



ISO 9001
REGISTERED FIRM

SPITALUL ORĂȘENESC Buhuși

Buhuși-605100, str. Văioagă nr.3, jud. Bacău Nr. Autoriz. funcț.: 102/01. 09. 2010 ; C.I.F. 4187271
Certificat I.S.O. 9001: Numar certificat 56336/A0001/UK/RO
Tel: 0234-262220 - centrala; Tel/Fax: 0234-261560 - secretariat;
e-mail: spitalbuhusi@gmail.com ; www.spitalbuhusi.ro

NR. 3568 / 1. 22. 04. 2015

Revizia 7

Exemplarul

Laborator Anatomie Patologica si prosectura.

Ghiduri de practică pentru tipuri de germeni microbieni

Principiul tehnicii histopatologice impune transformarea unui prelevat dintr-un organ sau țesut dintr-o masa tisulară opacă într-un preparat fin, translucid care permite vizualizarea microscopica a detaliilor structurale tisulare. Pentru a realiza aceasta prelevatul suferă transformări succesive:

1. Fixarea - previne alterarea si autoliza țesutului
2. prelucrarea histopatologică (deshidratare, clarificare și impregnare cu parafină)
3. Includerea in bloc de parafina
4. Secționarea la microtom a prelevatului inclus in parafina
5. Etalarea secțiunilor pe lame (obținerea preparatului histopatologic necolorat)
6. Colorarea lamelor
7. Montarea lamelor - permite protecția si conservarea preparatului histopatologic colorat

Produs final - preparatul histopatologic permanent care permite interpretarea corecta in vederea stabilirii diagnosticului anatomo-patologic.

Protocolele de lucru histopatologie sunt orientative; pot fi folosiți reactivi diferiți, timpul de acțiune 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). Tehnica folosită este considerată corectă dacă se obțin rezultatele preconizate prin colorația respectivă. La rețetele de colorații recomandate sunt admise variații, în funcție de structura care se dorește evidențiată; de asemenea, pot fi folosite alte colorații speciale pentru evidențierea aceleiași structuri (de exemplu colorație pentru colagen Roșu Sirius, colorație mixtă uzuală și pentru colagen – Hematoxilină eozină safran, mucicarmine pentru mucopolizaharide acide, auramină pentru bacili acid alcoolorezistenți și altele asemenea) sau colorații speciale pentru substanțe care nu pot fi identificate prin procedeele recomandate (de

exemplu colorație von Kossa pentru calciu, colorație Scharlach, Sudan III, negru Sudan sau roșu ulei O pentru lipide, colorație cu rodanină pentru depozite de cupru și altele asemenea).

Pentru tehnicile de imunohistochimie timpul de expunere la anticorpi primari și secundari poate fi modificat în funcție de diluția anticorpului; de asemenea metodele de pretratament pot fi modificate față de recomandarea producătorului (de exemplu fierbere în tampon citrat în loc de tratament enzimatic pentru pancitokeratina AE1-AE3) cu condiția obținerii de rezultate concordante cu structurile evidențiate pe lame martor.

PROTOCOL DE LUCRU

prelucrarea pieselor anatomo-patologice (piese chirurgicale, biopsii, fragmente tisulare recoltate la necropsii)

1. Verificarea documentelor de însoțire a materialului biptic; se va verifica dacă pe fișa de însoțire sunt trecute corect numele și prenumele pacientului, vârsta, numărul foii de observație, secția care solicită examenul histopatologic, diagnosticul clinic prezumptiv, denumirea materialului biptic trimis, data recoltării, fixatorul utilizat, semnatura și parafa medicului care solicită diagnosticul histopatologic, numele și semnatura celui care a adus materialul biptic/citologic
2. Verificarea materialului biptic. Se va verifica dacă materialul biptic/citologic este în recipient. Se va verifica dacă materialul biptic este adus fixat (în formol sau altă substanță fixatoare) sau este proaspăt. Se va verifica dacă din punct de vedere calitativ materialul biptic/citologic nu este corespunzător (dimensiuni foarte mici și/sau cu arii întinse de necroză).se va verifica concordanța ei documentelor de însoțire a materialului biptic – recipient material biptic
3. Înregistrare - acordarea de număr/caz; unui caz se poate acorda unui sau mai multe numere; dacă unui caz i se acordă un singur număr și în cursul orientării macroscopice se recoltează mai multe fragmente, acestea vor fi etichetate individual cu numere sau litere suplimentare (de exemplu număr caz 1000 din care se prelevează 3 fragmente cu numărul 1000/1, 1000/2 și 1000/3 sau 1000/A, 1000/B și 1000/C); înregistrarea cazului se poate face înainte sau în cursul orientării macroscopice
4. Orientare macroscopică / fasonare - descrierea pieselor, secționarea lor și recoltarea de fragmente pentru prelucrare histopatologică în concordanță cu particularitățile fiecărui caz; orientarea macroscopică se poate face fie pe piese proaspete (nefixate), fie după o fixare prealabilă de 24-72 ore
5. Fixare - în formol 10% tamponat, minimum 24h; timpul de fixare poate fi redus în funcție de timpul de fixare prealabilă (anterioară orientării macroscopice) a fragmentelor tisulare
6. Decalcifiere – dacă se recoltează fragmente osoase sau calcificate

7. Prelucrare histopatologică pe baterie manuală sau procesare automată (histochinetă, histoprosesor, autotehnicon); etapele prelucrării histopatologice diferă în funcție de tipul de țesut prelucrat, reactivii preferați și de aparatura existentă; cel mai frecvent se folosesc agenți de deshidratare (alcool etilic, eventual acetona, alte substanțe asemenea), agenți de clarificare (alcool izopropilic, alcool amilic, benzen, toluen, xilen sau alte substanțe asemenea), impregnare cu parafină; perioada de procesare variază între 17 ore (procesare automată) și 5 zile lucrătoare (procesare manuală)

8. Incluzere în parafină; dacă se formează blocuri de parafină, acestea vor fi fasonate și etichetate; dacă se include pe casete, casetele vor fi fasonate și se va verifica etichetarea acestora

9. Sectionarea blocurilor de parafina la microtom.

10. Etalarea secțiunilor pe lame

11. Deparafinarea și rehidratarea lamelor; se va efectua prin treceri prin băi succesive de agent de deparafinare (benzen, toluen, xilen sau alte substanțe asemenea), alcool etilic și apă de robinet; numărul băilor și timpul de expunere variază în funcție de desfășurarea manuală sau automată a procesului (minimum 25 de minute – automat, 1 oră – manual)

16. Colorare după rețeta colorației respective

17. Deshidratare (eventual uscare), clarificare (benzen, toluen, xilen sau alte substanțe asemenea),

18. Montare (cu mediu de montare)

19. Etichetare.

1. COLORATII UZUALE

1.1. Coloratia hematoxilina-eozina

- I. **Deparafinare**
- II. **Hematoxilină Mayer –2-5 minute**
- III. **Spălare**
- IV. **Diferențiere rapidă în alcool-acid clorhidric**
- V. **Spălare**
- VI. **Eozină 10-15 secunde**

XIV. Montare

Reactivi:

Hematoxină Weigert: 99ml alcool 96°C+ 1g hematoxină la termostat timp de 24 ore


Mordant: 4 ml solutie hexaclorohidrat de fier trivalent 29%+1 ml acid clorhidric 1N+95 ml apa distilata

Picrofucsina: 100 ml acid picric solutie suprasaturata+10 ml fucsina acidă 1%

rezultat :nucleii-negri, citoplasma-galben, colagen-rosu

Întocmit: AS. FECIORU LUMINITA 

Nec. Hanganu Ioan 

Verificat: Dir. Med. Dr. Rotaru Hilda 

Birou Calitate Insp. Poiana Constantina

Aprobat: Manager General Dr. Toron Mouhammad

Data: 21-04-2015

Data: 22-04-2015

Data: 22-04-2015

