



Laboratório de Patologia Oral - UFJF Campus GV
Departamento de Odontologia - Instituto de Ciências da Vida

Rua Manoel Byrro, 241, 1º andar, sala 115, Vila Bretas
CEP 35032-620. Tel.: 3301-1000, ramal 1522
E-mail: lab.patologiaoral.gv@ufjf.br

NORMAS E ROTINAS LABORATORIAIS

Governador Valadares
2024

APRESENTAÇÃO

Este manual foi produzido tomando-se como premissa básica a normatização das atividades executadas no âmbito do Laboratório Multiusuário de Patologia Oral e Maxilofacial Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Governador Valadares.

As informações contidas neste documento abrangem tanto as Normas e Rotinas Operacionais, quanto os Procedimentos Operacionais Padronizados – POP's adotados diariamente nas práticas laboratoriais.

As normas e rotinas operacionais foram elaboradas tendo por objetivo definir regras mínimas de segurança e qualidade em relação às atividades laboratoriais, exigindo dessa forma o compromisso e disciplina por parte de todos os usuários. Do mesmo modo, os POP's foram criados com a finalidade de padronizar e minimizar a ocorrência de desvios na execução de procedimentos fundamentais, ou seja, a descrição das etapas de um determinado procedimento se tornou imprescindível para a obtenção de um mesmo resultado, ainda que as etapas tenham sido realizadas por diferentes profissionais.

É necessário estabelecer que para o devido cumprimento de sua função, este manual seja revisado anualmente, buscando assim sanar a necessidade de atualização de suas informações técnicas.

SUMÁRIO

NORMAS E ROTINAS OPERACIONAIS	04
PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS PADRONIZADOS – POP's	14
POP 001 – Acesso ao laboratório de patologia.....	14
POP 002 – Recebimento de mercadorias	15
POP 003 – Biossegurança no laboratório	16
POP 004 – Limpeza e manuseio do fotomicroscópio.....	19
POP 005 – Controle de vetores e pragas	22
POP 006 – Fixação de amostras	24
POP 007 – Recepção de amostras.....	26
POP 008 – Descalcificação de ossos e dentes.....	28
POP 009 – Macroscopia.....	31
POP 010 – Processamento técnico.....	34
POP 011 – Inclusão.....	37
POP 012 – Microtomia.....	39
POP 013 – Colorações de rotina.....	41
POP 014 – Imunohistoquímica.....	47
POP 015 – Microscopia.....	52
POP 016 – Arquivamento.....	54
POP 017 – Descarte de resíduos.....	55
Requisição histopatológica.....	57
Laudo histopatológico.....	58
Protocolos e soluções.....	59

NORMAS E ROTINAS OPERACIONAIS

O Departamento de Odontologia foi instalado oficialmente em 2012 na Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Governador Valadares. A estruturação do laboratório iniciou no ano de 2017 como parte integrante desse Departamento e em seguida evoluiu para laboratório Multiusuário ao integrar o Programa de Pós Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde.

O laboratório possui o objetivo de atender atividades práticas do curso de Odontologia, relacionadas à necessidade de análise anatomopatológica bem como da prestação de serviço regional. Neste sentido, o ambiente é organizado em salas conforme as regulamentações existentes.

Área de conhecimento

Patologia Oral e Maxilofacial

Horário de funcionamento

De segunda a sexta-feira de 08 às 12 horas e das 14 às 17:30 horas, exceto aos feriados e recessos decretados pela Universidade, bem como, finais de semana. Sendo que em casos excepcionais o horário de funcionamento poderá ser estendido.

ORGANIZAÇÃO E ADMINISTRAÇÃO

Área física

As atividades do Serviço de Patologia Oral desenvolvidas em área que possibilita o desenvolvimento das atividades atribuídas ao setor, tendo como diretriz a presença administrativa da Coordenação do Serviço;

A área total é redistribuída em razão do tipo de atividade desenvolvida em cada setor. Estas atividades são assim distribuídas:

- Área de recepção de material e digitação de resultados
- Área de macroscopia
- Área de técnicas citológicas e histológicas
- Área de técnicas de imunohistoquímica
- Área de microscopia
- Área de arquivos de lâminas, blocos
- Área de coordenação
- Almoxarifado

a) Condições ambientais

Além de fatores como higienização, iluminação, ventilação, em todo o laboratório bem como do sistema de exaustão nas salas de técnica, macroscopia, devem-se atentar para as áreas setoriais, a presença de balcões, pias, pisos e revestimentos, todos laváveis e de fácil conservação.

A manutenção e conservação do laboratório exigem um sistema adequado para garantir o atendimento satisfatório às tarefas que são destinadas.

b) Recomendações e precauções

Toda equipe de recursos humanos envolvida nas tarefas laboratoriais deve ter conhecimento de como proceder a frente às situações de emergência surgidas no laboratório.

A equipe deve, também, estar plenamente identificada com o manejo e a localização de equipamentos de proteção, como extintores de incêndio, sistemas de alarme e alerta para a concentração de substâncias químicas permitida no ar atmosférico e os sintomas que indiquem intoxicações e ou envenenamentos.

Deve permanecer atenta para corrigir os efeitos danosos de substâncias químicas, explosões ou choque elétrico, entre outros.

Recomendam-se ainda, cuidados especiais para o pessoal que lida com o processamento das amostras recebidas, visando não apenas a contaminação das amostras entre si como dos próprios técnicos.

C) Recursos materiais

Descreve-se, abaixo, a especificação necessária do material de consumo, permanente e equipamento, por setor laboratorial:

- Sala de coordenação

- Material de consumo: livro de registros das amostras, lápis, canetas, borrachas, cliques, perfuradores, grampeadores, papel, tintas, formulários de exames.

- Material permanente: mobiliário (mesa, armário, arquivo, cadeira, computadores, telefone)

- Área de recepção de amostras

- Material permanente: cadeira de recepção, mobiliário (mesa, armário, arquivo, cadeira, computadores, telefone e impressora).

- Áreas técnicas

Material permanente:

- histotécnico
- estufa
- dispensador de parafina e chapa aquecedora
- tábua de plástico para corte
- instrumental de dissecação: pinças, tesouras, bisturi, régua, etc.
- cápsulas para processamento de tecidos (cassetes)
- moldes para inclusão
- geladeiras
- micrótomo
- banho-maria
- Capela de exaustão
- Purificador de água

- suporte para lâminas (madeira)
- bandejas de madeira e plástico
- mesa e balcão (junto à pia) para a bateria de coloração
- Bancadas móveis
- Cadeiras
- Banquetas

Material de consumo:

- livro registro do material para exame
- livro de registro dos resultados dos exames lâminas
- gaze para montagem e limpeza das lâminas
- papel de filtro
- material de secretaria
- livro de registro do material para exame
- livro para resultados dos exames
- lâminas comuns e silanizadas
- lamínulas (24 X 32mm e 24 X 24 mm)
- Navalha
- Acetato de amônio
- Acetato de sódio
- Acetona
- Ácido acético
- Ácido bórico
- Ácido cítrico
- Ácido clorídrico
- Ácido fórmico
- Ácido fosfotungstico
- Ácido nítrico
- Ácido periódico
- Ácido sulfúrico
- Acrilamida
- Álcool 70%
- Álcool 92%
- Álcool absoluto
- Álcool metílico
- Anidrido crômico
- Azul de anilina
- Azul de metileno
- Azul de toluidina
- Bis-acrilamida
- Carvão ativado
- Citrato de sódio
- Cloreto de potássio
- Cloreto de sódio
- Clorofórmio
- Dicromato de potássio
- DMSO
- EDTA

- EDTA
- Entellan
- Eosina amarelada
- Eosina azul de metileno
- Fenol
- Floxina
- Formol
- Fosfato de potássio
- Fucsina
- Glicerina
- Hematoxilina
- Hidróxido de sódio
- Isopropanol
- Kit Coloração Zieh Neelsen
- Metabissulfito de sódio
- Nitrato de prata
- Óleo de imersão
- Óxido de mercúrio
- Parafina
- Peróxido de hidrogênio
- Sacarose
- Sulfato de amônio
- Sulfato de potássio
- Sulfato de potássio
- Tris
- Xilol
- Erlenmeyer
- Funil
- Becker
- Provetas
- Frascos
- Bastão de vidro
- Termômetros
- Cubas de coloração
- Bandejas para pesar reagentes
- Cassetes
- Potes de 50 ml
- Pipeta graduada
- Tubos de 15 e 50 ml
- Eppendorfs
- Micropipeta
- Ponteiras
- Pipetas

- Área de arquivo

Material permanente: móveis - mesa de base firme (para microscopia), bancos, cadeiras, arquivos para lâminas e laudos, estante para arquivar blocos e requisições, armários, computador.

- Área de Imunohistoquímica

- Panela de pressão elétrica
- Frigobar
- Fogão elétrico
- Agitador
- Phmetro
- Balança semi-analítica

- Sala de microscopia

- Microscópio binocular
- Microscópio trinocular
- Câmera acoplada
- Computador
- Mesa

- Sala de recepção

- Mesa
- Computador
- Impressora

NORMAS PARA O ACESSO E PERMANÊNCIA NO LABORATÓRIO

As pessoas que necessitem utilizar o laboratório fora do horário das aulas, não pertencentes ao pessoal técnico ou docente, somente poderão acessar mediante autorização do coordenador ou do chefe do departamento.

É proibido o acesso e permanência de pessoas estranhas no laboratório, assim como o manuseio ou retirada de seus equipamentos por pessoas não autorizadas.

O acesso ao laboratório fica condicionado à presença do técnico ou professor responsável.

É obrigatório o uso de jaleco (branco, manga longa), calçado fechado e calça comprida. Conforme orientação do professor ou técnico, a atividade poderá exigir a utilização de óculos de segurança, máscara e luvas de procedimento.

É proibido comer, beber, fumar, utilizar adereços (brincos, pulseiras, relógios, anéis, dentre outros), aplicar cosméticos (maquiagem, cremes etc.), utilizar aparelhos de som e fones de ouvido, acessar telefone celular.

O horário de início das aulas práticas deve ser cumprido rigorosamente por professores, técnicos e estudantes.

Todos os itens anteriormente descritos são válidos também para os visitantes.

DEVERES E RESPONSABILIDADES

Referentes a(o) Coordenador(a) do Laboratório

Orientar os alunos, corpo técnico e demais usuários acerca das normas e rotinas do Laboratório de Patologia Oral.

Estar atualizado sobre as demandas e necessidades para o funcionamento do laboratório.

Solicitar a compra de materiais utilizados ao longo do semestre.

Planejar, acompanhar e avaliar as ações desenvolvidas no laboratório.

Convocar reuniões e encontros com professores e técnicos para promover ajustes e melhorias nas atividades, sempre que necessário.

Esclarecer dúvidas e buscar soluções para problemas que venham a ocorrer juntamente com as demais instâncias da instituição;

Buscar meios de favorecer a comunicação eficiente entre professores, técnicos, alunos e usuários;

Mediar conflitos entre os recursos humanos que atuam nos laboratórios;

Desempenhar demais atribuições decorrentes da função de acordo com a demanda do Laboratório.

Cumprir e fazer cumprir estas normas e rotinas operacionais.

Referentes ao Corpo Docente

Manter a pontualidade;

Estar devidamente trajado;

Zelar pelos materiais e equipamentos;

Orientar claramente os discentes quanto à manipulação dos microscópios

Todas as atividades deverão ter a supervisão direta e constante do professor;

Não autorizar a entrada do aluno que não estiver devidamente trajado e paramentado com EPIs para as atividades;

Orientar alunos a manter a ordem e organização do laboratório após as atividades práticas;

Orientar alunos quanto ao descarte correto de materiais: Papéis, embalagens e luvas em lixo comum;

Qualquer dano ocorrido com material permanente deverá comunicar imediatamente ao coordenador.

Referente a(o) patologista (como responsável pelos diagnósticos histopatológicos):

Executar ou supervisionar os médicos residentes de patologia na descrição macroscópica e clivagem das biópsias e peças cirúrgicas, e elaborar os laudos microscópicos;

Separar os casos de interesse científico para estudo conjunto com os estudantes de graduação e pós-graduação;

Supervisionar o trabalho dos técnicos e auxiliares de histologia;

Supervisionar a liberação de exames.

Assinar os laudos liberados e digitados pela secretaria

Participar de reuniões científicas com estudantes;

Participar de reuniões técnico administrativas

Deve possuir:

- Diploma de conclusão de curso de odontologia, devidamente registrado;
- Registro no Conselho Regional de Odontologia;
- Título de Especialista concedido pelo CFO;

Referentes ao Corpo Técnico

Organizar, verificar, repor e conservar tanto o material permanente quanto o de consumo;

Orientar os alunos quanto à utilização do laboratório, seus equipamentos e materiais;

Manter o laboratório organizado;

Preparar com antecedência os materiais/soluções;

Efetuar o pedido de material ao almoxarifado quando necessário.

Comunicar ao coordenador (a) do laboratório formalmente qualquer dano total ou parcial dos materiais permanentes.

Proibir a permanência no laboratório de funcionários de outros setores, que não tenham relação com as atividades executadas.

Auxiliar o professor e os alunos durante as atividades;

Zelar pela ordem e manutenção do laboratório;

Cumprir e fazer cumprir estas normas e rotinas operacionais.

- verificar a correspondência de cada amostra com a respectiva requisição;
- verificar a qualidade do material a ser processado;
- processar as amostras citológicas e histológicas;
- encaminhar as lâminas para diagnóstico microscópico;
- preparar as soluções e reagentes;
- executar outras tarefas correlatas;
- manter limpo e higienizado o setor;
- controlar o material de consumo técnico;
- informar ao coordenador sobre a necessidade de pedido de material.
- receber, expedir, registrar, numerar, distribuir e arquivar correspondência;
- receber, conservar e guardar os processos, livros e demais papéis que lhe forem entregues para arquivamento;
- requisitar, receber e controlar o material de consumo necessário ao funcionamento do laboratório;
- organizar a documentação necessária a ser encaminhada à seções competentes, para efeito de conferência e cobrança;
- orientar o público quanto à entrega do material para exame e recebimento dos

resultados;

- receber e registar o material para exame histopatológico;
- encaminhar o material de histopatologia para os setores de processamento técnico e macroscopia, respectivamente;
- digitar resultados de exames, expedientes e outros trabalhos do laboratório;
- executar outras tarefas correlatas necessárias ao bom funcionamento do laboratório.
- atendimento ao telefone respondendo as questões referentes aos exames realizados.
- arquivar todos os resultados dos exames;
- arquivar todas as lâminas de histopatologia, independentemente da conclusão do laudo;
- enviar email de resultados de laudos;
- executar outras tarefas correlatas.

Referentes ao Corpo Discente

Ter postura ética, disciplinada e respeitosa com os colegas, docentes, monitores e funcionários;

Agir com assiduidade e pontualidade em relação às atividades;

Trajar-se adequadamente com jaleco (branco, manga longa), calçado fechado e calça comprida;

Aguardar a chegada do professor para o ingresso no laboratório;

Responsabilizar-se por danos causados aos materiais e informar imediatamente o professor orientador;

Não se alimentar nas dependências do laboratório.

Evitar conversas nos corredores do laboratório durante as atividades;

Cumprir e fazer cumprir estas normas e rotinas operacionais.

REGRAS GERAIS DE SEGURANÇA

É proibido fumar ou consumir alimentos e bebidas no interior do laboratório;

Sentar-se ou debruçar nas bancadas;

Uso de EPI's: jaleco branco comprido de mangas compridas sobre a roupa;

Calça comprida;

Calçado fechado;

Cabelos presos;

Manter o calendário de vacinas completo e atualizado;

Descartar materiais perfuro-cortantes em local apropriado.

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares

Procedimento Operacional Padrão (POP)

Assunto: ACESSO AO LABORATÓRIO DE PATOLOGIA ORAL E MAXILOFACIAL

Laboratório: Patologia Oral | POP nº: 001 | Página: 01 de 1

1. OBJETIVO(S):

Normatizar o acesso de servidores, alunos, professores ao Laboratório de Patologia Oral da UFJF GV.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO:

Laboratório de Patologia Oral.

3. RESPONSABILIDADE:

Servidores do laboratório de patologia oral.

4. PROCEDIMENTO:

4.1. Chegue ao setor devidamente limpo e vestido de acordo com as normas (calça comprida, calçado fechado, cabelos presos).

4.2. Paramente-se com Equipamentos de Proteção Individual de uso obrigatório nesta área (jaleco, luvas, máscara e óculos de proteção).

4.3. É proibida a entrada de pessoas de setores externos ao laboratório sem a devida paramentação.

4.4. É proibida a entrada no laboratório portando brincos longos, colares, pulseiras, relógios, anéis e outros adornos.

4.5. É proibido alimentar-se ou levar qualquer tipo de alimento para dentro do laboratório.

4.6. Somente entre na área técnica após estar paramentado e com crachá de identificação.

4.7. Ao sair do laboratório, retire os paramentos complementares obrigatórios e EPI's.

4.8. Ao voltar para o laboratório repita novamente todo o procedimento descrito anteriormente.

4.9. Todos os servidores do laboratório devem estar com o cartão de vacinas completo (especialmente contra as seguintes doenças: Hepatite B, Tuberculose, vírus Influenza A).

5. REFERÊNCIA: ANVISA- Resolução RDC no 302, de 13 de outubro de 2005.

**Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares
Procedimento Operacional Padrão (POP)**

Assunto: RECEBIMENTO DE MERCADORIAS

Laboratório: Patologia Oral	POP nº: 002	Página: 01 de 1
------------------------------------	--------------------	------------------------

1. OBJETIVO(S):

Receber, conferir e organizar de modo adequado as mercadorias em geladeiras e armários do laboratório.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO:

Laboratório de Patologia Oral.

3. RESPONSABILIDADE:

Docentes e técnicos.

4. PROCEDIMENTO:

4.1 No ato do recebimento da mercadoria, a nota fiscal deve ser totalmente conferida com os volumes. Verificar ainda a integridade das embalagens, assim como conteúdo, temperatura adequada aos reagentes, etc.

4.2 Realizar uma limpeza nos kits reagentes com gaze levemente umedecida em água.

4.3 Verificar os lotes de kits reagentes ao chegar e armazená-los de modo que os kits com lotes mais antigos sejam utilizados primeiramente.

4.4 Armazenar os reagentes em geladeira ou armário, de acordo com a temperatura adequada, indicada no rótulo dos kits.

4.5 As demais mercadorias como tubos, seringas, agulhas serão organizados nos armários de acordo com a rotina já estabelecida.

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: BIOSSEGURANÇA NO LABORATÓRIO		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 003	Página: 01 de 3
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

1. OBJETIVO(S):

Garantir a segurança dos trabalhadores, descrevendo as rotinas de trabalho com um mínimo de risco, esclarecendo os princípios básicos de biossegurança, bem como o correto uso dos Equipamentos de Proteção Individual (EPIs), além de medidas que evitem os acidentes mais comuns no laboratório.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO:

Laboratório de Patologia Oral.

3. RESPONSABILIDADE:

Docentes, técnicos, discentes e demais usuários.

4. CLASSIFICAÇÃO DE RISCO:

Risco classe 2, individual moderado e risco limitado para a comunidade.

5. PROCEDIMENTO

5.1 Primeiramente somente pessoas treinadas e autorizadas poderão manipular amostras neste laboratório.

5.2 Equipamentos de Proteção Individual (EPI's) de uso obrigatório:

5.2.1 Utilize máscara e óculos de proteção na realização de procedimentos em que haja possibilidade de respingos de sangue ou outros fluidos corpóreos, nas mucosas da boca, nariz e olhos.

5.2.2 O uso de luvas deve ser constante e os jalecos utilizados devem ser de manga longa.

5.2.3 Os calçados devem ser fechados e de boa aderência ao solo.

5.2.4 Os cabelos e bigode devem estar sempre bem aparados.

5.2.5 As unhas devem estar sempre limpas e em tamanho adequado.

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: BIOSSEGURANÇA EM LABORATÓRIO		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 003	Página: 02 de 3
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

5.3 Realize os procedimentos com atenção máxima.

5.4 Nunca pipete com a boca.

5.5 No laboratório é proibido comer, beber, fumar, guardar alimentos ou aplicar produtos cosméticos.

5.6 É proibido levar quaisquer materiais à boca e língua.

5.7 Mantenha as áreas de trabalho limpas, organizadas e livre de materiais que não são usados durante a atividade em execução.

5.8 É obrigatório lavar as mãos antes e após cada manuseio de material químico e biológico, bem como antes de saírem do laboratório.

5.9 Durante o trabalho no laboratório, a equipe usará jalecos próprios, de uso restrito nestas áreas.

5.10 A indumentária para proteção dentro do laboratório não pode ser guardada no mesmo armário com objetos e vestuário pessoais.

5.11 Os óculos de segurança e os protetores de face (visores), assim como outros dispositivos de proteção, devem ser usados sempre que forem indicados para a proteção de olhos e face contra os salpicos ou contra o impacto de objetos.

5.12 Luvas adequadas ao trabalho serão usadas em todas as atividades que possam resultar em contato direto com material biológico e químico. Depois de usadas, as luvas serão removidas em condições assépticas e descartadas em lixo especial (biológico). Em seguida, lavar as mãos e realizar desinfecção das mesmas com álcool 70%.

5.13 Todo e qualquer derramamento de material, acidente, exposição efetiva ou possível a materiais infecciosos precisam ser levados imediatamente ao conhecimento do responsável pelo laboratório.

5.14 As áreas de trabalho e armazenamento precisam ser adequadas para acesso a materiais de modo a evitar o congestionamento de mobiliário, equipamentos e objetos.

5.15 É proibida a colocação de vasos de plantas ornamentais nestes ambientes.

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: BIOSSEGURANÇA NO LABORATÓRIO		

Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 003	Página: 03 de 3
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

5.17 Todo e qualquer agente desinfetante e antisséptico utilizado precisa ser registrado na ANVISA e conferido quanto à data de validade.

5.18 As superfícies de trabalho devem passar por desinfecção, ao menos uma vez ao dia ou sempre que ocorrer derramamento de material potencialmente infectante.

5.19 Alunos de graduação que utilizem o laboratório precisam ter treinamento técnico específico no manejo de agentes patogênicos e ser supervisionados por profissionais de competência técnica.

5.20 Procedimentos nos quais exista possibilidade de formação de aerossóis infecciosos devem ser conduzidos em cabines de segurança biológica ou outro equipamento de contenção física.

5.21 O responsável tem o dever de limitar o acesso ao laboratório. Cabe a ele a responsabilidade de avaliar cada situação de risco e autorizar quem poderá ter acesso às áreas de acesso restrito.

5.22 O acesso ao laboratório é limitado e restrito, de acordo com a definição do responsável. Para utilização, é necessário que seja pedida autorização ao responsável, explicitando o motivo, como será a utilização, para qual tipo de pesquisa/ aula será utilizado.

5.23 Todo o resíduo do laboratório deve ser adequadamente destinado (Vide POP 017).

5.24 Todo resíduo biológico segue para descarte específico (Vide POP 017).

5.25 Materiais perfurocortantes: Todo material perfuro-cortante, mesmo que estéril, deve ser desprezado em recipientes resistentes à perfuração com tampa (Exemplo: Descarpac®).

6. REFERÊNCIAS:

HIRATA, M. H.; MANCINI FILHO, J. **Manual de Biossegurança**. São Paulo : Manole, 2002.

Universidade Federal de Juiz de Fora - Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: LIMPEZA E MANUSEIO DO FOTOMICROSCÓPIO		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 004	Página: 01 de 3
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

1. OBJETIVO(S):

Estabelecer os procedimentos para a limpeza e correta utilização do fotomicroscópio.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO:

Laboratório de Patologia.

3. RESPONSABILIDADE:

Docentes, técnicos e discentes.

4. LIMPEZA DO FOTOMICROSCÓPIO:

4.1 Materiais:

- a) Algodão;
- b) Solução de limpeza (50%);
- c) Éter sulfúrico PA, (50%);
- d) Clorofórmio (PA);
- e) Cotonete caseiro ou palito isento de feras, com ponta envolvida em algodão;
- f) Borrifador;
- g) Panos limpos, de um tecido macio que não solte fiapos (por exemplo, morim);
- h) Lupa de bolso, com aumento de 2,5X.

4.2. Procedimento:

4.2.1. Antes de iniciar a limpeza da parte óptica do microscópio, os seguintes cuidados devem ser tomados:

Universidade Federal de Juiz de Fora - Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: LIMPEZA E MANUSEIO DO FOTOMICROSCÓPIO		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 004	Página: 02 de 3
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

- a) Observar se as lentes possuem fungos;
- b) Observar se a camada de filme fino anti-reflexiva, não está deteriorada. Isto pode ser observado através da diferença de coloração entre o vidro e o filme. Esta deterioração pode ser causada por fungos, por soluções de limpeza inadequadas ou por agressão mecânica, como o uso de palha de aço, papel impróprio, objetos pontiagudos, entre outros.

4.2.2. Após estas observações, inicia-se a limpeza de baixo para cima, ou seja, limpam-se os vidros e espelhos da base, da lâmpada, até chegar-se ao topo, nas oculares.

4.2.3. Para a limpeza de fungos utiliza-se água oxigenada a 10 volumes. Primeiro segura-se o cotonete sem tocá-lo, para evitar depositar gordura das mãos no algodão. Segura-se a lente, pela lateral, limpando as duas superfícies. Inicia-se a aplicação pelo centro, fazendo-se um movimento em espiral.

4.2.4. Para a limpeza das lentes com manchas de gorduras ou outras que não fungos, executando-se o mesmo procedimento anterior, porém com a solução de limpeza.

4.2.5. Os filtros e lentes de plástico ou acrílico não podem ser limpos com a solução de clorofórmio e éter sulfúrico, pois isto danificaria a sua superfície tornando-os opacos. Utiliza-se para isto álcool etílico.

4.2.6. Durante o trabalho de limpeza as peças desmontadas devem ser deixadas sobre panos e cobertas para que não haja depósito de poeira.

5. MANUSEIO DO FOTOMICROSCÓPIO

5.1. Ligue o computador que está acoplado ao microscópio e conecte o cabo que liga o computador à câmera.

5.3. Dê um duplo clique no Câmera que está na área de trabalho do computador. Focalize a lâmina a ser analisada com a objetiva de 5X.

5.5. Clique no botão live do programa e focalize a imagem manualmente.

Universidade Federal de Juiz de Fora - Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: LIMPEZA E MANUSEIO DO FOTOMICROSCÓPIO		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 004	Página: 03 de 3

- 5.7. Passe para a objetiva de 10X no microscópio e selecione-a também no programa (a escala é proporcional à objetiva utilizada).
- 5.8. Faça o branco da imagem clicando no botão no lado superior direito da tela para retirar os interferentes de cor da imagem.
- 5.9. Repita os passos 4.6 e 4.7 com as objetivas de 40X e 100X (imersão).
- 5.10. Tire as fotos apertando o botão ou filme apertando o botão .
- 5.11. Salve a imagem no formato TIF ou JPG em um arquivo apropriado.
- 5.12. Ao término do trabalho, feche o programa e volte para a objetiva de 4X no microscópio.
- 5.13. Desligue o microscópio.
- 5.14. Desligue o computador.
- 5.15. Retire o cabo que liga o computador a câmera e cubra-a com uma capa apropriada.

6. REFERÊNCIAS:

BISCEGLI, C.I.; RABELLO, L.M.; HERRMANN, P .S.P . **Introdução laboratoriais utilizados em pesquisas**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1997. à **manutenção de instrumentos** CRUVINEL, P .E.; SELUQUE, W .;

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: CONTROLE DE PRAGAS E VETORES		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 005	Página: 01 de 2
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

1. OBJETIVO:

Proporcionar um ambiente saudável ao trabalho e serviços, através do Controle Integrado de Pragas, com respeito ao meio ambiente.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO:

Laboratório de Patologia.

3. RESPONSABILIDADE:

Profissionais de Empresa terceirizada.

4. PROCEDIMENTO:

4.1 O controle de pragas no Departamento de Medicina e Enfermagem deve ser realizado semestralmente.

4.2 Os técnicos operacionais estão autorizados a realizar a desinsetização e desratização somente quando o ambiente estiver devidamente preparado,

oferecendo segurança. Portanto, antes de qualquer tratamento químico, os técnicos realizarão a inspeção inicial para identificar as pragas alvo, pontos críticos de infestação, a causa da infestação e a segurança do ambiente.

4.3 A desinsetização e desratização são apenas complementos no controle de pragas.

4.4 Após a inspeção serão escolhidos as técnicas de controle e os produtos a serem utilizados.

4.5 A empresa é terceirizada e deve emitir um certificado de controle de serviço, que deve conter:

Razão social;

- Responsável pelo controle de pragas no Departamento de Odontologia

- Nome fantasia do estabelecimento;

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: CONTROLE DE PRAGAS E VETORES		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 005	Página: 02 de 2
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

- Endereço, telefone e CNPJ;
- Vetores e pragas encontrados durante o combate (baratas, roedores, cupim, formiga, aranha, mosca, carrapato, lacraia, traça, pulga, escorpião, broca);
- Nível de infestação;
- Produtos domissanitários empregados;
- Tipo de atividade;
- Situação encontrada no local;
- Serviços realizados;
- Data realizada;
- Horário de início e término do procedimento;
- Assinatura do operador de controle de pragas e do responsável.

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: FIXAÇÃO DE AMOSTRAS		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 006	Página: 01 de 2
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

1. OBJETIVO(S):

Estabelecer os procedimentos fixação de amostras no laboratório.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO:

Laboratório de Patologia.

3. RESPONSABILIDADE:

Docentes e técnicos.

4. FIXAÇÃO DE AMOSTRAS

É pré-requisito a fixação dos esfregaços, biópsias ou peças cirúrgicas, visando à preservação da estrutura celular e conservação dos detalhes, com um mínimo de distorção e evitando o uso de artefatos. As soluções empregadas com essa finalidade recebem o nome de "fixadores", e sua escolha depende do material a ser examinado, do que se pretende estudar e da técnica de coloração a ser utilizada.

5. PROCECIMENTO

5.1 Para os exames citopatológicos:

- Imersão da lâmina em álcool absoluto ou álcool a 95% ou 70%.
- Fixação seja realizada de forma rápida e apropriada, a fim de evitar a distorção celular e perda da afinidade tintorial. O tempo de fixação varia em média, de 10 a 60 minutos. Entretanto, a amostra poderá permanecer na solução fixadora durante alguns dias ou mesmo semanas;
- Os fixadores sejam filtrados e renovados periodicamente;
- Se evite a evaporação, utilizando frascos com tampa;
- Se use, de preferência, álcool metílico ou etílico;
- Os esfregaços fiquem totalmente imersos no recipiente que contém as soluções fixadoras.

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: FIXAÇÃO DE AMOSTRAS		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 006	Página: 02 de 2
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

5.2 Para os exames histopatológicos:

A solução fixadora de rotina para a histopatologia, fragmento tecidual e peça cirúrgica é o formol tamponado a 10%. A amostra deve ser, imediatamente após

sua retirada, submersa em recipiente contendo o líquido fixador (10 a 20 vezes o volume da amostra).

O tempo médio de fixação é de 8 a 48 horas, variando de acordo com o índice de fixação. Em geral recomenda-se que as amostras com 1 mm de espessura permaneçam 8 horas no fixador.

Formol tamponado a 10%

Formaldeído comercial a 37%.....100 mL

água destilada.....900 mL

Fosfato de sódio monobásico.....4 g

Fosfato de sódio dibásico.....6,5 g

OU

Para um litro de solução

100 ml de formol (37%)

900 ml de água destilada

4 g de cloreto de sódio ou 4,5 g de fosfato de sódio monobásico e 3,6 g de hidróxido de sódio

6. MATERIAL

Formol tamponado a 10%

Frasco 50 ml

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: RECEPÇÃO DE AMOSTRAS		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 007	Página: 01 de 2
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

1. OBJETIVO(S):

Estabelecer os procedimentos recepção de amostras no laboratório.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO:

Laboratório de Patologia.

3. RESPONSABILIDADE:

Docentes e técnicos.

4. RECEPÇÃO DE AMOSTRAS

Os materiais recebidos neste setor, tais como lâminas de citopatologia, frascos com líquidos corporais, frascos com biópsias e peças cirúrgicas, devem ser identificadas e encaminhados para a sala de macroscopia e acompanhadas das correspondentes requisições corretamente preenchidas com os seguintes dados: identificação do paciente, procedência do material, dados clínicos e tipo de exame solicitado.

Os materiais que estiverem em não conformidade deverão ter a informação anotada para informação ao requisitante:

Exemplo:

- Requisições não preenchidas corretamente
- Não coincidência do prontuário/paciente
- Lâminas quebradas
- Sem fixador adequado
- Sem identificação da lâmina/frasco
- Número de frascos e identificação quanto a topografia do material.

5. PROCECIMENTO

O material recebido no laboratório deve ser imediatamente checado pela recepção de materiais, com especial ênfase:

- na identificação do paciente
- na identificação do material e correção da requisição, verificando-se o correto preenchimento dos itens: proveniência, natureza, dados clínicos e tipo(s) do(s) exame(s) solicitados(s);

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		

Assunto: RECEPÇÃO DE AMOSTRAS		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 007	Página: 02 de 2
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

- nos aspectos qualitativos das amostras: fixação, espessura, distribuição homogênea, presença de sangue etc.;
- nos aspectos quantitativos: número de lâminas e ou fragmentos, suficiência do material;
- As amostras devem ser registradas em livro especial de "Registro de material de histopatologia".

5.1 Receber o material devidamente identificado;

5.2 Fazer o registro no Registro de Biópsia on line do Laboratório, com todos os dados, gerar o número ao material, anotando na ficha de ção (frente e verso);

5.3 Encaminhar o material para área de macroscopia, com a respectiva ficha de requisição.

Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: DESCALCIFICAÇÃO DE OSSO E DENTES		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 008	Página: 01 de 3
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

1. OBJETIVO(S):

Estabelecer os procedimentos de descalcificação de ossos e dentes.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO:

Laboratório de Patologia.

3. RESPONSABILIDADE:

Docentes.

4. DESCALCIFICAÇÃO

Os dentes e ossos de acordo devem ser fixado em solução de formol a 10%, por no mínimo de 48 horas. Após a fixação, pelo formol, o material deve ser lavado em água corrente, por um período de 20 minutos.

Decorrido o tempo de lavagem em água, o material é colocado em recipientes de vidro com capacidade para **20 ml e , a seguir, o ácido escolhido é colocado nesse recipiente, que será trocado a cada 24 horas, até o material estar descalcificado.**

Nota: O ácido deve ser colocado muito lentamente na água. Nunca coloque a água no ácido.

O tempo de descalcificação dependerá da temperatura ambiente. Quanto maior for a temperatura, mais rápida é a descalcificação.

Para testar se a descalcificação está no estado desejado, utilize um alfinete e verifique se ele penetra sem grande esforço, na peça. Uma vez completada a descalcificação, o material está preparado para processamento.

5. PROCEDIMENTO

Ácido Nítrico a 5%:

Para preparar ácido nítrico a 5%, proceda-se do seguinte modo:

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: DESCALCIFICAÇÃO DE OSSO E DENTES		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 008	Página: 02 de 3
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

Medir, em uma proveta, 55 ml de ácido nítrico concentrado.
Em um balão volumétrico de 1000 ml, colocar 500 ml de água destilada deionizada e, a seguir, acrescentar de modo bem lento, o ácido nítrico, previamente medido.

Após a colocação do ácido na água, completar o volume, com água, até 1000 ml.

38,5 ml de ácido nítrico em 500 ml de água

Ácido Clorídrico a 5%

Medir, em uma proveta, 135ml de ácido clorídrico concentrado.

Em um balão volumétrico de 1000 ml, colocar 500 ml de água destilada deionizada e, a seguir, acrescentar de modo bem lento, o ácido clorídrico, previamente medido.

Após a colocação do ácido na água, completar o volume, com água, até 1000 ml.

Ácido Fórmico a 5%

Medir, em uma proveta, 150ml de ácido fórmico concentrado.

Em um balão volumétrico de 1000 ml, colocar 500 ml de água destilada deionizada e, a seguir, acrescentar de modo bem lento, o ácido fórmico, previamente medido.

Após a colocação do ácido na água, completar o volume, com água, até 1000 ml.

Associação de ácido fórmico com clorídrico

Essa solução descalcifica bem os dentes humanos e apresenta a seguinte fórmula:

ácido fórmico: 120 ml
ácido clorídrico: 80 ml
água destilada: 800 ml

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: DESCALCIFICAÇÃO DE OSSO E DENTES		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 008	Página: 03 de 3
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

Coloque em um balão volumétrico 500 ml de água e a seguir coloque 120 ml de ácido fórmico e depois os 80 ml de ácido clorídrico. Acrescente 300 ml de água destilada.

EDTA a 4,13% (PARA MAIS QUALIDADE)

4,13 g EDTA para 100 ml água destilada

Ou

41,3g para 500ml água destilada

Quando diluir, usar NaOH sob agitação para ajustar ph 7,4

Preparo da parafina com cera

Pegar um quilo de parafina e acrescentar 10 gramas de cera de abelha, a mistura deverá ser colocada em um recipiente de vidro (balão) e em seguida aquecida à 70 graus centígrados, em uma estufa. Após a completa liquefação da mistura, a parafina está pronta para ser utilizada.

Técnica para re-descalcificação

1. Tirar a peça da parafina
2. Deixar por aproximadamente 24 horas no xilol
3. Deixar por 2 horas no álcool 90°
4. Deixar por 2 horas no álcool 70°
5. Deixar por 2 horas no álcool 50°
6. Colocar na água por 1 hora
7. Inserir em Ácido nítrico e reiniciar a descalcificação.

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: MACROSCOPIA		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 009	Página: 1 de 03
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

1. OBJETIVO(S):

Estabelecer os procedimentos de macroscopia.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO:

Laboratório de Patologia.

3. RESPONSABILIDADE:

Docentes.

4. MACROSCOPIA

Nesta área, as biópsias e peças cirúrgicas fixadas em solução de formol a 10%, tem os dados novamente conferidos com os dados dos frascos e da requisição. Deve ser realizada em ambiente apropriado, na sala de macroscopia, dentro da capela com sistema de exaustão, utilizando material de apoio específico: pinça, tesoura, bisturi, régua, vidros com soluções fixadoras, lápis, tintas, formol a 10% e utilizando Equipamentos de Proteção Individual (EPIs). Essa é uma tarefa do patologista. Após, as peças e biópsias são descritas e clivadas pelo patologista, acompanhado por monitores (alunos de graduação ou pós-graduação).

O manuseio do material deve ser firme, mas efetuado com delicadeza, para não estragar, ou perder o material mais delicado, para não comprometer a avaliação histológica.

Todos os fragmentos clivados são depositados em cápsulas de plástico próprias para inclusão de material em anatomia patológica, denominadas cassetes, devidamente numerados. Cumprida a etapa anterior, o material é acondicionado em cápsulas de plástico (cassetes), com orifícios que permitam a entrada das soluções, e vedado com uma tampa. As cápsulas podem acomodar mais de um fragmento.

Se o material for de pequenas dimensões (biópsias), deve ser acondicionado em pequenos envelopes de papel filtro e inseridos dentro dos respectivos cassetes. São posteriormente encaminhadas ao setor de processamento técnico, juntamente com as requisições correspondentes.

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: MACROSCOPIA		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 009	Página: 2 de 03
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

5. PROCEDIMENTO

- 5.1 Conferir os dados do recipiente e ficha de requisição (nome, número);
- 5.2 Verificar as condições de acondicionamento;
- 5.3 Preparar todo o campo de trabalho dentro da capela com exaustão (gaze, cassetes, bisturi);

5.4 Identificar os cassetes com lápis preto, de acordo com o número da requisição;

5.5. Abrir o pote com o material, pegar com pinça e colocar na tábua branca; NÃO SECAR O MATERIAL;

5.6 Fotografar o material;

5.4 Medir e anotar os dados do material no verso da ficha de requisição, à CANETA no campo apropriado, antes da clivagem:

- Identificação do material: quantidade de fragmentos (menores que 2 cm) ou segmentos (retirada parcial da lesão ou maiores ou iguais a 2 cm), peça cirúrgica (retirada total da lesão);

- Forma: redondo, esférico, oval, retangular, cilíndrico, papilar, nodular, irregular, cônico;

- Medida: comprimento x largura x altura em mm ou cm;

- Cor: branco, amarelo verde, amarelo-alaranjado, verde claro, pardo claro, pardo escuro, evitar (brancacento, amarronzada, amarelada);

- Consistência: líquida, pastosa, friável, mole, cística, firme-elástica, pétreia;

- Superfície externa ou de corte: homogênea, heterogênea, granulosa, lisa, áspera, microgranular, lobuar, espicular, com projeções digitiformes, septada;

- Se o produto é constituído por mais de um material, a descrição será única quando os fragmentos forem semelhantes (diferenciados apenas pelo tamanho, máximo de três) ou pelo maior e menor e medida em conjunto. Quando forem diferentes, descrever separadamente. Caso exista alguma descrição ou marcação específica na requisição, deve ser mantida na macroscopia (ex: mucosa jugal e mucosa labial de um mesmo paciente)

5.5 Clivar o material;

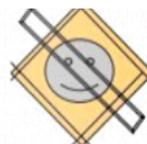
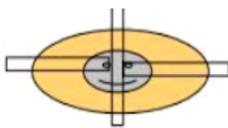
- Se o material é proveniente de biópsia por punch igual ou maior que 0,5 mm, ele deve ser seccionado longitudinalmente.

- Se o material é de biópsia com bisturi e mede em sua largura 0,4 mm ou mais, ele deve ser seccionado ao meio no maior eixo do fragmento e deve-se indicar no mapa de clivagem o cuidado com a inclusão. Se necessário pintar a face oposta a inclusão de naquim.

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: MACROSCOPIA		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 009	Página: 2 de 03
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

- Se o material é produto de biópsia excisional, deve-se sempre planejar a clivagem de modo a permitir a avaliação das margens cirúrgicas, ainda que em suspeita de lesão benigna. A face de inclusão deve ser marcada em naquim.

Exemplos:



Exemplos de clivagem com limites cirúrgicos

- Identificar se o material é B (de biópsia), número da biópsia, XF (2F, ex: dois fragmentos incluídos) ou TI (tudo incluído) ou CR (com reserva) na ficha.

5.6 Inserir o material no cassete previamente identificado. Cassete branco: casos gerais. Cassete verde: suspeita de malignidade/urgente

5.7 Listar os cassetes com seus números em lista própria; Os cassetes são colocados em uma cesta e enviados ao aparelho de processar tecidos – Histotécnico ou segue para processamento manual.

6. MATERIAL

6.1 Fichas de requisição devidamente preenchidas, com espaço para macroscopia; Câmera fotográfica;

6.2. Caneta e lápis preto; Tábua branca; Gaze;

6.4 Cassetes brancos e verdes; Pinça comum;

6.6 Cabo de bisturi e lâmina de bisturi.

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: PROCESSAMENTO TÉCNICO		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 010	Página: 1 de 03
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

1. OBJETIVO(S):

Estabelecer os procedimentos de processamento técnico.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO:

Laboratório de Patologia.

3. RESPONSABILIDADE:

Técnicos

4. PROCESSAMENTO

Nesta área, o técnico de laboratório coloca a cesta de cassetes no histotécnico, para passar nas próximas 12 horas os processos de desidratação, clarificação e parafinização, automatizadas no equipamento de processar tecidos. Ou fará o processamento manual, com duração de 05 horas. Após o processamento, deve-se conferir o número de cassetes do início e final do processamento.

5. Procedimentos

5.1 Manual

ANTES DE INICIAR O PROCESSAMENTO, LIGAR TODOS OS EQUIPAMENTOS: BANHO DE PARAFINA (220V), DISPENSADOR DE PARAFINA (110V), CHAPA AQUECEDORA (220V) (COM OS MOLDES DE METAL), BANHO MARIA (110V).

5.1.1 Após retirada dos cassetes do formol, deve-se inserir, em sequência, os cassetes nas soluções previamente preparadas:

Desidratação:

- 15 a 30 minutos em álcool 80%
- 15 a 30 minutos em álcool 90%
- 15 a 30 minutos em álcool 95%
- 15 a 30 minutos em álcool absoluto I
- 15 a 30 minutos em álcool absoluto II
- 15 a 30 minutos em álcool absoluto III

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: PROCESSAMENTO TÉCNICO		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 010	Página: 2 de 03
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

Clarificação

- 15 a 30 minutos em Xilol absoluto I
- 15 a 30 minutos em Xilol absoluto II

Parafinização

- 15 a 30 minutos em parafina I a 60° (na estufa ou no Banho de parafina)
- 15 a 30 minutos em parafina II a 60° (na estufa ou no Banho de parafina)

Retirar os cassetes da parafina e colocar na Chapa aquecedora, sobre os moldes de metal para inclusão.

5.1.2. Com Histotécnico

Neste equipamento, o técnico de laboratório coloca a cesta de cassetes no histotécnico, para passar nas próximas 14 horas os processos de desidratação, clarificação e parafinização, automatizadas neste equipamento de processar tecidos. Depois de aproximadamente 14 horas, os técnicos retiram a cesta de cassetes do aparelho e conferem, abrindo cada cassete, o número do registro e os fragmentos de acordo com a planilha da macroscopia.

- Ligar o No-break (bivolt) do equipamento;
- Conectar o equipamento em uma das saídas do No-break;
- Ligar a chave geral do equipamento (painel traseiro);
- Ajustar o relógio e calendário (apertando a tecla Presets)
- Na tela selecione Data/Hora (tecle + ou – e ajuste o dia, hora, mês, ano, minuto);
- Tecle a seta Voltar duas vezes.
- Calibre a temperatura das canecas de parafina . Pressione Presets. Digite a senha 1234 e enter. Seleciona Prt gerais. Tecle + ou – e ajuste a temperatura. Ok. Tecle voltar.
- Selecione uma programação de trabalho
 - Programa 1 – Banho de 60 minutos cada
 - Programa 2 – 30 minutos cada banho
 - Programa 5 – 1h e 15 minutos
- Na tecla inicial pressione Presets. Em seguida, selecione o programa. Inicia Ciclo. Início imediato ou início retardo (escolhe o dia, mês e ano e horário).

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: PROCESSAMENTO TÉCNICO		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 010	Página: 3 de 03
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

Para carregar os cestos:

- Na tela inicial pressione a tecla Manual
- Selecione o movimento na próxima tela (SOBE) – para que se carregue o cesto para processamento. Colocar as soluções. DESCE. Tecle Voltar para tela inicial. Gira – para deslocar na posição correta.

Ao terminar, retirar os cassetes e levar para a chapa aquecedora.

6. Materiais

Cubas de vidro

Álcool em diferentes concentrações (80, 90, 95% e absoluto),
Xilol
Parafina
Histotécnico
Banho de parafina
Estufa
Pinça
Funil

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: INCLUSÃO		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 011	Página: 1 de 02
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

1. OBJETIVO(S):

Estabelecer os procedimentos de inclusão.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO:

Laboratório de Patologia.

3. RESPONSABILIDADE:

Técnicos

4. INCLUSÃO

Após esta conferência e a confirmação dos dados, iniciar-se-á o processo de confecção do bloco de parafina, com a construção de blocos em cassetes

histológicos, com a inclusão de materiais e identificação dos blocos em cassetes com os números de identificação provenientes da macroscopia.

5. PROCEDIMENTO

TRABALHAR COM UM CASSETE POR VEZ

5.1 Chapa aquecida já ligada e com os moldes de metal já aquecidos, dispensador de parafina ligado, lamparina acesa, pinças separadas

5.2 Selecionar um molde e inserir um pouco de parafina proveniente do dispensador, apenas o suficiente para cobrir a área central do molde;

5.3 Abrir o cassete selecionado, remover a tampa e com a pinça aquecida pela lamparina ou bico de Bunsen, pegar os fragmentos e colocar no molde com parafina;

(atenção para coletar todos os fragmentos) com a superfície de corte para baixo, em contato com o molde;

5.4 Aguardar alguns instantes, quando a parafina no molde começar a resfriar (mudança de estado, ficando mais branca), ajuste a posição do fragmento, empurrando, aproximando o máximo a superfície lisa, de corte para baixo.

5.5 Inserir a parte maior do cassete sobre o molde, e completar com parafina líquida do dispensador.

5.6 Aguardar resfriar e inserir no congelador os moldes com os cassetes.

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: INCLUSÃO		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 011	Página: 2 de 02
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

6. MATERIAL

Moldes

Cassetes com material

Dispensador de parafina

Chapa aquecida

Lamparina ou bico de Bunsen

Pinças

Papel toalha, gaze

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Laboratório de Patologia Oral e Maxilofacial		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: MICROTOMIA		
Laboratório: 03	POP nº: 012	Página: 1 de 02
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

1. OBJETIVO(S):

Estabelecer os procedimentos de microtomia.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO:

Laboratório de Patologia.

3. RESPONSABILIDADE:

Técnicos

4. MICROTOMIA

Após o resfriamento dos blocos em congelador, os mesmos serão desbastados e cortados em micrótomo manual, com espessura de 5 micra para coloração de Hematoxilina e eosina e 3 micra para imunohistoquímica, em seguida, as fitas provenientes dos blocos, são pescadas nas lâminas de vidro, com ponta fosca.

Imediatamente após o corte, as lâminas com material "pescado" recebem a mesma numeração dos blocos e posteriormente são colocadas na estufa para sofrerem o processo de desparafinação. Após a desparafinação, as lâminas serão coradas em colorações de rotina denominadas Hematoxilina e Eosina ou

em outras colorações histoquímicas, que foram solicitadas na planilha da macroscopia.

Após as colorações específicas, as lâminas são recobertas por lamínulas. Segue-se a conferência final, de cada caso, pelo técnico do laboratório, e após, as lâminas e requisições são liberadas aos Médicos residentes e aos patologistas para exame microscópico.

5. PROCEDIMENTO

OS BLOCOS PRECISAM ESTAR GELADOS. AR-CONDICIONADO LIGADO NO LABORATÓRIO. BANHO MARIA LIGADO A 50°.

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: MICROTOMIA		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 012	Página: 2 de 02
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

5.1. O bloco resfriado é inserido na posição adequada no micrótomo. O bloco é colocado no suporte e, para o corte, deve obedecer adequado ângulo de inclinação;

5.2 Inicia-se a aproximação do bloco com a navalha, em movimento lentos, para não danificar o bloco;

5.3 Inicia-se o desbaste do bloco até chegar o material

5.4 Proceder a coleta de cortes, sendo sugeridos 2 a 3 por lâmina, a depender do tamanho do bloco.

5.5. Inserir os cortes no banho maria para estiramento do corte

5.6 Coletar com lâmina borda fosca. Identificar a lâmina, número correspondente ao bloco.

5.7 Levar as lâminas à estufa a 70° durante 35 minutos.

6. MATERIAL

Micrótomo

Lâmina fosco-lapidada

Jogo de navalhas

Banho maria

Estufa

Pinça

Pincéis

Lápis preto

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: Colorações de rotina		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 013	Página: 01 de 06
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

1. OBJETIVO(S):

Estabelecer os procedimentos de coloração de hematoxilina e eosina.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO:

Laboratório de Patologia.

3. RESPONSABILIDADE:

Técnicos

4. COLORAÇÃO DE ROTINA

A técnica de coloração rotineira é a de HE (Hematoxilina- Eosina). Deve ser realizada em capela de exaustão.

A lâmina após a montagem e identificação deve ser submetida ao processo de coloração. Recomenda-se, em alguns casos, colorações especiais, descritas também a seguir, para tal o patologista deverá, por ocasião da macroscopia, fazer essa indicação.

Após o processo de coloração, em qualquer uma das técnicas, as lâminas são enxutas em papel-filtro, imersas no xilol, clarificadas e diafanizadas. Procede-se a montagem utilizando bálsamo do Canadá ou similar e xilol.

Em relação a coloração, deve haver renovação das soluções utilizadas e nova checagem da requisição com o material, até a etiquetagem final conferindo na requisição o número de fragmentos enviados.

5. PROCEDIMENTO

HE

5.1. Mergulhar as lâminas em Xilol I e II (10 minutos em cada)

5.2. Álcool a 99,9% (25 vezes ou 1 minuto)

5.3. Álcool a 96% (25 vezes ou 1 minuto)

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: Colorações de rotina		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 013	Página: 2 de 06
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

5. 4 Álcool a 70% (25 vezes ou 1 minuto)

5.5. Lavar em água.

5.6 Hematoxilina (Mayer) durante 9 minutos

Diferenciar por 8 minutos em água corrente.

5.7 Eosina / Eosina-Floxina durante 9 minutos

5.8 Álcool a 70% (25 vezes ou 1 minuto)

5.8 Álcool a 80% (25 vezes ou 1 minuto)

5.9 Álcool a 99,9% I (25 vezes ou 1 minuto)

5.10 Álcool a 99,9% II (25 vezes ou 1 minuto)

5.11 Xilol I (5 minutos)

5.12 Xilol II durante 5 min

5.13 Montar as lâminas com lamínulas e Entellan ou verniz acrílex na capela.

RECOLORAÇÃO DE LÂMINAS EM HE

- Xilol 10'

- 3X Álcool absoluto – 2 min

**Testar “limpar” com álcool 70% + ácido clorídrico 1%

- Álcool 70% – (retira a eosina – não fazer com o álcool da sequência de coloração, pois ele mancha o álcool – selecionar a(s) lâmina(s) para recorar e colocar em um borel com álcool 70%)

- Álcool 50% rápido

- Lavar em água corrente (observar na lâmina se realmente saiu toda a Eosina)

- Hematoxilina – 7 min

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: Colorações de rotina		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 013	Página: 03 de 6
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

- Diferenciação em água corrente – 15 min
- Água destilada – duas trocas
- Álcool 80% - 2 min
- Eosina – 5 min
- Xilol de diafanização – 5 min
- Xilol de montagem – 5 min

**Funciona bem com lâminas recoradas de caixas antigas.

GROCOTT – Protocolo de coloração Fabricante EasyPath

1. Desparafinizar as lâminas em xilol por 5 minutos. Após, hidratar as lâminas em álcool 99%, 95%, 70% e lavar em água corrente.
2. Lavar por alguns segundos as lâminas em água destilada. Após, secar as lâminas.
3. Colocar na seção de tecido 10 gotas do reagente A (ou o suficiente para cobrir o corte), deixar agir por 10 minutos.
4. Lavar as lâminas em água corrente por 3 minutos, após secar as lâminas.
5. Colocar na seção de tecido 10 gotas do reagente B (ou o suficiente para cobrir o corte), deixar agir por 30 segundos.
6. Lavar as lâminas em água corrente, depois em água destilada e secar.
7. Fazer a junção dos reagentes C+D+E em um Becker na seguinte proporção: 40 ml do reagente C + 40 gotas do reagente D + 20 gotas do reagente E.
8. Colocar a solução obtida com a junção dos reagentes (C+D+E) junto com as lâminas dentro de uma jarra de Coplin ou outro recipiente termo-

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: Colorações de rotina		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 013	Página: 04 de 6
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

resistente com tampa e deixar agir por 40 minutos à 1 hora em estufa (70° C). (Observar o processo dentro do tempo estimado e retirar a lâmina da estufa assim que o corte demonstrar uma cor caramelo)

9. Lavar as lâminas em água destilada e secar.
10. Colocar na seção 10 gotas do reagente F (ou o suficiente para cobrir o corte), deixar agir por 1 minuto.
11. Lavar as lâminas em água corrente e secar.
12. Colocar na seção de tecido 10 gotas do reagente G (ou o suficiente para cobrir o corte), deixar agir por 1 minuto.
13. Lavar rapidamente as lâminas em água corrente e secar.
14. Desidratar em série de álcool ascendente até o xilol e montar as lâminas com VER-MOUNT.

Protocolo – P.A.S.

1. Desparafinizar as lâminas em xilol por 5 minutos.
2. Hidratar as lâminas em álcool 99%, 95% e 70%.
3. Digestão com diástase* (saliva): 10 minutos.
4. Lavar em água corrente.
5. Reagente A – colocar 10 gotas (ou suficiente para cobrir o tecido) e deixar agir por 10 minutos.
6. Lavar em água corrente por 3 minutos.
7. Lavar em água destilada.
8. Secar as lâminas.

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: Colorações de rotina		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 013	Página: 05 de 6
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

9. Reagente B - colocar 10 gotas (ou suficiente para cobrir o tecido) e deixar agir por 15 minutos em câmara escura.
10. Lavar em água corrente por 10 minutos.
11. Secar as lâminas.
12. Reagente C - colocar 10 gotas (ou suficiente para cobrir o tecido) e deixar agir por 4 minutos.
13. Lavar em água corrente por 3 minutos.
14. Secar as lâminas.
15. Desidratar em série de álcool ascendente até o xilol.
16. Montar as lâminas.

COLORAÇÃO ZIEHL-NEELSEN

(Método De coloração para bactérias álcool-ácido-resistentes - BAAR)

1. Desparafinizar em xilol por 5 minutos;
2. Hidratar (álcool 99%, 95%, 70%, 50%);
3. Lavar em água corrente, lavar em água destilada e secar;
4. Reagente A (Fucsina) por 5 minutos;

*A fucsina se liga aos lipídios bacterianos corando os envoltórios bacterianos de todas as bactérias presentes (tenham elas alto teor de lipídio na parede ou não);

5. Lavar em água corrente, lavar em água destilada;

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: Colorações de rotina		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 013	Página: 06 de 6
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

6. Reagente B (Diferenciador álcool-ácido) por poucos segundos controlar o tempo da diferenciação para que não haja remoção total do reagente A;
*O álcool-ácido remove a fucsina das demais bactérias enquanto as bactérias álcool-ácido-resistentes (BAAR) permanecem coradas de vermelho (são resistentes ao descoloramento);
7. Lavar em água corrente, lavar em água destilada e secar;
8. Reagente C (Azul de metileno) por 3 minutos;
* O azul de metileno é utilizado unicamente como contraste
9. Lavar em água corrente, lavar em água destilada;
10. Montar com aguatex (lâmina úmida com água destilada) ou secar a lâmina e montar com bálsamo.

6. MATERIAL

Solução de Eosina

Solução de Hematoxilina

Álcool em diferentes concentrações

Lamínulas

Entellan

Kit PAS

Kit Grocott

Kit Ziehl Neelsen

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: IMUNOHISTOQUÍMICA		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 014	Página: 1 de 05
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

1. OBJETIVO(S):

Estabelecer os procedimentos de imunohistoquímica.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO:

Laboratório de Patologia.

3. RESPONSABILIDADE:

Técnicos

4. IMUNOHISTOQUÍMICA

A técnica de imunohistoquímica detecta moléculas (antígenos) teciduais, sendo uma técnica complementar aos laudos anatomopatológicos. Podem ser realizadas análises imunoistoquímica em tecidos inclusos em parafina ou congelados.

O mecanismo básico é o reconhecimento do antígeno por um anticorpo (Ac primário) associado a diversos tipos de processos de visualização. Podem ser utilizados sistemas de visualização acoplados a moléculas fluorescentes ou enzimas que produzem produtos coloridos.

A técnica mais comumente utilizada é associada ao complexo streptoavidina-biotina-peroxidase, é utilizada para realização de reação de imunistoquímica em cortes de tecido parafinados. O complexo é formado pela ligação de uma molécula de streptavidina com três moléculas de biotina associadas a três moléculas de peroxidase, que tem como função a conversão de um substrato incolor em um produto final colorido que confere uma coloração castanha aos antígenos teciduais marcados.

As principais indicações para a realização de reação imunistoquímica são detecção de imunocomplexos, definição da histogênese de neoplasias morfológicamente indiferenciadas, imunofenotipagem de neoplasias já classificadas pela morfologia, pesquisa de marcadores prognósticos, auxílio na diferenciação entre neoplasias e estados reacionais e detecção de antígenos de agentes infecciosos.

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: IMUNOHISTOQUÍMICA		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 014	Página: 2 de 05
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

5. PROCEDIMENTO

TÉCNICA UTILIZANDO PANELA DE PRESSÃO A GÁS (PP)

1. Desparafinar em xilol: duas trocas de 10 minutos;
2. Hidratar em álcoois absoluto, 900 , 700 , 500 , até água corrente. Lavar em água corrente por 5 minutos.
3. Colocar os berços com as lâminas (de alumínio) em tampão citrato (ácido cítrico) dentro da panela quando a solução já estiver fervendo. Fechar a panela e aguardar "pegar" pressão , marcar 3 minutos, desligar o fogo.
Tirar a pressão da panela (embaixo da torneira) e abrir a tampa. Deixar esfriar por 20 minutos dentro da solução.
Ácido cítrico . ácido cítrico 4,202 g água destilada.... 2000 ml ph . . 6.0 (ajustar com NaOH concentrado).
4. Lavar com água corrente (+1- 5 minutos) com o recipiente ligeiramente inclinado.
5. Inativar a peroxidase endógena: usar Peróxido de Hidrogênio a 20 vol. 5 trocas de 5 minutos cada.
6. Lavar três vezes com água corrente.
7. Por em PBS (1 vez) pH 7.4.
PBS 20 vezes se faz a "uma vez".
8. Pingar o anticorpo primário.
9. Deixar "overnight" , na geladeira.

TÉCNICA UTILIZANDO PANELA DE PRESSÃO ELÉTRICA (PPE) - 4L (220V):

- 1 . Desparafinar em xilol: 2 trocas de 10 minutos;
- 2 Hidratar em alcoóis: absoluto; 900' 700; 500; até água corrente. Lavar em água corrente por 5 minutos.
- 3 Colocar 1 litros de água destilada na panela (ainda frio, na temperatura ambiente).
- 4 Arrumar as lâminas no suporte (plástico resistente ao calor - cubetas) para coloração. O suporte deverá estar com todos os espaços ocupados com lâminas.
- 5 Colocar a solução de recuperação desejada: ácido cítrico pH 6.0; EDTA/ TRIS pH 9.0; Solução de recuperação S2367; etc
- 6 Colocar tudo dentro da panela de pressão elétrica ("banho-maria").
- 7 Fechar a panela e aguardar aproximadamente 12 minutos (no timer).
- 8 Quando der pressão, aguardar 15 minutos (no timer).
- 9 Desligar a panela da tomada (após os 15 minutos) e abrir a válvula de pressão (tirar toda pressão) — usar luvas de silicone.

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: IMUNOHISTOQUÍMICA		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 014	Página: 03 de 05
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

10. Abrir a panela e retirar as cubetas de plástico com as lâminas e a solução ainda dentro.
- 1 1. Esperar esfriar as cubetas por 20 minutos (timer).
12. Lavar por cinco minutos em água corrente
13. Inativar a peroxidase endógena: 5 trocas de 5 minutos de H2O2 a 20vol.
14. Lavar por 5 minutos em água corrente
15. Colocar na tampão PBS
16. Pipetar o anticorpo primário.
17. Deixar overnight, na geladeira.

TÉCNICA UTILIZANDO BANHO MARIA:

- Desparafinar em xilol: 2 trocas de 10 minutos;
2. Hidratar em alcoóis: absoluto; 900; 700• 500; até água corrente. Lavar em água corrente por 5 minutos.
3. Colocar 3,5 litros de água da torneira no banho-maria
4. Arrumar as cubetas de plástico com as soluções desejadas (Ácido Cítrico pH 6.0; EDATA/ TRIS pH 9.0; Solução Recuperação S2367; etc).
5. Colocar as cubetas com as soluções desejadas no banho-maria e ligar o aparelho (220 W).
6. Aguardar atingir a temperatura (960 C) por aproximadamente 1 hora — utilizar o termómetro dentro de uma das cubetas,
7. Arrumar as lâminas já hidratadas nos suportes das cubetas e colocá-las dentro das cubetas no banho-maria já a 960 C.
8. Fechar o banho-maria e aguardar 40 minutos (timer).

9. Tirar as cubetas com as soluções e as lâminas do banho-maria após os 40 minutos.
10. Esperar esfriar as cubetas por 20 minutos (timer).
11. Lavar por cinco minutos em água corrente
12. Inativar a peroxidase endógena: 5 trocas de 5 minutos de H2O2 a 20vol.
13. Lavar por 5 minutos em água corrente
14. Colocar na tampão PBS
15. Pipetar o anticorpo primário.
16. Deixar overnight, na geladeira.

TÉCNICA UTILIZANDO O MICROONDAS (MW) :

1. Desparafinar em xilol: duas trocas de 10 minutos;
2. Hidratar em álcoois absoluto, 900 , 700 , 500 , até água corrente. Lavar em água corrente por 5 minutos.
3. Colocar os berços com as lâminas (de vidro) em tampão citrato (ácido cítrico) por 24 min no forno de microondas (MW).

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: IMUNOHISTOQUÍMICA		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 014	Página: 4 de 05
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

(ou solução TRIS/EDTA pH 9; ou solução tampão EDTA pH 8; verificar com atenção a recuperação do anticorpo primário).

Observar que alguns anticorpos precisam de 24 a 30 minutos do MW.

4. Deixar esfriar dentro do citrato por 20 minutos.
Ácido cítrico . ácido cítrico 4,202 g água destilada 2000 ml ph 6.0 (ajustar com NaOH concentrado)
5. Lavar com água corrente (+1- 5 minutos) com o recipiente ligeiramente inclinado.
6. Inativar a peroxidase endógena: usar Peróxido de Hidrogénio a 20 vol.
a. 5 trocas de 5 minutos cada.
7. Lavar três vezes com água corrente.
8. Por em PBS (1 vez) pH 7.4.
PBS 20 vezes se faz a "uma vez".
9. Pingar o anticorpo primário.
10. Deixar "overnight", na geladeira

2a Parte :

10 — Tirar as cubas da geladeira e lavar as lâminas em PBS — 3 trocas de 1 minuto. (as cubas devem ser lavadas em água quente).

11 - Pingar o anticorpo secundário BIOTINILADO - LINK (LSAB) ou ADVANCE.

12 — Colocar as cubas com as lâminas na estufa a 350 C por 30 minutos.

(13 — Ou ENVISION, única etapa, por 1 hora na estufa a 35^o C).

- 13 — Retirar as cubas com as lâminas da estufa e lavar 3 vezes de 1 minuto no PBS.
- 14 - Pingar o anticorpo terciário STREPTAVIDINA-BIOTINA-HRP (LSAB) ou ADVANCE.
- 15 — Colocar as cubas com as lâminas na estufa a 35° C por 30 minutos.
- 16 — Retirar as cubas com as lâminas da estufa e lavar 3 vezes de 1 minuto no PBS.
- 17 - CROMÓGENO DOADOR DE ELÉTRONS - DAB
 DAB . 0,060 mg
 PBS (1 vez).100 ml
 DMSO . . 1 ml
 H2O2 . 1 ml

Observação: o DAB deverá se feito muito próximo à hora de utilizar. Deve-se filtrar (filtro duplo) a solução antes de acrescentar o DMSO e a água oxigenada. Deve-se descartar o PBS das lâminas e acrescentar o cromógeno ativado por 5 min. Em estufa a 35° C.

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: IMUNOHISTOQUÍMICA		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 014	Página: 5 de 05
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

- 18 — Descartar e desativar .com hipoclorito) o cromógeno em frasco especial.
- 19 — Lavar em água corrente por 8 minutos.
- 20 — Contra corar com Hematoxilina de Carazzi (previamente filtrada — duas vezes) — por 1 a 3 minutos.
- 21 — Lavar em água corrente por 8 minutos.
- 22 — Desidratar em álcoois absolutos, três trocas de 1 minuto cada.
- 23 — Xilol de diafanização.
- 24 — Xilol de montagem.
- 25 — Montagem em bálsamo

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: MICROSCOPIA		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 015	Página: 1 de 02
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

1. OBJETIVO(S):

Estabelecer os procedimentos de coloração de hematoxilina e eosina.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO:

Laboratório de Patologia.

3. RESPONSABILIDADE:

Docentes/Patologistas

4. MICROSCOPIA

Neste setor, os patologistas recebem as requisições numeradas e lâminas correspondente. Analisam os dados e conferem na lâmina, o número de registro e de fragmentos descritos na macroscopia. Utiliza-se microscópio binocular.

O exame microscópico, atento e minucioso, constitui uma das atribuições do patologista e do residente em formação. Após terminada essa leitura, as requisições são encaminhadas com a conclusão anatomopatológica final, sob a responsabilidade do patologista. Procede-se, então, a expedição dos resultados, arquivo dos relatórios e das lâminas

5. PROCEDIMENTO

5.1. Após certificar-se que o material está correto, procede-se a leitura das lâminas cito-histopatológicas.

5.2. Ligar o microscópio, iniciando a análise pelas objetivas de menor aumento;

5.3 Prosseguir com a análise microscópica, anotando no verso da requisição a microscopia;

5.4. Ao final, voltar a objetiva para de menor aumento, reduzir a luz e desligar o microscópio. Se for utilizada a objetiva de 100x, proceder a limpeza do óleo com algodão.

Para os diagnósticos, obedece-se às classificações/recomendações preconizadas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) mais recentes (2022).

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: MICROSCOPIA		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 015	Página: 2 de 02
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

Na necessidade de consultorias internas ou externas, o patologista responsável é encarregado de executar os encaminhamentos de envio para consultoria;

Após a liberação da requisição, as requisições são encaminhadas para a área de liberação de laudos. Os exames assinados pelo patologista responsável são registrados no Registro de Biópsias online do laboratório. Posteriormente as requisições são liberadas para digitação, que é realizada por servidores administrativos. Após o laudo ser digitado, segue a dupla correção dos mesmos, pelo residente e patologista. Após correção, os laudos são liberados para retirada pelos pacientes

6. MATERIAL

Lâminas prontas

Microscópio binocular

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: ARQUIVAMENTO		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 016	Página: 1 de 01
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

1. OBJETIVO(S):

Estabelecer os procedimentos de coloração de arquivo.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO:

Laboratório de Patologia.

3. RESPONSABILIDADE:

Técnicos

4. ARQUIVOS

Todos os blocos provenientes da área técnica, bem como todas as lâminas provenientes da microscopia e todas as requisições liberadas, pela secretaria, são arquivados segundo as técnicas preconizadas para arquivos de laudos.

5. PROCEDIMENTO

a) Das lâminas

Arquivar em ordem crescente (as mais recentes ficam a frente a cada caixa.

b) Dos blocos

Arquivar em ordem crescente.

c) Laudos e requisições

Arquivar em ordem de entrada no laboratório.

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares		
Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: DESCARTE DE RESÍDUOS		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 017	Página: 1 de 02
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

1. OBJETIVO(S):

Descartar corretamente resíduos e insumos do laboratório.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO:

Laboratório de Patologia.

3. RESPONSABILIDADE:

Coordenador do Laboratório: Supervisão, orientação e treinamento dos técnicos de laboratório, docentes e alunos na apropriação deste procedimento; revisão, controle e atualização deste procedimento.

Técnicos de Laboratório: leitura e apropriação deste procedimento; orientação de docentes, alunos e visitantes sobre este procedimento.

Docentes: leitura e apropriação das normas deste procedimento, orientação e supervisão dos alunos, quando estes últimos, estiverem sob sua responsabilidade, sobre o cumprimento das normas deste procedimento.

Alunos: leitura e apropriação deste procedimento; cumprimento às normas deste procedimento.

4. PROCEDIMENTO

4.1. Resíduos Biológicos (CLASSE A e E, de acordo com RDC nº304/ ANVISA)

4.1.1. Resíduos biológicos devem ser acondicionados em lixeiras brancas, em sacos brancos leitosos, com símbolo “infectante” (abaixo).

4.1.2. Resíduos biológicos que sejam perfuro-cortantes (CLASSE E) devem ser acondicionados em recipientes específicos, resistentes, também com símbolo “infectante”.

4.1.3. Tente minimizar e segregar corretamente estes resíduos para que a saúde dos profissionais de saúde e o meio ambiente sejam preservados.

Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Assunto: DESCARTE DE RESÍDUOS		
Laboratório de Patologia Oral	POP nº: 017	Página: 2 de 02
Versão: 001	Revisão: 000	Validade: 2 anos

4.1.4. Somente $\frac{3}{4}$ do recipiente de acondicionamento deve estar ocupado.

4.2. Resíduos Químicos (CLASSE B)

4.2.1. Resíduos químicos (vencidos) devem ser recolhidos, acondicionados em embalagens adequadas, considerando-se a especificidade de cada substância química.

4.2.2. Nunca descarte simultaneamente, no recipiente de escolha, diferentes substâncias químicas.

4.3. Resíduos Comuns (CLASSE D)

4.3.1. Papéis diversos (incluindo papéis toalhas), copos descartáveis, luvas sem contaminação, devem ser descartados em lixeiras comuns, com sacos pretos.

4.3.2. Havendo possibilidade, segregue papéis, plásticos, lixos orgânicos, lâmpadas, pilhas, vidros e metais para reciclagem.

4.3.3. Caso haja contaminação do papel (e outros resíduos comuns) com resíduos químicos, este resíduo passará a ser descartado como "B", ou seja, deverá ser descartado como tal.

4.3.4. Caso haja contaminação do papel (e outros resíduos comuns) com resíduos biológicos, este resíduo passará a ser descartado como "A", ou seja, deverá ser descartado como tal.

4.4. Coleta dos Resíduos

4.4.1. A coleta dos resíduos comuns e biológicos são de responsabilidade dos Técnicos de Laboratório. Para a coleta e encaminhamento ao abrigo externo de resíduos, utilizar sempre luvas, máscaras e jaleco.

4.4.2. A coleta dos resíduos químicos é realizada por empresa terceirizada.

5. Referências:

RESOLUÇÃO DE DIRETORIA COLEGIADA, nº 306. 07 de dezembro de 2004. Regulamento técnico para gerenciamento de resíduos de serviços de saúde. ANVISA.

REQUISIÇÃO HISTOPATOLÓGICA



Laboratório de Patologia Oral - UFJF Campus GV
Departamento de Odontologia - Instituto de Ciências da Vida
 Rua Manoel Byrro, 241, 1º andar, sala 115, Vila Bretas
 CEP 35032-620. Tel.: 3301-1000, ramal 1522
 E-mail: lab.patologiaoral.gv@ufjf.br

Para uso do laboratório
 Entrada: ___/___/___
 Registro: ___/___/___

REQUISIÇÃO HISTOPATOLÓGICA

O HISTOPATOLÓGICO				O INTERCONSULTA/REVISÃO			
O Biópsia Incisional		O Biópsia Excisional		O Peça Cirúrgica		O Biópsia Prévia n°:	
				O Lâmina(s):		O Bloco(s):	
PACIENTE (USE LETRA DE FORMA SEM ABREVIACÕES)							
Sexo: O Masc. O Fem.		Cor: O B O Pt O Pd O Am O Ind		Idade: (DN: / /)		CPF:	
Endereço:				Cidade/UF:			
CEP:		Tel:		Profissão:		N° CNS/SUS:	
REQUISITANTE:				ASSINATURA /CRO			
Profissional:		Whatsapp:					
E-mail:		Cidade/UF:					
Procedência da Biópsia: O UFJF (Clínica):				O Particular		O Unívale (Clínica)	
O Outra							
INFORMAÇÕES CLÍNICAS							
Localização da lesão:				Hipótese(s) diagnóstica(s):			
História:				Doenças sistêmicas de base e medicações em uso:			
				TABAGISMO: O S O N Tipo: _____ Tempo: _____ Quant: _____			
				ETILISMO: O S O N Tipo: _____ Tempo: _____ Quant: _____			
				OUTROS HÁBITOS: _____			
DESCRIÇÃO CLÍNICA DA LESÃO (Enviar imagens para o Whatsapp: 33 99901-3287)							

LESÃO	CONSISTÊNCIA	FORMATO	BORDAS	COR	SUPERFÍCIE	BASE	LINFONODOS
O Nódulo/pápula	O Firme	O Irregular	O Elevadas	O Normal	O Lisa	O Sêssil	O Sim
O Úlcera	O Dura	O Redondo	O Planas	O Esbranquiçada	O Irregular	O Pediculada	O Não
O Mancha	O Mole	O Fusiforme	CONTORNO	O Avermelhada	O Papilar		
O Placa	O Flutuante	O Regular	O Regular	O Castanha/negra	O Moriforme	DOR	TAMANHO
O Bolha/vesícula	O Outro	O Irregular	O Irregular	O Amarelada	O Ulcerada	O Sim	
				O Azul/arroxeadado	O Crostosa	O Não	___ X ___ cm

INFORMAÇÕES AO PACIENTE

Prezado(a) paciente, sua amostra coletada através de biópsia (ou esfregaço) será enviada por meio de Entrega presencial ou transporte via correios para exame macro e microscópico no Laboratório de Patologia Oral da UFJF Campus Governador Valadares, Rua Manoel Byrro, 241, 1º andar, sala 115, Vila Bretas, Governador Valadares, Minas Gerais. Eventuais fotos clínicas, exames de imagens e exames complementares também serão enviados ao laboratório. Os dados enviados poderão ser utilizados para fins acadêmicos/educativos, garantindo seu anonimato. O cirurgião-dentista é responsável pelo envio/entrega segura do material até o endereço do laboratório. A responsável por este laboratório, a partir de comprovado o recebimento de seu material, assumirá a responsabilidade por ele. O laudo com o diagnóstico final será disponibilizado de forma eletrônica para o(a) profissional solicitante do exame, no período médio de 2 e 3 semanas a partir do recebimento da amostra no laboratório, podendo este período variar de acordo com as especificidades de cada caso.

A avaliação da amostra é realizada de forma gratuita (sem custos para o paciente e o profissional).

Declaro que li e estou de acordo com o envio da amostra, dados e imagens para o Laboratório de Patologia Oral/UFJF-CV.

_____/_____/_____
 Paciente ou responsável _____/_____/_____
 Data

PARA USO DO LABORATÓRIO

Macroscopia: N° de frascos: _____ N° de fragmentos: _____ Formato: _____ Coloração: _____ Data: ___/___/___

Tamanho: ___ x ___ x ___ mm | O Em conjunto O Maior fragmento | Consistência: _____ | Descalcificação: O Sim O Não

Descalcificador: _____

Diagnóstico: _____

LAUDO HISTOPATOLÓGICO



Laboratório de Patologia Oral - UFJF Campus GV
Departamento de Odontologia - Instituto de Ciências da Vida
Rua Manoel Byrro, 241, 1º andar, sala 115, Vila Bretas
CEP 35032-620. Tel.: 3301-1000, ramal 1522
E-mail: lab.patologiaoral.gv@ufjf.br

RESULTADO DE EXAME HISTOPATOLÓGICO | N°:

Nome:	
Endereço:	Cidade:
Gênero:	Profissão:
Idade:	Solicitado por Dr(a):
Coletado em:	Recebido em:
Informes clínicos:	
Características radiográficas:	
Número de frascos enviados:	
Região biopsiada:	
Procedimento:	
Macroscopia:	
Microscopia:	
Diagnóstico:	

Assinado eletronicamente por:

Profa. Dra Sibeile Nascimento de Aquino

CRO-MG 36666

Profa Adjunta de Patologia Oral e Maxilofacial

O presente laudo é uma análise interpretativa com aspectos subjetivos, sendo consequência da correlação de dados clínicos, laboratoriais e morfológicos. O diagnóstico pode variar na dependência do patologista das informações contidas na requisição do exame, das técnicas especiais e da evolução do conhecimento científico. Qualquer discordância, deverá ser comunicada para revisão, pois, a sensibilidade dos métodos pode não ser absoluta e exigir novas investigações.

Protocolos e soluções

LABORATÓRIO DE PATOLOGIA ORAL E MAXILOFACIAL

Fixação dos Tecidos

Tem como objetivo impedir a autólise do material bem como conservar o tecido na sua forma original, preservando sua morfologia e composição química. Ela deve ser realizada imediatamente após a obtenção do material sendo o espécime imerso no fixador. Congelação anterior à fixação pode causar maiores mudanças morfológicas. Um agente fixador deve seguir alguns itens como:

- Parar rapidamente todas as operações vitais das células.
- Manter os organitos e estruturas da célula no lugar que ocupavam em vida, com o mínimo de alterações.
- Insolubilizar as proteínas e outras substâncias de modo a manter as características químicas das diversas estruturas da célula e tecidos.
- Permitir a boa adesão dos corantes histológicos.

- Não deformar, por fenômenos de turgescência ou plasmólise, as células e tecidos.

Sendo assim, o fixador deve ser escolhido em função do que pretendemos observar e a técnica de coloração que vai ser aplicada além dos seus efeitos a curto e longo prazo de estocagem.

Os agentes fixadores podem ser físicos (frio e calor) e químicos. A quase totalidade das preparações é fixada com agentes químicos, na sua imensa maioria líquidos, embora outros possam ser usados nas formas gasosas (ósio) e sólidas. Há inúmeros tipos de fixadores, cada um com suas vantagens e desvantagens.

Agentes fixadores

- a) Líquidos** - têm como característica indispensável, a boa penetração e difusão no volume do tecido.

Formol

O formol penetra uniforme e rapidamente nos tecidos (curto tempo de fixação). Este fixador reserva-se para peças destinadas a estudos histoquímicos, em particular estudos de lipídios. Conserva-se grande número de estruturas citoplasmáticas e nucleares (lipídios, carboidratos e proteínas). Têm a vantagem de não apresentar fenômenos de sobrefixação, uma vez que as peças podem ficar muito tempo no fixador (longo tempo de estocagem).

O melhor fixador é o formol a 10% tamponado, isto é, diluído em tampão fosfato, com pH de aproximadamente 7,2 porque este é o tampão mais encontrado nos fluidos orgânicos. O formol a 10%, não tamponado, torna-se mais ácido com o passar dos dias, comprometendo a qualidade de qualquer coloração ou estudo imunohistoquímico que se torne necessário. O volume a ser utilizado deve ser de 10 a 20 vezes o volume do espécime. O tempo de fixação é de 1 a 2 horas para cada milímetro de espessura de tecido.

O formol é um líquido incolor ou gás que possui odor pungente; é irritante aos olhos, nariz e garganta, sendo a pele e o sistema respiratório, mais afetado. Precauções de segurança são necessárias enquanto estiver se fazendo uso do formol, manter o exaustor da capela ligado e em caso de contato lavar bem a pele exposta em água corrente.

Álcool absoluto

Preserva glicogênio; entretanto, ele causa distorção nuclear e contração do citoplasma.

Acetona gelada

É utilizada em certos estudos histoquímicos para enzimas, especialmente lipases e fosfatases. Não é usada como um fixador de rotina pois ela causa distorção nuclear, contração do citoplasma e não preserva glicogênio.

Glutaraldeído

Útil na microscopia eletrônica e histoquímica de enzimas. Penetra mais lentamente do que o formol, sua penetração lenta, baixa temperatura e a necessidade de estocagem média impede o seu uso na rotina de diagnóstico.

Ácido Tricloroacético

Não é usado atualmente como agente fixador. Preserva estruturas que contêm enxofre como os aminoácidos cistina, cisteína e metionina. Este líquido também pode ser utilizado como agente descalcificante.

Ácido Acético

Nunca é utilizado puro mas freqüentemente combinado com outros fixadores que causam contração. Penetra grosseiramente e rapidamente mas lisa eritrócitos.

b) Sólidos – há um grande número de sólidos que são usados em combinação com outros sólidos e líquidos para promover fixação.

Cloreto de mercúrio

Penetra rapidamente e precipita todas as proteínas, pode melhorar a aparência histológica dos tecidos. No entanto, possui duas desvantagens: os cristais de mercúrio, que são depositados nos tecidos, devem ser removidos antes da coloração, e devido a sua alta toxicidade, não é possível a sua destruição utilizando o sistema de esgoto.

Dicromato de potássio

Este fixador nunca é usado puro. Fixa citoplasma sem precipitação. Após fixação, os espécimes devem ser abundantemente lavados para remover um óxido que se forma e não pode ser removido após processamento.

Ácido Crômico

É um forte oxidante que é usado com outros ingredientes, não tem efeito sobre gordura e penetra lentamente. O uso deste agente pode provocar contração durante o processamento.

Tetróxido de Ósmio

É um bom fixador para pequenas espécimes, preserva estruturas delicadas nas células e é usado portanto, em microscopia eletrônica. Misturas de ácido ósmio não são usadas na rotina de diagnóstico porque estas penetram lentamente e irregularmente.

Ácido Pírico

Penetra bem e precipita proteínas, quando usado em combinação com outros ingredientes, preserva tecidos moles. Seu uso requer lavagem, pois este ingrediente irá continuar a reagir com as estruturas dos tecidos e irá causar uma perda de basofilia.

Macroscopia

Todo tecido deve ser descrito macroscopicamente quanto ao tipo de fixador, tempo de fixação, tipo de tecido, tamanho, quantidade de peças, formato, coloração. De acordo com tamanho do tecido, este será seccionado para sua melhor inclusão, que pode ser feita em ágar nos casos de peças extremamente pequenas, que podem ser perdidas durante seu processamento. Em alguns casos, como peças sugestivas de carcinoma espinocelular, carcinoma basocelular e melanoma deverá ser feita a análise das margens de segurança de 1mm e incluídas em ágar, além do seccionamento da peça. Pode-se utilizar também nanquim para delimitar as margens de segurança. Os tecidos calcificados presentes no material enviado, deverão ser colocados previamente em

soluções descalcificadoras, que irá promover a retirada do cálcio dos tecidos antes do processamento, facilitando assim seu corte. A descrição macroscópica deve ser anotada na ficha e servirá de controle de todo material. Se possível o patologista deve fazer um desenho esquemático da peça e documentação fotográfica.

Etapas do Processamento

São passos seqüenciais para remover o excesso de água dos espécimes de tecido e substituí-la por um material que se solidifica e permite que o espécime seja cortado. Os estágios de processamento do tecido são:

- **Fixação:** preserva a morfologia e a composição do tecido, impedindo sua autólise.
- **Desidratação:** remove a água dos tecidos pela passagem dos mesmos em banhos de concentrações crescentes de etanol – 70 a 99,3%.
- **Clareamento ou diafanização:** substituição do etanol por líquido miscível com o meio de inclusão. Para a inclusão em parafina usa-se o “xilol”. Esta etapa é

responsável pelo clareamento do tecido tornando o transparente ou translúcente.

O xilol dissolve gordura, portanto os lipídios terão imagem negativa.

- **Impregnação:** feita pela parafina fundida que penetra nos vasos, espaços intercelulares e mesmo no interior das células, impregnando o tecido e tornando mais fácil a obtenção dos cortes no micrótomo.
- **Inclusão:** a peça é colocada dentro de um molde de alumínio retangular, de acordo com seu tamanho, contendo parafina, após solidificação da parafina obtém-se um bloco regular para ser cortado no micrótomo.

Programa P 5-Histotécnico

- 1) Formol – 1h ou água – 5min
- 2) Água – 1h
- 3) Álcool 70% - 1h e 15min
- 4) Álcool absoluto 1 (99,3%) – 1h e 15min
- 5) Álcool absoluto 2 (99,3%) – 1h e 15min
- 6) Álcool absoluto 3 (99,3%) – 1h e 15 min
- 7) Álcool absoluto – xilol – 1h e 15 min (proporção 1:1)
- 8) Xilol 1 – 1h e 15 min
- 9) Xilol 2 – 1h e 15 min
- 10) Xilol 3 – 1h e 15min
- 11) Parafina 1 – 1h e 15min
- 12) Parafina 2 – 1h e 15min

Inclusão

Proporciona firmeza e maciez suficientes para realização de cortes finos

- 1) Colocar as forminhas na chapa quente (+70^o a +80^oC)
- 2) Escolher a forminha do tamanho adequado
- 3) Encher com parafina líquida quente (+62^oC)
- 4) Colocar as peças do cassete dentro da forminha na posição do corte mencionado – esperar a parafina iniciar a solidificação – cor esbranquiçada
- 5) Cobrir com cassete e completar com parafina líquida – esperar 2min
- 6) Passar para a chapa fria –ou resfriar na bancada
- 7) Levar no congelador – 5 a 10 min para descolar o bloco (-10^o a -20^oC)
- 8) Levar para o corte

Corte Histológico

- 1) Posicionar o bloco gelado no braço do micrótomo
- 2) Ajustar a espessura de corte para 7-10 μ
- 3) Cortar até a profundidade em que se deseja obter as lâminas
- 4) Retirar o bloco para gelar novamente por 5-10min
- 5) Ajustar a espessura do corte para 3-5 μ (3-imunohistoquímica e 5-HE)
- 6) Tirar uma fita de oito cortes e escolher os melhores
- 7) Estender os cortes em água fria acrescida de álcool – cubeta
- 8) Coletar os cortes com uma lâmina limpa
- 9) Passar para a água quente – banho-maria(+30⁰C) – cortes esticados. Cobrir o banho-maria após o uso para evitar contaminação da água com sujeiras
- 10) Coletar os cortes com lâmina albuminizada (clara de ovo + glicerina – 1:1 – conservar em geladeira)
- 11) Identificar a lâmina
- 12) Levar lâminas a estufa – 12horas – secagem – +60⁰C

Micrótomo - aparelho especial para realizar cortes finos nos blocos de parafina com os fragmentos de tecido clivados incluídos

Eosina – Solução de estoque

Eosina G – Solúvel em água	1,0 grama
Água destilada	100 ml

Floxina – Solução de estoque

Floxina B	1,0 grama
Água destilada	100 ml

Eosina - Fluoxina = Solução de trabalho

Eosina solução de estoque	100ml
Floxina solução de estoque	10ml
Álcool etílico 95%	780ml
Ácido acético	4,0 ml

Observações:

1. Medidas para 1L de solução;
2. A solução pode ser utilizada por uma semana;
3. Eosina – Fluoxina dá o melhor contraste;
4. Citoplasma cora rosa;
5. Colágenos e músculos coram em vermelho brilhante;
6. Eosina solução ácida – basofílica;
7. Pode ser usada a eosina y, g ou amarela.

Hematoxilina de Mayer

Sulfato de alumínio e amônio	50 gramas
Água destilada	1000 ml
Hematoxilina	1 grama
Iodato de sódio	0,2 gramas
Ácido cítrico	1 grama
Cristais de timol	Pouco

Dissolver o alúmen na água destilada usando a barra magnética (agitador). Quando o alúmen estiver completamente dissolvido adicionar os cristais de hematoxilina; com a hematoxilina dissolvida acrescentar o iodato de sódio. Deve-se agitar por 10 minutos antes de adicionar o ácido cítrico. Agitar por mais 10 minutos antes de pôr os cristais de timol.

Observações:

1. Preparo para 1L;
2. 1 ml da solução quando pingada em água tépida tornará, imediatamente, em azul;
3. A solução deverá ser VINHO;
4. Solução básica – acidofílica.

Método de coloração em H.E

1. Desparafinar;
 - 1.1 Xilol por 5 minutos
 - 1.2 Xilol por 5 minutos
2. Hidratar;
 - 2.1 Álcool absoluto (rápido)
 - 2.2 Álcool 90% (rápido)
 - 2.3 Álcool 70% (rápido)
 - 2.4 Álcool 50% (rápido)
3. Banho com água – rápido;
4. Hematoxilina de Mayer – 11 minutos;
5. Diferenciação – água por 12 minutos;
6. Banho com água destilada – rápido;
7. Desidratar – álcool 80% por 2 minutos;
8. Eosina – 2 minutos;
9. Desidratar;
 - 9.1 Álcool absoluto (rápido)
 - 9.2 Álcool absoluto (rápido)
 - 9.3 Álcool absoluto (rápido)
10. Diafaniação;
 - 10.1 Xilol 3min ou 5 min
 - 10.2 Xilol 3min ou 5 min
11. Montagem;
12. Estufa para secar o bálamo.

Observação:

1. SEMPRE filtrar a hematoxilina antes da coloração;
2. Proteger a hematoxilina da luz para não oxidar;
3. SEMPRE verificar os níveis e qualidades dos reagentes antes da coloração;
4. Banho de álcool ascendente (50% para 100%) irá desidratar;
5. Banho de álcool descendente (100% para 50%) irá hidratar;
6. Núcleo irá se corar em azul;
7. Citoplasma irá se corar de rosa a vermelho;
8. Demais estruturas do tecido irão se corar de rosa a vermelho.

ÁCIDO PERIÓDICO DE SCHIFF (PAS) – SEM DIÁSTASE

1. Desparafinizar;
 - 1.1 Xilol por 5 minutos
2. Hidratar;
 - 2.1 Álcool absoluto (rápido)
 - 2.2 Álcool 90% (rápido)
 - 2.3 Álcool 70% (rápido)
 - 2.4 Álcool 50% (rápido)
3. Lavar com água;
4. Banho com água destilada – rápido;
5. Ácido Periódico A – cobrir a peça – 10 minutos;
6. Banho em água corrente por 3 minutos;
7. Banho em água destilada;
8. Reagente de Schiff B – cobrir a peça – 15 minutos;
9. Banho em água corrente por 10 minutos;
10. Banho em água destilada;
11. Reagente hematoxilina C – cobrir peça – 4 minutos;
12. Banho em água corrente por 3 minutos;
13. Desidratar em séries de álcoois absolutos;
14. Xilol diafanização;
15. Xilol montagem.

ÁCIDO PERIÓDICO DE SCHIFF (PAS) – COM DIÁSTASE

1. Desparafinizar;
 - 1.1 Xilol por 5 minutos
2. Hidratar;
 - 2.1 Álcool absoluto (rápido)
 - 2.2 Álcool 90% (rápido)
 - 2.3 Álcool 70% (rápido)
 - 2.4 Álcool 50% (rápido)
3. Cuspir na lâmina – agir por 10 minutos;
4. Lavar com água;
5. Banho com água destilada – rápido;
6. Ácido Periódico A – cobrir a peça – 10 minutos;
7. Banho em água corrente por 3 minutos;
8. Banho em água destilada;
9. Reagente de Schiff B – cobrir a peça – 15 minutos;
10. Banho em água corrente por 10 minutos;
11. Banho em água destilada;
12. Reagente hematoxilina C – cobrir peça – 4 minutos;
13. Banho em água corrente por 3 minutos;
14. Desidratar em séries de álcoois absolutos;
15. Xilol diafanização;
16. Xilol montagem.

IMUNOHISTOQUÍMICA

Técnica utilizando panela de pressão elétrica 4L (PPE) – 220W

1. Desparafinizar em xilol;
 - 1.1 Xilol I – 10 minutos
 - 1.2 Xilol II – 10 minutos
2. Hidratar;
 - 2.1 Álcool absoluto – 2 min
 - 2.2 Álcool 90% - 2 min
 - 2.3 Álcool 70% - 2 min
 - 2.4 Álcool 50% - 2 min
 - 2.5 Água corrente por 5 minutos.
3. Colocar 1.4L de água destilada na panela (temperatura ambiente);
4. Arrumar as lâminas no suporte plástico resistente a pressão e calor (cubetas).
Observação: a cubeta não poderá ter espaço vazio, preencher com lâminas limpas
5. Completar a cubeta com a solução de recuperação desejada;
Observação: TRIS – EDTA ph 9 ou Ácido cítrico ph 6 ou S236 (Observar a recuperação do anticorpo primário)
6. Colocar tudo dentro da panela de pressão;
7. Quando pegar pressão aguardar 15 minutos “timer”;
8. Retirar toda pressão da panela após os 15 minutos – panela desligada na tomada;
9. Retirar as lâminas de dentro da panela e esperar esfriar por 20 minutos;
10. Lavar por 5 minutos em água corrente;
11. Inativar a peroxidase endógena com peróxido de oxigênio a 20 vol – 15min;
12. Lavar em água corrente – 5 min;
13. Lavar em água destilada;
14. Colocar na solução tampão – PBS;
15. Pipetar anticorpo primário;
16. Deixar “overnight” na geladeira

IMUNOHISTOQUÍMICA

Técnica utilizando panela de pressão a gás (PP)

1. Desparafinizar em xilol;
 - 1.1 Xilol I – 10 minutos
 - 1.2 Xilol II – 10 minutos
2. Hidratar;
 - 2.1 Álcool absoluto – 2 min
 - 2.2 Álcool 90% - 2 min
 - 2.3 Álcool 70% - 2 min
 - 2.4 Álcool 50% - 2 min
 - 2.5 Água corrente por 5 minutos.
3. Colocar o berço de lâminas de alumínio em tampão de citrato (ácido cítrico) dentro da panela quando a solução (citrato) estiver fervendo – 2L de ácido cítrico;
4. Fechar a panela e guardar pegar pressão – 3 minutos na pressão;
5. Retirar a pressão da panela debaixo da torneira (água corrente) e abrir a tampa;
6. Esfriar por 20 minutos;
7. Lavar em água corrente por 5 minutos – panela inclinada;
8. Inativar a peroxidase endógena com peróxido de oxigênio a 20 vol – 15 min;
9. Lavar e água corrente por 5 minutos;
10. Lavar em água destilada;
11. Colocar na solução tampão – PBS;
12. Pipetar anticorpo primário;
Deixar “overnight” na geladeira

IMUNOHISTOQUÍMICA

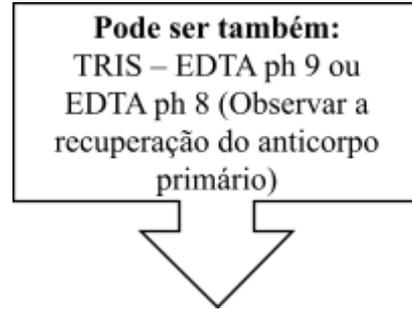
Técnica utilizando banho maria (BM)

1. Desparafinizar em xilol;
 - 1.1 Xilol I – 10 minutos
 - 1.2 Xilol II – 10 minutos
2. Hidratar;
 - 2.1 Álcool absoluto – 2 min
 - 2.2 Álcool 90% - 2 min
 - 2.3 Álcool 70% - 2min
 - 2.4 Álcool 50% - 2 min
 - 2.5 Água corrente por 5 minutos.
3. Colocar 3.5L de água da torneira no banho maria ;
4. Arrumar as cubetas com as soluções desejadas no banho maria e ligar o aparelho – 220v;
5. Aguardar atingir a temperatura ideal – 96° C – por aproximadamente 1 hora, caso necessário utilizar o termômetro;
6. Arrumar as lâminas hidratadas nos suportes das cubetas e colocá-las dentro das cubetas no banho maria já a 96° C;
7. Fechar o banho maria e aguardar 40 minutos “timer”;
8. Dado o tempo, retirar as cubetas com as lâminas;
9. Esperar esfriar por 20 minutos;
10. Lavar em água corrente por 5 minutos;
11. Inativar a peroxidase endógena com peróxido de oxigênio 20 vol – 15min;
12. Lavar por 5 minutos com água corrente;
13. Lavar em água destilada;
14. Por em PBS;
15. Pingar o anticorpo primário;
16. Deixar “overnight” na geladeira

IMUNOHISTOQUÍMICA

Técnica utilizando o microondas (MW)

17. Desparafinizar em xilol;
 Xilol I – 10 minutos
 Xilol II – 10 minutos
18. Hidratar;
 - 2.1 Álcool absoluto – 2 min
 - 2.2 Álcool 90% - 2 min
 - 2.3 Álcool 70% - 2min
 - 2.4 Álcool 50% - 2 min
 - 2.5 Água corrente por 5 minutos.
19. Colocar o berço das lâminas de vidro em tampão citrato (ÁCIDO CÍTRICO) por 24 minutos no forno microondas;
20. Esfriar dentro do citrato por 20 minutos.
21. Lavar em água corrente com o recipiente inclinado por 5 minutos;
22. Inativar a peroxidase endógena em peróxido de oxigênio 20 vol – 15min;
23. Lavar 3 vezes com água corrente;
24. Lavar em água destilada;
25. Por em PBS;
26. Pingar o anticorpo primário;
27. Deixar “overnight” na geladeira



IMUNOHISTOQUÍMICA - 2ª Parte

01. Tirar as cubas da geladeira e lavar as lâminas em PBS – 3 trocas de 1 minuto.
(Cubas devem ser lavadas em água quente).
02. Pingar o anticorpo secundário BIOTINILADO – LINK (LSAB) ou ADVANCE ou ENVISION.
03. Colocar as cubas com as lâminas na estufa a 35° C por 30 minutos.
Observação: ENVISION, única etapa, por 1 hora na estufa a 35° C.
04. Retirar as cubas com as lâminas da estufa e lavar 3 vezes de 1 minuto no PBS.
05. Pingar o anticorpo terciário STREPTAVIDINA-BIOTINA-HRP (LSAB) ou ADVANCE.
06. Colocar as cubas com as lâminas na estufa a 35° C por 30 minutos.
07. Retirar as cubas com as lâminas da estufa e lavar 3 vezes de 1 minuto no PBS.
08. CROMÓGENO DOADOR DE ELÉTRONS – **DAB**
09. Descartar e desativar (com hipoclorito) o cromógeno em frasco especial.
10. Lavar em água corrente por 5 minutos.
11. Contra corar com Hematoxilina de Carazzi – por 5 minutos.
12. Lavar em água corrente por 3 minutos.
13. Desidratar em álcoois absolutos, três trocas de 1 minuto cada.
14. Xilol de diafanização.
15. Xilol de montagem.
16. Montagem em bálsamo.

	1 Cubeta	2 Cubetas	3 Cubetas	4 Cubetas
DAB	0,060 mg	0,090mg	0,120mg	0,150 mg
PBS (1 vez).....	100 ml	150 ml	200 ml	250 ml
DMSO	1 ml	1,5 ml	2 ml	2,5 ml
H ₂ O ₂	1 ml	1,5 ml	2 ml	2,5 ml

Observações:

01. DAB deverá ser feito muito próximo à hora de utilizar;
02. Deve-se filtrar (filtro duplo) a solução antes de acrescentar o DMSO e a água oxigenada.

TÉCNICA PERMANENT RED

01. Recuperação antigênica normal – vai depender de cada anticorpo;
02. Bloqueio da peroxidase;
03. Tampão PBS;
04. Anticorpo primário
05. “Anticorpo secundário” – Link do Kit número 1 (30 minutos na estufa);
06. “Anticorpo terciário” – AP Enzyme do kit número 2 (30 minutos na estufa);
07. Revelação por 5 minutos no PR;
08. Contra corar com hematoxilina de carazzi;
09. Montar em aquatex.

Observação: Não passar pelos álcoois!

Diluição para revelação

Frasco número 3 (Buffer) _____

100µl

Frasco número 4 (PR) _____ 1 µl

PROTOCOLO DE HIBRIDIZAÇÃO IN SITU – EBV

MATERIAIS

1 Proveta 500 ml	1 Becker de 1000 ml	Sonda
1 Proveta 50 ml	TBS	Kit da Hibridização
1 Becker 50 ml	Água Mille Q	
1 Cubeta de vidro	Álcool 99° e 95°	

1º Passo

Desparafinizar por 5 minutos – Duas vezes (Xilol NOVO!)

Álcool 99° por 3 minutos – Duas vezes

Álcool 95° por 3 minutos – Duas vezes

Lavagem em água Mille Q por 3 minutos – Duas vezes

2º Passo

Secar as lâminas e circular o tecido com a Dako pen

Diluir Proteinase K em TBS (1:10 – 10:90)

Adicionar Proteinase K nos tecidos

Incubar na bandeija por 25 minutos

Lavar em água Mille Q por 3 minutos – Duas vezes

Lavar em álcool 95° por 10 segundos

Secar as lâminas ao ar por 5 minutos

3º Passo

Adicionar 1 a 2 gotas de sonda PNA conjugada a fluorescência no tecido e cobrir com as lamínulas limpas e lavadas no álcool 99°

Colocar os filtros encharcados de água no hibridizador

Colocar as lâminas no hibridizador

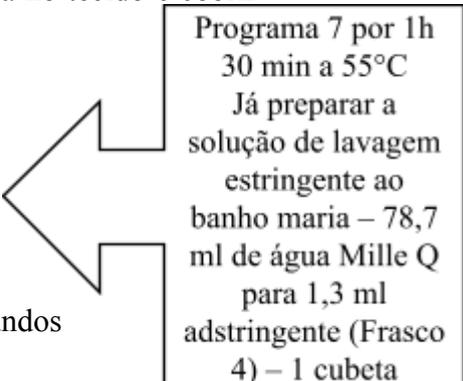
Colocar a cubeta com a solução estringente no banho maria para atingir 55° C

Após 1h 30 minutos colocar as lâminas no TBS para descolar as

Lamínulas – 5 minutos (Caso não saia, repetir o processo)

Colocar as lâminas na solução pré aquecida por 25 minutos

Colocar as lâminas em TBS na temperatura ambiente por 10 segundos



Programa 7 por 1h
30 min a 55°C
Já preparar a
solução de lavagem
estringente ao
banho maria – 78,7
ml de água Mille Q
para 1,3 ml
adstringente (Frasco
4) – 1 cubeta

4º Passo

Adicionar 2 a 3 gotas de anti-FIT/AP (Frasco 5) no corte e incubar por 30 minutos

Lavar as lâminas em TBS por 3 minutos – Duas vezes

Lavar em água Mille Q por 1 minuto – Duas vezes

Adicionar 2 a 3 gotas de substrato (Frasco 6) no tecido e incubar por 45 minutos

Lavar em água corrente rapidamente

Contra corar com hematoxilina de Carazzi por 10 segundos

Montar em aquatex

PROTOCOLO DUPLA IMUNOISTOQUÍMICA

01. Desparafinizar por 10 minutos – Duas vezes
02. Hidratar em série de álcoois decrescentes – 2 minutos cada
03. Recuperação antigênica (Depende do anticorpo)
04. PBS ou solução tampão
05. Bloqueio da peroxidase
06. PBS – duas trocas
07. Anticorpo primário por 30 minutos em temperatura ambiente
08. PBS – Duas trocas
09. Via 1 do secundário por 30 minutos em estufa a 36° C (Advance/LSAB)
10. PBS – Duas trocas
11. Via 2 do secundário por 30 minutos em estufa a 36°C (Advance/LSAB)
12. Revelação com DAB líquido
13. Lavagem em água corrente por 5 minutos
14. Lavagem com água destilada
15. PBS
16. Anticorpo primário número dois por 30 minutos em temperatura ambiente
17. PBS – Duas trocas
18. Via 1 do secundário do Permanent Red por 30 minutos em estufa a 36° C
19. PBS – Duas trocas
20. Via 2 do secundário do Permanent Red por 30 minutos em estufa a 36° C
21. PBS – Duas trocas
22. Revelar com Permanent Red (1:100 por 10 minutos)
23. Lavagem em água corrente por 5 minutos
24. Lavagem em água destilada
25. Contra corar com hematoxilina de Carazzi por 2 minutos
26. Diferenciar por 3 minutos
27. Montar em aquatex

Observação: Não passar pelos álcoois e xilol;

Montar em qualquer meio que não leve xilol.

PREPARO DE REAGENTES MAIS UTILIZADOS

1 - TAMPÃO CITRATO (ÁCIDO CÍTRICO) – pH 6.0:

Ácido cítrico 4,202 g
Água destilada 2000 ml
Acertar o pH para 6.0 com NaOH.

2 - SOLUÇÃO TRIS/EDTA – pH 9.0:

EDTA (peso molecular 372,2) 0,744g _____ 0,186 _____ 0,372
TRIS.....2,422 g _____ 0,6055 _____ 1,211
Água destilada 2000 ml _____ 500 ml _____ 1000ml
Acertar o pH em 9.0 com NaOH/ HCL.

3 - SOLUÇÃO TAMPÃO PBS 20 X (pH 7.2 – 7.6 = 7.4)

NaCl anidro 360 g
Fosfato de sódio dibásico 54,62 g
ou anidro Na₂ HPO₄ . 12 H₂O 71,62 g (132)
Fosfato de Sódio Monobásico..... 9,7 g (133)
Água destilada 2000 ml

01. Dissolver os sais na água, misturando bem a solução
02. Aquecer no MW a 50° C (médio) até que a solução fique totalmente homogenia e límpida (3 a 4 min). Esperar esfriar.
03. Acertar o pH com NaOH/ HCL.
04. Guardar em temperatura ambiente.

4 - SOLUÇÃO TAMPÃO PBS 1X – PARA USO (pH 7.4)

Solução PBS 20X 100 ml _____ 200 ml
Água destilada 1900 ml _____ 3800 ml

5 - HEMATOXILINA DE CARAZZI

Alumen de Potássio (221)	25g
(Sulfato de Alumínio e Potássio)	
Água destilada	400 ml
Hematoxilina (63)	1 g
Iodato de Potássio (145)	0,1 g
Glicerina pura	100 ml

01. Dissolver 25g de Alumen de Potássio em 350 ml na água destilada a quente (até 90°C);

02. Quando estiver tudo dissolvido, adicionar 1 g de Hematoxilina;

03. Em outro frasco dissolver 0.1 g de Iodato de Potássio em 50 ml de água destilada;

04. Quando a solução de Hematoxilina estiver fria, junta-se a solução de Iodato de Potássio e 100 ml de glicerina pura (na proveta de plástico);

05. Adicionar um comprimido de Permanganato de Potássio e deixar agitando até completa dissolução.

6 - FORMOL NEUTRO

Fosfato dibásico (132)	65g (em 2 litros)
Fosfato monobásico - ácido (133)	40 g (em 2 litros)
Dissolver em 2000 ml de água destilada. Completar com:	
Formol	1 litro
H2O destilada	q.s.p. 10000 (7000)

7 - ALBUMINA BOVINA – diluente do primeiro anticorpo e DUET.

PBS (1x).....	100ml
BSA	1 g
Dissolver até ficar límpido e estar pronto para o uso.	
Manter em geladeira 4° C.	

PREPARO DE REAGENTES ALTERNATIVOS

1 - TAMPÃO CITRATO (CITRATO DE SÓDIO) – pH 6.0:

Citrato de Sódio 2,94 g --- 5,880 g
Água destilada 1000 ml --- 2000 ml

2 - TAMPÃO EDTA – pH 8.0:

EDTA (peso molecular 372,2) 7,444 g
Água destilada 2000 ml

3 - TAMPÃO TRIS 1M

Trizma base 121,10 g
Água destilada 1000 ml

4 - TAMPÃO TRIS 0,1M – pH 9.5:

TRIS 1M 100 ml
Água destilada 800 ml
Acertar o pH para 9.5 e completar o volume para 1 litro.

5 - PROTEINASE K:

TE Buffer (50 mM TrisBase, 1mM EDTA, pH 8.0)
TRIS base..... 3,05 g
EDTA 0,185 g
Água destilada 500 ml

Proteinase K – Solução de estoque (20X, 400 µg/ml)
Proteinase K 250 ml
TE Buffer, pH 8.0 9,75 ml
Mistura bem e estocar - 20° C

Solução de trabalho:
Solução estoque 20X 1 ml
TE buffer pH 8.0 19 ml
Misturar bem. Estocar a 4° C por 1 mês.
Incubar com as lâminas a 37° C por 20 min.

6 - PEPSINA

Glicina 0,7507 g
Água destilada 100 ml
Acertar o pH para 2.2 com HCl
Pepsina 0,004 g
Solução de glicina/ HCl (já pronta)..... 100 ml
Colocar em uma cubeta e esperar atingir a temperatura de 37° C.
Incubar por 1 hora a 37° C

7- TRIPSINA

Tripsina.....100mg (0,1g)
PBS 1X.....100ml
Acertar o pH para 7.4 (CUIDADO: administrar apenas 1uL de NaOH – máx. 3uL)
Colocar a solução em cuba de vidro e levar à estufa até atingir 37°C.
Colocar as lâminas e deixar por 1h e 30min à 37°C

Observação: Preparar 3 horas antes para colocar na estufa e deixar atingir em 45°C.

RECORAÇÕES DAS LÂMINAS EM HE

01. Xilol por 10 min
02. Três banhos de álcoois absolutos – 2 minutos cada;
03. Álcool 70° por 2 minutos;
04. Álcool 50° por 2 minutos;
05. Água corrente – observar se saiu toda a eosina, caso não tenha saído, retornar aos banhos de álcoois.
06. Hematoxilina por 7 minutos;
07. Diferenciação em água corrente por 12 minutos;
08. Água destilada;
09. Álcool 80° por 2 minutos;
10. Eosina por 3 minutos;
11. Álcoois absolutos – rápidos;
12. Xilol Diafanização;
13. Xilol Montagem.

Observação: Procurar fazer sempre com álcoois novos, pois álcoois usados (bateria de coloração) normalmente mancha as lâminas.

VERMELHO CONGO

01. Desparafinizar por 5 minutos;
02. Desidratar nas soluções de álcoois;
03. Banho em água destilada;
04. Cobrir o tecido com a solução filtrada de vermelho congo por 1h 30min;
05. Lavar em água destilada;
06. Contra corar com hematoxilina de Mayer ou de carazzi por 5 a 2 minutos;
07. Lavar em água corrente por 25 minutos;
08. Desidratar em séries de álcoois absolutos;
09. Xilol diafanização;
10. Xilol montagem.

Indicação de uso: Amiloide

Resultado: Amiloide – rosa a vermelho  Polarizada – verde maçã
Núcleo – azul

TRICRÔMICO DE MASSON

01. Desparafinizar por 5 minutos;
02. Hidratar nas séries de álcoois decrescente;
03. Banho em água corrente;
04. Banho de água destilada;
05. Secar as lâminas;
06. Em um Becker fazer a junção dos reagentes A+B (10 gotas de reagente A e 10 gotas de reagente B) – 10 minutos;
07. Lavagem rápida;
08. Secar as lâminas;
09. Reagente C por 4 minutos;
10. Lavagem rápida;
11. Secar as Lâminas;
12. Reagente D por 5 minutos;
13. Secar as lâminas SEM lavar;
14. Reagente E por 5 minutos;
15. Água destilada;
16. Desidratar em séries de álcoois;
17. Xilol diafanização;
18. Xilol montagem

Resultados: Núcleos, gametas, citoplasma, ceratina – Preto
Fibras musculares e acidófilos – vermelho
Colágeno, Muco, grânulos basófilos da hipófise – azul
Grânulos das células delta da hipófise – azul

FONTANA MASSON

01. Desparafinizar por 5 minutos;
02. Desparafinizar por 5 minutos;
03. Hidratar em séries de álcoois decrescente;
04. Água destilada;
05. Colocar as lâminas na solução de trabalho de nitrato de prata por 1 hora à 37° C.
Checar as lâminas em 45 minutos e observar se o epitélio está castanho;
06. Esfriar por 5 minutos;
07. Lavar em 3 trocas de água destilada;
08. Colocar na solução de cloreto de ouro à 1% - rápido;
09. Lavar em água destilada;
10. Contra corar em eosina de Layson por 1 minuto;
11. Álcoois absolutos;
12. Xilol diafanização;
13. Xilol montagem.

Indicação: Evidenciar melanina.

Resultado: Melanina – preta

Tecido como todo – rosa

ALCIAN BLUE

01. Desparafinizar por 5 minutos;
02. Desparafinizar por 5 minutos;
03. Hidratar em série de álcoois decrescente;
04. Solução de Alcian Blue por 30 minutos;
05. Lavar em água corrente;
06. Fundo em hematoxilina por 1 minuto;
07. Lavar em água por 5 minutos;
08. Desidratar em série de álcoois absolutos;
09. Xilol diafanização;
10. Xilol montagem.

Indicação: Coloração de mucossacarídeos ácidos.

Resultado: Muco ácido – azul celeste.

Solução de Alcian

Alcian Blue	_____	1g
Ácido acético glacial	_____	3 ml
Água destilada	_____	97
		ml

DUPLA COLORAÇÃO – ALCIAN BLUE E PAS

01. Desparafinizar por 5 minutos;
02. Desparafinizar por 5 minutos;
03. Solução Alcian blue no micro-ondas por 45 segundos, potência máxima, ou em temperatura ambiente por 30 minutos;
04. Descansar por 5 minutos;
05. Lavar em água corrente por 5 minutos;
06. Lavar em água destilada;
07. Aplicar o reagente de Schiff em temperatura ambiente por 30 minutos;
08. Hematoxilina de Harris por 3 minutos;
09. Lavar em água corrente por 5 minutos;
10. Desidratar em série de álcoois absolutos;
11. Xilol diafanização;
12. Xilol montagem

Resultados: Mucossacarídeos ácidos – azuis
Polissacarídeos neutros – magenta
Mucopolissacarídeos mistos – arroxeados
Núcleos – rosa intenso

Ácido acético glacial 3%

Ácido acético glacial _____ 3
ml
Água destilada _____ 100
ml

Solução de Alcian Blue

Ácido acético glacial 3% _____
100ml
Alcian Blue 8GX _____
1g

Nuclear Fast red

Sulfato de alumínio _____
25g
Nuclear fast red _____
0,5 g
Água destilada _____
500 ml

Dissolver o sulfato de alumínio em água. Adicionar o nuclear fast red e dissolver com ajuda de calor. Filtre e adicione 1 cristal de timol. Solução estável por 1 anos.

ZIEHL – NEELSEN FITE

01. Desparafinizar por 5 minutos;
02. Desparafinizar por 5 minutos;
03. Hidratar em séries de álcoois decrescente;
04. Lavar em água destilada;
05. Secar as lâminas;
06. Reagente A por 5 minutos;
07. Lavar em água destilada;
08. Reagente B por 10 segundos;
09. Lavar em água destilada;
10. Secar as lâminas;
11. Reagente C por 3 minutos;
12. Lavar em água destilada;
13. Secar as lâminas e montar.

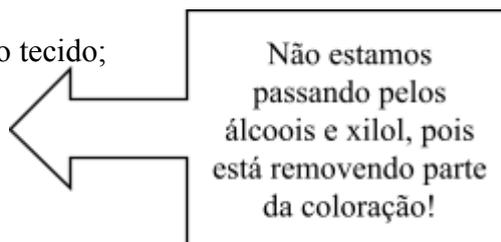
Observação: Não passa pelos álcoois pós coloração;
Não montar com bálsamo embebido em xilol.

Indicações: Para bactérias de acidificação rápida.

Resultado: Bactérias – vermelhas
Tecido como todo – azul.

GROCOTT

01. Desparafinizar por 5 minutos;
02. Desparafinizar por 5 minutos;
03. Hidratar em série de álcoois decrescente;
04. Lavar em água destilada;
05. Reagente A por 10 segundos;
06. Lavagem em água corrente por 3 minutos;
07. Lavagem em água destilada e secar o tecido;
08. Reagente B por 30 segundos;
09. Lavagem em água corrente;
10. Lavagem em água destilada e secar o tecido;
11. Fazer a junção dos reagentes C+D+E em um recipiente termo resistente com tampa e deixar agir por 40 minutos à 1 hora em estufa (70°C) – retirar da estufa assim que o corte estiver caramelo;
12. Lavagem em água destilada e secar o tecido;
13. Reagente F por 1 minuto;
14. Lavagem em água corrente;
15. Lavagem em água destilada e secar o tecido;
16. Reagente G por 1 minuto;
17. Lavagem em água corrente;
18. Lavagem em água destilada e secar o tecido;
19. Série de álcoois absolutos;
20. Xilol diafanização;
21. Xilol montagem.



Observação: Sempre manipular as lâminas com pinça parafinizada nas pontas ou com pinças de plásticos;
Coloração caramelo é puxando para o marrom.

Indicações: Fungos.

Resultados: Fungos – Pretos
Mucinas – Verde escuro
Fundo – Verde

COMO FAZER TMA

01. Fazer HE
02. Localizar a área no HE que você quer aproveitar
03. Cortar o bloco com o push na área selecionada no HE
04. Inserir um de cada vez com cuidado no bloco de TMA
05. Caso fique ultrapassando excesso de parafina por trás do bloco, tirar todo o excesso com a navalha
06. Sempre colocar nas extremidades outro tipo de lesão, a qual a histologia seja típica para se localizar
07. Montar o mapa sempre

Observação: Fazer casos duplicados, triplicados ou quadruplicados.