

**Patoloji laboratuvarını
kurduk: (Daha) İyi bir kesit
ve yayma için ne yapmalıyız?**

epd

8-9 Mayıs 2010, İZMİR

Ege Patoloji Derneği

**Bu sunumda yer alan resimler yazarın izni
olmadan kullanılamaz.**

SİTOLOJİK YÖNTEMLER

Dr.Ümit Bayol

*TCSB İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma
Hastanesi Patoloji Laboratuvarı*

08.05.2010 İzmir



amaç

- **Organizmadan kendiliğinden dökülen veya tanı amacı ile alınan dağınık haldeki hücreleri ve/veya doku parçacıklarını lamın üzerinde okunabilir ince bir tabaka halinde toplamak ve temel özelliklerini koruyarak boyama ve sitolojik değerlendirmeye hazırlamaktır.**

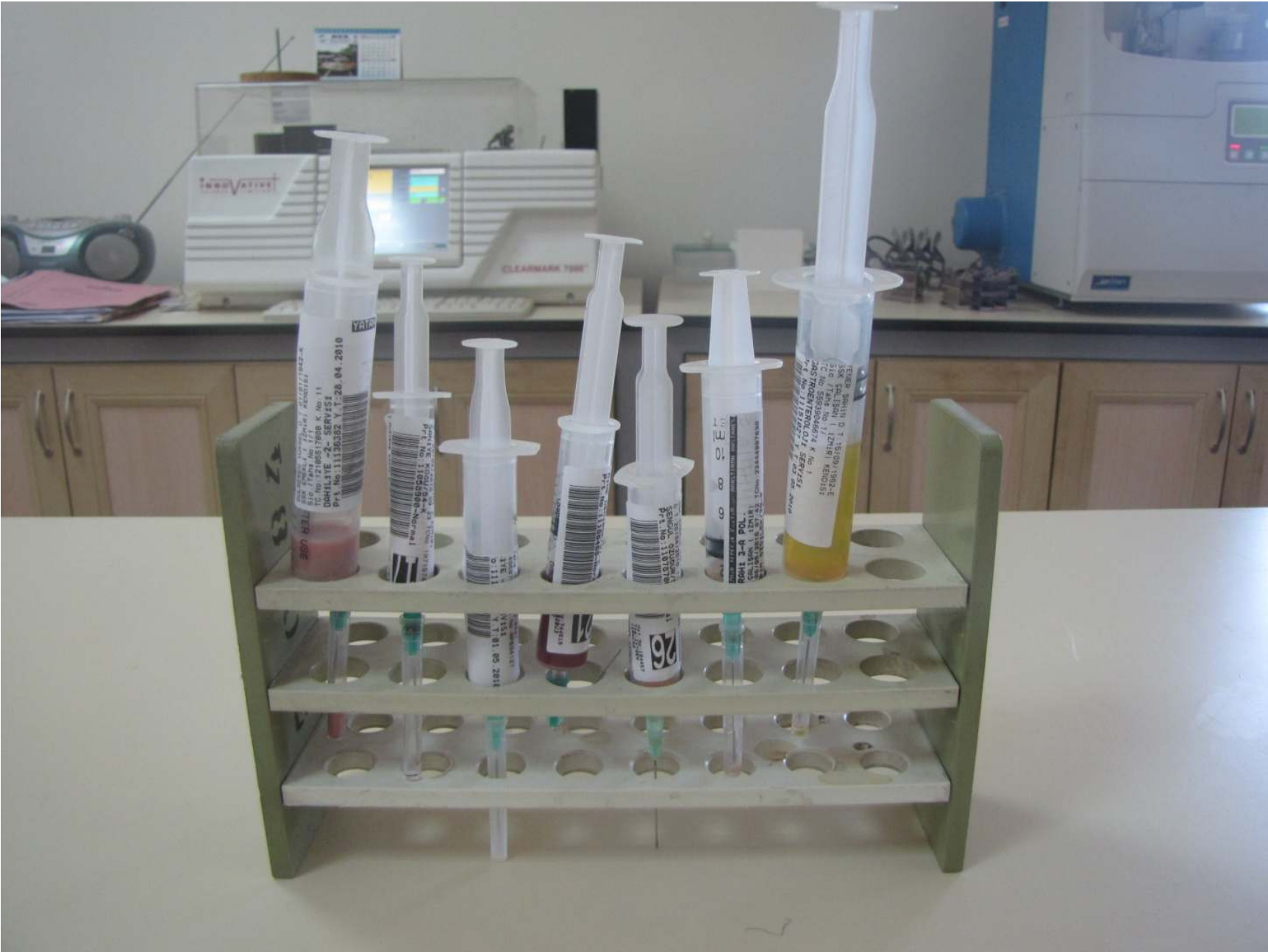
sitolojik örneğin

- **Alınma tekniği**
- **Hazırlanma tekniği**
- Tespit
- Boyama

süreçleri birbirini izler ve etkiler

Sitolojik materyalin laboratuvara kabulünde dikkat edilecek konular

- Sitolojik materyallerin hastanın kimliği, yaşı, cinsiyeti, klinik ve laboratuvar bulgularını içeren bir **istem formu** eşliğinde gönderilmesi sağlanmalıdır.
- Sitoloji laboratuvarına materyalin **kısa sürede** ve **tespitsiz** olarak ulaşması uygun olur.
- Tespitli gönderilecek materyaller için önceden yöntem belirlenmeli, yönerge hazırlanmalı ve yönergeye uygunluk denetlenmelidir.



Sitolojik materyalin laboratuvara kabulu ve incelemeye hazırlanmasında dikkat edilecek konular

- Laboratuvarın hizmet vermekte olduğu hastanenin özelinde **rutin örnekler** ve bunlara uygulanacak rutin süreç belirlenmeli, özel durumlar için seçenekler tanımlanmalıdır.
- Histopatolojide olduğu gibi sitolojide de **patolog/sitolog** materyalin laboratuvara kabul edildiği anda devreye girmeli, materyalleri tanımlamalı, rutin ve rutin dışı olguları ayırd ederek, örneklere uygun teknik yöntem ve süreç akış seçeneklerini belirlemelidir.

Sitolojik materyalin incelemeye hazırlanması aşamasında yöntem seçiminde

- *Kliniğin beklentileri*
- *Örneğin niteliği, niceliği*
- *Örneği kabul eden laboratuvarın alt yapısı, teknik olanakları, örnek grubu için tercihi dikkate alınmalıdır*

Sitolojik materyale uyarlanabilecek yöntemler nelerdir?

- *Dokuya uygulanabilen tüm yöntemler* dokuların ana parçaları olan hücrelere de uygulanabilir.
- Günümüzde dokulara uygulanan ileri teknik yöntemlerin çoğu hücre, hücreyi oluşturan elemanlar, molekül düzeyinde olduğundan sitolojik materyale daha kolay uygulanabilirler.

Sitolojik örnekleri incelemeye hazırlamak için kullanılan yöntemler nelerdir?

- *Direkt yayma*
- *İmprint, sürüntü, kazıma*
- *Klasik santrifüj - yayma*
- *Sitosantrifüj*
- *Sıvı bazlı yayma (thin prep)*
- *Hücre bloğu*
-

Yardımcı yöntemler

- Flow sitometri
- Hücre kültürü
- Moleküler yöntemler
- İnsitu hibridizasyon
- CTC
- PCR
- Ultrastrüktürel yöntemler
-

Sitolojik örneğin yansıttığı lezyon ve bölgenin özellikleri neler olabilir ?

- **Kist**/kistik lezyon
- Yarı kistik kitle
- **Solid** kitle vb

- Yumuşak doku
- **Kemik** doku
- **Parankimatöz organ**
- Lenforetiküler doku
- **Anatomik boşluk** vb

- **Enfekte** materyal
- Enfekte olmayan materyal vb

Sitolojik materyal nitelik yönünden farklılıklar gösterebilir

- **Hücreden fakir** materyal
- **Hücreden zengin** materyal
- Nekrotik/nekrobiyotik materyal
- **Hemorajik** materyal
- Sitolitik materyal
- **Homojen** materyal
- **Heterojen** materyal

Sitolojik materyaller nelerdir?

- Eksfoliatif sitoloji (kendiliğinden dökülen hücrelerden oluşan sitolojik materyal)
- Kazıma-sürüntü materyali
- Dokundurma-ezme (imprint-crush) materyali
- Lavaj-yıkama materyali
- Efüzyon materyali
- Kist vb aspirasyon materyali
- Solid kitle aspirasyon materyali
- Beyin-omurilik sıvısı
- Kemik iliği aspirasyonu
-

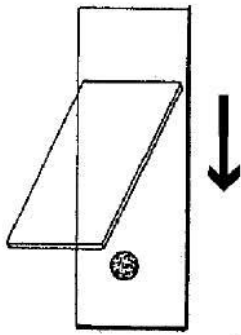
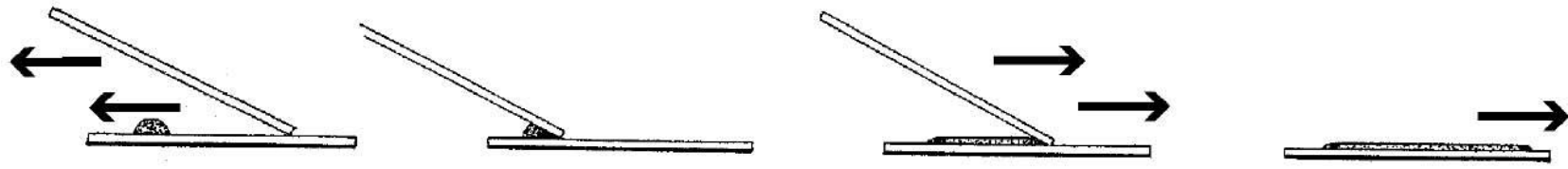
Eksfoliatif sitoloji-kendiliğinden dökülen hücrelerden oluşan sitolojik materyal

- *Balgam*
- *İdrar*
- *Galaktore*
- *Spontan meme başı akıntısı vb*

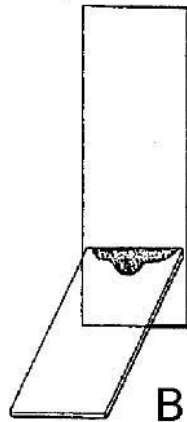
Dokundurma-ezme (imprint-crush) materyali

- Rutinde tüm solid tümörlerden hazırlanan
- Rutinde tüm lenforetriküler materyalden hazırlanan
- Rutinde tüm kemik ve yumuşak doku lezyonlarından hazırlanan
- Peroperatuvar tanı için tüm örneklerden hazırlanan vb

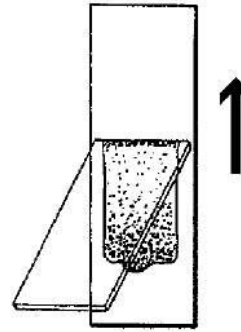
Ezme tekniği



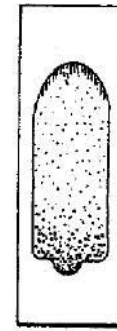
A



B



C



D

Kazıma-sürüntü materyali

- **Servikal-vaginal smear**
- Meme başı cildi başta olmak üzere cilt lezyonlarından kazıma /sürüntü
- Fistül,dren,stoma vb materyali
- **Endoskopik fırça materyalleri**

Lavaj-yıkama materyalleri

- Gastroskopik / ERCP sırasında mide, duodenum vb lavaj materyali
- **Bronkoskopik aspirasyon, lavaj materyali**
- Meme duktal lavaj materyali
- Endometrial aspirasyon, lavaj materyali
- **Mesane, uretra, ileal loop aspirasyon, lavaj materyali**
- ***Peroperatuvar pelvik, hepatik loj aspirasyon, lavaj materyali vb***

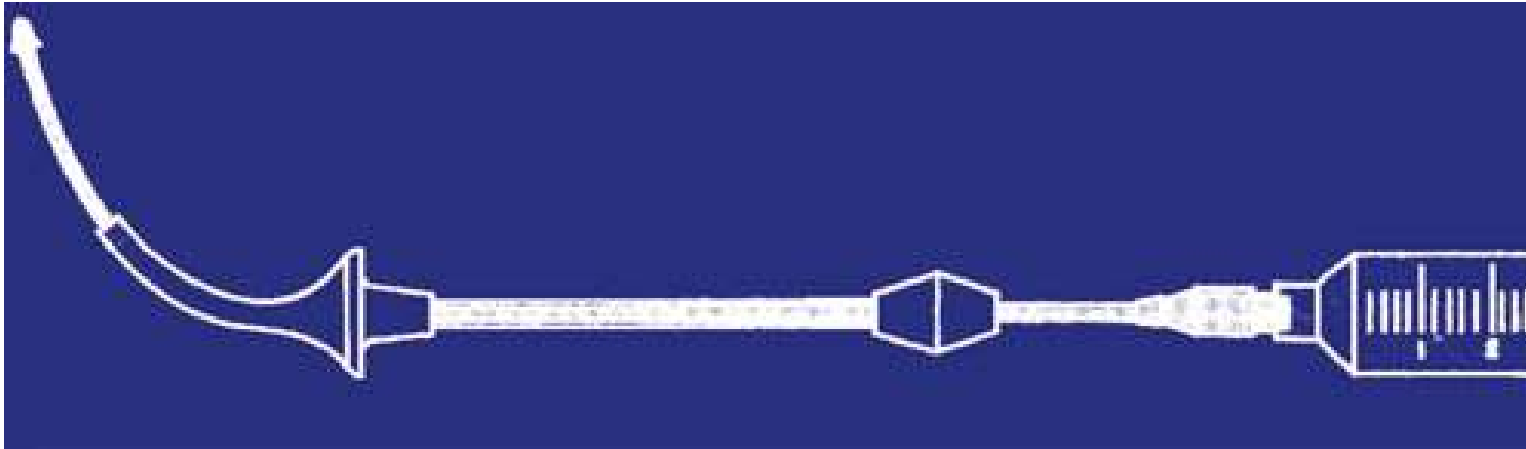
Bronkoalveoler lavaj



Duktal lavaj



Endometrial aspirasyon



Efüzyon materyalleri

- *Plevral*
- *Peritoneal*
- *Perikardial*
- Efüzyonların bir kısmı hücreden fakir, bir kısmı ise çok zengindir.
- Tümü tercihan sitosantrifüj yöntemi ile çalışılmalıdır.

Kist vb aspirasyon materyalleri

- *Meme kistleri*
- *Tiroidin kistik lezyonları*
- *Karaciğer, böbrek, pankreas kistleri vb*

- *Hidatik kistler*
- *Abseler*
- *Komplike kistik oluşumlar vb*

Solid kitle aspirasyon materyali (ince iğne aspirasyon biopsisi)

- *Tüm yüzeysel ve derin solid kitle aspirasyonları*
- Tiroid, meme, pankreas, sürrenal, karaciğer, toraks, boyun kitleleri, periferik yumuşak doku kitleleri vb

Hücre bloğu

- *Özel bir teknik olup, hücrelerin biraraya toplanması, tespit edilmesi ve parafin vb ortama gömülerek kesitler hazırlanması prensibine dayanır.*
- **Günlük pratikte, makroskopik olarak içerisinde fibrin vb ye tutunmuş presipite materyal bulunan örneklerde, söz konusu materyal doku gibi tespit-takip edilip, parafine gömülerek basit hücre blokları hazırlanabilir.**

Alışıl gelmiş-rutinde sık kullanılan yöntemler hangileridir?

- Direkt yayma
- İmprint, sürüntü
- Klasik santrifüj - yayma
- Sitosantrifüj
- Hücre bloğu
- Sıvı bazlı yayma (thin prep) vb

Direkt yayma yöntemi uygulanabilen sitolojik materyaller

- Balgam
- Meme başı akıntısı
- Serviko-vaginal yayma
- Sürüntü, kazıma, fırça biopsileri
- Solid kitle aspirasyonları vb

Direkt yayma uygulanabilen sitolojik materyallerde yayma hazırlanırken dikkat edilecek konular

- **Balgam için:**

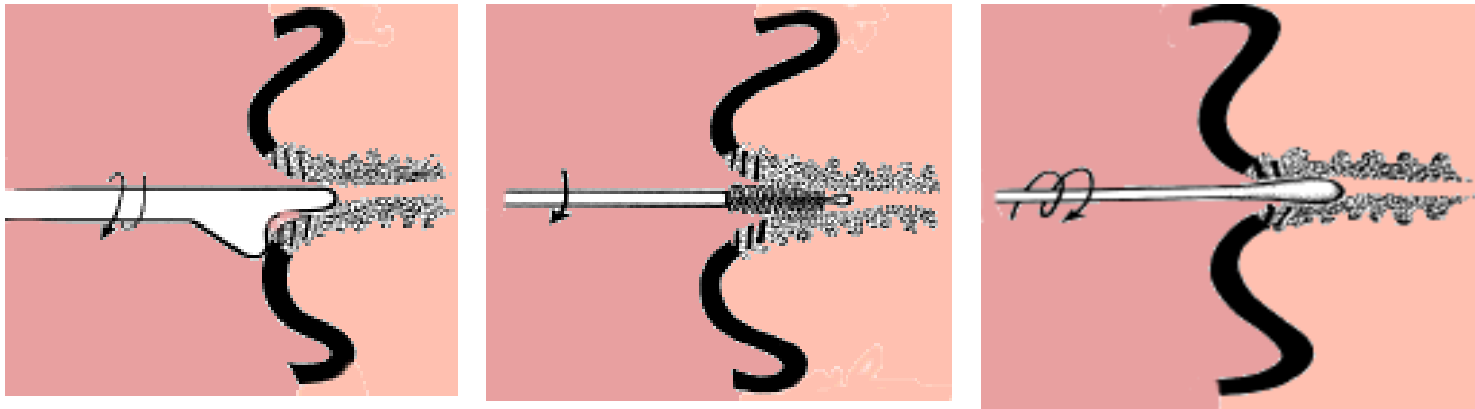
makroskopik değerlendirmede dikkat çeken hemorajik, pürülan, yoğun odaklardan yayma yapılmalı,

mukus ve eritrositleri ortadan kaldıracak özel bir yöntem kullanılmadığı durumlarda materyal iki lam arasında ezilip, ince yaymalar elde edilmelidir.

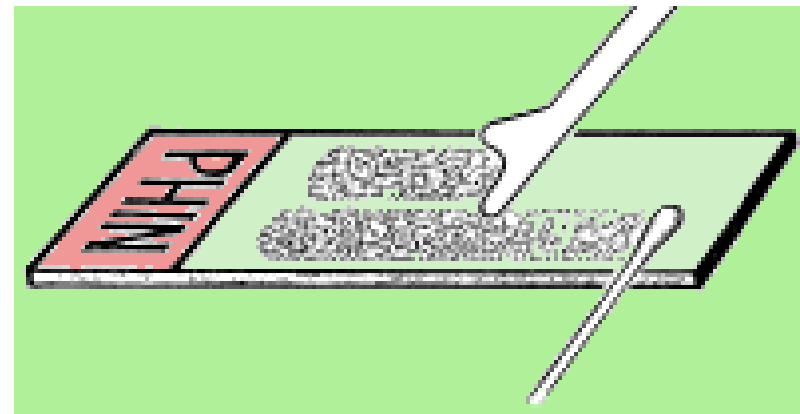
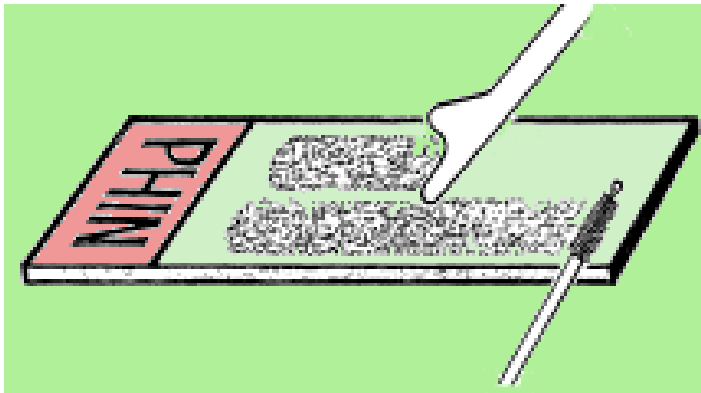
Hemoraji, mukus vb zemin kirliliğinden kurtulmak için

- %4 glasiyel asetik asit
 - 4 ml glasiyel asetik asit
 - 96 ml distile su
- Glasiel asetik asit-alkol
- Sitolit gibi hazır gibi solüsyonlar kullanılabilir.

Servikal smear



Servikal smear

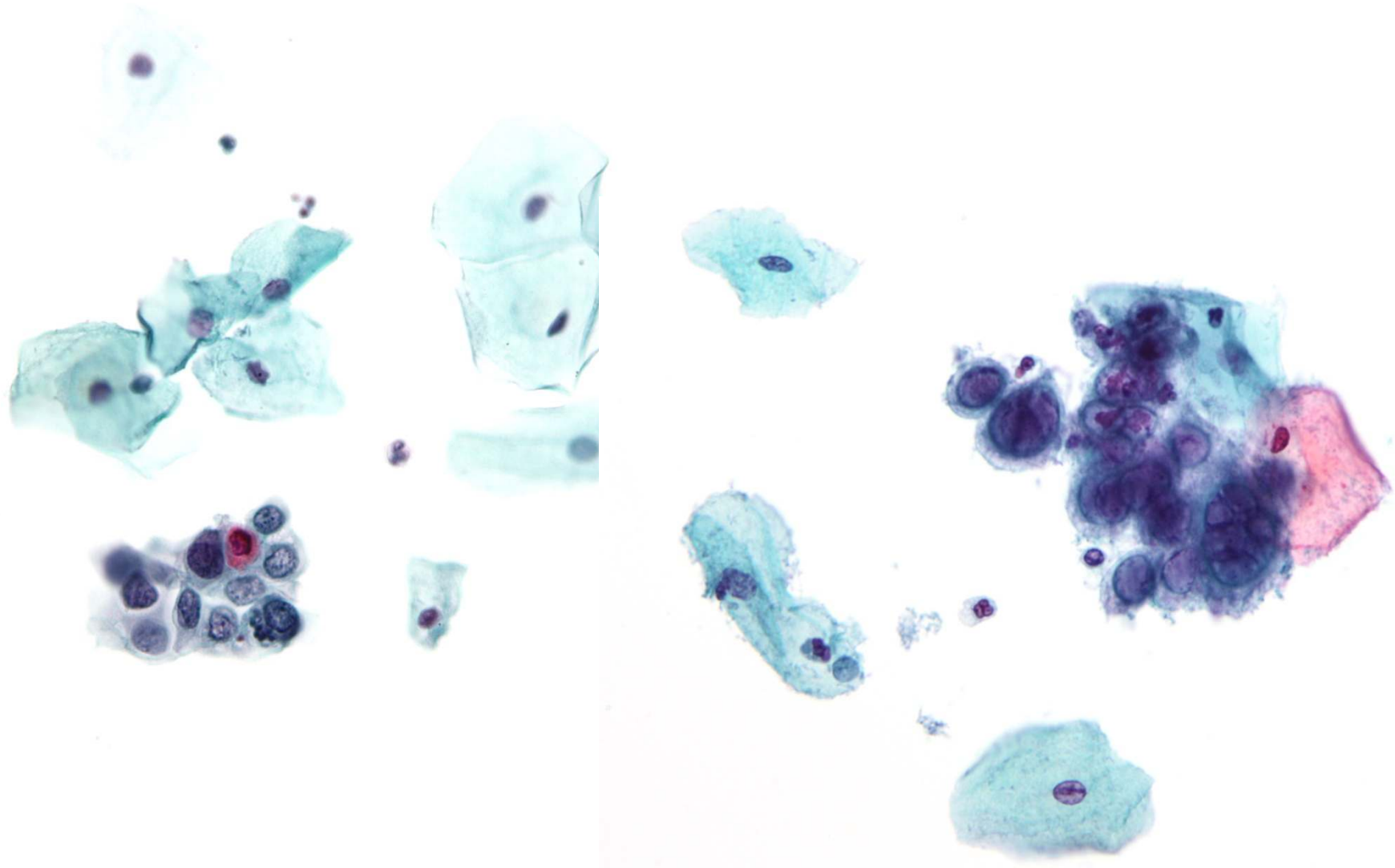


S-2326/10 S-2326/10 S-2327/10 S-2327/10 S-2328/10 S-2328/10 S-2329/10 S-2329/10 S-2329/10 S-2330/10 S-2331/10 S-2331/10

S-2332/10 S-2332/10 S-2333/10 S-2333/10 S-2334/10 S-2334/10 S-2335/10 S-2335/10 S-2336/10 S-2336/10 S-2337/10 S-2337/10 S-2338/10 S-2338/10 S-2339/10 S-2339/10

S-2360/10 S-2360/10 S-2361/10 S-2361/10 S-2362/10 S-2362/10

Pap smear



İmprint, sürüntü, kazıma yöntemi uygulanabilen sitolojik materyaller

- Tüm solid kitle lezyonları
- Normal dokular

İmprint, sürüntü, kazıma yöntemi uygulanabilen sitolojik materyaller

- **İmprint hazırlarken lamın lezyon üzerinde gezdirilmemesine dikkat edilmeli, lam lezyona dokundurulup çekilmelidir.**
- *Sürüntü ve kazıma yönteminde alınan materyalin lam üzerinde enstürmanın servikal yaymada olduğu gibi yuvarlanarak veya nazikçe sürtülerek yayılmasına dikkat edilmelidir.*

İmprint- touch- dokundurma

- *Yüzey/örnek geniş ise lamı dokundur kaç*
- *Yüzey/örnek küçük ise örneği penset ile yumuşak ,nazik bir şekilde tutup lama dokundur yada lam üzerinde yuvarla*

Klasik santrifüj- yayma yöntemi uygulanabilen sitolojik materyaller

- Kist / kistik lezyon aspirasyonları
- Efüzyonlar
- İdrar, yıkama materyalleri
- Lavaj, aspirasyon materyalleri vb





Klasik santrifüj- yayma yöntemi uygulanabilen sitolojik materyaller

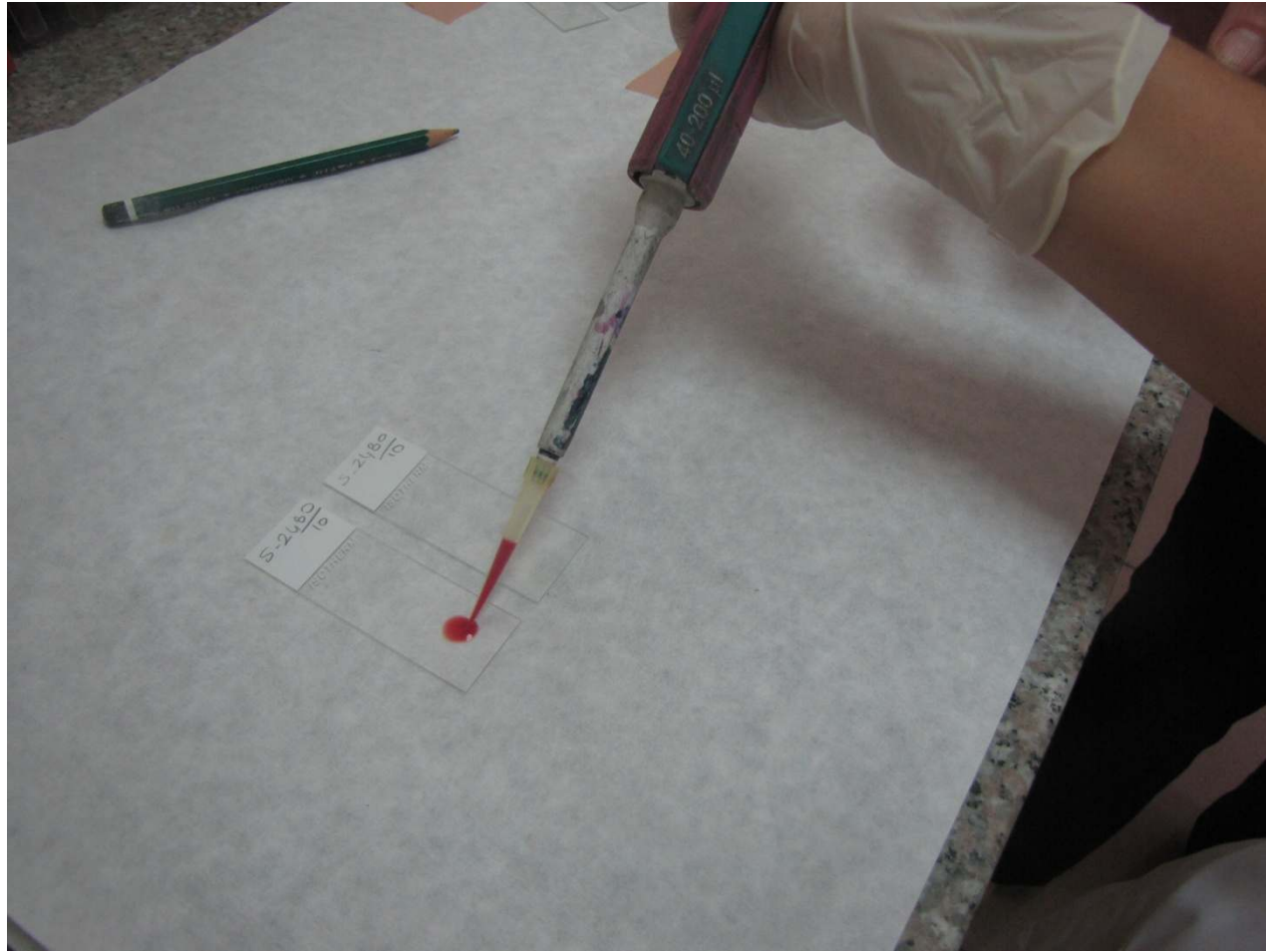
- Santrifüje edilecek materyalin volümü dikkate alınarak bir veya daha fazla tübe bölünen örnekler 1500-2000 devirde 10-15 dakika süre ile santrifüje edilip, her tübün dibinde oluşan sediment tanımlanmalı, üstü bir pipet vasıtası ile aspire edilip atılmalı, sediment hafifçe çalkalanıp, 2-4 lama ince olarak yayılmalıdır.





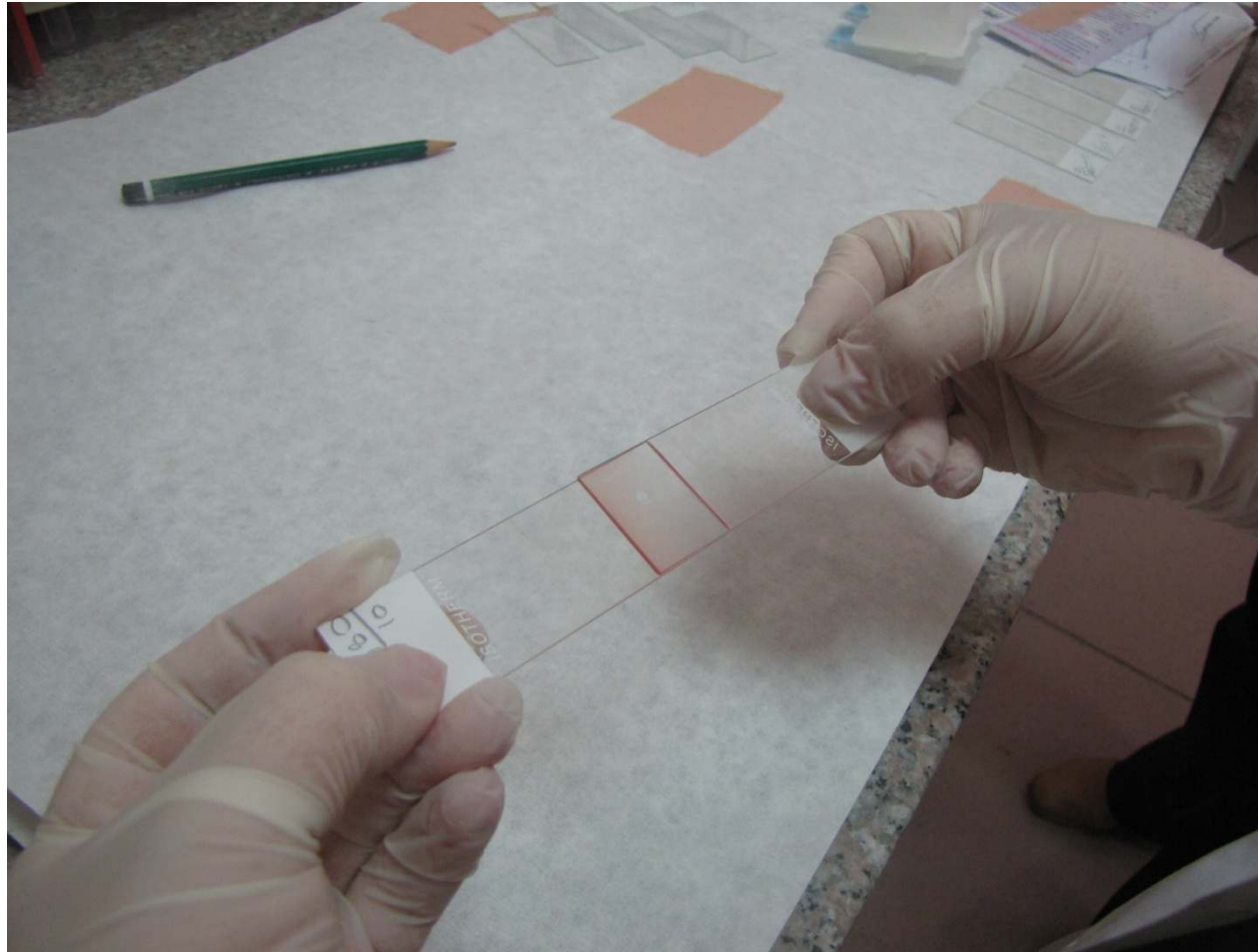


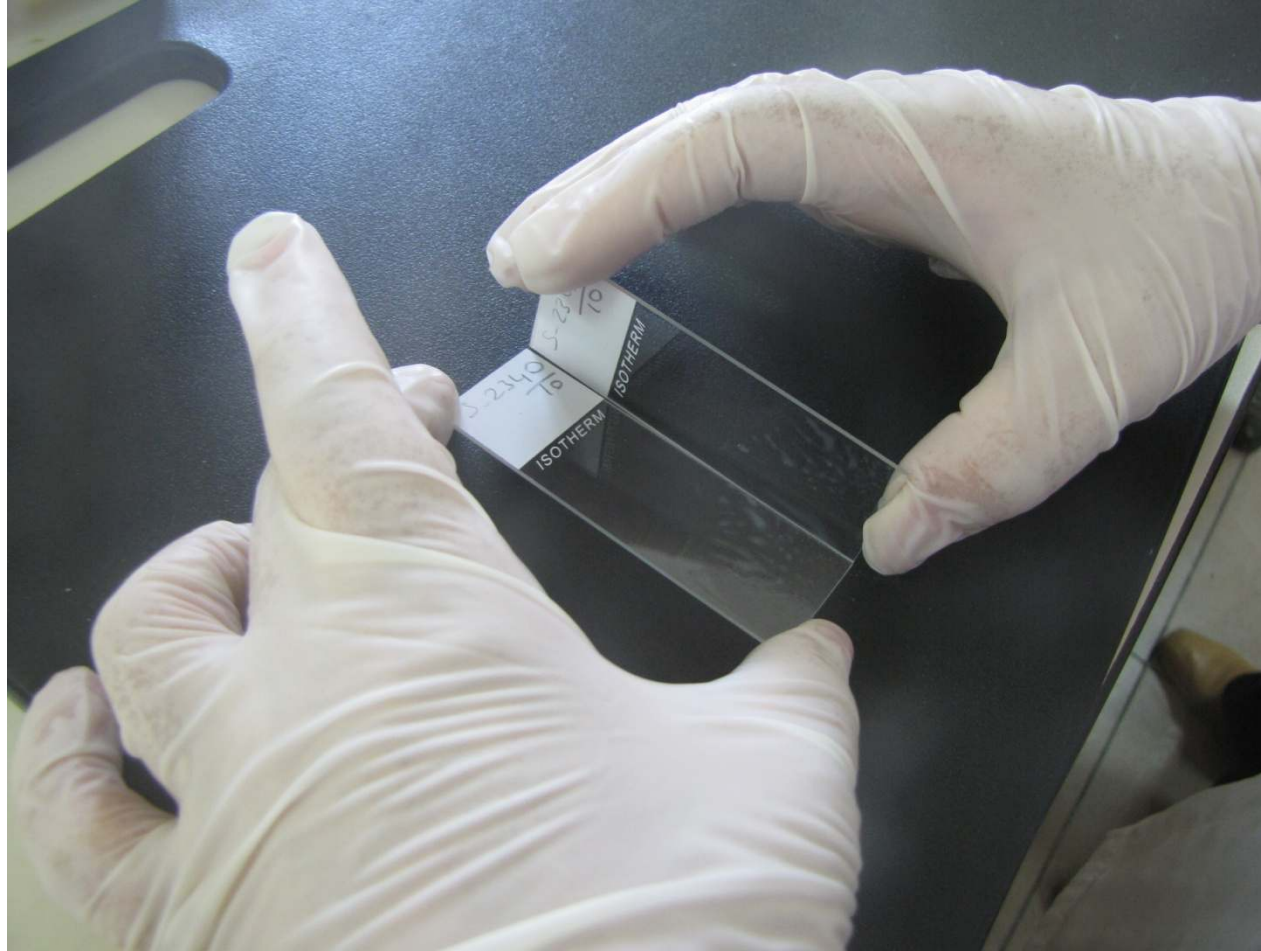












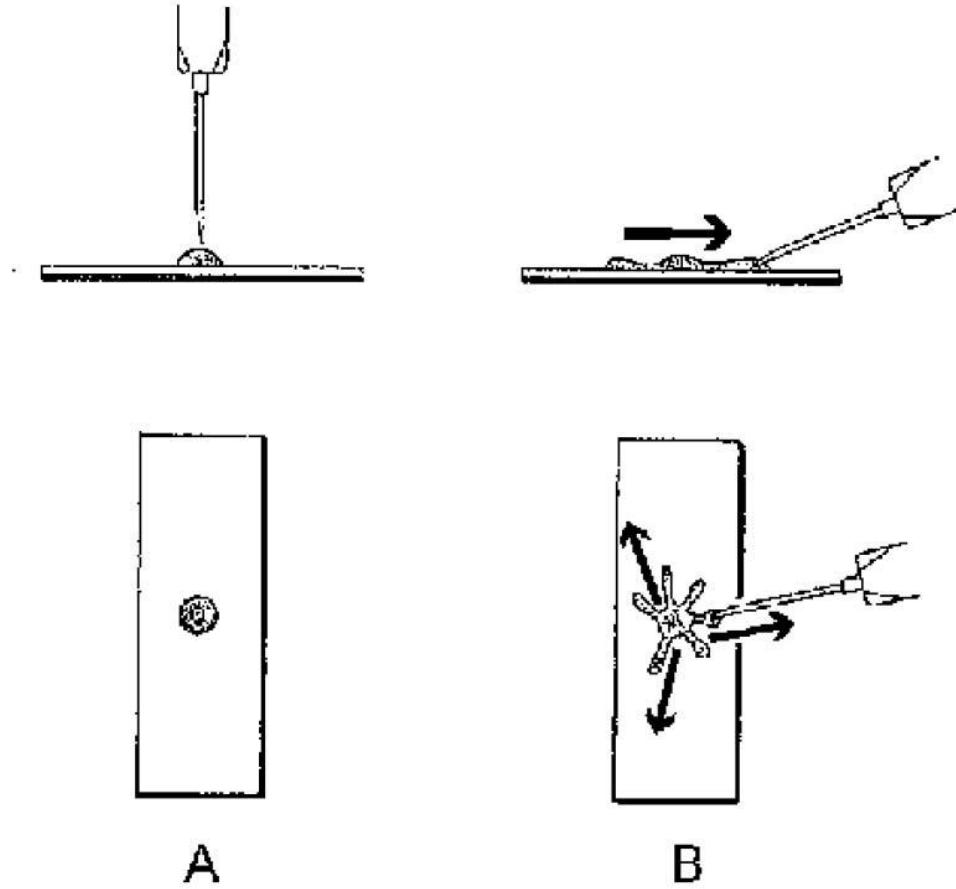
S-2859
10



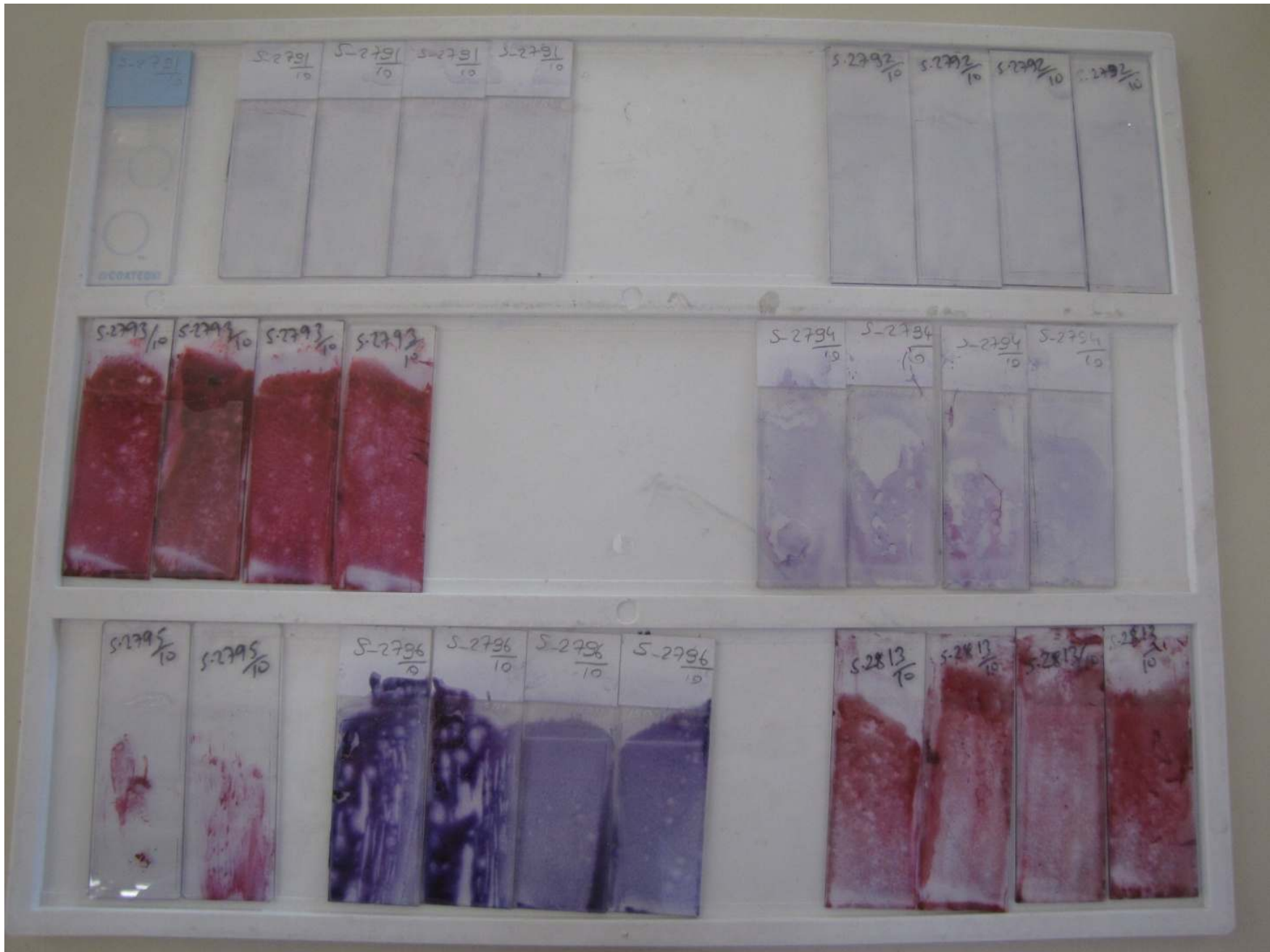
S-2859
10



Yayma hazırlama hataları







Klasik santrifüj- yayma yöntemi uygulanabilen sitolojik materyaller

- *İdrar, mesane yıkama materyali gibi hücreden fakir, berrak lavaj ve aspirasyonlarda santrifüj devri düşürülmeli, santrifüj süresi uzatılmalıdır.*
- **24 saatlik idrar, masif efüzyon gibi büyük volümdeki aspirasyon materyallerinde yer çekimi ile gönderme kabının dibine çökmüş sedimentten çalkalanmadan pipet yardımı ile alınan örnekler santrifüje edilmelidir.**

Klasik santrifüj- yayma yöntemi uygulanabilen sitolojik materyaller

- **Santrifüj öncesi tespit edilmiş olan materyal içerisindeki hücrelerin santrifüj sonrası lamlara tutunabilmesi için özel hazırlanmış (albuminli, lizinli, pozitif şarjlı vb) lamlar kullanılmalıdır.**

Kist vb aspirasyon materyali

- Kistik lezyonlardan aspire edilen materyal sitoloji laboratuvarına lamlara yayılarak veya enjektör içinde ulaşır.
- Yayma sayısı çok ise klinik ön tanı gereği tespit, rutin yanısıra **özel boyama yöntemleri olasılığı dikkate alınarak yaymaların bir kısmı ayrılmalıdır.**
- Sıvı olarak gönderilen materyal yoğunluğu, makroskopik özellikleri dikkate alınarak çalışılmalıdır. Yoğun materyal doğrudan lamlara aktarılabilir veya santrifüj sonrası yayılabilir. **Kist hidatik vb ön tanılı veya kaya suyu manzaralı sitolojik materyal düşük devirde, uzun süre çevrildikten sonra aspiratın üstünden alınan 1-2 damla ayrı, dipteki çökelti ayrı olarak yayılmalıdır.**

Kist vb aspirasyon materyali

- ***Komplike kistik materyal ve abse içerikleri yoğun olduğundan direkt, ince ve çok sayıda yayılmalı, yaymaların bir kısmı etyolojiyi belirlemede kullanılabilecek özel yöntemler için ayrılmalıdır.***

Sitosantrifüj yöntemi

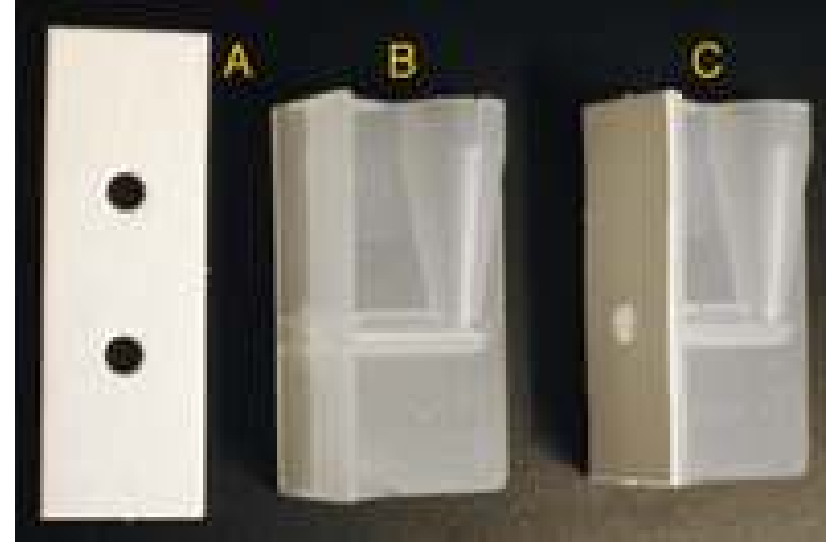
- *Hücrelerin büyük sıvı volümünde dağınık olduğu durumlarda hücrelerin lam üzerinde tutunmalarına yardımcı olacak bir madde ile kaplı, işaretli alanlara tek tabaka halinde toplamak amacı ile geliştirilmiştir.*

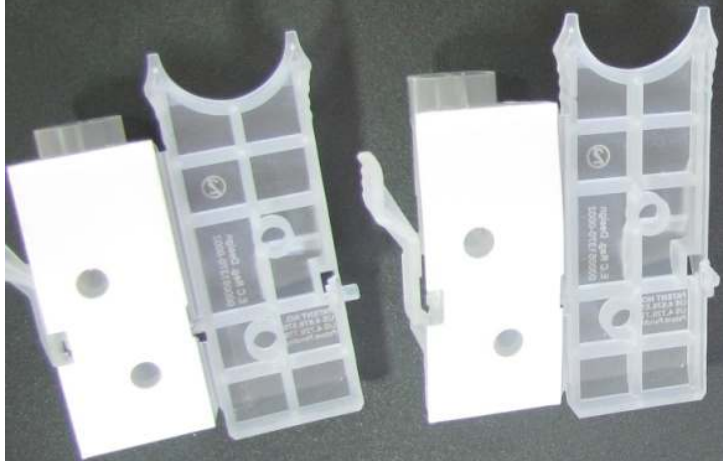
Sitosantrifüj cihazı



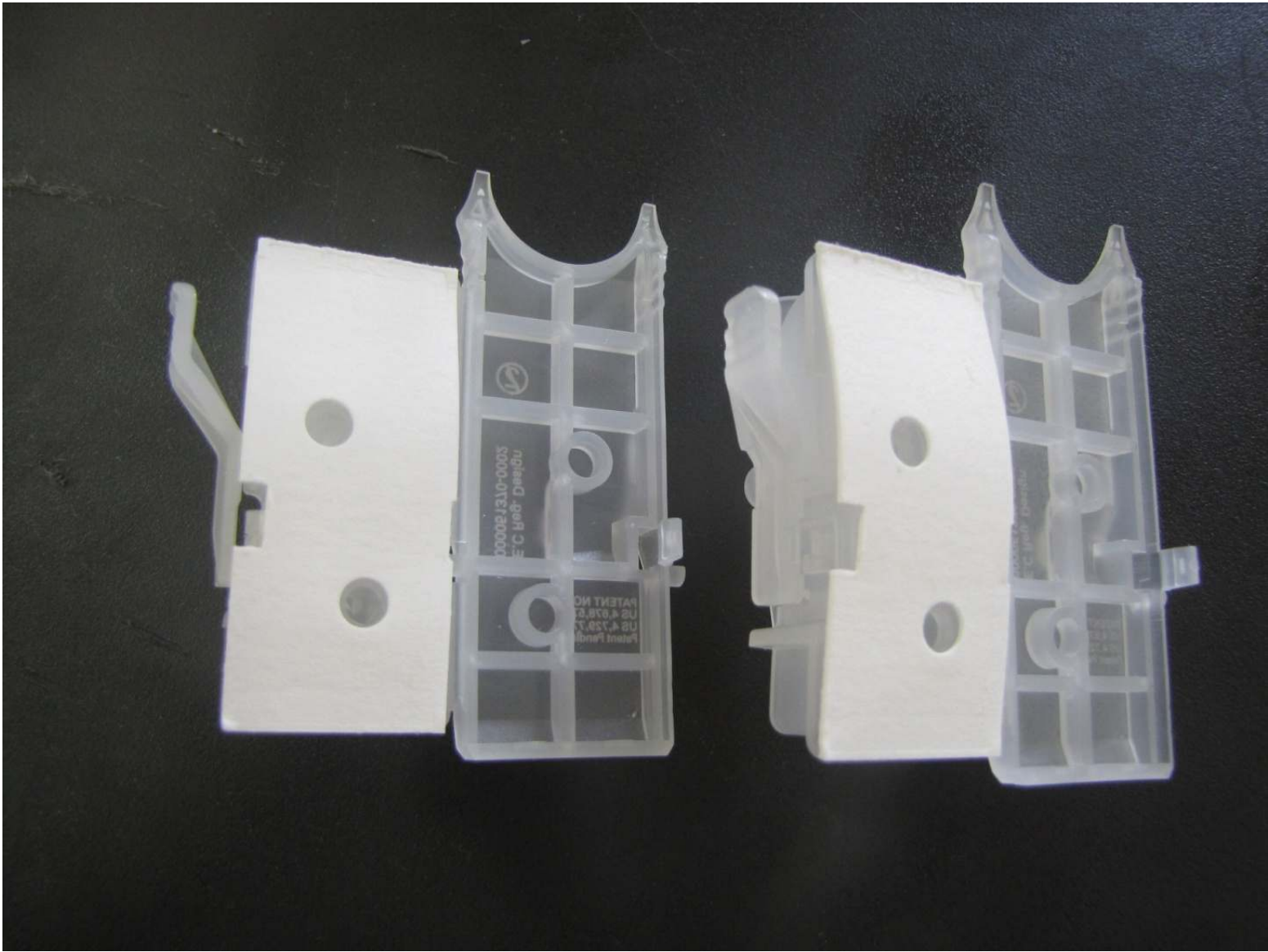


Sitosantrifüj cihazı ve malzemesi



















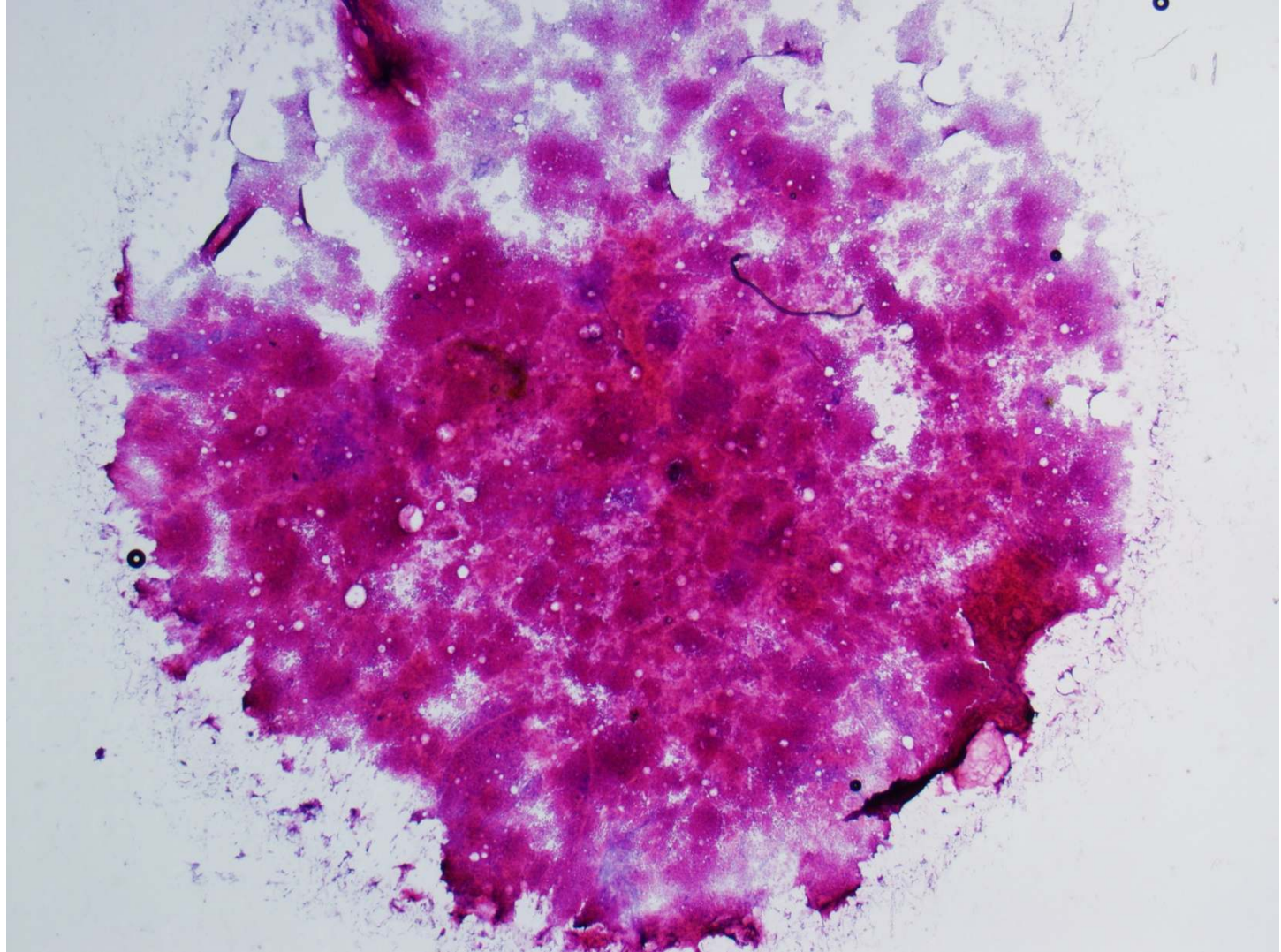


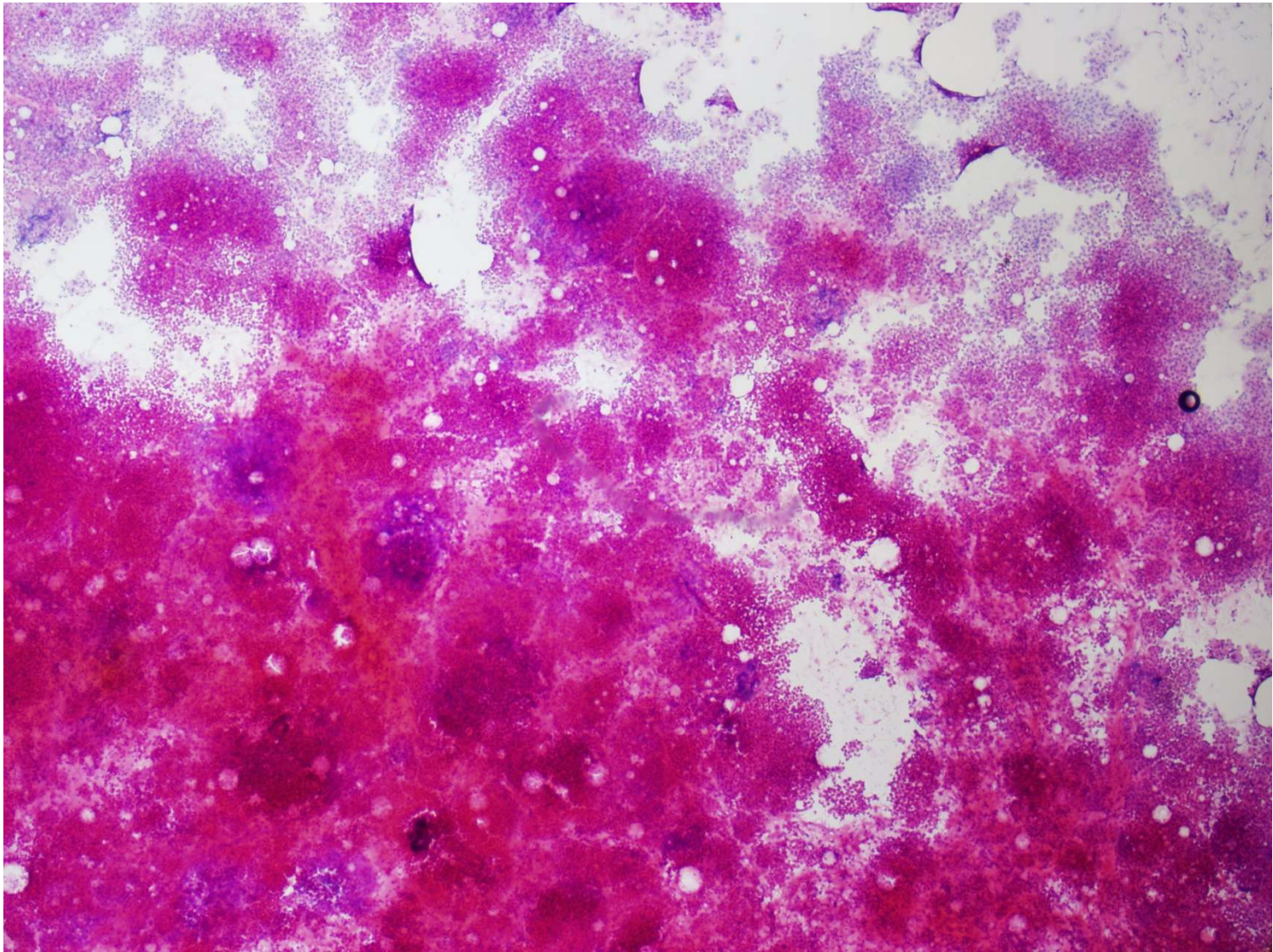
Sitosantrifüj /Hücre bloğu yöntemi uygulanabilen sitolojik materyaller

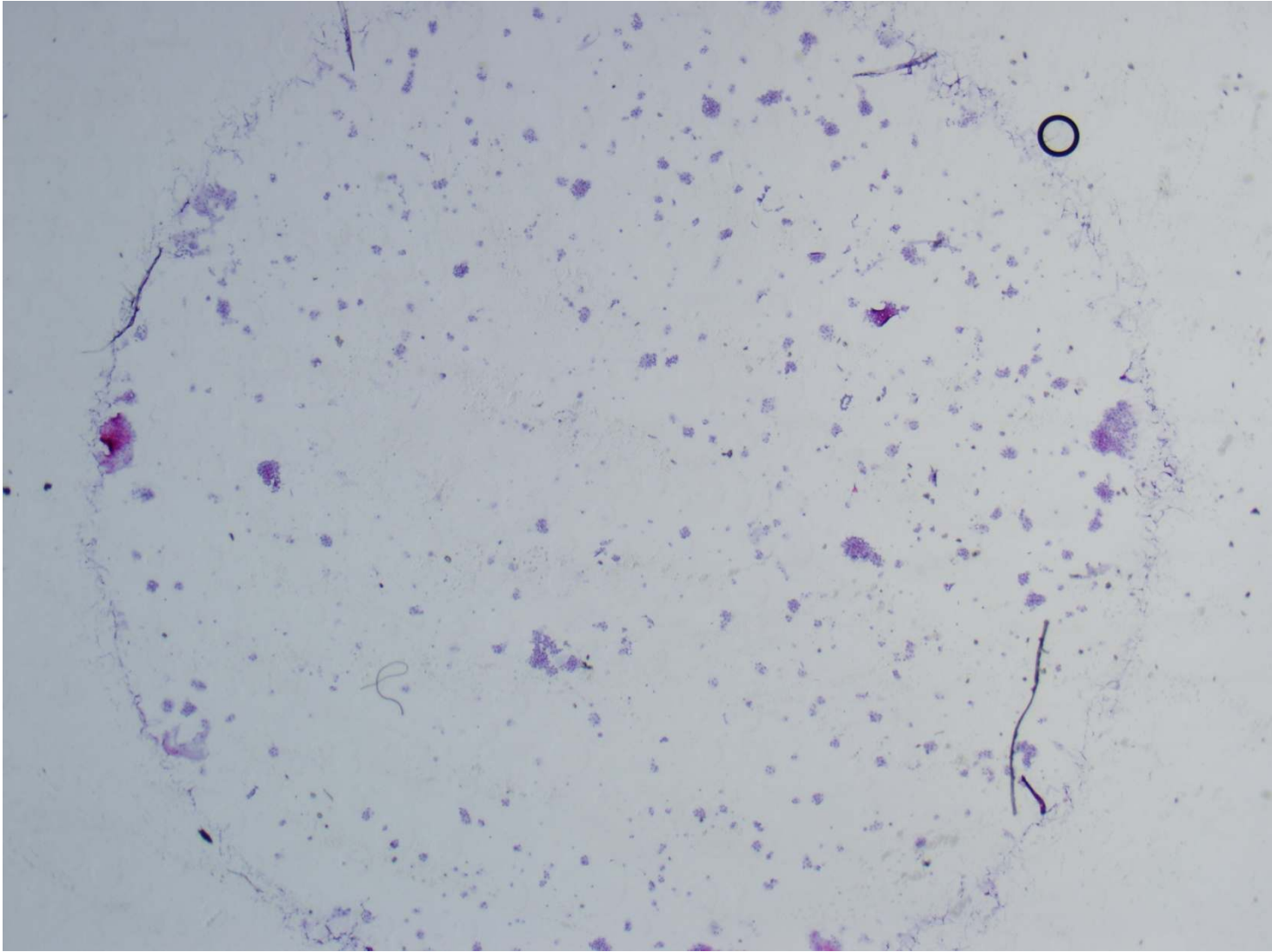
- **Beyin-omurilik sıvısı**
- **Yıkama, lavaj materyalleri**
- **İdrar**
- **Efüzyon materyalleri**
- **Hücreden fakir tüm sitolojik materyaller**

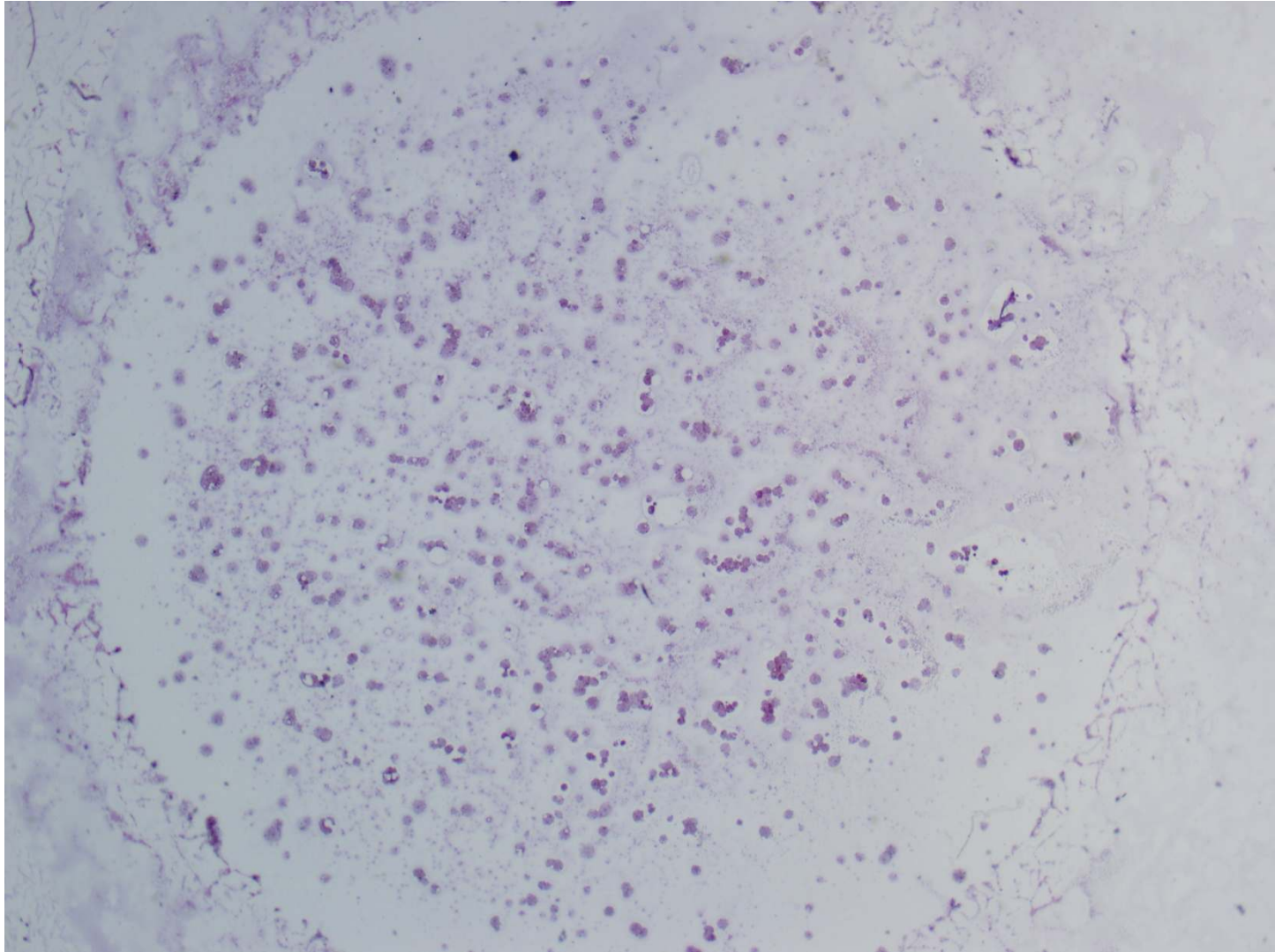
Sitosantrifüj yönteminde dikkat edilecek konular

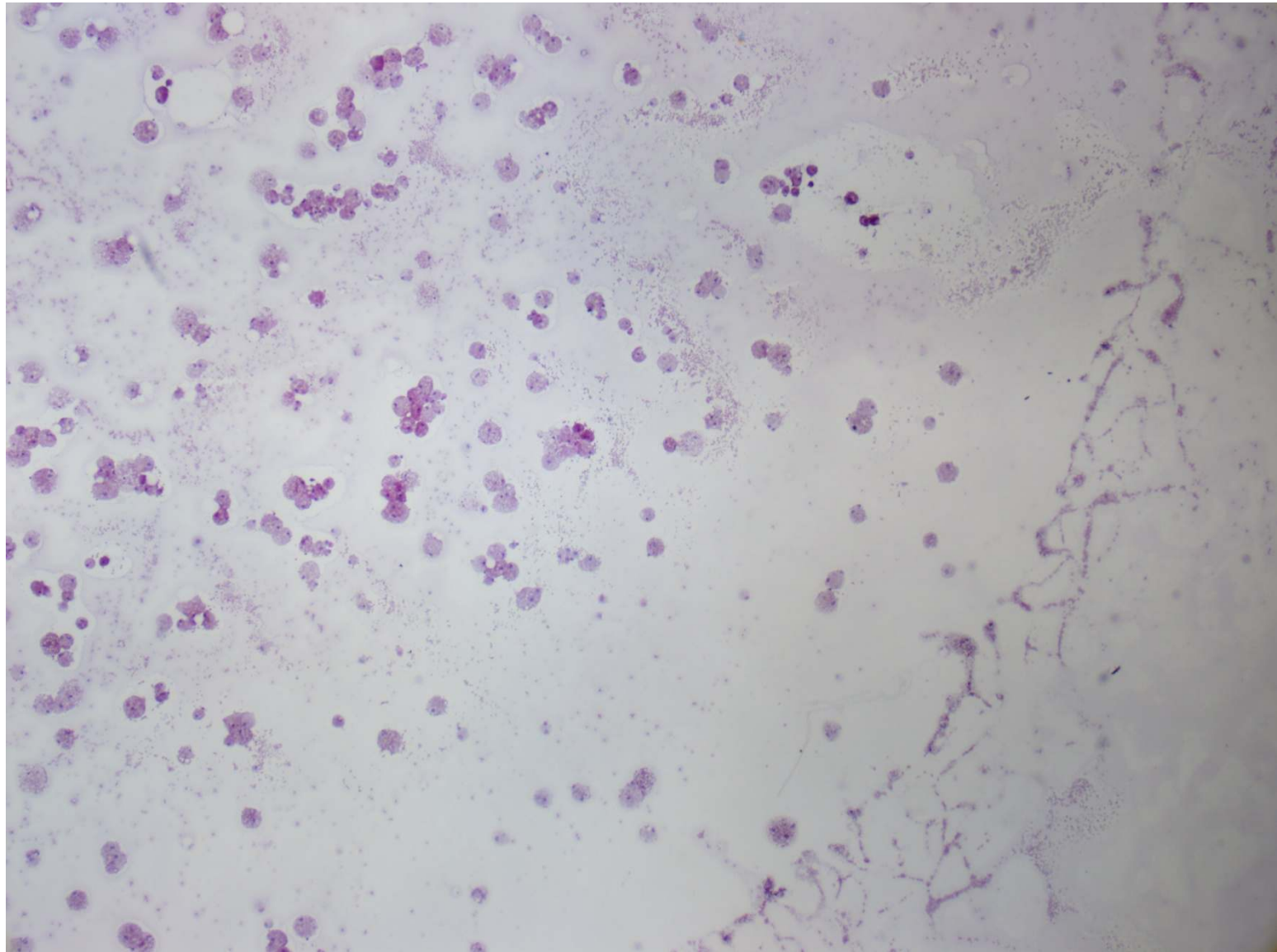
- ***Materyal kıvamlı, pürülan, hemorajik ise sitosantrifüj işlemi sonrası hücreler ince tabaka halinde yayılamayacağından alışıl gelmiş basit, klasik santrifüj tercih edilmelidir.***











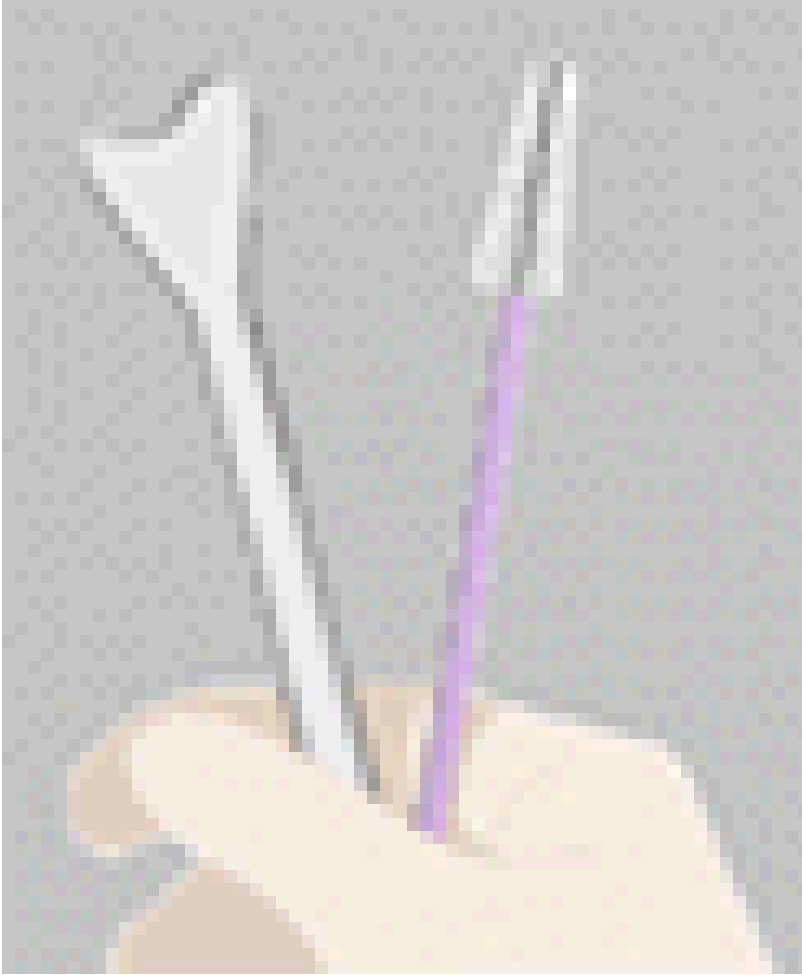
Sıvı bazlı yayma (thin prep) / Hücre bloğu yöntemi uygulanabilen sitolojik materyaller

- **Tüm jinekolojik sitolojik materyaller**
- **Jinekolojik olmayan tüm sitolojik materyaller**

Sıvı bazlı yayma (thin prep) yöntemi

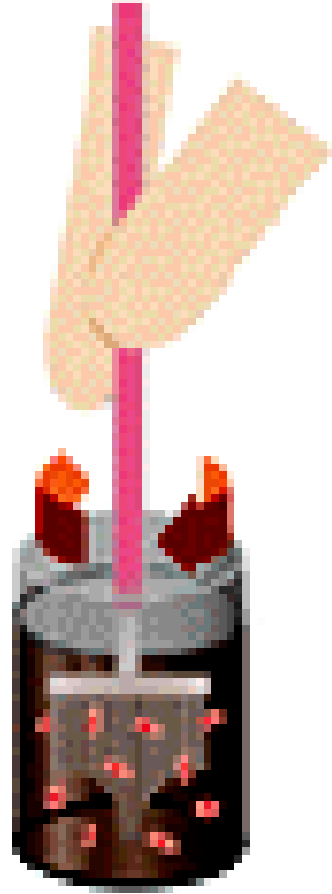
- **Herhangi bir yöntemle, herhangi bir yerden alınan sitolojik materyali özel taşıyıcı-koruyucu sıvı ortama aktarıp, değerlendirmeyi güçleştirebilecek istenmeyen elemanlardan arındırıp, santrifüje edip, bir araya toplanan hücrelerin lam üzerinde tek ince bir hücre tabakası halinde yayılmasını sağlar.**

İnce yayma(thin prep) yöntemi



- Jinekolojik örnek spatula veya fırça yardımı ile alınır

İnce yayma(thin prep) yöntemi



- Hücreler lam üzerine yayılmaz, spatula veya fırça hücreleri bozulmadan taşımak üzere hazırlanmış olan içerisinde solüsyonu hazır şişe (örnek kabı)de 10 kez çalkalanır ve spatula/fırça atılır.

İnce yayma(thin prep) yöntemi



- Örnek kabının ağzı kapatılır, etiketlenir ve laboratuvara gönderilir

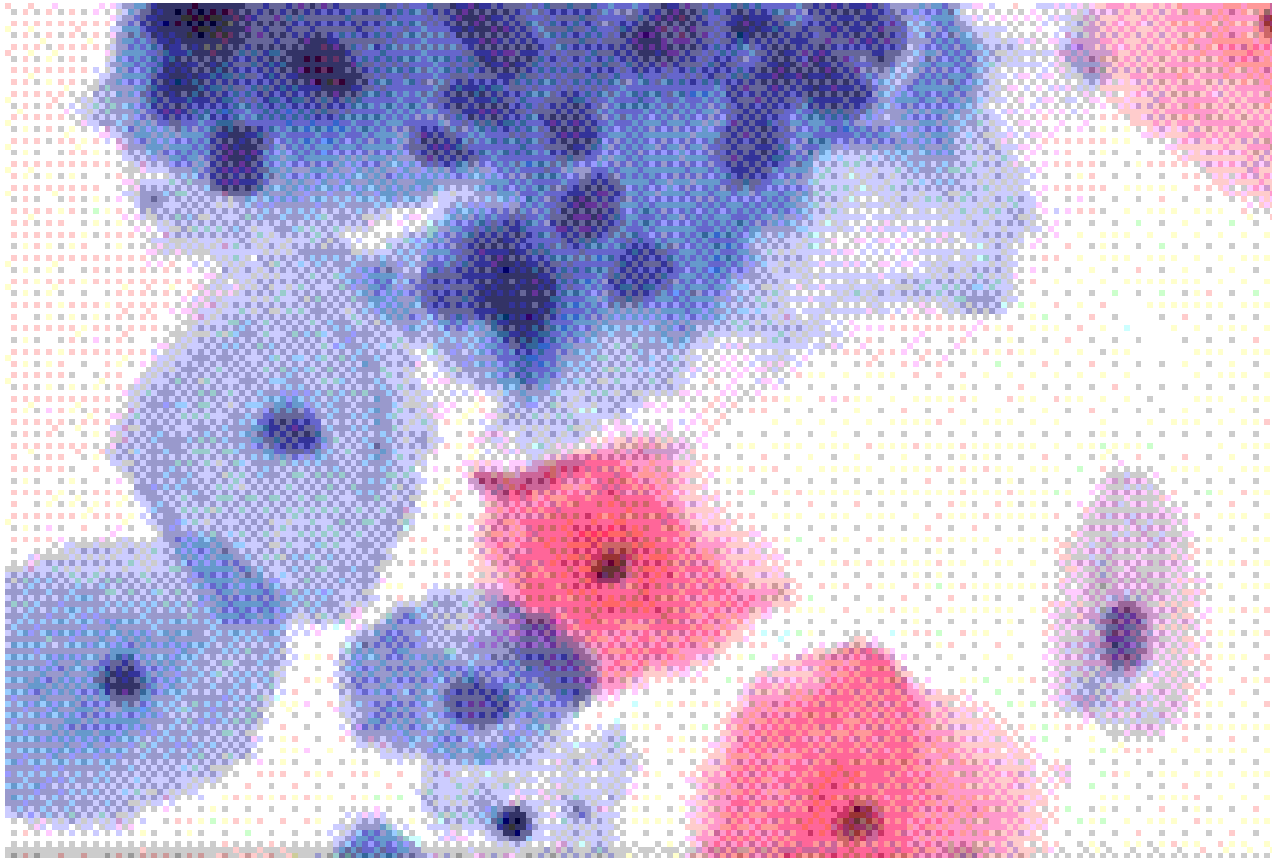
İnce yayma(thin prep) yöntemi



- Laboratuvarda örnek kabı cihaza bağlanır. Önce hafif bir çalkalama ile örnek kan, mukus ve tanısal olmayan elemanlardan arındırılır. Bu işlem negatif basınçla hücre dışı elemanları süzerek tanısal, hücresel materyali tek ve ince bir tabaka halinde filtre üzerine toplar. Daha sonra daha hızlı bir santrifüj ile toplanan hücre sayısı artırılır. Hücreler buradan lama aktarılır ve tespit edilir.



Thin prep



Solid kitle aspirasyon materyali (ince iğne aspirasyon biopsisi)

- **Tüm yüzeysel ve derin solid kitle aspirasyonları**
- **Deri ek lezyonlarından derin yumuşak doku malign tümörlerine kadar geniş kullanım alanı**
Sitoblok yöntemi kullanılmıyor, rutin alışlagelmiş yayma yöntemi kullanılıyor ise aspiratlar dikkatlice ve hedefe yönelik kullanılmalıdır.

Solid kitle aspirasyon materyali (ince iğne aspirasyon biopsisi)

- *İnce iğne aspirasyon biopsisi ile alınan örneğin yeterliliği işlem sırasında kontrol edilebilir.*
- Bu durumlarda aspire edilen materyalden birkaç örnek yayma hazırlanıp, hızlı bir şekilde boyanıp, mikroskopta değerlendirilir.
- Geri kalan materyalden amaca yönelik olarak thin- prep, sitoblok ve/veya direkt yaymalar hazırlanır.

Aspirattan yayma hazırlarken dikkat edilecek konular

- *Enjektör boş gibi görünebilir, hücreler iğnenin haznesinde toplanmıştır.*
- Yavaşça iğne çıkarılıp, piston geri çekilip, enjektör hava ile doldurulup, iğne tekrar takılarak lamlara hücrelerin püskürtülmesi sağlanabilir.
- Yada çıkarılan iğnenin haznesinin kenarı lama hafifçe vurularak hazne lam üzerine boşaltılabilir.

Aspirattan yayma hazırlarken dikkat edilecek konular

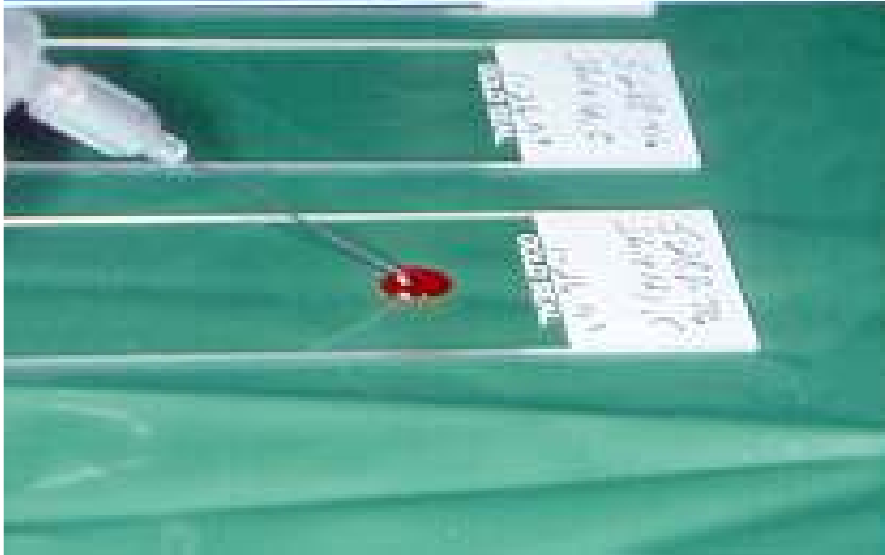
- Hücreler iğnenin haznesinde sıkışıp kaldığında enjektör yardımı ile üzerine serum fizyolojik veya nötral tampon solüsyonu çekilip, çalkalanır, enjektör santrifüj tübüne boşaltılır, düşük devirde (1500-2000) 10-15 dakika santrifüje edilip, çökelti lamlara yayılır.

İnce iğne aspirasyon yöntemi

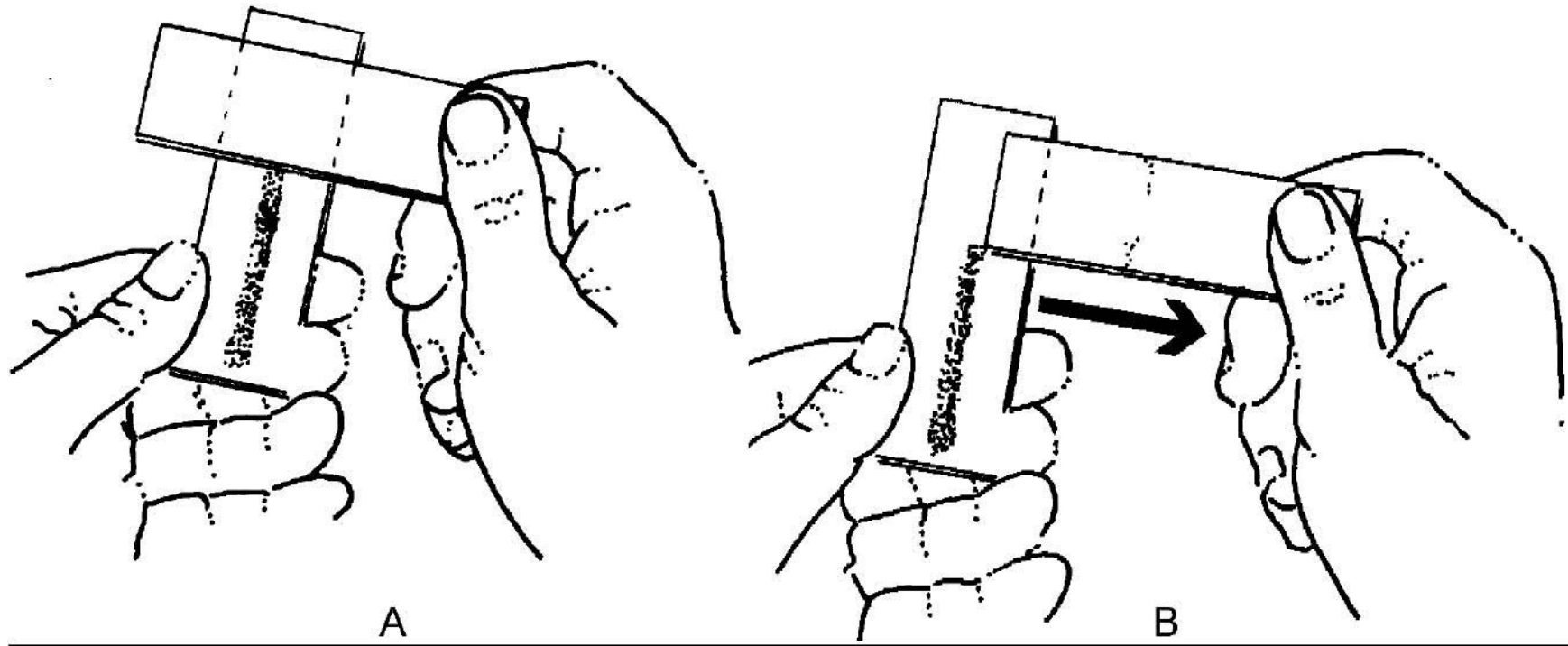




İnce iğne aspirasyon yayma yöntemi



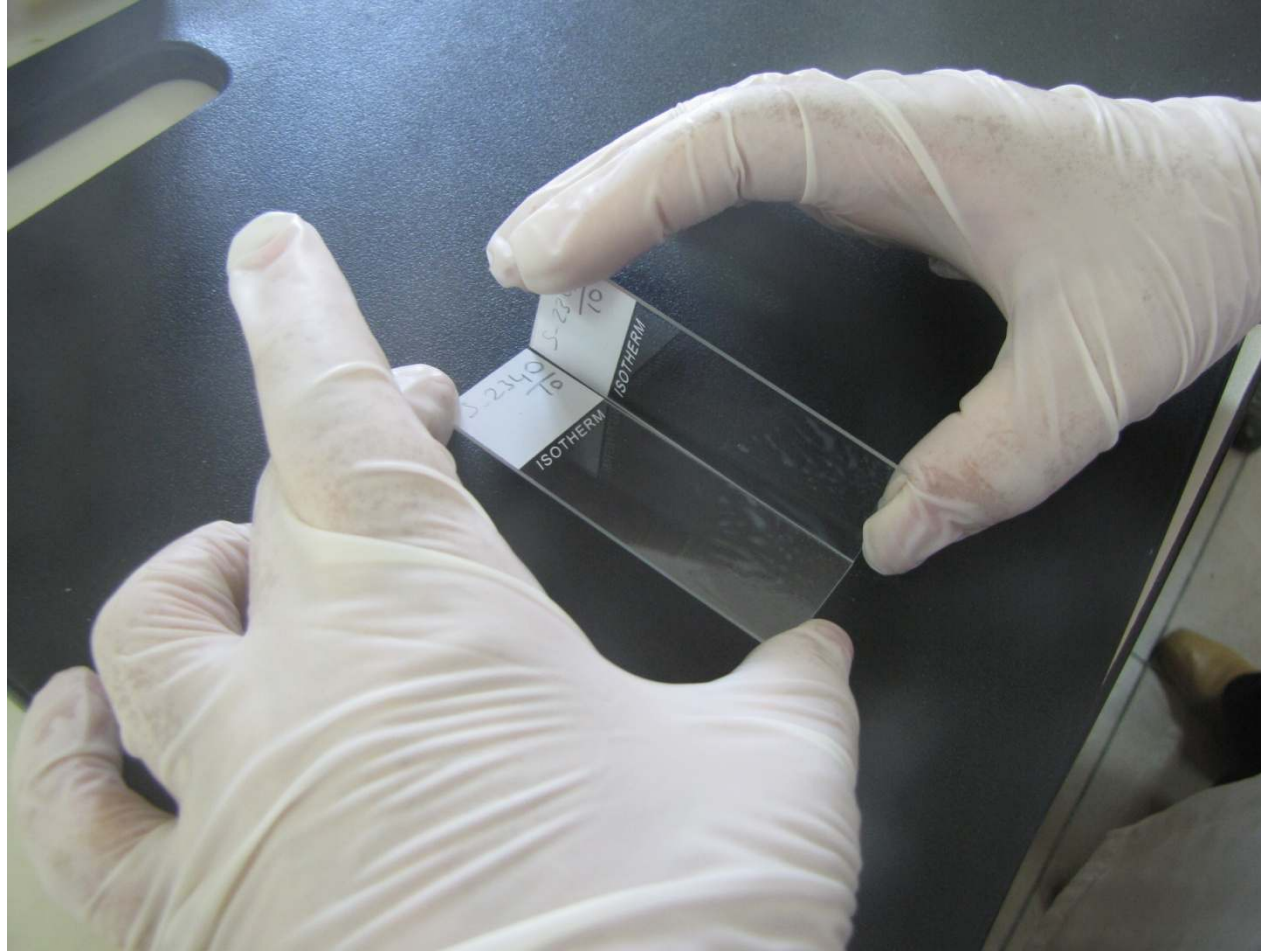
Aspirasyon biopsi yayma

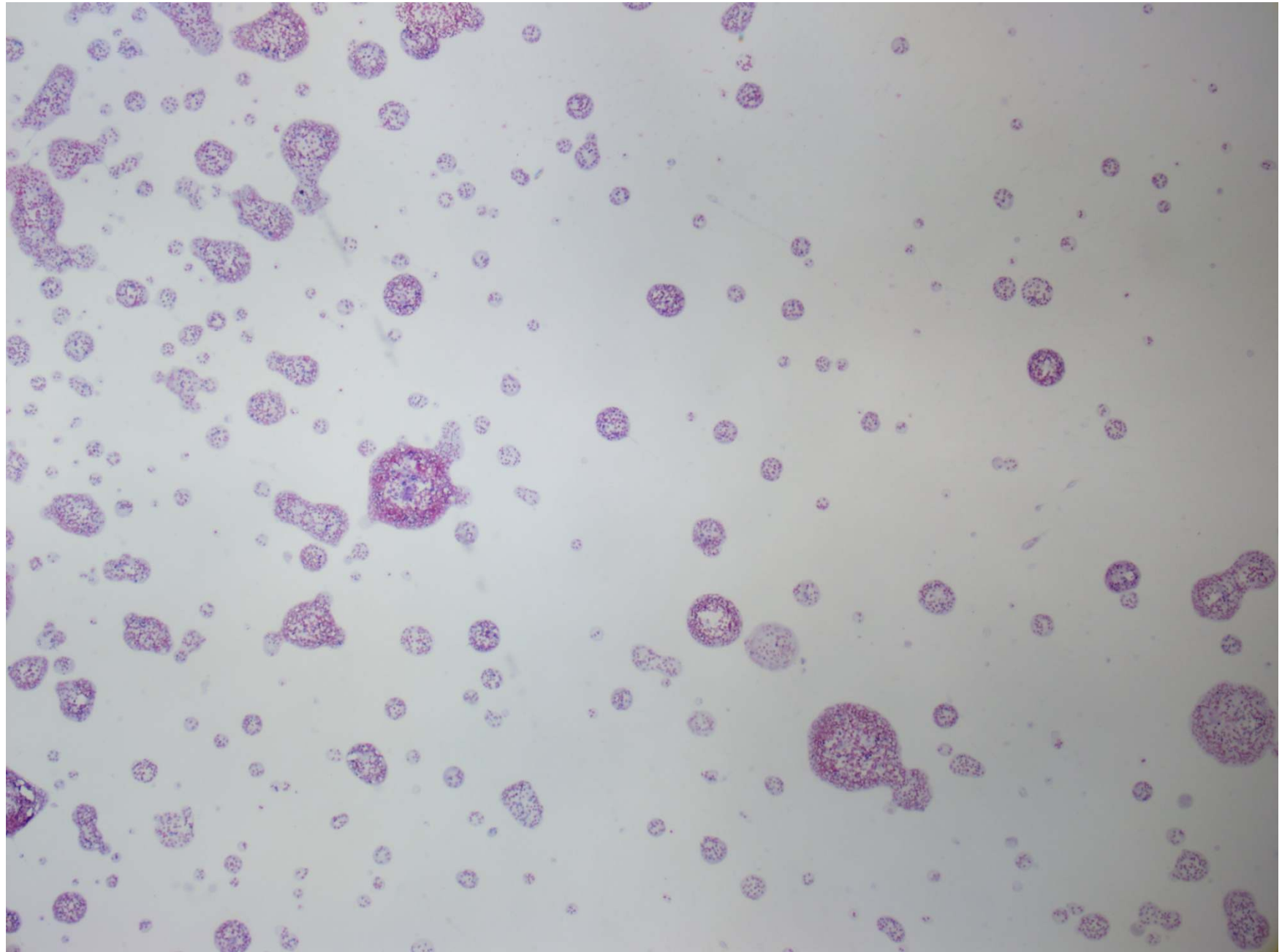


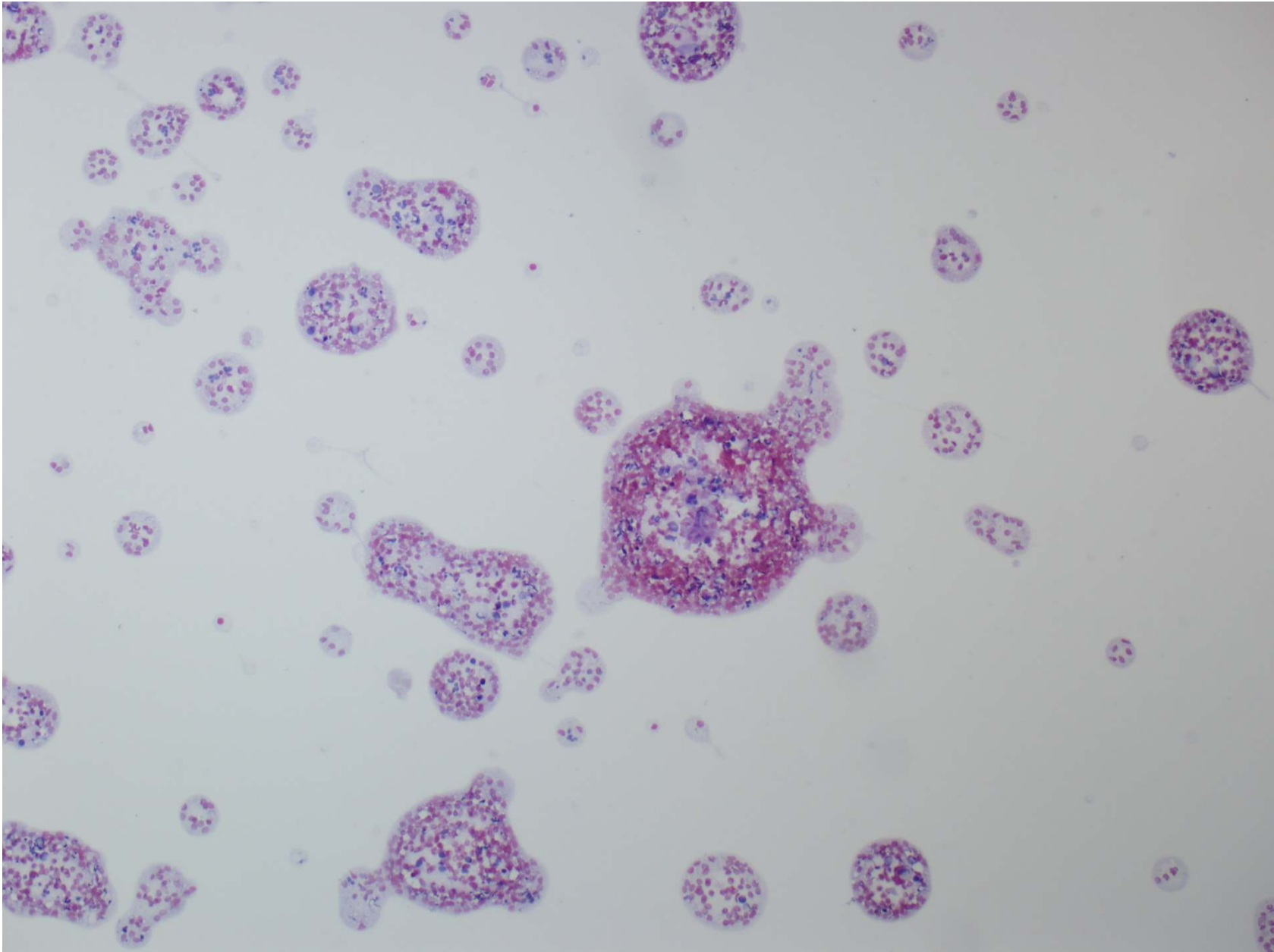
Aspirattan yayma hazırlarken dikkat edilecek konular

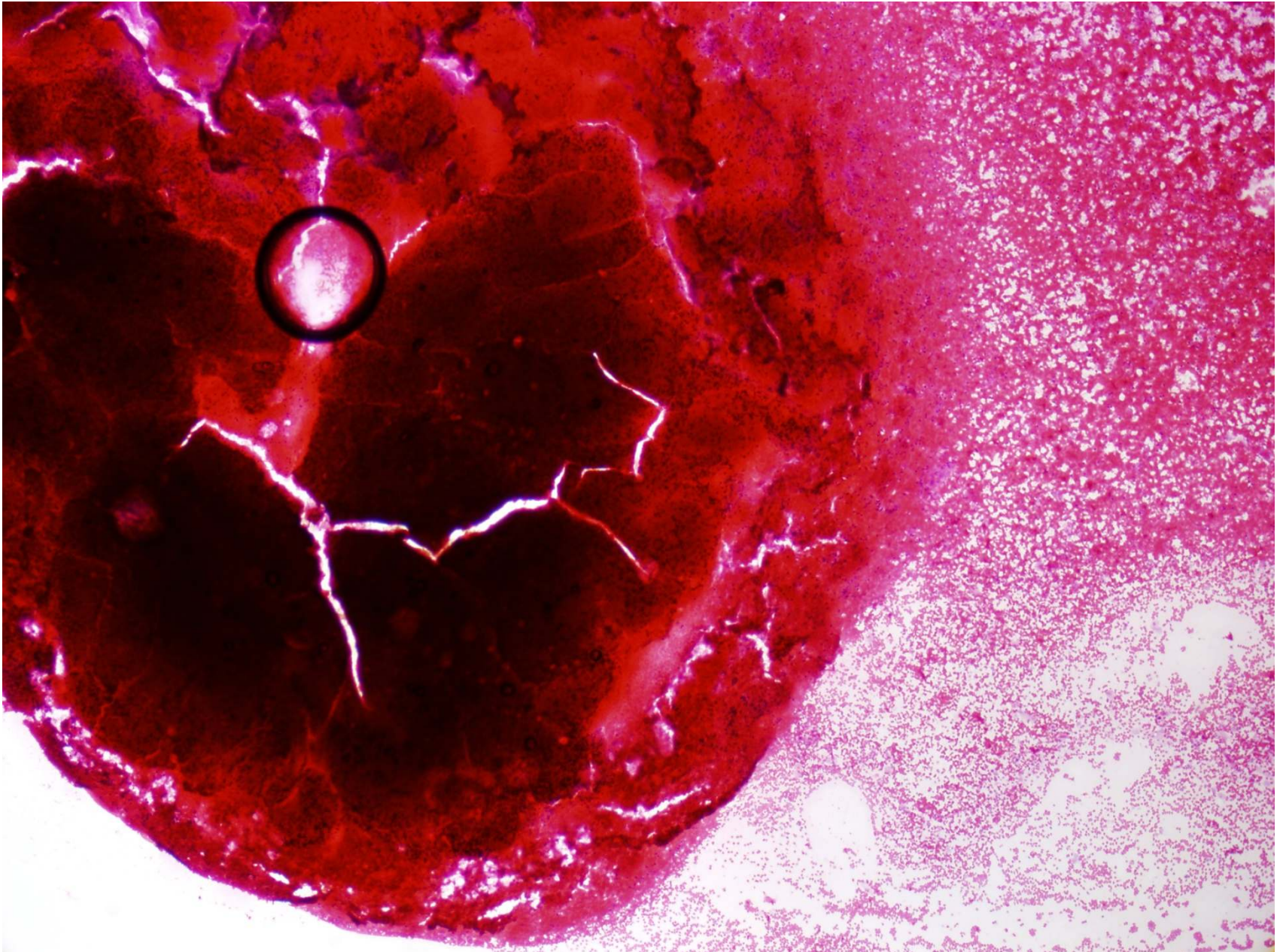
- *Lamlar üzerine aktarılan materyal lamlar üzerinde ince yayılmalı, hücrelerin ezilmesi, parçalanması engellenmelidir.*
- Yayma hazırlarken lamlardan birinin öbürü üzerinde hafifçe kayması(**Periferik yayma hazırlama yöntemi**) veya birbirine değdirilen lamların kitap gibi açılması **sağlanmalıdır(Kitap açma yöntemi)**
- Yayma hazırlarken *lamlar birbirileri ile açmamalı, lamlardan birinin keskin kenarı ile hücreler temas etmemelidir.*

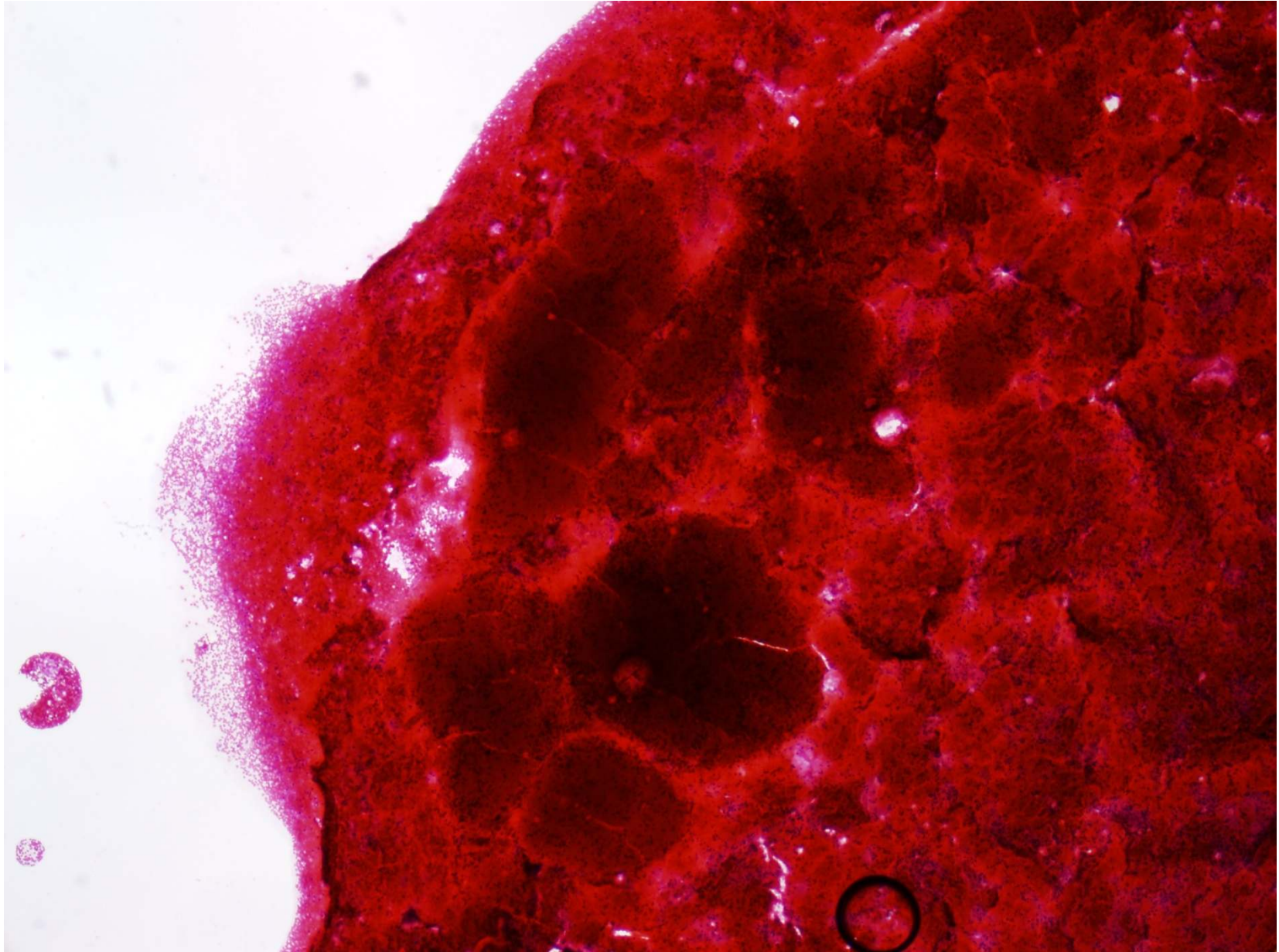


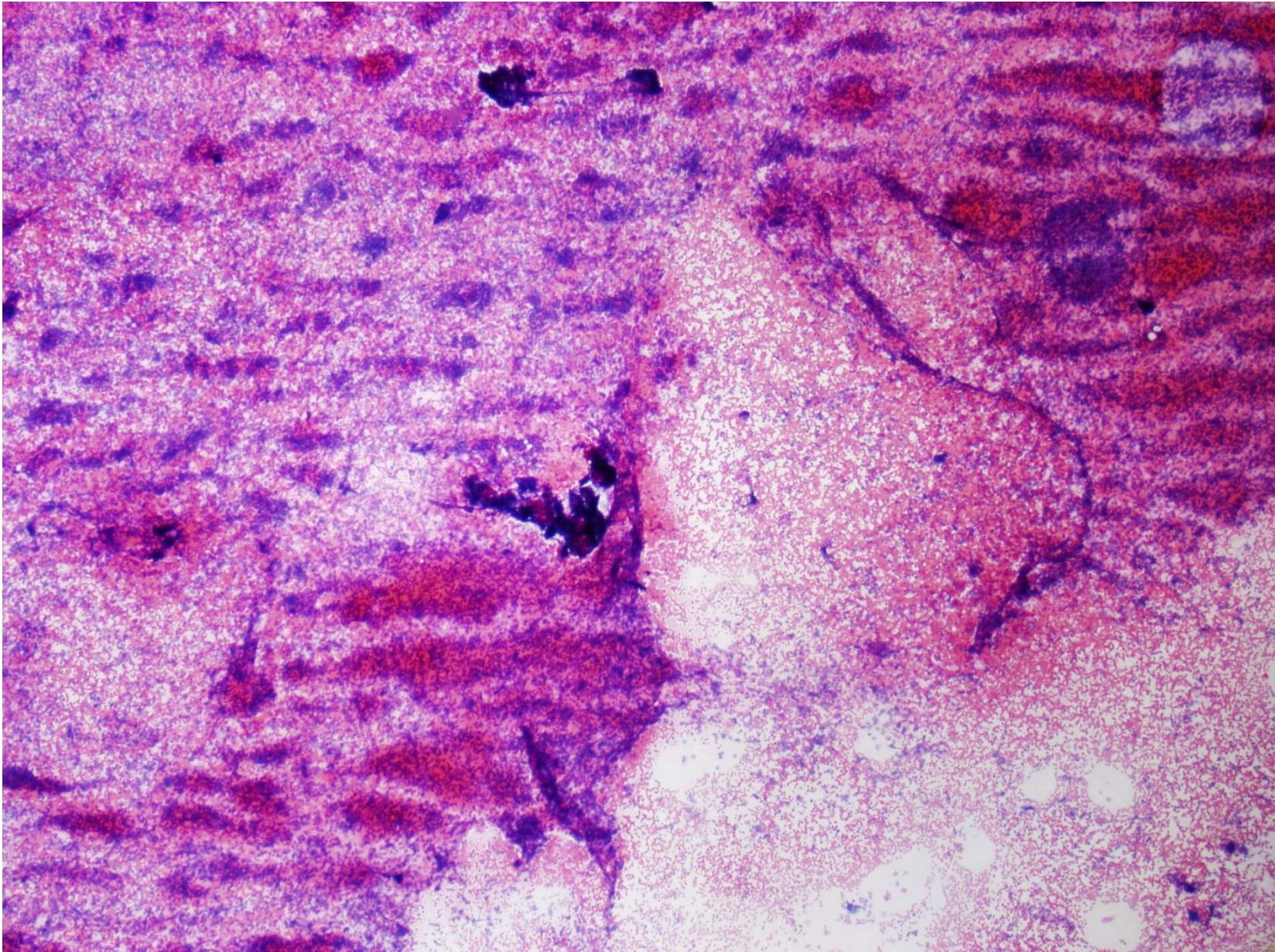


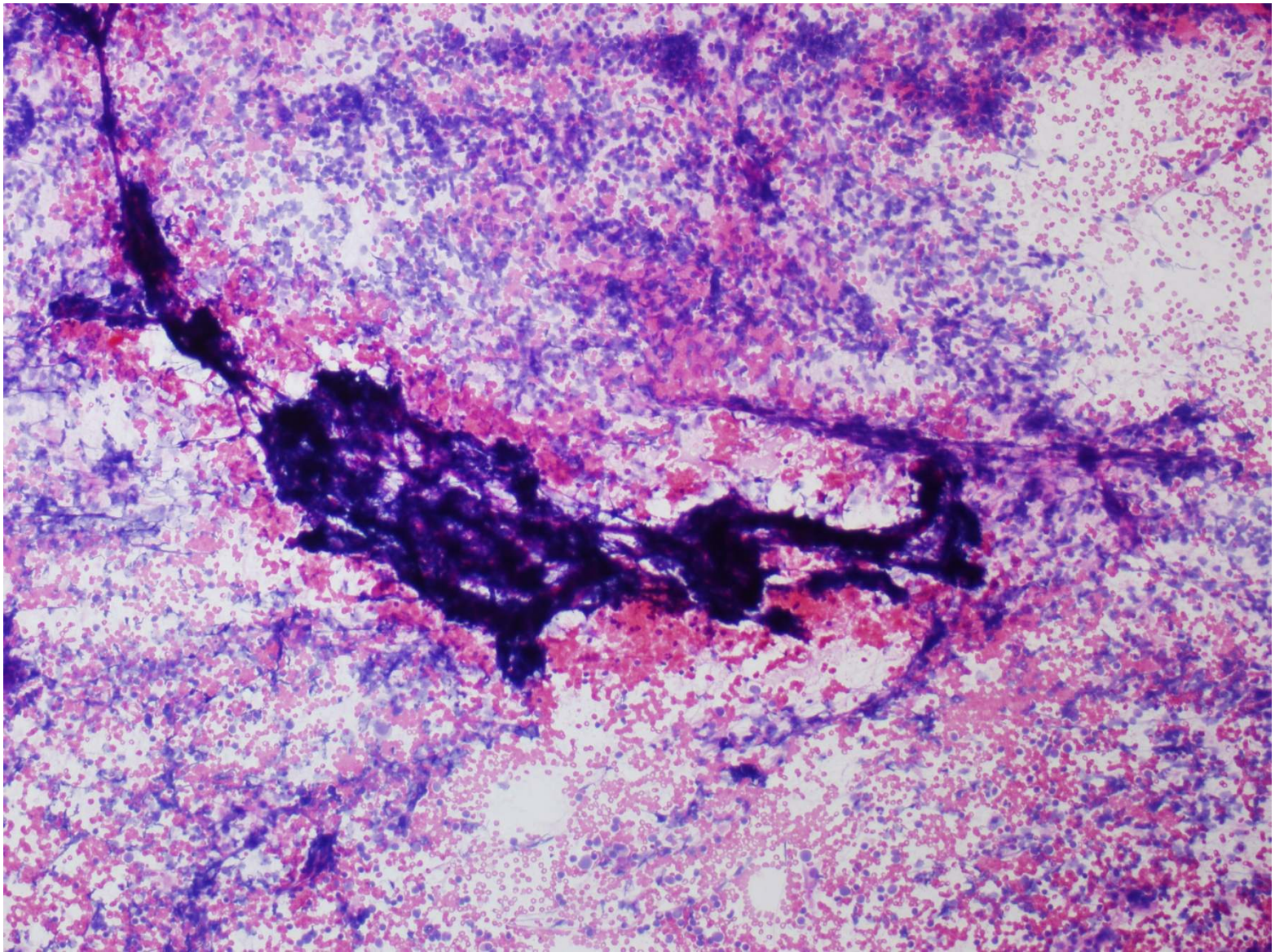


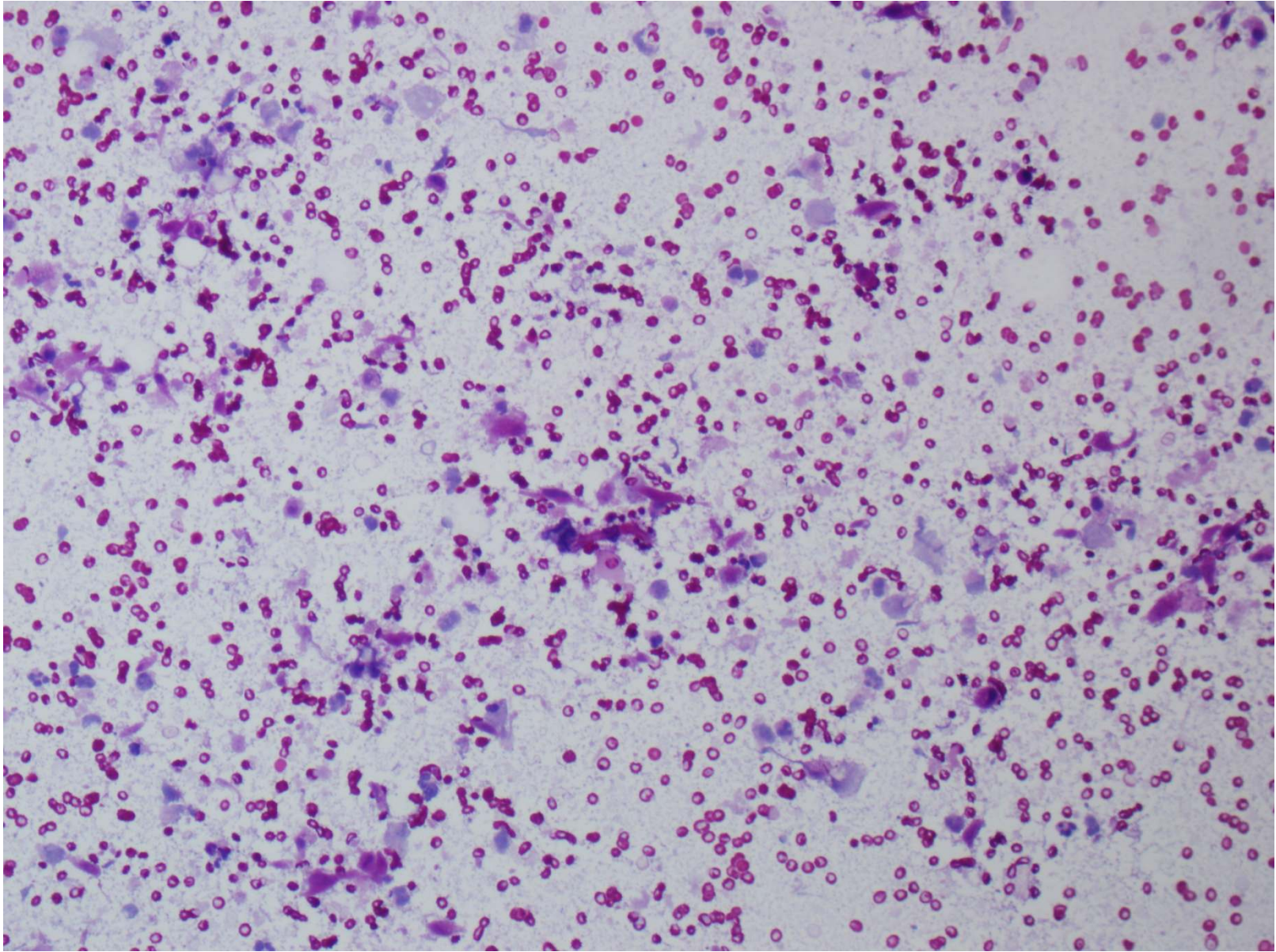


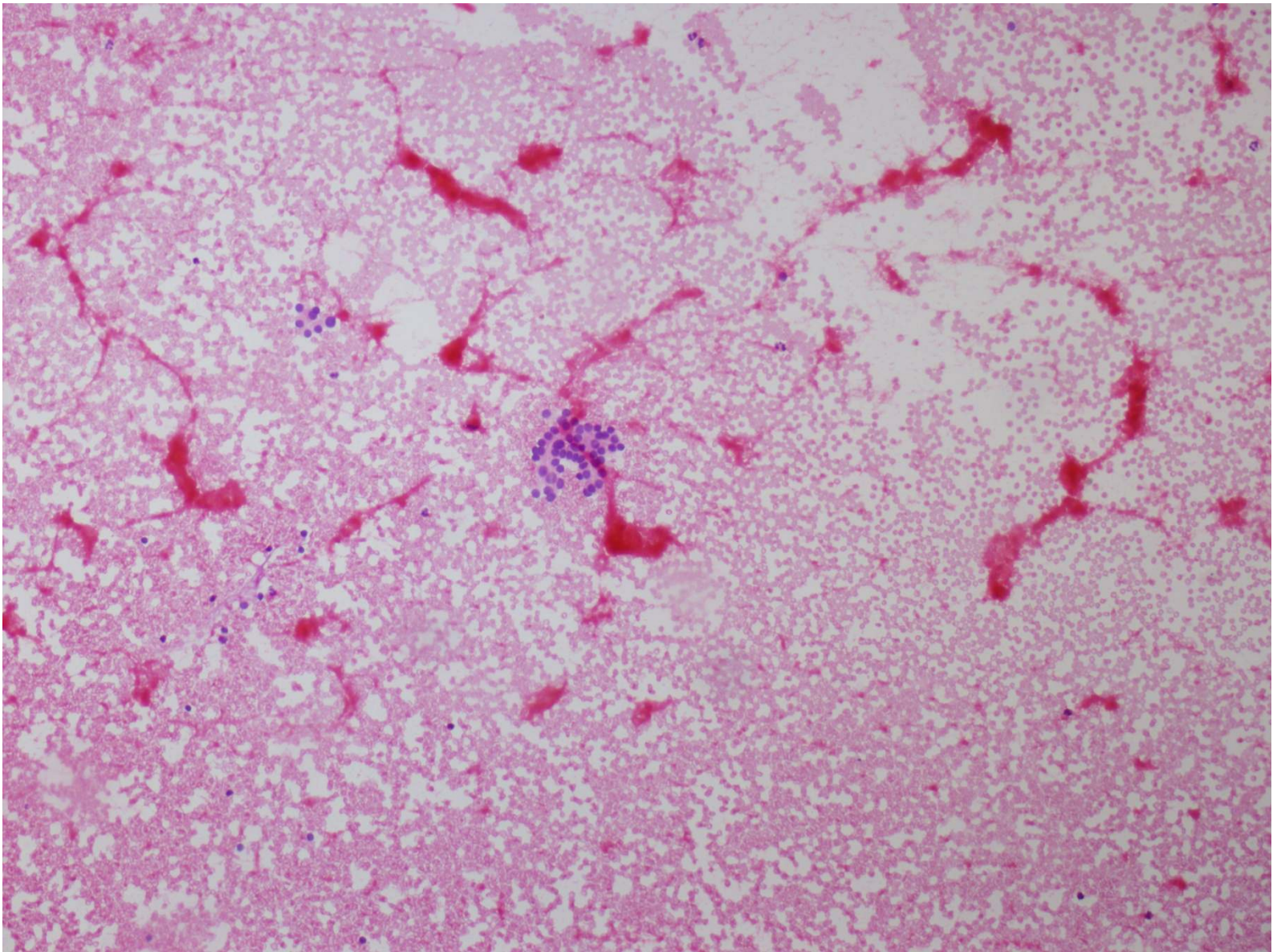












Beyin-omurilik sıvısı

- Evreleme-metastaz,
- Spesifik enfeksiyon tespiti
- Hastalık ve tedavi izlemi amacı ile sitolojik inceleme yapılır

BOS sıklıkla hücreden fakirdir. Düşük devirde ve uzun süre santrifüje edilmeli, tercihan sitosantrifüj yöntemi kullanılmalıdır. Tespit ve boya yöntemi standart değildir, amaca göre seçilir.

Kemik iliği aspirasyonu

- Primer lökoz, myeloma
- Metastatik tümörler
- Depo hastalıkları- gaucher, hemosiderozis vb
- Enfeksiyöz hastalıklar- leishmaniazis vb tanıları amaçlanır.

Kİ aspirasyonları sitopatolojiye seyrek olarak ve sıklıkla özel bir problemin çözümü amacı ile lamlara yayılmış olarak gönderilir. Amaca yönelik tespit ve boya gerektirdiklerinden rutin-dışı olarak değerlendirilmelidirler.

Özel durumlar

- **Metabolik birikimler,**
- **Kristaloid birikimler,**
- **Moleküler belirteçler,**
- **Hormonal durum vb saptanmasını amaçlayan aspirasyonlarda rutin işlem yapılmamalı, duruma uygun yöntemler seçilmelidir.**

Sitolojide tespit yöntemleri

- **Havada kurutma**
- **Alkol tespiti**
- **Aseton tespiti**
- **Eter-alkol tespiti**
- **Özel tespit solüsyonları**
- **Kullanıma hazır (sıklıkla spray şeklinde) tespit malzemeleri vb**

Sitolojide tespit yöntemleri

- *Tespit yöntemi seçiminde materyalin niteliği, uygulanacak boya yöntemleri dikkate alınmalıdır.*
- *Rutin ve rutin dışı materyal için kurum ve laboratuvar koşulları dikkate alınarak yönergeler hazırlanmalıdır.*



Sık sorulan sorular

- **Lama kalın yayılmış, kısmen kurumuş materyal için ne yapılmalı?**
- **Eritrositler ve mukusdan kurtulmak için ne yapılmalı?**
- **Poliklinikte alınıp yayılan servikovaginal materyal nasıl tespit edilmeli, laboratuvara nasıl gönderilmeli?**
- **Laboratuvara uzak bir yerde alınan aspirasyon materyali laboratuvara nasıl gönderilmeli?**
- **Tespitli materyal laboratuvara iletilmeden ne kadar süre ile bekleyebilir?**
- **Seri balgam nasıl toplanır, nasıl tespit edilir, laboratuvara nasıl iletilir?**
- **İdrar nasıl toplanır, laboratuvara nasıl iletilir?**
- **Thin prep için alınan materyal taşıyıcı solüsyonda ne kadar süre ile bekleyebilir?**
- **Önceden tespit edilen sitolojik materyal ile ilgili olumsuzluklar nelerdir?**
- **.....**

