



MINISTERUL TRANSPORTURILOR ȘI INFRASTRUCTURII  
SPITALUL CLINIC CĂI FERATE IAȘI

Iași, Cod 700506, Str. Garabet Ibrăileanu, Nr. 1, C.I.F.: 4981239, E-mail: spitalcfiasi@yahoo.com  
Tel.: 0232/216422 Secretariat Tel./Fax: 0232/264013 Web: www.spitaluniversitarcfiasi.ro

# OBȚINEREA PREPARATULUI HISTOPATOLOGIC COLORAT ÎN VEDEREA STABILIRII DIAGNOSTICULUI ANATOMOPATOLOGIC

## PO-AP-04

### NOTĂ:

Acest document este proprietatea intelectuală a Spitalului Clinic Căi Ferate Iași.

Reproducerea integrală sau parțială a acestui document este permisă numai cu acordul prealabil scris și înregistrat al managerului spitalului.

Constituie abatere disciplinara necunoașterea și/sau neaplicarea întocmai a cerințelor prezentului document.

Aceasta abatere va fi sancționată conform art. 247, 248 și art. 250-252 din Codul Muncii, actualizat.

### Revizie

Revizia acestui document se face ținând cont de rezultatele implementării indicatorilor de monitorizare de structura, proces, rezultatelor obținute, modificări legislative, modificări de circuite, reorganizări interne, etc.

Revizia nu este obligatorie decât dacă se îndeplinesc cel puțin unul dintre criteriile sus menționate.



SPITALUL CLINIC  
CĂI FERATE IAȘI

OBȚINEREA PREPARATULUI  
HISTOPATOLOGIC COLORAT ÎN  
VEDEREA STABILIRII DIAGNOSTICULUI  
ANATOMOPATOLOGIC

Cod: PO-AP-04

Ed.: 1

Rev.: 0

Pag.: 1 / 11

Situația edițiilor și a reviziilor în cadrul edițiilor procedurii

Nr crt	Ediția/ revizia în cadrul ediției	Componenta revizuită	Modalitatea reviziei	Data la care se aplică prevederile ediției sau reviziei ediției
1	1/0	-integral	-schimbare machetă, grupare proceduri, schimbare denumire	03.07.2022

Lista responsabililor cu elaborarea, verificarea și aprobarea ediției sau, după caz, a reviziei în cadrul ediției procedurii

Nr crt.	Elaborat / verificat / avizat / aprobat	Nume și prenume	Funcția	Semnătura	Data
1	Elaborat	Dr. Mirela Grigorovici	Coordonator Serviciul de Anatomie Patologică și Prosectură		07.07.2022
2	Verificat	Dr. Emilia Solomon	Director medical		11.07.2022
3	Avizat juridic	Petru Manița	Avocat		20.07.2022
4	Avizat	Dr. Stela-Maria Leonte	RMC		21.07.2022
4	Avizat	Dr. Izabela Frunză	Membriu Comisie monitorizare		25.07.2022
5	Aprobat	Dr. Mihai Glod	Manager		29.07.2022

Exemplar nr: 2





SPITALUL CLINIC  
CĂI FERATE IAȘI

OBȚINEREA PREPARATULUI  
HISTOPATOLOGIC COLORAT ÎN  
VEDEREA STABILIRII DIAGNOSTICULUI  
ANATOMOPATOLOGIC

Cod: PO-AP-04

Ed.: 1

Rev.: 0

Pag.: 2 / 11

CUPRINS

1. Scop.....	3
2. Domeniul de aplicare.....	3
3. Documente de referință.....	3
4. Definiții și abrevieri .....	3
5. Descrierea procedurii	
5.1. Principii generale de tehnică histopatologică...4	
5.2. Organizarea locului de muncă – dotări, pregătirea materialelor.....	4
5.3. Prelucrarea histopatologică .....	6
5.4. Includerea la parafină .....	6
5.5. Secționarea la microtom a prelevatului inclus la parafină .....	7
5.6. Etalarea secțiunilor pe lama histologică.....	7
5.7. Colorarea lamelor histologice cu secțiuni etalate.....	10
5.8. Montarea lamelor.....	10
5.9. Reorganizarea locului de muncă .....	10
6. Responsabilități.....	10
7. Evidențe și înregistrări.....	11
8. Anexe.....	11
9. Difuzare.....	11
10. Indicatori de monitorizare.....	11



SPITALUL CLINIC  
CĂI FERATE IAȘI

# OBȚINEREA PREPARATULUI HISTOPATOLOGIC COLORAT ÎN VEDEREA STABILIRII DIAGNOSTICULUI ANATOMOPATOLOGIC

Cod: PO-AP-04

Ed.: 1

Rev.: 0

Pag.: 3 / 11

## 1. SCOP

Cuprinde protocolul de lucru orientativ prin care se reglementează activitățile legate de procesarea unei piese biologice/bloc tisular prelevat prin: fixare, deshidratare, impregnare și înglobare la parafină histologică, secționare la microtom, obținerea secțiunilor histologice, colorare și montare, cu obținerea unui preparat histopatologic colorat ce urmează a fi interpretat de către medicul anatomopatolog în vederea stabilirii diagnosticului histopatologic de certitudine.

## 2. DOMENIU DE APLICARE

2.1. Procedura se aplică în Compartimentul de Histologie al Serviciului de Anatomie Patologică și Prosectură al Spitalului Clinic Căi Ferate Iași de către personalul medical AP implicat în gestionarea probelor biologice primite.

## 3. DEFINIȚII ȘI ABREVIERI

### 3.1. Definiții:

3.1.1. **Prelucrarea histopatologică** a pieselor biologice prin:

3.1.1.1. **Deshidratare** = proces prin care se elimină apa din celule și țesuturi cu ajutorul unor agenți deshidratanți în vederea pregătirii pentru impregnare cu parafină histologică.

3.1.1.2. **Clarificare** = scoaterea acetonei din piesa biologică cu un solvent al parafinei (toluen) și impregnarea piesei cu un solvent al parafinei în vederea pregătirii pentru impregnarea cu parafină histologică.

3.1.1.3. **Includerea pieselor la parafină** = proces prin care se înglobează piesele biologice deshidratate în parafina histologică cu punct fix de topire de 56 grade într-o casetă cu parafină, pentru a putea fi secționate după solidificare.

3.1.2. **Secționarea la microtom a prelevatului inclus la parafină** = proces de tăiere a blocului de parafină la microtom pentru obținerea secțiunilor histologice.

3.1.3. **Etalarea secțiunilor pe lama histologică** (obținerea preparatului histopatologic necolorat) = etalarea secțiunilor de 4 microni pe lama din sticlă și aderența lor de lamă cu ajutorul apei distilate și a acelor de disociere, la cald, direct pe platină sau prin culegere pe baie de apă prin flotație termostată.

3.1.4. **Colorarea lamelor** = folosirea de coloranți prin tehnici specifice pentru diferențierea tipurilor de țesuturi.

3.1.5. **Montarea lamelor** = plasarea de lamele de sticlă pe lama histologică, lipite cu un balsam fixator sintetic/natural, pentru protejarea și conservarea preparatului histopatologic colorat.

3.1.6. **Preparat histopatologic colorat** = preparatul histopatologic permanent care permite interpretarea corectă în vederea stabilirii diagnosticului anatomopatologic.

### 3.2. Abrevieri:

- |             |  |
|-------------|--|
| 3.2.1. Ed.  | = Ediție   |
| 3.2.2. Rev. | = Revizie  |
| 3.2.3. PO   | = Procedura operațională                         |
| 3.2.4. SMC  | = Sistem de management al calității              |
| 3.2.5. SAPP | = Serviciul de Anatomie Patologică și Prosectură |
| 3.2.6. HG   | = Hotărâre de Guvern                             |
| 3.2.7. OMS  | = Ordin Ministerul Sănătății                     |

## 4. DOCUMENTE DE REFERINȚĂ

- 4.1. SR EN ISO 9000:2015 - Sisteme de Management al Calității. Principii fundamentale și vocabular
- 4.2. SR EN ISO 9001:2015 - Sisteme de management al calității. Cerințe.
- 4.3. **Legea nr. 104/2003, republicată în 2014**- Lege privind manipularea cadavrelor umane și prelevarea organelor și țesuturilor de la cadavre în vederea transplantului
- 4.4. **H.G. nr. 451/2004** - Hotărârea Guvernului pentru aprobarea Normelor metodologice de aplicare a Legii nr. 104/2003 privind manipularea cadavrelor umane și prelevarea organelor și țesuturilor de la cadavre în vederea transplantului, cu modificările și completările ulterioare
- 4.5. **OMS nr. 1.217/2010** - Ordin al ministrului sănătății privind aprobarea ghidurilor de practică medicală pentru specialitatea anatomie patologică
- 4.6. **OSGG nr. 600/2018** - Ordinul secretarului general al Guvernului privind aprobarea Codului controlului intern managerial al entităților publice
- 4.7. Tehnici de histologie normală și patologică / Proceduri de lucru din cadrul laboratorului.
- 4.8. Diaconită G., Eskenasy A., Hagi-Paraschiv A. et al. Tehnica Histopatologică. Editura de stat pentru literatură științifică, București, 1963;



SPITALUL CLINIC  
CĂI FERATE IAȘI

## OBTINEREA PREPARATULUI HISTOPATOLOGIC COLORAT ÎN VEDEREA STABILIRII DIAGNOSTICULUI ANATOMOPATOLOGIC

Cod: PO-AP-04

Ed.: 1

Rev.: 0

Pag.: 4 / 11

4.9. Mogoanță L., Popescu C.L., Georgescu C.L., Comănescu V., Pirici D. : Ghid de tehnici de histologie, citologie și imunohistochimie. Editura Medicală Universitară, Craiova, 2007.

### 5. DESCRIEREA PROCEDURII

#### 5.1. Principii generale de tehnică histopatologică

Cuprind totalitatea etapelor prin care piesa biologică este prelucrată în Compartimentul de Histologie al Serviciului de Anatomie Patologică și Prosectură cu obținerea produsului final reprezentat de preparatul histopatologic colorat.

#### 5.2. Organizarea locului de muncă:

##### 5.2.1. Dotări aparatură:

- Histoprosesor automat de prelucrare a țesuturilor cu vacuum cu program elaborat de lucru (soft inclus);
- Baterie manuală;
- Stație de includere la parafină;
- Microtom de parafină;
- Baie de flotație termostată;
- Aparat automat de colorare;
- Frigider.

##### 5.2.2. Materiale necesare:

- Kit complet reactivi histologie convențională pentru procesare probe:
  - agenți de deshidratare (Ottix Shaper, alcool 70 grade, 96 grade, alcool absolut) în recipiente de 4,1 litri clasificate în conformitate cu directivele CE: directiva 67/ directiva 88;
  - agenți de clarificare (Ottix Plus, toluen, xilen) în recipiente de 4,1 litri clasificate în conformitate cu directivele CE: directiva 67/ directiva 88;
- parafină histologică sub formă de fulgi cu punct de topire 54 - 58 grade;
- apă distilată;
- spray pentru curățat parafina;
- material absorbant pentru curățirea băilor;
- substanțe și soluții de curățare pentru băi;
- cuve de lucru pentru blocuri;
- casete de plastic pentru includere la parafină;
- lame de oțel inoxidabil, de unică folosință, (modele diferite) pentru sectionare la microtom;
- lame de sticlă pentru histologie 26x76x1 mm;
- lamele de sticlă 24x50, 24x24;
- marker de inscripționat pe sticlă;
- penson;
- Kit complet de colorare hematoxilina – eozină;
- mediu de montare sintetic / natural.

##### 5.2.3. Sisteme de ventilație și luminozitate adecvate, naturale/artificiale.

#### 5.3. Prelucrarea histopatologică

Cuprinde deshidratarea, clarificarea și includerea pieselor la parafină.

Se poate efectua prin procesare automată sau manual.

##### 5.3.1. Pregătirea procesorului automat de prelucrare a țesuturilor sau a bateriilor manuale de prelucrare:

- se încarcă cuva cu soluție fixatoare (formol 10 %), în cazul în care programul prevede fixarea, până la nivelul indicat;
- se încarcă cuvele de deshidratare cu Ottix Shaper până la nivelul indicat;
- se încarcă cuvele de clarificare cu Ottix Plus până la nivelul indicat;
- se încarcă cuvele cu parafină histologică topită până la nivelul indicat;
- se verifică timpii din program, starea reactivilor și actualizarea stării lor;
- se încarcă ordonat în cuva aparatului, având o evidență a numărului de casete;
- se verifică etichetarea și etanșeitarea casetelor.

##### 5.3.1.1. Tehnica și timpul necesar procesării automate a pieselor mari și mici:

- cuva 1 : fixare în formol 10% - o baie timp de 00:10 min
- cuva 2 : spălare apă distilată – timp de 01:30 min



- cuva 3 : deshidratare în Ottix Shaper – timp de 01:30 min
  - cuva 4 : deshidratare în Ottix Shaper – timp de 03:00 min
  - cuva 5 : clarificare cu Ottix Plus – timp de 01:30 min
  - cuva 6 : clarificare cu Ottix Plus – timp de 01:30 min
  - cuva 7 : clarificare cu Ottix Plus – timp de 01:30 min
  - cuva 8 : clarificare cu Ottix Plus – timp de 02:30 min
  - parafinare - 3 băi parafină a câte 3 ore fiecare (cuvele 11, 12, 13)
- Total timp de lucru - 23 h**

**5.3.1.2. Tehnica și timpul necesar procesării automate a pieselor mici:**

- deshidratare în alcool de:
    - 70° : timp de 1 oră;
    - 96° : timp de 1h 30 min;
    - 96° : timp de 2h.
  - deshidratare în alcool etilic absolut : 3 băi a câte 2h fiecare.
  - clarificarea : 3 băi a câte 1h 30 min fiecare.
  - parafinarea : 2 băi a câte 2h fiecare.
- Total timp de lucru - 19 h**

**5.3.1.3. Tehnica și timpii de lucru pentru procesarea manuală piese mari:**

- fixare în formol 10%:
  - timp minim - 24 h;
  - timp maxim - 48 h.
- deshidratare în alcool de:
  - 70° : timp de 3 h;
  - 96° : timp de 3 h;
  - 96° - timp de 18 h
- deshidratare în alcool etilic absolut - 3 băi:
  - baia I : de 3 h;
  - baia II : de 3 h;
  - baia III : de 18 h.
- clarificare în xilen - 3 băi:
  - baia I : de 3 h;
  - baia II : de 3 h;
  - baia III : de 18 h.
- parafinare în 3 băi parafină:
  - baia I : de 3 h;
  - baia II : de 3 h;
  - baia III : de 18 h.

**Timp de lucru: 5 zile (120 h)**

**5.3.1.4. Tehnica și timpul de prelucrare a biopsiilor (endobiopsii/alte piese de dimensiuni mici):**

- fixare în fixator pe bază de alcool CARNOY format din:
  - ▶ 60 ml alcool etilic absolut;
  - ▶ 30 ml cloroform;
  - ▶ 10 ml acid acetic glacial:
    - timp minim - 15 min;
    - timp maxim - 1 h.
- deshidratare în alcool etilic absolut:
  - timp minim - 15 min;
  - timp maxim - 1 h.
- clarificare în tolucen:
  - timp minim - 1 h;



- timp maxim - 48 h.
- Parafinare:
  - timp minim - 3 h;
  - timp maxim - 6 h.

Intervalele de timp pentru mutarea microbiopsiilor endoscopice trebuie adaptate în funcție de mărimea și numărul acestora.

#### 5.4. Includerea la parafină

##### 5.4.1. Pregătirea stației de includere la parafină:

- se verifică dacă este alimentată cu parafină și aceasta din urmă este topită;
- se verifică pedala (clăpița) de includere dacă funcționează;
- se verifică suportul de răcire.

##### 5.4.2. Efectuarea procedurii:

- casetele cu fragmentele prelucrate (automat sau manual) sunt scoase pe o planșetă de lucru, iar capacul casei este scos;
- cu o pensă încălzită se ia fragmentul de țesut prelucrat și se pune pe caseta de plastic, poziționându-l corect, în funcție de organ:
  - epiteliile și mucoasele vor fi orientate spre porțiunea superioară a blocului;
  - structurile tubulare sunt orientate astfel încât secțiunea să se poată efectua perpendicular pe axul mare al organului;
  - piesele rectangulare sunt orientate paralel cu marginea cuțitului pentru a minimaliza distorsiunea și ruperea secțiunilor;
  - piesele multiple (fragmentate) se plasează una lângă alta în același bloc și nu una deasupra celeilalte.
- se acoperă cu caseta de plastic cu orificii;
- se toarnă parafină caldă până ce aceasta acoperă și înglobează bine fragmentul tisular;
- caseta se răcește prin deplasarea în suportul de răcire sau în congelator/frigidier;
- după răcire se scoate cu ajutorul bisturiului blocul format și se depozitează la rece;
- se consemnează pe Fișa de însoțire a materialului biptic numărul de blocuri incluse la parafină pentru fiecare caz în parte.

#### 5.5. Secționarea la microtom a prelevatului inclus la parafină

##### 5.5.1. Pregătirea microtomului:

Se verifică microtomul, dacă înclinația cuțitului este la unghi corespunzător (în funcție de țesutul ce urmează a fi secționat).

Se verifică dacă portobiectul este orientat corespunzător. Se alege o lamă din oțel inoxidabil pentru secționare, potrivită ca duritate pentru tipul de țesut.

Se verifică portcuțitul și lama de secționare, precum și fixarea acestora pe șină.

##### 5.5.2. Efectuarea etapei:

- se așează blocurile în ordine crescătoare, pe numere, pe pat de gheață;
- se pregătesc lamele histologice din sticlă numerotate în ordine, unse cu o picătură de albumină;
- se ia blocul și se introduce în lăcașul specific;
- se fixează lama din oțel inoxidabil pentru secționare;
- se retrage dispozitivul în care este fixat blocul de parafină cu ajutorul unei manete până la nivelul lamei de secționare;
- se controlează nivelul printr-o mișcare cursivă de sus în jos;
- suprafața blocului va fi paralelă cu cuțitul;
- se intră ușor în bloc pentru a evidenția secțiunea și nivelul de intrare (secțiunea este întreagă, plană);
- când s-a ajuns la nivelul dorit se schimbă lama de secționare pe o zonă neutilizată și se taie ușor, cursiv, secțiuni de 4 microni;
- secțiunile se culeg de pe dispozitiv cu ajutorul pensonului și se înșiră pe lama de sticlă numerotată sau pe baia de apă termostată.



## 5.6. Etalarea secțiunilor pe lama histologică

### 5.6.1. Pregătirea materialelor

- lame histologice din sticlă pentru microscop cu secțiunile tăiate și etalate;
- apă distilată, fie pe baie termostată, fie în recipient cu picurător;
- ace de disociere;
- stativ pentru scurgere și uscare;
- material textil absorbant pentru ștergere;
- suport pentru susținere lamă;
- recipient pentru scurgerea apei distilate;
- platină pentru întindere (când nu se face pe baie de apă prin flotație termostată).

### 5.6.2. Efectuarea etapei:

#### 5.6.2.1. Întinderea pe baie de apă prin flotație termostată:

- se întinde bine secțiunea, care plutește pe apa distilată (aceasta este fierbinte), cu ajutorul acelor de disociere;
- imediat după ce a fost întinsă, secțiunea se translează pe lamă, fiind poziționată corect, drept, pe mijlocul lamei;
- se lasă la scurs pe stativ;
- se șterge lama de eventuale impurități;
- se introduce în termostat pe stativ.

#### 5.6.2.2. Întinderea direct pe platină:

- se ia lama cu secțiuni și se fixează pe suport (gura unui pahar);
- se picură ușor apă distilată pe lamă până secțiunea se ridică ușor la suprafață (nu mai este lipită de lamă);
- se pune pe platină caldă și cu ajutorul acelor de disociere se întinde (se trage ușor de marginile secțiunii până nu mai are pliuri);
- se scurge apa distilată și se lasă la scurs pe stativ;
- se șterg impuritățile;
- se introduce la termostat pe stativ.

## 5.7. Colorarea lamelor histologice cu secțiuni etalate

Se poate face automat sau manual.

### 5.7.1. Procedura de colorare automată

- pregătirea aparatului automat de colorare DiaPath Giotto;
- se verifică în soft programul de colorare și timpii;
- se verifică reactivii din cuve, nivelul lor și starea reactivilor;
- se conectează la apă;
- se alege programul cu colorația dorită.

### 5.7.2. Procedura de colorare manuală:

- se pregătește bateria de colorare cu recipienti curați, etichetați, dotați cu capace;
- se pregătește hârtia de filtru curată pentru etalare și scurgere lame;
- se pregătesc coloranții proaspăt preparați (extemporaneu) sau din timp (unii coloranți necesită maturare);
- se verifică stativul și locul de colorare, accesul la apa de robinet;
- se pregătesc recipiente cu apă distilată proaspătă.

### 5.7.3. Colorații uzuale:

#### 5.7.3.1. Colorația hematoxilină-eozină (H.E.)

**Aplicații:** este metoda de colorare histopatologică cea mai frecvent utilizată.

**Principiu:** presupune colorarea succesivă a secțiunilor histologice:

- cu un colorant bazic – hematoxilină (colorant natural de origine vegetală) care evidențiază structurile bazofile (cromatina nucleară, ribozomii citoplasmatici, granule de secreție) în nuanțe de albastru;
- cu un colorant acid – eozină (colorant sintetic derivat din fluoresceină), care evidențiază substraturile acidofile (citoplasmele celulelor mature, fibrele colagene, fibrele musculare), care se colorează în nuanțe de roz pal la roz viu roșu.



SPITALUL CLINIC  
CĂI FERATE IAȘI

**OBȚINEREA PREPARATULUI  
HISTOPATOLOGIC COLORAT ÎN  
VEDEREA STABILIRII DIAGNOSTICULUI  
ANATOMOPATOLOGIC**

Cod: PO-AP-04

Ed.: 1

Rev.: 0

Pag.: 8 / 11

**Reactivi utilizați:**

- Hematoxilina Meyer: hematoxilină 1,5 g + alaun de potasiu 75 g + iodat de sodiu 0,3 g + apă distilată 1 litru.
- Eozina: eozină galbenă 6 g + eozină albastră 6 g + orange G 0,4 g + alcool etilic 70\* 700 ml + carbonat de litiu 80 ml + acid acetic glacial 3 ml.
- Alcool – acid clorhidric: alcool etilic 70\* 90 ml + acid clorhidric 1N 1 ml.

**Tehnica de colorare:**

1. Deparafinare în 3 băi succesive de xilen;
2. Hidratare în 3 băi succesive de alcool etilic – absolut, 96°, 70° timp de 1,5 min;
3. Spălare în apă de robinet timp de 2-3 min;
4. Colorare cu hematoxilină Mayer timp de 4 min (2-5 minute);
5. Spălare cu apă de robinet până la virarea secțiunii spre culoarea albastră sau pentru o virare rapidă secțiunile sunt introduse într-un pahar cu un amestec de 10 ml soluție saturată de carbonat de litiu cu 90 ml apă de robinet;
6. Diferențiere rapidă în alcool-acid clorhidric;
7. Spălare;
8. Colorare cu eozină timp de 1-3 min;
9. Deshidratare în 3 băi succesive de alcool etilic ( 70°, 96° și absolut) timp de 1,5 min fiecare;
10. Clarificare în 3 băi succesive de toluen/xilen timp de 2-3 minute fiecare;
11. Montare – Entelan/balsam de Canada.

**Timp mediu de colorare: 30-40 min.**

**Rezultate** - nucleii (cromatina nucleară, ribozomii, granulele de secreție) : albastru;  
- citoplasma celulelor mature, fibrele de colagen, fibrele musculare : roșu.

**5.7.4. Colorații speciale:**

**5.7.4.1. Colorația Van Gieson (V.G.)**

**Aplicații:** este o colorație tricromică utilizată în special pentru fibrele de colagen și țesutul muscular, cu folosirea unor coloranți nucleari citoplasmatici și fibrilari în soluții care conțin mordant.

**Reactivi utilizați:**

- Hematoxilină ferică Weigert: 99 ml alcool etilic 96\* + 1 g hematoxilină la termostat timp de 24 ore
- Mordant: 4 ml soluție hexaclorhidrat de fier trivalent 29% + 1 ml acid clorhidric 1N + 95 ml apă distilată

- Picrofucsină: 100 ml acid picric soluție suprasaturată + 10 ml fucsină acidă 1%

**Rezultate** : – nucleii : negri;

- citoplasma, fibra musculară : galben;
- colagen : roșu.

**Tehnica de colorare:**

1. Deparafinare în 3 băi succesive de xilen;
2. Hidratare în 3 băi succesive de alcool etilic – absolut, 96°, 70° timp de 1,5 min;
3. Spălare cu apă distilată timp de 2-3 sec;
4. Colorarea secțiunii cu hematoxilină Weigert (2 părți hematoxilină +1 parte mordant) – 5 minute;
5. Spălare cu apă de robinet până la virarea secțiunii spre culoarea albastră sau pentru o virare rapidă secțiunile sunt introduse într-un pahar cu un amestec de 10 ml soluție saturată de carbonat de litiu cu 90 ml apă de robinet;
6. Apă distilată;
7. Colorare cu picrofucsină timp de 3 min;
8. Deshidratare în 3 băi succesive de alcool etilic - 70°, 96° și absolut;
9. Clarificare în 3 băi succesive de xilen;
10. Montare – Entelan/balsam de Canada.

**Timp mediu de colorare: 30-40 minute.**

**Rezultate:** - nucleii : negri

- fibre de colagen : roșu
- citoplasma celulelor musculare și epiteliale – galbenă.



SPITALUL CLINIC  
CĂI FERATE IAȘI

**OBȚINEREA PREPARATULUI  
HISTOPATOLOGIC COLORAT ÎN  
VEDEREA STABILIRII DIAGNOSTICULUI  
ANATOMOPATOLOGIC**

Cod: PO-AP-04

Ed.: 1

Rev.: 0

Pag.: 9 / 11

**5.7.4.2. Colorația albastru Alcian**

**Aplicații:** se aplică pentru evidențierea mucinelor acide și neutre.

**Reactivi utilizați :**

\* **soluție albastru Alcian pH1:** albastru Alcian pulbere 1g + apă distilată 99ml + acid clorhidric 1N până la pH1;

\* **soluție albastru Alcian pH 2,5:** albastru Alcian pulbere 1g + alcool etilic absolut 50 ml + apă distilată 50 ml + acid acetic glacial până la pH 2,5.

**Tehnica de colorare:**

1. Deparafinare în 3 băi succesive de xilen;
2. Hidratare în 3 băi succesive de alcool etilic – absolut, 96°, 70° timp de 1,5 min;
3. Colorare cu soluție albastru alcian 30 min – 1 oră;
4. Spălare cu apă distilată timp de 2-3 sec;
5. Colorare cu hematoxilină Mayer timp de 2-4 min;
6. Clătire cu apă de robinet 3-5 min;
7. Diferențiere rapidă cu alcool-acid clorhidric;
8. Spălare;
9. Deshidratare în 3 băi succesive de alcool etilic - 70°, 96° și absolut;
10. Clarificare în 3 băi succesive de xilen;
11. Montare – Entelan/ balsam de Canada.

**Timp mediu de execuție: 60-90 minute.**

**Rezultate:** - nucleii : albastru;

- mucopolizaharidele acide : albastru-turcoaz.

**5.7.4.3. Colorația Giemsa (pentru Helicobacter pylori)**

**Aplicații:** pentru depistarea helicobacterului pylori.

**Tehnica de colorare:**

1. Deparafinare în 3 băi succesive de xilen;
2. Hidratare în 3 băi succesive de alcool etilic – absolut, 96°, 70° timp de 1,5 min;
3. Spălare cu apă distilată timp de 2-3 sec;
4. Colorare cu soluție May Grunwald (7-10 picături) timp de 1 min;
5. Adăugare aceeași cantitate de apă distilată peste soluția May Grunwald și se lasă 3 min;
6. Clătire cu apă distilată;
7. Colorare cu soluție Giemsa 4% timp de 15 min;
8. Spălare cu apă distilată;
9. Deshidratare în 3 băi succesive de alcool etilic - 70°, 96°, și absolute;
10. Clarificare în 3 băi succesive de xilen;
11. Montare – Entelan/ balsam de Canada.

**Timp mediu de colorare 40 minute.**

**Rezultate:** nucleii : albaștri-purpurii;

citoplasma : bazofilă – albastru-palid;

citoplasma : eozinofilă – roz.

**5.7.4.4. Colorația albastru de toluidină**

**Aplicații:** este o colorație aplicată celulelor conjunctive ce pune în evidență mastocitele.

Se efectuează pe secțiuni la gheață sau la parafină.

**Tehnica de colorare:**

1. Deparafinare în 3 băi succesive de xilen;
2. Hidratarea în 3 băi succesive de alcool etilic – absolut, 96 grade, 70 grade timp de 1,5 minute;
3. Spălare cu AD timp de 2-3 sec;
4. Colorare cu soluție apoasă de albastru de toluidină – 0,3 % - timp de 5-10 min;
5. Clătire cu AD : 2-3 sec;
6. Deshidratare în 3 băi succesive de alcool etilic : 70 grade, 96 grade, absolut;
7. Clarificare în 3 băi succesive de xilen;
8. Montare – Entelan/balsam de Canada.

**Timp mediu de colorare: 20-30 minute.**



SPITALUL CLINIC  
CĂI FERATE IAȘI

## OBȚINEREA PREPARATULUI HISTOPATOLOGIC COLORAT ÎN VEDEREA STABILIRII DIAGNOSTICULUI ANATOMOPATOLOGIC

Cod: PO-AP-04

Ed.: 1

Rev.: 0

Pag.: 10 / 11

**Rezultate:** mastocitele se colorează în violet sau roșu-violet.

### 5.8. Montarea lamelor

- se pregătesc lamelele cu câte 1-2 picături de Entelan (mediu de montare sintetic);
- se scurge lama cu secțiunea histopatologică din xilen;
- se lipește ușor lama de lamelă până aderă una de cealaltă;
- se scot eventualele bule de aer dintre lamă și lamelă, apăsând ușor cu unghia sau bagheta;
- se șterge lama pe dos și pe margini, absorbind surplusul de Entelan;
- se lasă pe masă să se usuce.
- se etichetează dacă este necesar (dacă nu s-a scris lama cu marker permanent).

După terminarea montării lamelor histologice colorate, acestea se așează pe un suport de plastic (tavă) în ordinea numerelor de înregistrare din Registrul de examinări histopatologice, fiind însoțite de Fișa de însoțire a materialului bioptic și acordul scris al pacientului și sunt prezentate medicului anatomopatolog pentru examinare la microscop și stabilirea diagnosticului histopatologic.

### 5.9. Reorganizarea locului de muncă

**5.9.1.** După etapa de prelucrare la procesorul automat de țesuturi are loc o verificare a reactivilor, a nivelului acestora, iar în cazul în care sunt uzați, trebuie schimbați. Golirea lor se face în recipienți speciali, cu capac etanș, depozitați separat și preluați de o firmă specializată pentru neutralizare. Cantitatea acestor deșeuri preluată este trecută în registru și predată sub semnătură.

Se execută un program de curățare a parafinei. Dacă este cazul se execută și o curățare manuală a spațiului dintre cuve.

**5.9.2.** După etapa de includere la parafină se așază casetele în ordinea numerelor de înregistrare și se curăță resturile de parafină de pe bancul de lucru al aparatului de includere. Pensele și bisturiile se curăță de parafină.

**5.9.3.** După etapa de secționare a blocurilor incluse la parafină se blochează microtomul și se îndepărtează lama de secționare din oțel inoxidabil din microtom. Resturile de parafină și panglicile restante se curăță cu pensonul și sunt adunate corespunzător deșeurilor rezultate.

**5.9.4.** După întinderea secțiunilor fine pe lamă se aruncă apa distilată folosită la întindere și se aruncă secțiunile rămase după întindere. Se curăță acele de disociere, platina și baia de flotație termostatăă.

**5.9.5.** După colorarea lamelor în aparatul automat de colorare se acoperă recipienții cu reactivi cu capac etanș.

**5.9.6.** După etapa de montare se strâng lamelele rămase. Se șterge bine masa de lucru de resturile de Entelan sau xilen.

## 6. RESPONSABILITĂȚI

### 6.1. Managerul

- asigură cadrul legislativ și organizatoric pentru desfășurarea activităților descrise în prezenta procedură;
- aprobă prezenta procedură.

### 6.2. Medicul anatomopatolog

- răspunde de instruirea personalului medical AP;
- supervizează desfășurarea corectă a tuturor etapelor din prezenta procedură.

### 6.3. Asistenta medicală de anatomie patologică

- îndeplinește toate manevrele specifice conform celor descrise în procedură, sub directa îndrumare a medicului anatomopatolog;
- cunoaște procedeul de utilizare al fiecărui aparat din dotare, preocupându-se de buna funcționare a acestora și de respectare a mentenanței;
- răspunde de calitatea finală a preparatului histopatologic colorat;
- înregistrează în Caietul de lucru activitatea zilnică din Compartimentul de Histologie;
- răspunde de aprovizionarea cu reactivi și coloranți și ține evidența acestora.

### 6.4. Îngrijitoarea AP

- efectuează curățenia, dezinfecția și respectă procedura de gestionare a deșeurilor.

## 7. EVIDENȚE ȘI ÎNREGISTRĂRI

**7.1.** Fișa de însoțire a materialului bioptic PO-AP-01/F1

**7.2.** Acordul scris al pacientului pentru anatomie patologică PO-AP-01 / F2

**7.3.** Registrul de examinări histopatologice



SPITALUL CLINIC  
CĂI FERATE IAȘI

**OBȚINEREA PREPARATULUI  
HISTOPATOLOGIC COLORAT ÎN  
VEDEREA STABILIRII DIAGNOSTICULUI  
ANATOMOPATOLOGIC**

Cod: PO-AP-04

Ed.: 1    Rev.: 0

Pag.: 11 / 11

- 7.4. Sistemul informatic
- 7.5. Referate de necesitate

### 8. ANEXE

### 9. DIFUZARE

Procedura se difuzează pe baza Listei de difuzare sau în format electronic.  
Înregistrările generate de această activitate se păstrează / arhivează conform cerințelor SMC/SMSA/SCIM implementat.

### 10. INDICATORI DE MONITORIZARE

INDICATOR	ȚINTA	METODA DE CALCUL	PERIOADA DE MONITORIZARE	RESPONSABIL
Ponderele documentelor de referință actualizate care stau la baza elaborării procedurii	100%	Nr. documente de referință actualizate / nr. total documente de referință	Semestrial	Medic anatomopatolog coordonator SAPP
Ponderele angajaților instruiți cu cerințele procedurii din totalul angajaților cu atribuții în aplicarea cerințelor procedurii.	100%	Nr. personal instruit cu cerințele procedurii / nr. angajaților cu atribuții în aplicarea cerințelor procedurii	Semestrial	Medic anatomopatolog coordonator SAPP
Procent probe biologice prelucrate incorect din totalul de probe biologice primite în SAPP	< 1%	Nr. probe biologice prelucrate incorect / nr. total de probe biologice primite în SAPP	Semestrial	Asistenta medicală AP Medic anatomopatolog coordonator SAPP