

5/2016

## Patologie a vyšetření prováděná Laboklinem

### Histologie

Jedná se o mikroskopické vyšetření tkáňových řezů fixovaných ve formalínu (10 %) a zalitých do parafinových bločků. Slouží zejména k diagnostice tumorů, orgánových/kožních onemocnění, zánětlivých onemocnění a infekcí.

Všechny preparáty jsou standardně barveny barvením Hematoxylin/Eosin. Na vyžádání je k dispozici i speciální barvení (např. pro detekci plísňí, mykobakterií, mastocytů).

#### Důležité je:

- Reprezentativní vzorky v dostatečném počtu
- Omezení činitelů vedoucích k přítomnosti artefaktů: elektrokoagulace, trhliny, krváceniny, autolýza vzorků
- Ideální velikost vzorku 0,4-1,0 cm (tkáň musí být dostatečně malá, aby došlo k jejich profixování, ale zároveň dostatečně velké, aby bylo jejich vyšetření relevantní a proveditelné. Odchylky jsou vzhledem k různým metodám odběru možné. Pro posouzení okrajů excize je nezbytně nutné zaslat kompletní excidovanou tkáň (event. vč. lůžka tumoru)
- Fixace ve formalínu je nezbytná! Podíl fixačního roztoku ku velikosti vzorku je 1:10 nebo lépe 1:20. Jiný způsob fixace vzorku např. použití alkoholu, není vhodný. V takovém případě je lepší zaslat vzorek nefixovaný (1 pracovní den většinou neovlivňuje následující vyšetření). Při teplotách pod bodem mrazu zajistí přidání malého množství alkoholu zmrznutí.

- Zadání požadavků a detailů vyšetření je nezbytné a to vyplněním žádanky, která by měla obsahovat např. druh zvířete, věk, předchozí terapie, klinický obraz, místo odběru, cíl vyšetření a diferenciální diagnózy
- U správně fixovaných a zaslaných vzorků je již nález k dispozici následující pracovní den. Výjimkou jsou nefixované vzorky nebo tvrdé vzorky, které je nutno dekalifikovat a také vyšetření vyžadující speciální barvení. Ty trvají obvykle déle.

### Cytologie

Mikroskopické vyšetření roztěrových preparátů oschlých na vzduchu je vhodné k posouzení charakteru přítomných buněk (zánětlivé, nádorové buňky, buňky různých orgánů a krve).

Preparáty jsou běžně barveny barvením dle Pappenheima. Možné je i barvení metodou Diff-Quick. V případě potřeby je možné využít i jiná speciální barvení (plísňě, mykobakterie, měď).

#### Důležité je:

- Metodika a technika odběru: roztěr po aspiraci/punkci, otisk, cytobrush, roztěr pomocí odběrového tampónu
- Tím, že jsou vzorky připraveny ihned po odběru již v klinické praxi, jsou lépe chráněny proti autolýze (zejm. moč a mozkomíšní mok)
- Artefakty vznikají zejména v důsledku příliš tlustých nátěrů, kde není dosaženo

monolayeru nebo v důsledku extrémního tlaku

- Roztěrové preparáty je vhodné nechat usychat pouze na vzduchu a nesusit použitím tepla
- Punktáty a tekutiny po rozetření na sklíčko zaslat do laboratoře ještě ve zkumavkách
- Tekutiny chudé na buňky (čiré) je vhodné předem centrifugovat a provést roztěr ze sedimentu (tento fakt je vhodné uvést na žádanku jako „sediment“).
- Krvavé tekutiny by měly být odebírány do EDTA zkumavky, aby bylo zabráněno jejich koagulaci při transportu.
- Nezbytné je uvést všechny relevantní údaje (vyplnění žádanky).
- Cytologický nález je hotový v den doručení vzorku do laboratoře (pondělí-pátek)

**Účtování** cytologických a histologických vzorků závisí od počtu požadovaných vyšetření na žádance. Například histologické vyšetření několika kožních preparátů je účtováno za jednu cenu. Pokud je ovšem současně poslán např. tumor z téhož pacienta, je již histopatologické vyšetření účtováno dvakrát.

Potřebný **odběrový materiál** (žádanky, odběrovky s formalínem, přepravní krabičky, krabičky na cytologická sklíčka, apod.) u nás můžete bezplatně objednat.

Pokud připadají v úvahu případná **následná vyšetření**, měl by být požadovaný materiál odeslán současně a vyšetřen na základě výsledku těchto vyšetření (např. odběrový tampón s médiem na bakteriologické vyšetření).

## Imunohistochemie

Cílem je průkaz antigenu pomocí značené protilátky ve tkáňových řezech, které byly předtím histologicky vyšetřeny. Používá se v diagnostice nádorových onemocnění a pro potvrzení některých infekčních činitelů. Toto vyšetření nehraje žádnou roli v onemocnění autoimunitního charakteru.

- **Průkaz původu buněk v diagnostice tumorů:**
  - Cytokeratin (epiteliální tkáň)
  - Vimentin (mezenchymální tkáň)
  - Melan A (melanocyty)
  - CD3/CD 79a (T-/B- lymfocyty)
- **Vyšetření typu exprese některých markerů pro prognostický a terapeutický přístup k pacientovi. Např.**
  - C-Kit, Ki-67 (mastocytom)
  - Cox-2 (tumory močového měchýře a trávicího traktu)
- **Průkaz infekčních původců v postižených tkáních**
  - Felinní herpesvirus, Parvovirus, FIP

## Vyšetření klonality buněk /PARR

Velký význam má také PARR test (PCR for Antigen Receptor Rearrangement), který je molekulárně biologickou metodou sloužící pro potvrzení klonality lymfocytů u psa a kočky. Pokud je prokázána monoklonální proliferace B- nebo T- buněk, lze považovat lymfom jako původ této populace jako velmi pravděpodobný.

Velkou výhodou této metody je, že podezřelé buňky je možné otestovat z již odebraných vzorků (parafínové bločky, barvené/nebarvené cytologické nátěry) a není třeba provádět další odběr. Vhodným materiálem jsou všechny tkáň a tekutiny, včetně krve, které dosahují dostatečného počtu lymfocytů.