



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

FIXAREA ȘI PRELEVAREA PROBELOR BIOLOGICE PO-AP-03

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

FIXAREA ȘI PRELEVAREA PROBELOR BIOLOGICE

Cod: PO-AP-03

Ed.: 2

Rev.: 0

Pag.: 1 / 7

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	-elaborare inițială	16.01.2015
2	2/0	-integral	- Schimbare machetă, modificare titlu, completare conținut	03.08.2022

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		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 Lăcrămioara Frunză	Membru Comisie monitorizare		25.07.2022
5	Aprobat	Dr. Mihai Glod	Manager		29.07.2022

Exemplar nr: 2





SPITALUL CLINIC
CĂI FERATE IAȘI

FIXAREA ȘI PRELEVAREA PROBELOR BIOLOGICE

Cod: PO-AP-03

Ed.: 2

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. Organizarea locului de muncă – dotări, pregătirea materialelor.....	4
5.3. Fixarea prealabilă a pieselor biologice.....	4
5.4. Decalcifierea fragmentelor osoase și a fragmentelor tisulare cu calcificări.....	4
5.5. Prelevarea pieselor biologice.....	5
5.6. Fixarea fragmentelor tisulare prelevate.....	5
5.7. Reorganizarea locului de muncă.....	6
6. Responsabilități.....	6
7. Evidențe și înregistrări.....	6
8. Anexe.....	7
9. Difuzare.....	7
10. Indicatori de monitorizare.....	7



1. SCOP

1.1. Fixarea pieselor operatorii, a biopsiilor, a colecțiilor lichidiene, a pieselor recoltate în timpul autopsiei anatomo-clinice cu scopul opririi alterării structurilor celulare și tisulare în fragmentele recoltate din organism, prin prevenirea fenomenelor de autoliză; menținerea cât mai aproape de starea "in vivo" a structurilor țesuturilor biologice prelevate; pregătirea celulelor și țesuturilor pentru o colorare adecvată.

1.2. Prelevarea pieselor biologice – cuprinde activități specifice SAPP legate de descrierea macroscopică, orientarea, secționarea și recoltarea de fragmente tisulare din piesele biologice obținute în cursul intervențiilor chirurgicale, biopsii, fragmente tisulare recoltate în cursul autopsiei prosecturale, ce urmează a fi prelucrate histopatologic în concordanță cu particularitățile fiecărui caz.

2. DOMENIU DE APLICARE

2.1. Procedura se aplică în Serviciul 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. Probele biologice sunt reprezentate de:

3.1.1.1. Piese operatorii = organe/piese operatorii complexe recoltate în timpul intervențiilor chirurgicale;

3.1.1.2. Biopsii = fragmente tisulare de mici dimensiuni recoltate în timpul endoscopiilor, biopsii cutanate, ganglionare, alte biopsii etc.;

3.1.1.3. Piese necroptice = fragmente tisulare recoltate în timpul autopsiei prosecturale.

3.1.2. Agenți fixatori = reactivi care acționează asupra proteinelor tisulare și celulare determinând formarea unor legături între fixator și acestea, sau legături între diverse proteine, cu rezultat în oprirea proceselor vitale din celule și țesuturi într-o anumită etapă biologică, precum și împiedicarea alterării structurilor celulare și tisulare scoase din organism prin prevenirea fenomenelor de autoliză.

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;

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. Generalități

Fixarea și prelevarea pieselor biologice sunt activități specifice efectuate de către personalul medical din SAPP.

5.2. Organizarea locului de muncă – dotări, pregătirea materialelor

5.2.1. Dotări:

- sală de prelevare;
- hotă cu flux laminar cu blat de lucru curățat și dezinfectat;
- sursă de apă;
- sisteme de ventilație și luminozitate adecvate, naturale/artificiale.

5.2.2. Materiale necesare:

- echipament de protecție corepunzător: halat, mănuși chirurgicale, mască, ochelari de protecție etc.;
- instrumentar: pense anatomice și chirurgicale de diverse dimensiuni, bisturie, lame metalice pentru secționare de dimensiuni variabile, pâlnie, sită etc.;
- riglă gradată din metal/plastic;
- materiale absorbante (pentru eventuale colecții/lichide evacuate);
- creion, pix, marker pentru scrierea numărului de înregistrare a piesei biologice prelevate;
- casete de plastic în care vor fi introduse fragmentele tisulare prelevate pentru prelucrare ulterioară;
- recipiente cu fixator (formol tamponat 10%) de diferite dimensiuni adaptate în raport de dimensiunile pieselor, pentru a asigura penetrabilitatea fixatorului, fără compresia materialului biologic;
- recipiente cu decalcificator pentru piesele care necesită decalcifiere;
- recipient cu sac galben cu indicația "Pericol biologic" pentru deșeurile biologice;
- recipient de plastic pentru deșeuri înțepătoare-tăietoare de unică folosință;
- recipient de colectare a deșeurilor chimice rezultate în vederea neutralizării lor inscripționat cu "Pericol chimic";
- cântar;
- soluții dezinfectante pentru mâini și suprafețe;
- formaldehida 37%, depozitată în recipiente prevăzute cu capac și etichetate corespunzător;
- formalina neutră 10 % tamponată.

5.2.3. Documente:

- Fișa de însoțire a materialului biptic
- acordul scris al pacientului pentru anatomie patologică.

5.3. Fixarea prealabilă a pieselor biologice

Piesele biologice sunt introduse/nu după recoltare în recipiente de transport cu fixator (formol tamponat 10%) de către medicul operator/recoltator în sala de operație/secție/cabinet medical, în funcție de tipul examenului solicitat medicului anatomopatolog, conform procedurii PO-AP-01.

Fixarea prealabilă durează 24-72 ore, în funcție de dimensiunile piesei biologice și de particularitățile țesutului.

5.4. Decalcifierea fragmentelor osoase și a fragmentelor tisulare cu calcificări

După fixarea prealabilă a fragmentele tisulare ce conțin os sau prezintă calcificări, acestea sunt supuse procesului de decalcifiere sub acțiunea unui reactiv specific (decalcificator), pentru a permite secționarea cu ușurință a piesei în etapele următoare și pentru a obține un preparat microscopic adecvat examinării histopatologice.

Materiale necesare decalcifierii:

- soluție decalcificatoare;
- soluție neutralizatoare (sulfat de sodiu 5 %);
- tifon cu ață pentru fragmentele mai mari;
- recipient cu formol pentru rezervă (dacă este cazul);
- blat de lucru;
- cuțite, satâr, fierăstrău, pense.

Descrierea procedurii:

- se spală piesa de fixator în apă de robinet;
- se execută o descriere macroscopică a fragmentului cu dimensiunile leziunii prezente;
- se execută secțiuni cu fierăstrăul, satârul sau cuțitul (după caz);



- se scufundă în soluție decalcificatoare și se lasă până are loc decalcifierea (piesa este moale); timpul de decalcifiere variază în funcție de mărimea și grosimea fragmentului (4-24-48 h);
- aprecierea gradului de înmuiere al piesei se face prin palpate sau înțepare cu ac, decalcifierea considerându-se terminată când piesa se secționează cu ușurință;
- se spală în apă de robinet pentru a îndepărta excesul de decalcificator;
- se neutralizează cu soluție de sulfat de sodiu 5 % pentru a preveni umflarea fibrelor de collagen;
- se clătește cu apă de robinet;
- se fasonează piesa decalcifiată pentru obținerea dimensiunilor corespunzătoare ale blocului tisular ce va fi inclus în parafină;
- se așază blocurile prelevate însoțite de numărul de înregistrare corespunzător în caseta de plastic pentru prelucrare și includere la parafină.

5.5. Prelevarea pieselor biologice

Se efectuează în sala de prelevare a SAPP de către medicul anatomopatolog, care este asistat de asistenta medicală AP și îngrijitoarea AP.

Asistenta medicală AP pregătește și identifică piesele biologice în recipientele de transport etichetate corespunzător, împreună cu documentele însoțitoare, în ordinea admisiei lor în SAPP, precum și prezența fixatorului.

Asistenta medicală AP pregătește blatul de lucru, instrumentarul necesar prelevării și pornește hota cu flux laminar.

Asistenta medicală AP notează în ordine pe Fișa de însoțire a materialului biptic numărul/numerele pieselor biologice din Registrul de examene histopatologice.

Medicul anatomopatolog identifică piesa biologică, confruntând datele înscrise pe Fișa de însoțire a materialului biptic cu specificațiile de pe recipientul de transport. Pentru cazurile cu mai multe piese biologice ale aceluiași pacient, acestea se pun în ordine și se numerotează separat.

Piesa biologică se scoate din recipientul de transport cu fixator formol tamponat 10%, în care a fost fixată în prealabil (24-72 ore), se spală sub jet de apă și apoi este așezată pe blatul de lucru sub hota cu flux laminar.

Medicul anatomopatolog face descrierea macroscopică a piesei/pieselor biologice, care este scrisă pe Fișa de însoțire de către asistenta medicală AP. Se precizează numărul de fragmente tisulare recoltate intraoperator și identificate în recipientul de transport, dimensiunile piesei, caracteristicile macroscopice, marcajul intraoperator în funcție de caz.

Orientarea macroscopică se face fie pe piesa proaspătă (fără fixator prealabil), fie pe piesa fixată în prealabil 24-72 ore.

Piese biologice de mici dimensiuni (biopsii) se prelevă în totalitate, fără rezervă, cu specificație pe Fișa de însoțire în dreptul numărului de înregistrare corespunzător din Registrul de examinări histopatologice.

Pentru piesele biologice de mari dimensiuni medicul anatomopatolog face orientarea cu descrierea macroscopică, apoi trece la secționarea/fasonarea acestora, cu recoltarea unui număr suficient de fragmente tisulare pentru prelucrare histopatologică în concordanță cu particularitățile fiecărui caz, respectând ghidurile de practică din anatomie patologică.

Secționarea pieselor se face din 0,5 cm în 0,5 cm grosime, longitudinal sau transversal, după caz, cu obținerea unui bloc tisular de dimensiuni variabile ca lungime și lățime care să se încadreze în dimensiunea maximă a casetei de plastic 40x26x7 mm în care va fi introdus pentru prelucrare histopatologică ulterioară.

Casetele de plastic cu blocurile tisulare prelevate sunt numerotate cu markerul, cu același număr din registrul de examinări histopatologice, corespunzător piesei biologice prelevate. Acestea sunt introduse în ordine numerică în coșulețul de inox.

5.6. Fixarea fragmentelor tisulare prelevate

Coșulețul cu casetele de plastic cu blocurile tisulare prelevate este apoi introdus într-un recipient de mari dimensiuni cu fixator.

Fixatorul utilizat în SAPP este **formaldehida** sub formă de:

- formaldehidă 37%, depozitată în recipiente prevăzute cu capac și etichetate corespunzător;
- formalină 10 % netamponată, obținută după formula:
Formaldehidă concentrată (37%)..... 10 ml
Apă distilată90 ml
- formalină 10 % tamponată



SPITALUL CLINIC
CĂI FERATE IAȘI

FIXAREA ȘI PRELEVAREA PROBELOR BIOLOGICE

Cod: PO-AP-03

Ed.: 2

Rev.: 0

Pag.: 6 / 7

Formaldehida 100% este un gaz solubil în apă până la o concentrație de 36-40%. Reactivul comercial, cunoscut și sub denumirea de formol comercial sau formalină, conține 10-15% metanol care acționează ca un stabilizator al soluției și previne polimerizarea formaldehidei. Polimerizarea formolului concentrat apare dacă acesta este ținut la temperaturi joase și în sticle transparente. De aceea, păstrarea formolului se realizează în sticle de culoare închisă, la temperaturi mai mari de 9°C.

Utilizarea formaldehidei este justificată prin calitățile acesteia: este un fixator mai blând, reacția de legare a proteinelor fiind reversibilă după 24 de ore dacă se spală în apă piesa supusă fixării.

Durata fixării după prelevare este stabilită în raport de dimensiunile probei recoltate și structura histologică corespunzătoare. În procesul de fixare a fragmentelor tisulare recoltate sunt luați în considerare și următorii factori: temperatura mediului ambiental, valoarea pH-ului fixatorului, difuzibilitatea, osmolaritatea.

Fixarea fragmentelor tisulare prelevate se face prin introducerea casetelor de plastic cu blocurile tisulare incluse în recipiente cu formol tamponat 10% timp de 24 – 72 ore în funcție de țesut, în cantitate suficientă (volumul său să depășească de 10-20 ori volumul piesei de fixat), la temperatura ambiantă din cadrul SAPP (20-25°C).

Timpul de fixare poate fi redus în funcție de timpul de fixare prealabilă (anterioară orientării macroscopice).

Timpul de fixare pentru piesele de dimensiuni mici (biopsii cutanate / musculo-cutanate, gastrice, colonice, prostată, vezică urinară etc.) este de 24 de ore, la temperatura ambiantă din cadrul SAPP (20-25°C).

Timpul de fixare pentru piesele de dimensiuni mari (piese operatorii, fragmente tisulare prelevate la autopsie) este de 48-72 ore, la temperatura ambiantă din cadrul SAPP (20-25°C).

5.7. Reorganizarea locului de muncă

Fragmentele tisulare restante după prelevare sunt introduse în recipiente de transport cu fixator care se etichetează corespunzător cu numărul corespunzător din Registrul de examinări histopatologice ce a fost trecut pe Fișa de însoțire a materialului biptic. Recipientele se închid și se depozitează conform reglementărilor legale timp de 3 luni.

Formaldehida uzată se depozitează într-un recipient special marcat cu eticheta "Deșeu Formaldehidă-pericol chimic", respectând procedura de gestionare a deșeurilor.

Obiectele tăietoare/înțepătoare de unică folosință care au fost utilizate de medicul anatomopatolog în cursul prelevării se colectează în recipientul special pentru obiecte tăietoare/înțepătoare.

Recipientele în care a fost realizată fixarea se spală cu apă curgătoare în jet puternic, se usucă și se depozitează în spațiul special amenajat.

Instrumentarul chirurgical utilizat se spală și se dezinfectează conform normelor.

Toate deșeurile se colectează separat în recipiente corespunzătoare respectând procedura de gestionare a deșeurilor.

Blatul de lucru este curățat și dezinfectat.

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;
- îndeplinește toate manevrele specifice conform celor descrise în procedură.

6.3. Asistenta medicală de anatomie patologică

- îndeplinește toate manevrele specifice conform celor descrise în procedură, sub directă îndrumare a medicului anatomopatolog;
- înregistrează în Caietul de lucru activitatea zilnică din sala de prelevare.

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 biptic PO-AP-01/F1

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

7.3. Condica de predare-primire produse biologice

7.4. Caietul de lucru din sala de prelevare

7.5. Registrul de examinări histopatologice



SPITALUL CLINIC
CĂI FERATE IAȘI

FIXAREA ȘI PRELEVAREA PROBELOR BIOLOGICE

Cod: PO-AP-03

Ed.: 2

Rev.: 0

Pag.: 7 / 7

7.6. Sistemul informatic

8. ANEXE

-nu este cazul

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 actualizate care stau la baza elaborării procedurii	100%	Nr. documente de referință actualizate / nr. total documente de referință	Semestrial	Medic anatomopatolog 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 anatomopatolog coordonator SAPP
Procent probe biologice prelevate greșit din totalul de probe biologice primite în SAPP	100%	Nr. probe biologice prelevate greșit / nr. total de probe biologice primite în SAPP	Semestrial	Medic anatomopatolog coordonator SAPP