



Združenje za patologijo in sodno medicino SZD

SEZNAM PREISKAV S PODROČJA PATOLOGIJE

Številka dokumenta	SM-DR-4
Naslov dokumenta	Seznam preiskav s področja patologije
Verzija dokumenta	2
Datum nastopa veljavnosti	Februar 2015
Predvidena revizija	2020 Pripombe za naslednjo revizijo poslati na elektronski naslov: izidor.kern@klinika-golnik.si
Pripravil	Izidor Kern, Snježana Frković Grazio
Sprejel	RSK za patologijo in sodno medicino (Izidor Kern, Margareta Strojjan Fležar, Rajko Kavalari, Alenka Repše Fokter, Jože Balažic, Snježana Frković Grazio)
Komentar	Priporočila so pripravili člani RSK za patologijo in sodno medicino. Upoštevali so pripombe vodij oddelkov za patologijo v državi.

I. PREISKAVE POST MORTEM

1. Obdukcija:

- makroskopski pregled trupla
- odvzem tkivnih in/ali celičnih vzorcev
- po potrebi odvzem vzorcev za biokemične, mikrobiološke in toksikološke preiskave
- pregled standardnih histoloških in citoloških preparatov
- pregled dodatnih diagnostičnih preiskav za oceno sprememb v tkivnih vzorcih: imunofluorescenčne, histokemične, mikrobiološke, imunohistokemične, elektronsko mikroskopske preiskave, metode molekularne patologije
- izvid z diagnozami in mnenjem

2. Sekcija posameznih organov

- Makroskopski pregled med obdukcijo odvzetih organov po ustreznem času fiksacije (npr. možgani, hrbtenjača, srce)
- pregled standardnih histoloških preparatov
- pregled dodatnih diagnostičnih preiskav za oceno sprememb v tkivnih vzorcih: imunofluorescenčne, histokemične, mikrobiološke, imunohistokemične, elektronsko mikroskopske preiskave, metode molekularne patologije
- izvid z diagnozami in mnenjem

II. HISTOPATOLOŠKA PREISKAVA

Gre za preiskavo opravljeno v vzorcu tkiva odvzetem za življenje. Po načinu odvzema vzorca tkiva poznamo igelne biopsije (tudi debeloigelne), odščipe (npr. endoskopske biopsije), kiretaže, ekscizije, kirurške resekcije (del ali celoten organ), ekstirpacije, amputacije.

Histopatološka preiskava je večstopenjska laboratorijska metoda za odvzete vzorce tkiva, ki vključuje sprejem, obdelavo, pregled in izdajo izvida. Uporablja se za vse organe. Faze histopatološke preiskave so:

1. Sprejem in identifikacija vzorca z naročilom za preiskavo (napotnica)
2. Makroskopski pregled, sekundarno vzorčenje in fotodokumentacija tkivnih vzorcev
3. Obdelava vzorca tkiva: fiksacija, po potrebi dekalcinacija, tkivno procesiranje s prepajanjem in vklop
4. Izdelava histološkega preparata: rezanje, standardna in dodatna barvanja, pokrivanje
5. Pregled preparatov, izdelava izvida
6. Izdaja izvida
7. Arhiviranje: začasno in trajno shranjevanje vzorcev, blokov, preparatov, izvidov, slik

Standardna histopatološka preiskava obsega fiksacijo v formalinu (10% nevtralnemu pufirani formalin), vklop v parafin z izdelavo parafinskega bloka ter hematoksilin-eozin obarvan trajni histološki preparat.

Za določene vrste vzorcev ali organov so posamezne faze lahko prilagojene in specifične (drugi fiksativi, vklopi v smole, druga barvanja, pospešeni postopki obdelave).

III. INTRAOPERATIVNA PREISKAVA

To je nujna preiskava. Uporablja se za vse organe. Zahteva takojšnji odgovor naročniku preiskave in zato poseben laboratorijski postopek. Skupaj z naročnikom preiskave je potrebno predhodno urediti transport, način naročanja preiskave in sporočanja izvida.

Intraoperativna preiskava je lahko:

1. Makroskopski pregled vzorca z mnenjem.
2. Zaledeneli rez (zmrzli rez). Sprejeti vzorec mora biti takoj obdelan z zmrznenjem vzorca tkiva, rezanjem in hitrim barvanjem. Namen preiskave je pregled kirurških robov ali diagnostični.
3. Pregled odtisa varovalne bezgavke.

Zaledeneli rez lahko uporabimo za hitro diagnostiko sprememb v avtopsijskih ali drugih vzorcih tkiva.

IV. ODVZEM CELIČNEGA VZORCA

Patologi so usposobljeni za odvzem določenih, spodaj naštetih celičnih vzorcev. S to preiskavo odvezamo celični vzorec za mikroskopski pregled in dodatne metode.

1. Aspiracijska biopsija s tanko iglo tipnih sprememb (tudi punkcija). Poseg odvzema je minimalno invaziven in vključuje tipne spremembe v različnih organih. Pridobljen vzorec razmaženo na označeno stekelce, iglo z brizgo izperemo s tekočino za ohranjanje celic.
2. Vzorec lahko odvezamo tudi s skarifikacijo kožne spremembe ali odtisom izločka s površine telesa.
3. Možen je tudi odvzem z odtisom tkivnega vzorca (npr. varovalna bezgavka,...).

V. CITOPATOLOŠKA PREISKAVA

Citopatološka preiskava je pregled celičnega vzorca odvzetega za življenje. Vključuje področji eksfoliativne in tankoigelne aspiracijske citologije.

Gre za večstopenjsko laboratorijsko obdelavo odvzetega celičnega vzorca, ki vključuje sprejem, obdelavo, pregled in izdajo izvida. Uporablja se za vse organe in vrste odvzetih celičnih vzorcev. Faze citopatološke preiskave so:

1. Sprejem in identifikacija vzorca z naročilom za preiskavo (napotnica)
2. Makroskopski pregled, sekundarno vzorčenje
3. Obdelava celičnega vzorca je odvisna od vrste vzorca in lahko vključuje: filtriranje, centrifugiranje/citocentrifugiranje, spiranje, fiksacijo
4. Izdelava citološkega preparata: standardno in dodatno barvanje, pokrivanje
5. Pregled preparatov, izdelava izvida
6. Izdaja izvida
7. Arhiviranje: začasno in trajno shranjevanje vzorcev, parafinskih blokov, preparatov, izvidov, slik

Standardni postopek citopatološke preiskave obsega fiksacijo na zraku in/ali v alkoholnih fiksativih ter glede vrsto fiksacije barvanje Giemsa (ali MGG) za sušene in Papanicolaou za mokro fiksirane preparate.

Za določene vrste vzorcev ali organov so posamezne faze lahko prilagojene in specifične (drugi fiksativi, druga barvanja).

Iz celičnega sedimenta lahko naredimo celični blok (citoblok), s katerim ravnamo kot z vzorcem tkiva in ga tako tudi tako laboratorijsko obdelamo (fiksacija v formalinu, vklop v parafin).

VI. HITRA CITOPATOLOŠKA PREISKAVA

Gre za citopatološko preiskavo, katere namen je takojšnja ocena ustreznosti vzorca. Takojšnji pregled omogoča ponovitev vzorčenja in usmerjanje vzorca za morebitne druge laboratorijske preiskave. Neposredno po odvzemu celičnega vzorca sledi pregled kakovosti in reprezentativnosti vzorca ter sporočanje rezultata preiskave. Izdelava citološkega preparata je hitra s kratko fiksacijo in barvanjem (npr. toluidinsko modrilo, Diff Quick, ...). Preiskavo izvede patolog ali usposobljen presejalec.

VII. DODATNE METODE

Za opredelitev celičnih in tkivnih sprememb so po priporočilih in smernicah potrebne dodatne laboratorijske metode, ki so diagnostično ali terapevtsko pomembne (določanje prediktivnih in prognostičnih dejavnikov). Patolog interpretira rezultate opravljenih dodatnih metod. Opravljene dodatne metode oziroma rezultati le-teh so navedeni v izvidu.

Dodatne metode zahtevajo posebno fazo laboratorijske obdelave celičnega ali tkivnega vzorca. Lahko se izvedejo samostojno (kot tehnična storitev z ali brez interpretacije).

Med dodatne metode sodijo:

1. citokemične in histokemične reakcije oziroma barvanja – S temi reakcijami dokazujemo določene tkivne strukture (kolagena, elastična, retikulinska vlakna), mikroorganizme (bakterije, glive), encime, celične produkte (maščobe, mucini), kopičenje določenih snovi (železo, baker, kalcij, amiloid). Z izvedeno citokemično ali histokemično reakcijo je običajno izdelan trajni citološki ali histološki preparat za svetlobno mikroskopijo ali redkeje za fluorescenčno mikroskopijo. Primeri uporabljenih tovrstnih reakcij so: acetilholinesteraza, alcian modro, alcian modro - PAS, auramin rodamin, baker z rodanidom, baker z rubeansko kislino, Brown in Brenn, Fite, Giemsa, retikulin, Grocott ali GMS, Jones II, Jones II. + azan, kernechtrot, kislja fosfataza, kloracetat esteraza, Kluever Barerra, koloidno železo, kongo rdeče, Kreyberg, Jareg, Methylgreen pyronin, PAS, PAS z amilazo/diastazo, Perl's, picro mallory, SAB, tioflavin T, trikrom, Masson, van Gieson – Weigert, Verhoeff van Gieson, orcein, von Kossa, Warthin Starry, Ziehl – Neelsen, Sudan, oil red...
2. Imunocitokemija in imunohistokemija – Z uporabo specifičnih protiteles dokazujemo v celicah in tkivu z večstopenjsko barvno reakcijo prisotnost antigena. Metoda se uporablja na citoloških preparatih, ki so različno predobdelani (fiksirani), in na rezinah zmrznjenega ali fiksiranega deparafiniziranega vzorca tkiva. Protitelesa so poli- ali monoklonska. Metoda se izvaja ročno ali v aparatih. Reakcijo vezave protitelesa z antigenom dokažemo z barvno reakcijo. Rezultat laboratorijske metode je trajen citološki ali histološki preparat. Seznam uporabljenih protiteles ni končen, se spreminja, izdelujejo se nova protitelesa. V primerih določanja prediktivnih dejavnikov, ki vplivajo na odločitev o vrsti specifičnega zdravljenja (npr. hormonski receptorji pri karcinomu dojke), mora biti metoda validirana in laboratorij mora biti vključen v zunanjo shemo kakovosti.
3. Imunofluorescenčna mikroskopija – S to metodo večinoma dokazujemo odlaganje imunskih reaktantov v vzorcih tkiva, ki je običajno zamrznjeno. Uporabljamo protitelesa, ki so označena s fluorescenčnim barvilom, v eno- ali dvostopenjski metodi in rezultat pregledujemo s fluorescenčnim mikroskopom. Rezultat preiskave je potrebno korelirati z izvidom histopatološke preiskave. Seznam pogosteje določenih imunskih depozitov vključuje IgA, IgG, IgM, kapa in lambda lahke verige, komplement C3, C1q, C4d,

fibrin/fibrinogen, albumin. Z enako metodo, indirektno imunofluorescenco, se določa prisotnost avtoprotiteles v serumu pri določenih avtoimunskih obolenjih (npr. anti-GBM, ANCA,...). Metodo pogosto dopolnimo z ELISA za določitev specifičnosti avtoprotiteles.

4. Pretočna citometrija – Je dodatna metoda, s katero v celični suspenziji z uporabo različno označenih protiteles določimo populacije celic. Najpogosteje se uporablja za fenotipizacijo limfatičnih celic (subpopulacije limfocitov, opredeljevanje tipa limfoma) in merjenje količine DNK z analizo celičnega ciklusa. Uporabljajo se paneli protiteles.
5. Molekularna patologija – Metode molekularne patologije so raznovrstne in se razvijajo. Spremembe in lastnosti genoma lahko dokazujemo v citoloških preparatih, tkivnih rezinah ali vzorcih iz tkiva izoliranih nukleinskih kislin. Rezultat preiskave mora biti vključen v izvid. V primerih določanja prediktivnih dejavnikov, ki vplivajo na odločitev o vrsti specifičnega zdravljenja (npr. mutacije EGFR gena pri nedrobnoceličnem raku pljuč) ali specifičnih diagnostično pomembnih genetskih lastnosti (npr. pomnožitev gena Her-2 pri karcinomu dojke), mora biti metoda validirana in laboratorij mora biti vključen v zunanjo shemo kakovosti.

A - In situ hibridizacija je metoda, pri kateri uporabimo specifične sonde za dokaz določenih genetskih sprememb (restrikcija lahkih verig, genska pomnožitev ali preureditev) in prisotnost mikroorganizmov (npr. virusov). Specifične sonde so označene, zato reakcijo vezave pregledujemo v mikroskopu. Reakcija vezave je lahko fluorescenčna ali kromogena.

B - Obstajajo zelo različne metode molekularne patologije, za katere potrebujemo izolirane nukleinske kisline iz celičnega ali tkivnega vzorca. Lahko analiziramo RNK ali DNK. Večina metod sloni na verižni reakciji s polimerazo, s katero pomnožujemo nukleinske kisline. Metode se med seboj razlikujejo predvsem v načinu dokazovanja genetskih sprememb. Seznam dokazovanja le-teh ni končen, večina je povezanih z dokazovanjem znanih mutacij pri določenih tumorjih (npr. EGFR in KRAS pri nedrobnoceličnem karcinomu pljuč, KRAS pri kolorektalnem karcinomu, BRAF pri melanomu,..). Zelo pomembno je, da je patolog vključen v izbor vzorca in interpretacijo rezultata.
6. Elektronska mikroskopija – Za elektronsko mikroskopski pregled celičnega ali tkivnega vzorca je potrebna posebna fiksacija, vklop v smole in obdelava z izdelavo poltankih in ultratankih rezin. Uporablja se predvsem v ledvični, jetrni, očesni, pljučni, nevro- in kožni netumorski patologiji ter v diagnostiki določenih tumorjev.
7. Slikovna citometrija – Ta metoda omogoča meritev količine DNK in analizo celičnega ciklusa.