento de um mapa de controle de descarte de material biológico. Esse procedimento facilita a rastreabilidade das amostras descartadas e serve para registrar todas as informações relacionadas ao descarte como a data, as amostras descartadas e quem foi o profissional responsável, conforme figura 14.

Como proceder em casos de grande demanda?

Em situações de grande demanda, o laboratório deve definir os casos prioritários. Nesse contexto, podem ser priorizados os casos mais graves, os mais antigos ou, em casos de surtos, aqueles cujos resultados sejam determinantes para o desencadeamento de ações de vigilância

A confecção do bloco com fragmentos de múltiplos órgãos (monobloco) é uma forma de agilizar o tempo de resposta diagnóstica a surtos em cenários de grande demanda. Em casos de necropsia, onde são recebidos diferentes tecidos de um único paciente/animal, um fragmento de cada tecido pode ser incluído em um único cassete, reduzindo a quantidade de cassetes por paciente/animal e, conseqüentemente, aumentando o número de casos a serem processados por vez. Adicionalmente, estando todos os tecidos representados em um único bloco, as técnicas de coloração especial e imuno-histoquímica, quando indicadas, podem ser aplicadas no mesmo bloco, reduzindo custo e tempo necessário para resgate de amostras. A utilização do monobloco e de blocos separados por tipo de tecido não são excludentes. Nesse caso, os monoblocos podem ser processados antes, abreviando o intervalo de tempo até que sejam encaminhados a técnica de imuno-histoquímica e, conseqüentemente, o tempo em que o caso é entregue ao patologista.

Figura 13 - Exemplo de informações que devem constar em um mapa para ser utilizado na clivagem das amostras de material biológico.

MAPA PARA CLIVAGEM

NÚMERO DO POP: número do POP em que o formulário esteja descrito.

DATA DA CLIVAGEM: data que a clivagem foi realizada.

MATERIAL: tipo de amostra biológica.

FRAGMENTO: quantidade de fragmentos que foram clivados.

BLOCOS: quantidade de blocos que foram gerados.

RESERVA: sobra/reserva das amostras biológicas.

RESPONSÁVEL: profissional responsável pela clivagem.

Fonte: elaborado pela autora.

Figura 14 - Exemplo de um mapa para ser utilizado no descarte da reserva de amostras teciduais provenientes da macroscopia.

<p style="text-align: center;">MAPA DE DESCARTE DA RESERVA DE MACROSCOPIA</p> <p>NÚMERO DO POP: número do POP em que o formulário esteja inserido.</p> <p>NÚMERO DE BANCADA: número de registro do laboratório.</p> <p>DATA E HORA DA MACROSCOPIA: data em que foi feita a macroscopia.</p> <p>DATA DA LIBERAÇÃO DO LAUDO: data que o laudo foi liberado (o descarte só poderá ocorrer após a liberação do laudo).</p> <p>DATA E HORA DO DESCARTE: data em que está sendo feita a separação das amostras.</p> <p>RESPONSÁVEL: nome de quem executou a separação para o descarte.</p> <p>Nota: esse formulário se destina ao controle interno do descarte da reserva. Cada local possui critérios que devem ser observados para a retirada de resíduo.</p>
--

Fonte: elaborado pela autora.

5.5.4.4 Fase Analítica: processamento das amostras

O processamento de tecidos é a etapa em que os cassetes contendo fragmentos de material biológico são imersos em substâncias, como o álcool, xilol e a parafina. Por meio de difusão, essas substâncias penetram nos tecidos, removendo a água e preparando o material para os processos de inclusão em parafina e microtomia (ARMED FORCES INSTITUTE OF PATHOLOGY (U.S.), 1995; MICHALANY, 1998).

O processamento pode ocorrer de maneira automatizada, por meio de um equipamento denominado processador de tecidos “autotécnico”, conforme Figura 15 ou de forma manual. O processador de tecidos deve possuir manutenção preventiva e corretiva para garantir o seu funcionamento contínuo e adequado.

Figura 15 - Processador de tecido de uso na rotina do SeAP-INI.



Fonte: imagens cedidas pelo SeAP-INI.

Existem dois tipos de processadores de tecidos: o que transfere o tecido de cuba em cuba, onde estão os reagentes e o que transfere os fluídos, enquanto o material fica estacionado. A escolha do equipamento deve ficar a critério das necessidades e disponibilidades financeira e de espaço físico do laboratório.

A temperatura, a concentração dos reagentes (álcool, xilol e parafina) e as propriedades do tecido são elementos que devem ser considerados, devido a possíveis interferências nas fases que definem o processamento para materiais embebidos em parafina. Assim, o laboratório precisa ter parâmetros de qualidade, protocolos técnicos e treinamento regular da equipe para minimizar os possíveis erros. As fases que fazem parte do processamento serão brevemente descritas a seguir e os reagentes mais utilizados estarão descritos no quadro 13.

Quadro 13 - Substâncias mais utilizadas nas fases do processamento.

Desidratação	Clarificação/diafanização	Embebição
<p>Acetona Miscível em água e outros solventes orgânicos. É rápida e eficaz como desidratante, pode ser usada como fixador secundário anticoagulante.</p> <p>Etanol É o mais usado por questões de custo/benefício. É miscível em água, rápido e eficiente, mas a imersão prolongada dos tecidos podem torná-los quebradiços.</p> <p>Fenol Miscível em água, álcool e a maioria dos solventes orgânicos. Os cristais higroscópicos reagem com o ar e a luz e liberam uma cor rosa, de maneira que para usá-lo se faz necessário recipientes protegidos da luz e hermeticamente fechados.</p> <p>Metanol Miscível em água, muito volátil, inflamável e caro, além de endurecer os tecidos mais do que o etanol.</p>	<p>Clorofórmio Caro, volátil, de penetração lenta e causa danos menores ao tecido do que o xilol.</p> <p>Tolueno É miscível em álcool. Clareia rapidamente, mas endurece o tecido fixado em fixadores coagulantes.</p> <p>Xileno É o mais utilizado no processamento. Miscível em álcool. Clareia rapidamente, mas endurece o tecido fixado em fixadores coagulantes.</p>	<p>Parafina É uma mistura de hidrocarbonetos e polímeros que proporciona melhor adesão e plasticidade e, consequentemente, facilitando o corte.</p>

Fonte: Michalany, 1998; Tolosa et al., 2003.

5.5.4.4.1 Desidratação

Essa etapa baseia-se na retirada de água e fixador aquoso dos tecidos para permitir a posterior entrada da parafina, que é insolúvel em água. Esta é a primeira fase do processamento, sendo o álcool etílico a substância mais utilizada como agente desidratante. A desidratação ocorre quando os cassetes histológicos contendo os fragmentos de tecido são submetidos a imersões seriadas em soluções alcoólicas em concentrações crescentes que variam, progressivamente, de 70% a 99%. Para fragmentos pequenos e/ou delicados, aconselha-se deixar de 30 a 40 minutos em cada cuba de álcool. Para fragmentos maiores, recomenda-se que permaneçam até 1h30min em cada cuba de álcool. Em alguns casos, em que se tem a garantia de uma boa fixação, a desidratação pode iniciar com o álcool a 95% sem prejuízo para o restante do processo (ARMED FORCES INSTITUTE OF PATHOLOGY (U.S.), 1995; MICHALANY, 1998).

5.5.4.4.2 *Clarificação (diafanização)*

A clarificação baseia-se na retirada do álcool utilizado na desidratação, utilizando um agente solúvel em parafina. É a segunda fase do processamento, sendo o xilol a substância mais utilizada. A partir da retirada do álcool e entrada do xilol, o tecido vai se tornando mais claro, transparente.

Os tecidos desidratados em contato com o xilol se tornam transparentes e isso demonstra que o material está diafanizado/clarificado. Nota-se também um acentuado encolhimento do tecido devido a remoção da gordura pelo xilol (ARMED FORCES INSTITUTE OF PATHOLOGY (U.S.), 1995; MICHALANY, 1998).

5.5.4.4.3 *Embebição*

É a terceira etapa do processamento, onde a substância mais utilizada é a parafina sintética. Baseia-se na embebição do tecido em parafina líquida, preenchendo todos os espaços e células (ARMED FORCES INSTITUTE OF PATHOLOGY (U.S.), 1995).

O ponto de fusão ideal da parafina sintética para ser utilizada tanto no processamento quanto na inclusão é de 58 °C a 62 °C. Isso garante que o bloco de parafina contendo o tecido fique endurecido quando em temperatura ambiente, permitindo a posterior confecção de cortes histológicos. A exposição do material a uma temperatura superior a 62 °C pode proporcionar a queima parcial ou total da amostra, chegando a inviabilizar o diagnóstico. Portanto, a verificação da temperatura da parafina deve ser um ponto de checagem com verificação diária e notação em planilha própria (MICHALANY, 1998).

Para que o processamento das amostras de tecido seja realizado satisfatoriamente, as fases citadas acima devem ser monitoradas adequadamente com protocolos definidos e equipe treinada. O quadro 14 sugere alguns cuidados que devem ser observados nas fases do processamento e nos quadros 15 e 16 são demonstrados os protocolos utilizados no SeAP-INI como forma de sugestão, ficando a critério do laboratório elaborar seus próprios protocolos.

Quadro 14 - Sugestões de cuidados que devem ser observados nas fases de desidratação, clarificação e embebição do processamento histológico.

Desidratação	Clarificação/diafanização	Embebição
No processador de tecidos os álcoois devem ser revisados todos os dias. Nos casos de baixa demanda sugerimos a troca completa a cada 20 dias e nos períodos de alta demanda a cada 7 dias ou a critério do laboratório. Esse esquema permite que o material desidrate corretamente, pois os cassetes são imersos em reagentes limpos, sem saturação de água e em quantidades suficientes.	Da mesma forma que o álcool deve ser observado, o xilol também deve ser constantemente verificado e renovado. Sugere-se que o xilol seja trocado utilizando os mesmos períodos descritos para a troca do álcool. O xilol quando está saturado mostra-se turvo e isso também pode ser um sinalizador de que a desidratação foi inadequada.	Deve-se verificar a temperatura da parafina e a quantidade. A troca pode ser realizada no mesmo período indicado para as outras substâncias que fazem parte do processamento. É necessário ficar atento ao ponto de fusão da parafina, pois quanto maior o ponto de fusão mais dura será a parafina e, portanto, pode dificultar a microtomia. Usualmente, se deve escolher a parafina com ponto de fusão entre 58 °C e 62 °C.
No processamento manual, além dos cuidados com a troca dos reagentes, o técnico deve agitar o recipiente contendo os cassetes para permitir melhor contato com as substâncias.		

Fonte: elaborado pela autora.

Quadro 15 - Protocolos dos processamentos automatizados utilizados no SeAP- INI.

Tipos de processamento	Reagentes	Tempo	Tipos de processamento	Reagentes	Tempo
Processamento para peças cirúrgicas/fragmentos de vísceras de necrópsias/ material com espessura > 3 mm (durante a noite)	Solução de formalina a 10%	260 min	Processamento para biópsias/material com espessura ≤ 3 mm (durante o dia)	Solução de formalina a 10%	30 min
	Álcool a 70%	80 min		Álcool a 70%	30 min
	Álcool etílico absoluto 90%	80 min		Álcool etílico absoluto 90%	30 min
	Álcool etílico absoluto 95%	80 min		Álcool etílico absoluto 95%	30 min
	Álcool etílico absoluto 99%	80 min		Álcool etílico absoluto 99%	30 min
	Álcool etílico absoluto 99%	80 min		Álcool etílico absoluto 99%	30 min
	Xilol PA	60 min		Xilol PA	30 min
	Xilol PA	60 min		Xilol PA	30 min
	Xilol PA	60 min		Xilol PA	30 min
	Parafina histológica (58 °C a 62 °C)	60 min		Parafina histológica (58 °C a 62 °C)	30 min
Parafina histológica (58 °C a 62 °C)	50 min	Parafina histológica (58 °C a 62 °C)	30 min		

Fonte: elaborado pela autora.

Quadro 16 - Protocolos para os processamentos manuais utilizados no SeAP-INI.

Tipos de processamento	Reagentes	Tempo	Tipos de processamento	Reagentes	Tempo
Processamento para peças cirúrgicas/fragmentos de vísceras de necrópsias/material com espessura > 3 mm	Álcool a 70%	40 min	Processamento para biópsias/material com espessura ≤ 3 mm	Álcool a 70%	20 min
	Álcool etílico absoluto 90%	40 min		Álcool etílico absoluto 90%	20 min
	Álcool etílico absoluto 95%	40 min		Álcool etílico absoluto 95%	20 min
	Álcool etílico absoluto 99%	40 min		Álcool etílico absoluto 99%	20 min
	Álcool etílico absoluto 99%	40 min		Álcool etílico absoluto 99%	20 min
	Xilol PA	40 min		Xilol PA	20 min
	Xilol PA	40 min		Xilol PA	20 min
	Xilol PA	40 min		Xilol PA	20 min
	Parafina histológica (58 °C a 62 °C)	30 min		Parafina histológica (58 °C a 62 °C)	20 min
	Parafina histológica (58 °C a 62 °C)	30 min		Parafina histológica (58 °C a 62 °C)	20 min

Fonte: elaborado pela autora.

No processamento manual, devem ser utilizados 10 béqueres para as soluções de álcool e xilol e 2 canecas de metal para a parafina, cada um com o reagente na concentração indicada no quadro 16 e com o volume do líquido suficiente para cobrir os cassetes e possibilitar a constante agitação, facilitando a penetração do solvente nos tecidos. Luvas de proteção térmica devem ser empregadas para manipulação da caneca de parafina aquecida. O manuseio dos cassetes pode ser realizado com o uso de pinça histológica e a agitação dos reagentes pode ser feita com um bastão de vidro.

No processamento manual, a parafina histológica deve ser aquecida em estufa graduada de 58 °C a 62 °C e, antes da imersão dos cassetes, a temperatura deve ser aferida utilizando um termômetro digital para uso em laboratório.

O tempo de cada etapa do processamento deve ser controlado com o uso de um cronômetro.

Recomendações do Controle de Qualidade

O mapa de processamento, conforme exemplo disponível na figura 16, é um controle de amostras colocadas no processador de tecidos, informando-se a quantidade de cassetes, a data e a rubrica do técnico que realizou a tarefa.

A substituição de reagentes, tanto no processamento automatizado quanto no manual, deve ser registrada no mapa de controle de troca de reagente, conforme figura 17.

Para o controle dos equipamentos, é aconselhável ter um mapa que deve ser preenchido diariamente com informações sobre o funcionamento e limpeza do aparelho, conforme figura 18.

Figura 16 - Mapa de controle das amostras que seguem para processamento.

CONTROLE DE MATERIAL PARA PROCESSAMENTO

NÚMERO DO POP: número do POP em que o formulário está inserido.

DATA/HORA DA CLIVAGEM: data e hora que a macroscopia/clivagem foi realizada.

MÉDICO RESPONSÁVEL: responsável pela macroscopia/clivagem.

DATA/HORA DA ENTRADA: data e hora que os cassetes entraram no processador de tecidos.

Nº TOTAL DE CASSETES: número de cassetes que foram colocados na cesta do processador de tecidos.

TÉCNICO RESPONSÁVEL: profissional responsável por colocar os cassetes no processador de tecidos.

DATA/HORA DA SAÍDA: data e hora que os cassetes foram retirados do processador de tecidos.

Nº TOTAL DE CASSETES: número de cassetes que foram retirados da cesta do processador de tecidos.

TÉCNICO RESPONSÁVEL: profissional responsável por retirar os cassetes do processador de tecidos.

Fonte: elaborado pela autora.

Figura 17 - Mapa de controle de troca de reagentes do processador de tecidos.

MAPA DE TROCA DO PROCESSADOR DE TECIDOS	
NÚMERO DO POP:	número do POP em que o mapa está inserido.
DATA:	data da realização da troca.
REAGENTES:	citar os tipos de reagentes e a quantidade de cubas que cada um ocupa no aparelho.
QUANTIDADE:	quantos litros de reagente foram gastos em cada cuba
NÚMERO DO LOTE:	anotar o lote de cada reagente utilizado.
RESPONSÁVEL:	profissional responsável pela troca de reagentes.

Fonte: elaborado pela autora.

Figura 18 - Mapa de controle dos equipamentos.

CONTROLE DE EQUIPAMENTO	
IDENTIFICAÇÃO DO EQUIPAMENTO:	nome do equipamento, número de série, modelo, marca e número do patrimônio, caso tenha.
NÚMERO DO POP:	número do POP em que a planilha está descrita.
DATA:	data do uso da planilha.
ITENS DE CHECAGEM:	são os itens que devem ser verificados em cada equipamento, como, por exemplo, mecânica, óptica, elétrica, rotação, limpeza.
OBSERVAÇÃO:	qualquer intercorrência com o equipamento deve ser anotada nesse campo.
RESPONSÁVEL:	profissional que utilizou o equipamento.
Nota: essa planilha é de uso diário e deve ser adequada a rotina dos profissionais que utilizam os equipamentos.	

Fonte: elaborado pela autora.

Como proceder em casos de grande demanda?

A troca das soluções das cubas do autotécnico deve atender a demanda do laboratório. Em casos de alta demanda, principalmente quando os fragmentos de tecido são maiores, como é o caso de amostras oriundas de necropsia, as trocas podem ser mais frequentes, evitando que as amostras estejam hidratadas após a passagem pelas soluções alcoólicas.

Caso o processador de tecidos tenha manutenção preventiva regular, sugerimos, em casos de alta demanda, a utilização dos protocolos de processamento noturno e diurno para que possam ser processados um maior número de amostras possível e assim agilizar o processo.

5.5.4.5 Fase Analítica: inclusão em parafina

A inclusão é a etapa em que o fragmento de tecido já processado é emblocado em parafina para confecção de corte histológico (ARMED FORCES INSTITUTE OF PATHOLOGY (U.S.), 1995).

O ideal é que o tecido seja incluído em parafina logo após o término do processamento para que se evite as variações de temperatura, ou seja, que o material esfrie e depois seja colocado novamente em parafina aquecida.

A inclusão de parafina pode ser realizada em uma central de inclusão, dispensador de parafina ou autoincludor, equipamento usual para essa atividade. Esse equipamento é composto por três partes: a placa aquecida, a placa fria e o tanque reservatório da parafina líquida, conforme a figura 19.

Figura 19 - Central de inclusão utilizada na rotina do SeAP-INI.



Fonte: imagens cedidas pelo SeAP-INI.

Nessa fase, são utilizados moldes de metal, de diversos tamanhos, indicados na figura 20, que servirão para dar forma ao bloco de parafina contendo o fragmento de tecido.

Figura 20 - Moldes de metal utilizados na inclusão em parafina.



Fonte: imagens cedidas pelo SeAP-INI.

O local deve ser ventilado e, se possível, com exaustão para que os vapores da parafina possam se dissipar.

Abaixo, a figura 21 ilustra a sequência básica do protocolo de inclusão em parafina utilizado no SeAP/INI.

Figura 21 – Etapas da inclusão em parafina, conforme protocolo utilizado no SeAP-INI.



Nota: imagens cedidas pelo SeAP-INI.

Fonte: Michalany, 1998.

5.5.4.6 Fase Analítica: microtomia

A microtomia é a etapa da histotécnica que corresponde ao corte micrométrico de amostras de tecido incluídas em parafina. Como foi visto na etapa anterior, a formação do bloco de parafina contendo a amostra facilita o corte e a confecção de fitas que medem em torno de 1-5 μm de espessura ou a critério do laboratório (ARMED FORCES INSTITUTE OF PATHOLOGY (U.S.), 1995; MICHALANY, 1998).

Para se obter cortes delgados e de alta precisão utiliza-se um micrótomo, ilustrado na figura 22. Esse equipamento pode ser automático ou manual, rotativo ou de deslizamento (trenó) e usar navalhas permanentes ou descartáveis. No rotativo, a amostra se move até a navalha que é estática, já no deslizante a amostra fica estática e a navalha se move. A escolha do tipo de equipamento ideal fica a critério do laboratório.

Figura 22 - Micrótomo rotativo manual.



Fonte: imagens cedidas pelo SeAP-INI.

5.5.4.6.1 Itens e equipamentos necessários para dar início aos cortes histológicos

- Micrótomo rotativo manual ou automático, rotativo ou de deslizamento.
- Banho-maria histológico de 40 °C a 45 °C ou placa aquecida na mesma temperatura.
- Placa refrigerada ou cuba de metal com gelo (a placa refrigerada pode ser a mesma da central de inclusão de parafina).
- Estufa de secagem a 58 °C a 60 °C.
- Pinça histológica e pincel.
- Lâminas de vidro com a ponta fosca.
- Lápis ou caneta de marcação permanente resistente a solventes.
- Navalha para microtomia permanente afiada ou navalha para microtomia descartável.

5.5.4.6.2 *Preparo das lâminas histológicas*

As lâminas devem ser limpas (com água, sabão e com papel toalha) para a retirada de todas as impurezas e gordura que possam prejudicar a aderência da amostra à lâmina (ARMED FORCES INSTITUTE OF PATHOLOGY (U.S.), 1995). Atualmente, já se encontram a venda lâminas previamente limpas e embaladas a vácuo, prontas para o uso.

Lâminas silanizadas devem ser utilizadas sobretudo para a técnica de imunohistoquímica, para possibilitar maior aderência do tecido, mesmo quando exposto a agentes químicos e ao calor. As lâminas adesivas podem ser adquiridas comercialmente ou preparadas no próprio laboratório, utilizando substâncias próprias para esse fim, como por exemplo, a albumina, a gelatina, a polilisina ou silano.

A identificação da lâmina deve ser feita com a máxima atenção para evitar erros. Sugere-se que os blocos de parafina prontos para o corte devam ser organizados por ordem numérica e suas respectivas lâminas identificadas e arrumadas na mesma sequência.

5.5.4.6.3 *Prender o bloco no porta bloco*

Para auxiliar na melhor orientação, o maior eixo do bloco deve ficar paralelo a navalha e, como alguns fragmentos de tecido possuem regiões mais consistentes ou possuem cápsula, estas partes devem ficar voltadas para cima (p. ex., pele, intestino e rim).

5.5.4.6.4 *Desbaste do material*

O bloco de parafina deve ser desbastado, ou seja, retirado o excesso de parafina, até que apareça o fragmento e que a superfície do bloco fique paralela à navalha. Esse procedimento requer habilidade para ser realizado, visto que o

desbaste excessivo pode consumir o material do bloco e, dessa forma, impossibilitar a confecção de novos recortes.

5.5.4.6.5 *Cortes histológicos*

Os cortes se realizam por um movimento de rotação no volante do equipamento. A velocidade da rotação varia de acordo com a consistência da peça, sendo mais lenta para peças com maior consistência. À medida que a navalha encosta no bloco de parafina são extraídas fitas muito finas que serão, posteriormente, aderidas a lâmina. Essas fitas, de tão finas e delicadas, vão se juntando ao longo do corte e é necessário o auxílio de uma pinça ou de um pincel para evitar que se dobrem (ARMED FORCES INSTITUTE OF PATHOLOGY (U.S.), 1995; MICHALANY, 1998).

5.5.4.6.6 *Distensão e aderência dos cortes*

Quando retirada do micrótomo, a fita deve ser distendida em banho-maria para que as dobras que ocorrem pela sua frágil espessura sejam eliminadas e os fragmentos de tecido possam aderir adequadamente a lâmina (ARMED FORCES INSTITUTE OF PATHOLOGY (U.S.), 1995).

Desta forma, a fita é disposta na superfície da água do banho-maria a uma temperatura entre 40-45 °C. Ao entrar em contato com a água aquecida, a parafina da fita se distende imediatamente. Esse procedimento não deve exceder 30 segundos para evitar a hidratação do tecido. Nessa etapa, a água provoca a distensão e adesão do corte, facilitando sua fixação a lâmina de vidro (ARMED FORCES INSTITUTE OF PATHOLOGY (U.S.), 1995).

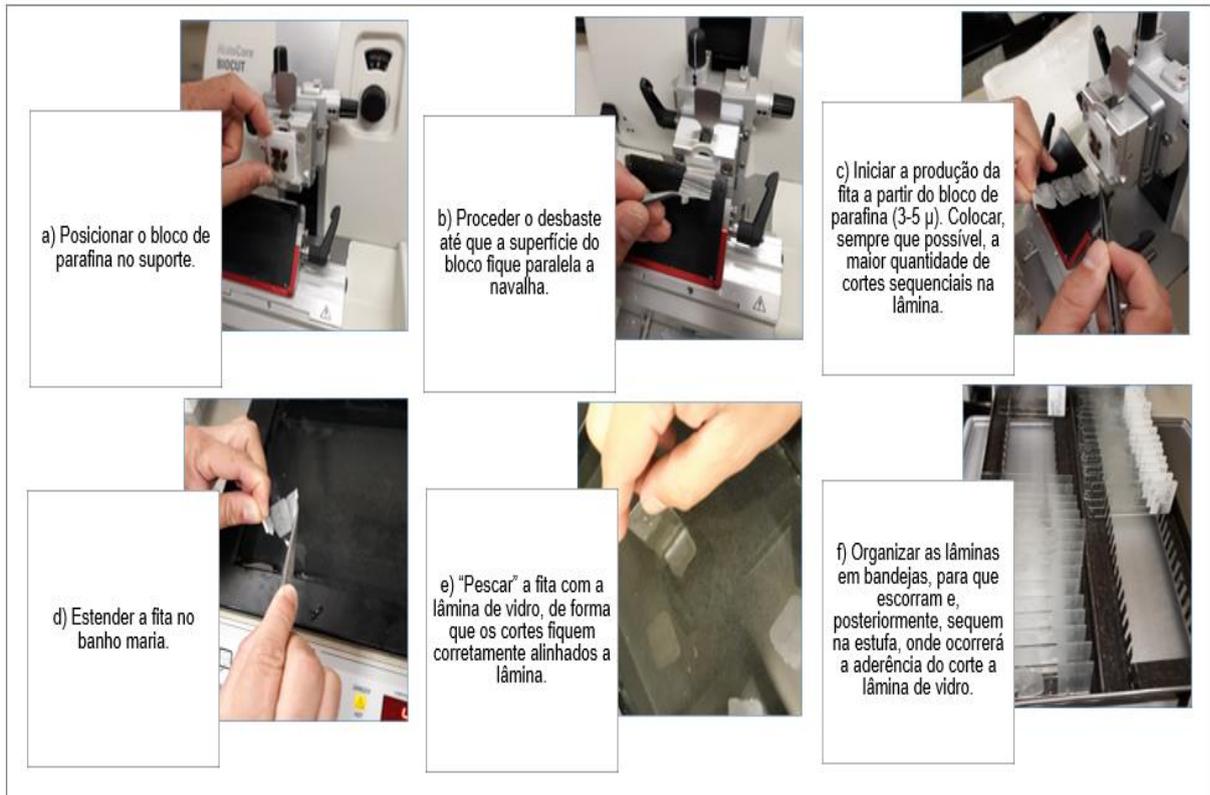
Assim que a fita estiver bem esticada e sem dobras, o profissional deve coletar “pesca” os cortes da superfície da água com o auxílio da lâmina de vidro, de modo que o fragmento fique posicionado na parte central e, sempre que possível, a maior quantidade de cortes sequenciais deve ser colocada na mesma lâmina. A lâmina deve

ser previamente identificada (ARMED FORCES INSTITUTE OF PATHOLOGY (U.S.), 1995). Procedimentos como recortes, aprofundamento da amostra, cortes para colorações especiais ou imuno-histoquímica, solicitados pelo patologista, devem ser sinalizados no canto superior da lâmina ou a critério do laboratório. A seguir, a lâmina deve ser colocada em um suporte para secar antes de ser levada a estufa com uma temperatura entre 50-60 °C por um período de tempo entre 20 a 40 minutos, para que o fragmento perca o excesso da parafina e fique bem aderido.

A figura 23 demonstra, brevemente, a etapa de microtomia de materiais emblocados em parafina utilizado no SeAP-INI.

No quadro 17, estão descritos os problemas técnicos mais usuais em microtomia.

Figura 23 - Etapas da microtomia dos materiais emblocados em parafina, conforme protocolo utilizado no SeAP-INI.



Nota: imagens cedidas pelo SeAP-INI.

Fonte: Michalany, 1998.

Quadro 17 - Problemas técnicos mais usuais em microtomia.

Problemas técnicos	Razão para esse problema	Resolução
Fita curva	Bloco irregular. Navalha sem fio. Resfriamento do bloco não está uniforme.	Aparar o bloco cuidadosamente. Trocar a navalha ou ver o posicionamento. Deixar o bloco resfriar por mais tempo para que as partes interna e externa gelem da mesma forma.
Corte comprimido	Navalha sem fio. Parafina muito macia em temperatura ambiente.	Trocar a navalha. Verificar se a parafina é própria para uso em histotécnica, o ponto de fusão ou se não tem mistura. Trocar a parafina e reincluir as amostras.
Espessura do corte desigual (cortes finos e grossos alternadamente)	Defeito no equipamento. Bloco rachado. Navalha frouxa.	Proceder a lubrificação do equipamento, caso não resolva, solicitar a assistência técnica/manutenção corretiva. Reincluir a amostra. Verificar o porta navalha do equipamento e apertar o parafuso de fixação.
Corte abaulado	Parafina do centro do bloco mais fria do que a parafina das bordas. Amostra embebida em uma parafina mais dura do que a parafina da inclusão.	Deixar o bloco resfriar por mais tempo para que as partes interna e externa gelem da mesma forma. Verificar a parafina, caso seja necessário proceder a troca e reincluir a amostra.
Corte estriado	Navalha com dentes. Fibras de algodão ou do pincel coladas na navalha.	Trocar a navalha. Limpar com a ajuda de uma pinça.
Material com aspecto de giz ou esfarinhado	Material incluído em uma parafina com ponto de fusão inadequado ou desidratação ou diafanização inadequada. Inclinação exagerada da navalha. Rotação do volante do micrótomo muito acelerado.	Caso seja possível, reclivar o material, porém se não for possível, sugerimos reprocessar e reincluir. Reposicionar a navalha. Girar o volante lentamente.
Fita que se separa longitudinalmente em duas partes	Navalha com dentes. Algum artefato está preso ao bloco ou alguma fissura.	Trocar a navalha. Reincluir a amostra.
Não forma fita e os cortes ficam enrolados	A parafina contém vestígios de xilol. Ângulo da navalha incorreto. Corte muito finos. Rotação do volante do micrótomo muito acelerado.	Reincluir a amostra. Ajustar o ângulo da navalha. Realizar corte mais espessos (> 3 µm). Cortar mais lentamente.
Corte não adere a lâmina	Fragmento ficou hidratado na distensão. Lâmina suja.	Recortar o bloco. Limpar as lâminas previamente, caso seja necessário lavar com água e sabão e secar.

Fonte: Armed Forces Institute of Pathology, 1995; Michalany, 1998.

Como proceder em casos de grande demanda?

Ao término da microtomia, aconselha-se que o bloco de parafina seja arquivado em caixa apropriada, em sequência numérica. Essa medida auxilia muito a organização do laboratório, visto que não ocorre o acúmulo de blocos para o arquivamento, principalmente, em momentos de alta demanda.

Em casos de vigilância de epizootias e de alta demanda, as amostras podem muitas vezes ser sistematicamente submetidas a técnica de imuno-histoquímica para investigação diagnóstica específica. Em casos em que o diagnóstico é realizado em um órgão-alvo (p. ex., fígado para febre amarela), o órgão-alvo pode ser priorizado no processamento e pelo patologista para agilizar o tempo de resposta aos órgãos de vigilância, otimizando a implementação de medida pertinente se houver casos confirmados de determinado agravo.

Em algumas situações de alta demanda ou quando se precisa de uma investigação de algum agravo por suspeita de surto, os cortes histológicos para imuno-histoquímica ou para outras colorações já são realizados no momento do corte para H&E, agilizando a resposta, uma vez que não será preciso resgatar o bloco histológico do arquivo para realizar os recortes.

5.5.4.7 Fase Analítica: técnicas histoquímicas

Os cortes histológicos necessitam de técnicas de coloração para melhorar a diferenciação óptica de estruturas celulares/teciduals e facilitar o exame microscópico. Para isso são utilizados corantes que se fixam seletivamente aos vários componentes do tecido, das células e da matriz extracelular e podem apresentar caráter ácido ou básico formando ligações com os componentes ionizados dos tecidos (ARMED FORCES INSTITUTE OF PATHOLOGY (U.S.), 1995; MICHALANY, 1998):

5.5.4.7.1 *Seletividade dos corantes*

a) Corantes ácidos

Coram estruturas celulares com características básicas, acidófilas (p. ex., o citoplasma celular).

b) Corantes básicos

Coram estruturas celulares com características ácidas, basófilas (p. ex., o núcleo).

As colorações podem ainda ser categorizadas pelo tipo de ação do corante, pelo desenvolvimento da coloração e a cromatização (MICHALANY, 1998; TOLOSA et al., 2003) .

5.5.4.7.2 *Ação do corante*

a) Direta

Não necessita de tratamento com solução mordente.

b) Indireta

É necessário tratamento com solução mordente.

Mordente é um sal metálico como, por exemplo, o alúmen de potássio ou cloreto de ferro, que forma uma ponte entre o tecido e o corante: tecido - mordente - corante. Pode ser miscível ao corante ou pode ser utilizado como uma etapa na técnica, antes ou depois do corante.

5.5.4.7.3 *Desenvolvimento da coloração*

a) Progressiva

O corte histológico cora gradativamente de maneira que não seja necessária a atuação de uma substância diferenciadora.

b) Regressiva

O corte histológico cora excessivamente e ocorre a necessidade da utilização de uma substância diferenciadora.

Diferenciador é uma substância utilizada para retirar o excesso do corante permitindo uma melhor visualização das estruturas. Constitui uma fase na coloração denominada diferenciação.

5.5.4.7.4 *Cromatização*

a) Monocrômica

Coloração que utiliza uma combinação de corantes que resulta em uma cor.

b) Bicrômica

Coloração que utiliza uma combinação de corantes que resulta em duas cores.

c) Tricrômica

Coloração que utiliza uma combinação de corantes que resulta em três cores.

d) Policrômica

Coloração que utiliza uma combinação de corantes que resulta em várias cores.

e) Metacromática

Coloração cujos corantes utilizados tingem certas estruturas teciduais com cores diferentes daquelas apresentadas originalmente pelos corantes (p.ex., a hematoxilina fosfotúngstica de Mallory tem cor violeta e cora o muco de alaranjado).

5.5.4.7.5 *Itens e equipamentos necessários para realização das colorações histológicas*

- Bateria de coloração ou sistema de coloração manual. Dispositivo encontrado comercialmente, que pode ser de vidro, de nylon ou de outro material resistente a xilol. O sistema utilizado no SeAP-INI está demonstrado na figura 24.
- Estufa de secagem a 58 °C a 60 °C.
- Balança de precisão.
- Câmara fria (geladeira própria para laboratório).
- Pinça com 10 cm para coloração ou pinça anatômica serrilhada.
- Vidrarias de laboratório (p.ex., béquer, vidro de relógio, funil, erlenmeyer, bastão).
- Lamínulas 24 X 32 mm ou 24 X 50 mm.
- Papel de filtro.
- Pipeta tipo Pasteur.

Figura 24 - Sistema de coloração manual.



Fonte: imagens cedidas pelo SeAP-INI.

A seguir, serão abordados os procedimentos gerais para utilização em quase todos os protocolos de coloração para amostras fixadas em formol a 10% e embebidas em parafina, conforme descrito no quadro 18.

Quadro 18 - Procedimentos gerais que são utilizados em quase todos os protocolos de coloração para amostras fixadas em formol a 10% e embebidas em parafina.

Procedimento geral inicial		Coloração	Procedimento geral final	
Desparafinizar	Tempo		Desidratar	Tempo
Xilol PA	1 min	Nesta etapa o técnico seguirá o protocolo de coloração previamente definido pelo laboratório.	Álcool etílico 95%	2 min
Xilol PA	1 min		Álcool etílico 95%	2 min
Hidratar	Tempo		Álcool etílico absoluto 99,5%	2 min
Álcool etílico absoluto 99,5%	1 min		Álcool etílico absoluto 99,5%	2 min
Álcool etílico 95%	1 min		Clarificar	Tempo
Álcool etílico 95%	1 min		Xilol PA	2 min
Álcool etílico 80%	1 min		Xilol PA	2 min
Álcool etílico 70%	1 min		Selagem/montagem	
Água destilada	1 min		Meio de montagem de preferência	1-2 gotas
			Laminulas para cobrir o fragmento	

A maioria das colorações seguem os procedimentos descritos neste esquema, porém colorações como o Wade, Fite e o Ziehl-Neelsen, apresentam modificações importantes que devem ser observadas.

Fonte: elaborado pela autora.

A técnica de Hematoxilina & Eosina (H&E) é amplamente utilizada na rotina laboratorial como uma coloração de base por fornecer uma visão geral das características citoplasmáticas, nucleares e da matriz extracelular (TITFORD, 2005).

5.5.4.7.6 Coloração de base - Hematoxilina & Eosina (H&E)

A hematoxilina é um corante natural, extraído da madeira de lenha denominada *Haematoxylon campechianum*. Seu agente corante, a hemateína ou haematina, se forma por oxidação, que pode ser espontânea, quando a solução repousa por vários dias sob a luz do sol, ou em combinação com um agente oxidante como o iodato de sódio, peróxido de hidrogênio, permanganato de potássio ou iodo (TITFORD, 2005).

A vida útil do corante está relacionada ao tempo de oxidação, quanto mais lenta e gradual, mais longa será sua vida útil, sendo assim, a oxidação natural é mais eficaz, porém com a crescente demanda dos laboratórios é cada vez mais comum a utilização de um agente oxidante, que permite a aplicação imediata da solução (WITTEKIND, 2003).

Há diversos métodos de H&E, porém o protocolo ideal é aquele que está de acordo com o perfil do laboratório. Serão abordados a seguir, no quadro 19, os dois métodos mais utilizados no SeAP-INI: H&E pelo método de Harris e H&E pelo método de Mayer.

Os corantes, para realização das técnicas, podem ser adquiridos comercialmente ou confeccionados no laboratório pelo técnico responsável.

Quadro 19 - Protocolo para a técnica de coloração de Hematoxilina & Eosina pelos métodos de Harris e de Mayer.

Procedimento geral inicial		Coloração				Procedimento geral final	
Desparafinizar	Tempo	H&E - método de Harris	Tempo	H&E - método de Mayer	Tempo	Desidratar	Tempo
Xilol PA	1 min	Hematoxilina de Harris (filtrada)	10 min	Hematoxilina de Mayer	5 min	Álcool etílico 95%	2 min
Xilol PA	1 min	Água corrente	5 min	Água corrente	15 min	Álcool etílico 95%	2 min
Hidratar	Tempo	Álcool ácido a 1% (diferenciar)	2 mergulhos	Água destilada	1 min	Álcool etílico absoluto 99,5%	2 min
Álcool etílico absoluto 99,5%	1 min	Água corrente (azular)	15 min	Álcool etílico 80%	2 min	Álcool etílico absoluto 99,5%	2 min
Álcool etílico absoluto 99,5%	1 min	Álcool etílico 80%	2 min	Eosina floxina	2 min	Clarificar	Tempo
Álcool etílico 95%	1 min	Eosina floxina	2 min			Xilol PA	2 min
Álcool etílico 95%	1 min					Xilol PA	2 min
Álcool etílico 80%	1 min					Selagem/montagem	
Álcool etílico 70%	1 min					Meio de montagem de preferência	1-2 gotas
Água destilada	1 min					Laminulas para cobrir o fragmento	

Fonte: elaborado pela autora.

5.5.4.7.7 *Colorações especiais*

As colorações especiais são importantes dentro da histopatologia, porque abrangem uma ampla variedade de métodos que podem ser utilizados para visualizar estruturas, elementos ou microrganismos em tecidos específicos (ALTURKISTANI; TASHKANDI; MOHAMMEDSALEH, 2015; TOLOSA et al., 2003).

Apesar de existirem centenas de técnicas de coloração especial, apenas uma pequena parte é utilizada rotineiramente nos laboratórios e solicitada a critério do patologista (ALTURKISTANI; TASHKANDI; MOHAMMEDSALEH, 2015).

A lista exposta, no quadro 20, possui o intuito de auxiliar o conhecimento das técnicas mais adequadas para a observação, sob a luz do microscópio, de uma determinada estrutura celular ou tecido.

Quadro 20 - Principais métodos de coloração especial, categoria, estruturas observadas e cor resultante.

Métodos de coloração	Categoria	Estruturas observadas	Cor resultante
Alcian Blue (pH 1,0 ou 2,5)	Tecidos específicos	Glicosaminoglicanos e glicoproteínas ácidas	Azul claro e azul intenso
Ferro Coloidal	Tecidos específicos	Glicosaminoglicanos	Azul claro e azul intenso
Fontana masson	Pigmentos e minerais	Grânulos argentafins de células neuroendócrinas e melanina	Negro
Giemsa de Lennert	Tecidos específicos Agentes infecciosos	Linfócitos, mastócitos, medula óssea, outros órgãos linfóides, <i>Treponema pallidum</i> , <i>Leptospira</i> , <i>Helicobacter pylori</i> , <i>Giardia lamblia</i> , <i>Entamoeba histolytica</i> , <i>Trichomonas vaginalis</i>	Agentes infecciosos em azul intenso/núcleos em azul e demais estruturas em rosa ou azul pálido/grânulos de neutrófilos em vermelho ou amarelado
Gram (Brow Breenn)	Agentes infecciosos	Bactérias Gram positivas ou Gram negativas	Gram positivas em azul, Gram negativas em rosa, fundo amarelo
Grocott (prata metenamina)	Agentes infecciosos	Fungos	Negro ou castanho escuro em fundo verde
Kinyon	Agentes infecciosos	Bacilos álcool-ácido resistentes (<i>Mycobacterium</i> sp e <i>Nocardia</i>)	Rosa/púrpura em fundo azul
Mucicarmim de Best	Agentes infecciosos	Cápsula mucopolissacarídica do fungo	Rosa/magenta
Orceína	Tecidos específicos	Fibras elásticas	Marron escuro
PAS (ácido periódico de Schiff)	Tecidos específicos	Glicogênio	Rosa/magenta
Perls	Pigmentos e minerais	Hemossiderina, óxido e sais de ferro	Azul intenso/negro
Reticulina de Gomori	Tecidos específicos	Fibras reticulares	Negro em fundo verde
Tricrômio de Gomori	Tecidos específicos	Fibras musculares, colágeno e núcleo	Núcleo castanho/fibras musculares rosa/colágeno verde
Tricrômio de Masson	Tecidos específicos	Fibras musculares, queratina, colágeno e núcleo	Núcleo castanho/fibras musculares e queratina rosa/colágeno azul
Vermelho congo	Tecidos específicos	Amiloide	Rosa
Von Kossa	Pigmentos e minerais	Fosfato, carbonato e oxalato de cálcio e de ferro	Negro
Wade	Agentes infecciosos	Bacilos álcool-ácido resistentes	Rosa/magenta
Warthin Starry	Agentes infecciosos	Espiroquetas e corpos de Donovan	Negro
Waysson	Agentes infecciosos	<i>Helicobacter pylori</i>	Azul
Ziehl-Neelsen	Agentes infecciosos	Bacilos álcool-ácido resistentes	Rosa/púrpura em fundo azul

Fonte adaptada: Michalany, 1998; Tolosa et al., 2003.

Recomendações do Controle de Qualidade

Para o controle do preparo das soluções utilizadas nas técnicas é aconselhável registrar em um mapa sempre que alguma solução for preparada. A figura 25 apresenta as informações básicas para a elaboração de um mapa de controle de preparo de soluções.

Um controle para a troca dos reagentes e corantes das baterias de coloração também pode ser aplicado, a critério do laboratório. Vide figura 26.

De acordo com a logística do laboratório pode ser preconizado um prazo para as trocas dos reagentes e corantes utilizados nas baterias de coloração. Pode ser determinado pela quantidade de lâminas coradas, por exemplo, mas é necessário observar atentamente as mudanças na demanda das amostras para que as soluções não fiquem saturadas antes da próxima troca e prejudique o resultado das colorações.

Todas as colorações especiais devem ser acompanhadas do respectivo controle positivo. Esses controles podem ser conseguidos internamente, a partir dos casos realizados no laboratório (por meio da autorização do paciente) ou a partir do material da reserva.

Figura 25 - Mapa para controle das soluções preparadas pela técnica.

CONTROLE DE PREPARO DE SOLUÇÕES
NÚMERO DO POP: número do POP em que o mapa está descrito.
SOLUÇÃO PREPARADA: nome da solução que vai ser preparada.
QUANTIDADE: a quantidade final da solução.
IDENTIFICAÇÃO DO PREPARADO: código que identifique a solução preparada. Pode ser um código alfa numérico ou apenas o nome abreviado da solução ou outra forma que se adeque melhor a cada equipe de histotécnica.
DATA DO PREPARO DA SOLUÇÃO: a data que a solução foi preparada.
VALIDADE DA SOLUÇÃO: a data de validade deve ser estipulada de acordo com a data do preparo e levado em consideração o tipo de solução elaborada.
SUBSTÂNCIAS/REAGENTES UTILIZADOS: descrição dos reagentes utilizados para confeccionar a solução.
QUANTIDADE: quanto foi utilizado de cada substância.
LOTE DA SUBSTÂNCIA: lote que consta no rótulo do fabricante da substância utilizada no preparo da solução.
DATA DE VALIDADE DA SUBSTÂNCIA: data da validade que conta no rótulo do fabricante da substância utilizada no preparo da solução.
NÚMERO DA LÂMINA-CONTROLE PARA VALIDAÇÃO: número da lâmina-controle seguido da data.
PARECER DE VALIDAÇÃO: espaço para o patologista e/ou veterinário dar seu parecer sobre a solução apresentada.
RESPONSÁVEL PELO PREPARO E PELA VALIDAÇÃO: rubrica do técnico que realizou a técnica e do médico/veterinário que realizou a validação.

Fonte: elaborado pela autora.

Figura 26 - Controle para troca de reagentes e corantes das baterias de coloração.

MAPA PARA TROCA DE BATERIA DE COLORAÇÃO	
NÚMERO DO POP:	número do POP em que o mapa está descrito.
REAGENTES/CORANTES:	cada reagente e corante da bateria deve ser escrito no mapa e em número de vezes que aparece na bateria.
QUANTIDADE:	volume utilizado para cada reagente e/ou corante.
LOTE:	o lote descrito no rótulo da embalagem do fabricante.
DATA:	a data da realização da troca dos reagentes.
RESPONSÁVEL:	profissional que realizou a troca.

Fonte: elaborado pela autora.

5.5.4.8 Fase Analítica: técnica imuno-histoquímica

A imuno-histoquímica (IHQ) é um método para identificar antígenos teciduais por meio das interações antígeno-anticorpo, sendo o local de ligação identificado por marcação direta ou indireta. Atualmente, é um dos métodos auxiliares mais importantes no diagnóstico das doenças infecciosas, neoplásicas e degenerativas, em humanos ou animais, com abrangência no diagnóstico, prognóstico, decisão terapêutica e patogênese (RAMOS-VARA, 2005; RAMOS-VARA; MILLER, 2014).

A IHQ é um método prático para uso na rotina laboratorial, pois permite sua realização em material fixado em formol e embebido em parafina, porém apresenta algumas particularidades que podem interferir no resultado da reação, como a fixação, a escolha do anticorpo e a padronização da reação (WERNER et al., 2005). Alguns desses fatores foram minimizados com o melhoramento dos anticorpos, reagentes mais específicos e o advento da recuperação antigênica, possibilitando que a IHQ seja utilizada em diferentes situações dentro de um laboratório (NONOGAKI et al., 2007).

5.5.4.8.1 *Anticorpos (Ac) policlonais e monoclonais*

Para realização do método IHQ é fundamental a utilização dos anticorpos que são produzidos após imunização de animais-alvo, como coelho, cabra, porco, entre outros, dos quais são posteriormente obtidos, por via direta ou indireta, os anticorpos policlonais e monoclonais (RAMOS-VARA et al., 2008; RAMOS-VARA; MILLER, 2014).

a) Anticorpos policlonais

Possuem anticorpos produzidos por vários plasmócitos, reagindo assim com diversos epítomos de um antígeno. O animal mais utilizado para a produção de soros policlonais é o coelho. Basicamente, a sequência de produção começa na injeção do antígeno de escolha no animal-alvo de forma a se obter uma resposta imunitária e, conseqüentemente, um soro purificado com anticorpos dirigidos para os vários epítomos do antígeno (FERRO, 2014; RAMOS-VARA; MILLER, 2014).

b) Anticorpos monoclonais

É o produto de um único clone de plasmócitos, ou seja, os anticorpos de um determinado clone são idênticos e reagem com um determinado epítomo do antígeno contra o qual foram produzidos (FERRO, 2014; RAMOS-VARA; MILLER, 2014).

O quadro 21 apresenta a comparação entre as principais especificações dos anticorpos policlonal e monoclonal.

Quadro 21 - Comparação entre as especificações principais dos anticorpos policlonal e monoclonal.

Comparação entre as especificações principais dos anticorpos policlonal e monoclonal		
Especificações	Anticorpo policlonal	Anticorpo monoclonal
Origem	Várias espécies	Rato e coelho
Anticorpo total	5-20 mg/mL	0,05 mg/mL - sobrenadante de meio de cultura sem soro 1-10 mg/mL - ascite
Anticorpo específico	0,05-0,2 mg/mL	0,05 mg/mL - sobrenadante de meio de cultura sem soro 0,9-9 mg/mL - ascite
Produção	Fácil Custo baixo Grande volume do mesmo animal	Tecnologicamente desafiador Custo elevado Células de hibridoma infinitas
Epítipo	Múltiplos	Único
Especificidade	Baixa para alta	Alta
Afinidade	Variável entre baixa e alta	Homogênea
Avidez	Alta	Baixa
Tolerância a fixação	Alta	Variável
Efeito da fixação	Múltiplos	Único
Especificidade molecular	Menor que a do anticorpo monoclonal	Alta (pouca reação de fundo/background)
Heterogeneidade do lote	Variável Lotes limitados	Mínimo Lotes ilimitados

Fonte adaptada: Ramos-Vara; Miller, 2014.

As recomendações dadas pelo fabricante nas bulas “datasheet” sempre devem ser seguidas. Muitos produtos para uso em imuno-histoquímica, produzidos comercialmente, são estáveis por até vários anos e a forma de recebe-los é fundamental para a manutenção desse padrão. Os anticorpos e qualquer outro reagente devem ser prontamente armazenados de acordo com as instruções do fabricante (DAKO, 2001).

A temperatura de armazenamento é fundamental, por isso, as temperaturas das geladeiras e freezers usados para o armazenamento dos insumos devem ser monitoradas diariamente. Sugere-se que o laboratório disponha de equipamentos com sistema de alarme de temperatura e um equipamento reserva para estocagem emergencial (DAKO, 2001; RAMOS-VARA et al., 2008).

Os anticorpos e os reagentes pré-diluídos não devem ser congelados e descongelados, porque as mudanças de temperatura e de estado físico podem provocar efeito deletério em seu desempenho. Esses produtos não devem ser expostos a temperaturas acima de 25 °C, ao calor e a luz excessivos (RAMOS-VARA et al., 2008).

Alguns exemplos de anticorpos de produção comercial e *in house*, assim como suas padronizações estão descritos no quadro 22.

Quadro 22 - Exemplos de anticorpos para doenças infecciosas e suas padronizações.

Anticorpo	Fabricante	Recuperação Antigênica	Sistemas de detecção		
			Polímero HRP	Polímero AP	LSAB
<i>Citomegalovirus</i>	Comercial	pH 6,0 - banho-maria 30'			X
Dengue	Comercial	pH 6,0 - banho-maria 30'		X	
Doença de Chagas	Fiocruz	pH 6,0 - panela de pressão 2' 30''			X
<i>Epstein-Barr virus</i> (EBV)	Comercial	pH 6,0 - banho-maria 30'			X
Febre Amarela	IAL	pH 8,0 - panela elétrica/PK 15'		X	
<i>Herpesvirus</i>	Comercial	pH 6,0 - banho-maria 30'		X	X
<i>Herpesvirus humano 8</i> (HHV8)	Comercial	pH 9,0 - banho-maria 20'	X		X
<i>Papilomavirus humano</i> (HPV)	Comercial	pH 6,0 - banho-maria 30'	X		X
<i>Leishmania brasiliensis</i>	Fiocruz	pH 6,0 - banho-maria 30'	X	X	X
<i>Leishmania chagasi</i>	Fiocruz	pH 6,0 - banho-maria 30'	X	X	X
<i>Leptospira interrogans</i>	RoyalTropical Institute	pH 6,0 - steamer 20'/ PK 15'	X	X	
<i>Pneumocystis jirovecii/carinii</i>	Comercial	pH 9,0 ou 6,0 - banho-maria 30'	X		X
<i>Toxoplasma gondii</i>	Comercial	pH 6,0 - banho-maria 30'	X		
Zika	CDC	pH 8,0 - EDTA Decloker 15'		X	

Fonte adaptada: Ferro, 2014.

5.5.4.8.2 Métodos Direto e Indireto

a) Método Direto

Neste método é utilizado somente um anticorpo primário, que possui o marcador e se liga diretamente ao antígeno (RAMOS-VARA et al., 2008).

Vantagem: simplicidade e a rapidez.

Desvantagem: pouca ampliação de sinal.

b) Método Indireto

i) Simples

Neste método são utilizados dois tipos de reagentes, anticorpo primário que é dirigido contra o antígeno e o anticorpo secundário que é dirigido contra as

imunoglobulinas da espécie animal em que foi produzido o anticorpo primário (RAMOS-VARA et al., 2008).

Vantagens: sensibilidade, versatilidade e economia.

Desvantagens: maior gasto de tempo.

ii) Método Peroxidase Antiperoxidase (PAP)

Nesse método são utilizados três tipos de reagentes: primário que é o anticorpo dirigido contra o antígeno que se quer detectar, secundário ou de ponte que é o anticorpo dirigido contra as imunoglobulinas da espécie animal em que foi produzido o anticorpo anterior e o complexo PAP que é produzido na mesma espécie animal do anticorpo primário.

Vantagens: maior sensibilidade e permite o aumento das diluições do anticorpo primário.

Desvantagens: demanda mais tempo e é mais complexo.

iii) Método fosfatase alcalina antifosfatase alcalina (APAAP)

Método semelhante ao PAP, mas que utiliza como marcador a fosfatase alcalina. É bastante utilizado em situações que pela sua natureza dificultem a utilização dos métodos de imunoperoxidase (RAMOS-VARA et al., 2008).

iv) Métodos do complexo avidina-biotina (ABC)

Os métodos mais conhecidos são: streptavidin-biotin complex (streptABC) e labelled streptavidin-biotin (LSAB).

Todos os métodos de avidina-biotina se baseiam em 4 princípios gerais: afinidade existente entre a avidina e a biotina que se ligam formando um complexo praticamente indissociável. Possibilidade de ligação entre a biotina e outras moléculas, como enzimas e anticorpos (anticorpos biotinilados). Possibilidade de marcar a avidina com uma variedade de substâncias como enzimas, metais pesados ou fluorocromos. Utilização da avidina como ponte entre duas moléculas biotiniladas, como um anticorpo e uma enzima.

Nesses métodos, normalmente é necessário bloquear a biotina que existe comumente em alguns órgãos para evitar que esta molécula se ligue à avidina utilizada na imuno-histoquímica, criando falsos-positivos ou fundo inespecífico. O

bloqueio da biotina endógena pode ser feito com a utilização da avidina livre, seguida da biotina livre formando um complexo que desativa a biotina endógena (FERRO, 2014; GALIZA et al., 2014).

Vantagens: alta sensibilidade e alta polivalência. Pode ser utilizada também na técnica de hibridação *in situ*.

Desvantagem: ligação da avidina e streptavidina à biotina endógena que existe normalmente em alguns órgãos humanos como o rim, o fígado ou a mama.

v) Métodos por polímero

Os sistemas por polímero permitem um grande aumento na capacidade de amplificação, que resulta em uma marcação mais intensa e brilhante e aumenta a sensibilidade do método permitindo, assim, detectar quantidades ínfimas de antígeno (KABIRAJ et al., 2015).

Estes métodos permitem diminuir os custos com anticorpos primários, pois facultam um aumento das suas diluições de trabalho sem comprometer a intensidade das marcações (KABIRAJ et al., 2015).

Vantagens: permite maiores diluições dos anticorpos primários e apresenta forte diminuição das marcações inespecíficas provocadas pelas marcações cruzadas. Não requer reagentes bloqueadores.

Permite a padronização do método, porque os reagentes são vendidos prontos para uso.

Desvantagem: reagentes de alto custo.

Apesar do alto custo dos reagentes, a praticidade e a rapidez do método aliada a possibilidade de aumentar as diluições dos anticorpos primários, compensa largamente os custos destes reagentes, permitindo, assim, sua aplicabilidade na rotina do laboratório de anatomia patológica.

5.5.4.8.3 Recuperação antigênica

O estudo imuno-histoquímico é realizado em amostras fixadas em formalina tamponada a 10% e embebidos em parafina. Rotineiramente, ocorrem efeitos provenientes da fixação e/ou do processamento, como ligações cruzadas,

mascaramento ou destruição de epítomos. No entanto, essas alterações podem ser corrigidas com a ajuda dos vários mecanismos de recuperação antigênica existentes. (RAMOS-VARA; MILLER, 2014).

a) Calor úmido

Banho-maria, panela a vapor e panela de pressão.

Soluções tampão de uso na recuperação antigênica por calor úmido: tampão Tris-EDTA pH 9,0, EDTA pH 8,0 e citrato pH 6,0.

b) Digestão enzimática

Tripsina ou proteinase K.

Um roteiro básico contemplando as principais fases do método de imuno-histoquímico está compilado no quadro 23.

Quadro 23 - Roteiro básico para o método imuno-histoquímico.

Etapas do processo	Procedimentos	Recomendações
Pré-analítica	Fixação da amostra	Formalina tamponada a 10%
	Processamento da amostra	Conforme protocolo de processamento histológico
	Inclusão da amostra	Parafina histológica
	Microtomia da amostra	Conforme protocolo da microtomia
	Secagem das lâminas	Estufa
	Desparafinização e hidratação	Xilol, álcool e água corrente
	Separação das lâminas	Por tipo de recuperação antigênica e pelo anticorpo primário
Analítica	Bloqueio da peroxidase endógena	solução de metanol + peridrol (H ₂ O ₂) a 45%
	Recuperação antigênica	Calor úmido ou enzimática
	Diluição do anticorpo primário	Protocolo estabelecido pelo laboratório
	Incubação com amplificadores	LSAB/HRP-AP
	Revelação com cromógeno	DAB/Fast red/Permanent red
	Contra corar	Hematoxilina de Mayer
	Desidratação e clareamento	Álcool e xilol
	Montagem/selagem	Meios de montagem natural ou sintético, aquoso ou livre de água dependendo do cromógeno utilizado
Pós-analítica	Interpretação do resultado	Detectado ou não detectado
	Confecção do laudo	Manuscrito
	Digitização	Sistema informatizado
	Libração para o paciente ou responsável legal	Protocolo de controle da liberação do laudo

Fonte adaptada: Ramos-Vara; Miller, 2014.

5.5.4.8.4 Controles para imuno-histoquímica

Controles do tecido avaliam o desempenho do anticorpo e/ou reações realizadas.

a) Positivo

Tecido conhecido por conter o antígeno alvo detectável pelo mesmo método de IHQ.

b) Negativo

Tecido conhecido por conter o antígeno alvo detectável pelo mesmo método de IHQ. Nesse caso, será incluído na reação uma lâmina onde será omitido o anticorpo primário e adicionado um soro normal ou solução diluidora de anticorpo.

Os controles, geralmente, são obtidos a partir de casos internos sabidamente positivos, no entanto, já existem controles produzidos comercialmente e que permitem maior controle de qualidade (KABIRAJ et al., 2015).

As lâminas-controle devem ser identificadas com a data que se realizou a reação e o nome do anticorpo.

Recomendações do Controle de Qualidade

Um forma de controle e de rastreabilidade dos protocolos das reações imuno-histoquímicas, assim como do preparo das soluções e dos controles pode ser aplicada por meio de um mapa, um formulários ou um livro de registro.

Como proceder em casos de grande demanda?

Sugere-se a utilização, caso o laboratório tenha disponibilidade de recursos, de um equipamento de automação. Esse equipamento permite que a técnica seja realizada em um grande número de lâminas de forma padronizada. Em caso de protocolos manuais pode-se agilizar o processo utilizando o sistema de capilaridade e as bandejas com imã que permitem que a técnica seja realizada em um maior número de lâminas ao mesmo tempo.

5.5.4.9 Fase Analítica: Selagem ou montagem das lâminas histológicas

A selagem ou montagem das lâminas histológicas é a última operação realizada antes da entrega do material ao patologista. Consiste em cobrir os cortes histológicos previamente corados com um meio líquido e uma lamínula delgada de vidro, a fim de proteger e conservar o material.

As lamínulas mais utilizadas em laboratório de anatomia patológica podem ter a espessura entre 100-160 μm e dimensões como 24 X 32 mm e 24 X 50 mm.

Os meios de montagem podem ser miscíveis com água, meios hidrofílicos/provisórios, ou não miscíveis com água, meios hidrofóbicos/permanentes (MICHALANY, 1998; CAPUTO; GITIRANA; MANSO, 2010).

- Meio hidrofílico/provisório: gelatina.
- Meio hidrofóbico/permanente: comercial (p.ex., Entellan) e natural (p.ex., goma de Damar ou bálsamo do Canadá).

5.5.4.10 Fase Analítica: microscopia/análise histopatológica

Após os procedimentos técnicos o patologista receberá uma bandeja com as lâminas histológicas coradas em H&E e as solicitações dos exames para proceder a análise microscópica (RAMOS; SANTOS; RAMOS, 2010).

A microscopia é a análise morfológica das alterações presentes nas amostras de tecido visualizadas ao microscópio óptico. Nesse primeiro momento, de acordo com a hipótese diagnóstica e com o aspecto morfológico, o patologista poderá liberar o resultado de imediato ou redirecionar o caso para retorno a técnica, caso julgue pertinente a realização de recortes seriados ou aprofundamento do material, repetição da coloração pela H&E, realização de técnicas de coloração especial, realização de imuno-histoquímica ou de outras técnicas auxiliares que estejam disponíveis no laboratório (RAMOS; SANTOS; RAMOS, 2010).

Em períodos de pouca demanda, esse fluxo não interfere no tempo de resposta diagnóstica e, ainda, favorece o controle de custos, uma vez que colorações especiais

e a técnica de imuno-histoquímicas são realizadas a critério do patologista.

Dessa forma o patologista sinalizará para a técnica que colorações ele considera necessárias para seguimento do caso, quais anticorpos serão utilizados para detecção do antígeno a ser estudado pela técnica de imuno-histoquímica ou caso seja preciso, recortes ou aprofundamento da amostra. As solicitações devem ser registradas em um livro de protocolo que servirá de guia para o técnico iniciar sua rotina.

Não obstante, esse caminho pode se tornar moroso e desorganizado quando a demanda subitamente aumenta, seja por falta de recursos humanos e insumos na rede de laboratórios, seja por surtos ou epidemias não previsíveis que impactam em todas as etapas do processo.

Sendo assim, a recomendação é a reformulação do fluxo, visando otimizar o processo e minimizar o tempo de resposta diagnóstica. Nesse caso, é recomendado que seja definido um protocolo de colorações e/ou um painel de anticorpos que possam ser realizados antes de chegar ao patologista. Assim, o patologista receberá todas as colorações juntas, facilitando a elaboração imediata do relatório anátomo patológico. Além disso, esse ajuste reduz o volume de trabalho para a parte técnica, já sobrecarregada pelo aumento da demanda, e evita a circulação excessiva de lâminas, blocos e requisições, o que pode propiciar seu extravio em momentos de grande demanda.

Como proceder em casos de grande demanda?

Recomendamos, em caso de demanda súbita, que seja definido um protocolo de colorações e/ou um painel de anticorpos que possam ser realizados antes de chegar ao patologista. Assim, o patologista receberá todas as colorações juntas, facilitando a elaboração imediata do relatório anátomo patológico

Recomendações do Controle de Qualidade

Para o controle das consultas intra e extra departamental em diagnóstico histopatológico recomenda-se o preenchimento de um formulário que deve ser anexado junto à requisição do exame para permitir o acompanhamento de todas as diretrizes tomadas, caso seja necessário rever o caso ou para esclarecer algum questionamento. O roteiro para o formulário está descrito na figura 27.

Figura 27 - Consultas intra e extra departamental em diagnóstico histopatológico.

CONSULTA HISTOLÓGICA INTRA E EXTRA DEPARTAMENTAL

NÚMERO DO CASO/BANCADA: número de identificação do caso.

DATA: data que iniciou a solicitação de consulta.

TIPO DE CONSULTA: optar por consulta intra ou extra departamental.

PATOLOGISTA DE ORIGEM: nome do patologista que está estudando o caso.

PATOLOGISTA CONSULTOR: nome do patologista que fará a consulta.

INSTITUIÇÃO: caso seja uma consulta extra departamental, inserir o nome da instituição de origem do consultor.

ASPECTOS E/OU DIAGNÓSTICOS PARA DISCUSSÃO: informações pertinentes ao caso.

OPINIÃO DO CONSULTOR: destinado ao parecer do consultor.

Fonte: elaborado pela autora.

5.5.4.11 Fase Analítica: relatório anatomopatológico (laudo/resultados)

O relatório anatomopatológico, que inclui avaliações macro e microscópicas aliadas a metodologias auxiliares, como a técnica de imuno-histoquímica, passaram a transmitir não só informações diagnósticas, mas também prognósticas e preditivas (RAMOS; SANTOS; RAMOS, 2010).

O relatório anatomopatológico deve ser preciso e objetivo, claro e não

apresentar rasuras, deve conter a data e a assinatura do patologista responsável. Seguidamente ao término da sua elaboração, o relatório deverá ser entregue ao responsável por sua digitação em sistema informatizado (DIAS, 2017).

5.5.4.12 Fase Pós-analítica: digitação do relatório anatomopatológico (laudo/resultado)

O relatório anatomopatológico manuscrito será digitado por meio de um sistema informatizado que possua *backup* de segurança, para garantir a rastreabilidade das informações (RAMOS; SANTOS; RAMOS, 2010).

O profissional responsável por essa função não poderá realizar alterações no manuscrito e nem digitar informações que não estejam contidas no relatório. Caso seja identificado algum desacerto, este deverá ser corrigido pelo patologista responsável pelo relatório no momento da verificação final.

Todos os passos realizados, desde a digitação até a impressão da cópia para o paciente ou instituição solicitante, são controlados por senha individualizada, que garante a confidencialidade dos dados do paciente.

Será arquivado, após assinatura do patologista responsável, a requisição do exame anexada a cópia do laudo impresso, conforme descrito no item de arquivo deste manual.

5.5.4.13 Fase Pós-analítica: arquivo de laudo, lâmina histológica e bloco de parafina

A manutenção adequada do arquivo de um laboratório de anatomia patológica deve ser levado em consideração, pois o principal objetivo é resgatar as informações quando necessárias, sejam elas de laudos, de lâminas histológicas ou de blocos de parafina (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011).

Alguns requisitos para a organização de um arquivo em anatomia patológica devem ser observados, como o espaço físico, tempo de permanência, a segurança, rastreabilidade e organização (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011).

5.5.4.13.1 Espaço físico

Laudos, lâminas histológicas e blocos de parafina devem ser mantidos em um espaço físico adequado, seguro, restrito e que previna os riscos de incêndio ou de inundação e, caso seja possível, um controle de temperatura e umidade deve ser realizado diariamente (BRASIL, 2014).

5.5.4.13.2 Organização

Arquivo de laudos, lâminas histológicas e blocos de parafina deve ser organizado por ordem crescente seguido do ano vigente (BRASIL, 2014).

O arquivo necessita de uma área que comporte armários de metal próprios para a guarda dos laudos, lâminas histológicas e/ou blocos de parafina (arquivo de metal) e/ou prateleiras para acondicionamento de caixas de arquivo. Os arquivos de metal são duráveis e comportam grande quantidade de laudos, de lâminas histológicas ou de blocos de parafina em um único lugar, facilitando a organização do espaço. Em locais com menos disponibilidade de recursos, podem ser utilizadas caixas para o arquivamento dos laudos, das lâminas histológicas e dos blocos de parafina, identificadas com a sequência de números em ordem crescente seguida do ano vigente, primando para que fiquem organizadas e acessíveis (BRASIL, 2002; RAMOS; SANTOS; RAMOS, 2010; SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA - SBP, 2006a).

O arquivo de laudo pode ser organizado em arquivos de metal ou em caixas “box” de papelão ou polionda (apresenta maior durabilidade), sendo as duas maneiras, identificadas em ordem numérica crescente seguida do ano vigente. Cada caixa box comporta em média 450 laudos arquivados ordenadamente. Em casos de grande demanda, sugerimos que sejam arquivados, em cada caixa “box”, em média 700 laudos para que aumente a capacidade de arquivamento sem aumentar muito o volume de caixas que precisam ser guardadas e, ainda assim, manter o arquivo organizado (BRASIL, 2002, 2014).

O arquivo de lâminas histológicas, preferencialmente, deve ser feito em arquivo de metal próprio para lâminas de vidro, porque permite a organização individualizada

das lâminas, em ordem numérica e evita a quebra. Ele é composto por gavetas que devem ser identificadas com a sequência numérica e o ano vigente. Porém, como já citado, o arquivo pode ser feito em caixas próprias para lâminas histológicas, dependendo dos recursos disponíveis em cada laboratório (BRASIL, 2002, 2014).

O arquivo de blocos de parafina pode ser realizado tanto em arquivo de metal, como em caixas de papelão próprias para esse tipo de arquivo. Conforme o arquivo de lâminas histológicas o de bloco de parafina também deve ter as gavetas identificadas com a sequência numérica seguida do ano vigente. As caixas também levam a identificação na tampa e armazenam 100 blocos em cada. Atenta-se, nesse caso, para a necessidade de que os blocos de parafina sejam armazenados em um espaço ao abrigo do calor (BRASIL, 2002).

Todos as maneiras de organizar o arquivo devem primar pela ordem, visto que as informações precisam estar acessíveis caso sejam solicitadas. As figuras 28 e 29 mostram os arquivos utilizados pelo SeAP-INI.

Figura 28 - Arquivo de metal para armazenagem de lâminas histológicas e arquivo de papelão para blocos de parafina, utilizados no SeAP-INI.



Legenda: a) arquivo de metal próprio para armazenagem de lâminas histológicas, b) organização e capacidade de armazenagem do arquivo de metal demonstrada em uma gaveta aberta, c) caixa de papelão própria para armazenamento de blocos de parafina, d) caixas de papelão com blocos de parafina identificados e organizados em prateleiras, e) caixa de papelão mostrando a organização interna dos blocos de parafina.

Fonte: imagens cedidas pelo SeAP-INI.

Figura 29 - Arquivo em caixa box dos resultados/laudos.



Legenda: a) arquivo de laudos armazenados em caixas box de papelão organizadas nas prateleiras, b) caixa corretamente identificada, c; d) caixa box aberta mostrando os laudos organizados e a capacidade de armazenagem.

Fonte: imagens cedidas pelo SeAP-INI.

5.5.4.13.3 *Tempo de permanência*

Laudos, lâminas histológicas e blocos de parafina fazem parte do prontuário médico e devem ser mantidos sob a guarda do laboratório por, no mínimo, cinco anos, porém a adoção de prazos maiores é facultada com o intuito de resguardar a memória histórica dos arquivos quer para fins jurídicos, técnico-científico ou administrativo do laboratório (GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO, 1978; RAMOS; SANTOS; RAMOS, 2010; SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA - SBP, 2005, 2010).

5.5.4.13.4 Rastreabilidade

O laudo, a lâmina histológica e o bloco de parafina precisam ser arquivados de forma que garanta sua rastreabilidade, ou seja, qualquer manipulação do arquivo, seja ela para o paciente, para pesquisa ou para recorte deve ser registrada em um livro ou um formulário próprio, descrito no POP. Nesse registro deve conter o número interno do laboratório, o motivo da retirada, a data e a rubrica do responsável (EL-NEGEH; MAYNARD; CORDNER, 1999; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011).

5.5.4.13.5 Segurança

A maioria dos laboratórios de anatomia patológica utilizam o arquivo de papel que demanda espaço e um controle rígido de acesso, mas permite que a informação seja resgatada mesmo em locais com poucos recursos. Entretanto, outros laboratórios possuem as duas modalidades de arquivo: o de papel e o informatizado, que concentra todos os registros desde a solicitação do exame até a impressão do laudo. Existem, ainda, os laboratórios com maiores recursos, que dispõe de sistemas integrados que possibilitam realizar todos os registros e digitalizar a requisição do exame, promovendo o descarte do papel e otimizando o espaço do arquivo. Ademais, protege melhor os dados, pois utiliza para isso um código de acesso individualizado e rastreável. No entanto, o *backup* de todo o sistema pode ser uma preocupação, pois o laboratório precisa salvar todo o sistema automaticamente e regularmente, com critérios definidos de segurança (BRASIL, 2014; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011).

5.5.4.14 Fase Pós-analítica: Controle da cessão de material

A cessão de lâmina histológica e bloco de parafina, mediante solicitação por escrito realizada pelo médico assistente e com autorização do paciente ou

representante legal deve ser acatada pelo laboratório em um prazo previamente definido e estabelecido no POP do laboratório (CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA, 1994b; RAMOS; SANTOS; RAMOS, 2010). Adotamos um prazo de 72 horas para que o laboratório possa proceder um novo recorte do bloco de parafina e confeccionar uma lâmina corada em H&E para ser arquivada, além de providenciar os trâmites administrativos pertinentes. A figura 30 é uma sugestão de formulário para cessão de lâmina histológica e bloco de parafina que pode ser preenchido a cada solicitação e enviada juntamente com o material cedido. Para controle da saída do material, pode ser usado um livro de protocolo, onde será descrito o número de interno do laboratório, que tipo de material está sendo liberado e a quantidade (p. ex., uma lâmina histológica corada em H&E, um bloco de parafina, uma segunda via do laudo histopatológico e uma via do formulário de cessão de material), o nome do responsável pela retirada, o grau de parentesco, quando for representante legal, um documento de identificação, data da retirada e rubrica (CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA, 1994b; SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA - SBP, 2006b).

Figura 30 - Roteiro para formulário de cessão de lâmina e bloco.

<p>CONTROLE DE CESSÃO DE LÂMINA HISTOLÓGICA E BLOCO DE PARAFINA</p> <p>NÚMERO DO POP: número do POP em que o formulário está inserido.</p> <p>DATA/HORA: data e hora que foi realizada a separação do material.</p> <p>NÚMERO DO CASO: número de registro do material.</p> <p>NOME DO PACIENTE: nome completo do paciente, a critério do laboratório pode ser colocado o número do atendimento ou prontuário do paciente.</p> <p>MATERIAL FORNECIDO: especificar quantidade de lâminas histológicas e as colorações realizadas e o número de blocos de parafina.</p> <p>DIAGNÓSTICO: informar qual foi o diagnóstico e anexar uma segunda via.</p> <p>MÉDICO RESPONSÁVEL: responsável pelo diagnóstico.</p> <p>ENDEREÇO COMPLETO: endereço do laboratório, telefone de contato e e-mail.</p> <p>INFORMAÇÕES SOBRE A REVISÃO DO CASO: após o patologista da outra instituição realizar a revisão, espera-se receber uma resposta sobre o novo registro, como forma de controle. Anexando a cópia do laudo.</p>

Fonte: elaborado pela autora.

5.6 INDICADORES DA QUALIDADE

A implementação da gestão da qualidade em laboratórios requer comprometimento nas atividades de melhoria contínua, monitoramento e definição de metas dos principais processos e atividades, visando a detecção e eliminação de pontos fracos e a redução da taxa de riscos. Essas medidas de controle são verificadas com a ajuda de indicadores da qualidade que permitem visualizar os problemas que necessitam de ações preventivas e corretivas (RICÓS; GARCÍA-VICTORIA; FUENTE, 2004; ŠIMUNDIĆ; TOPIĆ, 2008).

Os indicadores da qualidade são ferramentas importantes que permitem mensurar a relação entre a situação atual e a meta desejada, por meio da utilização dos dados gerados nos processos realizados rotineiramente e assim elaborar um

panorama da situação real do laboratório auxiliando a tomada de decisão (VIEIRA et al., 2011).

Os indicadores precisam refletir a situação que se deseja quantificar, ser de fácil compreensão e com dados atuais e acessíveis. O desenvolvimento dos indicadores deve ser uma ação disseminada entre os profissionais das diversas etapas do trabalho, com o intuito de gerar envolvimento e comprometimento na captação dos dados (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA), 2016).

Para cada indicador estabelecido é recomendada a elaboração de uma ficha técnica contendo as características a serem observadas e informações que possam auxiliar na interpretação do indicador, conforme demonstrado na figura 31. A análise crítica dos resultados dos indicadores devem ter periodicidade de acordo com o sistema da qualidade e/ou a critério do laboratório (KIRCHNER et al., 2007).

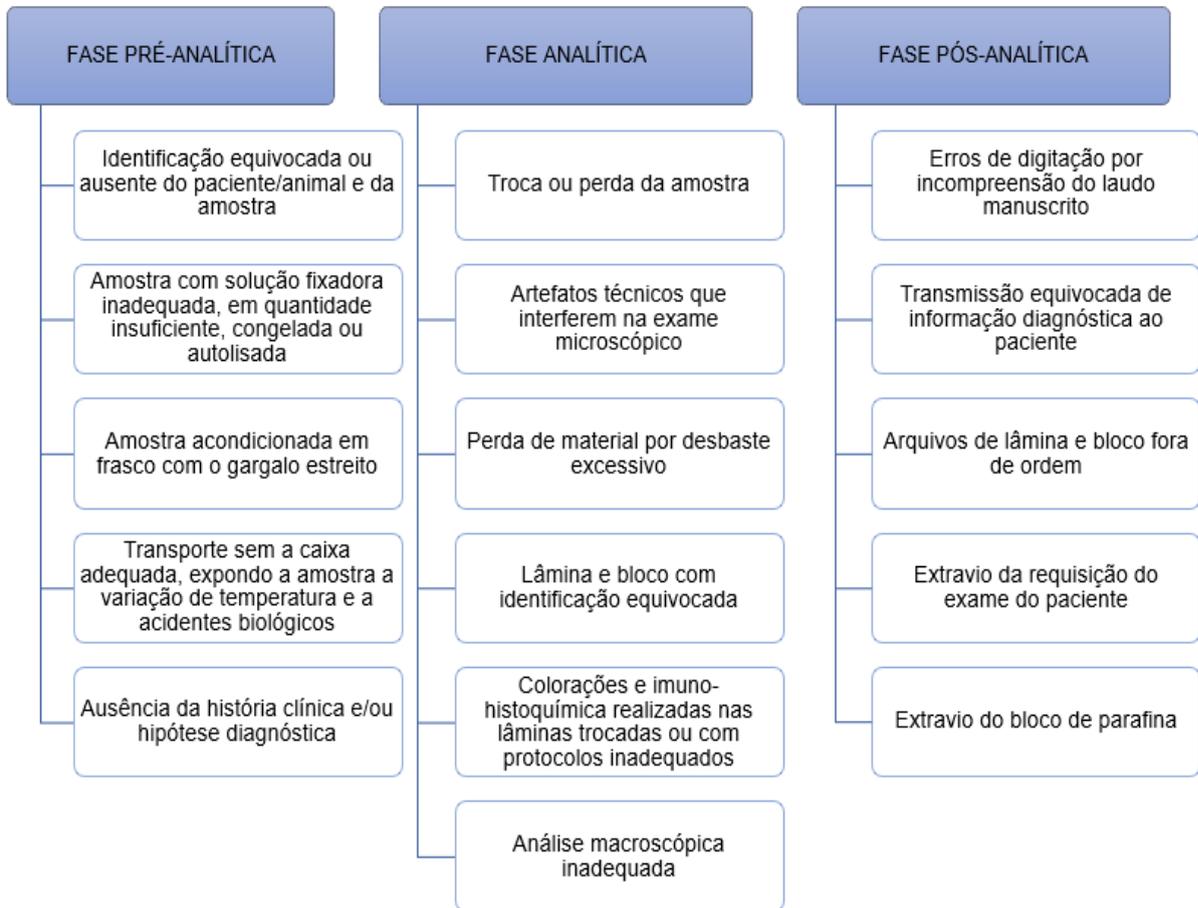
Figura 31 - Ficha técnica para elaboração de indicadores.

FICHA TÉCNICA DE INDICADORES	
NOME DO INDICADOR:	nome simples e claro para o melhor entendimento da equipe, por exemplo: tempo médio de resposta diagnóstica.
LABORATÓRIO/SERVIÇO:	nome do local onde responsável pelo indicador.
RESPONSÁVEL:	profissional responsável pela captura das informações necessárias para a apuração do indicador.
FINALIDADE:	relato sucinto do objetivo do indicador.
VALOR INICIAL:	primeira aferição que servirá de marco inicial para a comparação dos valores e análise do comportamento do indicador.
META:	resultado que se deseja alcançar em um determinado período de tempo.
FONTE DE DADOS:	sistemas de informação, planilhas, relatórios, entre outros, responsáveis pela produção da informação necessária para a verificação do indicador.
PERÍODO:	intervalo de tempo para o acompanhamento do resultado, por exemplo: quinzenal, mensal ou anual.
UNIDADE DE MEDIDA:	padrão escolhido para mensuração do indicador, por exemplo: unidade, porcentagem, dias, metros, etc.
FÓRMULA:	definição necessária a compreensão do indicador, por exemplo: uma fórmula matemática.
REVISÃO:	acompanhamento do indicador após a realização de alguma intervenção de melhoria no processo.

Fonte: elaborado pela autora.

Embora o laboratório de anatomia patológica possa apresentar procedimentos realizados manualmente, os erros com maior impacto para o paciente estão concentrados na fase pré-analítica e pós-analítica. A figura 32 apresenta alguns erros encontrados em laboratório de anatomia patológica, em cada fase do processo (ADYANTHAYA; JOSE, 2013; MOHAMMEDSALEH, 2014; RAO et al., 2016; VALENSTEIN; SIROTA, 2004).

Figura 32 - Erros mais comuns encontrados em laboratório de anatomia patológica em cada fase do processo.



Fonte: elaborado pela autora.

Os laboratórios de anatomia patológica podem utilizar indicadores para avaliar o desempenho dos processos relacionados as fases pré-analíticas, analíticas e pós-analítica, com o objetivo de melhorar a qualidade do laboratório. Sugestão de tipos de indicadores de desempenho por fases do processo técnico estão descritos no quadro 24 (GRIFFITHS; GILLIBRAND, 2017; RICÓS; GARCÍA-VICTORIA; FUENTE, 2004).

Quadro 24 - Exemplos de tipos de indicadores de desempenho por fases do processo técnico para uso em laboratório de anatomia patológica.

Fases dos processos	Unidade de medida	Indicadores de desempenho
Pré-analítica	Porcentagem	Erros no cadastro da amostra e/ou paciente/animal
		Erros na identificação da amostra e/ou pedido de exame
		Amostras sem fixador, com fixador inadequado ou congeladas
Analítica	Porcentagem	Atraso na técnica (processamento, inclusão, microtomia)
		Atraso na entrega da coloração especial
		Atraso na entrega da imuno-histoquímica
		Amostras com artefatos da técnica que prejudicaram o diagnóstico
		Material trocado ou extraviado
Pós-analítica	Tempo médio	Resultados fora do prazo
	Porcentagem	Casos que ultrapassam o prazo
		Solicitação de revisão de casos
		Satisfação dos clientes

Fonte: elaborado pela autora.

Os indicadores fazem parte do monitoramento da qualidade, por essa razão suas fichas, relatórios, gráficos, entre outros documentos devem ser arquivados em local de fácil acesso para agilizar o resgate da informação e desenvolver o hábito da avaliação das práticas da rotina diariamente (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA), 2016).

5.7 NOÇÕES DE GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS DE SERVIÇO DE SAÚDE

Os resíduos oriundos do sistema de saúde causam uma considerável poluição representando um risco significativo à saúde de funcionários, pacientes e a sociedade. São gerados, principalmente, por prestadores de assistência médica, odontológica, laboratorial, farmacêutica e instituições de ensino e pesquisa médica relacionadas tanto à população humana quanta à veterinária. (GADLELA et al., 2013; GONÇALVES et al., 2011; SILVA; HOPPE, 2005).

A partir de bases científicas e técnicas, normativas e legais, o gerenciamento de resíduos de serviço de saúde (RSS) passou a atribuir responsabilidades específicas aos vários segmentos envolvidos como geradores, autoridades sanitárias

e ambientais com o objetivo de minimizar a produção de resíduos e proporcionar um encaminhamento seguro (BRASIL, 2018b; SILVA; HOPPE, 2005).

Todo gerador deve elaborar um Plano de Gerenciamento de Resíduos de Serviços de Saúde (PGRSS), baseado nas características dos resíduos gerados e na classificação de risco, estabelecendo as diretrizes de manejo dos RSS (BRASIL, 2018b).

O PGRSS a ser elaborado deve ser compatível com as normas vigentes relativas à coleta, transporte e disposição final dos resíduos gerados nos serviços de saúde (BRASIL, 2018b). Uma descrição resumida das etapas do manejo de RSS está apresentada no quadro 25.

Quadro 25 - Descrição resumida das etapas de classificação de resíduos de serviço de saúde e as diretrizes para consulta.

Etapas	Descrição	Diretrizes para consulta
Segregação	Separação dos resíduos no momento e local de sua geração de acordo com as características físicas, químicas e biológicas.	RDC 222:2018 da Anvisa
Acondicionamento	Emballar os resíduos segregados em sacos ou recipientes resistentes e livres de vazamentos.	RDC 222:2018 da Anvisa NBR 9191:2002 da ABNT
Identificação	Medidas para reconhecer o resíduo acondicionado.	RDC 222:2018 da Anvisa NBR 7500:2011 da ABNT
Transporte interno	Transporte do resíduo até o armazenamento temporário.	RDC 222:2018 da Anvisa
Armazenamento temporário	Guarda temporária dos recipientes contendo os resíduos.	NBR 12235:1992 da ABNT
Tratamento	Aplicação de método, técnica ou processo que modifique os riscos inerentes aos resíduos.	CONAMA, Resolução 237/1997
Armazenamento externo	Guarda dos recipientes dos resíduos até a coleta externa, em ambiente exclusivo.	RDC 222:2018 da Anvisa
Coleta e transporte externo	Remoção dos resíduos do abrigo até a unidade de tratamento ou disposição final.	NBR 12810:2016 da ABNT NBR 14652:2019 da ABNT
Disposição final	Disposição dos resíduos ao solo.	CONAMA, Resolução 237/1997

Fonte: elaborado pela autora.

Os resíduos dos serviços de saúde (RSS) podem ser classificados, como resíduo biológico (Grupo A), químico (Grupo B), radioativo (Grupo C), doméstico (Grupo D) e perfurocortante (Grupo E). A descrição de cada grupo está apresentada

no quadro 26 (BRASIL, 2018b).

Quadro 26 - Classificação dos resíduos de serviços de saúde.

Classificação	Descrição
Grupo A	Resíduos com a possível presença de agentes biológicos que, por suas características, podem apresentar risco de infecção. Subdivide-se em A1, A2, A3, A4 e A5.
Grupo B	Resíduos contendo substâncias químicas que podem apresentar risco à saúde pública ou ao meio ambiente, dependendo de suas características de inflamabilidade, corrosividade, reatividade e toxicidade.
Grupo C	Quaisquer materiais resultantes de atividades humanas que contenham radionuclídeos em quantidades superiores aos limites de isenção especificados nas normas do CNEN e para os quais a reutilização é imprópria ou não prevista. - Enquadram-se neste grupo os rejeitos radioativos ou contaminados com radionuclídeos, provenientes de laboratórios de análises clínicas, serviços de medicina nuclear e radioterapia, segundo a resolução CNEN-6.05.
Grupo D	Resíduos que não apresentem risco biológico, químico ou radiológico à saúde ou ao meio ambiente, podendo ser equiparados aos resíduos domiciliares.
Grupo E	Materiais perfurocortantes ou escarificantes, tais como: Lâminas de barbear, agulhas, escalpes, ampolas de vidro, brocas, limas endodônticas, pontas diamantadas, lâminas de bisturi, lancetas; tubos capilares; micropipetas; lâminas e lamínulas; espátulas; e todos os utensílios de vidro quebrados no laboratório (pipetas, tubos de coleta sanguínea e placas de Petri) e outros similares.

Fonte adaptada: Brasil, 2018b.

O laboratório de anatomia patológica é um gerador de resíduos importante e como tal deve preparar um plano de gerenciamento de resíduos de serviço de saúde (PGRSS), conforme as determinações da RDC 222:2018 da Anvisa, visando minimizar os impactos da gestão inadequada dos resíduos (BRASIL, 2018b; GONÇALVES et al., 2011).

Um grande impasse na implementação das boas práticas na gestão de resíduos é o desconhecimento das pessoas envolvidas e da comunidade. A conscientização da importância do manejo correto dos resíduos gerados, o levantamento e análise dos riscos atribuídos a geração de resíduos, bem como as medidas de evitar acidentes são fundamentais para aproximar o teórico do empírico. Sendo assim, treinamentos regulares sobre o PGRSS do laboratório são fundamentais nesse processo, bem como reuniões com profissionais capacitados

para que a equipe possa esclarecer as dúvidas existentes (GONÇALVES et al., 2011; OZDER et al., 2013).

No laboratório de anatomia patológica algumas práticas podem ser adotadas para promover a segregação consciente e permitir a reutilização e/ou reciclagem nas etapas do manejo dos resíduos, conforme apresentado a seguir:

- Reutilizar os frascos vazios das substâncias químicas, retirando a etiqueta original e identificando de maneira indelével o nome da solução para descarte.
- Atentar para as características das substâncias químicas, pois podem exigir tratamento específico antes do descarte, vide NBR 10004:2004 da ABNT (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2004).
- Atentar para a compatibilidade das substâncias químicas no momento de verter para o recipiente de acondicionamento temporário (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2004).
- Produtos químicos perigosos devem ter um estoque mínimo dentro do laboratório (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2004).
- Produtos sem embalagem e/ou sem rótulo de identificação devem ser descartados.
- A etiqueta de identificação dos resíduos de substâncias químicas perigosas deve conter: nome do produto, características físico-químicas, volume e símbolo para identificação do risco (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2001).
- Frascos de plástico vazios provenientes das amostras biológicas devem ser descartados no saco branco leitoso, no entanto os frascos de vidro, com a mesma origem, devem seguir o resíduo de vidros das substâncias químicas.
- Nunca descarte resíduos das classes A-Biológico, B-Químico, C-Radioativo e E-Perfurocortante na rede de esgoto domiciliar ou no lixo comum, essa inadvertência pode acarretar em problemas de segurança e ambientais.

A classificação dos resíduos mais comuns gerados em laboratório de anatomia patológica e a compatibilidade das categorias estão descritas nos quadros 27 e 28.

Quadro 27 - Classificação dos resíduos mais comuns gerados por um laboratório de anatomia patológica.

Categorias	Descrição	Acondicionamento e identificação
Grupo A Subgrupo A4	Reservas de biópsias e peças cirúrgicas, papel toalha, papel de filtro, gaze e frascos de plástico vazios das amostras recebidas .	Estes resíduos podem ser dispostos, sem tratamento prévio. Devem ser acondicionados em saco branco leitoso, que devem ser substituídos quando atingirem 2/3 de sua capacidade ou pelo menos 1 vez a cada 24 horas. Sinalizado com etiqueta de resíduo infectante e biológico.
Grupo B	Reagentes, fixadores, tampões, reveladores, descalcificadores, diafanizadores, parafina, corantes, diluentes entre outras.	Os resíduos químicos devem ser acondicionados, conforme suas características físico-químicas, em recipientes constituídos de material compatível com o químico armazenado, resistentes, rígidos e estanques, com tampa rosqueada e vedante. Sinalizado com etiqueta de resíduo químico, frases de risco (inflamável, corrosivo, tóxico, entre outros).
Grupo D	Papeis utilizados no sanitário, papel A4 utilizado na impressão de laudos e outros documentos, embalagens de papel, copos descartáveis.	Saco de qualquer cor, exceto branco. Sinalizado com etiqueta de resíduo comum.
Grupo E	Navalha, agulhas, pontas diamantadas, lâminas de bisturi, lancetas, micropipetas, lâminas e laminulas, espátulas, e todos os utensílios de vidro quebrados no laboratório.	Coletor rígidos, resistentes à punctura, ruptura e vazamento, com tampa. Sinalizado com etiqueta de resíduo perfurocortante.

Fonte: elaborado pela autora.

Quadro 28 - Compatibilidade das categorias de resíduos químicos para armazenamento temporário.

Categoria de resíduos	Compatíveis (essas categorias podem ocupar o mesmo recipiente)
Solventes inflamáveis	Acetona, metanol, etanol, tolueno, xileno, formaldeído, acetonitrila, benzeno, entre outras.
Ácidos orgânicos	Halotano, cloreto de metileno, clorofórmio, tetracloreto de carbono, tricloroetano, tricloroetileno.
Solventes halogenados	Ácido fórmico, ácido acético, ácido propiônico.
Categoria de resíduos	Incompatíveis (essas categorias não podem ocupar o mesmo recipiente)
Solução de metal pesado	Soluções aquosas contendo arsênico, bário, cádmio, cromo, cobre, chumbo, mercúrio, ósmio, selênio, prata, entre outras.
Ácidos minerais	Ácido clorídrico, ácido nítrico, ácido sulfúrico, ácido perclórico.
Bases inorgânicas	Hidróxido de sódio, hidróxido de potássio, amônia.
Oxidantes	Nitrato de potássio, peróxido de hidrogênio, permanganato de potássio, alvejante
Resíduos reativos	pentóxido de fósforo, hidreto de sódio, metóxido de sódio, ácido pícrico seco.

Fonte adaptada: Gadlela et al., 2013.

6 DISCUSSÃO

O aperfeiçoamento do diagnóstico laboratorial de doenças infecciosas é fundamental diante da emergência e reemergência de diferentes patógenos. Segundo Masanza et al. (2010), os laboratórios são uma das principais capacidades que um país deve desenvolver, uma vez que desempenham um papel importante em todos os principais processos de detecção, avaliação, resposta, notificação e monitoramento de eventos epidemiológicos (MASANZA et al., 2010). Enquanto os países desenvolvidos organizam e adaptam facilmente seus serviços laboratoriais, os países com recursos limitados precisam de ajuda considerável, sendo assim várias ações ao longo dos anos foram sendo estabelecidas para que se tenha redes de laboratórios estruturadas com infraestrutura adequada para detecção, controle e prevenção de doenças. O Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) e a Organização Mundial da Saúde (OMS) estruturaram algumas recomendações para a formação de parcerias locais e regionais e redes horizontais de laboratórios. Essas redes devem compartilhar informações sobre padrões incomuns de doenças humanas e zoonóticas, sendo assegurados suporte de transferência de tecnologia, disponibilidade de reagentes e suprimentos críticos, recursos aprimorados de comunicação, atividades contínuas de controle de qualidade e os meios para reter pessoal competente e treinado que possua conhecimento ou recursos únicos de diagnóstico (OLMSTED et al., 2010; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996).

No Brasil, a epidemia de febre amarela entre 2017 e 2018 levou a um aumento dramático da demanda pelo diagnóstico da doença, especialmente para a vigilância da doença em primatas não humanos (BRASIL, 2004, 2017a, 2017b). Esse fato expôs pontos de fragilidade na rede de laboratórios de referência, frente a situações emergenciais. Nesse sentido, o presente estudo demonstrou que a implementação de medidas estratégicas ao fluxo do diagnóstico levou a redução do tempo de resposta diagnóstica e do número de resultados atrasados durante o período estudado, conforme demonstrado pelos indicadores de qualidade utilizados.

Os indicadores utilizados neste trabalho foram o tempo médio de resposta diagnóstica e o percentual de resultados liberados que ultrapassaram o prazo de 30 dias. Uma vez que o aumento expressivo da demanda no SeAP se refletiu em resultados negativos em relação a esses indicadores, mecanismos de controle da

qualidade das atividades laboratoriais foram reformulados e intensificados para a otimizar o fluxo dos processos relacionados ao diagnóstico histopatológico e imuno-histoquímico e garantir uma resposta ágil e efetiva aos órgãos de vigilância.

De fato, estudos demonstram que os indicadores laboratoriais são ferramentas eficazes no controle de melhorias e que auxiliam na padronização e na definição de critérios de qualquer procedimento realizado pelo laboratório (FRANCO et al., 2010; KENNEDY et al., 2017; THE LANCET, 2020). Atualmente, ainda não se tem um consenso acerca dos melhores indicadores para cada fase do processo pré-analítico, analítico e pós-analítico de um laboratório, visto que a diversidade de processos é muito grande. Dessa forma, os indicadores mais utilizados no âmbito laboratorial acabam sendo os escolhidos para controle da implementação de melhorias e comparação de resultados (VIEIRA et al., 2011). Ressalta-se que, no presente estudo, o cálculo dos indicadores foi realizado com base somente em casos positivos, de forma que análises futuras, assim como a utilização de outros indicadores, podem auxiliar na identificação mais acurada de pontos críticos no fluxo laboratorial.

Destaca-se ainda que, além das medidas implementadas e da utilização dos indicadores mencionados, a existência prévia de um sistema da qualidade estabelecido contribuiu para abreviar o tempo de detecção de problemas ou inconsistências, facilitando a rápida execução de ações.

A experiência vivenciada pelo SeAP/INI nesta epizootia proporcionou grande aprendizado, visto que há muitas lacunas sem resposta sobre a prática do gerenciamento de laboratórios em casos de grandes demandas. Assim sendo, as melhorias realizadas no fluxo para otimização dos processos relacionados ao diagnóstico histopatológico e imuno-histoquímico foram descritas em um manual técnico, esperando-se que possam nortear outros laboratórios de anatomia patológica em relação ao manejo de processos laboratoriais, ampliando sua capacidade de resposta frente a situações de emergência em saúde pública.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foram identificados os gargalos no fluxo técnico do SeAP a partir de diálogos com a equipe e, dessa forma, se definiu as soluções para minimizar o impacto na resposta diagnóstica. Posteriormente remodelamos o fluxo utilizando o software Bizage Modeler que realinhou a nova proposta ao fluxo já utilizado pelo SeAP.

Os indicadores de desempenho para o tempo médio de resposta diagnóstica e o percentual de casos fora do prazo foram eficientes e demonstraram que as melhorias implementadas foram capazes de reduzir o tempo de resposta diagnóstica.

O manual foi elaborado para nortear outros laboratórios de anatomia patológica em relação ao manejo de surtos, ampliando sua capacidade de resposta frente a situações de emergência em saúde pública. A proposta de otimização sugerida nesse trabalho é dependente da disponibilidade de espaço e recursos técnicos e financeiros de cada local e as modificações propostas são frutos da experiência vivida pelo SeAP/INI na epizootia de febre amarela.

REFERÊNCIAS

ADVANCE STAFF. **The Grossing Histotechnologist in Surgical Pathology.**

Disponível em: <<https://www.elitecme.com/resource-center/laboratory/the-grossing-histotechnologist-in-surgical-pathology/>>. Acesso em: 8 maio. 2020.

ADYANTHAYA, S.; JOSE, M. Quality and safety aspects in histopathology laboratory. **Journal of Oral and Maxillofacial Pathology: JOMFP**, v. 17, n. 3, p. 402–407, 2013.

AIRES, C. A. M.; ARAUJO, C. F. M. DE; NOBRE, M. L. et al. Biossegurança em transporte de material biológico no âmbito nacional: um guia breve. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 6, n. 2, p. 73–81, 2015.

ALMEIDA FILHO, N. DE; BARRETO, M. L. **Epidemiologia & saúde: fundamentos, métodos, aplicações.** Rio de Janeiro: Grupo Gen - Guanabara Koogan, 2011.

ALTURKISTANI, H. A.; TASHKANDI, F. M.; MOHAMMEDSALEH, Z. M. Histological Stains: A Literature Review and Case Study. **Global journal of health science**, v. 8, n. 3, p. 72–79, 25 jun. 2015.

ANVISA. **Manual de Vigilância Sanitária sobre o transporte de material biológico humano para fins de diagnóstico clínico.** Brasília - DF: Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), 2015.

ARMED FORCES INSTITUTE OF PATHOLOGY (U.S.). **Histotechnological Methods.** Washington, D.C.: El Registro de Patología de los Estados Unidos de América, 1995.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. ABNT 7500:2001. Símbolos de risco e manuseio para o transporte e armazenamento de materiais. 2001.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. ABNT NBR10004:2004. Classificação de resíduos sólidos. 2004.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. ABNT NBR 13696:2005. Equipamentos de proteção respiratória - filtros químicos e combinados. 2005.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. ABNT NBR 12810:2016. Resíduos de serviços de saúde - Gerenciamento extra estabelecimento - Requisitos.

2016.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). ABNT NBR 12810:2. Coleta de resíduos de serviços de saúde. Jan. 1993.

BAGHERIAN, H.; FARAHBAKHS, M.; RABIEI, R. et al. National Communicable Disease Surveillance System: A review on Information and Organizational Structures in Developed Countries. **Acta Informatica Medica**, v. 25, n. 4, p. 271–276, 2017.

BARBÉ, B.; VERDONCK, K.; MUKENDI, D. et al. The Art of Writing and Implementing Standard Operating Procedures (SOPs) for Laboratories in Low-Resource Settings: Review of Guidelines and Best Practices. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 11, p. e0005053, 2016.

BENELLI, G.; DUGGAN, M. F. Management of arthropod vector data - Social and ecological dynamics facing the One Health perspective. **Acta Tropica**, v. 182, p. 80–91, 2018.

BERTE, L. M.; CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Quality management system: a model for laboratory services; approved guideline**. 4. ed. Wayne, PA: [s.n.]. v. 31

BIZAGI. **Bizagi BPM software - Our story**. Disponível em: <<https://www.bizagi.com/pt/quem-somos>>. Acesso em: 7 maio. 2019.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) RDC Nº 50, DE 21 DE FEVEREIRO DE 2002. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para planejamento, programação, elaboração e avaliação de projetos físicos de estabelecimentos assistenciais de saúde. 21 fev. 2002, p. 2.

BRASIL. **Manual de Vigilância Epidemiológica de Febre Amarela**. Brasília-DF: Ministério da Saúde, 2004. v. 1.

BRASIL. **Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso**. 8. ed. Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, 2010.

BRASIL. **Apoio ao diagnóstico e à terapia: Anatomia Patológica, Patologia Clínica, Hemoterapia e Hematologia, Medicina Nuclear**. 0. ed. Brasília - DF: [s.n.]. v. 4.

BRASIL. **Guia de Vigilância de Epizootias em Primatas Não Humanos e**

Entomologia Aplicada À Vigilância da Febre Amarela. 2ª atualizada ed. Brasília - DF: Ministério da Saúde, 2017a.

BRASIL. **Guia de Vigilância em Saúde.** 2. ed. Brasília-DF: [s.n.]. v. único.

BRASIL. Portaria nº 3.214 de 08 de junho de 1978, Norma Regulamentadora nº 6 de 2018. Portaria nº 3.214 de 08 de junho de 1978. Aprova as normas regulamentadoras que consolidam as leis do trabalho, relativas à segurança e medicina do trabalho. NR-6 Equipamento de proteção individual - EPI. 2018 a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) RDC Nº 222, DE 28 DE MARÇO DE 2018. Regulamenta as Boas Práticas de Gerenciamento dos Resíduos de Serviços de Saúde e dá outras providências. 28 mar. 2018 b.

BRASIL. Monitoramento do Período Sazonal da Febre Amarela Brasil – 2018/2019. **Informe nº 1 - Ministério da Saúde**, n. 1, p. 72, 2019a.

BRASIL. **Guia de Vigilância em Saúde: 3ª edição [recurso eletrônico].** 3. ed. Brasília-DF: Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde, 2019b. v. único.

BRASIL. Portaria nº 3.214 de 08 de junho de 1978, Norma Regulamentadora nº 15 de 2019. Portaria nº 3.214 de 08 de junho de 1978. Aprova as normas regulamentadoras que consolidam as leis do trabalho, relativas à segurança e medicina do trabalho. NR-15 Atividades e operações insalubres. 2019 c.

BRASIL. Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas transmitidas pelo Aedes (dengue, chikungunya e Zika), Semanas Epidemiológicas 1 a 34. **Boletim Epidemiológico Nº 22**, v. 50, n. 22, p. 11, set. 2019d.

BRASIL/DATASUS. **GAL-Gerenciador de Ambiente Laboratorial.** Disponível em: <<http://gal.datasus.gov.br/GALL/index.php?area=0402>>. Acesso em: 15 out. 2018.

BUESA, R. J. Histology without formalin? **Annals of diagnostic pathology**, v. 12, n. 1, p. 387–96, 2009.

BULIVA, E.; ELHAKIM, M.; TRANMINH, N. N. et al. Emerging and Reemerging Diseases in the World Health Organization (WHO) Eastern Mediterranean Region—Progress, Challenges, and WHO Initiatives. **Frontiers in Public Health**, v. 5, p. 276, 2017.

CAPUTO, L. F. G.; GITIRANA, L. DE B.; MANSO, P. P. DE A. Técnicas Histológicas. In: MOLINARO, E.; CAPUTO, L. F. G.; AMENDOEIRA, R. (Eds.). **Conceitos e Métodos para a Formação de Profissionais em Laboratórios de Saúde - Volume 2 | Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio**. 1. ed. Rio de Janeiro, Brasil: EPSJV, IOC, 2010. v. 2p. 290.

CARVALHO, L. F.; NEVES, A.; RICARDO, L. et al. Tempo de descalcificação e preservação do núcleo celular de tecido mineralizado descalcificado com ácido nítrico a 5%, EDTA a 7% e BLODEC-R. **Revista Periodontia**, v. 18, n. 2, p. 71–76, 2008.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION; MORBIDITY AND MORTALITY WEEKLY REPORT. **Preventing Emerging Infectious Diseases: A Strategy for the 21st Century. Overview of the updated CDC**. Georgia, US: [s.n.]. v. 47.

CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA. **Parecer CFM/Nº 27/94 - Prazo que uma empresa médica ou seu responsável técnico deve manter arquivado as requisições, cópias de laudos laboratoriais, peças fixadas, blocos de parafinas e lâminas para exames de citopatologia e histopatologia**. CFM, , 1994a. Disponível em: <http://www.portalmedico.org.br/pareceres/cfm/1994/27_1994.htm>. Acesso em: 9 maio. 2020.

CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA. **Parecer 13/94 - Solicitação da regulamentação para o fornecimento de lâminas de anatomia patológica para revisão por outro médico**. Disponível em: <https://sistemas.cfm.org.br/normas/arquivos/pareceres/BR/1994/13_1994.pdf>. Acesso em: 23 jan. 2020b.

CONSELHO REGIONAL DE MEDICINA DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Consulta nº 139.856/2013 - Sobre atuação de auxiliar/técnico para macroscopia, tanto em laboratórios privados como em laboratórios institucionais de anatomia patológica**., 2013. Disponível em: <http://www.portalmedico.org.br/pareceres/crmisp/pareceres/2013/139856_2013.pdf> . Acesso em: 8 maio. 2020

DAKO. **Handbook Immunochemical Staining Methods**. 3. ed. CA, USA: Dako Corporation, 2001. v. 1.

DAY, M. J.; BREITSCHWERDT, E.; CLEVELAND, S. et al. Surveillance of Zoonotic Infectious Disease Transmitted by Small Companion Animals. v. 18, n. 12, dez. 2012.

DAY, M. J. Human-Animal Health Interactions: The Role of One Health. **American**

Family Physician Journal, v. 93, n. 5, p. 344–346, 2016.

DIAS, E. P. **Orientações básicas em macroscopia e histotecnologia no SAP-HUAP**. Disponível em: <<http://patologiapos.sites.uff.br/wp-content/uploads/sites/143/2017/05/Orienta%C3%A7%C3%B5es-b%C3%A1sicas-em-Macroscopia-e-Histotecnologia-no-SAP-HUAP.pdf>>. Acesso em: 28 jan. 2020.

ELLWANGER, J. H.; KAMINSKI, V. DE L.; CHIES, J. A. B. Emerging infectious disease prevention: Where should we invest our resources and efforts? **Journal of infection and public health**, v. 12, n. 3, p. 313–316, 2019.

EL-NEGEH, M. M.; MAYNARD, J.; CORDNER, S. **Quality systems for anatomical and forensic pathology: guidelines for implementation and monitoring**. [s.l.] WHO Regional Publications. Eastern Mediterranean, 1999. v. 1.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). **Guidance for Preparing Standard Operating Procedures (SOPs)**. Washington, DC: [s.n.].

FAUCI, A. S.; MORENS, D. M. The Perpetual Challenge of Infectious Diseases. **New England Journal of Medicine**, v. 366, n. 5, p. 454–461, 2012.

FERRO, A. B. **Imunohistoquímica**: 1. ed. Lisboa, Pt: [s.n.]. v. 1.

FONJUNGO, P.; KEBEDE, Y.; MESSELE, T. et al. Laboratory equipment maintenance: A critical bottleneck for strengthening health systems in sub-Saharan Africa? **Journal of public health policy**, v. 33, p. 34–45, 2011.

FRANCO, J. N.; BARROS, B. P.; VAIDOTAS, M. et al. Percepção dos enfermeiros sobre os resultados dos indicadores de qualidade na melhoria da prática assistencial. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 63, p. 806–810, 2010.

GADLELA, W.; DLAMINI, X.; DLAMINI, S. et al. **Laboratory Waste Management - Guidelines**. Swaziland, South Africa: [s.n.]. v. 1.

GALIZA, G. J. N.; TOCHETTO, C.; ROSA, F. B. et al. Utilização de três métodos imuno-histoquímicos na detecção de aspergilose e zigomicose em animais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 7, p. 637–642, 2014.

GANJALI, H.; GANJALI, M. Fixation in tissue processing. **International Journal of Farming and Allied Sciences**, p. 686–689, 2013.

GONÇALVES, E. M. DO N. et al. Modelo de implantação de plano de gerenciamento de resíduos no laboratório clínico. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 47, p. 249–255, 2011.

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO. Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo. Decreto nº 12.479, de 18 de outubro de 1978. Aprova Norma Técnica Especial Relativa às Condições de Funcionamento dos Estabelecimentos sob Responsabilidade de Médicos, Dentistas, Farmacêuticos, 1978.

GRIFFITHS, M.; GILLIBRAND, R. Use of key performance indicators in histological dissection. **Journal of Clinical Pathology**, v. 70, n. 12, p. 1019–1023, 2017.

GUL, M.; BAYAT, N.; GUL, S. et al. A Comparison of Three Different Agents of Decalcification for a Histological Examination of Bone Tissues. **Journal of Turgut Ozal Medical Center**, n. 4, p. 274–279, 2014.

GUPTA, E.; BHAILA, P.; KHURANA, N. et al. Histopathology for the diagnosis of infectious diseases. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v. 27, n. 2, p. 100–106, 2009.

HARDER, T. C.; BUDA, S.; HENGEL, H. et al. Poultry food products—a source of avian influenza virus transmission to humans? **Clinical Microbiology and Infection**, v. 22, n. 2, p. 141–146, 2016.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). **Manual de Gestão da Qualidade para Laboratório de Citopatologia**. 2 rev. ampl. ed. [s.l.] Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, 2016.

IYENGAR, J. Quality control in the histopathology laboratory: An overview with stress on the need for a structured national external quality assessment scheme. **Indian Journal of Pathology & Microbiology**, v. 52, n. 1, p. 1–5, 2009.

KABIRAJ, A.; GUPTA, J.; KHAITAN, T. et al. Principle and techniques of immunohistochemistry - A review. **International Journal of Biological & Medical Research**, v. 6, p. 5204–5210, 2015.

KENNEDY, P.; ADEN, T.; CHENG, P. Y. et al. Measuring influenza laboratory capacity: use of a tool to measure improvements. **BMC Infectious Diseases**, v. 17, n. 1, p. 431–431, 2017.

KIRCHNER, M.; FUNES, V.; ADZET, C. et al. Quality indicators and specifications for key processes in clinical laboratories: A preliminary experience. **Clinical chemistry**

and laboratory medicine: **CCLM / FESCC**, v. 45, p. 672–7, 2007.

KLUBERG, S. A.; MEKARU, S. R.; MECLVER, D. J. et al. Global Capacity for Emerging Infectious Disease Detection, 1996–2014. **Emerging Infectious Diseases Journal - CDC**, v. 22, n. 10, 2016.

LIMA, C. R. DA C.; PIVA; S. G. N.; ALMEIDA, E. S. DE et al. Núcleos Hospitalares de Vigilância Epidemiológica no Brasil: Uma Revisão Integrativa de Literatura Científica. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, v. 9, n. 2, p. 167–176, 2019.

LIMA-CAMARA, T. N. Emerging arboviruses and public health challenges in Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v. 50, n. 0, 2016.

LOPES, N.; NOZAWA, C.; LINHARES, R. E. C. Características gerais e epidemiologia dos arbovírus emergentes no Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 5, p. 55–64, 2014.

MARTINS, G. B. C.; SUCUPIRA, R.; SUAREZ, P. A. Z. Papel indicador colorimétrico para detecção de formol em produtos lácteos e produtos de higiene pessoal. **Química Nova**, v. 40, n. 8, p. 946–951, 2017.

MASANZA, M. M. NQOBILE, N.; MUKANGA, D. et al. Laboratory capacity building for the International Health Regulations (IHR[2005]) in resource-poor countries: the experience of the African Field Epidemiology Network (AFENET). **BMC Public Health**, v. 10 (Suppl 1): S8, n. 1, p. 1–7, 2010.

MASCHERETTI, M.; TENGAN, C. H.; SATO, H. K. et al. Febre amarela silvestre: reemergência de transmissão no estado de São Paulo, Brasil, 2009. **Revista de Saúde Pública**, v. 47, n. 5, p. 881–889, 2013.

MICHALANY, J. **Técnica histológica em anatomia patológica**. 3. ed. São Paulo: Michalany, 1998. v. 1.

MOHAMMEDSALEH, Z. M. The Role of Technical Quality Control in Histology Laboratories. **Journal of Cytology & Histology**, v. 05, n. 05, 2014.

MUKHOPADHYAY, S. Role of histology in the diagnosis of infectious causes of granulomatous lung disease. **Current Opinion in Pulmonary Medicine**, v. 17, n. 3, p. 189–196, 2011.

NATIONAL INSTITUTE FOR OCCUPATION SAFETY AND HEALTH. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **NIOSH Pocket Guide to Chemical Hazards**. 3. ed. [s.l.] NIOSH, 2007.

NATIONAL INSTITUTE FOR OCCUPATION SAFETY AND HEALTH. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Respirator Requirements for Selected Chemicals | Occupation Safety and Health Administration**. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/niosh/npg/nengapdx.html>>. Acesso em: 30 abr. 2020.

NII-TREBI, N. Emerging and Neglected Infectious Diseases: Insights, Advances, and Challenges. **BioMed Research International**, v. 2017, p. 1–15, 2017.

NONOGAKI, S.; KANAMURA, C. T.; OLIVEIRA, L. F. et al. Análise de indicadores internos e externos relevantes à resolutividade diagnóstica em laboratório de referência em imuno-histoquímica. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, n. 4, p. 297–304, 2007.

ODEGA, K. Quality Control and Assurance in Histopathology Laboratory. **Department of Histopathology and Morbid Anatomy, University of Benin Teaching Hospital**, p. 37, 2015.

OLMSTED, S. S.; MOORE, M.; MEILI, R. C. et al. Strengthening Laboratory Systems in Resource-Limited Settings. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 134, n. 3, p. 374–380, 2010.

OPAS/OMS BRASIL. **OPAS/OMS Brasil - Ministros da Saúde das Américas fazem acordo para fortalecer ações de prevenção às doenças transmitidas por vetores**. Disponível em:

<https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5767:ministros-da-saude-das-americas-fazem-acordo-para-fortalecer-acoas-de-prevencao-as-doencas-transmitidas-por-vetores&Itemid=812>. Acesso em: 26 out. 2019.

OZDER, A.; TEKER, B.; EKER, H. H. et al. Medical waste management training for healthcare managers - a necessity? **Journal of Environmental Health Science and Engineering**, v. 11, n. 1, p. 20, 2013.

PALATNIK-DE-SOUSA, C. B.; DAY, M. One Health: the Global Challenge of Epidemic and Endemic Leishmaniasis. **Parasites & Vectors**, v. 4, p. 197, 2011.

RAI, R.; BHARDWAJ, A.; VERMA, S. Tissue Fixatives: A Review. **INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS & DRUG ANALYSIS**, v. 4, n. 4, p. 5, 2016.

RAMOS, C. A. F.; SANTOS, I. P. B.; RAMOS, A. C. P. P. R. **Patologia Brasileira - Ética, Normas, Direitos, Deveres do Médico Patologista**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Patologia - SBP, 2010. v. 1.

RAMOS-VARA, J. A. Technical Aspects of Immunohistochemistry. **Veterinary Pathology**, v. 42, n. 4, p. 405–426, 2005.

RAMOS-VARA, J. A.; KIUPEL, M.; BASZLER, T. et al. Suggested Guidelines for Immunohistochemical Techniques in Veterinary Diagnostic Laboratories. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 20, n. 4, p. 393–413, 2008.

RAMOS-VARA, J. A.; MILLER, M. A. When Tissue Antigens and Antibodies Get Along: Revisiting the Technical Aspects of Immunohistochemistry—The Red, Brown, and Blue Technique. **Veterinary Pathology**, v. 51, n. 1, p. 42–87, 2014.

RAO, S.; MASILAMANI, S.; SUNDARAM, S. et al. Quality Measures in Pre-Analytical Phase of Tissue Processing: Understanding Its Value in Histopathology. **Journal of clinical and diagnostic research : JCDR**, v. 10, n. 1, p. EC07-EC11, 2016.

RIBEIRO-SILVA, A.; BRANDÃO, D. F.; SOARES, E. G. et al. **Manual de Macroscopia-SERPAT-HCRP**. São Paulo, BR: USP-HCFMRP, 2016. v. 1.

RICÓS, C.; GARCÍA-VICTORIA, M.; FUENTE, B. Quality indicators and specifications for the extra-analytical phases in clinical laboratory management. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)**, v. 42, n. 6, p. 578–582, 2004.

ROMANELLI, C.; COOPER, D.; CAMPBELL-LENDRUM, D. et al. **Connecting global priorities: biodiversity and human health: a state of knowledge review**. Geneva, Switzerland: World Health Organization / Secretariat of the UN Convention on Biological Diversity, 2015.

SHARIF, M. A. et al. Clinician's responsibility in pre-analytical quality assurance of histopathology. **Pakistan Journal of Medical Sciences**, v. 23, n. 5, p. 720–723, 2007.

SHCOLNIK, W. **Erros laboratoriais e segurança dos pacientes: Revisão Sistemática**. Dissertação do Mestrado em Saúde Pública. Área de Concentração em Planejamento e Gestão de Sistemas e Serviços de Saúde.—Rio de Janeiro, Brasil: Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca da Fundação Oswaldo Cruz., fev. 2012.

SILVA, C. E. DA; HOPPE, A. E. Diagnóstico dos resíduos de serviços de saúde no interior do Rio Grande do Sul. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 10, n. 2, p. 146–151, 2005.

ŠIMUNDIĆ, A.-M.; TOPIĆ, E. Quality indicators. **Biochemia Medica**, 3. v. 18, p. 311–319, 15 out. 2008.

SLAOUI, M.; FIETTE, L. Histopathology Procedures: From Tissue Sampling to Histopathological Evaluation. In: GAUTIER, J.-C. (Ed.). **Drug Safety Evaluation**. Totowa, NJ: Humana Press, 2011. v. 691p. 69–82.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA. **Parecer 27 - Técnicos em Execução de Procedimentos de Macroscopia**SBP, 2004. Disponível em: <<http://siteantigo.sbp.org.br/publicacoes/pareceres.aspx?id=37>>. Acesso em: 8 maio. 2020.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA - SBP. **Parecer 33/2005 - Tempo exigido para Arquivar os Blocos de Parafina, os Laudos e as Lâminas dos Exames Histopatológicos, Citológicos e Requisições dos Exames**. Disponível em: <<http://siteantigo.sbp.org.br/publicacoes/pareceres.aspx?id=43>>. Acesso em: 23 jan. 2020.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA - SBP. **Parecer 62/2006 - Normas para Abertura de Laboratório de Anatomia Patológica**. Disponível em: <<http://siteantigo.sbp.org.br/publicacoes/pareceresImpressao.aspx?id=69>>. Acesso em: 24 jan. 2020a.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA - SBP. **Parecer 52/2006 - Retirada de material do laboratório de patologia**. Disponível em: <<http://siteantigo.sbp.org.br/publicacoes/pareceresImpressao.aspx?id=61>>. Acesso em: 24 jan. 2020b.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA - SBP. **Parecer 100/2010 - Prazo de arquivamento de laudos**. Disponível em: <<http://siteantigo.sbp.org.br/publicacoes/pareceresImpressao.aspx?id=110>>. Acesso em: 23 jan. 2020.

SOUSA, P.; MENDES, W.; SHCOLNIK, W. Avaliação e gestão do risco em organizações de saúde: 11. Erros relacionados ao laboratório. In: **Segurança do paciente: conhecendo os riscos nas organizações de saúde**. [s.l.] Fiocruz, 2014. v. 1p. 227–252.

TAKASHIMA, G. K.; DAY, M. J. Setting the One Health agenda and the human-companion animal bond. **International journal of environmental research and public health**, v. 11, n. 11, p. 11110–11120, 2014.

THE LANCET. New health indicators for America: aiming to shift practice. **The Lancet**, v. 395, n. 10221, p. 312, 2020.

TITFORD, M. The long history of hematoxylin. **Biotechnic & Histochemistry**, v. 80, n. 2, p. 73–78, 2005.

TOLOSA, E. M. C. DE; RODRIGUES, C. J.; BEHMER, O. A. et al. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. Barueri, SP: Editora Manole Ltda, 2003.

VALENSTEIN, P. N.; SIROTA, R. L. Identification errors in pathology and laboratory medicine. **Clinics in Laboratory Medicine**, v. 24, n. 4, p. 979–996, 2004.

VASCONCELOS, P. F. DA C. Febre amarela. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 2, p. 275–293, 2003.

VIEIRA, K. F.; SHITARA, E. S.; MENDES, M. E. et al. A utilidade dos indicadores da qualidade no gerenciamento de laboratórios clínicos. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 47, n. 3, p. 201–210, 2011.

WERNER, B.; CAMPOS, A. C.; NADJI, M. et al. Uso prático da imuno-histoquímica em patologia cirúrgica. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 41, n. 5, p. 353–364, 2005.

WITTEKIND, D. Traditional staining for routine diagnostic pathology including the role of tannic acid. 1. Value and limitations of the hematoxylin-eosin stain. **Biotechnic & Histochemistry**, v. 78, n. 5, p. 261–270, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. The role of the laboratory in disease surveillance. **Eastern Mediterranean Health Journal**, v. 2, n. 1, 1996.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO | Laboratory Biosafety Manual - Third Edition**. 3. ed. Geneva: [s.n.]. v. 1.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Laboratory quality management system: handbook**. Lyon: WHO Lyon Office, 2011. v. 1.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Managing epidemics: key facts about major deadly diseases**. Geneva: [s.n.]. v. 1.

WORLD HEALTH ORGANIZATION; DEPARTMENT OF IMMUNIZATION, VACCINES AND BIOLOGICALS. **Manual for the monitoring of yellow fever virus infection - WHO**. Geneva, Suíça: World Health Organization, 2004. v. único.