



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

PRELUCRAREA PRODUSELOR BIOLOGICE PENTRU EXAMEN CITOPATOLOGIC

PO-AP-06

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 disciplinară 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

PRELUCRAREA PRODUSELOR BIOLOGICE PENTRU EXAMEN CITOPATOLOGIC

Cod: PO-AP-06

Ed.: 1

Rev.: 0

Pag.: 1 / 7

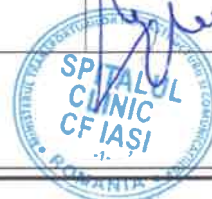
Situația edițiilor și a reviziilor în cadrul edițiilor procedurii

Nr crt	Ediția/ revizia în cadrul ediției	Componența revizuită	Modalitatea reviziei	Data la care se aplică prevederile ediției sau reviziei ediției
1	1/0	-integral	-elaborare inițială	05.08.2022

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		12.07.2022
2	Verificat	Dr. Emilia Solomon	Director medical		18.07.2022
3	Avizat juridic	Petru Manița	Avocat		20.07.2022
4	Avizat	Dr. Stela-Maria Leonte	RMC		20.07.2022
4	Avizat	Dr. Izabela Frunză	Membru Comisie monitorizare		25.07.2022
5	Aprobat	Dr. Mihai Glod	Manager		02.08.2022

Exemplar nr: 2





SPITALUL CLINIC
CĂI FERATE IAȘI

PRELUCRAREA PRODUSELOR BIOLOGICE PENTRU EXAMEN CITOPATOLOGIC

Cod: PO-AP-06

Ed.: 1

Rev.: 0

Pag.: 2 / 7

CUPRINS

1. Scop.....	3
2. Domeniul de aplicare.....	3
3. Documente de referință.....	3
4. Definiții și abrevieri	3
5. Descrierea procedurii	
5.1. Generalități.....	4
5.2. Materiale utilizate și aparatura din dotare.....	4
5.3. Metode de lucru.....	4
5.4. Colorarea frotiurilor.....	4
5.5. Examinarea frotiurilor la microscopul optic. Diagnosticul citopatologic.....	5
5.6. Reorganizarea locului de muncă	6
6. Responsabilități.....	6
7. Evidențe și înregistrări.....	7
8. Anexe.....	7
9. Difuzare.....	7
10. Indicatori de monitorizare.....	7



1. SCOP

1.1. Prelucrarea materialului celular recoltat de medicul curant prin puncție sau metode exfoliative, reprezentat de: lichide biologice (urină, lichid de ascită, lichid pleural, lichid articular etc.), material aspirat cu ac fin (puncții mamare, tiroidiene, de prostată etc.), frotiuri exfoliative/prin raclaj/prin broșaj (frotiu cervico-vaginal, frotiuri din arborele traheo-bronșic, stomac etc.), amprente (ganglionare, tumorale) pentru examinare citopatologică de către medicul anatomopatolog.

1.2. Examinarea preparatelor citopatologice de către medicul anatomopatolog cu ajutorul microscopului optic, în vederea elaborării unui diagnostic citopatologic microscopic.

1.3. Metoda citologică poate fi utilizată ca:

- *test diagnostic* – în cazul suspiciunii unui proces patologic inflamator ori neoplazic;

- *test de screening* – pentru a identifica de timpuriu apariția unor leziuni precursore mai ales în cazul persoanele cu risc crescut de a dezvolta anumite patologii (de exemplu screening-ul pentru cancerul cervical în cazul pacientelor care prezintă infecție cu tulpini HPV cu risc oncogen înalt).

1.4. Avantajele folosirii acestei tehnici sunt cost-eficiența, siguranța, simplitatea și rapiditatea.

2. DOMENIU DE APLICARE

2.1. Procedura se aplică în Compartimentul de Citologie al Serviciului de Anatomie Patologică și Prosectură al Spitalului Clinic Căi Ferate Iași de către medicul anatomopatolog implicat în elaborarea diagnosticului citopatologic.

3. DEFINIȚII ȘI ABREVIERI

3.1. Definiții:

3.1.1. **Citologie** = metodă prin care se analizează aspecte morfologice celulare de detaliu (nuclei, citoplasma) care apar în diferite procese patologice inflamatorii sau neoplazice, prezența de microorganisme comensale (microflora fiziologică) sau patogene.

3.1.2. **Frotiu** = preparatul citopatologic colorat, permanent, obținut prin prelucrarea probelor biologice recoltate de medicul curant pentru examen citopatologic și reprezentat de o lamă citopatologică care permite medicului anatomopatolog citirea și interpretarea în vederea stabilirii diagnosticului citopatologic microscopic.

3.1.3. **Diagnosticul citopatologic** = diagnosticul microscopic orientativ stabilit de către medicul anatomopatolog după examinarea la microscopul optic a preparatului citopatologic colorat.

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. Manualele de utilizare a microscopului Zeiss Axioscop 2 plus și a microscopului Nikon Eclipse E200.

4.9. Tehnici de histologie normală și patologică / Proceduri de lucru din cadrul laboratorului.



4.10. Tratatate internaționale Organizația Mondială a Sănătății de diagnostic citopatologic.

5. DESCRIEREA PROCEDURII

5.1. Generalități:

Examenul citopatologic se efectuează la cererea medicului curant.

Rezultatul examenului citopatologic este orientativ și poate cuprinde afirmarea sau infirmarea malignității.

Orice decizie terapeutică a medicului curant se ia doar pe baza diagnosticului histopatologic la parafină, în unele cazuri completat și cu investigații imunohistochimice, biologie celulară etc.

Recoltarea, transportul, preluarea și înregistrarea produselor biologice pentru examen citopatologic în SAPP se face conform procedurilor PO-AP-01 și PO-AP-02.

5.2. Materiale utilizate și aparatura din dotare:

- centrifugă
- aparat automat de colorare
- microscop binocular Zeiss Axioscop 2 plus și microscop binocular Nikon Eclipse E200 cu unități de captură de imagine;
- material textil antistatic pentru curățarea microscopelor;
- soluție de degresare/curățare;
- mediul de imersie specific (ulei de cedru);
- huse.
- calculator cu monitor cu program InfoWorld și imprimantă.

5.3. Metode de lucru:

5.3.1. Prelucrarea lichidelor biologice prin centrifugare

Centrifugarea se efectuează pentru lichidele biologice: urină, lichid de ascită, lichid pleural, lichid articular, alte lichide etc., aduse în recipiente.

Din recipientul de transport, lichidul biologic este introdus apoi în eprubete pentru centrifugare, cu material distribuit în cantitate egală pentru echilibrare.

Se centrifughează în funcție de densitatea lichidului, la 2000 – 3000 rotații timp de 5 minute.

Din sedimentul rezultat se execută cel puțin două frotiuri astfel:

- se iau lamele de sticlă numerotate în prealabil cu numărul de înregistrare din Registrul de examinare citopatologică și degresate;
- pe marginea superioară a lamei de sticlă se pune sedimentul și cu ajutorul altei lame de sticlă cu margini șlefuite, rotunjite, se întinde ușor produsul pe lamă în unghi de 45 grade, fără apăsare, uniform, pentru a nu distruge etalatul celular. Frotiurile astfel obținute se lasă să se usuce.

5.3.2. Prelucrarea frotiului gata întins : material celular obținut prin puncție-aspirație cu ac fin (mamară, tiroidiană), frotiuri exfoliative prin periaj/broșaj (frotiu cervico-vaginal etc.), amprente (ganglionare, tumorale).

- materialul celular este recoltat de către medicul curant și etalat pe lame de sticlă pentru microscopie și ulterior fixate cu spray pe bază de etanol;
- după recepționarea și înregistrarea cazului în SAPP, lamele se colorează direct, fie automat la aparatul de colorare / fie manual.

5.3.3. Prelucrarea sputei pentru citodiagnostic:

- se face prin prelucrare histopatologică la parafină conform PO-AP-05.

5.4. Colorarea frotiurilor

- se pot folosi reactivi preparați din pulberi sau kit-uri gata preparate. Timpii și concentrațiile menționate în rețete sunt orientative și se adaptează în funcție de condițiile locale (temperatură ambientală, duritatea și pH-ul apei de robinet etc). Colorația este considerată corectă dacă se obțin rezultatele preconizate.

- lamele obținute prin tehnicile de prelucrare menționate mai sus sunt colorate fie automat prin introducerea lor în coșulețul pentru lame al aparatului de colorare care a fost setat pentru colorația necesară, fie manual conform tehnicilor de colorare.

5.4.1. Colorația May Grunwald Giemsa pentru frotiuri

Tehnică:

1. Frotiurile uscate și etichetate sunt scufundate în alcool metilic pentru fixare – timp 1 sec;
2. Lamele se scurg pe hârtie de filtru;
3. Frotiurile se acoperă cu soluția May Grunwald (prin picurare) – timp de 1 min;



4. Se adaugă un număr egal de picături de apă distilată (cu soluția May Grunwald) și se lasă 2-3 min;
5. Se clătește cu apă distilată;
6. Frotiurile se acoperă cu soluție Giemsa diluată (4 picături soluție Giemsa concentrată în 10 ml apă distilată) și se lasă 20 min;
7. Se clătește cu apă distilată;
8. Uscare pe stativ

Timp maxim de colorare 30 minute

5.4.2. Colorația Papanicolau

Aplicații: Colorația Papanicolau se aplică în principal la studierea celulelor din epiteliul vaginal. Mai este utilizată pentru secreții prostatice, puncții tiroidiene etc.; permite să se vizualizeze structura componentelor celulare și astfel să se constate apariția celulelor cancerigene.

Cu hematoxilina Harris se obține o colorație optimă atât a nucleilor, cât și a părților lor. Colorația transparentă a citoplasmei se obține cu Orange G și cu soluțiile policrome EA50.

Tehnica de colorare:

1. Alcool etilic 96%, clătire cu apă curentă
 2. Alcool etilic 80%, clătire
 3. Alcool etilic 70%, clătire
 4. Alcool etilic 50%, clătire
- Fazele de mai sus se desfășoară pe durata totală de 3 minute.
5. Clătiți cu apă distilată
 6. Tratați cu Hemotoxilină Harris 2-3 min
 7. Clătiți cu volum redus de apă curentă timp de 10 min.
 8. Alcool etilic 50% timp de 5 min.
 9. Alcool etilic 70%, clătire
 10. Alcool etilic 80%, clătire
 11. Alcool 96%, clătire
 12. Orange G timp de 2 min
 13. Alcool etilic 96%, clătiți de 2-3 ori
 14. Soluție policromă EA50 între 30 secunde și 2 min, în funcție de prospețimea soluției.
 15. Alcool etilic 96%, clătiți energic de 2-3 ori
 16. Alcool etilic absolut timp de 5 min
 17. Alcool etilic absolut și xilen în părți egale timp de 5 min
 18. Xilen, clătire energică
 19. Agent de montare

Timp maxim de colorare 1 minut

Rezultate cu EA 50:

- nucleii: albastru/violet-negru
- celule scuamoase superficiale : citoplasma roz
- celule intermediare, parabazale și bazale : citoplasma albastru-verzui.

5.4.3. Colorația Hematoxilină – Eozină :

- vezi PO-AP-04

5.5. Examinarea frotiurilor la microscopul optic. Diagnosticul citopatologic.

5.5.1. Elaborarea diagnosticului citopatologic se face de către medicul anatomopatolog, folosind tehnicile de care dispune: obligatoriu colorație Papanicolau pentru frotiurile cervico-vaginale și, facultativ, după caz, colorații speciale.

Examinarea la microscopul optic cuprinde din punct de vedere tehnic aceleași etape ca și examinarea histopatologică la parafină.

Medicul anatomopatolog va examina frotiul și va analiza caracteristicile morfologice ale celulelor prezente pe acesta. Aspectele citopatologice identificate se interpretează și se clasifică conform standardelor internaționale general acceptate. Pentru cazurile dificile și pentru 10% din restul cazurilor se va face dubla citire a lamelor de către un alt medic anatomopatolog.

Există posibilitatea apariției de erori de interpretare datorate realizării defectuoase a frotiurilor prin:

- metodă incorectă de recoltare cu etalare direct pe lamă;
- grosime mare a supernatantului rezultat la centrifugare (frotiuri groase, cu material celular suprapus);



- coloranți expirați/care precipită.

Aceste situații sunt precizate în descrierea efectuată în Buletinul citopatologic (frotiuri nesatisfăcătoare/non-diagnostice prin.....).

Dacă medicul anatomopatolog consideră că pentru stabilirea cu precizie a diagnosticului sunt necesare tehnici speciale de anatomie patologică care nu sunt disponibile în serviciul respectiv, de exemplu: imunohistochimie, biologie moleculară, imunofluorescență, va consemna acest lucru în Buletinul citopatologic pe care îl eliberează.

Diagnosticul citopatologic este un diagnostic de probabilitate, orientativ, prin care medicul anatomopatolog poate afirma benignitatea sau malignitatea.

5.5.2. Buletinul citopatologic cuprinde diagnosticul citopatologic și este elaborat numai de către medicul anatomopatolog.

Originalul buletinului citopatologic se păstrează în arhiva serviciului de anatomie patologică împreună cu biletul de trimitere a produsului biologic, minimum 30 de ani.

Copia buletinului citopatologic se eliberează medicului care a solicitat examenul citopatologic și/sau pacientului ori aparținătorilor acestuia, cu procură din partea pacientului, după caz.

Copia buletinului citopatologic se atașează în mod obligatoriu la foaia de observație a pacientului.

Buletinele citopatologice sunt stocate în sistemul informatic InfoWorld și sunt consemnate în Registrul de examinări citopatologice.

5.6. Reorganizarea locului de muncă

Recipientele de transport ale produselor biologice sunt colectate în sacul galben cu inscripția PERICOL BIOLOGIC , conform procedurii de gestionare a deșeurilor.

Lichidele biologice restante sunt îndepărtate în saci galbeni cu inscripția PERICOL BIOLOGIC , conform procedurii de gestionare a deșeurilor.

Eprubetele din centrifugă se spală de către infirmieră, iar suprafețele de lucru sunt dezinfectate conform normelor.

Aparatele folosite (centrifuga, aparatul de colorare) se curăță și se scot din priză.

După examinarea la microscopul optic a lamelor se acționează butonul (potențiometrul) de intensitate a luminii către pragul minim de luminozitate și apoi se apasă butonul de oprire, cu deconectarea microscopului de la rețeaua electrică.

De asemenea se acționează butonul de oprire al unității centrale și al monitorului calculatorului.

Se efectuează procedura de întreținere zilnică sau când este necesar conform planului de service / mentenanță.

Mănușile folosite și materialul moale sunt colectate în sac galben cu inscripția PERICOL BIOLOGIC , conform procedurii de gestionare a deșeurilor.

Frotiurile care nu sunt arhivate sunt colectate în sac galben cu inscripția PERICOL BIOLOGIC , conform procedurii de gestionare a deșeurilor.

6. RESPONSABILITĂȚI

6.1. Managerul

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

6.2. Medicul anatomopatolog

- supervizează toate analizele efectuate;
- elaborează Buletinul citopatologic pe care îl semnează și parafează;
- conform procedurii supervizează distribuirea exemplarelor din Buletinului citopatologic;
- la cererea pacientului oferă detalii legate de informațiile cuprinse în Buletinul citopatologic.

6.3. Medicul curant

- după ce a citit Buletinul citopatologic primit, îl atașează în foaia de observație a pacientului;
- informează pacientul de primirea Buletinului citopatologic și îl îndrumă către Serviciul de Anatomie patologică pentru a primi o copie a acestuia.

6.4. Asistenta medicală AP

- se ocupă de recepționarea, înregistrarea și prelucrarea produselor biologice/frotiurilor gata etalate pentru examen citopatologic;
- înregistrează datele din Buletinul citopatologic în registrul de examinări citopatologice,
- la cererea medicului anatomopatolog, distribuie Buletinele citopatologice pe secții prin secretariatele secțiilor și/sau în cabinetele medicale.



SPITALUL CLINIC
CĂI FERATE IAȘI

PRELUCRAREA PRODUSELOR BIOLOGICE PENTRU EXAMEN CITOPATOLOGIC

Cod: PO-AP-06

Ed.: 1

Rev.: 0

Pag.: 7 / 7

- răspunde de buna funcționare și exploatare a aparatelor din dotare.
- răspunde de gestionarea corectă a deșeurilor rezultate.

6.5. Îngrijitoarea AP

- se ocupă de curățenia locului de muncă
- răspunde de gestionarea corectă a deșeurilor rezultate.
- la cererea medicului anatomopatolog, atunci când asistenta medicală AP este indisponibilă, distribuie

Buletinele citopatologice pe secții prin secretariatele secțiilor și/sau în cabinetele medicale.

7. EVIDENȚE ȘI ÎNREGISTRĂRI

7.1. Buletinul citopatologic (PO-AP-06/F1)

7.2. Registrul de examinări citopatologice

7.3. Sistemul informatic InfoWorld

8. ANEXE

8.1. Buletinul citopatologic (PO-AP-06/F1)

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
Ponderea documentelor de referință de actualitate	100%	Nr. documente de referință de actualitate / nr. total documente de referință	semestrial	Medic AP Coordonator SAPP
Ponderea 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 AP Coordonator SAPP
Procent lichide biologice prelucrate corect prin centrifugare și colorare/nr. total de lichide biologice recepționate în SAPP	> 95%	Nr. lichide biologice prelucrate corect prin centrifugare și colorare / nr. total de lichide biologice recepționate în SAPP	semestrial	Asistenta medicală AP
Procent de frotiuri cu material celular recoltat și etalat nesatisfăcător/nr. total de frotiuri etalate	< 1 %	Nr. frotiuri cu material celular recoltat și etalat nesatisfăcător / nr. total frotiuri etalate	semestrial	Medic AP Coordonator SAPP



SPITALUL CLINIC
CĂI FERATE IAȘI

BULETINUL CITOPATOLOGIC

Cod: PO-AP-06/F1

Ed./Rev.: 1/0

Pag.: 1/1

SPITALUL CLINIC C.F. IAȘI

Str. Garabet Ibrăileanu 1 Iași 700506 Tel. 0232 216 422

Serviciul de Anatomie Patologică și Prosectură

Buletin Citopatologic

Nr.

din

Nume și prenume:

Sex

Vârsta:

CNP:

Domiciliul:

Clinica:

Diagnostic clinic:

Medicul care a trimis:

FO:

Data primirii:

Produs biologic expedit:

Diagnostic citopatologic:

Satisfăcător

☐☐

Nesatisfăcător:

NILM

☐☐

Celule atipice:

Microscopie:

Proceduri:

Cod procedura standard/Număr

Data

ASISTENT,

Semnătura

MEDIC PRIMAR , DR.

Conținutul acestui buletin este confidențial, fiind privilegiul pacientului de mai sus. Buletinul de analize este valabil numai în original.

Buletin Citopatologic nr. / pagina din