



PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS PADRÃO DO NÚCLEO DE ANATOMIA PATOLÓGICA - NAPAT

POP NAPAT LAB IMF 002 TÉCNICA DE IMUNOFLOURESCÊNCIA



POP NAPAT LAB IMF 002 - PÁG.: 1/6 EMISSÃO: 24/02/2022 REVISÃO Nº :

1. OBJETIVO:

Utilização de técnicas imunoenzimáticas para observação de tecido em microscópio de luz (UV) para identificação das características moleculares de certas patologias.

2. ABRANGÊNCIA:

Equipe Técnica do Laboratório de imunofluorescência.

3. MATERIAL E DOCUMENTOS NECESSÁRIOS:

3.1. Equipamento de Proteção Individual (EPI): avental descartável, luvas de procedimento, máscara descartável PFF2 dotada de filtro de carvão ativo e óculos de proteção.

3.2. Materiais Específicos para o Procedimento: sais, reagentes, livro de registro, pinça, papel alumínio, vidraria, microtubo de 2ml, lâmina de vidro, lamínula e vidro, água destilada, navalha descartável, papel-filtro, etiqueta adesiva, bancada rígida, equipamento para corte das amostras, estufa, geladeira, balança de precisão e microscópio de luz (UV), microcomputador e impressora para etiqueta.

4. PROCEDIMENTOS:

4.1. Realizar a higienização das mãos com água e sabão antisséptico (mínimo 30 segundos) ou álcool em gel (mínimo 15 segundos);

4.2. Vestir o avental, colocar a máscara descartável PFF2 dotada de filtro de carvão ativo e óculos de proteção e calçar as luvas;

4.3. Receber o tecido para exame, que deve estar acondicionado em frasco com solução apropriada para sua conservação (meio de Michel) ou em soro fisiológico;

4.4. Registrar o exame no livro de registro e identificar o frasco onde está acondicionado o tecido com a numeração interna do laboratório;

4.5. Manter o frasco onde está acondicionado o tecido, em geladeira até o momento de realização do exame. OBS: Pode ser mantido em geladeira, desde que o tecido esteja acondicionado em meio de Michel, por até 07 dias. Se estiver em soro fisiológico, pode permanecer no máximo por até vinte e quatro horas;

4.6. Retirar o tecido acondicionado em solução, com o auxílio de uma pinça de ponta fina;

Aprovação: Diretor do Serviço / Gerência de Diretor do Núcleo: Dr. Marcelo Padovani de Toledo Moraes e Adriana de Fátima Souza Gonçalves

Assessoria do Núcleo de Gestão da Qualidade | Aprovação CCIRAS / Sesmt / Núcleo de Higienização: Prof. Assoc. Carlos Magno C. B. Fortaleza / Eng.º Fabio Suraci Picchiotti / En.ª Juliana da Silva Barbosa



PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS PADRÃO DO NÚCLEO DE ANATOMIA PATOLÓGICA - NAPAT

POP NAPAT LAB IMF 002 TÉCNICA DE IMUNOFLOURESCÊNCIA



POP NAPAT LAB IMF 002 - PÁG.: 2/6 EMISSÃO: 24/02/2022 REVISÃO Nº :

4.7. Colocar o tecido em frasco apropriado contendo 20 ml de solução salina tamponada em temperatura ambiente, por 15 minutos;

4.8. Retirar o tecido submerso em solução salina tamponada com o auxílio de uma pinça e, colocar o tecido sobre uma folha de papel-filtro para absorção do excesso do líquido;

4.9. Identificar a lâmina de vidro onde será aderido o tecido com o número do exame do paciente;

4.10. Seguir com a técnica para cortes congelados conforme POP NAPAT HISTO 002 – Congelação;

4.11. Colocar a lâmina de vidro (onde está aderido o tecido) em frasco apropriado contendo 20ml de acetona P.A, por 5 minutos em temperatura ambiente (processo de fixação);

4.12. Transferir a lâmina para um frasco apropriado contendo 20 ml de solução salina tamponada em temperatura ambiente, por 5 minutos (processo de lavagem);

4.13. Banhar a lâmina em água destilada e secar em papel-filtro;

4.14. Delimitar o tecido aderido à lâmina de vidro com um fino traço, utilizando esmalte de unha;

4.15. Deixar ao ar do ambiente para secar;

4.16. Micropipetar o reagente pré-diluído que será colocado sobre o tecido, de acordo com a solicitação de exame determinado pelo médico patologista;

4.17. Incubar em câmara úmida por 45 minutos em temperatura ambiente;

4.18. Lavar 3 vezes em solução salina tamponada em temperatura ambiente, por 5 minutos cada;

4.19. Enxugar a lâmina em papel-filtro;

4.20. Colocar lamínula sobre a lâmina, utilizando glicerina tamponada com azul de evans 0,1% (processo de montagem);

4.21. Rotular a lâmina com a etiqueta de identificação do exame do paciente;

4.22. Entregar ao médico patologista para observação em microscópio de luz (UV) e finalização diagnóstica;

4.23. Retirar as luvas e avental descartável, descartar em lixo branco;

4.24. Realizar higienização das mãos com água e sabão antisséptico (mínimo 30 segundos) ou álcool gel (mínimo 15 segundos);



PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS PADRÃO DO NÚCLEO DE ANATOMIA PATOLÓGICA - NAPAT

POP NAPAT LAB IMF 002 TÉCNICA DE IMUNOFLUORESCÊNCIA



POP NAPAT LAB IMF 002 - PÁG.: 3/6 EMISSÃO: 24/02/2022 REVISÃO Nº :

4.25. Retirar o respirador descartável PFF2 dotado de camada de carvão ativado, sem válvula e os óculos de segurança;

4.26. Seguir com a higienização dos óculos, conforme a orientação do Serviço Especializado em Engenharia de Segurança e em Medicina do Trabalho (SESMT);

4.27. Realizar higienização das mãos com água e sabão antisséptico (mínimo 30 segundos) ou álcool gel (mínimo 15 segundos).

→ PREPARO DAS SOLUÇÕES E REAGENTES

● Meio de Michel

- Tampão para diluição do Sulfato de Amônia (200ml)

- Citrato de Sódio (1M) Pm.330.....1,65g para 5ml de H₂O destilada
- Sulfato de Magnésio (0,1M) Pm.372.....0,372g para 10ml de H₂O destilada
- N-Etilmaleimida (0,1M) Pm.125,13.....0,125g para 10ml de H₂O destilada
- Ajustar o volume para 200ml de H₂O destilada e ajustar o pH em 7,0 com KOH (1M)
- Diluir 55g de Sulfato de Amônia para cada 100ml do tampão acima.

● Solução Salina Tamponada pH7,2

- Cloreto de Sódio.....8,17g
- Fosfato de Sódio Monobásico Anidro.....0,36g
- Fosfato de Sódio Dibásico1,05g
- Água Destilada q.s.p.....1,00L

● Solução Azul de Evans 0,1%

- Corante Azul de Evans0,1g em 100ml de Solução Salina Tamponada

Aprovação: Diretor do Serviço / Gerência de Diretor do Núcleo: Dr. Marcelo Padovani de Toledo Moraes e Adriana de Fátima Souza Gonçalves

Assessoria do Núcleo de Gestão da Qualidade | Aprovação CCIRAS / Sesmt / Núcleo de Higienização: Prof. Assoc. Carlos Magno C. B. Fortaleza / Eng.º Fabio Suraci Picchiotti / En.ª Juliana da Silva Barbosa



PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS PADRÃO DO NÚCLEO DE ANATOMIA PATOLÓGICA - NAPAT

POP NAPAT LAB IMF 002 TÉCNICA DE IMUNOFLOURESCÊNCIA



POP NAPAT LAB IMF 002 - PÁG.: 4/6 EMISSÃO: 24/02/2022 REVISÃO Nº :

• Anticorpos (FITC)

- Anti-Humano IgTotal.....1:60
- Anti-Humano C1q.....1:20
- Anti-Humano IgG.....1:40
- Anti-Humano IgA.....1:20
- Anti-Humano C3.....1:20
- Anti-Humano Fibrinogênio.....1:20
- Anti-Humano IgM.....1:20
- Anti-Humano Kappa.....1:20
- Anti-Humano Lambda.....1:20

x Diluente utilizado Solução Salina

5. CONTINGÊNCIAS:

Não é possível a realização do exame, sem que o tecido tenha sido acondicionado apropriadamente em frasco com solução para sua conservação (meio de Michel ou em soro fisiológico); fixadores como formol, dentre outros, inviabilizam a realização do exame.

6. OBSERVAÇÕES:

6.1. Após a colheita do tecido, este deve ser encaminhado o mais rápido possível ao Laboratório de Imunofluorescência, acondicionado conforme descrito.

6.2. Os óculos de segurança devem ser lavados com água e sabão neutro e secado com papel macio e, apenas em casos de procedimentos de assistência com pacientes de isolamento e/ou projeção de secreções e líquidos biológicos, após a secagem, deve ser utilizado álcool 70° ou de quaternário de amônia. Em ambos os casos, após a lavagem, evitar friccionar o papel para secagem nas lentes, de maneira a prevenir riscos.

6.3. Retirar os óculos de segurança, SOMENTE, ao término de todo procedimento, inclusive descarte e lavagem de materiais utilizados, devendo este ser higienizado separadamente.

Aprovação: Diretor do Serviço / Gerência de Diretor do Núcleo: Dr. Marcelo Padovani de Toledo Moraes e Adriana de Fátima Souza Gonçalves

Assessoria do Núcleo de Gestão da Qualidade | Aprovação CCIRAS / Sesmt / Núcleo de Higienização: Prof. Assoc. Carlos Magno C. B. Fortaleza / Eng.º Fabio Suraci Picchiotti / En.ª Juliana da Silva Barbosa



PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS PADRÃO DO NÚCLEO DE ANATOMIA PATOLÓGICA - NAPAT

POP NAPAT LAB IMF 002 TÉCNICA DE IMUNOFLOURESCÊNCIA



POP NAPAT LAB IMF 002 - PÁG.: 5/6 EMISSÃO: 24/02/2022 REVISÃO Nº :

7. AUTORES E REVISORES

7.1. Autores / Colaboradores – Claudinei Jurandir Figueira; Marcos Roberto Franchi

7.2. Revisores – Claudinei Jurandir Figueira e Marcos Roberto Franchi.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- Morrison, L.H. when to request immunofluorescence: practical hints. Sem Cut Med Sug, v.18, n.1, p.36-42, 1999.

- Crowson, N. A. & Magro, C. The Cutaneous pathology of lupus erythematosus: a review. J Cutan Pathol, v. 28, p. 1-23, 2001.

- Mutasim, D. F. & Adams, B. B. Immuno-fluorescence in dermatology. J Am Acad Dermatol, v.45, n.6, p.803-22, 2001.

- BRASIL Ministério do Trabalho e Emprego. Norma Regulamentadora nº 32 (Segurança e Saúde no Trabalho em Estabelecimentos de Saúde). Portaria MTB 3.214 de 08 de junho de 1978.



PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS PADRÃO DO NÚCLEO DE ANATOMIA PATOLÓGICA - NAPAT

POP NAPAT LAB IMF 002 TÉCNICA DE IMUNOFLORESCÊNCIA



POP NAPAT LAB IMF 002 - PÁG.: 6/6 EMISSÃO: 24/02/2022 REVISÃO Nº :

9. TERMO DE AUTORIZAÇÃO DE DIVULGAÇÃO ELETRÔNICA E APROVAÇÃO DE DOCUMENTO

	HOSPITAL DAS CLÍNICAS FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU NÚCLEO DE GESTÃO DA QUALIDADE Av. Professor Mário Rubens Guimarães Montenegro, s/n CEP 18618-687 - Botucatu - São Paulo - Brasil Tel. (14) 3811-6218 (14) 3811-6219 - E-mail: qualidade.hcfmb@unesp.br	
TERMO DE AUTORIZAÇÃO DE DIVULGAÇÃO ELETRÔNICA E APROVAÇÃO DE DOCUMENTO		
1. IDENTIFICAÇÃO DO DOCUMENTO		
1.1. Título: POP NAPAT LAB IMF 002 – TÉCNICA DE IMUNOFLORESCÊNCIA		
1.2. Área Responsável: NÚCLEO DE ANATOMIA PATOLOGIA – NAPAT		
1.3. Data da Elaboração: 24/02/2022 – Total de páginas: 06 Data da Revisão: ___/___/___ Número da Revisão: ___		
1.4. Autorização de Divulgação Eletrônica do Documento e Consentimento de Exposição de dados (nome completo e número de registro profissional) durante a vigência do documento: Eu, como autor e/ou revisor do documento citado, aprovo e autorizo a divulgação eletrônica do mesmo:		
NOME	SETOR	ASSINATURA
Claudinei Jurandir Figueira	Núcleo de Anatomia Patológica – NAPAT	
Marcos Roberto Franchi.	Núcleo de Anatomia Patológica – NAPAT	
2. DECLARAÇÃO DE CIÊNCIA, APROVAÇÃO DE DOCUMENTO E CONSENTIMENTO DE EXPOSIÇÃO DO NOME COMPLETO (DURANTE O PERÍODO DE VIGÊNCIA DO DOCUMENTO):		
Declaro que estou ciente e aprovo o conteúdo do documento: POP NAPAT LAB IMF 002 – TÉCNICA DE IMUNOFLORESCÊNCIA		
Também autorizo a exposição do meu nome completo.		
Data: 24/02/2022	Nome Completo Diretor: Dr. Marcelo Padovani de Toledo Morais	
	Assinatura:	
Elaboração: En ^h Juliana S. Oliveira, Tatiane Blazon Rossi Benvenuto, En ^h Cristiane R. Fortaleza		Aprovação Superintendência e Chefe de Gabinete do HC: Prof. Adj. André Luis Balbi e Prof. Dr. José Carlos Trindade Filho.

Aprovação: Diretor do Serviço / Gerência de Diretor do Núcleo: Dr. Marcelo Padovani de Toledo Morais e Adriana de Fátima Souza Gonçalves

Assessoria do Núcleo de Gestão da Qualidade | Aprovação CCIRAS / Sesmt / Núcleo de Higienização: Prof. Assoc. Carlos Magno C. B. Fortaleza / Eng.º Fabio Suraci Picchiotti / En.ª Juliana da Silva Barbosa