

Zpracování materiálu pro mikroskopické vyšetření

Jaroslava Dušková
Ústav patologie 1. LF UK, Praha



Tkáňové vzorky

Fixace & zalití do parafinu

Krájení

Barvení

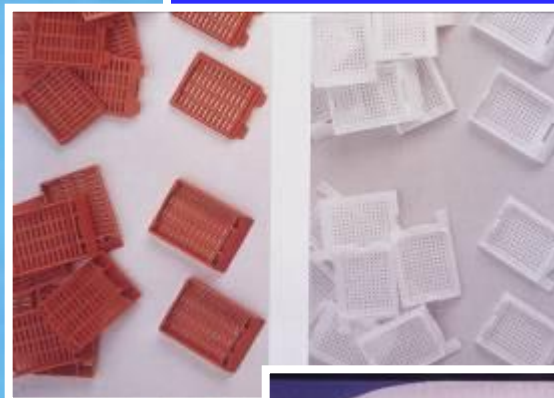
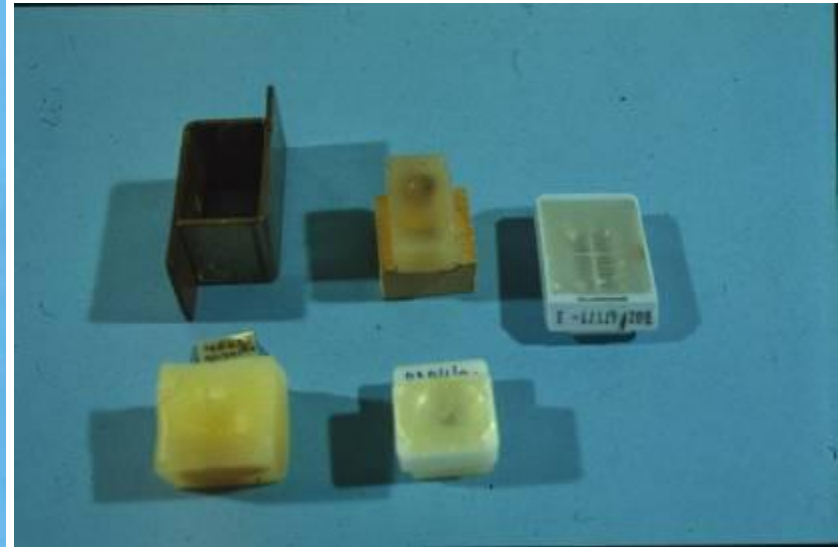
Montování preparátu



40 mm

B 6424/2004

ÚP I.LF UK a VFN, Praha





Cytologické vzorky

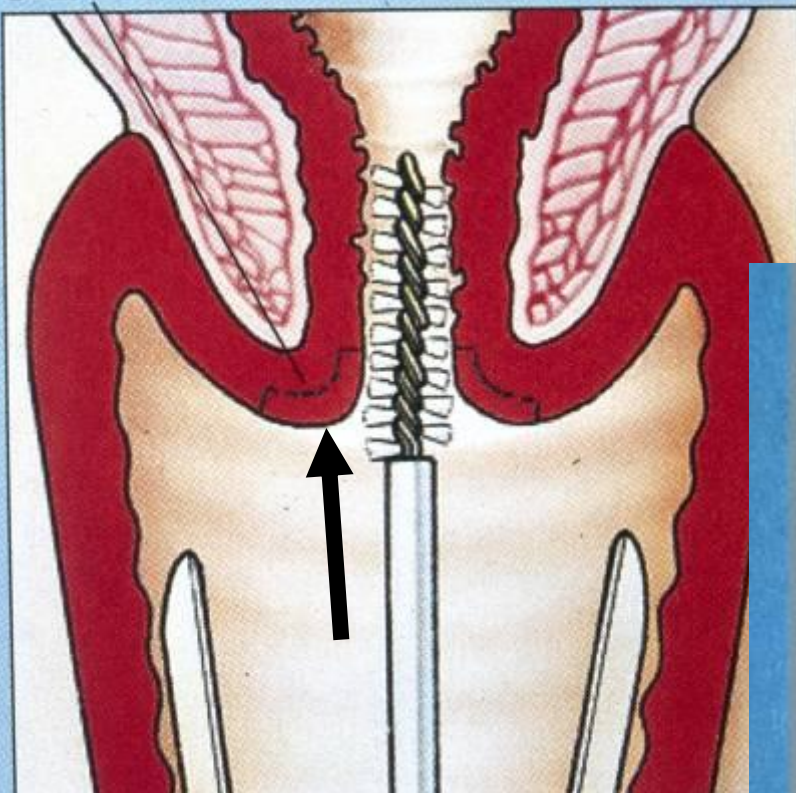
Nátěry, cytocentrifugace

Fixace (formalin, glutaraldehyd,
vyschnutí, mražení)

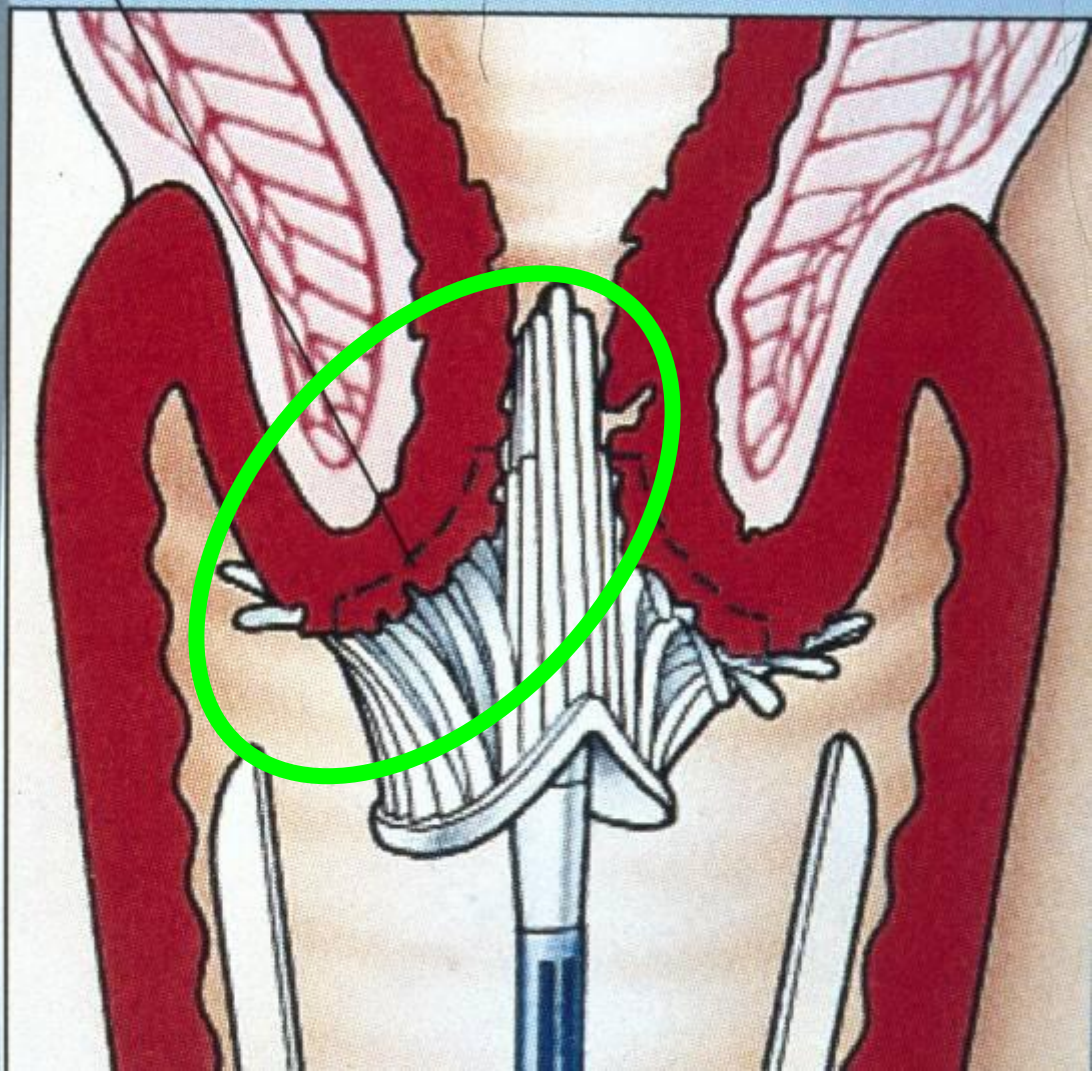
Barvení

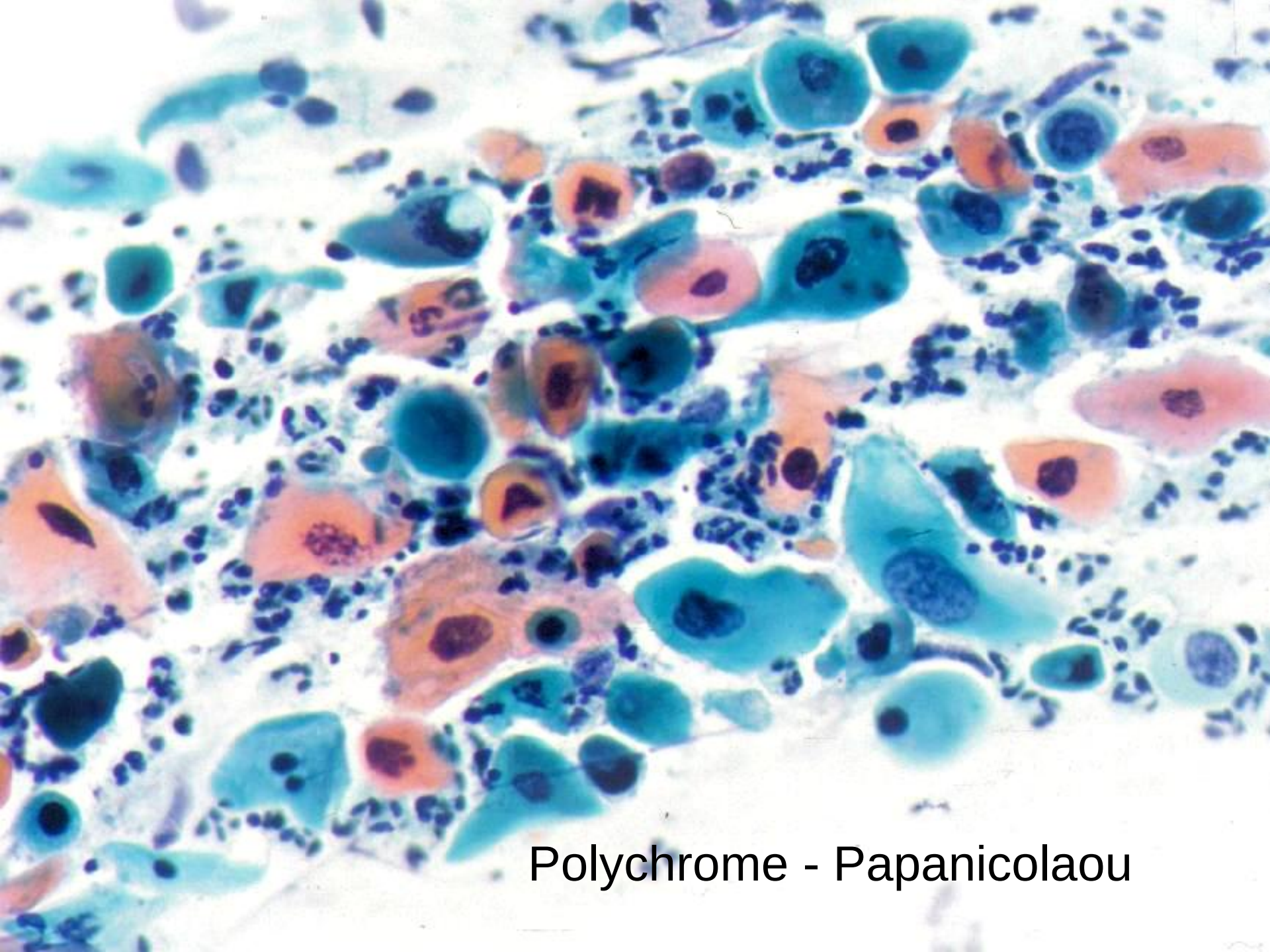
Montování

U-Zone



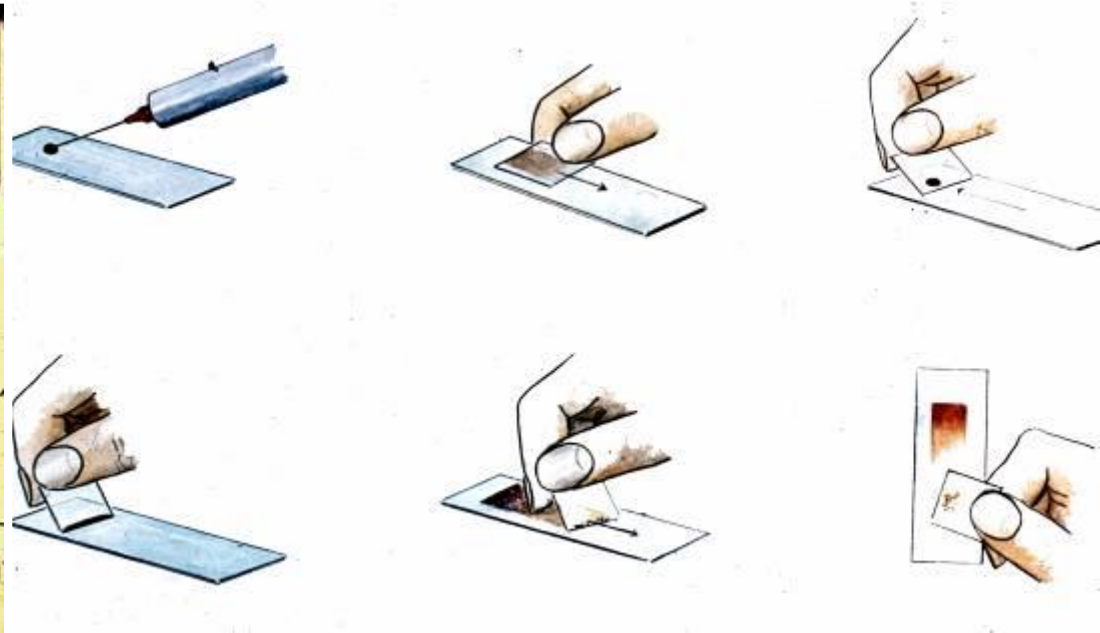
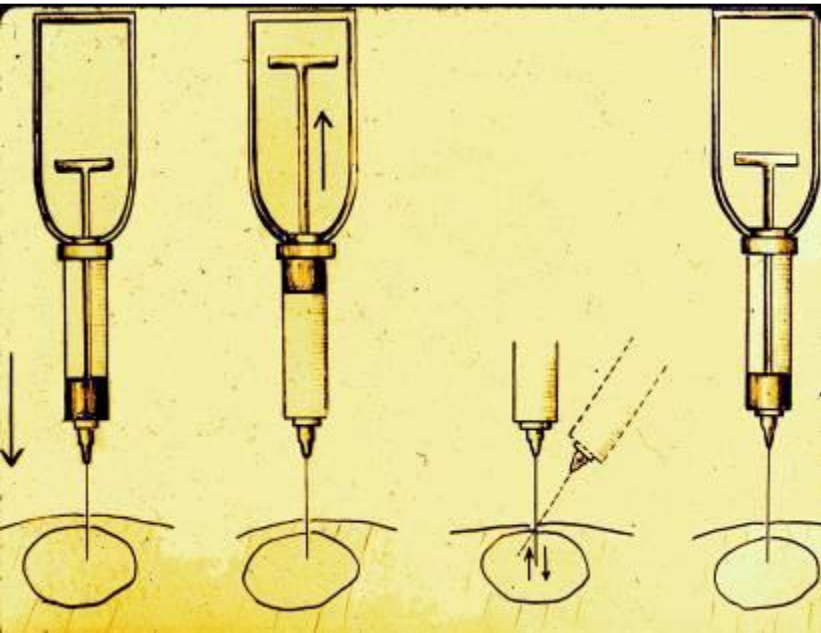
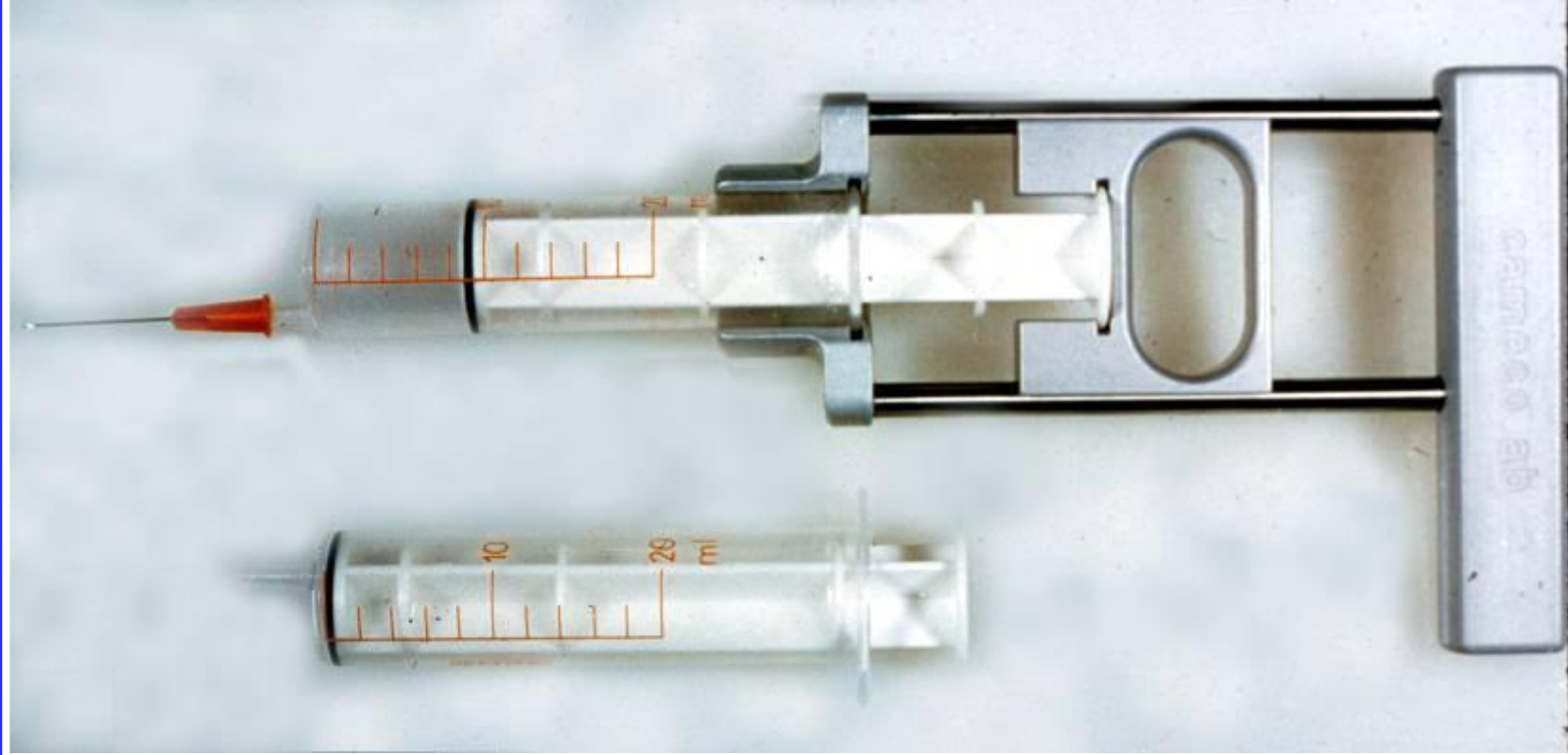
U-Zone





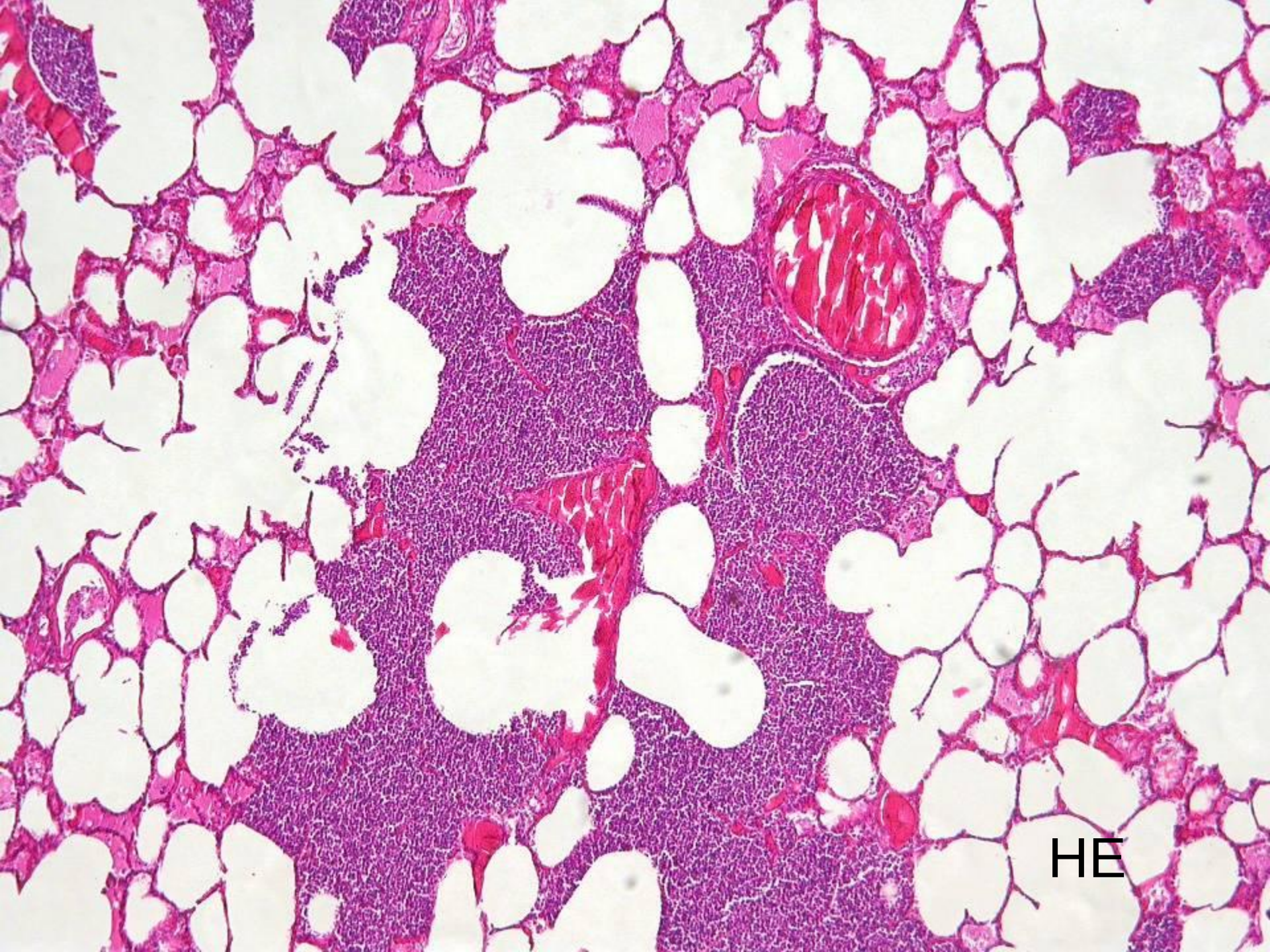
Polychrome - Papanicolaou

F
N
A
B

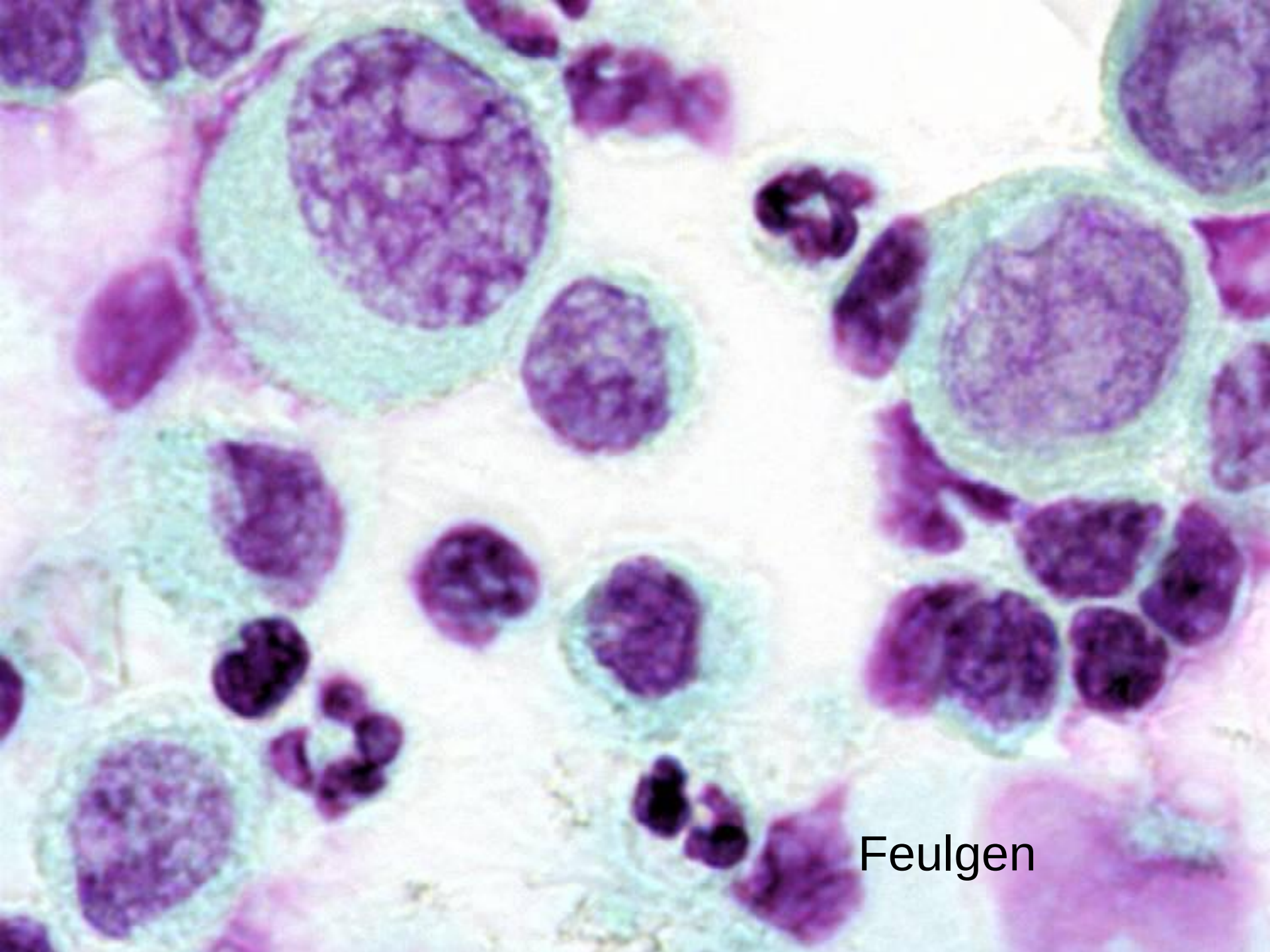


Proč barvíme preparáty ?

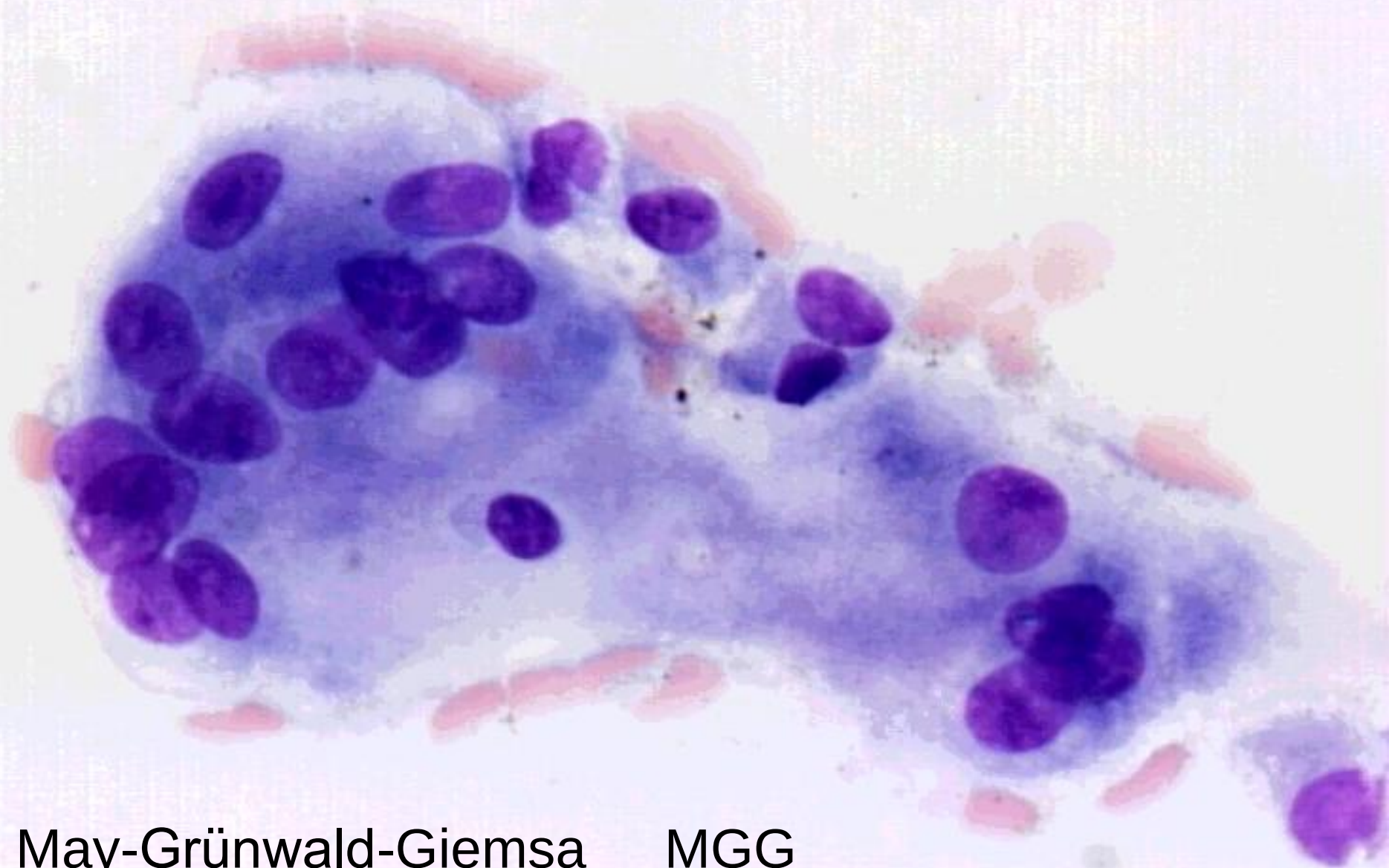
- pro zviditelnění struktur
(empirická barviva pochází z textilního průmyslu)
- k průkazu určitého materiálu
(např. Fe biochemická reakce – histochemie)
- zviditelnění mikroorganismů
(bakterioskopie, mykózy, paraziti)



HE



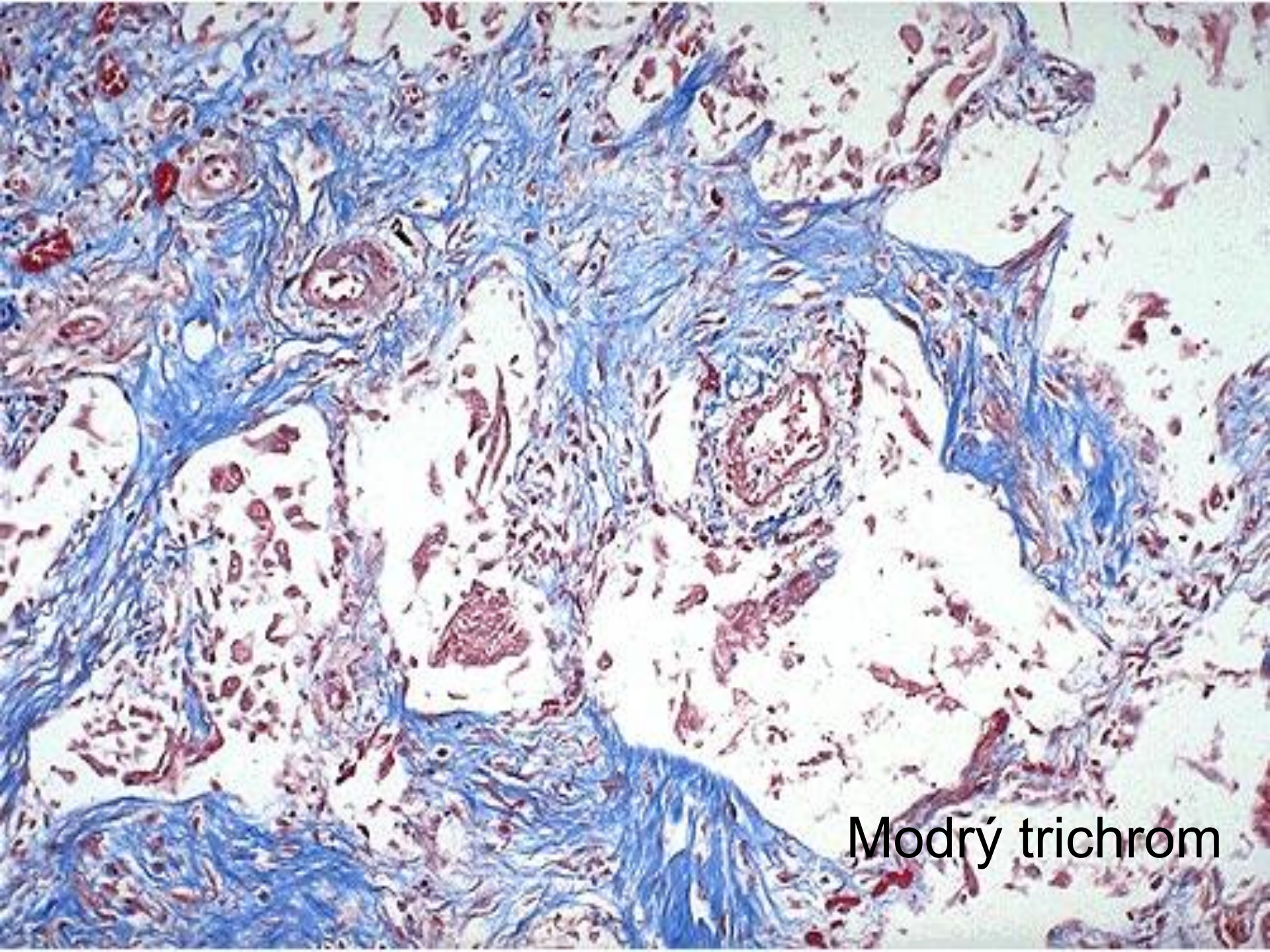
Feulgen



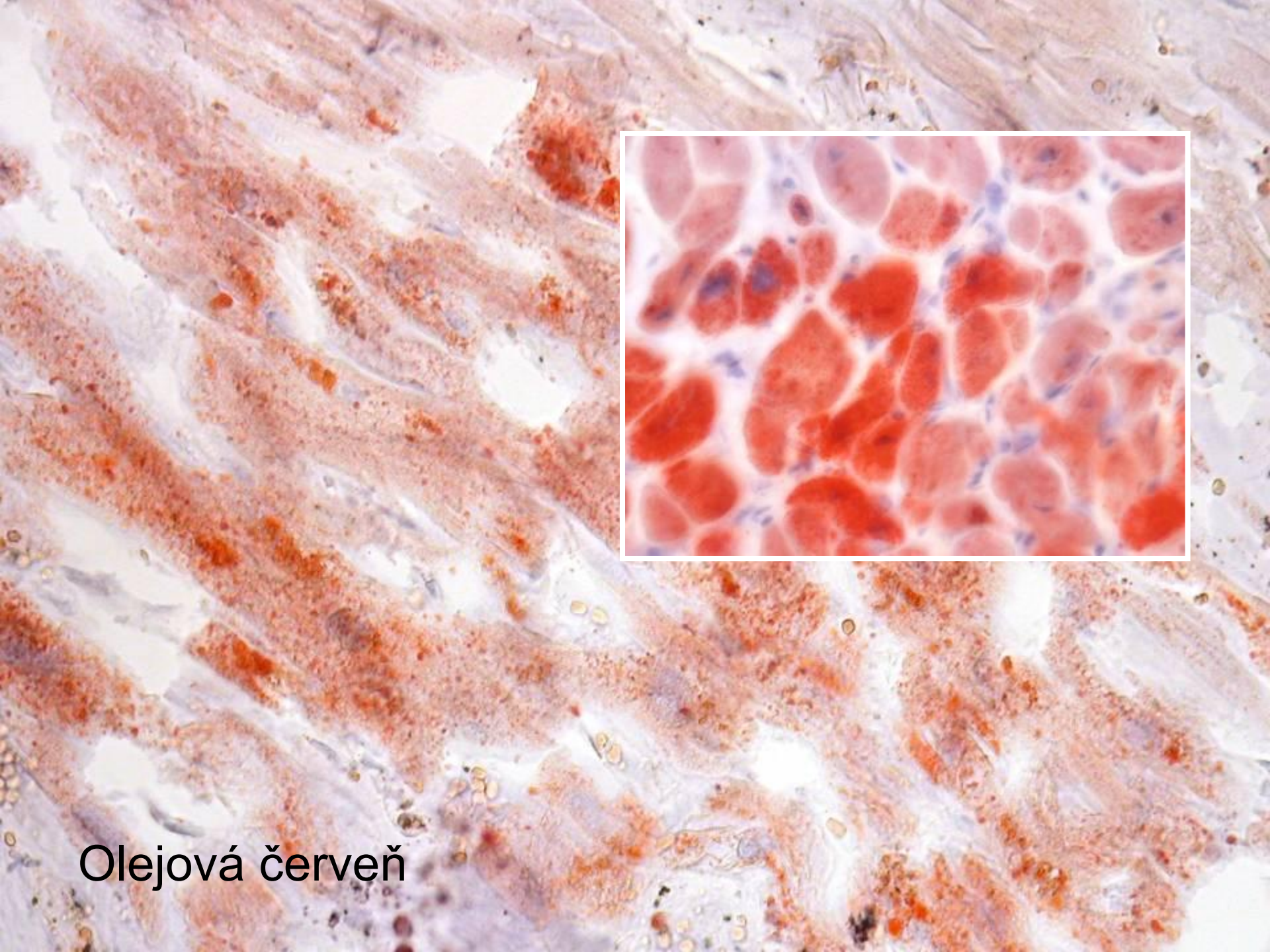
May-Grünwald-Giemsa MGG



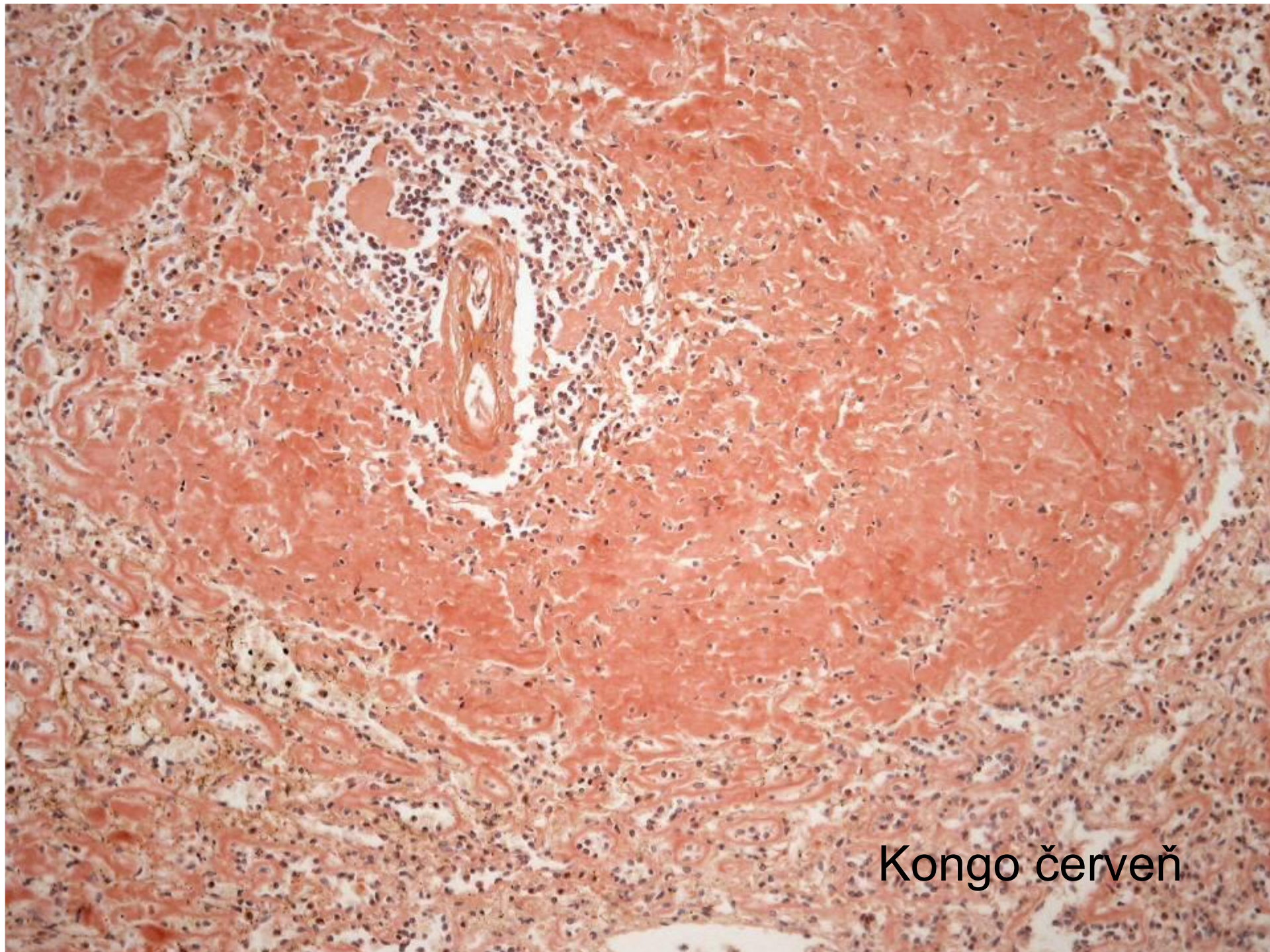
van Gieson - Elastica



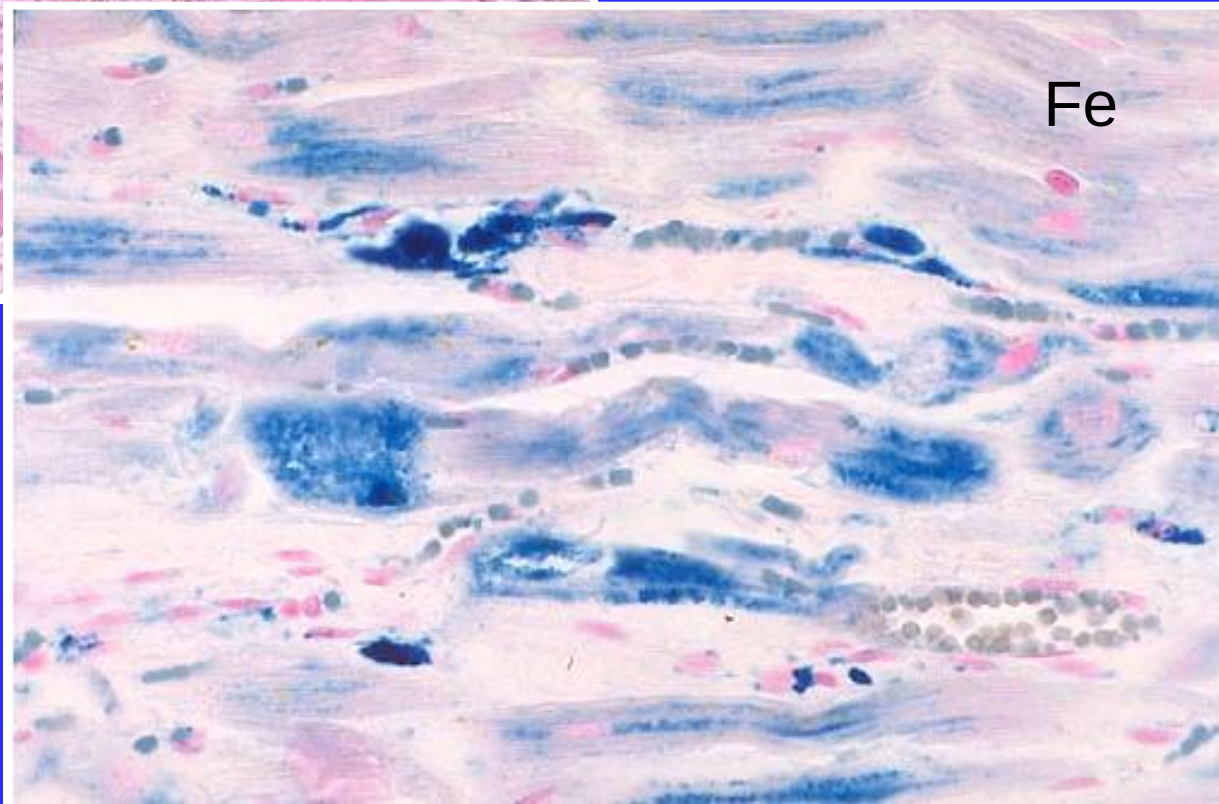
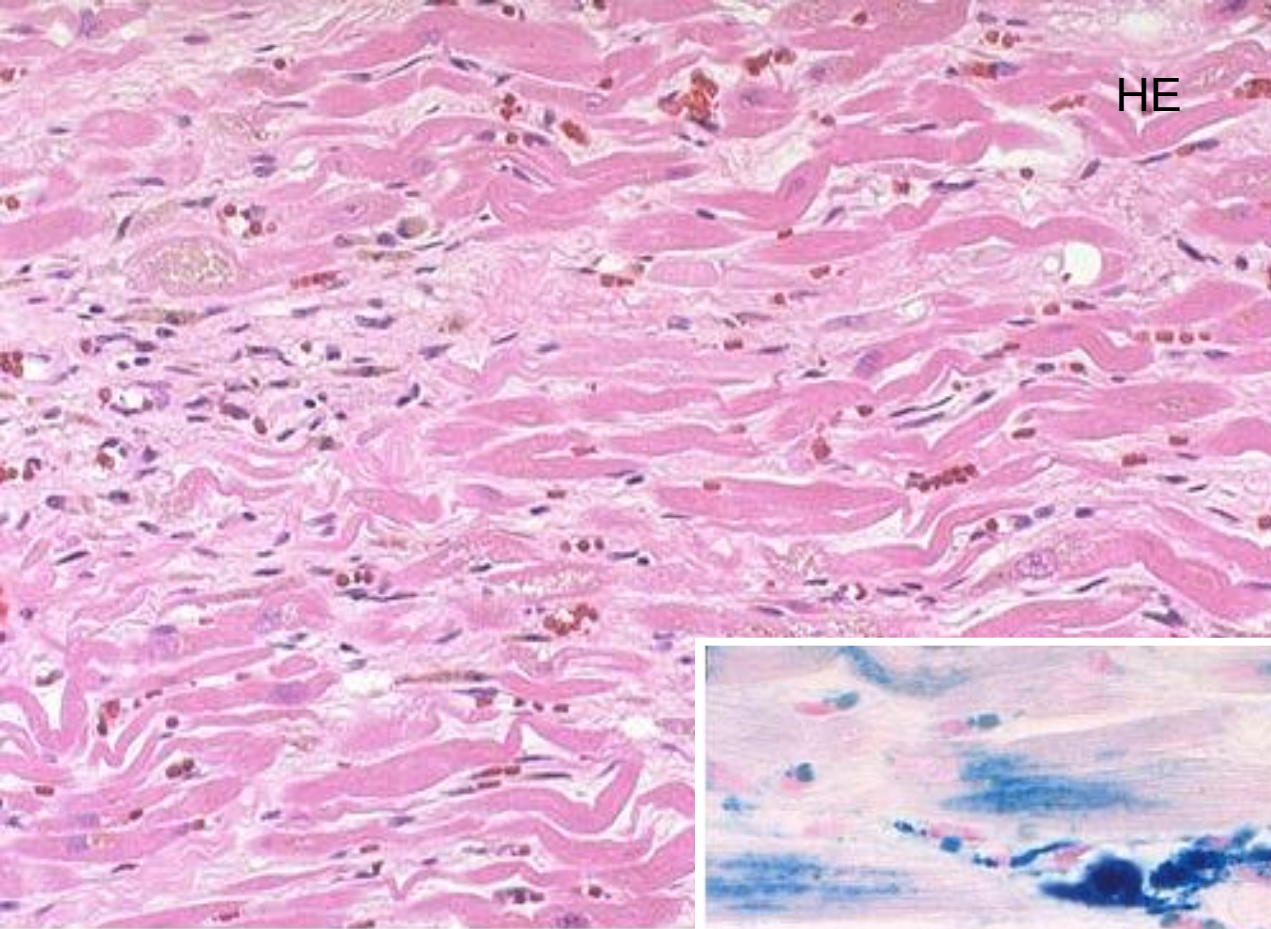
Modrý trichrom



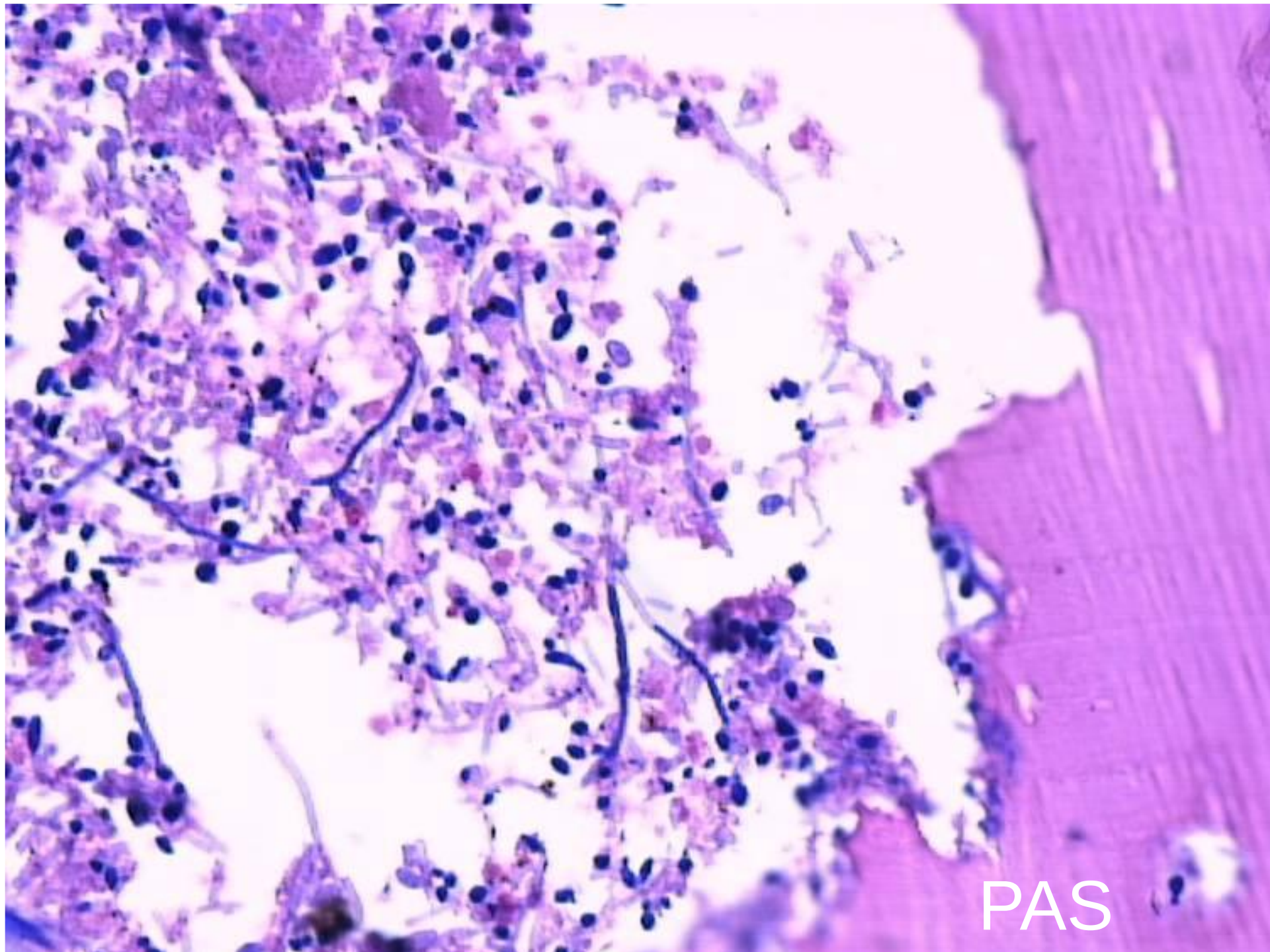
Olejová červeň



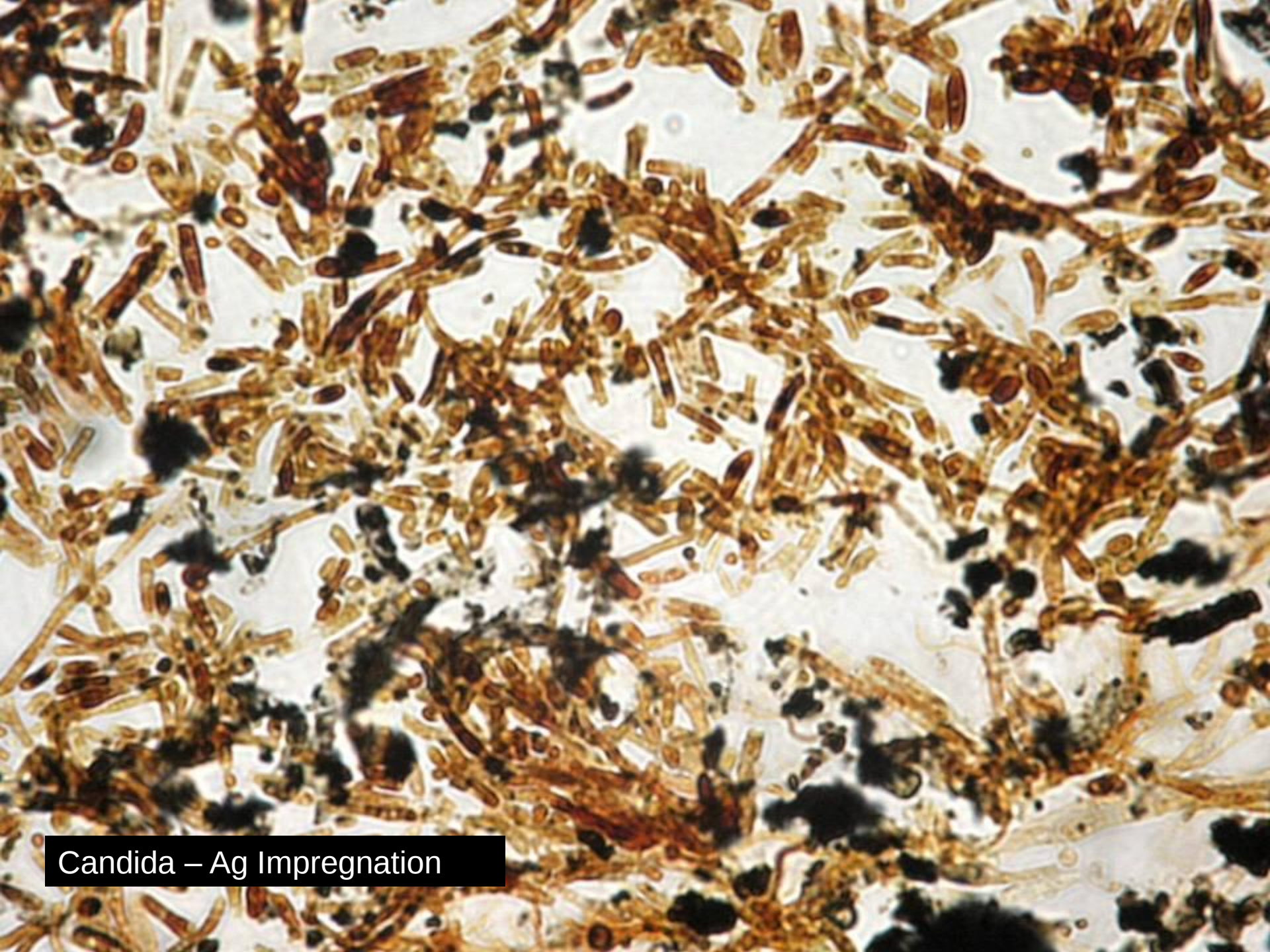
Kongo červen



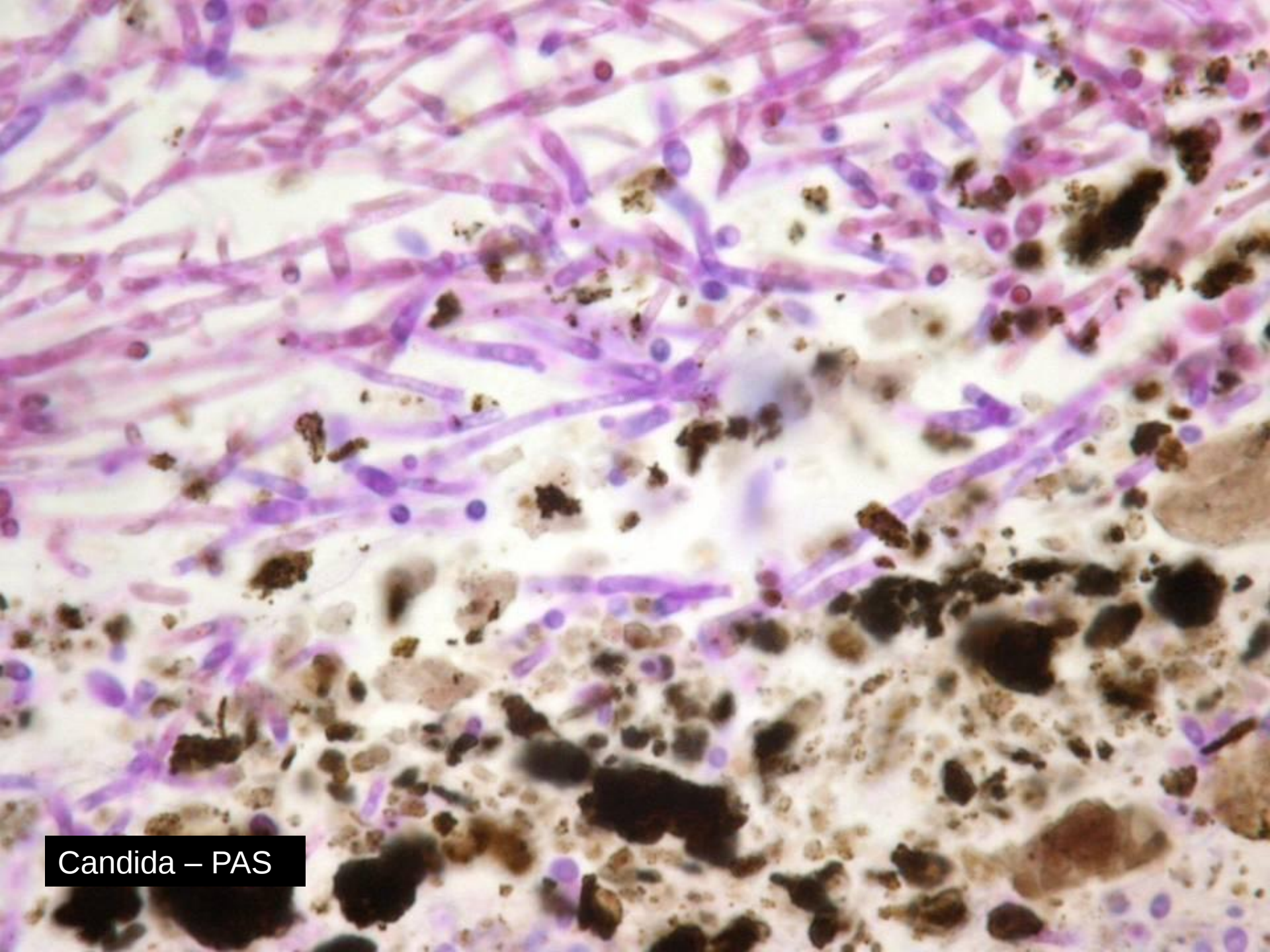
Haemochromatosis
myocardii



PAS

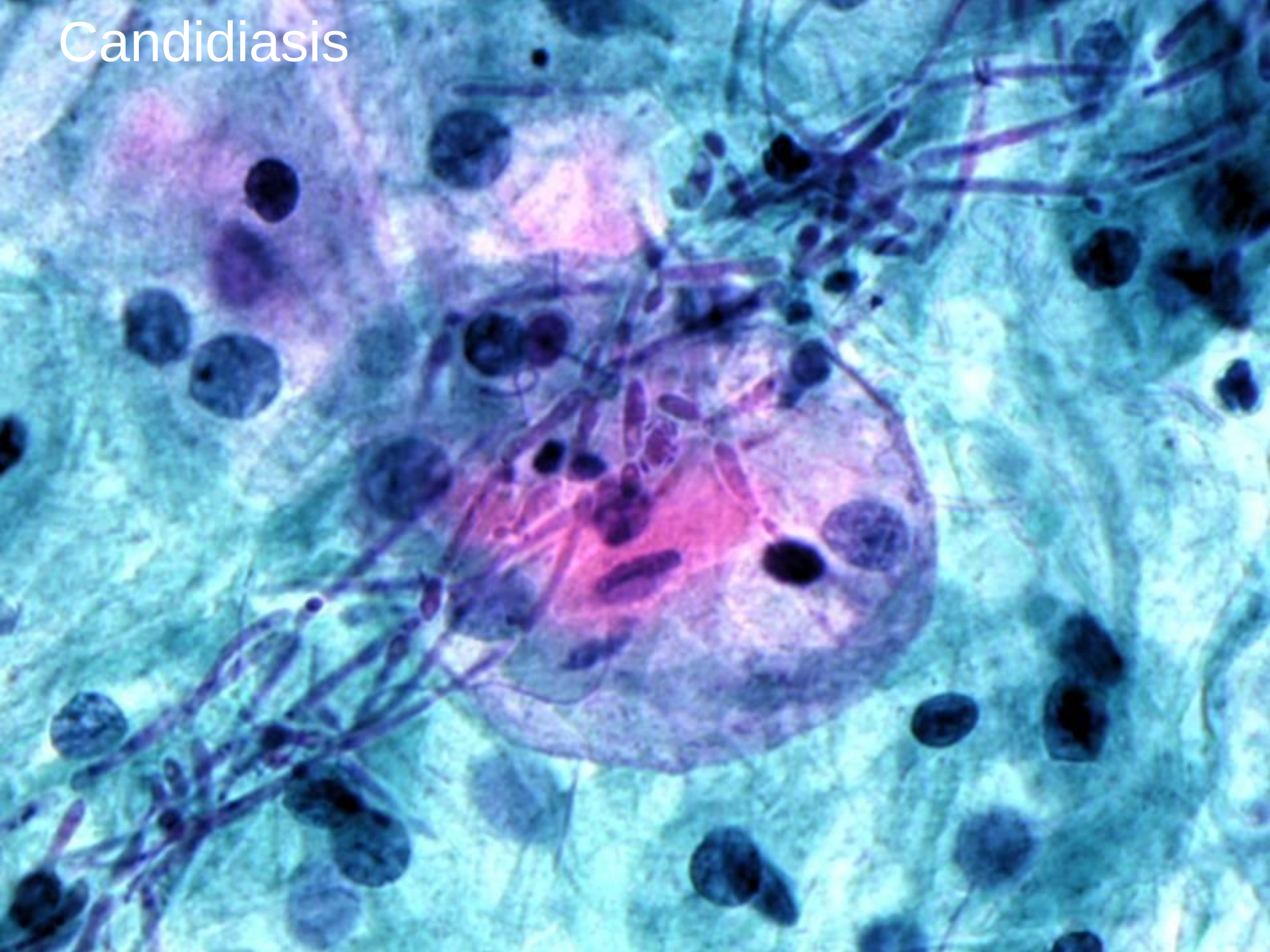


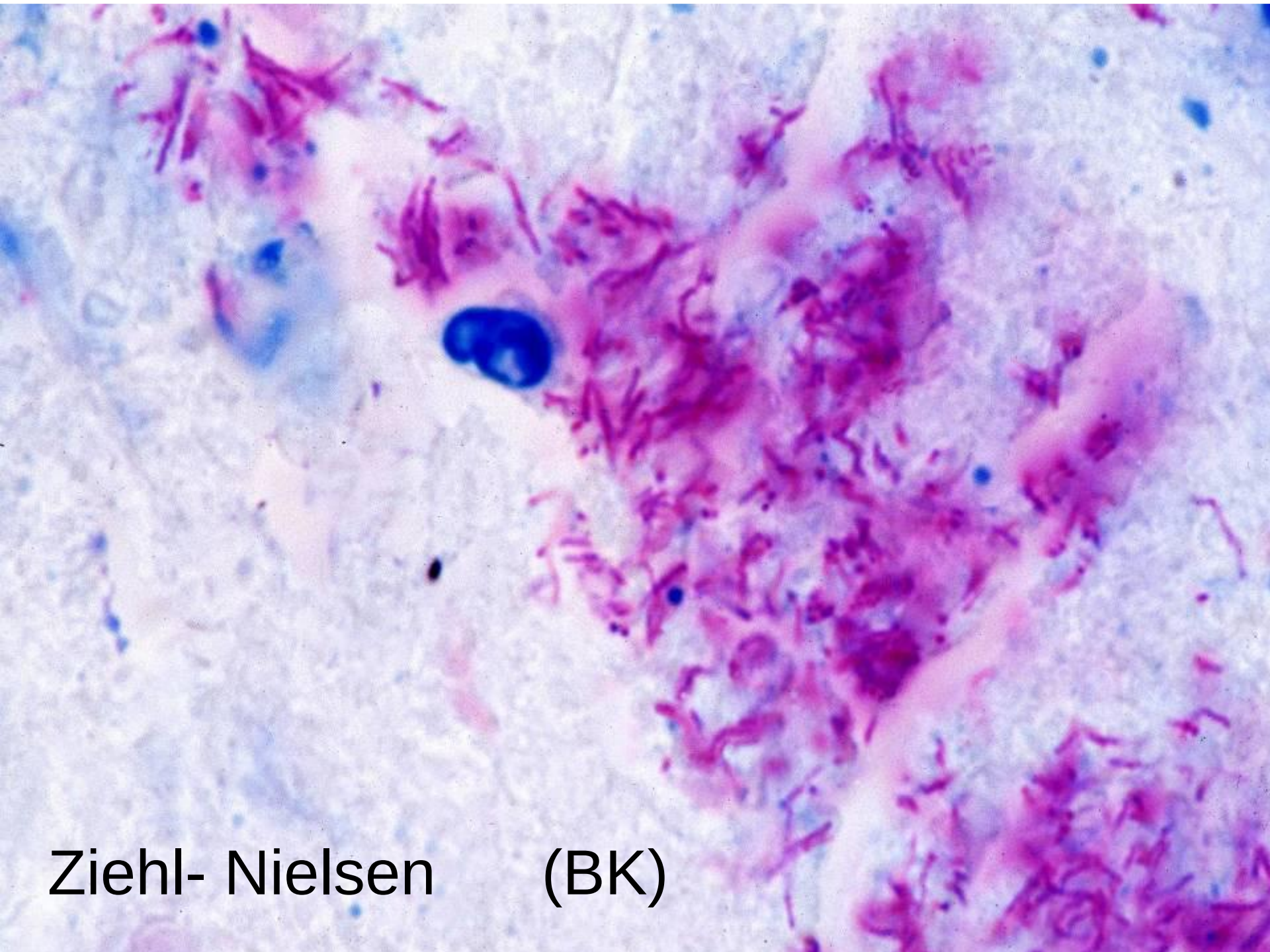
Candida – Ag Impregnation



Candida – PAS

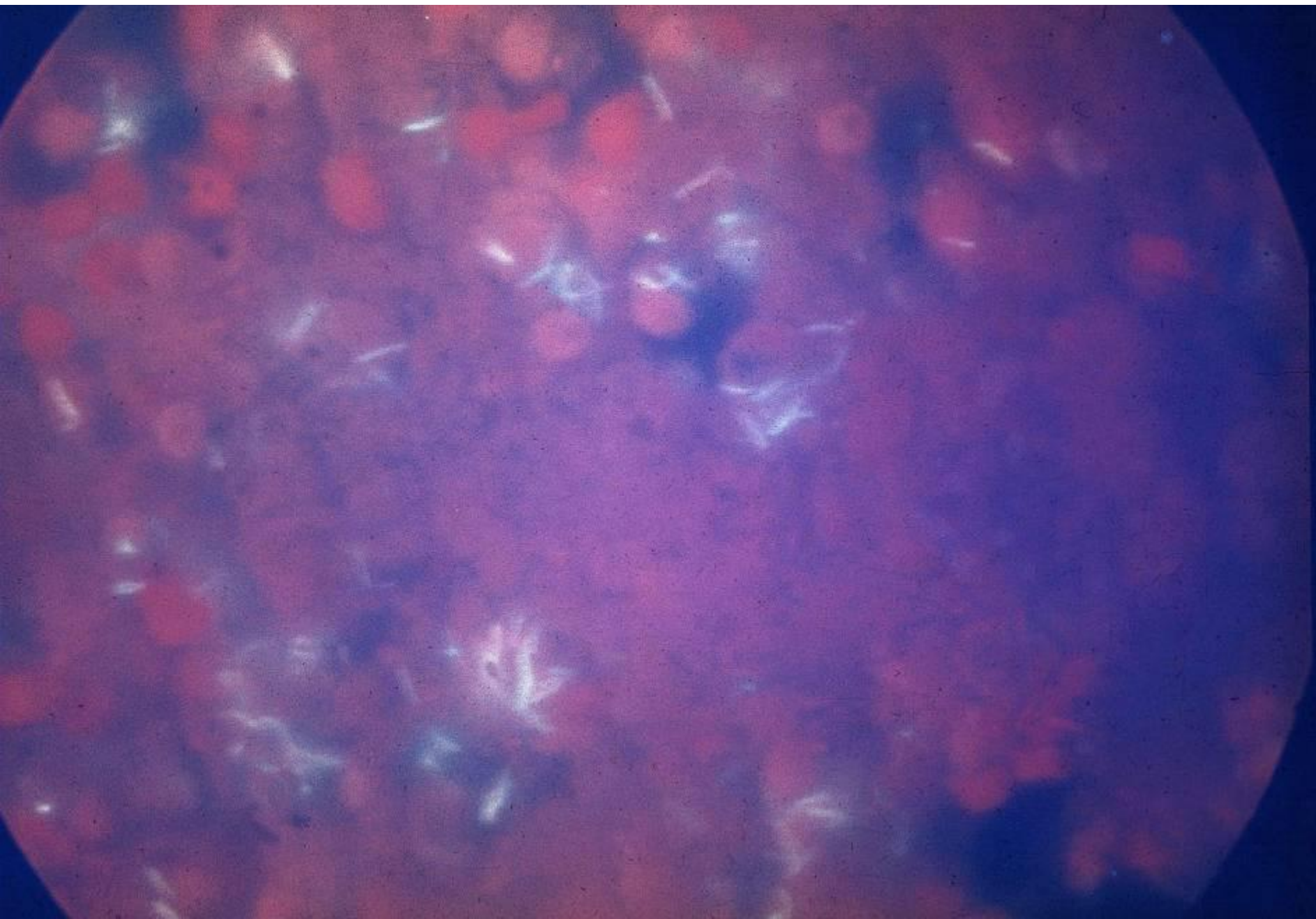
Candidiasis

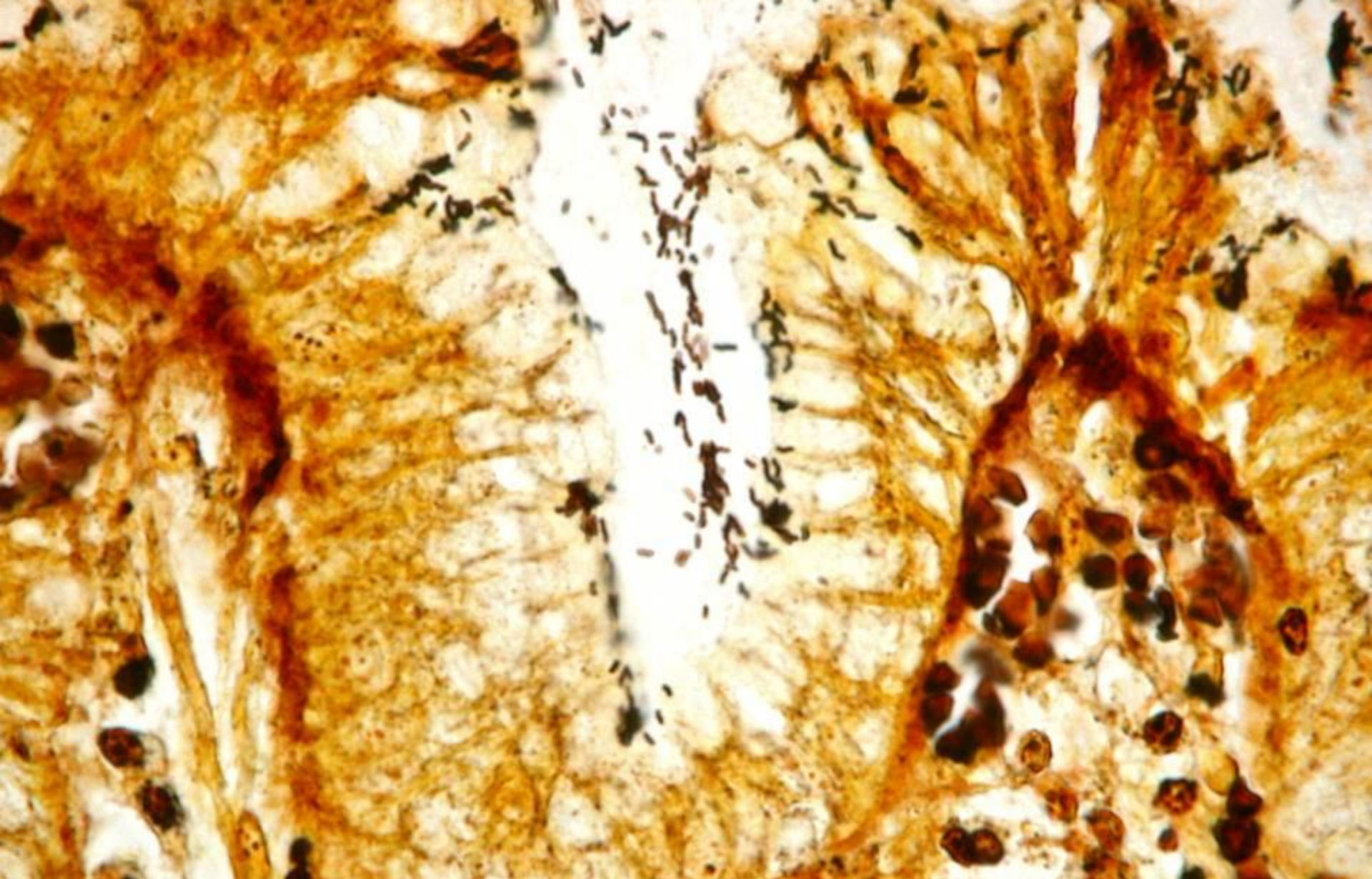




Ziehl- Nielsen (BK)

Auramine-Rhodamine





Helicobacter pylori (Warthin – Stary impregnation)

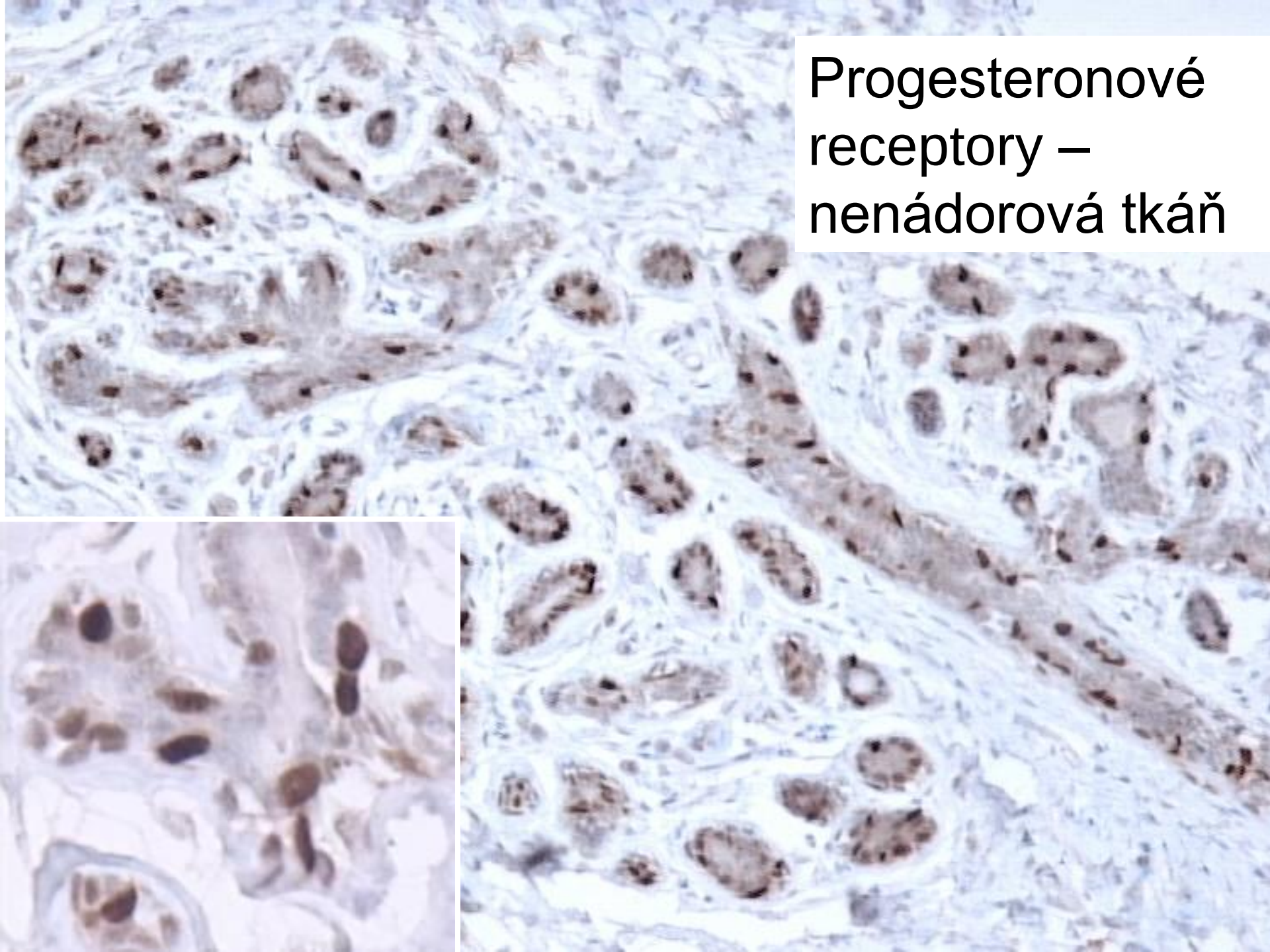


Klüver- Barrera (Nissl + luxol blue)

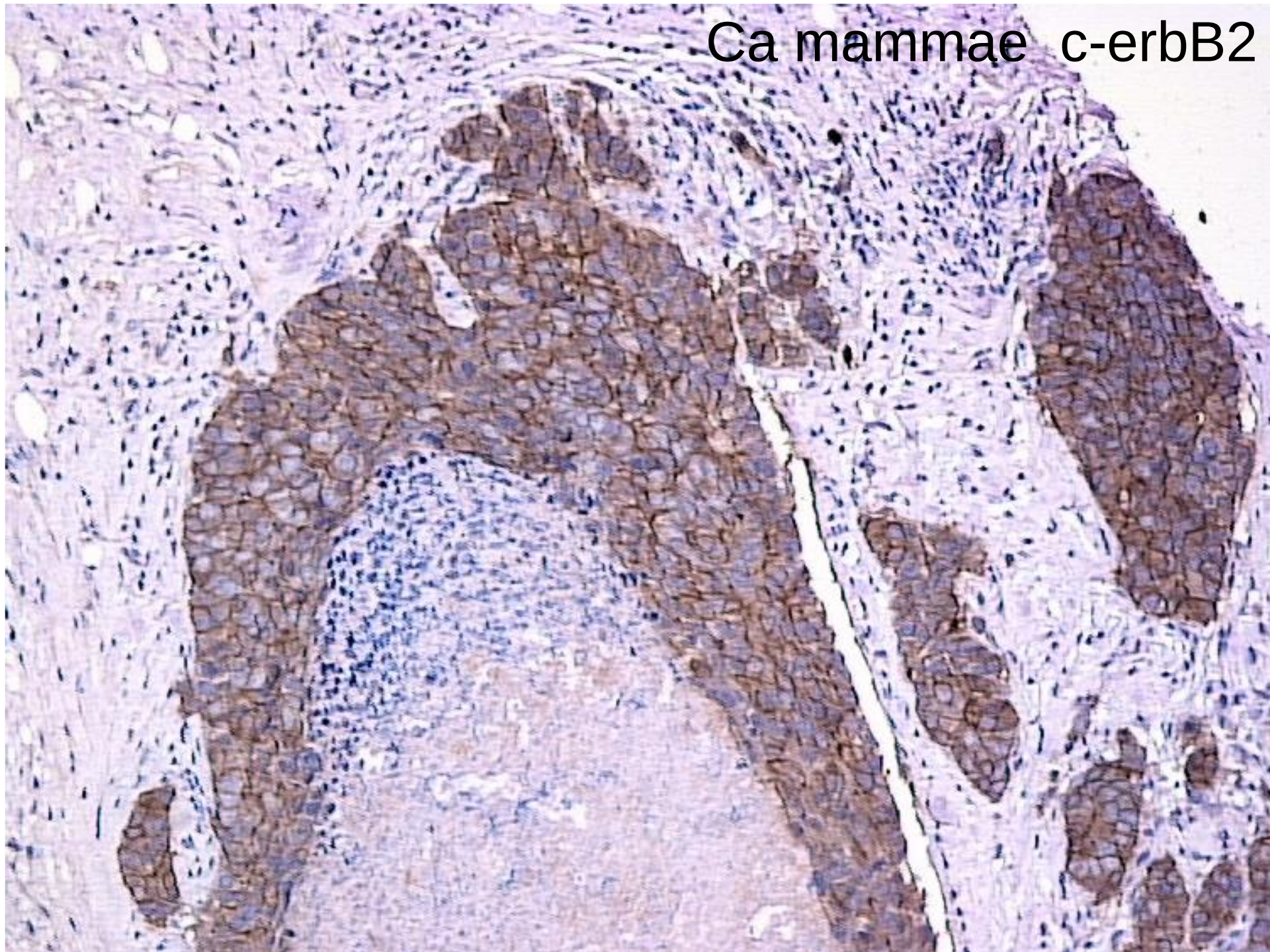
Imunohistochemie

- detekce antigenu použitím protilátky
(komerčně dostupné)
- protilátka reaguje s antigenem a
- reakce je **visualizována** (většinou enzymatickým systémem , v němž produkt je barevný, např. diaminobenzidinem DAB) – hnědý reakční produkt

Progesteronové
receptory –
nenádorová tkáň



Ca mammae c-erbB2



Morfologické diagnostické metody

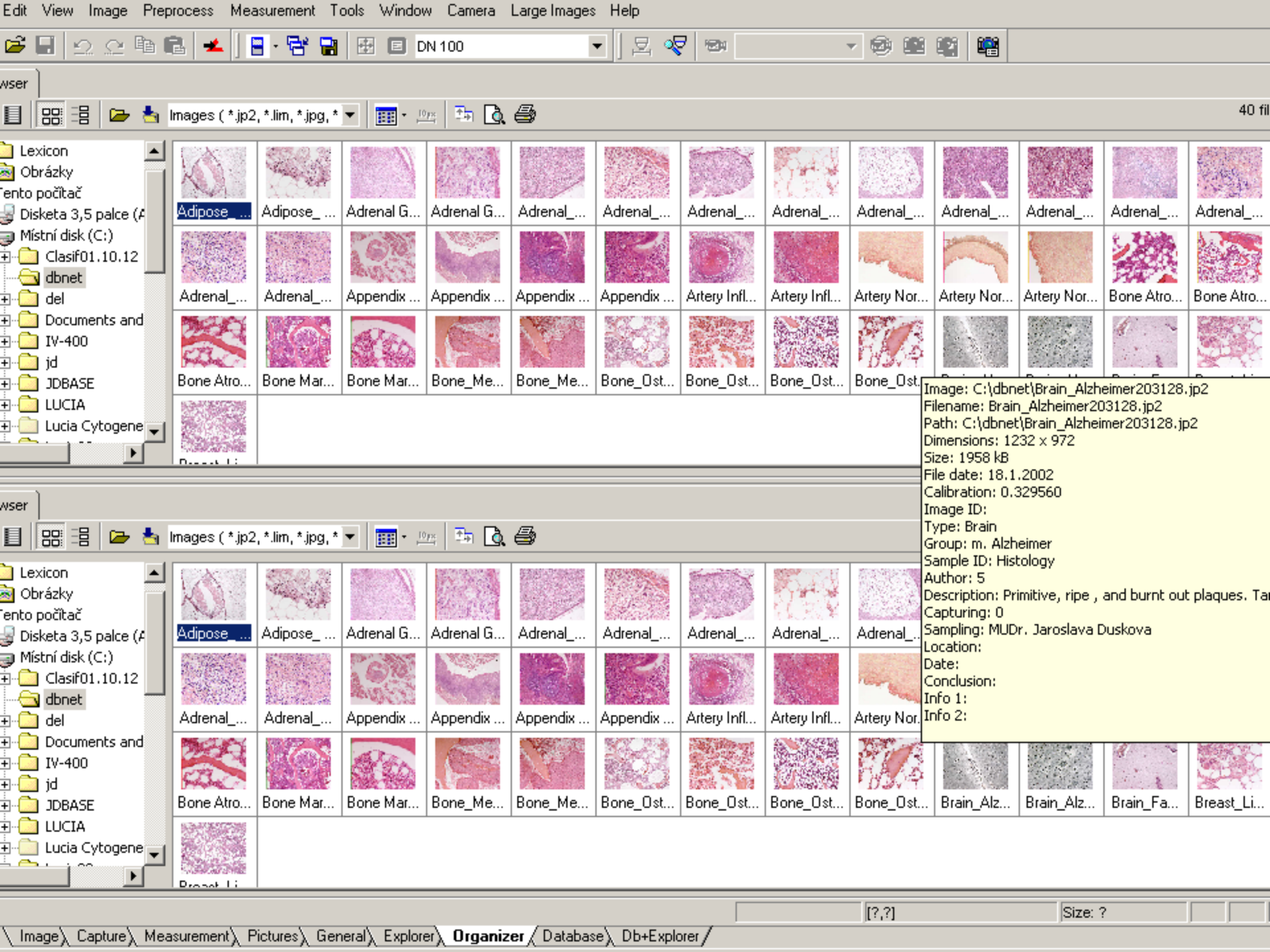
□ Patologické

- makroskopie

- mikroskopie

- ultrastruktura

- IMAGING – zobrazování



Morfometrická vyšetření

- objektivizace & zpřesnění diagnostických postupů
 - **staging** (*např. maligní melanom*)
 - **grading** (*např. karcinom ledviny*)

Genetické vyšetření

Označování preparátů pro izolaci DNA pro jednotlivé prediktivní analýzy EGFR, RAS, BRAF (mimo NGS)

Zvážit vhodnost vzorku pro testování:

optimálně >200 nádorových buněk v řezu (na izolaci 7 řezů) a ≥ 40 % nádorových buněk
min. 250 nádorových buněk celkem a min. ≥ 10 % nádorových buněk.

Na žádanku uvést jednu z variant:

- 1) celé (bez disekce) /NEBO/ makrodisekce (označit na HE) /NEBO/ mikrodisekce
- 2) % nádorových buněk
- 3) v případě limitních vzorků a cytologických nátěrů + počet nádorových buněk v řezu

Pozn1: Není-li dostatečný materiál pro analýzu, lze doporučit v případě EGFR analýzu z cfDNA, tedy z tzv. tekuté biopsie.

Pozn2: Z našich plicních biopsií izolujeme od konce listopadu 2021 zároveň DNA/RNA a uvádíme v poznámce pod výsledkem EGFR, zda-li máme dostatek DNA/RNA pro případnou komplexní analýzu NGS.

Označování preparátů pro izolaci DNA/RNA pro NGS analýzy (BRCA, komplexní NGS panely)

Zvážit vhodnost vzorku pro testování:

optimálně: $\geq 2\,000$ nádorových buněk celkem a $\geq 50\%$ (min $\geq 40\%$) nádorových buněk
Min.: 1000 nádorových buněk celkem) u $< 40\%$ (min 20 %) jsme schopni udělat
mutační analýzu, ale nikoli stanovit TMB a CNV) – u limitních vzorků vhodná
individuální porada s Hojný, Hájková nebo Stružinská.

Pozn1. případy s limitovaným počtem buněk, min. 1000 např. z laserová mikrodisekce

Pozn2. TMB lze počítat obvykle v případě $\geq 40\%$ nádorových buněk.

Na žádanku vždy uvést:

- 1) počet nádorových buněk v řezu, případně v makrodisekované či mikrodisekované
označené části
- 2) % nádorových buněk

Makrodisekce

oblasti pro makrodisekci označit jednoznačně, jednoduchými čarami



Laserová mikrodisekce

