

KliniCyte



BD-SurePath™ based Non-Gyn verwerkings protocollen

De onderstaande protocollen zijn tot stand gekomen na een gebruikers bijeenkomst op 5 maart 2009 waaraan 8 Nederlandse laboratoria hebben deelgenomen:

- 1 – Laurentius, Roermond
- 2 – Elkerliek, Helmond
- 3 – Lab voor Pathologie Oost Nederland, Enschede
- 4 – Pathan, Rotterdam
- 5 – Jeroen Bosch zkh, 's Hertogenbosch
- 6 – Streeklab. Zeeland, Middelburg
- 7 – GOZL, Heerlen
- 8 – UMC, Maastricht

Deze laboratoria hebben ervaring met het verwerken van cytologische monsters tot dunnelaag preparaten gebaseerd op de BD-SurePath™ methode met gebruik van de BD-PrepStain™.

Maart 2009, versie 1.1

info@klinicyte.nl



Urine vers:

Monster afname

Verse urine opvangen in een 50 ml puntbuis met voet en zo spoedig mogelijk transporteren naar het laboratorium. In de tijd tussen afname en verwerking de urine bewaren in de koelkast.

Verwerking

1. Urine in 50 ml puntbuis afdraaien op Prog. 3.
2. Decanteren
3. 5 ml Cytorich Blue¹ of Cytorich Red toevoegen, vortexen en minimaal 30' fixeren.²
4. Materiaal uit 50 ml puntbuis overbrengen in een Prepstain tube en afdraaien op Prog. 3.
5. Prepstain tube vortexen en indien nodig het sediment reduceren tot 0,5 ml en verwerken met standaard Non-Gyn programma op de Prepstain.

Urine gefixeerd op alc. 50%:

Monster afname:

Max. 25 ml verse urine opvangen in een 50 ml puntbuis voorgevuld met 25 ml alc. 50 % en transporteren naar het laboratorium.

Verwerking

1. Urine in 50 ml puntbuis afdraaien op Prog. 3.
2. Decanteren
3. 5 ml Cytorich Blue¹ of Cytorich Red toevoegen, vortexen en 30' nafixeren ^{2 3}.
4. Materiaal uit 50 ml puntbuis overbrengen in een Prepstain tube en afdraaien op Prog. 3.
5. Prepstain tube vortexen en indien nodig het sediment reduceren tot 0,5 ml en verwerken met standaard Non-Gyn programma op de Prepstain.

Urine gefixeerd op Cytorich Blue¹ of Cytorich Red

Monster afname:

Max. 25 ml verse urine opvangen in een 50 ml puntbuis voorgevuld met 25 ml Cytorich Blue¹ of Cytorich Red en transporteren naar het laboratorium.

Verwerking

1. Urine in 50 ml puntbuis afdraaien op Prog. 3.
2. Decanteren
3. Sediment overbrengen in een Prepstain tube, vortexen en indien nodig het sediment reduceren tot 0,5 ml en verwerken met het standaard Non-Gyn programma op de Prepstain.

Sereuze vochten:

Bij sereuze vochten is het van belang deze vers te laten inzenden. Dit om te voorkomen dat de eiwitten in het vocht gaan uitvlokken als het direct op alcohol wordt gefixeerd. Tevens kan van het verse vocht een Giemsa preparaat gemaakt worden.

Monster afname:

Vers sereus vocht opvangen in een 50 ml puntbuis met voet. Om het klonteren van eiwit te voorkomen kan er heparine⁴ of EDTA worden toegevoegd aan het sereuze vocht. Monster zo spoedig mogelijk transporteren naar het laboratorium. In de tijd tussen afname en verwerking sereuze vocht bewaren in de koelkast.

Verwerking

1. Sereus vocht in 50 ml puntbuis afdraaien op Prog. 3.
2. Decanteren
3. 1 druppel van sediment gebruiken voor MGG uitstrijk.
4. 5 ml Cytosol Red toevoegen aan restant sediment en minimaal. 30' fixeren. ²
5. Materiaal uit 50 ml puntbuis overbrengen in een Prepstain tube en afdraaien op Prog. 3.
6. Prepstain tube vortexen en indien nodig het sediment reduceren tot 0,5 ml en verwerken met standaard Non-Gyn programma op de Prepstain.

Longspoelsel/BAL vers

Monster afname:

Vers vocht opvangen in een 50 ml puntbuis met voet. Monster zo spoedig mogelijk transporteren naar het laboratorium. In de tijd tussen afname en verwerking monster bewaren in de koelkast.

Verwerking

1. Spoelsel/Bal 5 min. in Cytoshaker om het slijm stuk te slaan in kleine fragmenten. Eventueel een blender gebruiken bij zeer taai slijm.
2. Spoelsel/Bal in 50 ml puntbuis afdraaien op Prog. 3.
3. Decanteren
4. 5 ml Cytorich Red toevoegen, vortexen en minimaal 30 min. fixeren.²
5. Materiaal uit 50 ml puntbuis overbrengen in een Prepstain tube en afdraaien op Prog. 3.
6. Prepstain tube vortexen en indien nodig het sediment reduceren tot 0,5 ml en verwerken met standaard Non-Gyn programma op de Prepstain.

Longspoelsel/BAL gefixeerd op alc 50%

Monsterafname:

Max. 25 ml verse Spoelsel/Bal opvangen in een 50 ml puntbuis met voet gevuld met 25 ml alc. 50 % en transporteren naar het laboratorium.

Verwerking

1. Spoelsel/Bal 5 min. in Cytoshaker om het slijm stuk te slaan in kleine fragmenten. Eventueel een blender gebruiken bij zeer taai slijm.
2. Spoelsel/Bal in 50 ml puntbuis afdraaien op Prog. 3.
3. Decanteren
4. 5 ml Cytorich Red toevoegen, vortexen en minimaal 30' nfixeren.^{2 3}
5. Materiaal uit 50 ml puntbuis overbrengen in een Prepstain tube en afdraaien op Prog. 3.
6. Prepstain tube vortexen en indien nodig het sediment reduceren tot 0,5 ml en verwerken met standaard Non-Gyn programma op de Prepstain.

Longspoelsel/Bal gefixeerd op Cytorich Red

Monsterafname

Max. 25 ml opvangen in een 50 ml puntbuis met voet voorgevuld met 25 ml Cytorich Red en transporteren naar het laboratorium.

Verwerking

1. Spoelsel/Bal 5 min. in Cytoshaker om het slijm stuk te slaan in kleine fragmenten. Eventueel een blender gebruiken bij zeer taai slijm.
2. Spoelsel/Bal in 50 ml puntbuis afdraaien op Prog. 3.
3. Decanteren
4. Materiaal uit 50 ml puntbuis overbrengen in een Prepstain tube.
5. Prepstain tube vortexen en indien nodig het sediment reduceren tot 0,5 ml en verwerken met standaard Non-Gyn programma op Prepstain.

Long Brush

Monsterafname

Brush na sampling afknippen met tang en eventueel 1 directe MGG uitstrijk maken van Brush. Brush daarna in potje voorgevuld met Cytorich Red en verzenden naar laboratorium

Verwerking

1. Potje met brush 5 min. in Cytoshaker.
2. Inhoud potje overgieten in Prepstain tube en afdraaien op Prog. 3.
3. Prepstain tube vortexen en verwerken met standaard Non-Gyn programma op Prepstain.

FNA (Fine Needle Aspiration)

Monsterafname

MGG uitstrijken maken van punctiemateriaal. Restmateriaal naald en spuit uitspuiten in 50 ml puntbuis met voet gevuld met Cytorich Red.

Verwerking

1. Punctiemateriaal in 50 ml puntbuis afdraaien op Prog. 3.
2. Decanteren
3. Sediment overbrengen in een Prepstain tube, vortexen en verwerken met het standaard Non-Gyn programma op de Prepstain.

¹ Indien erythrocyten van belang zijn bij de diagnostiek kan CytoRich Blue gebruikt worden. Dit fixatief behoudt de erythrocyten in tegenstelling tot CytoRich Red.

² Vanaf dit punt kan het materiaal eventueel blijven staan tot de volgende werkdag.

³ Nafixeren op CytoRich Blue of CytoRich Red optimaliseert de morfologie. Met name van de kernstructuur.

⁴ Heparine heeft een nadelig effect op de kwaliteit van de MGG uitstrijk.

Aanvullende technieken

Inblokken sedimenten of stolsels:

Indien er veel sediment is kan maximaal 0,5 ml gebruikt worden voor het maken van een LBC preparaat. De rest kan worden gebruikt voor het maken van een celblok met de “agar techniek”. Vaste stolsels kunnen direct worden ingesloten voor het maken van histologische coupes.

Blanco LBC preparaten voor aanvullende technieken:

Van restmateriaal is het mogelijk blanco LBC preparaten te maken voor aanvullende technieken zoals immuno cyto-chemie. Deze blanco preparaten kunnen worden gemaakt op de Prepstain m.b.v. het “preparation only” programma.

Om van een kleine hoeveelheid rest materiaal voldoende blanco preparaten te kunnen maken kan tevens de onderstaande manuele methode worden gebruikt.

1. Preparaten op Prepstainrack
2. Gebufferd water 200 µl in settling chamber
3. 1 druppel sample op 2 ml buffer, hiervan 3 druppels in settling chamber. Bij zeer weinig sediment 3 druppels buffer per glaasje toevoegen aan sediment. (3 glaasjes = 9 druppels, hiervan 3 druppels per glaasje)
4. Minimaal 10' sedimenteren (max. 20')
5. Decanteren
6. 2 ml Rinse-alcohol tegen zijwand settling chamber
7. Plaat licht met de hand schudden
8. Decanteren
9. Afspoelen met Rinse-alcohol
10. Settling chambers afnemen, LBC prep's rinsen met Rinse-alcohol en afspraken met Sprayfix (beschermlaag voor losse cellen)

Opmerkingen immuno cyto-chemie:

- Titerstelling op LBC preparaten kan anders zijn t.o.v. histologische coupes. Dit moet worden gevalideerd
- Antigen retrieval stap vervalt indien LBC preparaten **niet** worden nagefixeerd met formaline.
- Immuno direct uitvoeren na het vervaardigen van de LBC preparaten. Indien dit niet mogelijk is de LBC preparaten bewaren bij -20 °C.