



«A Importância da Fase Pré-Analítica no Laboratório»

Teresa Matos – Técnica de Análises Clínicas e Saúde Pública, Laboratório de Urgência, Serviço de Patologia Clínica, CHLN.

Revisão: Bela Cristina Ferreira – Técnica Coordenadora dos TACSP no CHLN.

A missão assistencial do Serviço de Patologia Clínica é fornecer com qualidade e em tempo útil os meios complementares de diagnóstico na área da patologia clínica, a todas as populações que recorrem ao Centro Hospitalar Lisboa Norte e outras instituições que solicitem os seus serviços.¹

Com os notáveis avanços na tecnologia dos instrumentos, na automatização e nos sistemas informáticos laboratoriais, o trabalho do laboratório clínico tem sido verdadeiramente simplificado. Esta evolução tecnológica e informática tem permitido uma significativa melhoria na qualidade de execução dos testes laboratoriais assim como uma diminuição no tempo de resposta, o que tem levado a um aumento significativo na prescrição de exames laboratoriais.²

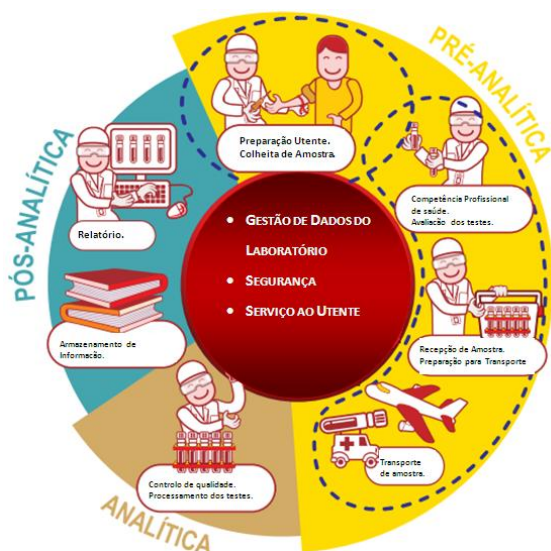


Diagrama 1: Circuito Laboratorial – Fases Pré-Analítica, Analítica e Pós-Analítica do Laboratório Clínico. Adaptado de⁵

O laboratório clínico utiliza diferentes métodos para a redução de erros, como a utilização de procedimentos de controlo de qualidade interno e externo, a implementação de sistemas de gestão da qualidade e a sua respectiva regulação através de normas de certificação, garantindo assim a segurança do utente e aumentando a qualidade analítica dos resultados. Contudo, a evolução da tecnologia tem garantido com sucesso a diminuição dos erros maioritariamente na fase analítica do circuito laboratorial, mascarando desta forma a importância das fases pré- e pós-analítica.^{2,3,4}

A fase pré-analítica é iniciada com a requisição de testes laboratoriais, efectuada pelo médico, seguindo-se a preparação do utente, a colheita da amostra primária e sua identificação, o transporte e conservação da amostra até à recepção do laboratório, a confirmação da requisição com a amostra e posterior integração, a triagem desta já no laboratório e a preparação para posterior processamento analítico.⁶

De acordo com alguns estudos, estima-se que erros na fase pré-analítica são a causa de 46 a 68,2%, da totalidade dos erros que ocorrem no laboratório clínico. As principais causas destes erros devem-se a:^{2,7,8,9,10,11}

- amostra com identificação incorrecta ou ausente;
- amostra e/ou teste inexistente;
- amostra hemolisada;
- amostra coagulada;
- contentor ou tubo de colheita incorrecto;
- contaminação por via de infusão;
- incorrecto rácio entre amostra/anticoagulante;
- agitação insuficiente da amostra;
- amostra insuficiente;
- condições inapropriadas de transporte ou conservação;
- condições inapropriadas de centrifugação.

É possível distinguir os erros da fase pré-analítica em dois grupos:^{9,10}

1) problemas na identificação da amostra;

2) problemas com a amostra;

1) A correcta identificação da amostra é fundamental durante este processo pois este é o único elo de ligação entre o utente e a requisição de parâmetros analíticos prescrita pelo médico. Os erros mais frequentes neste tipo de problema devem-se a:⁹

- amostra entregue ao laboratório sem identificação;
- amostra com identificação não coincidente com a prescrição efectuada pelo médico;
- identificação deficiente com menos de dois dados relativos ao utente;
- amostra suspeita de erro na identificação ou seja, troca de utentes.

A consequência do processamento de uma amostra com problemas na identificação é a possibilidade de alocar um resultado ao utente errado, o que pode levar a diagnósticos ou tratamentos desadequados, a carência de tratamento, ou à morte de um utente.^{4,9}

2) Um problema com a amostra deve-se à não conformidade das condições adequadas ao seu processamento analítico. Se este tipo de amostra for analisado, o seu resultado pode ser comprometido e representar de forma pouco precisa as condições de saúde do utente, induzindo em erro o médico prescriptor durante o diagnóstico ou tratamento. Este tipo de problemas deve-se usualmente a variáveis pré-analíticas como:^{9,10}

- preparação do utente;
- colheita da amostra primária;
- transporte da amostra;
- preparação da amostra para processamento analítico;
- conservação da amostra.

As questões pré-analíticas nunca devem ser definidas por indivíduos isoladamente pois requerem a cooperação de assistentes operacionais, assistentes técnicos, enfermeiros, médicos e técnicos de análises clínicas, envolvidos por completo no seu processo.

O Serviço de Patologia Clínica e o Serviço de Imunohemoterapia têm ao dispor dos colaboradores do CHLN o Manual de Colheitas, disponível na intranet, onde é possível verificar as normas gerais de colheita de vários produtos biológicos, tal como o nome de todos os parâmetros analíticos disponíveis no SPC, tempo de resposta, amostra e material de colheita, estabilidade transporte e conservação.

Para aceder ao Manual de Colheitas do SPC na Intranet do CHLN:
Centro Hospitalar > Estrutura Organizacional > Acção Médica > Departamento de MCDT's > Serviço de Patologia Clínica > Manual de Colheitas 3ª Edição Fevereiro 2011 + Adenda de Julho de 2012.

Mais informações e consulta da lista de abreviaturas e referências bibliográficas, no Anexo I, através do [link](#).



«O contributo da Anatomia Patológica para o rastreio do Cancro do Colo do Útero»

Bela Fernandes¹, Carina Baldino², Filipe Soares¹, Gonçalo Borrecho², Helga Matos², Joana Sérgio², Helena Simões², Lúcia Carrão¹, Luís Martins², Mara Santos², Pedro Rodrigues², Sónia Perdigão², Ulisses Nunes¹, Vanessa Martinho¹ – Técnicos de Anatomia Patológica, Serviço de Anatomia Patológica Centro Hospitalar Lisboa Norte, EPE. Maria Manuela Bordalo - Técnica Coordenadora do Serviço de Anatomia Patológica Centro Hospitalar Lisboa Norte, EPE.

¹Hospital de Pulido Valente

²Hospital de Santa Maria

O cancro do colo do útero (CCU) é uma das neoplasias mais prevalentes no mundo, sendo observados 500 mil novos casos anuais. A principal causa desta patologia deve-se à presença persistente do vírus do papiloma humano (HPV), existindo vários tipos e subtipos de HPV, cuja classificação é baseada de acordo com o risco de desenvolvimento de CCU.

O rastreio do CCU, constitui assim uma ferramenta de extrema importância na prevenção e no diagnóstico de lesões do colo do útero sendo muito utilizado na maioria dos países desenvolvidos. Em Portugal é dirigido a mulheres dos 25 aos 65 anos inscritas nos Centros de Saúde.

A Anatomia Patológica tem uma importância central no rastreio do CCU, contribuindo a sua intervenção através das valências de Citologia, Histologia, Imunohistoquímica e Biologia Molecular. No presente artigo estas áreas serão abordadas tendo por base um caso clínico de uma paciente do Centro Hospitalar Lisboa Norte (CHLN).

O CHLN foi desde sempre um centro hospitalar aberto à comunidade. Seguindo essa orientação, existe um acordo com a Administração Regional de Saúde de Lisboa e Vale do Tejo para a análise de citologias ginecológicas efectuadas nas Unidade de Saúde Familiar (USF) da sua área de abrangência.

Citologia

A colheita da citologia ginecológica é realizada em consultas nos Centros de Saúde e enviada para os Serviços de Anatomia Patológica (SAP) do CHLN. Compete ao técnico de Anatomia Patológica, com formação específica em citopatologia, efectuar o processamento técnico e o 1º *screening* (visualização das lâminas ao microscópio). Durante esta fase as amostras são classificadas em diferentes categorias obedecendo a classificação de Bethesda 2001 para relatórios de citologia Ginecológica.

Todas as citologias com alterações celulares são encaminhadas para o médico Anátomo-Patologista, cabendo a este o diagnóstico final. 10% das citologias sem alterações são reavaliadas pelo médico para controlo de qualidade.

Caso clínico:

Uma paciente de 35 anos, sem queixas fez uma citologia no rastreio, a qual foi recebida no SAP do Hospital Pulido Valente (CHLN-HPV), um caso proveniente da USF Ramada Lisboa, que consistia num esfregaço em lâmina de vidro. A citologia foi registada e processada para ser realizado o *screening*. Durante a observação ao microscópio foram identificadas alterações significativas das células do colo do útero.

A infecção por vírus do papiloma humano induz nas células um efeito citopático viral muito característico, o coilocito (Fig. 1). A coilocitose consiste em nucleomegalia e hiper cromasia (aumento do tamanho do núcleo e intensidade da coloração do mesmo), ao mesmo tempo que se torna evidente uma cavidade à volta do núcleo da célula.

Foram também observadas alterações mais graves, que consistiam em células com nucleomegalia, hiper cromasia marcada e núcleo de contornos muito irregulares. Estas alterações são compatíveis com uma lesão intra-epitelial de alto grau (HSIL).

O resultado foi confirmado pelo médico Anátomo- Patologista.

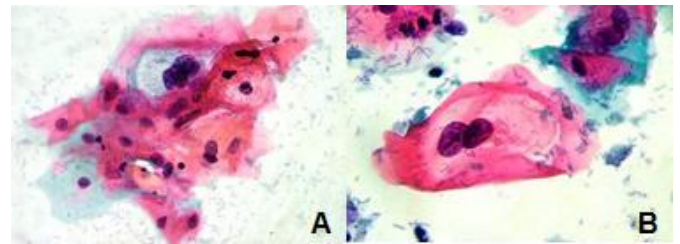


Fig. 1- Observação de coilocitos a ampliação 400x (A) e 1000x (B), fonte¹⁰.

Posteriormente a doente foi encaminhada para a consulta de ginecologia no Hospital de Santa Maria (CHLN-HSM), onde se procedeu a uma nova citologia em meio líquido e a uma biopsia do colo. No *screening* efectuado no SAP do CHLN-HSM observaram-se células com alterações idênticas às descritas anteriormente, confirmando-se a HSIL da primeira citologia (Fig 2).

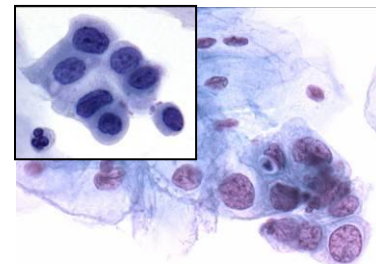


Fig. 2- HSIL, detalhes de anisocitose e membranas nucleares irregulares. PAP 1000x, fonte⁹.

Na biopsia foi confirmado o diagnóstico citológico (Fig.3). Posteriormente efectuou uma conização (Fig. 4). Nesta foram confirmados os diagnósticos feitos inicialmente pela citologia e na biopsia.

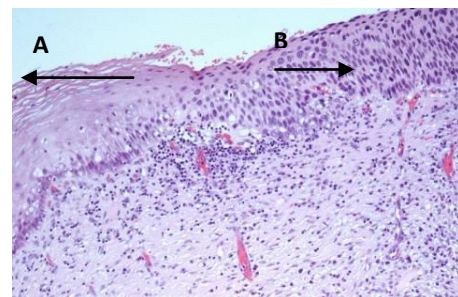


Fig. 3- A- Epitélio pavimentoso estratificado sem lesão à esquerda. B- Neoplasia intraepitelial (CIN) à direita. HE 100X, fonte*

Macroscopia

Quando no rastreio do CCU é diagnosticada uma HSIL, numa paciente ainda jovem, o que está preconizado é a realização de colposcopia para realização de biópsia do endocervix ou eventual remoção cirúrgica do cone cervical (conização).

Em alguns casos, a histologia revela que as margens da peça de conização não estão livres de lesão, podendo até observar-se carcinomas microinvasivos. Dependendo da idade e do contexto clínico poderá proceder-se à histerectomia total. As peças de conização cervical e da histerectomia total são assim enviadas para o SAP, local onde são submetidas a um processamento histológico o que possibilitará o diagnóstico final.



Fig. 4- Peça de conização cervical recebida em formol no serviço de Anatomia Patológica, fonte⁹.

Histopatologia

Após a observação macroscópica, o Anátomo-Patologista ou o Técnico com formação em macroscopia procede à colheita de fragmentos representativos da lesão a analisar. Para ser viável a observação microscópica dos tecidos e células que constituem o fragmento em análise, é necessária a aplicação de alguns procedimentos, os quais, se designam de Técnica Histológica.

Imunohistoquímica no Cancro do Colo do Útero

A Imunohistoquímica é o nome dado ao conjunto de técnicas que utilizam anticorpos para identificação de estruturas tecidulares, que funcionam como antigénios *in situ*.

A sobre-expressão do gene que codifica a proteína P16, está ligada ao início da transformação oncogénica causada pela infecção persistente por HPV de alto risco, necessária para o desenvolvimento dos tumores cervicais e das suas lesões precursoras. O produto desta sobre-expressão, resulta na produção da proteína P16, que se torna evidente pelo estudo Imunohistoquímico.

No caso clínico apresentado, a marcação imunohistoquímica foi sugestiva de infecção por HPV de alto risco ou risco intermédio (Fig.5).

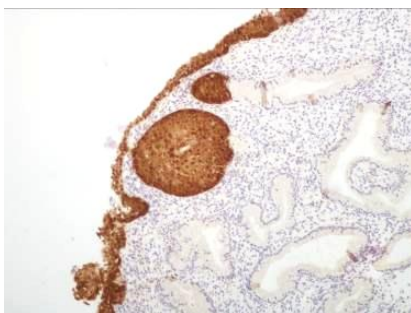


Fig. 5- Biópsia do colo uterino evidenciando marcação imunohistoquímica difusa e intensa (nuclear e citoplasmática) para proteína P16, 100X, fonte⁹.

Técnicas de Biologia Molecular para detecção de HPV.

As técnicas e métodos de Biologia Molecular utilizados no SAP para detecção e identificação dos diferentes tipos de HPV, são as técnicas de amplificação de DNA por reacção em cadeia da polimerase em tempo real (PCR-RT) e as técnicas de hibridação *in situ* cromogénica (CISH).

Relativamente à técnica de amplificação de DNA por PCR-RT, esta é realizada pelo método cobas[®] 4800, em amostras de citologia preservadas em meio líquido. Esta técnica permite a detecção de 14 tipos de alto risco e ainda a genotipagem dos tipos 16 e 18, distinguindo-os dos restantes tipos de alto risco.

Quanto às técnicas de CISH, estas são realizadas com diversas sondas que podem identificar um ou mais subtipos virais de HPV. Os subtipos virais de baixo e alto risco, podem ser observados nos núcleos das células infectadas, apresentando dois tipos de marcação distinta, núcleos marcados na totalidade (estado viral episomal) ou marcação punctiforme (genoma viral integrado no genoma humano) (Fig. 6).

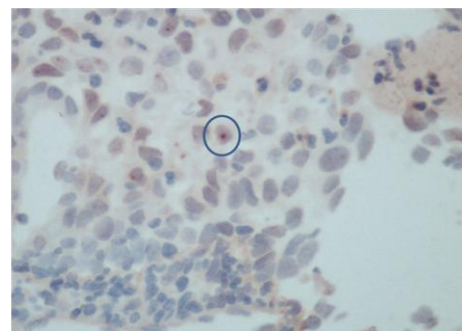


Fig. 6- CISH, em biópsia do colo uterino, evidenciando positividade para HPV de alto risco, 400X, fonte⁹.

Na imagem, correspondente ao caso clínico, observam-se vários núcleos positivos para a presença de HPV de alto risco (subtipo 16), estando o núcleo mais evidente circunscrito pela circunferência azul.

A marcação punctiforme, resulta da integração do genoma viral no genoma humano.

Conclusão

Os profissionais de Anatomia, contribuem de forma bastante significativa no rastreio do CCU, exercendo as suas actividades profissionais em áreas diferenciadas, tendo todas um papel relevante. As valências abordadas foram acompanhadas com a apresentação em paralelo de um caso clínico, com o objectivo de clarificar o percurso das pacientes durante o rastreio do CCU e que técnicas, e respectivas interpretações, são realizadas nestes diferentes momentos, no SAP.

O contributo do Serviço de Anatomia Patológica não se esgota na prevenção e diagnóstico do CCU, mas intervém também na orientação terapêutica e identificação de risco relativos a vários tipos de patologia.

Leitura integral do artigo e referências bibliográficas, no Suplemento I, através do [link](#).