Manual de Procedimientos

Tinción e interpretación de la Muestra de Citología Cervical

Manual de Procedimientos. Tinción e interpretación de la Muestra de Citología Cervical.

Primera Edición 2006.

D.R. © Centro Nacional de Equidad de Género y Salud Reproductiva.
Secretaría de Salud.

Homero 213, piso 7
Col. Chapultepec Morales
Deleg. Miguel Hidalgo
México, D.F., C.P. 11570.

Contenido

Introducción 5

Proceso de Interpretación Citológica 6

I. Objetivo del manual 7

II. Marco Jurídico 8

III. Procedimientos

1. Recepción de laminillas de citología exfoliativa cérvico – uterina. 10

2. Tinción y montaje de las laminillas 16

3. Lectura e interpretación de las muestras de citología exfoliativa cérvico – uterina 27

4. Control de calidad interno 35

Glosario de términos 42

Anexo: Figuras 47

Introducción

El cáncer cérvico uterino es un padecimiento que puede ser detectado a través de pruebas de tamizaje como la citología exfoliativa o Papanicolaou y la visualización directa con ácido acético. No obstante que existen pruebas biomoleculares para detectar diferentes tipo de VPH (virus de papiloma humano) como son la Reacción de la Polimeriaza en Cadena (RPC) y la captura de híbridos, la citología es el método más usual en los programas de prevención de cáncer cérvico uterino, debido a que es una prueba de bajo costo y accesible a la mayor parte de la población, y ha demostrado ser efectiva en la reducción de la incidencia y mortalidad por esta patología en muchos países.

Una parte fundamental del programa de prevención de cáncer cérvico uterino es la existencia de infraestructura de salud adecuada, donde el laboratorio de citología es un componente esencial dentro del programa y parte del éxito del mismo. El laboratorio de citología debe garantizar niveles de alta calidad, por lo que es recomendable que sus servicios se encuentren centralizados. A mayor centralización, mayor eficiencia, por lo que en nuestro país sería importante que los laboratorios se organicen a nivel estatal o regional, dependiendo de su población de mujeres a atendider.

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2002), un laboratorio de citología debería procesar un mínimo de 15 a 25 mil citologías por año o cincuenta laminillas por citólogo en una jornada de ocho horas diarias. El tiempo estimado para la interpretación de una laminilla es de aproximadamente seis minutos, cinco para la lectura y uno para escribir el reporte.

Para brindar un servicio adecuado en el laboratorio de citología se deben hacer estimaciones de los requerimientos de citotecnólogos necesarios para atender a su población blanco, es decir, el personal debe ser proporcional al volumen de laminillas que se espera recibir para alcanzar una cobertura de tamizaje de 70 a 80%.

El control de calidad debe considerar condiciones de trabajo óptimas, las que incluyen manuales de procedimientos técnicos y normas de seguridad, de acuerdo con las Normas Oficiales Mexicanas para el manejo de deshechos, materiales infecciosos, contaminantes, inflamables y tóxicos. Los manuales deberán estar siempre actualizados, disponibles y seguirse tal como se indica en cada uno de ellos.

Otro de los aspectos y tal vez uno de los más importantes del control de calidad del laboratorio, es la capacidad técnica y profesional del personal que ahí labora. El responsable del laboratorio debe ser un médico con amplia experiencia en la interpretación citológica: un citólogo, patólogo o citopatólogo. Además, el personal de apoyo los citotecnólogos, deben contar con una formación calificada y con experiencia suficiente para lograr un grado óptimo de certeza diagnóstica, por lo que se debe enfatizar la importancia de que el personal que ahí se desempeña participe en programas de educación continua. Con lo anterior se espera realizar un trabajo óptimo que garantice la efectividad y eficiencia de los laboratorios de citología cérvical.

Este manual requerirá de actualización periódica para incorporar los avances tecnológicos y científicos más recientes y las posibles modificaciones que pudiera experimentar la organización de los servicios de salud.

De acuerdo con lo anterior será imperioso incluir un apartado referente al Control de Calidad Externo, lo cual será importante que se realice de manera sistemática, a través de diferentes instancias e instituciones, aplicando evaluaciones académicas a los integrantes del equipo del laboratorio y de reproducibilidad diagnóstica.

Proceso de Interpretación Citológica

Limites del proceso.

Para efectos de este Manual de Procedimientos se delimita el proceso principal a los pasos directos de la interpretación citológica que se realizan al interior del laboratorio de citología. Se excluyen aquellos procesos de interfase, localizados fuera del laboratorio de citología.

Inicio del proceso.

El proceso productivo principal del Laboratorio de Citología se inicia con un paso de planificación entre el laboratorio de citología y las unidades de salud que toman muestras y la dirección nacional y local del Programa de Cáncer Cérvico Uterino. Es este el paso que permite que el laboratorio reciba unidades muestra-solicitud de examen de Papanicolaou en los laboratorios de citología que funcionan en el contexto del Programa de Cáncer Cérvico Uterino.

Se puede decir que este proceso finaliza exitosamente si se alcanza lo siguiente:

a) Seguridad

Mantener durante todo el proceso la identidad o concordancia entre la solicitud - muestra - paciente - informe de resultados para el total de las unidades.

b) Efectividad

Los resultados de los exámenes de Papanicolaou informados por el laboratorio corresponden a las laminillas y son válidos. Esto quiere decir que si una muestra tiene células preinvasoras o invasoras, éstas deben ser detectadas como tales y traducirse en el diagnóstico; por el contrario, si una muestra carece de ellas, el laboratorio debe establecer que el examen es negativo en cuanto a premalignidad o malignidad.

c) Adecuación

Los resultados de los exámenes de Papanicolaou se reportan con base en una clasificación de reporte universal o que sea homologable a las clasificaciones vigentes

d) Oportunidad

El tiempo de procesamiento de los exámenes de Papanicolaou hasta el reporte del resultado es razonable para efecto de las decisiones clínicas posteriores y satisfacción de las mujeres (21 días como máximo).

e) Continuidad en el registro de la información

Los resultados de los exámenes de Papanicolaou están registrados en el Sistema de información del laboratorio, para aportar información y apoyar el diagnóstico de la paciente y mejorar la calidad del laboratorio.

f) Continuidad en el resguardo de laminillas

Los exámenes de Papanicolaou informados están respaldados en el laboratorio por laminillas citológicas debidamente identificadas, debidamente teñidas, debidamente montadas, adecuadamente archivadas, recuperables fácilmente cuando se requieran y mantenidas por el tiempo requerido (cinco años para las laminillas negativas y permanentemente para las laminillas positivas) y apropiado a las necesidades del seguimiento de las pacientes.

g) Eficiencia

Los recursos del laboratorio se usan óptimamente para obtener exámenes de Papanicolaou de máxima calidad.

h) Satisfacción de los clientes

Los exámenes de Papanicolaou reportados y las consultas realizadas al personal del laboratorio, relacionado con dichos exámenes, satisfacen las necesidades y expectativas de los centros de salud y de los pacientes que son de responsabilidad del laboratorio.

i) Higiene y seguridad

El proceso de citodiagnóstico se realiza protegiendo la salud del personal del laboratorio y preservando el medio ambiente.

I. Objetivo del Manual

Establecer los lineamientos generales de operación que contribuyan a mejorar la calidad de los procesos y resultados que realiza tanto el personal secretarial, como el de capturistas, citotecnólogos, citólogos, técnicos en tinción y patólogos, en relación con la recepción, tinción, montaje, lectura e interpretación, archivo y control de calidad de las muestras citológicas de las mujeres atendidas en las unidades médicas de la Secretaría de Salud, para su procesamiento y la detección oportuna del cáncer cérvico-uterino.

II. Marco Jurídico

Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos.
D.O.F. 05/II/1917.
Ref. D.O.F. 03/II/1983, 07/IV/1986, 06/IV/1990, 27/VI/1990, 06/I/1992, 28/I/1992, 05III/1993, 20/VIII/1993, 03/XI/1993, 25/X/1993, 19IV/1994, 31/XII/1994, FE DE ERRATAS: 03/I/1995, 22/VIII/1996, 20/III/1997.

LEYES

Ley General de Salud.
D.O.F. 07/II/1984.
Ref: D.O.F. 27/V/1987, 23/XII/1987, 14/VI/1991, 07/V/1997.

Ley Federal de Responsabilidades de los Servidores Públicos.
D.O.F. 31/XII/1984.
Ref. D.O.F. 11/I/1991, 21/VII/1992, 10/I/1994, 12/XII/1995, 24/XII/1996, 04/XII/1997.

Ley Orgánica de la Administración Pública Federal
D.O.F. 29-XII-1992
Ref...

REGLAMENTOS

Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Prestación de Servicios de Atención Médica.
D.O.F. 14/V/1986.

Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud.
D.O.F. 06/I/1987.

Reglamento Interior de la Comisión Interinstitucional para la Formación de Recursos Humanos para la Salud.
D.O.F. 28/XI/1987.

Reglamento Interno de la Comisión Nacional de Arbitraje Médico.
D.O.F. 12/X/1996.
Aclaración D.O.F- 07/X/1996.

Reglamento Interior de la Secretaría de Salud.
D.O.F. 06/XII/1997.

DECRETOS

Decreto por el que la Secretaría de Salubridad y Asistencia organizará el registro Nacional de Cáncer, como programa permanente destinado a la prevención información y asesoría en la lucha contra el cáncer.
D.O.F. 14/XI/1982.

ACUERDOS DEL SECRETARIO.

Acuerdo No. 71.
Por el que se crea el sistema de capacitación y Desarrollo del Sector Salud.
D.O.F. 20/IV/1987.

Acuerdo No. 79.
Relativo a la aplicación, instrumentación y actualización del manual para la referencia y contrarreferencia de pacientes y envió de muestras y especímenes.
D.O.F. 22/IX/1988.

NORMAS OFICIALES MEXICANAS.

Norma Oficial Mexicana NOM/014/SSA2/1994, para la prevención, tratamiento y control del cáncer del cuello del útero (modificada, en 2006).

Norma Oficial Mexicana NOM -017-SSA2-1994, Para la Vigilancia Epidemiológica.

Norma Oficial Mexicana NOM-168-SSA1-1998, Del expediente clínico

NOM 087-ECOL-SSA1-2002 Para el manejo de residuos peligrosos biológico infecciosos.

NOM -005-STPS-1998 Condiciones de seguridad e higiene en los centros de trabajo para el manejo, transporte y almacenamiento de sustancias químicas peligrosas.

1. Procedimiento para la Recepción de Laminillas de las Muestras de Citología Cérvico Uterina

1.0 Propósito

Establecer cada una de las actividades que debe realizar el personal secretarial, administrativo y de apoyo, para hacer la recepción de muestras de citología cérvico uterina de manera adecuada en los laboratorios de citología de la Secretaría de Salud.

2.0 Alcance

2.1 A nivel interno el procedimiento es aplicable en los laboratorios de citología cérvico uterino de cada una de las entidades federativas.

2.2 A nivel externo el procedimiento es aplicable a los laboratorios de citología cérvico uterino, que son responsabilidad de la Secretaría de Salud.

3.0 Políticas de operación, normas y lineamientos

3.1 La Norma Oficial Mexicana NOM 014 SSA2-1994, para la prevención, detección, diagnóstico, tratamiento y vigilancia epidemiológica (modificada en 2006), es un documento técnico de observancia obligatoria para todas las unidades de los sectores público, social y privado a nivel nacional, por lo que las actividades y tareas en el laboratorio de citología encuentran su sustento en ella básicamente.

3.2 La vigilancia para la aplicación de los lineamientos respecto a la entrega recepción de las solicitudes y laminillas en los laboratorios de citología cérvico uterina corresponde a la Secretaría de Salud tanto del nivel federal como estatal, en sus respectivos ámbitos de competencia.

3.3 El jefe o coordinador del laboratorio deberá verificar que el personal encargado de la recepción de las muestras citológicas realice las actividades correspondientes.

3.4 El incumplimiento de estas políticas y normas se sancionará conforme a la Ley Federal de Responsabilidades de los Servidores Públicos.

Recepción de muestras

Uno de los objetivos de la recepción es lograr que las muestras del examen de Papanicolaou sean representativas de las pacientes, adecuadamente recolectadas, preservadas, etiquetadas, transportadas y que los formatos de solicitud y reporte de resultados (FSRR) sean legibles y contengan toda la información definida como necesaria.

Así mismo, mantener un flujo relativamente estable en tiempo para optimizar la capacidad instalada del laboratorio, para no sobrecargar o subutilizar el laboratorio.

Si queremos que la recepción de muestras tenga éxito, se deberá realizar lo siguiente:

• El flujo de muestras - solicitud recibidas en cuanto a volumen y calendario, se deberá ajustar a la programación establecida.

• Toda muestra - solicitud que llegue al laboratorio debe cumplir con cada uno de los requisitos para ser aceptada en el laboratorio.

• Todas las muestras - solicitud deberán ser identificadas con un número único correlativo, en el laboratorio, manteniendo la correspondencia entre ambas (muestra solicitud).

• La recepción e identificación de muestras–solicitud, deberá quedar debidamente documentada en el sistema de información del laboratorio.

Un aspecto importante en cuanto a seguridad laboral es que:

La laminilla de la unidad muestra-solicitud contiene material biológico proveniente del cuello uterino y el personal del laboratorio deberá tomar las precauciones del caso cuando retire el material de los maletines o cajas, revise y de número a las muestras-solicitud.

Descripción del procedimiento

Secuencia de etapas	Actividad	Responsable
1.0 Recepción de laminillas de citología cérvico uterina. *Imagen 1*	1.1 Elaborar y establecer una calendarización para la recepción de los formatos de solicitud y entrega de resultados de todas aquellas jurisdicciones o unidades médicas de la entidad que sean responsabilidad del laboratorio.	Jefe o coordinador del laboratorio
	1.2 Recibir procedente de las unidades médicas y/o jurisdicciones la relación o nómina de envío de los formatos de solicitud (FSYRR) y reporte de resultados adjuntas a las laminillas de las muestras de citología cérvico uterinas. Se corroborará que las laminillas recibidas se ajusten en volumen, fecha y hora establecida.	Personal administrativo, técnico y auxiliares
	1.3 Proceder a abrir las cajas o maletines contenedores de las muestras-solicitud, para verificar el número total de unidades recibidas contra la nómina enviada por las unidades médicas, en donde se señalan los nombres de las pacientes cuyas muestras se envían y el total de láminas enviadas.	Personal administrativo, técnico y auxiliares
	1.4 Verificar que la laminilla adjunta al FSYRR corresponda a la paciente y esté marcada con las iniciales del nombre y apellidos de la mujer, fecha de la toma y unidad aplicativa.	Personal administrativo, técnico y auxiliares
	1.5 Verificar que los FSYRR contenga los datos completos de identificación de la paciente, y que estén debidamente llenados y legibles en los siguientes rubros: I. Identificación de la unidad; II. Identificación de la solicitante y III Antecedentes.	Personal administrativo, técnico y auxiliares
	1.6 Rechazar las muestras citológicas que estén rotas, estrelladas o maltratadas que no se puedan reparar, así mismo, cuando la laminilla esté separada de la solicitud y sin identificación o cuando el FSYRR no esté debidamente llenado, no esté completo o no sea legible la letra.	Personal administrativo, técnico y auxiliares

Descripción del procedimiento (continúa)

Secuencia de etapas	Actividad	Responsable
1.0 Recepción de laminillas de citología cérvico uterina. *Fig. 1*	1.7 Elaborar una relación de aquellas laminillas que hayan sido rechazadas y regresarlas a la jurisdicción o a la unidad según esté establecido en el ciclo logístico, y anotar el código y causa del rechazo, con la finalidad de que se vuelva a citar a la mujer y hacer nuevamente la toma.	Personal administrativo, técnico y auxiliares
	1.8. Cotejar la relación de envío de citologías de las unidades con cada una de las laminillas y los formatos de solicitud y reporte de resultado, para posteriormente firmar de común acuerdo la recepción.	Personal administrativo, técnico y auxiliares
	1.9 Registrar la entrada de cada estudio al laboratorio, numerando con una foliadora los FSYRR aceptados que ingresen a procesamiento diariamente. Este número es progresivo anual y deberá anotase el número en la libreta de control o a través del SICAM (Sistema de Información de Cáncer en la Mujer).	Personal administrativo, técnico y auxiliares
	1.10 Verificar que las jurisdicciones hayan capturado la información correspondiente en el formato de solicitud y reporte de resultados de citología cervical así: I. Identificación de la unidad; II. Identificación de la solicitante y III Antecedentes en el formato de solicitud y reporte de resultados de cada una de las laminillas a través del Sistema de Información de Cáncer en la Mujer, SICAM-PROCACU, y poder capturar la información correspondiente en el laboratorio.	Capturista
	1.11 Pasar todos los formatos de solicitud y reporte de resultados de citología cervical al personal que realiza la captura para ingresar la información al SICAM, antes de pasar las laminillas al área de tinción.	Personal administrativo, técnico y auxiliares

Descripción del procedimiento (continúa)

Secuencia de etapas	Actividad	Responsable
1.0 Recepción de laminillas de citología cérvico uterina. *Fig. 1*	1.12 Entregar al técnico en tinción o citotecnólogo las laminillas, colocar en una canastilla en orden correlativo con el número de registro citológico, acompañadas de su formato de solicitud y reporte de resultados y dar inicio a la tinción y el montaje. Cuidar de no ensuciar los formatos de solicitud y resultado.	Personal administrativo, técnico y auxiliares
	TERMINA PROCEDIMIENTO	

2. Procedimiento para la Tinción y Montaje de Laminillas de las Muestras de Citología Cérvico Uterina

1.0 Propósito

Establecer cada una de las actividades que debe realizar en los laboratorios de citología de la Secretaría de Salud, para realizar un proceso de calidad, el técnico en tinción o el citotecnólogo capacitado para la tinción y montaje de las muestras citológicas.

2.0 Alcance

2.1. A nivel interno el procedimiento es aplicable a los laboratorios de citología cérvico uterina de cada una de las entidades federativas.

2.2. A nivel externo el procedimiento es aplicable a los laboratorios de citología cérvico uterina, que son responsabilidad de la Secretaría de Salud.

3.0 Políticas de operación, normas y lineamientos

3.1. La Norma Oficial Mexicana NOM 014 SSA2-1994, para la prevención, detección, diagnóstico, tratamiento y vigilancia epidemiológica (modificada 2006), es un documento técnico de observancia obligatoria para todas las unidades de los sectores público, social y privado en el ámbito nacional, y las actividades y tareas en el laboratorio de citología encuentran su sustento básicamente en ella.

3.2. La vigilancia para la aplicación de los lineamientos respecto a la tinción y montaje en los laboratorios de citología cérvico uterina corresponde a la Secretaría de Salud tanto del nivel federal, como estatal, en sus respectivos ámbitos de competencia.

3.3. El director o coordinador del laboratorio deberá verificar que el personal encargado de la tinción y montaje de las muestras citológicas realice las actividades correspondientes.

3.4. El incumplimiento de estas políticas y normas se sancionará conforme a la Ley Federal de Responsabilidades de los Servidores Públicos.

Procedimiento: tinción y montaje

El área de tinción debe estar físicamente separada de otros espacios, con una excelente ventilación hacia el exterior, ya que debido a los contaminantes químicos, es una área de alto riesgo.

Deben estar señalizadas las medidas a tomar en caso de siniestro, debido a que muchas de las sustancias que aquí se manejan son inflamables, por lo que es importante contar con regadera antiincendios y extintores, y de igual manera, también debe contar con campana de extracción de gases tanto para la tinción, como para el montaje.

En cuanto a los insumos y material se recomienda sean de buena calidad, como: las cajas de vidrio, los cubreobjetos y porta objetos, etc.

Se podrá obtener una tinción de calidad si:
- Todas las laminillas aceptadas son procesadas en el tiempo establecido y se mantiene su integridad e identificación durante el proceso.
- Todas las laminillas se tiñen obteniendo una buena definición del detalle nuclear y una transparencia del citoplasma para poder observar la diferenciación celular.
- Todas las laminillas están montadas adecuadamente, lo que significa que el frotis está protegido de sequedad, del encogimiento y de desteñirse por la oxidación. Además, proporciona una imagen transparente en el microscopio.
- Las charolas para los citotecnólogos están preparadas correctamente, lo que significa que contienen el número de laminillas que corresponde, están libres entre sí (no pegadas) y colocadas en orden correlativo con el número de registro citológico.

Respecto a los colorantes se recomienda se compren listos para su uso:

- Colorante de Hematoxilina
- Colorante Orange G6
- Colorante EA 50

Se deberán tener los siguientes cuidados:

Verificar que las soluciones estén rotuladas indicando: fecha de compra, nombre de la solución, titulación, concentración, advertencias para su manejo y fecha de vencimiento.

Mantener los colorantes en envases oscuros, bien tapados porque son sensibles a la luz y se oxidan a temperatura ambiente.

El tren de tinción debe cambiarse cada 2000 laminillas teñidas o cada 6 u 8 semanas.

Se deberá realizar el mantenimiento general y específico de los colorantes, de la siguiente manera:

Mantenimiento general. Filtrar los colorantes cada ocho días; rutinariamente y cuando se requiera se hará diariamente, ésto deberá hacerse antes de usarlos, para remover cualquier material celular que se haya desprendido de las laminillas. Se podrá usar un papel filtro de mediana velocidad (Whatman N° 1).

Limpiar las cajas de todo residuo de colorante.

Controlar diariamente el nivel de las soluciones del tren de tinción para asegurar que las laminillas procesadas se cubran totalmente. Rellenar las cubetas con el colorante correspondiente.

El mantenimiento específico se refiere al cuidado de los tres colorantes de manera particular, y se detalla posteriormente en cada uno de los pasos correspondientes a su uso en el proceso de tinción.

Tinción
Es importante señalar que éste es un procedimiento que tiene variaciones e incluso preferencias personales en la coloración; para efectos de este manual se incluye la tinción de Papanicolaou modificada e incluye 24 pasos, y se refiere al método regresivo para la tinción nuclear.

La tinción de Papanicolaou es un método de tinción policrómico que consta de una tinción nuclear y un contraste citoplásmico. Tiene como ventaja una buena definición del detalle nuclear, evidenciando el patrón de cromatina; un aspecto transparente del citoplasma, que permite apreciar los grados de diferenciación celular y actividad metabólica.

La tinción de Papanicolaou utiliza tres colorantes: la Hematoxilina que tiñe selectivamente los núcleos, el Orange G y la Eosina Alcohol 50 que tiñe los citoplasmas. Los pasos de la tinción están entremezclados con soluciones que hidratan, deshidratan y enjuagan las células.

La hidratación antes de la inmerción en Hematoxilina puede ser gradual, usando alcohol en concentraciones decrecientes (80, 70, 50%) o abrupta, sumergiendo el material celular desde altas concentraciones de alcohol y al agua directamente.

El enjuague se realizara con agua corriente y/o agua destilada, pero siempre hay que verificar que el pH del agua se encuentre entre 6.5 y 7.

La tinción de Papanicolaou tiene cuatro pasos principales:

a. Fijación.
b. Tinción del núcleo con Hematoxilina.
c. Tinción de citoplasma con Orange G y EA.
d. Aclaramiento.

Tinción del núcleo
La Hematoxilina es un colorante natural que tiene afinidad por la cromatina.

Existen dos métodos para teñir el núcleo, el progresivo y el regresivo. En el método progresivo se tiñe el núcleo con la intensidad del color deseada y en el regresivo se sobretiñe con una Hematoxilina no acidificada, luego se remueve el exceso de tinción con ácido clorhídrico diluido. Después de algunos minutos en Hematoxilina las células son deshidratadas gradual o abruptamente antes de efectuar las tinciones de contraste.

Tinción del citoplasma
La tinción con Orange G es una tinción monocromática que colorea la queratina de un naranja brillante y penetra rápidamente al citoplasma. La queratina no se encuentra en condiciones normales en el epitelio cervical vaginal (se encuentra en carcinomas queratinizados).

La Eosina A 50 es una tinción policroma compuesta de Eosina, verde luz y café Bissmark. La Eosina tiñe el citoplasma de las células escamosas maduras, nucleolos y cilios. El verde luz tiñe las células que son metabólicamente activas, como las células parabasales, intermedias y columnares. Las células superficiales se tiñen rosadas con la Eosina y por ello se describen como eosinofílicas. Las células parabasales e intermedias se tiñen de verde azul, dependiendo del tiempo de la tinción EA y se llaman cianofílicas.

Aclaramiento.
Es el paso final de la tinción y produce la transparencia celular. Se suele usar Xilol como solución aclaradora.

Montaje de las láminas.
El montaje es la unión del portaobjetos con el cubreobjetos mediante resina sintética (en este caso), con el fin de obtener una muestra cubierta y protegida contra el secado y arrugamiento del material celular y sellado para evitar la oxidación de la muestra.

El medio o sustancia utilizada para el montaje debe ser soluble en el agente aclarante y debe tener un índice de refracción que coincida con la muestra y el cubreobjeto, logrando una imagen lo más transparente posible. Debe tener un pH neutro.

Inicio del procedimiento

Secuencia de etapas	Actividad	Responsable
2.0 Tinción de laminillas de citología cérvico uterina.	2.1 Recibir las laminillas en el área de tinción, reparar las laminillas que fueron aceptadas y preparar el tren de tinción.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.2 Teñir las laminillas con el método de Papanicolaou, esta tinción se realiza a base de alcoholes, agua corriente, ácido clorhídrico al 5%, Hematoxilina de Harris, Orange G6, Eosina Ácida 50 y Xilol.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.3 Teñir y montar al menos 700 laminillas durante la jornada.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
Fig. 2	2.4 Incluir 24 pasos para el tren de tinción, con sus respectivas cajas de tinción.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.5 Ubicar el tren de tinción en un lugar libre de la luz solar directa, debe haber ventilación adecuada. Cada una de las cajas de tinción que conforman el tren deben estar cerradas y debajo de la campana de extracción de gases.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.6 Retirar diariamente, antes de iniciar el proceso de tinción, con papel absorbente o filtrando la capa de aspecto metálico que se forma sobre la Hematoxilina.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.7 Mejorar la calidad de la Hematoxilina o "madurarla" agregando 5 ml de ácido acético glacial por cada litro de colorante.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.8 Filtrar cada ocho días los colorantes Orange y EA 50, ya que pierden su poder más rápidamente que la Hematoxilina. Reemplazar los colorantes cada semana, se deberá completar el volumen inicial con colorante nuevo. Si la coloración es pálida, o las células parecen grises, nebulosas o sin colores nítidos y contrastantes, cambiar todo el colorante. Si los colorantes no son de buena calidad se deberán filtrar diariamente.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado

Inicio del procedimiento (continúa)

Secuencia de etapas	Actividad	Responsable
2.0 Tinción de laminillas de citología cérvico uterina.	2.9 Potenciar la calidad de los colorantes Orange G y Eosina A50 al agregar 2 gr. de ácido fosfomolíbdico por cada litro de colorante.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.10 Reemplazar o desechar cada semana (dependiendo de su estado) los alcoholes usados para rehidratar o deshidratar las células antes de la tinción del citoplasma.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.11 Rotar los alcoholes utilizados después de la tinción del citoplasma, es decir, se descarta el alcohol que sigue a la tinción y los dos se mueven a la primera y segunda posición, y el alcohol nuevo se coloca en la tercera posición.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.12 Desechar los alcoholes de enjuague si están muy teñidos.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.14. Eliminar los contaminantes y residuos cambiando los alcoholes y los colorantes de acuerdo con las necesidades de cada laboratorio, previo lavado de las cajas de tinción.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.15 Reemplazar la solución de ácido clorhídrico al 0.5% diariamente o de acuerdo con las necesidades del laboratorio.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.16 Cambiar el Xilol si aparece teñido con colorantes del citoplasma.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.17 Iniciar la tinción colocando las laminillas numeradas correlativamente en el tren de tinción, ordenadas, y todas en la misma posición.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.18 Teñir las muestras colocadas en el tren de tinción bajo la campana de extracción de gases, según el método de Papanicolaou modificado, en cajas de tinción de cristal o de acero inoxidable con tapa hermética y con capacidad para 60 laminillas.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado

Inicio del procedimiento (continúa)

Secuencia de Etapas	Actividad	Responsable
2.0 Tinción de laminillas de citología cérvico uterina.	2.18 Verificar, al iniciar la tinción, que las laminillas no tengan más de 15 días de fijadas.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.19 Si las laminillas tienen más de 15 días de haberse fijado, realizar un lavado con agua corriente o sumergirlas en alcohol de 96° durante una hora, seguido por un lavado de agua destilada para retirar el fijador y obtener una buena calidad en la tinción.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.20 Evitar la dilución de los colorantes o la alteración de los alcoholes, para no contaminar. Escurrir la canastilla en papel absorbente cada vez que se pase de una caja de tinción a otra, sin llegar al secado del frotis.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.21 Cuidar que las laminillas estén cubiertas perfectamente con los colorantes, para lo cual hay que verificar que las laminillas no estén pegadas entre sí al momento de pasarlas por cada una de las 24 cajas de tinción.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.22 Vigilar que cada inmersión de las laminillas colocadas en la canastilla dure 1 o 2 segundos, efectuándose suavemente sin llegar a tocar la base de la caja de tinción, para que no se desprendan las células.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.23 Mantener las cajas de tinción tapadas el mayor tiempo posible durante el proceso de tinción.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.24 Mantener las laminillas en una caja de tinción con Xilol hasta el momento del montaje.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
Fig.3	**Inicio de la tinción.** 2.25 **1er Paso.** Sumergir las laminillas en la caja de tinción con alcohol etílico al 96°, haciendo 10 inmersiones.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado

Inicio del procedimiento (continúa)

Secuencia de Etapas	Actividad	Responsable
2.0 Tinción de laminillas de citología cérvico uterina. *Fig. 4*	2.26 **2° Paso.** Pasar la canastilla por agua corriente, hasta que el agua se aclare, posteriormente dejar escurrir la canastilla.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.27 **3er Paso**. Sumergir las laminillas en la caja de tinción con agua destilada, haciendo 10 inmersiones.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
Fig. 5	2.28 **4° Paso.** Sumergir en la caja de tinción con Hematoxilina de 2 a 5 minutos	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
Fig. 6 y 7	2.29 **5° Paso.** Pasar las laminillas por agua corriente, hasta que el agua se aclare, posteriormente dejar escurrir la canastilla.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
Figs. 7 a 10	2.30 **6° Paso.** Fraccionamiento: sumergir la canastilla en la caja de tinción con ácido clorhídrico + alcohol etílico de 96°, haciendo de 3-5 inmersiones.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
Figs. 11 a 14	2.31 **7° Paso.** Sumergir las laminillas en la caja de tinción con agua destilada, haciendo 10 inmersiones.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
Fig. 15	2.32 **8° Paso.** Sumergir la canastilla en la caja de tinción con alcohol etílico de 96°, haciendo10 inmersiones.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.33. **9° Paso.** Sumergir la canastilla en la caja de tinción con alcohol etílico de 96°, haciendo 10 inmersiones.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.34 **10° Paso.** Sumergir la canastilla en la caja de tinción con alcohol etílico de 96°, haciendo 10 inmersiones	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
Fig. 16 y 17	2.35. **11° Paso.** Sumergir la canastilla en la caja de tinción con colorante Orange G6, durante 1.5 a 6 minutos y dejar escurrir, según la calidad del colorante.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado

Inicio del procedimiento (continúa)

Secuencia de Etapas	Actividad	Responsable
2.0 Tinción de laminillas de citología cérvico uterina. *Figs.18 y 19*	2.36. **12° Paso.** Sumergir la canastilla en la caja de tinción con alcohol etílico de 96°, haciendo 10 inmersiones.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.37. **13° Paso.** Sumergir la canastilla en la caja de tinción con alcohol etílico de 96°, haciendo 10 inmersiones.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.38. **14° Paso.** Sumergir la canastilla en la caja de tinción con alcohol etílico de 96°, haciendo 10 inmersiones.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
Figs. 20 a 23	2.39. **15° Paso.** Sumergir la canastilla en la caja de tinción con el colorante Eosina A 50, durante 1.5 a 6 minutos y dejar escurrir. Para el tiempo hay que considerar la calidad de los colorantes.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
Fig. 24	2.40. **16° Paso.** Sumergir la canastilla en la caja de tinción con alcohol etílico de 96°, haciendo 10 inmersiones.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.41. **17° Paso.** Sumergir la canastilla en la caja de tinción con alcohol etílico absoluto, haciendo 10 inmersiones.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.42. **18° Paso.** Sumergir la canastilla en la caja de tinción con alcohol etílico absoluto, haciendo 10 inmersiones.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.43. **19° Paso.** Sumergir la canastilla en la caja de tinción con alcohol etílico absoluto, haciendo 10 inmersiones.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
Fig. 25	2.44. **20° Paso.** Sumergir la canastilla en la caja de tinción con Xilol, durante 10 minutos.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.45. **21° Paso.** Sumergir la canastilla en la caja de tinción con Xilol, durante 10 minutos.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado

Inicio del procedimiento (continúa)

Secuencia de Etapas	Actividad	Responsable
2.0 Tinción de laminillas de citología cérvico uterina.	2.46. **22° Paso.** Sumergir la canastilla en la caja de tinción con Xilol, durante 10 minutos y escurrir el excedente.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.47 **23° Paso.** Sumergir la canastilla en la caja de tinción con Xilol, durante 10 minutos.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.48 **24° Paso.** Sumergir la canastilla en la caja de tinción con Xilol, durante 10 minutos y escurrir el excedente.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
Montaje de laminillas de citología cérvico uterina. *Fig. 26*	**Montaje** 2.49 Realizar todo el procedimiento de montaje de laminillas, bajo la campana de extracción de gases; el técnico debe colocar sólo las manos y antebrazos bajo la campana.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.50. Tomar, bajo la campana de extracción de gases, la laminilla teñida por el extremo esmerilado y retirarla de la canastilla.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.51. Revisar que esté seca la parte posterior de la muestra, antes de iniciar el montaje.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.51 Utilizar resina de secado rápido disuelta en tolueno para hacer el montaje.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.52 Aplicar una gota de resina sobre el portaobjetos 22 x 45 mm y colocar sobre éste el cubreobjetos.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.53 Tomar por el extremo esmerilado la laminilla, apoyar el borde opuesto sobre papel absorbente para que escurra y luego adosarla al cubreobjeto con resina.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.54 Dar uno o dos golpecitos suaves en el borde de la lámina recién montada sobre el papel absorbente y colocarla sobre éste ordenadamente.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado

Inicio del procedimiento (continúa)

Secuencia de Etapas	Actividad	Responsable
Montaje de laminillas de citología cérvico uterina.	22.55 Cuidar que al realizar el montaje no se formen burbujas, ni se agregue resina en exceso.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.56 Limpiar con gasa los bordes y la cara no adherida de la laminilla montada y dejarla ordenadamente de acuerdo con su número, sobre papel absorbente, separadas unas de otras, para evitar que se peguen.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.57 Rotular con pluma de tinta indeleble, anotando el número consecutivo de entrada al laboratorio.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.58 Distribuir las laminillas teñidas y montadas por orden numérico en charolas según capacidad, cuidando que queden algo separadas para que no se peguen con la resina.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.59 Colocar en las charolas las solicitudes de examen citológico de las laminillas respectivas, ordenadas de acuerdo con su numeración asignada.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	2.60 Distribuir 56 laminillas por citotecnólogo por día).	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	Vigilar que los laboratorios tengan jornada de trabajo de lunes a viernes, en turnos continuos, de 8 hrs. diarias; se recomienda no tener jornada acumulada en sábados y domingos, con la finalidad de tener un mejor control de calidad tutelar.	Técnico en tinción o citotecnólogo capacitado
	TERMINA PROCEDIMIENTO	

3. Procedimiento para la Lectura e Interpretación de la Citología Exfoliativa Cérvico Uterina

1.0 Propósito

1.1 Establecer cada una de las actividades que debe realizar el citotecnólogo, citólogo o citopatólogo, para la lectura e interpretación de muestras de citología exfoliativa cérvico uterina en los laboratorios de citología de la Secretaría de Salud.

2.0 Alcance

2.1 A nivel interno el procedimiento es aplicable en los laboratorios de citología cérvico uterina de cada una de las entidades federativas.

2.2 A nivel externo el procedimiento es aplicable a los laboratorios de Citología Cérvico Uterina, que son responsabilidad de la Secretaría de Salud.

3.0 Políticas de operación, normas y lineamientos

3.1 La Norma Oficial Mexicana NOM 014 SSA2-1994 para la prevención, detección, diagnóstico, tratamiento y vigilancia epidemiológica (modificada en 2006), es un documento técnico de observancia obligatoria para todas las unidades de los sectores público, social y privado en el ámbito nacional, por lo que las actividades y tareas en el laboratorio de citología encuentran su sustento en ella básicamente.

3.2 La vigilancia para la aplicación de los lineamientos respecto a la lectura e interpretación en los laboratorios de Citología Cérvico Uterina corresponde a la Secretaría de Salud tanto del nivel federal como estatal, en sus respectivos ámbitos de competencia.

3.3 El director o el encargado del laboratorio tiene la obligación de verificar que el personal encargado de la lectura e interpretación de las muestras citológicas realice las actividades correspondientes.

3.4 El incumplimiento de estas políticas y normas se sancionará conforme ala Ley Federal de Responsabilidades de los Servidores Públicos.

Interpretación o resultado preliminar

Este paso consiste en proporcionar una interpretación o resultado citológico preliminar, que distinga entre los frotis inadecuados, insatisfactorios, negativos, y los anormales, mediante la observación al microscopio de las muestras en laminillas ya teñidas y montadas.

El resultado citológico incluye los siguientes aspectos:

a) Validación de la calidad de la muestra.
b) Detección de cambios premalignos.
c) Detección de malignidad.

Si deseamos que este paso finalice de manera exitosa habrán de considerarse los siguientes aspectos:

- Proporcionar una interpretación de resultado citológico preliminar, exacto y oportuno, expresada de acuerdo con la clasificación diagnóstica vigente, utilizando los antecedentes contenidos en el formato, así como, en el archivo de sus laminillas y la información capturada en el sistema de información en relación con la solicitud de la misma paciente.
- Mantener la identidad de la muestra-solicitud al momento de registrar el resultado citológico en la solicitud respectiva, y responsabilizarse del resultado o interpretación preliminar del laboratorio.
- Retroalimentar sobre la calidad de la toma de la muestra a las unidades médicas, para mejorar el procesamiento de la laminilla en el laboratorio.

Área

La observación de muestras citológicas se realizará en un área idealmente estructurada en forma modular, aislada con paneles, con una superficie de trabajo de 60 m2 mínima, no reflejante, adecuada para poner y operar el microscopio, colocar la charola de laminillas y poder registrar en los formatos de solicitud y resultado. Esta área debe contar con buena iluminación natural y adecuada ventilación.

Es deseable que los citotecnólogos y citopatólogos cuenten con un microscopio de co-observación binocular con oculares 10X de campo amplio y objetivos de 4x, 10x 40x y 100 x para apoyar la educación continua.

El personal necesita lápices para registrar el citodiagnóstico en la solicitud y lápices de tinta indeleble para puntear las laminillas positivas o sospechosas.

Es ideal contar con 5 a 8 citotecnólogos por un citopatólogo o patólogo.

Secuencia de etapas	Actividad	Responsable
3.0 Lectura e interpretación de laminillas de citología cérvico uterina.	3.1 Al iniciar la jornada, se debe recibir la charola de laminillas procesadas con su legajo de solicitudes y hojas de antecedentes respectivas.	Citotecnólogos, citólogos y patólogos
	3.2 Decidir en que casos se solicitará revisión de estudios citológicos previos al archivo para anexarlos a los casos con resultado positivo o de atipia, para la observación conjunta con la laminilla actual.	Citotecnólogos, citólogos y patólogos
Imagen 2	3.3 Preparar el microscopio para iniciar la observación de las laminillas. Retirar el forro protector, encender el microscopio, alejar los objetivos del microscopio de la platina y colocar el objetivo de 10X en posición para observar.	Citotecnólogos, citólogos y patólogos
	3.4 Colocar en la platina del microscopio la laminilla con la superficie del cubreobjetos hacia arriba.	Citotecnólogos, citólogos y patólogos
Fig.27	3.5 Revisar cada laminilla sistemáticamente, con un barrido de forma lineal sobre toda la laminilla, para evitar áreas sin leer, aumentando a 40X las áreas detectadas como anormales.	Citotecnólogos, citólogos y patólogos
	3.6 Tomar la laminilla y cotejar el número de la laminilla con el número de la solicitud y reporte de resultado; esto mismo debe hacerse antes de anotar el resultado en el formato.	Citotecnólogos, citólogos y patólogos
	3.7 Leer las laminillas de acuerdo con el orden de sus números asignados, para disminuir la probabilidad de errores de identificación.	Citotecnólogos, citólogos y patólogos
	3.8 Buscar sistemáticamente evidencia de procesos reactivos o reparativos, microorganismos o células premalignas o malignas, aisladas o en grupo, y otros.	Citotecnólogos, citólogos y patólogos
	3.9 Observar con el objetivo de 40X las células alteradas.	Citotecnólogos, citólogos y patólogos

(continúa)

Secuencia de etapas	Actividad	Responsable
3.0 Lectura e interpretación de laminillas de citología cérvico uterina.	3.10 Con un marcador con tinta indeleble marcar con un punto ("puntear") o rodear con un circulo el lugar de la laminilla donde se observan células alteradas.	Citotecnólogos, citólogos y patólogos
	3.11 Cabe mencionar que cada laminilla se debe leer en un tiempo de entre 5 a 8 minutos.	Citotecnólogos, citólogos y patólogos
	3.12 Leer al menos nueve laminillas por hora, lo que equivale a leer ocho mil citologías por año; si el laboratorio no contara con técnico en tinción, el citotecnólogo podrá leer al menos 40 lamillas. Es conveniente aclarar que por cada tres citotecnólogos debe existir un técnico en tinción.	Citotecnólogos, citólogos y patólogos
	3.13 Cumplir por parte del citotecnólogo o citólogo con una lectura de al menos 56 laminillas /día.	Citotecnólogos, citólogos y patólogos
	3.14 Mantener su material de trabajo en buen estado, así como el microscopio asignado.	Citotecnólogos, citólogos y patólogos
	3.15 Realizar la lectura citológica mediante un microscopio de luz binocular, con objetivos 10x, 20X, 40X y 100X.	Citotecnólogos, citólogos y patólogos
	3.16. Evaluar al inicio de la lectura las características generales del frotis, como: coloración, transparencia y cantidad de material celular a través del objetivo panorámico.	Citotecnólogos, citólogos y patólogos
	3.17 Verificar en la primera interpretación la adecuación del especimen en cuanto a cantidad, tipo de células y visualización de las mismas.	Citotecnólogos, citólogos y patólogos
	3.18 Valorar si la muestra es adecuada o inadecuada. Si la muestra es inadecuada, especificar en el formato de resultado por qué es inadecuada.	Citotecnólogos, citólogos y patólogos

(continúa)

Secuencia de etapas	Actividad	Responsable
3.0 Lectura e interpretación de laminillas de citología cérvico uterina.	3.19 Evaluar si la muestra es adecuada, la que se calificará de esta manera, es aquella laminilla que contiene alrededor de 8000 a 12000 células epiteliales escamosas.	Citotecnólogos, citólogos y patólogos
	3.20 Informar si está presente el componente de la zona de transformación, es decir, si se observan al menos 10 células endocervicales bien conservadas o células escamosas metaplásicas bien identificables.	Citotecnólogos, citólogos y patólogos
	3.21 Calificar como muestra inadecuada si se observa en la muestra: necrosis, artificios, sangre, inflamación o mala fijación en más de 75% de la muestra.	Citotecnólogos, citólogos y patólogos
	3.22 Revisar durante este procedimiento los rasgos nucleares con el objetivo 10X.	Citotecnólogos, citólogos y patólogos
	3.23 Calificar como adecuada cualquier muestra con células anormales, es decir, las laminillas con escaso contenido celular, exceso de sangre o abundante material inflamatorio, pero que contienen células alteradas no debe ser informada como inadecuada o insatisfactoria, sino como atípicas o positivas según sea el caso y ser referidas para revisión por el citopatólogo.	Citotecnólogos, citólogos y patólogos
Fig. 28	- 3.24 Identificar, durante la lectura, los cambios morfológicos celulares, considerando: - Células del epitelio endocervical y exocervical. - Células con alteraciones de tipo inflamatorio y cambios secundarios. - Agentes patógenos. - Cambios sugerentes de infección por virus del papiloma humano. - Células con alteraciones correspondientes a lesión de alto o bajo grado (displasias o NIC). - Células con alteraciones correspondientes a malignidad.	Citotecnólogos, citólogos y patólogos

(continúa)

Secuencia de etapas	Actividad	Responsable
3.0 Lectura e interpretación de laminillas de citología cérvico uterina.	3.25 Emitir el resultado utilizando la nomenclatura establecida en la NOM 014-SSAA2-1994 (modificada, 2006). Durante este procedimiento un paso fundamental será revisar la muestra con el objetivo 10x y la morfología nuclear con el objetivo 40x.	Citotecnólogos, citólogos y patólogos
	3.26 Registrar el resultado del estudio citológico en el formato de solicitud y reporte de resultados de citología cérvico uterina, verificando que corresponda el número de la laminilla con el número del formato.	Citotecnólogos, citólogos y patólogos
	3.27 Cuidar de no diferir, para otro día, la lectura de las laminillas asignadas para la jornada del día.	Citotecnólogos, citólogos y patólogos
	3.28 Registrar en cada uno de los rubros correspondientes del Formato de Solicitud y reporte de resultados, los datos que corresponden al laboratorio: Apartado IV RESULTADO DE CITOLOGÍA CERVICAL, que comprende lo siguiente: - Número citológico. - Características de la muestra. - Diagnóstico citológico. - Hallazgos adicionales. - Repetir estudio. - Motivo. - Nombre del citotecnólogo y RFC. - La muestra fue revisada por el citopatólogo o patólogo. - Observaciones Nombre del patólogo o citopatólogo, firma y RFC .	Personal administrativo secretarial
	3.29 Concluida la lectura, regresar las laminillas al área de archivo, junto con sus formatos correspondientes	Citotecnólogos

(continúa)

Secuencia de etapas	Actividad	Responsable
3.0 Lectura e interpretación de laminillas de citología cérvico uterina.	3.30 Todas aquellas laminillas identificadas como "casos problema" deberán registrarse en una libreta de control, para ser revisadas y analizadas en las reuniones de retroalimentación y archivarlas por separado.	Citotecnólogos, citólogos y patólogos
	3.31 Al final de este procedimiento se deberán archivar las laminillas; si las laminillas corresponden a mujeres subsecuentes, se deberán archivar juntas.	Citotecnólogos, citólogos y patólogos
	TERMINA PROCEDIMIENTO	

4. Procedimiento para Realizar el Control de Calidad Interno

1.0 Propósito

1.1. Establecer cada una de las actividades que debe realizar el citólogo o patólogo, para el control de calidad interno de las muestras de Citología Exfoliativa Cérvico Uterina en los laboratorios de citología de la Secretaría de Salud.

2.0 Alcance

2.1 A nivel interno el procedimiento es aplicable en los laboratorios de citología cérvico uterina de cada una de las entidades federativas.

2.2 A nivel externo el procedimiento es aplicable a los laboratorios de citología cérvico uterina, que son responsabilidad de la Secretaría de Salud.

3.0 Políticas de operación, normas y lineamientos

3.1 La Norma Oficial Mexicana NOM 014 SSA2-1994 (modificada, 2006) para la prevención, detección, diagnóstico, tratamiento y vigilancia epidemiológica, es un documento técnico de observancia obligatoria para todas las unidades de los sectores público, social y privado en el ámbito nacional, por lo que las actividades y tareas en el laboratorio de citología encuentran su sustento en ella básicamente.

3.2 La vigilancia para la aplicación de la normatividad respecto a la lectura e interpretación en los laboratorios de citología cérvico uterina corresponde a la Secretaría de Salud tanto del nivel federal como estatal, en sus respectivos ámbitos de competencia.

3.3 El director o coordinador del laboratorio deberá verificar que el personal encargado de la lectura e interpretación de las muestras citológicas, realice las actividades correspondientes.

3.4 El incumplimiento de estas políticas y normas se sancionará conforme a la Ley Federal de Responsabilidades de los Servidores Públicos.

Control de calidad interno

Para dar una interpretación o resultado definitivo será necesario observar una o más veces un conjunto de laminillas que ya tienen un resultado prelimar y dar un resultado definitivo. El objetivo de este paso es reducir el error de la interpretación o resultado.

Para lo cual es importante hacer las consideraciones siguientes:

- ¿Cuántas laminillas actuales del total se vuelven a observar?
- ¿Cuáles de estas laminillas se observan de nuevo?
- ¿Cuáles de estos casos se someten a reobservación de sus laminillas antiguas?
- ¿Cuántas veces se reobserva una laminilla?
- ¿Con qué metodología se reobserva?

Actualmente no es posible conocer el efecto de las distintas combinaciones que realiza el evaluador; en este caso, el patólogo o citópatólogo, sin embargo, las guías citológicas elaboradas por expertos coinciden en señalar que:

Todas las laminillas con interpretación o resultado preliminar positivo (premalignas o malignas) deben ser reobservadas por el patólogo o citopatólogo que es el responsable del resultado definitivo.

Un grupo de laminillas correspondientes a pacientes con factores de riesgo para cáncer cervical de acuerdo con los antecedentes especificados en la solicitud del examen y/o la historia citológica previa, es conveniente que sean observadas nuevamente.

Este paso del proceso será exitoso si:

- Se mantiene la identidad de la muestra–solicitud, al registrar la interpretación o resultado definitivo en la solicitud respectiva y se identifica el responsable del resultado en la solicitud.
- Se produce un citoresultado definitivo correcto, oportuno, usando los antecedentes y la historia citológica previa de la paciente
- Se comunica a los citotecnólogos las discrepancias encontradas entre la interpretación o resultado preliminar y el definitivo, y se realiza una revisión conjunta o retroalimentación para mejorar las habilidades diagnósticas de los citotecnólogos.

Secuencia de etapas	Actividad	Responsable
4. Control de calidad interno para la interpretación de laminillas de citología cérvico uterina.	4.1 Iniciar este paso cuando esté lista la charola de laminillas seleccionadas con base en los criterios del laboratorio y que tengan un diagnóstico preliminar.	Citólogos o patólogos
	4.2 Recibir la charola de laminillas seleccionadas con su legajo de solicitudes ya con diagnóstico preliminar, así como laminillas antiguas de casos positivos o aquellas que procedan de acuerdo con lo establecido.	Citólogos o patólogos
	4.3 Preparar el microscopio para iniciar la observación de las laminillas. Retirar el forro protector, encender el microscopio, alejar los objetivos del microscopio de la platina y colocar el objetivo de 10X en posición para observar.	Citólogos o patólogos
	4.4 Tomar las laminillas y cotejar el número con el de la solicitud y reporte de resultado, esto mismo debe hacerse antes de anotar el resultado en el formato.	Citólogos o patólogos
	4.5 Leer las laminillas de acuerdo con el orden de sus números asignados para disminuir la probabilidad de errores de identificación.	Citólogos o patólogos
	4.6 Colocar en la platina del microscopio la laminilla con la superficie del cubreobjetos hacia arriba.	Citólogos o patólogos
Fig. 29	4.7 Observar, con el objetivo de 10X, la laminilla con movimientos ordenados en zigzag horizontales o verticales.	Citólogos o patólogos
	4.8 Buscar sistemáticamente células premalignas o malignas, aisladas o en grupo, evidencias de procesos reactivos o reparativos, microorganismos y otros.	Citólogos o patólogos

(continúa)

Secuencia de etapas	Actividad	Responsable
4. Control de calidad interno para la interpretación de laminillas de citología cérvico uterina.	4.9 Observar las áreas ya marcadas de la laminilla y si corresponde marcar nuevas áreas o partes específicas de las ya señaladas, teniendo cuidado de no obscurecer con la marca el material celular significativo.	Citólogos o patólogos
	4.10. Emitir el resultado utilizando la nomenclatura establecida en la NOM 014-SSAA2-1994 para la prevención, detección, diagnóstico, tratamiento, control y vigilancia epidemiológica del cáncer cérvico uterino (modificada en 2006).	Citólogos o patólogos
	4.11 Registrar el resultado del estudio citológico en el formato de solicitud y reporte de resultados de citología cérvico uterina, verificando que corresponda el número de la laminilla con el número del formato.	Citotecnólogos calificados y citólogos o patólogos entrenados.
	4.12 Marcar la laminilla con una línea con lápiz rojo permanente en la zona esmerilada debajo el número del registro citológico si el diagnóstico es positivo a lesiones premalignas o malignas.	
	4.13 Registrar en el formato de solicitud el diagnóstico citológico, fecha del diagnóstico y el RFC del patólogo responsable del diagnóstico definitivo.	
	4.14 Continuar con la laminilla siguiente de la charola y así sucesivamente hasta finalizar.	
	4.15. Realizar el control de calidad interno a través de los siguientes mecanismos: - Supervisión directa. - Evaluación de la consistencia del resultado. - Monitoreo estadístico del resultado. - Revisión aleatoria de las muestras negativas. - Revisión absoluta de las muestras positivas. - Correlación cito-histológica. - Revisión rápida.	

(continúa)

Secuencia de etapas	Actividad	Responsable
4. Control de calidad interno para la interpretación de laminillas de citología cérvico uterina.	4.16 Se realizará por parte de los citotecnólogos la supervisión directa, efectuando la revisión de todos aquellos casos de citologías dudosas y positivas que existan; esto deberá hacerse el mismo día cuando se efectúa la lectura rutinaria de las laminillas.	Citotecnólogos calificados y citólogos o patólogos entrenados.
	4.17. Evaluar la consistencia del resultado, ésta se realizará por el personal que efectúa el control de calidad, cuando en el total de laminillas se tenga una proporción grande de resultados anormales. Esta evaluación se efectúa mediante la comparación de los resultados dados a la o a las laminillas por dos o más individuos o por el mismo citotecnólogo, en ocasiones diferentes.	Citotecnólogos calificados y citólogos o patólogos entrenados.
	4.18. Realizar el Monitoreo estadístico del diagnóstico. Éste es un procedimiento sencillo y poco costoso, y se hace confrontando el porcentaje de casos sospechosos y positivos diagnosticados por un citotecnólogo, con el porcentaje promedio del mismo tipo de diagnóstico en el volumen general del laboratorio.	Citotecnólogos calificados y citólogos o patólogos entrenados.
	4.19 Revisar el 20% de las laminillas negativas, seleccionadas aleatoriamente.	Citotecnólogos calificados y citólogos o patólogos entrenados.
	4.19 Revisar el 100% de las laminillas positivas. Este procedimiento se realiza estudiando, (como su nombre lo dice), el total de las muestras positivas.	Citotecnólogos calificados y citólogos o patólogos entrenados.
	4.20. Realizar la correlación cito-histológica. Este procedimiento se deberá realizar en coordinación entre el patólogo y el citotecnólogo, para lo cual el patólogo deberá validar o invalidar el resultado emitido por el citotecnólogo. Posterior a esta evaluación, deben realizarse reuniones sobre correlación cito-histológica, que sirva de retroalimentación al equipo.	Citotecnólogos calificados y citólogos o patólogos entrenados.

(continúa)

Secuencia de etapas	Actividad	Responsable
4. Control de calidad interno para la interpretación de laminillas de citología cérvico uterina.	4.21. Realizar la segunda re-revisión rápida de todos los casos negativos, o de los que se pensó que estaban libres de enfermedad en la evaluación inicial. El procedimiento se efectúa recorriendo toda la superficie de la laminilla; este recorrido deberá estar previamente establecido, en un tiempo de 30 a 50 segundos y utilizando el objetivo de 10X.	Citotecnólogos calificados y citólogos o patólogos entrenados.
	4.22 Separar los casos que se hayan identificado con alguna alteración, sin detenerse a precisar un diagnóstico final, ya que posteriormente serán revisados minuciosa y definitivamente por un supervisor que tiene el entrenamiento para realizar esta actividad.	
	4.23 Dejar la charola de referencia en el lugar asignado cuando termine su jornada diaria; para que sean retiradas junto con sus respectivas solicitudes.	
	4.24 Al finalizar la jornada apagar el microscopio, dejarlo con su cubierta protectora.	
	4.25 Revisar semanal y mensualmente su producción de lectura, tanto en cantidad como en calidad y compararlo con sus pares.	
	4.26 Informar y revisar con los citotecnólogos en forma semanal y/o mensual las discordancias diagnósticas, entre el diagnostico preliminar y el diagnóstico definitivo.	
	TERMINA PROCEDIMIENTO	

Glosario de Terminos

Accesibilidad
Componente de la calidad de la atención a los pacientes que consiste en una medida de la facilidad con que el paciente puede obtener la atención o servicio en el lugar apropiado y en el momento apropiado, de acuerdo con sus necesidades.

Cáncer
Tumor maligno originado por la pérdida de control del crecimiento de las células, que puede invadir estructuras adyacentes o propagarse a sitios alejados y tener como resultado la muerte.

Cáncer invasor
Cualquiera de las etapas de carcinoma invasivo, desde aquellos diagnosticados sólo por microscopio, hasta las lesiones de gran magnitud con invasión al estroma, extensión a todo el órgano, órganos adyacentes y propagación a órganos distantes.

Cáncer in situ
De acuerdo con la definición de la Organización Mundial de la Salud (OMS), es una lesión en la que todo el epitelio o la mayor parte muestra el aspecto celular de carcinoma. No hay invasión del estroma subyacente.

Captura de híbridos
Prueba biomolecular, basada en la amplificación de la señal de híbridos en solución, in vitro, para detectar blancos de DNA o RNA.

Citopatología
Es una disciplina de la práctica de la medicina que se especializa en la interpretación de cambios morfológicos en las células, causados por procesos de enfermedad.

Citopatólogo
Médico que ejerce la especialidad de la citopatología.

Citotecnólogo
Tecnólogo médico que ejerce la especialidad de la citología.

Confiabilidad de un examen diagnóstico
Grado en que el examen da los mismos resultados en aplicaciones repetidas. Consistencia en mediciones repetidas de un mismo fenómeno. Siempre la medición de un fenómeno contiene una cierta cantidad de error aleatorio, por lo tanto al repetir una medición no se espera una cifra exactamente igual a la anterior, pero si una consistencia con la medición anterior.

Continuidad
Componente de la calidad de atención a los pacientes que consiste en la medida en que la atención o servicio provisto es interrumpido, coordinado, a través de programas, profesionales, organizaciones y niveles de atención o servicio, en el tiempo.

Correlación citohistológica
Consiste en comparar el o los informes citológicos positivos de los exámenes del Papanicolaou de una paciente, con el informe histopatológico final de la(s) biopsia(s) practicada(s) como consecuencia de la citología positiva. Para poder realizar la correlación cito-histológica el laboratorio de citología necesita acceder a los informes de resultados de biopsias y cortes histológicos correspondientes a los casos con citología positiva.

Discordancia o incongruencia diagnóstica
Una diferencia en la interpretación o resultado preliminar y el citodiagnóstico definitivo de la misma muestra de frotis cervical.

Efectividad
Componente de la calidad de la atención que considera la medida en que la atención o servicio, intervención o acción logra los resultados deseados.

Eficiencia
Componente de la calidad de la atención que considera la medida en que la atención o servicio, intervención o acción logra los resultados deseados, en términos de costo-beneficio.

Examen de Papanicolaou o Pap
Una técnica de detección del cáncer cérvico uterino en la cual se examinan al microscopio las células tomadas sistemáticamente del cuello del útero y se evalúan cambios morfológicos debidos a procesos de enfermedad, en busca de alteraciones precancerosas o cancerosas. Es el examen convencional usado en los programas de control de cáncer cérvico uterino.

Frotis de muestra inadecuada
Un frotis que por razones técnicas no puede ser interpretado en el laboratorio.

Interpretación o resultado preliminar
Es el diagnóstico habitualmente ejecutado por el citotecnólogo, producido en la primera revisión al microscopio del frotis cervical procesado. Involucra determinar la adecuación del frotis y detectar y marcar anormalidades o hechos significativos en el frotis y realizar una interpretación diagnóstica.

Interpretación o resultado definitivo
Es el diagnóstico final que se reporta en el informe de resultados del examen de Papanicolaou, generado como producto de una segunda revisión, o más revisiones, del frotis cervical procesado. Habitualmente es efectuado por citotecnólogo supervisor y/o patólogo/ citopatólogo, después del citodiagnóstico preliminar.

Interpretación o resultado reportado en el formato
Es la interpretación o resultado que se reporta en el formato de solicitud y reporte de resultados del examen del Papanicolaou. Si ha existido un proceso de interpretación definitivo, el informe reportado corresponde al resultado definitivo. Si no ha existido una segunda o superior revisión, el informe reportado corresponde a la interpretación o resultado preliminar.

Lesión intraepitelial de bajo grado
Incluye los cambios celulares asociados al efecto citopático de la infección por el virus del papiloma humano (conocida como atípica koilocítica), restringida generalmente a la capa basal. Corresponde a estas lesiones la displasia leve/ NIC I.

Lesión intraepitelial de alto grado
Cambios celulares asociados a mitosis atípica, de moderada a intensa, que abarca todo el espesor del epitelio, incluyendo la capa basal. Corresponde a este tipo de lesiones las identificadas como displasia moderada, grave y cáncer *in situ*/ NIC II-III.

Muestra-Solicitud
Conjunto formado por una muestra y la solicitud de examen respectiva que se mantienen contiguos físicamente. En el caso del examen del Papanicolaou, está formado por el frotis cervical extendido en el portaobjetos y su respectiva solicitud de examen, generalmente unida mediante un *clip* al portaobjetos.

Normas
Instrumento o herramienta descriptiva o especificación estandarizada para la atención de la paciente promedio en una situación corriente.

Número de registro citológico
Es el número único y correlativo anual que se da a una determinada unidad muestra-solicitud cuando es recibida y aceptada en el laboratorio de citología.

Oportunidad
Componente de la calidad de la atención que consiste en la medida en la cual se presta atención o servicio en el momento cuando el paciente lo necesita. Algunos autores lo incluyen dentro del componente de accesibilidad.

Tamizaje de cáncer cérvico uterino
Prueba de detección masiva realizada de manera intencionada, con el objeto de identificar oportunamente individuos con una enfermedad o trastorno de salud específico.

Proceso
Es la agrupación en serie de todas las acciones usadas por un sistema para convertir las materias primas o la energía del ambiente en un resultado particular o producto que es usable, ya sea por el sistema mismo o por el medio

Procesamiento de muestra de frotis cervical
Etapa o paso del proceso de la interpretación, constituida básicamente por la tinción y montaje del frotis cervical.

RPC: (Reacción de la Polimerasa en Cadena)
Prueba biomolecular en la que el DNA blanco se amplifica selectivamente por medios enzimáticos, a través de ciclos repetidos de desnaturalización, hibridación del fragmento precursor y extensión de éste.

Retroalimentación
Información aportada donde se compara y analiza el resultado del proceso entre citotecnólogo-citopatólogo o patólogo

Revisión rápida del frotis cervical
Es una segunda revisión del frotis cervical, después del citodiagnóstico preliminar, realizada de acuerdo con un patrón de movimientos definidos y que consume menos de un minuto por lámina. Se aplica a frotis cervicales que tienen un resultado preliminar negativo, como estrategia para detectar falsos negativos y, por lo tanto, aumentar la exactitud diagnóstica.

Seguridad
Componente de la calidad de la atención a los pacientes proveedores que consiste en la medida en la cual los riesgos potenciales de una intervención o del ambiente son evitados o minimizados.

Solicitud y reporte de resultados de examen de citología cérvico vaginal o Papanicolaou
Formulario en papel (o electrónico) que acompaña a una muestra de frotis cervical. Contiene datos de identificación del centro de salud, del profesional que recolecta la muestra y del paciente, y es utilizado para solicitar al laboratorio un examen de Papanicolaou.

Tinción de Papanicolaou
Es un método de tinción policrómico que consta de una tinción nuclear y un contraste citoplasmático. Tiene una buena definición del detalle nuclear, evidenciando el patrón cromatínico de las células, un aspecto transparente de los citoplasmas y una diferenciación celular que permite apreciar grados de maduración celular y actividad metabólica. La tinción del Papanicolaou consta de cuatro pasos principales: a) fijación (realizada en el momento de tomar la muestra); b) tinción del núcleo con Hematoxilina; c) tinción del citoplasma con orange G y EA, y d) aclaración.

Virus del Papiloma Humano
Microorganismos virales que infectan la piel y las mucosas generalmente a través de contacto sexual, pudiendo producir alteraciones celulares epiteliales benignas o malignas. Varían en su tropismo tisular, en su asociación con distintas lesiones y en su potencial oncogénico.

Zona de transformación
Es el área comprendida entre el epitelio escamoso original y el epitelio columnar del cérvix uterino, dentro de la cual pueden identificarse diversos grados de maduración del epitelio metaplásico.

Bibliografía

Takahashi. Atlas, Color Citología del Cáncer, Takahashi. 2ª. Edición 1982/1985. Buenos Aires, Argentina: Ed. Panamericana.

Organización Panamericana de la Salud. Manual de procedimientos del laboratorio de citología, Washington DC: OPS; 2002.

Anexo

Procesos del Laboratorio de Citología Cérvico Uterina

Recepcion de Laminillas de Citología Cérvico Uterina

Elaborar una relación de laminillas que hayan sido rechazadas, cotejar la relación del envió de citologías, cotejar la entrada de cada estudio.

Imagen 1

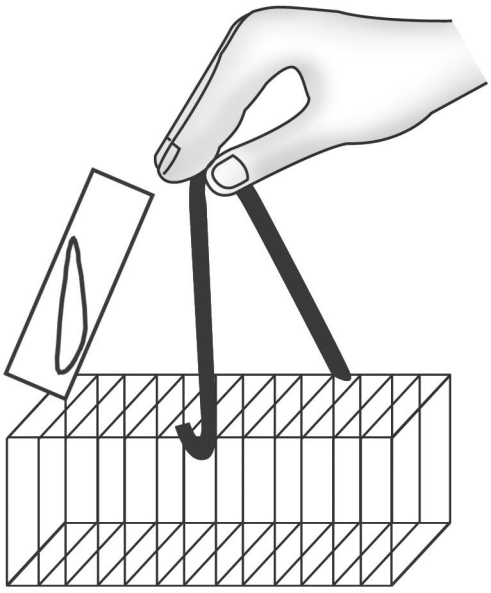


Fig. 1

Tren de Tinción

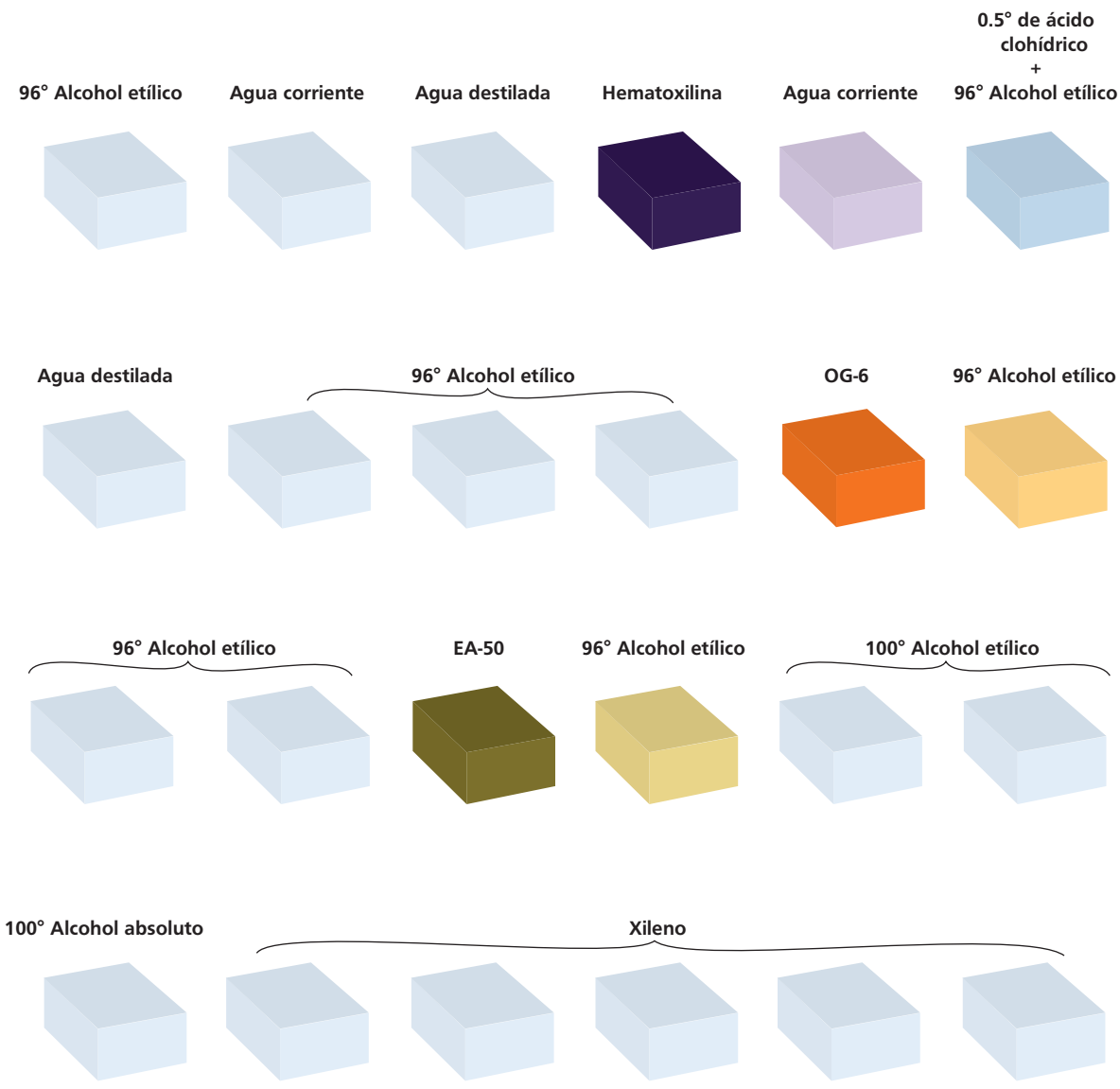


Fig. 2

Tinción de Papanicolaou Modificada

Procedimiento

Las muestras se sumergen en alcohol etílico de 96°, 10 inmersiones.

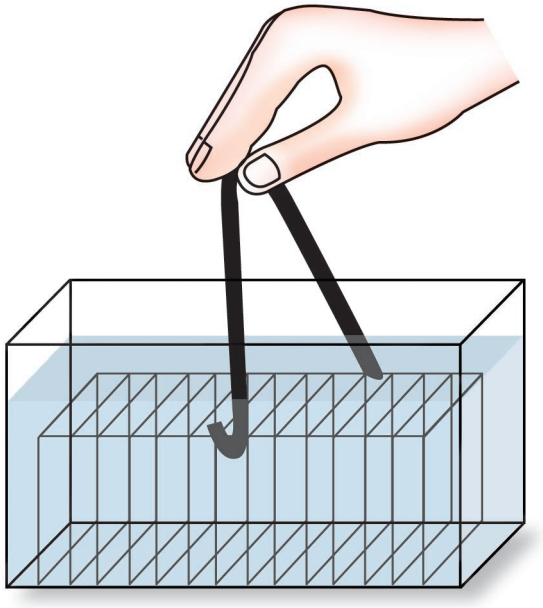


Fig. 3

Posteriormente se enjuaga con agua corriente y luego agua destilada, hasta que el agua se aclare.

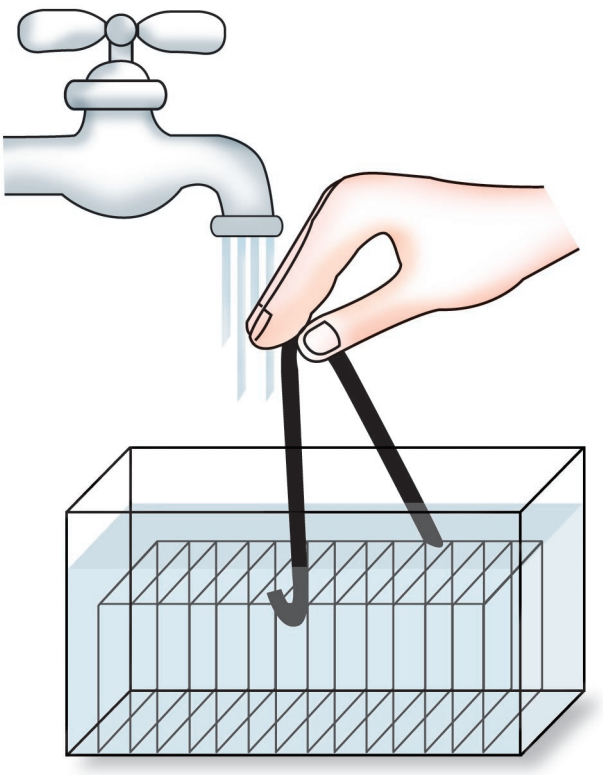


Fig. 4

Tinción con Hematoxilina

Hematoxilina de Harris (se sumerge de 2 a 5 minutos, dependiendo del colorante). En este paso la cromatina del núcleo se tiñe de oscuro con el colorante. La cromatina está constituida por finas cadenas de ácido desoxirribonucleico unidas a una proteína base. Por la fijación hay cambios en la histona del mismo, produciéndose la disolución del radical fosfórico del ADN el cual tiene carga negativa. Se logra la tinción por la unión del ADN con el radical fosfórico (-) y con Hematoxilina (+). El pH de la Hematoxilina y la tinción nos dan los radicales funcionales aniónicos, fraccionándose la cromatina nuclear.

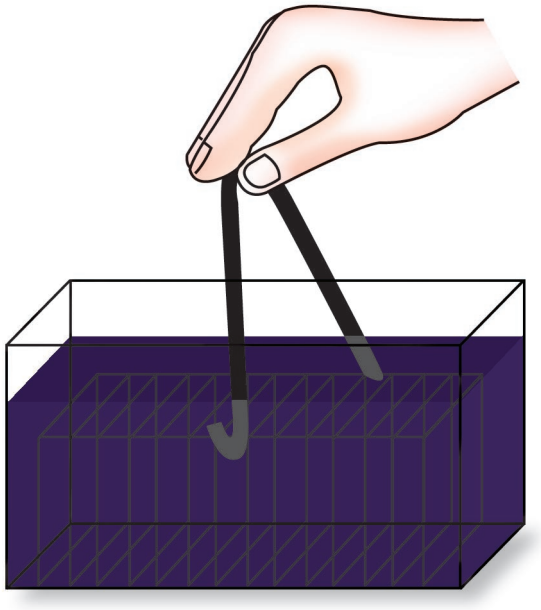


Fig. 5

La tinción recibe influencia del pH del agua, de la densidad del cloro y de la temperatura del líquido colorante.

A continuación se utiliza agua corriente (se lava con agua para eliminar del frotis el liquido de Hematoxilina sobrante).

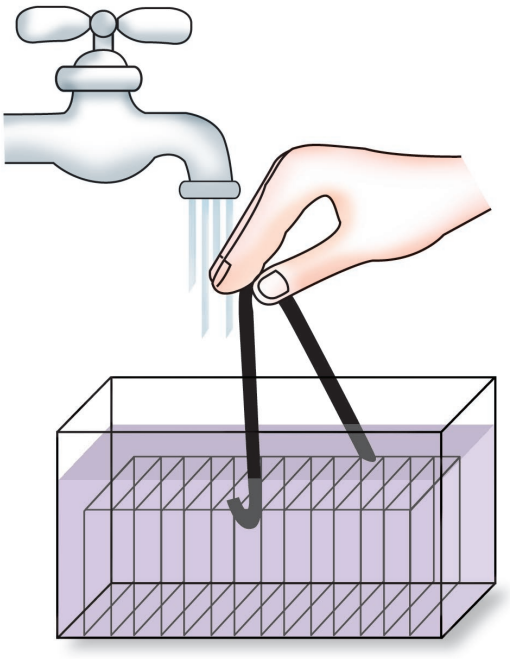


Fig. 6

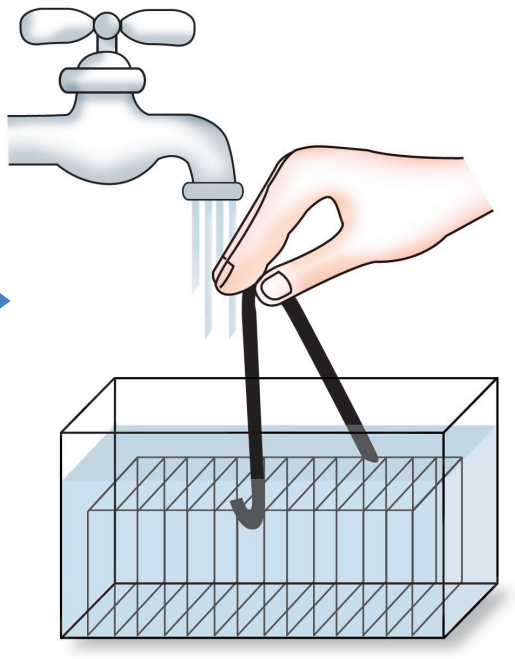


Fig. 7

Fraccionamiento

El paso de fraccionamiento se realiza con alcohol de ácido clorhídrico de 0.5° para eliminar la Hematoxilina sobrante que ha teñido conjuntamente tanto el núcleo, como el citoplasma.

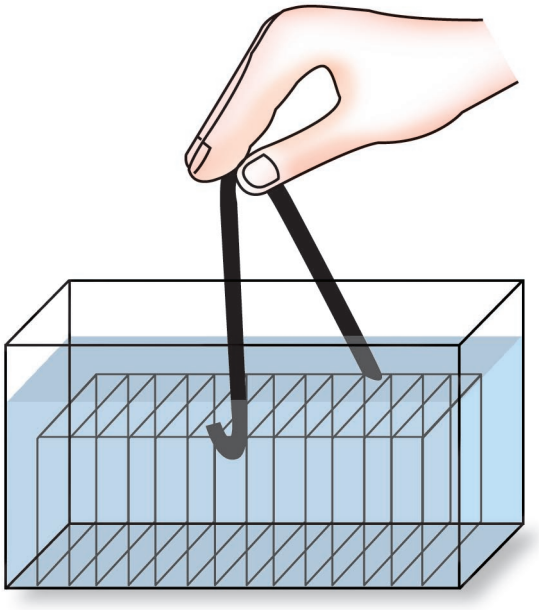


Fig. 7

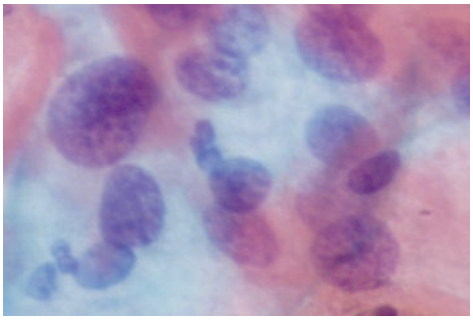


Fig. 8

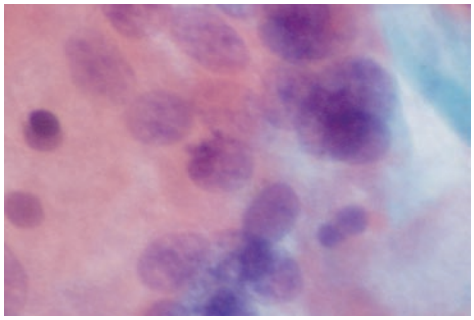


Fig. 9

Después de fraccionar en alcohol de ácido clohídrico, si se deja tal como está, las partes teñidas cambian a color pardo-rojo y, además, tienden a decolorarse.

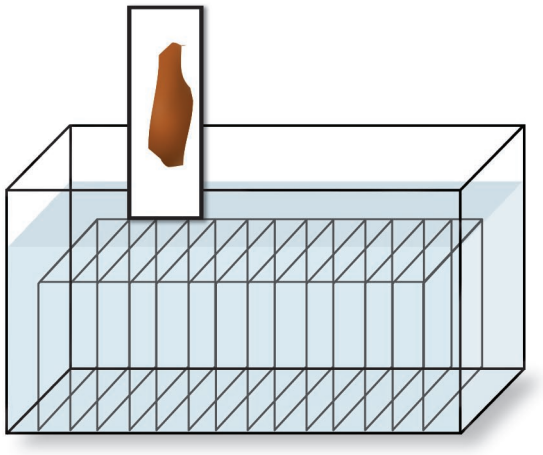


Fig. 10

A continuación

Se utiliza agua destilada (Disolución acuosa pH 4-5: amarillo, pH 6-7: rojo – morado). Por elevación del pH con lavado de agua o neutralización, el núcleo cambia a color azul.

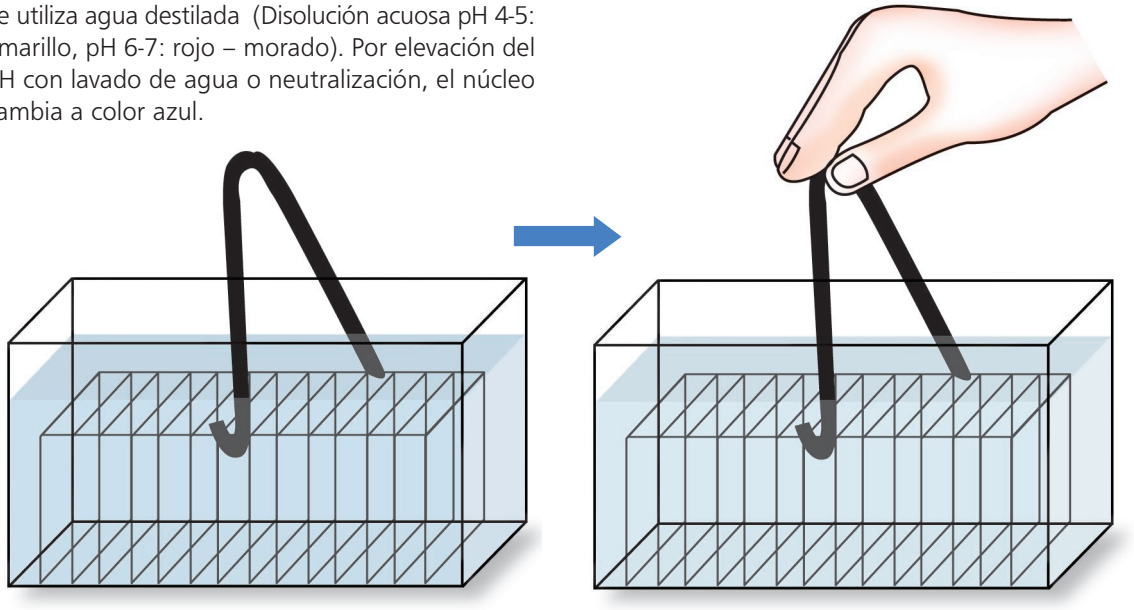


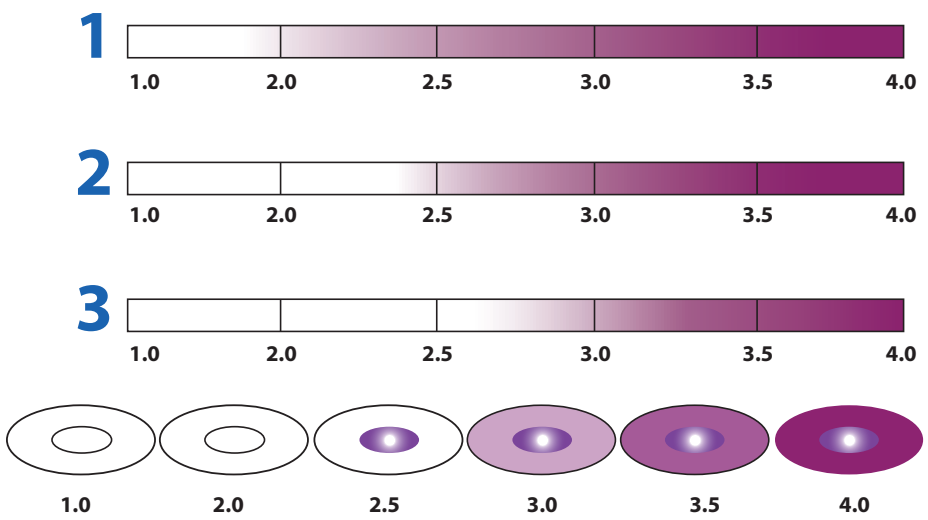
Fig. 11

El (pH) de la Hematoxilina y la tinción

Los radicales funcionales aniónicos.

1. El radical ácido sulfúrico (-SO 4) mucosidad, cartílago, etcétera.
2. El radical fosfórico (=PO4) Núcleo, etcétera.
3. El radical carboxilo (-COO) citoplasma, etcétera.

Fig. 12



Después de fraccionar en alcohol de ácido clohídrico si se deja tal como están, las partes teñidas cambian a color pardo-rojo y, además, tienden a decolorarse.

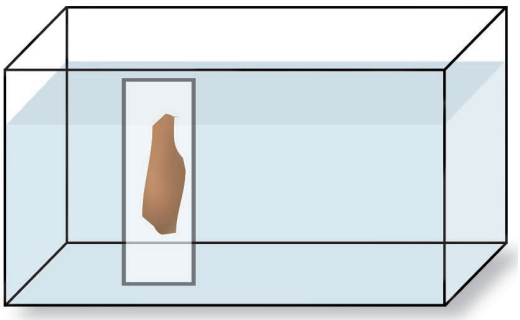


Fig. 13

Para obtener el color óptimo se deberá hacer el paso de la coloración, revisando en el microscopio, para evitar una posible equivocación en el resultado, debido a la diferencia de la tinción. (Tomar como pauta a los leucocitos, polimorfonucleares).

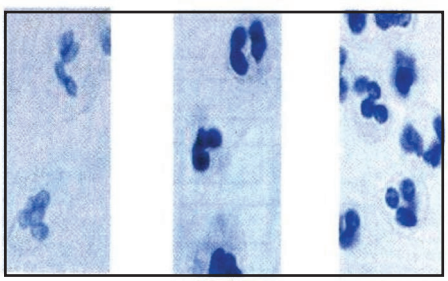
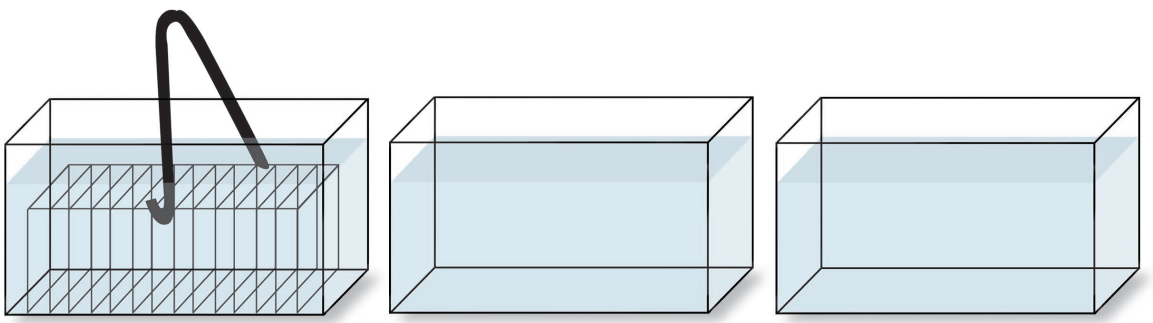


Fig. 14

Las laminillas se sumergen en cada caja, diez veces, despacio y se deben escurrir lo más posible.



Alcohol etílico de 96° **Alcohol etílico de 96°** **Alcohol etílico de 96°**

Fig. 15

Naranja 0G 6 (teñir de 1.5 hasta 6 minutos)

En este paso el OG-6 contiene el radical sulfito que tiende a disociarse. Si baja el pH, aumenta la intensidad de la tinción.

Cerca de la neutralización se debilita la intensidad de la tinción. Con esto puede pensarse que el radical sulfito es bastante fácil de disociarse y dificulta la unión de la proteína con el colorante.

Las moléculas de OG 6 son pequeñas, de color amarillo a naranja tiñen a los citoplasmas queratinizados.

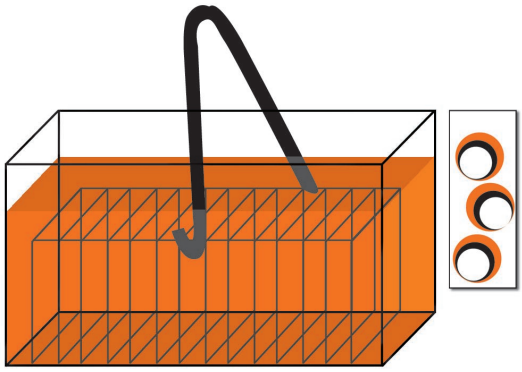


Fig. 16

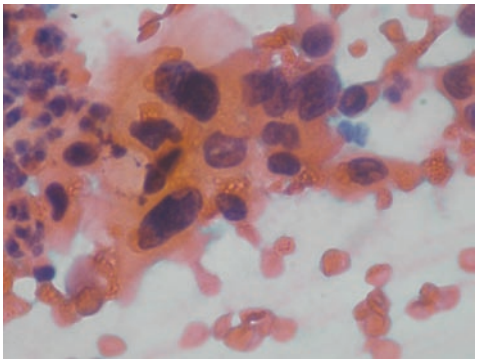


Fig. 17

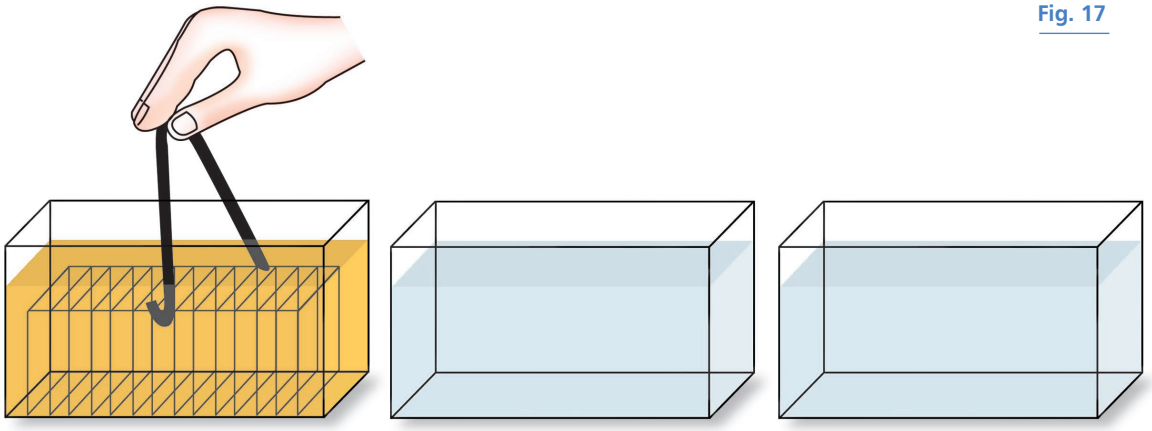
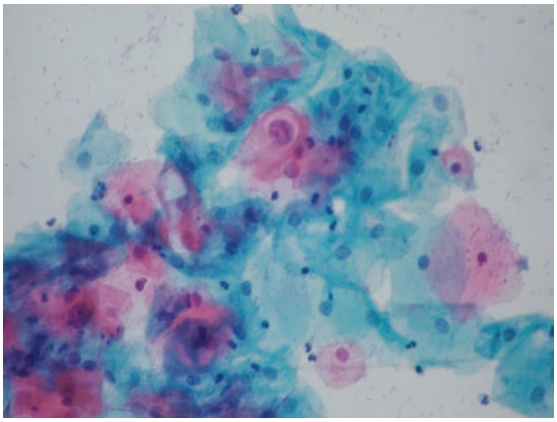


Fig. 18



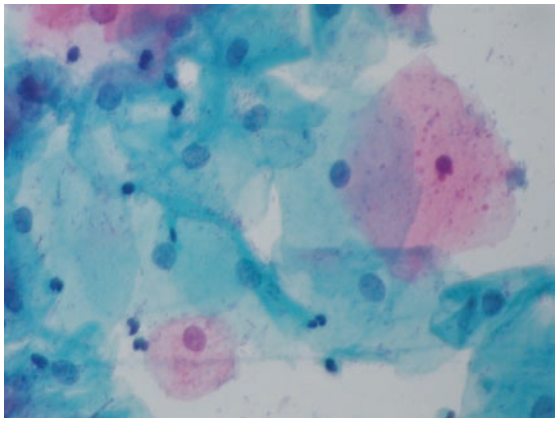


Fig. 19

Eosina-A 50 (teñir 1.5 hasta 6 min).

La Eosina y el verde claro SF amarillo, están contenidos en EA-50; son colorantes ácidos y tienen carga negativa. Por eso se unen con las proteínas que tienen características de carga positiva.

Es el principio de la tinción del citoplasma. La Eosina-Y contiene el radical carboxilo (COOH), el cual tiene tendencia a no disociarse; con pH 5~6 se tiñe más fuerte y cada vez que baja el pH tiende a bajar la intensidad de la tinción.

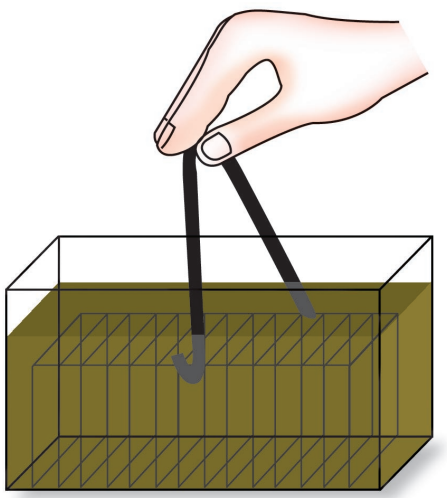


Fig. 20

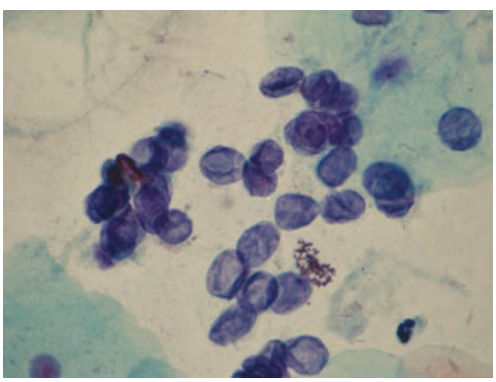


Fig. 21

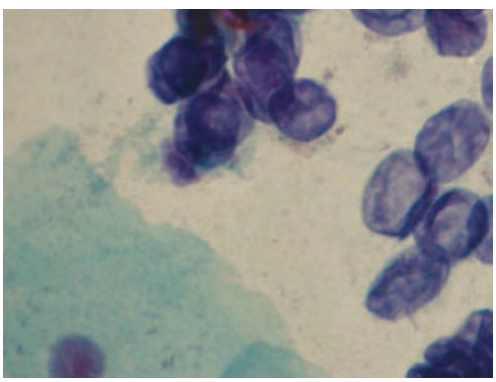
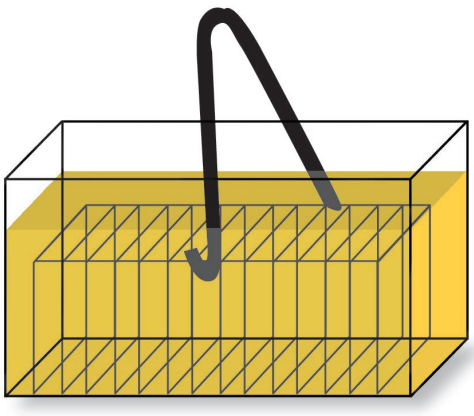
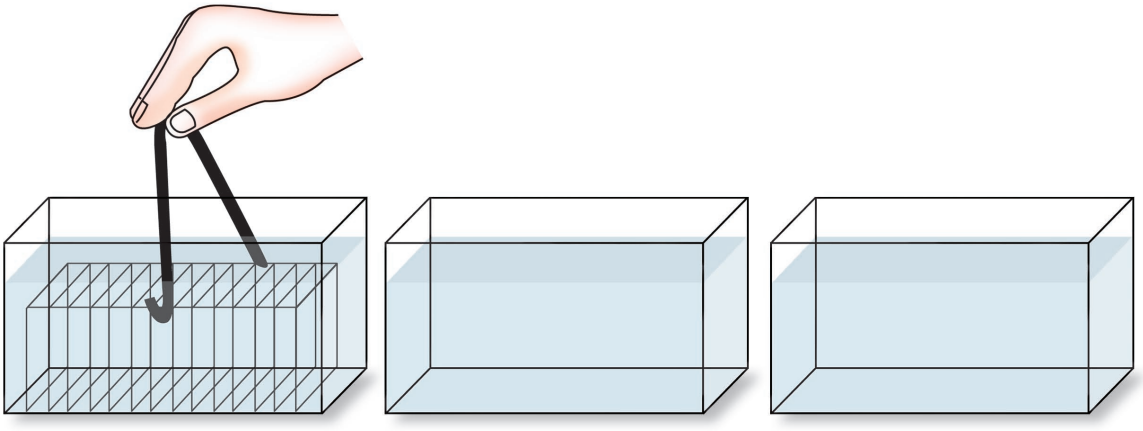


Fig. 22



Alcohol 96°

Fig. 23



Alcohol etílico absoluto

Alcohol etílico absoluto

Alcohol etílico absoluto

Fig. 24

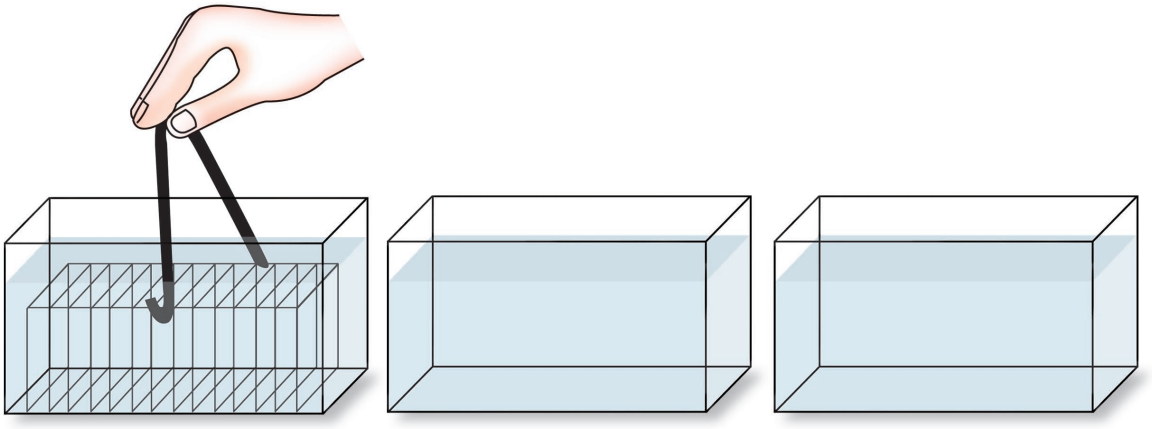


Fig. 25

Montaje de Laminillas

Secar la parte posterior a la muestra para proceder con el montaje.

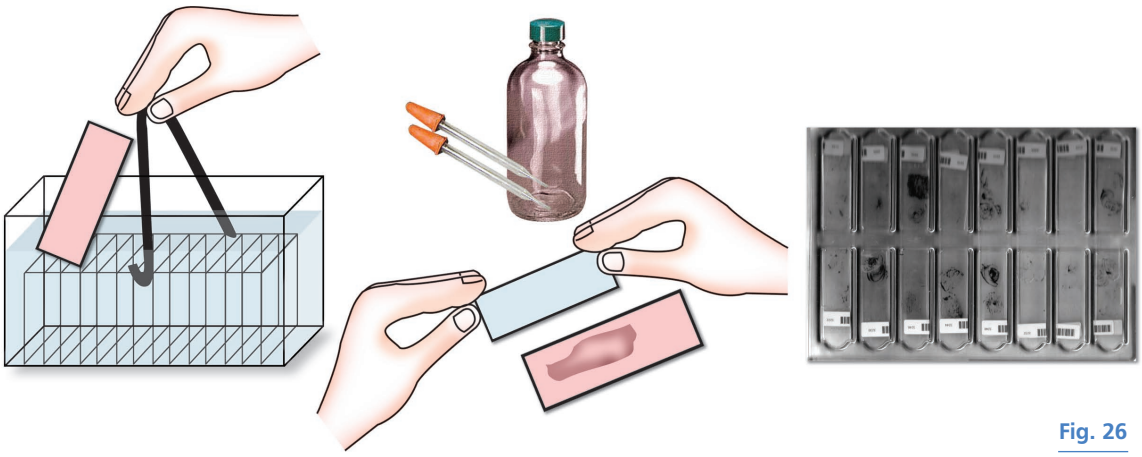


Fig. 26

Lectura e Interpretación de Laminillas

Imagen 2

Revisar cada laminilla sistemáticamente con un barrido de forma lineal sobre toda la laminilla, para evitar dejar áreas sin leer, aumentando a 40x las áreas detectadas como anormales.

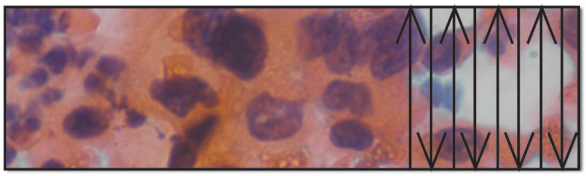


Fig. 27

Cambios morfológicos celulares

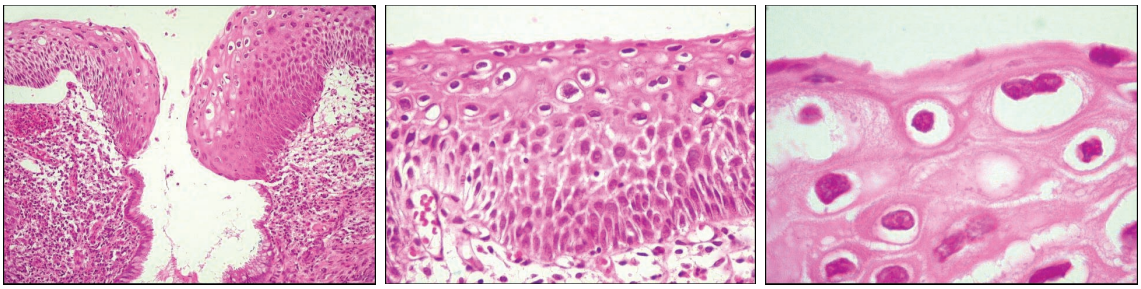


Fig. 28

Control de Calidad Interno

Observar con el objetivo de 10x la laminilla con movimientos ordenados en zigzag horizontales o verticales

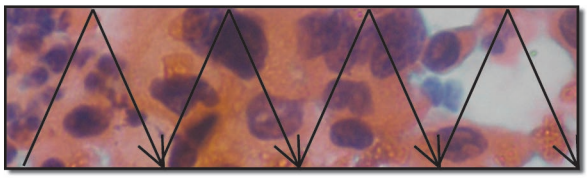


Fig. 29