

PRIPRAVA VZORCEV ZA CITOPATOLOŠKE PREISKAVE

Irena Kirbiš-Srebotnik

UVOD

Rak je bolezen, ki zahteva specifično zdravljenje. Zdravljenje je pogosto agresivno in ima lahko neprijetne stranske učinke. Zato je med drugim, tudi zato pomembna pravilna opredelitev patološkega procesa.

Le optimalno ohranjene celične sestavine omogočajo, da postavimo pravilno diagnozo. Zato moramo pri odvzemu, transportu in obdelavi bolnikovega vzorca upoštevati lastnosti celic v specifičnem materialu. Zavedati se moramo tudi, da v vseh fazah dela lahko pride do raznih administrativnih napak; te moramo preprečevati z dobro organiziranim delom in kontrolo kvalitete dela.

POTEK DELA V CITOLOŠKEM LABORATORIJU

1. Sprejem vzorcev

Ob sprejemu vzorcev v citološkem laboratoriju preverjamo, če je napotnica ustrezno (pravilno) izpolnjena, če je priložena napotnica za obračun in če se ujemajo podatki, navedeni na napotnici, s podatki, označenimi na prejetem vzorcu.

Napotnica mora vsebovati te podatke:

- podatke o bolniku (napisani čitljivo),
- klinično diagnozo,
- kratko anamnezo,

*Naslov avtorice: Irena Kirbiš Srebotnik, dipl. živilski tehnolog,
Onkološki inštitut, Ljubljana*

- vrsto vzorca (urin, likvor, sputum, bris,...),
- način in mesto odvzema (aspiracijska biopsija, krtačenje),
- skico mesta odvzema,
- rumeno nalepko za bolnike, okužene s HIV ali HBV,
- napotnico za obračun.

Sprejemu sledi označevanje vzorcev, vpisovanje v protokolne knjige in obračun storitev.

2. Obdelava vzorcev

Iz tekočih vzorcev je potrebno celice sedimentirati z navadno centrifugo ter pripraviti razmaze, ali pa celice iz vzorca sedimentiramo s pomočjo citocentrifuge.

3. Fiksacija

Tako pripravljene razmaze je potrebno fiksirati, zato da:

- preprečimo razpad celic (zaradi avtolize, delovanja bakterij in gliv),
- stabiliziramo obliko in strukturo celic,
- preprečimo izgubo celičnih komponent,
- naredimo celično membrano permeabilno za barvila.

Uporabljamo dva načina fiksacije:

MOKRA FIKSACIJA - kot fiksativ uporabljamo:

- mešanico 95 % etanola in etra (1:1) ali
- 95 % etanol ali
- Delaunay (95 % etanol + aceton 1:1 + 0.5 ml TCA)

SUHA FIKSACIJA - sušenje na zraku

Pri mokri fiksaciji je zelo pomembno, da razmaz **TAKOJ** potopimo v fiksativ (v nekaj s). To je pomembno predvsem pri brisih porcije in materničnega vratu. Če razmazi niso takoj fiksirani, se kromatin v jedru slabše prikaže in citoplazma se neustrezno obarva. To onemogoča **ZANESLJIVO** interpretacijo celičnega vzorca.

Minimalen čas fiksacije je 15 min., optimalen 2 uri, nobene škode ni, če se preparati fiksirajo 24-48 ur. Pri nas, zaradi organizacije dela poteka fiksacija čez noč.

4. Barvanje razmazov

Naslednji dan se mokro fiksirani preparati barvajo po Papanicolaou metodi, suho fiksirani pa po Giemsa metodi. Sledi priprava trajnih preparatov, mikroskopski pregled vzorca ter tipkanje izvidov.

Pri OBICAJNEM poteku dela so torej izvidi na voljo naslednji dan.

Če gre za NUJEN primer, je mogoča vsaj okvirna postavitev diagnoze še isti dan. Postopek pa se podaljša, ko so potrebne še dodatne diagnostične metode. Pri nas uporabljamo citokemična barvanja, imunocitokemijo, pretočno citometrijo in elektronsko mikroskopijo.

ODPREMA POSAMEZNIH VRST VZORCEV V CITOLOŠKI LABORATORIJ

1. Ginekološki brisi

Pomembno je, da so razmazi fiksirani TAKOJ, ker je le tako mogoča zanesljiva interpretacija vzorca.

V laboratorij se lahko dostavijo preparati v fiksirju (eteralkohol) ali se za predpisani čas fiksirajo, nato posušijo in pošljejo v laboratorij, seveda z ustreznimi ter pravilno in čitljivo napisanimi napotnicami.

Preparate je potrebno za transport PRIMERNO zaščititi pred mehaničnimi vplivi (trde škatle, dovolj zaščitnega materiala, vate ali staničevine).

2. Sputum

Sputum naj pacient po predpisani pripravi izkašlja v POSODO S ŠIROKIM VRATOM.

Nefiksiran sputum mora biti dostavljen v laboratorij v nekaj urah. Če vemo, da bo dostava trajala dalj časa, je treba sputum fiksirati s 70 % etanolom.

3. Urin

Za pošiljanje urina so primerne čiste steklene ali plastične stekleničke oziroma posodice (sanford stekleničke, sputumovke). Sestava urina poškoduje odlučene celice, zato ga je treba odnesti v laboratorij takoj, oziroma čimprej po odvzemu.

4. Likvor

Celice v likvorju so še posebej občutljive, zato ga je treba TAKOJ dostaviti v laboratorij, in to na LEDU. Če to ni mogoče, je treba pripraviti preparate s pomočjo citocentrifuge, jih posušiti in nato poslati v preiskavo.

5. Izlivi v serozne votline

To so tekočine, ki vsebujejo veliko beljakovin. Delujejo kot tkivne kulture, kar pomeni, da celice v njih še nekaj časa živijo. Če takega vzorca ni mogoče takoj poslati v laboratorij, ga lahko shranimo v hladilniku od 12-24 ur.

Če pa dostava traja več kot 24 ur, ga je treba prefiksirati z dodatkom 50 % etanola 1:1.

Optimalna količina izliva za citološko preiskavo je 300-500 ml. Maligne celice imajo veliko specifično težo in se vsedajo na dno, zato je treba pri obsežnejših izlivih celotno količino vzorca dobro premešati in poslati v preiskavo le 300-500 ml.

IZDELAVA RAZMAZOV

1. Tehnika razmazov

V našem laboratoriju uporabljamo tole tehniko razmazovanja:

- objektno stekelce položimo na objektno stekelce z materialom in narahlo (uporablja se le teža objektnika) povlečemo v horizontalni smeri.

Različic razmazovanja je veliko, važno pa je:

- da naredimo tanek, enakomeren razmaz,
- da pri razmazovanju ne uporabljamo prevelike sile, ki bi poškodovala celice,
- da razmaz takoj potopimo v fiksativ (če uporabljamo mokro fiksacijo).

2. Objektna stekelca in označevanje

Za pripravo razmazov uporabljamo objektna stekelca, teh pa je več vrst.

- **Nepeskana objektna stekelca**; za označevanje le-teh se uporablja diamantni svinčnik oziroma svinčnik za pisanje po steklu(sveder). Flomaster moti pri postopku barvanja in ga ne smemo uporabljati.

- **Enostransko peskana stekla** označujemo z navadnim svinčnikom.
- Pomembno je, da sta razmaz in oznaka na isti strani.
- Na razpolago so tudi uvožena, **obojestransko peskana stekla**,

pri katerih ni potrebno paziti, katera je prava stran, seveda pa morata biti razmaz in oznaka na isti strani. Označujemo jih prav tako z navadnim svinčnikom.

Pri označevanju vzorcev je treba dosledno uporabljati enake oznake na stekelcih oziroma vzorcu in na napotnici - rimske, oz. arabske številke ali črke abecede.