

Metoda: Barvení peroperační biopsie Toluidinovou modří

Slivoňová Kristýna, ZZL

Peroperační vyšetření buněk a tkání (RPB)

Rychlá peroperační biopsie poskytuje lékaři rychlou informaci nutnou pro optimální pokračování probíhající operace. Výsledek histologického vyšetření může značně ovlivnit charakter operace.

Vyšetření rozhoduje mezi benigním a maligním procesem. Pokud se jedná o benigní proces, může být operace ukončena prostou excizí. Při maligním procesu potřebuje chirurg vědět, zda byl tumor excidován celý a operace pokračuje např. lobektomií (=chirurgické odstranění laloku nějakého orgánu) a excizí uzlin.

Odběr a fixace materiálu

Odebraný materiál musí být urychleně doručen do histologické laboratoře. K tomu ve většině případech slouží potrubní pošta s pouzdrům, popřípadě sanitář. Tkáň pro nedostatek času nelze zalévat ani fixovat, takže je nutno ji krájet čerstvou po zmrazení.

Krájení materiálu

Než se může samotný vzorek tkáně nabarvit musí lékař nejprve vzorek změřit a makroskopicky popsat. Potom lékař vyhledá podezřelá místa a z těchto suspektních ložisek přikrojí kus o velikosti optimálně 1 cm³, který je určen ke zpracování.

Ke krájení nezalité tkáně se používá speciální zařízení – kryostat. Kryostat je rotační mikrotom vložený do mrazícího boxu s teplotou kolem -20°C. Lze na něm krájet nativní i fixovaný materiál.

Správné vystižení konzistence tkáně je zárukou zdařilého krájení. Tkáň nesmí být přemrazena ani nedostatečně zmrazena. Tkáň, která přemrzne je příliš tvrdá, řezy se tříští na stěpiny a může dojít i k odtržení celého bločku. Naopak při krájení nedostatečně zmrazené tkáně se řezy mačkají v kaši.

Ukrojené řezy nám ulpí na noži, které následně přichytíme na podložní sklíčko.

Barvení a montování RPB

Na patologicko-anatomickém oddělení barvíme peroperační biopsie 30 sekund 1 % toluidinovou modří. Preparát montujeme do montovacího média mísícího se s vodou.

Obarvené řezy montujeme přímo bez odvodňování. Tato montovací média se používají,

když nesmí vyšetřovaná tkáň přijít do styku s organickými rozpouštědly (alkoholem

a xylenem), například při průkazu lipidů. Patří sem glycerin, glycerinová želatina, která je díky neutrálnímu pH vhodným médiem i pro barviva, která jsou citlivá vůči kyselinám (toluidinová modř, hematoxylin).

Přehled barvení

Správným barvením toluidinovou modří budou svalové buňky obarveny modře s červenofialovými jádry. Při kolagenní tkáni vznikne bledě lososová zbarvení s modrofialovými fibroblasty. Elastická vlákna chytají tyrkysový odstín a při průkazu sójového či pšeničného proteinu se zbarví tmavě purpurově až modrozeleně.

Výsledek barvení

Celá metoda peroperační biopsie, od předání excidovaného materiálu do laboratoře, následné úpravy vzorku a jeho zpracování, trvá 15-20 min. Lékař po zhodnocení preparátu a určení peroperační diagnózy telefonuje výsledek přímo na operační sál, kde zákrok probíhá. Dle výsledku vyšetření může operatér pokračovat v operaci určitým směrem.