

KOMPENDIUM I KLINISK CYTOLOGI

Den cytologiske undersøgelse

Fra prøvetagning til arkivering.



Dorthe Ejersbo, Preben Sandahl & Marianne Schou Martiny
01-04-2014

INDHOLDSFORTEGNELSE

INDHOLDSFORTEGNELSE	1
FORORD.....	2
INDLEDNING	3
DEN CYTOLOGISKE UNDERSØGELSE.....	3
PRØVETAGNING	4
TEKNIKKER TIL INDSAMLING AF EKSFOLIATIV CYTOLOGI	4
ASPIRATIONSTEKNIK.....	5
PRØVETAGNINGSFELJ OG VURDERINGSFEJL	6
FIKSERING OG FORSENDELSE	6
FIKSERING.....	6
FORSENDELSE	8
MODTAGELSE I PATOLOGIAFDELINGEN	8
PRÆPARERINGSTEKNIKKER OG FARVNING	9
CENTRIFUGERING	9
UDSTRYGNINGSTEKNIK	10
VÆSKEBASERET TEKNIK.....	10
VACUUM FILTRERING	12
CELLEBLOK	13
FARVNINGSMETODER	14
PAPANICOLAOU-FARVNINGEN (PAP-FARVNINGEN)	14
HÆMATOXYLIN-EOSIN (HE-FARVNINGEN)	16
MONTERING	16
ARTEFAKTER OG KONTAMINANTER.....	16
ARBEJDSMILJØ OG SIKKERHED	17
HÅNDBTERING OG BORTSKAFFELSE AF CYTOLOGISK MATERIALE.....	18
HÅNDBTERING OG BORTSKAFFELSE AF KEMISKE STOFFER	18
SUPPLERENDE TEKNIKKER	18
IMMUNKEMISKE TEKNIKKER.....	18
FLOWCYTOMETRI	19
MOLEKYLÆRBIOLOGISKE TEKNIKKER	19
HPV TESTS.....	20
DIAGNOSTIK OG BESVARELSE	20
ARKIVERING	21
LÆS MERE HER.....	21

FORORD

Da vi som undervisere i klinisk cytologi faktisk altid har savnet et kompendium på dansk om de præparationsteknikker, der anvendes i det cytologiske laboratorium, har vi nu igennem godt et år arbejdet på et sådan og første udgave foreligger nu. Kompendiet kan downloades gratis på Dansk Cytologiforenings hjemmeside.

Kompendiet bygger dels på eget undervisningsmateriale, dels på den engelsksprogede litteratur om emnet. Vi kalder overordnet kompendiet Den cytologiske undersøgelse, da det beskriver meget mere end præparationsteknikker og derfor indeholder alle undersøgelsens trin fra prøvetagning til arkivering af prøvematerialet.

Vi håber, at kompendiet vil komme til glæde og gavn både for kolleger og studerende og måske samlet set være med til at højne kvaliteten af den cytologiske undersøgelse rundt om på de danske patologiafdelinger.

Vi er meget åbne overfor forslag til ændringer eller emner, der savnes beskrevet, så alle læsere er velkomne til at kontakte os, da vi fremadrettet vil forsøge at ajourføre materialet.

Odense, 23. april 2014

Dorthe Ejersbo dorthe.ejersbo@rsyd.dk

Preben Sanddahl pls@rn.dk

Marianne Schou Martiny marimart@rn.dk

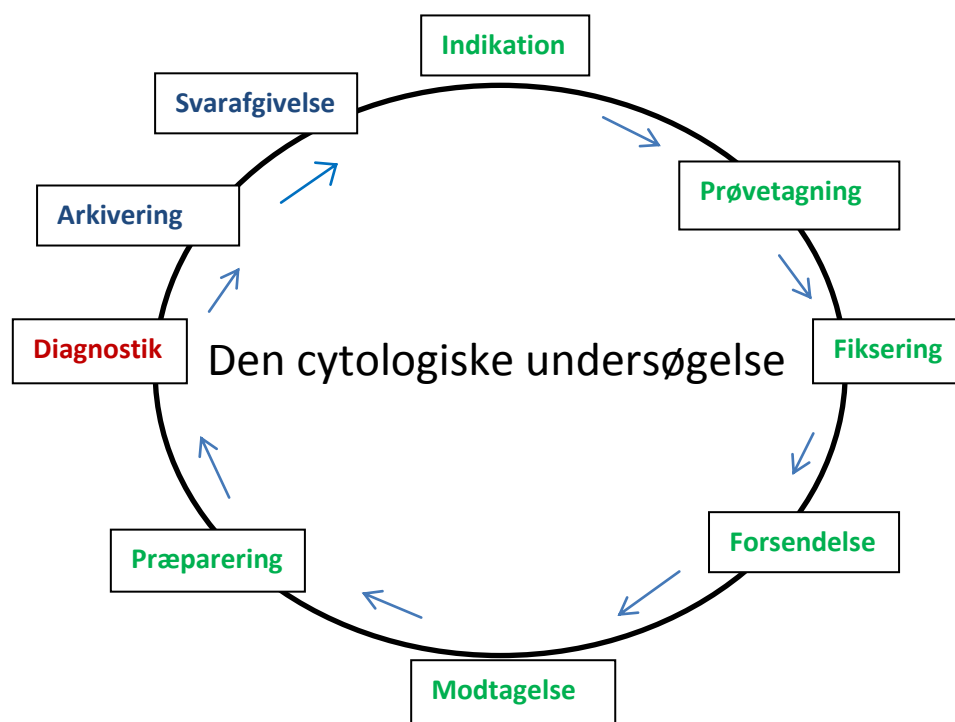
INDLEDNING

Formålet med præparation af cytologisk materiale er at overføre en repræsentativ og velbevaret andel af celleprøven til et objektglas, så man kan stille en præcis diagnose ved at undersøge cellerne i et lysmikroskop. Man har derfor udviklet forskellige metoder til at koncentrere det diagnostiske materiale, så selv få neoplastiske celler kan identificeres i mikroskopet. Det materiale, der indleveres i patologiafdelingen til cytologisk undersøgelse, kan opdeles i cellevæsker (suspensioner) eller udstrygninger. Cytopræparation omfatter de generelle præanalytiske præpareringsteknikker herunder farvning af cytologisk materiale, der skal diagnosticeres i lysmikroskopet. Denne præparation er altafgørende for den endelige diagnose, fordi celler der er utilstrækkeligt fikserede, præpareret og farvet kan fejlvurderes. Samme præparationsteknik vil ikke give et optimalt resultat for alle materialetyper. Det er derfor vigtigt, at man anvender den optimale metode ud fra den enkelte materialetypes karakteristika, således at man får et repræsentativt, homogent og velfikseret prøvemateriale til diagnostik. At vælge den rigtige præparationsteknik kræver også et grundigt kendskab til fiksering og farvning. Procedurene varierer fra laboratorium til laboratorium, men de grundlæggende principper er de samme. Flere af teknikkerne foregår semi- eller fuldautomatiske i dag.

Ud over en optimal præpareringsteknik er kvaliteten af det diagnostiske materiale også afhængig af, at prøvetageren fremskaffer et velegnet cytologisk materiale, der bliver fikseret korrekt. I dette kapitel vil der blive givet eksempler på metoder til at indsamle cytologisk materiale. Mange af præpareringsteknikkerne, der anvendes i dag i det cytologiske laboratorium, bliver beskrevet.

DEN CYTOLOGISKE UNDERSØGELSE

Man kan opsummere den cytologiske undersøgelse og dens enkelte faser, som det ses i figur 1. Indikationen for en cytologisk undersøgelse er enten diagnostisk udredning af et klinisk fund, en invitation til screening for livmoderhalskræft (cervixcancer) eller kontrol af tidligere neoplasie. Hvis der er klinisk indikation for en cytologisk undersøgelse, vil der blive taget en celleprøve, der fikseres afhængig af prøvetypen, og prøvetageren udfylder en elektronisk rekvisition. Prøven sendes til patologiafdelingen, hvor den modtages og registreres i patologisystemet af en bioanalytiker ved hjælp af en unik stregkode, som prøvetageren har mærket prøven med, suppleret med patientens cpr-nummer og navn. Prøven mærkes med et unikt patologinummer. Prøven vil herefter blive præpareret i det cytologiske laboratorium og præpareringsmetoden afhænger af prøvetypen. Til og med denne fase er alle procedurene præanalytiske og derfor markeret med grønt på figur 1. De analytiske laboratorieprocedurer (markeret med rødt på figur 1) foregår, når celleprøven er klar til diagnostik, hvorefter der afgives elektronisk svar til rekvirenten. Rekvirenten skal som hovedregel informere patienten og evt. træffe beslutning om yderligere udredning og behandling. Kvinder, der deltager i screeningsprogrammet for cervixcancer, kan også, hvis de har givet samtykke, få svaret tilsendt fra patologiafdelingen. Svaret vil kun fortælle, om prøven er normal eller ikke normal og kvinden vil i sidstnævnte tilfælde opfordres til at kontakte sin læge om det videre forløb. Postanalytiske laboratorieprocedurer, der omfatter svarafgivelse og arkivering, er markeret med blå i figur 1. Kvalitetssikring af den cytologiske undersøgelse vil indgå i beskrivelsen af de enkelte laboratorieprocedurer.



Figur 1. Præanalytiske, analytiske og postanalytiske laboratorieprocedurer i forbindelse med den cytologiske undersøgelse.

PRØVETAGNING

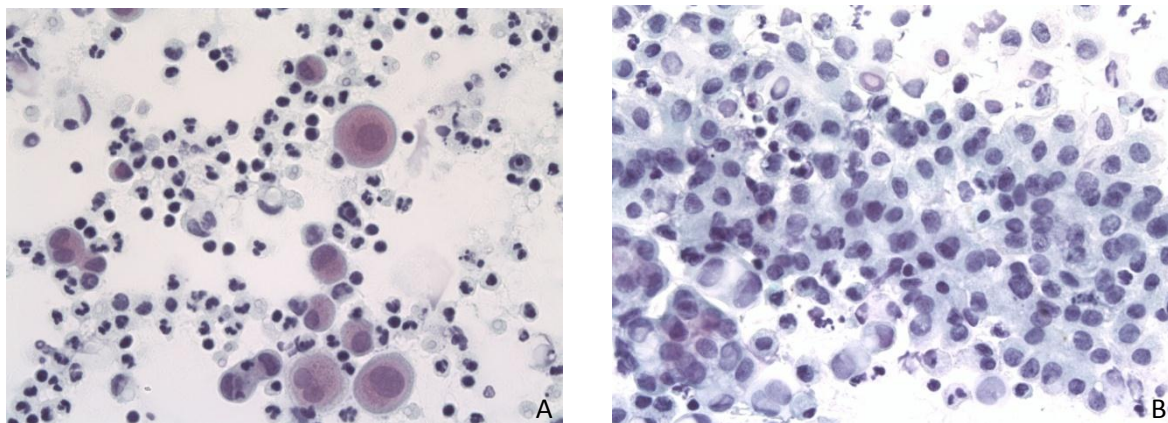
Alment praktiserende læger og speciallæger i primær sektor eller på hospitalsafdelingerne er de vigtigste samarbejdspartnerne, når det drejer sig om prøvetagning af celleprøver. Metoder til indsamling af cytologisk materiale er enten eksfoliation (af lat. *exfoliare* berøve blade) eller aspiration (udsugning). Med den eksfoliative metode opsamles celler, der enten er spontant afstødte i en af kroppens hulheder eller bliver skrabet af overfladen af et epitelvæv. Når lægen aspirerer, suges cellerne ud ved hjælp af en sprøjte med en påsat tynd kanyler, en finnål. Denne metode kaldes finnålsaspiration, forkortet FNA. Da neoplastiske celler ofte ikke hænger så godt sammen som normale celler gør, kan de være lettere at aspirere end de normale celler i et organ.

Teknikker til indsamling af eksfoliativ cytologi

Eksfolierede celler indsamles ved enten at skrape, børste eller skylle dem af eller simpelthen ved at opsamle den kropsvæske, som cellerne befinder sig i (tabel 1). Cervixcytologiske prøver (celleprøver fra livmoderhalsen) er et eksempel på indsamling af epitelceller ved afskrabning af både ekto- og endocervix (livmodermunden og livmoderhalskanalen) med en spatel og en cytobørste eller en kombibørste. Der tages ca. en halv million cervixcytologiske prøver i Danmark om året og disse celleprøver udgør langt størstedelen af det cytologiske materiale, som de deltagende patologiafdelinger modtager hver dag.

Børsteteknikken anvendes også i forbindelse med en kikkertundersøgelse, der er en endoskopisk undersøgelse af fx bronkierne, der så kaldes en bronkoskopi. Ved en bronkoskopi er man i stand til at visualisere bronkieepitelet ved hjælp af en lyskilde og et miniature kamera, der er fastgjort for enden af et langt, fleksibelt og hult rør. Herigennem kan man føre en lille aflang nylonbørste på en lang stålwire og

børste celler fra et suspekt område på overfladen i bronkievæggen. Børsten trækkes op og der kan fremstilles en eller flere udstrygninger af materialet. Prøvetageren kan også under den endoskopiske undersøgelse vælge at skylle/spule cellerne af ved hjælp af fysiologisk saltvand, som opsamles og sender til cytologisk undersøgelse. Denne metode anvendes, når man fx opsamler en blæreskyllevæske under en cystoskopi (af gr. *kystis* blære), en bronkieskyllevæske under en bronkoskopi eller en peritoneal skyllevæske af bughinden (peritoneum) i forbindelse med operation af en gynækologisk cancer (figur 2B).



Figur 2A. PAP. Ascites. Reaktive mesotelceller på en inflammatorisk baggrund. 2B Peritoneal skyllevæske. Normale mesotelceller.

Eksempler på opsamling af kropsvæsker eller sekreter er ladt urin (urinprøve) og serøse væsker. Har patienten en væskeansamling i en af kroppens serøse hulheder, kan den serøse væske, dvs. en serumlignende væske, aftappes direkte ved hjælp af et kateter. Herfra opsamles væsken og den sendes til patologi afdelingen. Serøse væsker kaldes ascites, hvis den opstår i peritoneum (figur 2A), perikardievæske i perikardiet samt pleuravæske, hvis væsken er opsamlet fra et af pleurahulrummene.

Eksfoliativt cytologisk materiale

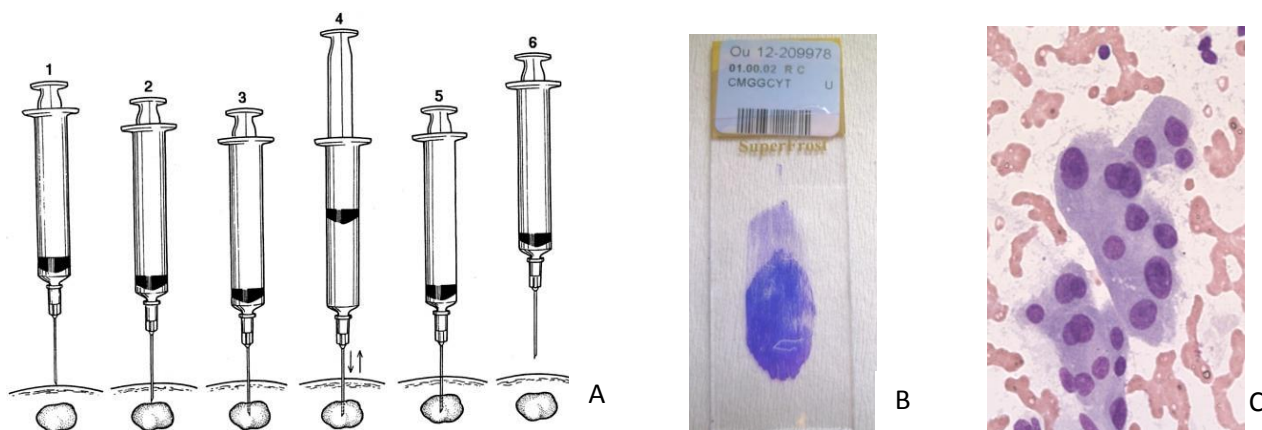
- Cervixcytologisk prøve
- Børsteudstrygninger
- Skyllevæsker
- Ladt urin
- Trakeal sekret (sekret fra luftrøret)
- Serøse væsker

Tabel 1. Eksempler på eksfoliativt cytologisk materiale.

Aspirationsteknik

Med aspirationsteknikken er det muligt at indsamle celler fra organer, der ikke kan nås med de mere skånsomme, eksfoliative teknikker eller fra andre væv end epitelvæv. Det er stort set muligt at foretage en finnålsaspiration (FNA) overalt på og i kroppen, enten gennem huden fx i mamma eller i forbindelse med en endoskopisk undersøgelse. Under en bronkoskopi kan lægen tage en FNA fra forstørrede lymfeknuder, når der anvendes ultralyds- eller CT-scanning af processen under aspirationen. Ved en gastroskopi

(kikkertundersøgelse af mave-tarmkanalen) kan der også foretages finnålsaspiration fra fx en proces i leveren eller galdevejene. Når der aspireres, stikkes nålen ind i processen og bevæges frem og tilbage nogle gange, inden den trækkes ud. Det indsamlede materiale trykkes ud af nålen og fordeles på et eller flere objektglas, hvor det stryges ud i et tyndt, jævnt lag eller fremsendes som en cellesuspension. Aspirationen kan evt. gentages (figur 3).



Figur 3A Skitse af en finnålsaspiration **3B** Finnålsudstrygning **3C** Finnålsmateriale fra thyreoidea med normale onkocytter på en blodig baggrund (MGG).

Prøvetagningsfejl og vurderingsfejl

En celleprøve er egnet, når der findes et tilstrækkeligt antal velbevarede celler, der repræsenterer det organ eller den proces, der er blevet aspireret. Hvis processen er en tumor (cellenydannelse), så er tumorceller de repræsentative celler. Hvis der er aspireret fra en normal spytkirtel, vil normale kirtelceller være de repræsentative celler. Der er tale om prøvetagningsfejl, når man ikke har opsamlet celler, der repræsenterer målorganet eller hvis man ikke har indsamlet et tilstrækkeligt antal repræsentative celler. Hvis de repræsentative celler ikke er i prøvematerialet, vil de heller ikke være på objektglasset og herved er der en stor risiko for at afgive en falsk negativ diagnose. En falsk negativ diagnose vil fejlagtigt give kliniker og patienten anledning til at tro, at der ikke er tale om en malign neoplastisk proces, fordi der ikke er fundet maligne tumorceller i materialet, til trods for at patienten i virkeligheden har en malign neoplasie. Dette kan skyldes enten prøvetagningsfejl eller vurderingsfejl. En vurderingsfejl opstår, når tumorcellerne er til stede på objektglasset, men bliver overset eller fejlvurderet af bedømmeren. Ligeledes hvis benigne celler tolkes som maligne og giver anledning til en falsk positiv diagnose. Patienten vil efterfølgende skulle igennem unødige undersøgelser, før mistanken om cancer kan afkræftes.

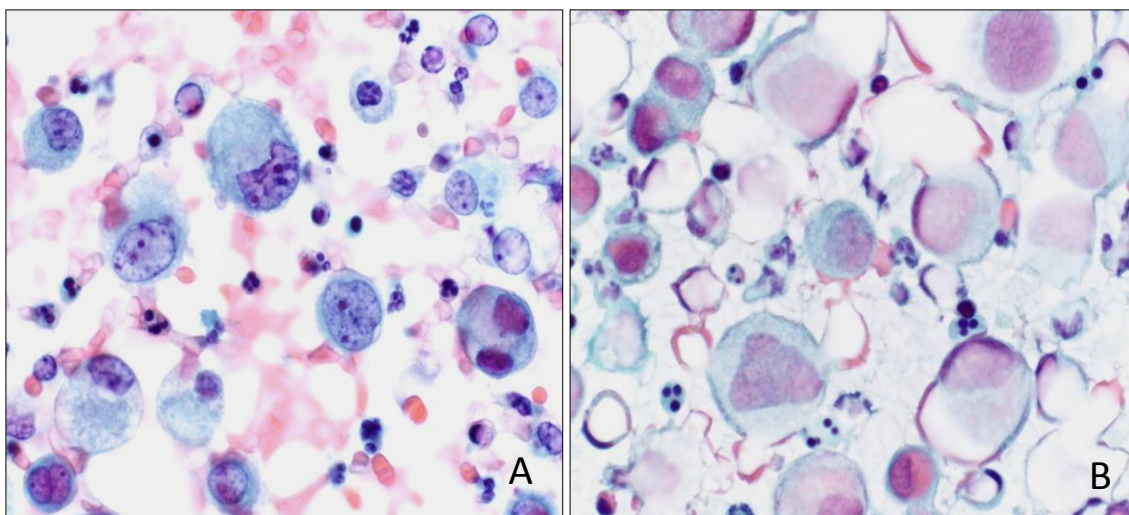
FIKSERING OG FORSENDELSE

Fiksering

Til cytologisk materiale anvendes altid koagulerende fiksering. Når celler fjernes eller afstødes fra vævet og blodforsyningen ophører, vil en intracellulær nedbrydningsproces gå i gang, ved at cellens egne lysosomale enzymer frigives. Dette kaldes autolyse (selvopløsning) eller degeneration (henfald). Hastigheden af disse nedbrydningsprocesser er temperaturafhængig, således at jo lavere temperaturen er i cellesuspensionen, jo langsommere forløber processen. Nedbrydningen kan hæmmes ved kemisk behandling eller fysisk

behandling som nedkøling eller udtørring. For at kunne stille en korrekt diagnose er det afgørende, at cellernes morfologi ændres mindst muligt. Fiksering skal foretages hurtigst muligt. Et koagulerende fiksativ forårsager en kemisk proces i cellen, der bryder de kemiske bindinger, som opretholder proteinernes tertiære struktur. Ved åbningen af den tertiære struktur blotlægges forskellige reaktive og hydrofobe grupper, der danner tværbindinger med hinanden og proteinet koagulerer (danner større uregelmæssige aggregater). Dette stabiliserer og præserverer de cellulære komponenter i cytoplasma og cellekernen. De autolytiske enzymer, der også er proteiner, inaktiveres ved fiksering. De uopløselige proteiner gør cellen resistent overfor den efterfølgende kemiske præparation og derudover har fikseringen også en antiseptisk virkning.

Cellekernens kromatinstruktur er et vigtigt diagnostisk kriterium i cytodiagnostik. Kromatin (af gr. *chrōmatinos* farvet) består af både nukleinsyrer og histoner (basiske proteiner). Når histonerne koagulerer ved fikseringen, bliver nukleinsyrerne farvbare og kernetetaljerne kan bedre vurderes i den farvede celle (figur 4). Desuden giver de koagulerende fiksativer en god bevarelse af nukleinsyrerne, da disse fælder ud i organiske opløsningsmidler, der er mindre polære end vand.



Figur 4. Cytospin af serøs væske. A Alkoholfiksering forud for PAP-farvning B Luftfiksering forud for PAP-farvning.

Valget af fikseringsmetode afhænger af, hvilken farvemethode der efterfølgende anvendes. Valget af farvemethode afhænger så igen dels af materialetypen, dels af lokal praksis. Alt cytologisk materiale, der skal farves Papanicolaou, skal forud for dette være fikseret med alkohol. Det hyppigst anvendte fikseringsmiddel til cytologisk materiale er derfor etanol, der er et koagulerende fiksativ. Det vil sige, at etanol får proteinerne til at koagulere ved en dehydrering, hvor vandet trækkes ud af cellerne. Dette vil bevirke, at cellen skrumper og kromatinet kondenseres. Koaguleringen øges med stigende alkoholkoncentration. Alkoholiske fiksativer har en høj gennemtrængningshastighed og en fikseringstid på 10-15 min. anses for tilstrækkeligt til cytologisk materiale. Som det ses i figur 4, egner luftfikseret materiale sig ikke til PAP-farvning. CytoRich Preservative Fluid[®] (Tripath Imaging, Inc., Burlington, NC) og PreservCyt[®] (Hologic, Marlborough, MA) er eksempler på to kommercielt tilgængelige alkoholiske fiksativer, der anvendes som transportmedier af væskebaserede cervixcytologiske prøver. Man kan også vælge at sprayfikserer cytologiske udstrygninger med et etanolbaseret fiksativ, fx Carbowax[®], tilsat en vandopløselig vokskomponent (polyethylenglykol), der vil dække cellerne og dermed forlænge fikseringstiden ved at forsinke fordampningen af alkoholen. Det er vigtigt at foretage sprayfikseringen staks og med den anbefalede afstand til præparatet for at udgå at spule cellerne sammen.

Når man opbevarer cellematerialet i et alkoholisk fiksativ eller sprayfikserer cellerne umiddelbart efter udstrygning, kaldes fikseringsmåden vådfiksering. Man kan også fikserer celler med en hurtig lufttørring, hvorved cellernes vandindhold fordamper og cellens omfang øges. Her er det vigtigt, at udstrygningen er så tynd som mulig, således at fikseringshastigheden øges. Lufttørrede cytologiske præparater kan kun anvendes til May-Grünwald-Giemsa (MGG) farvning.

Alt cytologisk materiale repræsenterer en potentiel smitterisiko og skal derfor håndteres med korrekt brug af personlige værnemidler og i stinkskaab.

Forsendelse

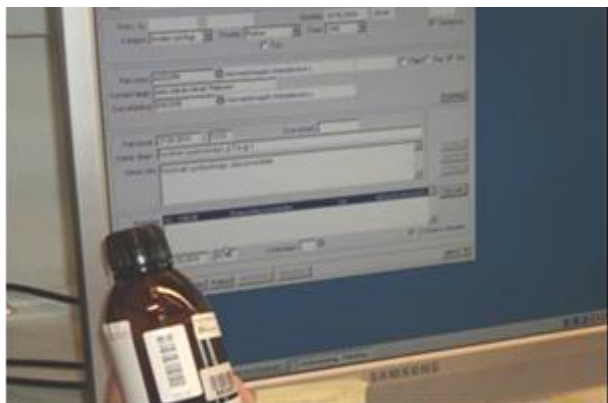
Når prøvetageren har forbehandlet det pågældende cellulære materiale, som anbefalet af den modtagende patologi afdeling, er det klar til forsendelse til diagnostisk undersøgelse. Alle udstrygningsglas og beholdere skal mærkes med patientdata og materialets art. Som hovedregel er fikseret prøvemateriale til patologi afdelingerne undtaget fra specielle krav til emballering og forsendelse. Ufikseret eller lufttørret materiale skal transporteres i triple emballering, der er vandtæt, absorberende og stødsikker samt mærket UN3373. Ufikseret materiale skal så vidt muligt fremsendes umiddelbart efter prøvetagning, ellers skal det nedkøles.

MODTAGELSE I PATOLOGIAFDELINGEN

Cytologisk undersøgelse rekvireres elektronisk fra PatoWeb eller fra de praktiserende læger og speciallæger via det webbaserede WebReq. Ved rekvirering af en cervixcytologisk undersøgelse anvendes ofte en særlig rekvisition med fastlagte spørgsmål, som skal besvares af patienten i forbindelse med prøvetagningen. Prøvematerialet skal være mærket med en entydig, unik 14-cifret stregkode, hvoraf de første 6-7 cifre angiver rekvirentens identitet. Prøvetageren anfører patientens navn (evt. initialer) og cpr-nummer på prøven eller udstrygningsglas. Den elektroniske rekvisition skal indeholde: navn, cpr-nummer, dato for prøvetagning, ansvarlig rekvirent, prøvekategori, prioritet, relevante kliniske oplysninger samt materialets art.

Prøven registreres i patologisystemet, der er en landsdækkende diagnostisk database for patoanatomiske undersøgelser. Stregkoden på den modtagne prøve indscannes og bioanalytikeren kontrollerer, at patientdata (cpr-nummer og evt. navn) er enslydende med de tilsvarende data i den elektroniske rekvisition (figur 5). Prøve og rekvisition tildeles et entydigt patologinummer, som printes ud og sættes på prøveglas eller emballage. Ved modtagelsen bliver prøven prioriteret i forhold til forventet svartid som enten kræftpakkeforløb, hasteprobe eller rutineprobe. Modtaget materiale med utilstrækkelige eller fejlagtige oplysninger returneres til prøvetager for at eliminere enhver risiko for forveksling af patienter. Det skal i så fald registreres som en utilsigtet hændelse i Dansk Patientsikkerhedsdatabase. Rekvisitionen bliver et internt arbejdsdokument i patologi afdelingen, mens prøven procederes, og ender som det svar, der sendes tilbage til rekvirenten.

Ved modtagelse af celsuspensioner er det relevant, at bioanalytikeren foretager en makroskopisk beskrivelse i form af kvantitet, farve og konsistens samt tilstedeværelse af evt. vævsfragmenter eller koagler.



Figur 5. Modtagelse af en blæreskyllevæske, hvor patientdata på prøveflasken sammenholdes med den elektroniske rekvisition.

PRÆPARERINGSTEKNIKKER OG FARVNING

Centrifugering

Teknikker som centrifugering, væskebaseret teknik og membranfiltration anvendes til at koncentrere cellerne i celsuspensioner. Celsuspensioner som fx serøse væsker, cystevæsker og urincytologisk materiale er velegnede til centrifugering. Findes der et cellekoagel i væsken, tages det med fordel fra inden centrifugering. Det udvalgte materiale fordeles i centrifugerør, der afbalanceres og placeres diametralt modsat i centrifugens holdere. Det er vigtigt, at der er ligevægt i centrifugen, derfor kan man veje centrifugeglasholderne med indhold på en vægt. Hvis der er uligevægt, kan man placere tomme centrifugerør i holderne og fylde dem med vand, indtil ligevægten er opnået.

Cytologisk materiale bør generelt centrifugeres så skånsomt og i så kort tid som muligt. Centrifugerings- og omdrejningstal varierer afhængig af materialetype og de lokale præferencer. Man justerer derfor omdrejningshastigheden på centrifugen, således at det antal g (antal omdrejninger gange tyngdekraften), som prøven udsættes for, passer med det, som den enkelte materialetype kan tåle.

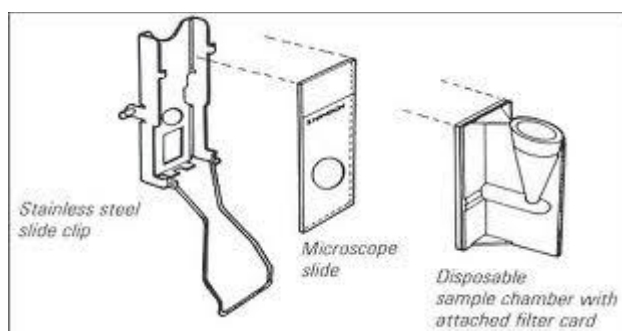


Figur 6. Til venstre centrifugerør efter centrifugering med prædicipat og til højre afhældning af supernatant.

Der skal kunne dannes et sammenpresset præcipitat ("udfældet stof") af det cellulære materiale til den videre forarbejdning. Væsken ovenover præcipitatet kaldes supernatanten. Efter endt centrifugering kan supernatanten afpipetteres forsigtigt ved at holde centrifugeglasset skråt, således at bundfaldet ikke røres. Man kan også i de tilfælde, hvor præcipitatet klæber til glasbunden, vælge at dekantere supernatanten dvs. hælde den fra i en jævn bevægelse (figur 6).

Cytocentrifugering

Cytocentrifugen (fx Shandon Cytospin©) er en speciel centrifuge, der anvendes til en hurtig koncentration af celler i et sparsomt eller cellefattigt medium. Metoden anvendes typisk til cellefattige cellesuspensioner som fx cerebrospinalvæsker fra rygmargen, fordi cellerne under centrifugeringen applikeres direkte på objektglasset i et monolag, hvorefter de kan farves. Der er derfor et meget lille celletab med denne metode. Man afpipetterer maks. 0,5 – 6,0 ml væske afhængig af væskens konsistens i tragtindsatsen og centrifugeringen foregår typisk ved 1000 omdrejninger pr. minut i 5-7 min. Man kan fremstille op til 12 cytospinpræparater ad gangen.



Figur 7. Metalglasholder, objektglas samt tragtindsats med væskekammer til cytocentrifugering.

Et stykke filtrerpapir, som er anbragt mellem objektglasset og tunnelens udløb med en åbning svarende til celleapplikationsområdet på objektglasset, sørger for at opsamle overskydende væske (figur 7). Alle farvemethoder kan anvendes på materialet afhængig af fikseringsvalg. Metoden er ikke velegnet til slimholdigt materiale.

Udstrykningsteknik

Celleprøven vil i de fleste tilfælde kun repræsentere en mindre del af det tilsendte materiale. Derfor er det vigtigt, at cytobioanalytikerens omhyggeligt udvælger, hvilken del af materialet, der skal tages fra til udstrykning, og eventuel supplerer med en celleblok af restmaterialet. Slimholdigt materiale som fx ekspektorater kan stryges ud direkte på objektglasset. Når man anvender bundfaldet efter centrifugering til en udstrykning, bør man anvende coatede objektglas, således at risikoen for celletab begrænses mest muligt. Udstrykninger, der skal PAP-farves, skal straks alkoholfikseres og udstrykninger, der skal farves May-Grünwald-Giemsa, skal lufttørres inden farvning. Uanset hvilken metode der vælges, er målet altid at opnå en udstrykning af et monolag af velbevarede celler med cytomorfologiske detaljer.

Væskebaseret teknik

Den største hindring for udviklingen af automatiseret computervejledt screening var de cervixcytologiske prøvers dårlige smærkvalitet. Smear betyder udstrykning. For at imødegå dette blev den væskebaserede teknik udviklet. To væskebaserede præpareringssystemer er mest udbredt i dag: the ThinPrep Pap Test (Hologic) og SurePath liquid-based Pap test (Becton Dickinson) (tabel 2). Begge systemer frembringer

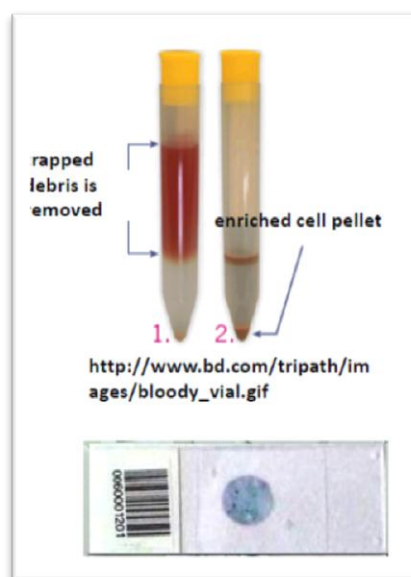
tyndlagspræparater af høj kvalitet, på trods af at metoderne til at opnå dette er ret forskellige. Væskebaseret materiale er ikke anvendeligt til May-Grünwald-Giemsa farvning, fordi materialet er alkoholfikseret.

	ThinPrep	SurePath
Fiksativ	PreservCyt Solution Svag metanolbaseret	Preservative Fluid Meget svag etanol-baseret inkl. formaldehyd
Tyndtlagsmetode	Membranfiltrering af celleprøve Cellerne opsamles på filteroverfladen og overføres til et objektglas.	Prøven centrifugeres og placeres til sedimentering ovenpå et objektglas. Overskydende materiale fjernes.
Væskebaseret celleprøve	Homogen prøve, reduceret antal blodceller og baggrundsmateriale. Øget antal abnorme celler.	Homogent materiale, blod og inflammatoriske celler reduceret, øget antal abnorme celler.
Fuldautomatisk præparering	Ja, ca. 3 min. pr. præp.	Ja
Prøveareal pr. glas	20 mm	13 mm
Antal celler pr. glas i gennemsnit	Ca.53.000	Ca.73.000
Børstehoved i beholder	Nej, cellerne skal afrystes i fiksativ.	Ja
Krav til PAP-farvning	Nej valgfri ved manuel screening. ThinPrep Pap Stain ved guidet screening.	Ja, PrepStain
Baggrund	Problemer med cellefattige prøver ved massiv tilblanding af blod, slim eller eksplorationscreme	Ren men ingen celletomme områder
Uegnede prøver	Flest >1,5 % Blodtilblandede cellefattige prøver tilsættes iseddikesyre og køres om inden besvarelse.	Færrest < 1,5 %
Manuel screening	Meget lidt fokusering Rum mellem cellerne	Stor fokusdybde
Egnet til guidet screening	Ja, ThinPrep Imaging System	Ja, FocalPoint Slide Profiler
Egnet til HPV-test	Ja (FDA godkendt)	Ja

Tabel 2. Sammenligning af ThinPrep og SurePath metoderne.



A



B

Figur 8A ThinPrep metodens tre trin: omrøring, filtrering og celleoverførsel. **8B** viser SurePath metodens cellekoncentrat af prædicipatet efter centrifugering. Nederst til venstre ses et PAP-farvet ThinPrep præparat og til højre et SurePath præparat.

ThinPrep Systemet anvender en filtreringsmetode til at opnå et tyndt cellelag. Prøvebeholderen placeres i ThinPrep processoren, der omrører prøven således at materialet bliver mere homogent, trækker celleprøven igennem et engangsfilter og på filteroverfladen aflejres materialet i et tyndt lag. Filteroverfladen aftrykkes på et objektglas, der straks vippes over i et kar med 96 % alkohol (figur 8A). Herefter kan celleprøven farves. Andet materiale end cervixcytologi kan også præpareres på ThinPrep Processoren, men materialet skal centrifugeres og evt. tilsættes blod- eller slimopløsende reagenser først.

SurePath systemet frembringer et tyndt cellelag ved sedimentation. Før celleprøven sættes på SurePath PrepStain instrumentet, skal prøven centrifugeres. Den foregår på en måde, der koncentrerer eventuelle abnorme celler og fjerner op til 75 % af blod- og slimtilblanding, hvorved antallet af abnorme celler på objektglasset øges. På PrepStain instrumentet overføres celleprøven til et kammer ovenpå et objektglas, hvorpå sedimenteringen af celler foregår (figur 8B). Herefter Pap-farves celleprøverne individuelt efter en speciel protokol. Andet cytologisk materiale end cervixcytologi kan præpareres på instrumenterne efter forudgående centrifugering.

Vacuum filtrering

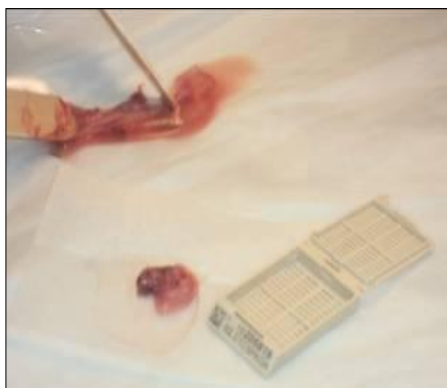
Princippet går ud på, at en celleduspension trækkes gennem et membranfilter med kendt porestørrelse vha. et negativt pres (vacuumsug). Det cellemateriale, der samles på filteroverfladen, kan farves og undersøges i lysmikroskopet (figur 9).



Figur 9. Til venstre ses en kolbe med vakuumsug, hvorpå der ligger et milliporefilter. Materialet, der skal præpareres, er i metaltragten ovenover. Til højre ses PAP-farvede milliporefilter-præparater.

Celleblok

En celleblok er en præpareringsmetode til cytologisk materiale, således at det kan procederes som FFPE (Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded (tissue)) dvs. formalinfikseret paraffinindstøbt histologisk materiale, der skæres og farves Hæmatoxylin-Eosin. Celleblokke er også meget velegnede til supplerende undersøgelser som fx immunkemisk reaktion (se senere), fordi materialet er formalinfikseret. Man kan skære seriesnit og på den måde sammenligne immunreaktionen i et repræsentativt område i celleblokken, når der anvendes et immunpanel. I blodtilblandet cytologisk materiale findes ofte et spontankoagel, der kan indeholde diagnostiske celler i fibrinnetværket. Spontankoagler er meget velegnet som celleblok (figur 10).



Figur 10. Udvælgelse af materiale fra et spontankoagel til histologisk præparation.

Findes der intet spontankoagel, er det muligt at fremstille et slyngningskoagel af materialet i et centrifugeglas. Den anvendte metode kan afhænge af materialets art og kvantitet. De hyppigste metoder er plasma-trombin metoden eller agar metoden. Ved plasma-trombin metoden tilsættes det ufikserede materiale få dråber blodplasma, 1-2 dråber trombinopløsning. Det vil få cellerne til at koagulere i løbet af 1-2 minutter. Celleblokken kan pakkes i fx linsepapir og lægges i en vævskapsel til formalinfiksering. Agar metoden går ud på, at man pakker koaglet ind i linsepapir og lægger det over i smeltet 3 % agar, således at alt materiale er dækket i få minutter. Man tager koaglet op og fjerner det overskydende agar og placerer det i en kapsel til formalinfiksering.

Hologic har udviklet en automatiseret metode til fremstilling af celleblokke ved hjælp af filtreringsteknikken, der hedder Cellient. Celleblokken tilsættes et par dråber eosin-opløsning, for at lette skæringen af klodsens hvis materialet er meget sparsomt. Snit fra en celleblok farves Hæmatoxylin-Eosin (figur 11).

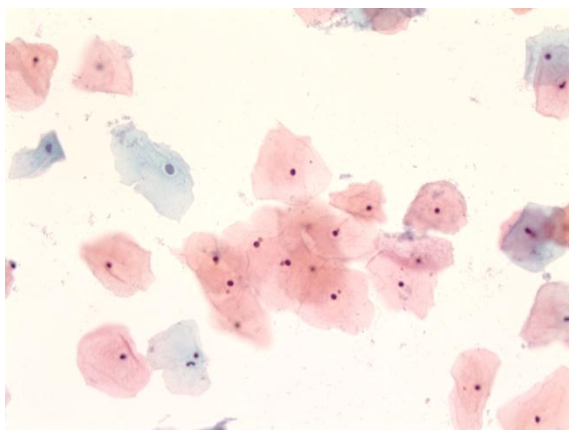


Figur 11. Cellientkoagel af et PreservCyt fikseret og filtreret materiale.

Farvningsmetoder

Der anvendes primært tre histokemiske farvemethoder (Papanicolaou, May-Grünwald Giemsa og Hæmatoxylin-eosin) til cytologisk materiale. Farvekvaliteten af kerne og cytoplasma har afgørende betydning for den diagnostiske kvalitet. For at opnå standardiserede og reproducerbare farveresultater anvender man farvemaskiner, men for at opnå dette og til fejlfinding er det nødvendigt, at cytobioanalytikeren har en grundlæggende viden om farveteori.

Papanicolaou-farvningen (PAP-farvningen)



Figur 12. PAP-farvede superficielle og intermediære pladeepitelsceller.

George Papanicolaou udviklede i 1942 en trikromfarvning til celleprøver og metoden har overlevet med minimale ændringer frem til i dag, hvor den anvendes overalt i verden. Denne farvning gør det muligt at visualisere cellemorfologien optimalt i lysmikroskopet, således at evt. celleforandringer kan opdages. PAP-farvningen anvendes kun til alkoholfikseret materiale og er velegnet til celleprøver med meget pladeepitel fx cervixcytologiske prøver.

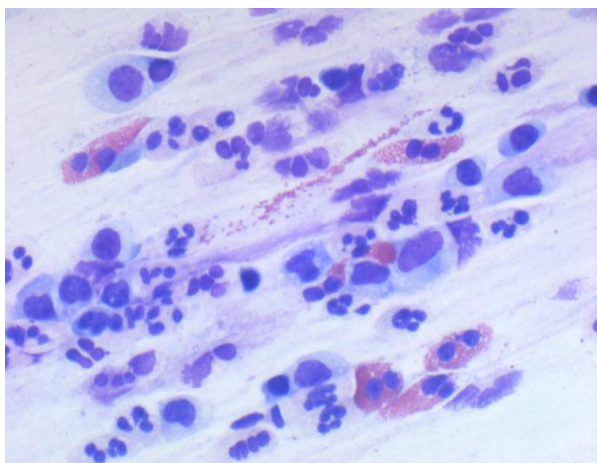
Harris' Hæmatoxylin (Harris, 1900), der indeholder aluminiumssalte, anvendes til kernefarvning, der enten foretages progressivt (farvetiden giver den ønskede farveintensitet) eller regressivt (man overfarver og differentierer i syre). Det er et metalkompleksfarvestof. Kromatinstrukturen er vurderbar og ofte med flere synlige detaljer. Reagenset egner sig godt til farvning af mange prøver.

Cytoplasmafarvningen frembringes af henholdsvis OG-6, der indeholder Orange G, og EA, der indeholder Light green SF og Eosin Y. Begge reagenser indeholder fosforwolframsyre (FWS), der formentlig giver en bedre differentiering af cytoplasmafarvestofferne. Farvestoffernes forskellige molekylstørrelse, struktur og

ladning samt farveopløsningernes pH bevirker forskellig affinitet til cellekomponenterne. Metabolisk inaktive celler farves pink, mens metabolisk aktive cellers cytoplasma farves varierende grader af blå-grønt. Eosin vil farve superficielle pladeepitelceller, nukleoler, erythrocytter og cilier røde. Light green farver de intermediære og parabasale pladeepitelceller blågrønne samt alle andre metabolisk aktive celler som fx pladeepitelmetaplasi. Light green molekylet er længere tid om at komme ind i cellen end Eosin, men erstatter Eosin i de metabolisk aktive celler. Eosin skylles også lettere ud i vandigt alkohol end Light green. Det betyder, at hvis farvetiden i EA er for kort vil der være mange falsk eosinofile celler og hvis man skyller for længe, vil cellerne overvejende være blå-grønne.

Pap farvningen gør cellerne transparente dvs. at man kan vurdere cellerne i tredimensionelle flager. Farvekvaliteten af kernefarvningen kan kontrolleres ved hjælp af en intermediær pladeepitelscellekerne, som skal have et fint granuleret kromatinnetværk og evt. en længdegående kløft. Alternativt kan man vurdere, om kernetrådene mellem kernelobuli i en polymorfkernet granulocyt er synlige. Orange G farver tonofilamenterne i keratin klar gul-orange og kan derfor opfattes som en specialfarvning for keratin. Det er imidlertid ikke alle celleprøver, der indeholder keratinholdige celler.

May-Grünwald Giemsa farvningen (Romanowsky stain)



Figur 13. Eosinofile granulocytter i en MGG-farvet udstrygning fra næseslimhinden(nasaludstrygning).

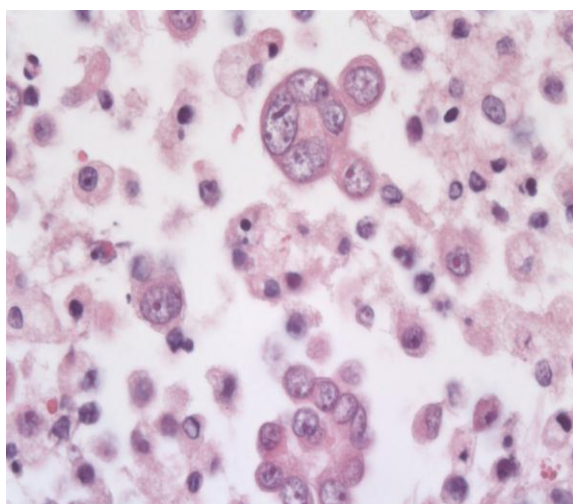
May-Grünwald Giemsa (MGG) metoden (Romanowski, 1891) er en rutinefarvning, der i det cytologiske laboratorium anvendes til ikke-gynækologiske celleprøver fx hæmatologisk materiale, serøse væsker og finnålsudstrygninger. Ufarvede ustrygninger kan opbevares ved 4 °C inden eventuel supplerende farvning. Farveproceduren begynder med efterfiksering i etanol af de lufttørrede præparater for at opnå en yderligere blotlægning af de reaktive grupper. Kationfarvestofferne Methylen blå og Azur farver negativt ladede grupper i kernerne blå og Methylen blå farver også carboxylsyregrupperne i cytoplasmaproteinerne blå. Når Eosin Y, der er et anionfarvestof, binder sig til Azur opstår Romanowski effekten, der farver polyanioner i vævet lilla. Metakromasi ses ved farvning af basofile vævskomponenter, fx mastcellegranula. Surhedsgraden i farvereagenserne bør være pH 6,6-6,8. Efter endt farvning lufttørres præparaterne inden montering med hydrofobt monteringsmiddel fx Pertex.

	Pap	MGG
Fiksering	Vådfiksering	Luftfiksering
Cytoplasmadetaljer	Utydelige (gode ved pladeepitel)	Gode
Kernedetaljer/kromatinstruktur	Tydelig	Utydelig
Stromal komponent	Utydelig	Tydelig
Leukocytsubtyper	Utydelige granula	Tydelige granula

Tabel 3 viser hvordan PAP og MGG supplerer hinanden.

Hæmatoxylin-eosin (HE-farvningen)

HE-farvningen blev introduceret i 1876 af Wissowzky og er fortsat den foretrukne oversigtsfarvning til formalinfikseret væv. I det cytologiske laboratorium anvendes farvningen primært til formalinfikserede celleblokke. Nukleinsyrer i kromatinet og ribosomer farves blåviolet af Al-hæmatein, mens både cytoplasmatiske og kernerelaterede proteiner samt kollagen, keratin og erythrocytter farves lyserøde af Eosin. Generelt ses tydelige kernedetaljer i HE-farvede snit, fordi cellen er åbnet ved skæringen, i modsætning til den intakte celle i cytologiske materiale, hvor et kraftigt farvet cytoplasma begrænser detaljeringsgraden.



Figur 14. HE-farvet Cellientkoagel fra en pleuravæske med maligne tumorceller.

Montering

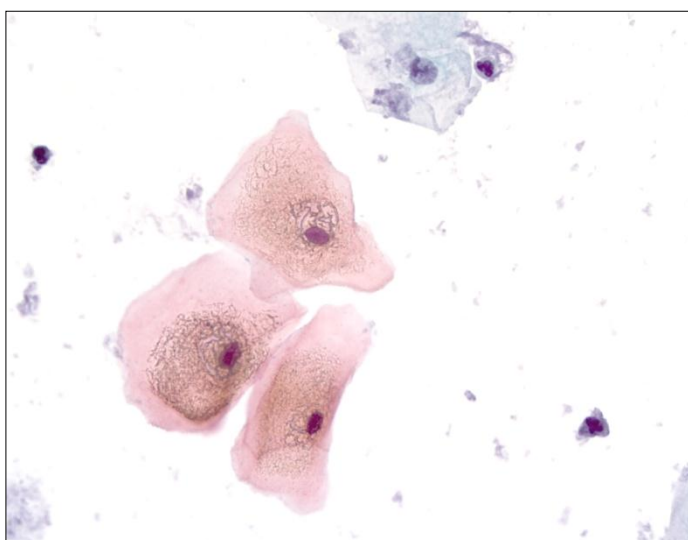
Efter endt farvning skal celleprøven monteres med et dækglass primært for at bevare det farvede materiale intakt. Monteringen foregår enten manuelt eller maskinelt. Dækglasset er 0.17 mm tykt, hvilket gør det muligt at anvende objektiver med høj forstørrelse, da de har en kort arbejdsafstand. Dækglassets størrelse vælges, således at det dækker hele cellearealet. Monteringsmidlet skal have et lysbrydningsindeks svarende til glas, så det ikke er synligt i mikroskopet. Det skal kunne hærde indenfor relativ kort tid (ca. 10 timer) og må ikke krystallisere ved opbevaring i længere tid. Man anvender hydrofobe monteringsmidler til rutinefarvningerne i det cytologiske laboratorium.

Artefakter og kontaminanter

Et artefakt er et kunstigt produkt eller morfologisk forandring i et cytologisk materiale, som kan ses i lysmikroskopet og som stammer fra prøvetagningen eller cytopræparationen. Kontaminater er

fremmedlegemer, der er tilført materialet i forbindelse med prøvetagningen eller cytopræparationen. Disse fænomener er vigtige at kende, da de kan medføre fejl diagnoser.

Almindeligt forekommende artefakter ses efter utilstrækkelig fiksering eller udtørring inden fiksering fx pseudoeosinofili i PAP-farvede præparater (figur 4). For hårdhændet udstrygning vil kvæste cellerne og gøre det umuligt fx at vurdere lymfocytter i lysmikroskopet. Hvis materialet udtørres inden montering, kan man se ”corn flakes”, som er celler med brunlige aflejringer ovenpå. Disse forsvinder, hvis man fjerner dækglasset og monterer prøven igen uden udtørring. Man kan også risikere, at præparatet ”trækker vand” i forbindelse med montering fra et ikke vandfrit medie. Så vil man se små vanddråber ligge i et plan over cellerne og cytoplasmafarvningen vil være forsvundet. Luftbobler under dækglasset gør det vanskeligt at vurdere de celler, der ligger under boblen, således at man kan overse afvigende celler. Med tiden vil farvningen falme, hvilket især forringer cytoplasmafarvningen.



Figur 15. PAP. Monteringsartefaktet ”corn flakes”.

Almindeligt forekommende kontaminanter kan fx være tilblending af eksplorationscreme, ultralydsgel eller talkumkrystaller under prøvetagningen. Under cytopræparationen kan der ske tilblending af luftbårne strukturer som *Alternaria sporidium* eller plantepollen. I postevand kan der findes alger eller andre organismer, der overføres til materialet under farvningen, som også kan forårsage farveudfældninger. ”Flydere”, dvs. løst cellemateriale i farvereagenset som sætter sig på et andet præparat, er et farligt fænomen, som kan give anledning til falsk positive diagnoser. Man kan få mistanken, hvis en enlig gruppe af tumorceller fx ligger helt yderligt på glasset eller i et andet niveau end resten af materialet.

Arbejdsmiljø og sikkerhed

I det cytologiske laboratorium er der flere arbejdsrelaterede risici, som man skal kende, fx smitterisiko, udsættelse for farlige kemiske reagenser og risiko for fysiske skader. Rekvirenter har ikke pligt til at opgive patientens smittefarlige sygdom, derfor betragtes alt cytologisk materiale som potentielt smittefarligt og skal håndteres korrekt. I forbindelse med præpareringen anvendes store mængder kemiske stoffer, som skal opbevares, håndteres og bortskaffes korrekt for at undgå arbejdsskader.

Fysiske skader forårsaget af fx knust glas, nåle, skalpelblade, spild, forkerte løft, belastede arbejdsstillinger vil altid være en risiko, men de vil i de fleste tilfælde kunne forebygges med sund fornuft. Når det er sagt, så er sikkerheden i de danske cytologiske laboratorier i dag så høj, at selv gravide kolleger uden bekymring for

fosterskadende påvirkninger kan udføre stort set alle laboratorieprocedurer, når de gældende sikkerhedsinstrukser følges.

Håndtering og bortskaffelse af cytologisk materiale

Da en del cytologisk materiale vil være ufikseret og dermed potentielt smittefarligt, er det vigtigt at arbejde sikkerhedsmæssigt og sundhedsmæssigt forsvarligt i laboratoriet, således at arbejdsbetinget smitte undgås. Både fikseret og ufikseret materiale håndteres under udsug og det er vigtigt at desinficere arbejdsområdet efter brug med fx 3 % Virkon®. Der anvendes relevante personlige værnemidler, som engangshandsker, beskyttelsesbriller, åndedrætsværn, ærmebeskyttere, plasticforklæde eller overtrækskitler samt laboratoriefaciliteter som afskærmning, sugeboxe og stinkskebe. I tilfælde hvor det fremgår af de kliniske oplysninger, at patienten har HIV, hepatitis eller tuberkulose, tages skærpede forholdsregler i brug og specialundersøgelser bør udgås. Generelt opbevares cytologisk restmateriale i sugeskab, indtil prøven er besvaret, hvorefter materialet bortskaffes til forbrænding.

Er uheldet ude og bioanalytikeren kommer til skade under arbejdet, skal skadens omfang vurderes og der tages stilling til, om personen skal på akutafdelingen. Der udfyldes en skadesanmeldelse, som skal sendes til hospitalets arbejdsmiljøorganisation.

Håndtering og bortskaffelse af kemiske stoffer

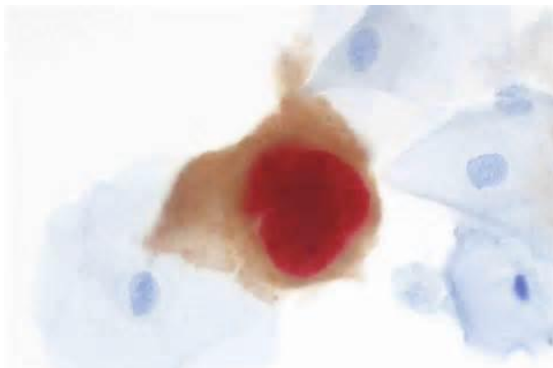
Alt affald skal bortskaffes efter laboratoriets instrukser, således at der ikke opstår risiko for sikkerhedsmæssige eller sundhedsmæssige utilsigtede situationer, fx hvor uvedkommende kommer i kontakt med materialet. Hvis uheldet er sket, skal der anvendes relevante værnemidler, øjensskylleflasker eller nødbruser. Spildes der kemikalier, skal væsken opsamles med cellostof eller vermiculite granulat.

SUPPLERENDE TEKNIKKER

Immunkemiske teknikker

Efter introduktionen af den immunhistokemiske metode i 1941 og de monoklonale antistoffer i 1975 blev det muligt i histologisk og cytologisk materiale at påvise talrige, specifikke proteintyper, der karakteriserer den enkelte celledens fænotype. Ved immunkemi forstås en metode til påvisning af specifikke kemiske substanser (antigener) i celler og vævsstrukturer ved hjælp af antistoffer rettet mod de pågældende antigener (figur 16). Metoden anvendes i den cytologiske diagnostik især på celleblokke ved diagnostik af serøse væsker og finnålsaspirater. Når man bruger formalinfikserede celleblokke, kan man anvende de protokoller og kontrolsnit, der i forvejen anvendes til histologisk materiale i laboratoriet.

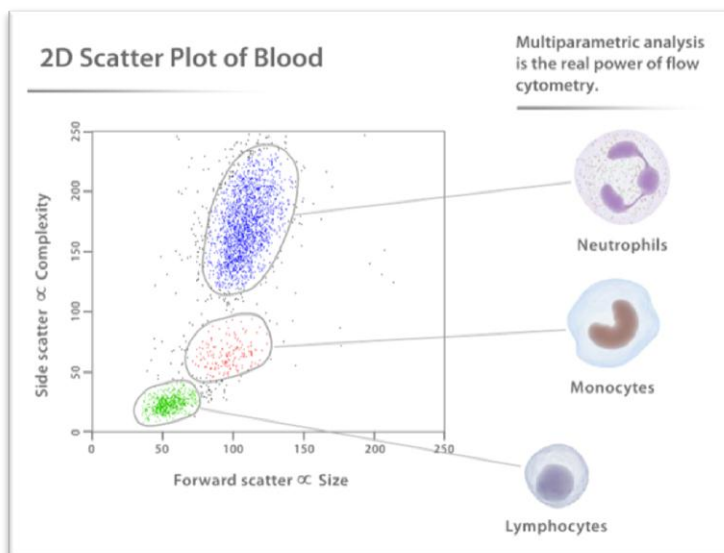
Den diagnostiske præcision, som man opnår med immuncytokemiske undersøgelser for fx Her-2 (Human Epidermal Growth Factor Receptor 2) har fået stigende betydning for targeteret (målrettet) behandling af den individuelle cancerpatient.



Figur 16 viser en immunkemisk dobbeltfarvning af en pladeepitelcelle i et ThinPrep præparat fra livmoderhalsen, hvor antistoffet Ki67 giver en rød reaktion i kernen og antistoffet p16 en brun cytoplasmatisk reaktion. Den positive reaktion tyder på, at cellen er abnorm og inficeret med højrisiko HPV (humant papillomvirus). De normale blåfarvede pladeepitelceller i baggrunden er negative for både Ki67 og p16.

Flowcytometri

Flowcytometri er en objektiv og kvantitativ metode til analyse og separation af celler i suspension. Cellerne mærkes med fluorescerende antistoffer og føres en for en i en væskestrøm forbi en lysstråle. Instrumentet måler fluorescenspulsen af den enkelte mærkede antigenkomponent i cellerne. Resultatet udtrykkes i et histogram (scatterplot) som den relative fordeling af den pågældende komponent inden for den målte population af celler (figur 17). Flowcytometri anvendes i særdeleshed i den hæmatopatologiske diagnostik og til bronkoalveolære skyllevæsker (BAL væsker).

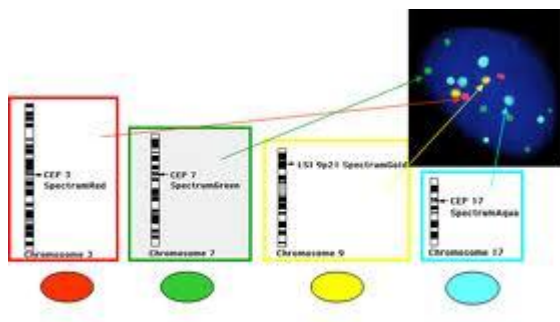


Figur 17 viser to analyseresultater af flowcytometri i form af et scatterplot.
http://media.invitrogen.com.edgesuite.net/tutorials/4Intro_Flow/player.html

Molekylærbiologiske teknikker

Med indførelsen af in situ-hybridiseringsteknikken i 1969 blev det muligt at påvise den specifikke genetiske information i DNA- eller RNA direkte på celler og væv. I 1986 blev polymerase chain reaction (PCR)-

teknikken beskrevet og PCR-baserede undersøgelser anvendes i dag rutinemæssigt på patologi-afdelinger, der deltager i screeningen for cervixcancer eller samarbejder med et onkologisk center. PCR-baserede analyser er i kraftig vækst pga. de mange nye targeterede behandlinger rettet mod cancerceller med en specifik genetisk profil og hertil er cytologisk materiale meget velegnet. Mekanismen er en kædereaktion baseret på enzymet DNA-polymerase. Analyseprincippet er kort fortalt en amplifikation af et bestemt DNA-segment i cellen, hvortil der kan bindes en primer (et syntetisk DNA-oligonukleotid), der fungerer som udgangspunkt for DNA-syntesen i reaktionen (figur 18).



Figur 18. Samlet (manipuleret) fluorescens-resultat af FISH-teknik. Reference: <http://www.cynogen.com/filebin/images/4-probes.jpg>

Teknikker med in situ-hybridisering (ISH) gør det muligt at visualisere specifikke nukleinsyresekvenser (DNA, mRNA) på cytologisk materiale. Analyseprincippet består af en hybridisering (binding) af prober (komplementære nukleotid-strenger) til det ønskede target (nukleinsyre-sekvens) inde i cellekernen (in situ). Proben er mærket med et fluorescerende farvestof og de hybridiserede prober kan herefter påvises ved fluorescens-mikroskopi (fluorescens-in situ-hybridisering, *FISH*) (figur 18). ISH kan vise, om der er tab eller tilkomst af kromosomer, tab eller tilkomst af et gen eller om et gen indgår i en translokation i en tumorcelles genom. Metoden kan anvendes til at følge behandlingsrespons fx ved cytologisk kontrol af blærecancer (Urovision).

HPV tests

Tre molekylære metoder anvendes i dag til indirekte eller direkte påvisning af DNA fra humant papillomvirus (HPV) i cervixcytologisk materiale. En overekspression af p-16 proteinet tyder på en persisterende HPV-infektion og det kan påvises vha. et monoklonalt antistof (figur 16). Hybrid Capture 2 testen er et eksempel på en ISH-DNA test, der anvendes i Danmark. Testen består af et standardiseret kit, der påviser HPV-DNA med en cocktail af DNA-specifikke prober. De registreres via et farvesignal, hvis intensitet er relateret til virusload. Analyseresultatet viser, om en eller flere af de onkogene typer er til stede, men uden specifik typebestemmelse. PCR-teknikken kan enten være virus DNA- (fx Linear Array testen) eller virus RNA-baseret (fx APTIMA-testen). Disse metoder typebestemmer både lav- og høj-risiko HPV også ved tilstedeværelse af multiple typer.

DIAGNOSTIK OG BESVARELSE

Den diagnostiske proces starter med, at undersøgeren sikrer sig, at patient- og prøveidentitet stemmer overens. Så orienterer man sig om materialetype og de kliniske oplysninger på rekvisitionen. Under den

mikroskopiske undersøgelse screenes prøven og man danner sig dermed et overblik over materialet. Man forholder sig til, om materialet er repræsentativt, normalt eller indeholder abnorme celler, der skal afmærkes og tolkes i form af en diagnose eller et diagnoseforslag, hvis prøven skal diskuteres inden svarafgivelsen.

Det kan tage fra få minutter til flere arbejdsdage at stille en cytologisk diagnose. Hvis der er differentialdiagnostiske overvejelser, må man, så vidt det er muligt, foretage supplerende undersøgelser fx immuncytokemiske eller molekylærbiologiske analyser. I vanskelige tilfælde kan der også blive behov for en *second opinion* fra en kollega, inden diagnosen stilles.

Patologibesvarelsen består af et dokumenthoved, der indeholder patient- og rekvirentdata samt undersøgelsestype fx cytologi og prioritet fx haster. Fra rekvirentens side bør der angives en klinisk diagnose og relevante kliniske oplysninger. Besvarelsen kan være deskriptiv og indeholde både en makroskopisk og en mikroskopisk beskrivelse, der afsluttes med en diagnose, eller udelukkende bestående af diagnosekoder. Diagnoserne udfærdiges efter den danske version af SNOMED (Systematized Nomenclature of Medicine), som et kodesystem, der består af systematiserede og standardiserede topografi- og morfologikoder. Topografikoden angiver materialets anatomiske lokalisation og morfologikoden diagnosen. SNOMED-systemet vedligeholdes af Sundhedsstyrelsen i samarbejde med Dansk Patologiselskab. Ved besvarelse af cervixcytologi anvendes udelukkende de SNOMED-koder, der er angivet i Sundhedsstyrelsens gældende anbefalinger for screeningen for livmoderhalskræft.

Når patologibesvarelsen er færdig, bliver den sendt til rekvirenten og indgår herefter i patientens elektroniske journal. Besvarelsen sendes også elektronisk til Patologidatabanken, som er en landsdækkende database, der drives af Danske Regioner, og som indeholder alle patologsvar siden 1999.

ARKIVERING

Sundhedsstyrelsen anbefalede i 2007, at biologisk materiale opbevares i minimum 5 år på patologiafdelingerne, mens man på europæisk plan anbefaler en opbevaringsperiode på 10 år. Herved bliver det muligt at registrere og monitorere kvaliteten af diagnostikken på patologiafdelingerne i form af falsk negative og falsk positive diagnosesvar. Dette undersøges fx i forbindelse med genbedømmelse af tidligere negative eller positive cervixcytologiske prøver samt ved audit af patientforløbet hos cervixcancerpatienter. I princippet bør samtlige cervixcytologiske glas derfor arkiveres i mindst 5 og et halvt år.

Når det drejer sig om anden cytologi, kan man nøjes med at arkivere de glas, som diagnosen hviler på. Specialfarvninger og immunfarvninger med reaktion af betydning for diagnosen arkiveres. Dette har stor betydning, når glassene findes frem i forbindelse med de tværfaglige lægekonferencer eller i de tilfælde hvor sygdommen recidiverer eller metastaserer.

LÆS MERE HER

Sundhedsstyrelsen. Screening for livmoderhalskræft – anbefalinger.2012

<http://www.sst.dk/publ/Publ2012/SYB/Kraeft/ScreenLivmoderhalskrftAnbef.pdf>

Thomsen HS (red). Basisbog i diagnostiske fag. København: Munksgaard, 2012.

Link til Patologidatabanken. <http://www.patobank.dk/>

Coleman DV, Chapman PA. Clinical cytotechnology. London: Butterworth & co, 1989.

Petersen MC. Kompendium i generelle analyseprincipper. København: METROPOL University College, 2009.

Carson FL, Hladik C. Histotechnology A self-Instructional Text. 3. Udgave. ASCP Press, 2009.

Vyberg M. Anvendt immunhistokemi. 7. udgave. København: Bioanalytikeruddannelsen, 2007.

Hallager K, Jelsbak V, Meyer T. Noter i farvning af celler og væv. Modul 3. 2 udgave. København: Bioanalytikeruddannelsen, 2006.

Ejersbo D, Sandahl P, Schou M. Kompendium i klinisk cytologi. Cervixcytologi. Århus: VIA University College Bioanalytikeruddannelsen, 2012.