

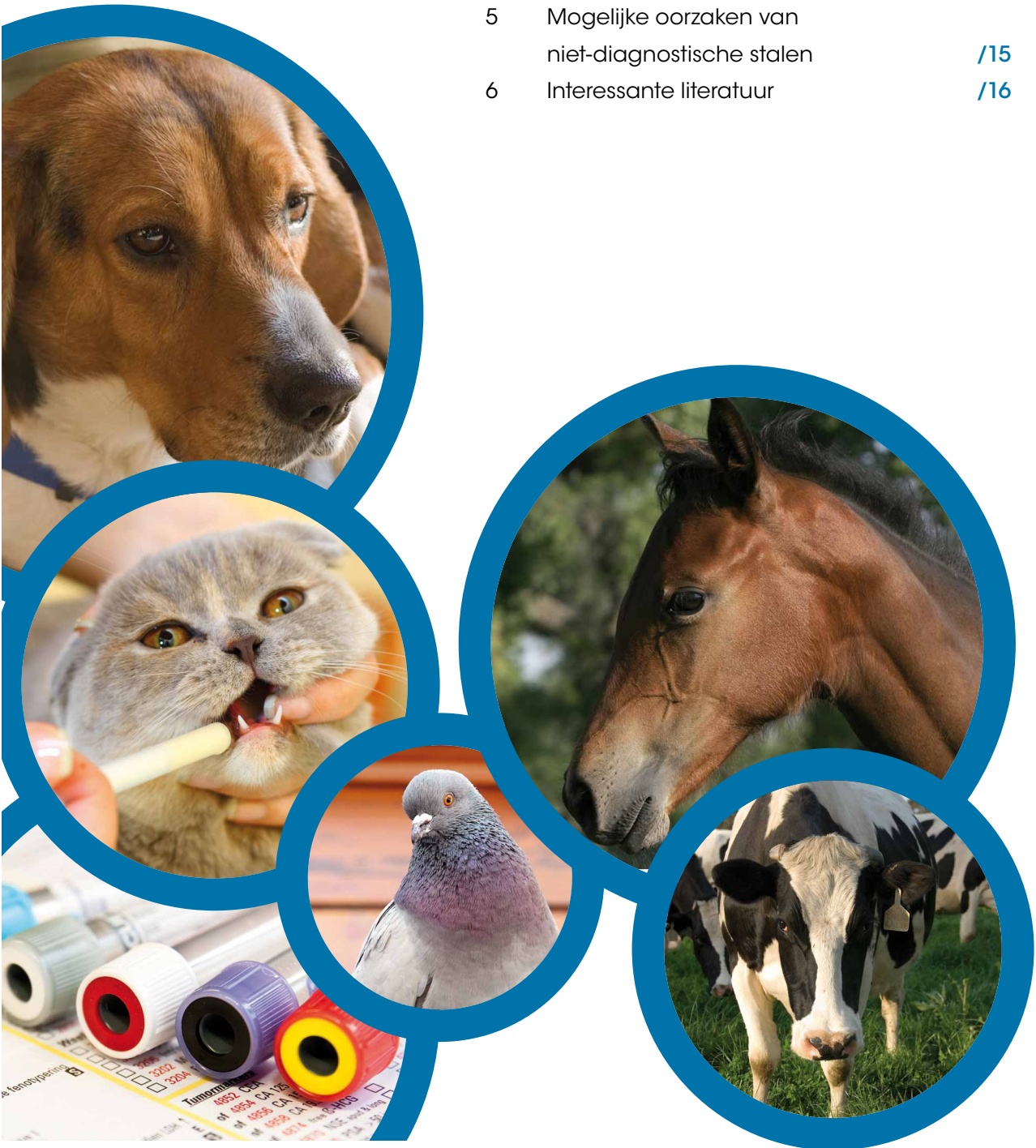


MEDVET DIERGENEESKUNDE

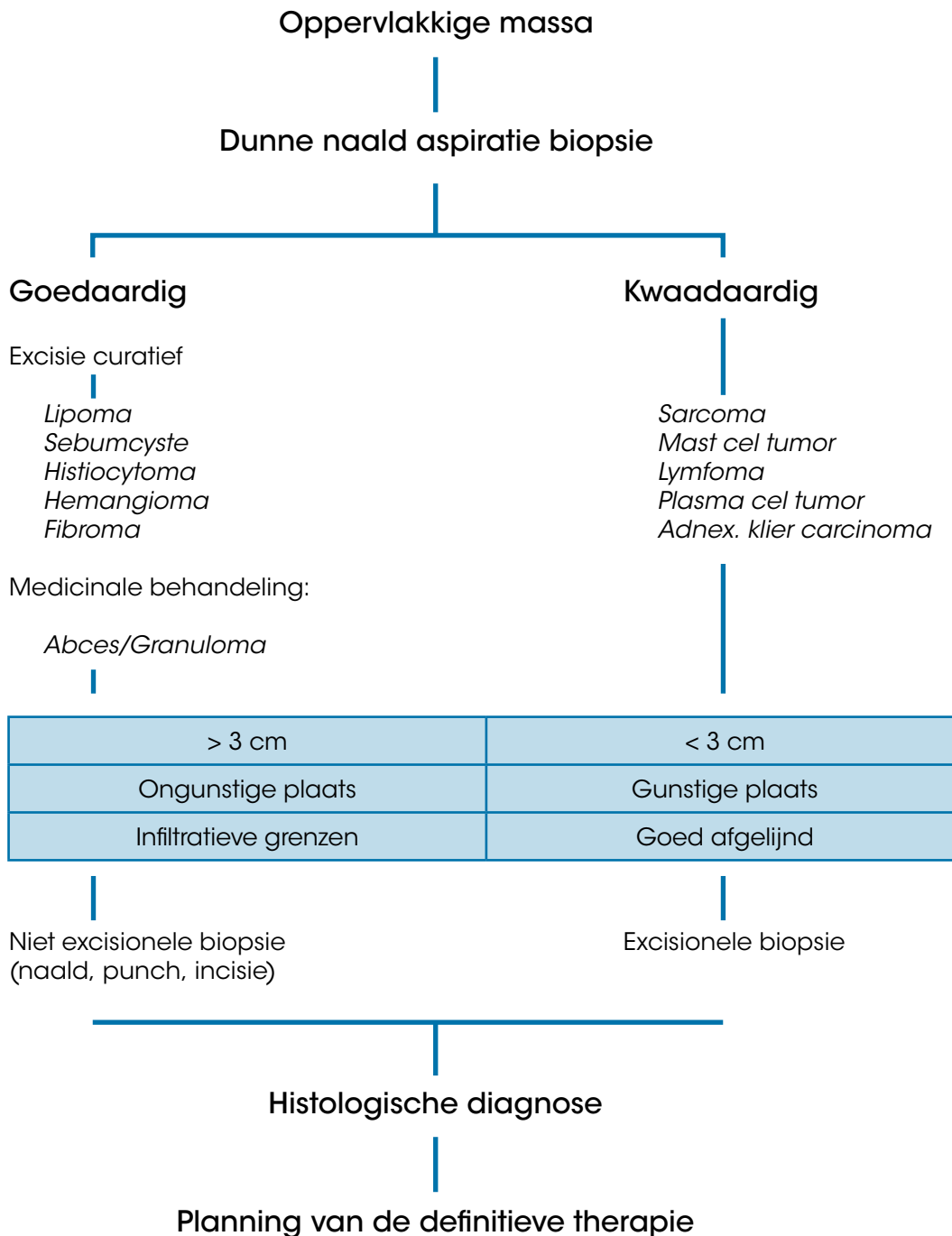
INFOBROCHURE DIERGENEESKUNDIGE CYTOLOGIE 2012
DR. BRUNO VERHAEGHE

INHOUD

| | | |
|---|--|-----|
| 1 | Cytologie | /6 |
| 2 | Enkele afnametechnieken | /9 |
| 3 | Uitstrijktechnieken | /12 |
| 4 | Behandeling van afgenomen stalen/ Fixatiemethoden | /14 |
| 5 | Mogelijke oorzaken van niet-diagnostische stalen | /15 |
| 6 | Interessante literatuur | /16 |



PRAKTISCHE RICHTLIJNEN VOOR DIERGENEESKUNDIGE CYTOLOGIE



(naar Meuten, *Tumors in Domestic Animals, Fourth Ed.*)

1. Wat

Morfologisch onderzoek van een dunne laag cellen geoogst uit weefsel of vochten (uit lichaams-holten, urine,...).

Het zijn voornamelijk de bouwstenen van weefsels of infiltraten die onderzocht worden, in tegenstelling tot de histopathologie, waar de cellen in weefselverband onderzocht worden.

De onderzochte cellen worden geoogst door:

- **dunne** naald (aspiratie) biopsie
- aspiratie van vochten
- afname met wissers
- het opvangen van spoelselvocht

Cytologie

- bouwstenen, infiltraten
- vaak uit te voeren tijdens consult
- meestal geen of lichte sedatie
- vaak richtinggevend
- volledige anamnese onontbeerlijk

Histopathologie

- weefsel in verband
- vaak na afspraak
- vaak sedatie/anesthesie
- meestal diagnostisch
- anamnese belangrijk

Cytologie kan op betrouwbare wijze een weefselbiopt overbodig maken bij sommige vaak voorkomende aandoeningen, doch is geen volwaardige vervanging van histopathologie. Vaak dient het als een complementair onderzoek beschouwd te worden, het kan routinematig ingezet worden zoals een bloedonderzoek.

2. Voordelen van cytologie

- **laagdrempelig**
- eenvoudig, relatief goedkoop, snel, zeer veilig, onmiddellijk uitvoerbaar tijdens eerste consultatie, vaak minder tijdrovend dan een bloedstaalname
- zo niet diagnostisch toch vaak richtinggevend voor diagnose/verdere behandeling (biopt, excisie, afwachten en medicamenteuze behandeling, dan ev. follow-up punctie,...)
- technisch betere behandeling (cfr differentiaaldiagnose lipoma/mastceltumor, informatie i.v.m. te respecteren chirurgische marges)
- de dierenarts doet iets met de klacht, dus meer tevredenheid cliënteel
- vaak sterkere motivatie van de cliënt om verder onderzoek/behandeling te laten uitvoeren

Zoals een vooraanstaand oncoloog zou gezegd hebben:

'Aspirate first, ask questions later'

3. Wat te verwachten van een cytologisch protocol

- onderscheid tussen inflammatoire letsels en proliferatieve/tumorale letsels
- typering van het type inflammatie (eosinofiel, purulent,...)
- eventuele identificatie van specifieke micro-organismen (bvb gisten,...)
- regelmatig diagnostisch:
 - **evaluatie lymfenoduli/lymfoma!**
 - identificatie proces: vb mastceltumor, histiocytoma,...
 - type tumor: rondcel-, epitheliale -, of mesenchymale tumor
 - epidermale cyste
- vaak richtinggevend i.v.m. verdere therapie:
 - chirurgische marges bij excisie
 - medicamenteus en afwachten, dan desgevallend follow-up punctie
 - diagnose lipoma versus mastceltumor(schrappen mastceltumor)
 - welk weefsel is dit (niet)?

4. Cytologie is bijzonder gevoelig aan:

- de techniek [afnametechniek, behandeling van het staal na afname (fixatie → snelheid, juiste techniek); bewaring]
- de representativiteit (let steeds goed op de positie van uw naald gedurende de staalname!)
- de technische kwaliteit van het preparaat (dunne laag, snel luchtgefixeerd)
- volledige relevante klinische informatie zoals:
 - leeftijd en ras
 - klinische historiek (incl. reeds uitgevoerde onderzoeken)
 - volledige beschrijving van het letsel (anatomische lokalisatie, grootte, uitzicht, intracutaan, SC, vastliggend of goed beweegbaar t.o.v. onderliggende weefsels,...)
 - eventueel reeds ingestelde therapie en reactie daarop
 - cave, een inflammatoir proces sluit nooit met zekerheid een tumor uit!
 - een negatief resultaat (non-diagnostisch) kan bij een representatief staal toch richtinggevend zijn, bvb verdacht van een mesenchymale tumor dus excisie met ruime marges,...
 - *interpreteer de cytologische bevindingen steeds in functie van de klinische gegevens, deze zijn doorslaggevend!*
 - in functie van leeftijd, ras, ligging van het letsel en biologisch gedrag kan eenzelfde cytologisch beeld aanleiding geven tot totaal verschillende interpretaties!

Een uitgebreide anamnese is cruciaal!

Cytologie is beduidend betrouwbaarder indien een positief resultaat wordt verkregen (aantreffen van tumorale cellen) dan wanneer er een negatief resultaat verkregen wordt.

Anderzijds kan een negatief resultaat zeer waardevol zijn, bvb indicatief voor een lipoma = quasi zeker geen mastceltumor!

Het is goed de voor- en nadelen van de cytologie voor ogen te houden en deze aan de eigenaar mee te delen, zo voorkomt men onnodige teleurstellingen die deze waardevolle techniek in een slecht daglicht zouden kunnen plaatsen (wederom: negatief resultaat betekent quasi zeker geen mastceltumor).

5. Materiaal en werkwijze

- gebruik steeds objectglasjes met een matte rand (verkrijgbaar in het labo). Schrijf **ALTIJD** de NAAM van de patiënt en de plaats van staalname op de matte rand van het glaasje, met **POTLOOD** (stift etc. word snel gewist door alcohol, ...) en dit op de **BOVENKANT** (zijde waarop het staal werd aangebracht).
- spuit (non-aspiratie: 2,5 ml, 5 ml, aspiratie: 10 ml, 20 ml)
- naalden (22-25 G.) (21-23 G. x 1 inch is handig voor huidmassa's)
 - dikkere naalden geven vaak aanleiding tot bloederige puncties en het oogsten van driedimensionele en dus slecht te interpreteren preparaten.
Dit geldt niet voor:
 - afname van vochten
 - preleveren van weefselbrokjes lipoma
- wissers [best bevochtigd met NaCl 0.9 %. Best zelf uitstrijkjes maken (fixatie!). Zie verder.]
- scalpelmessjes (afschraapsels)
- eventueel bunsenbrander voor fixatie van huidswabs (opsporen micro-organismen)

Tot 3 glaasjes per letsel vallen onder dezelfde kostprijs. Maak dus (indien mogelijk) meerdere uitstrijkjes per letsel om de kans op een diagnostisch staal te verhogen!

2 ENKELE AFNAMETECHNIEKEN

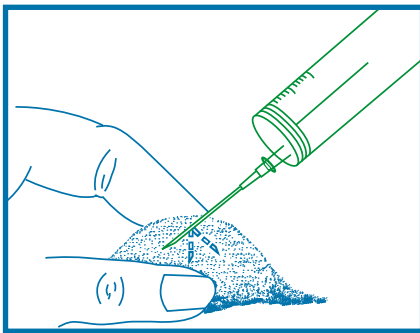
A. Huidmassa's

1. Techniek met aspiratie

Naald op de spuit brengen, de massa goed fixeren, naald in de massa brengen, negatieve druk uitoefenen, de naald op en neer bewegen **binnen** de massa waarbij een drietal steekbewegingen/seconde worden uitgevoerd terwijl de naald telkens onder een iets andere hoek wordt gehouden.

Aspiratie beëindigen, dan pas de naald uit het letsel terugtrekken. Vervolgens de cellen aanbrengen op een draagglaasje (zie verder).

Alleszins nooit de naald alleen opsturen, het eventuele celmateriaal hierin is niet meer bruikbaar indien niet meteen uitgestreken.



2. Techniek zonder aspiratie

Dezelfde techniek als boven beschreven, echter zonder een negatieve druk in de spuit te creëren, 8-10 x hetzelfde traject volgen. Soms is het handiger enkel een naald te gebruiken zonder aangekoppelde spuit.

3. Afdrukpreparaten huidlaesies

Glaasje tegen wonde drukken, wonde reinigen (NaCl 0,9 %), een tweede afdrukje maken. Vaak contaminatie door secundaire ontstekingsprocessen.

4. Afdrukpreparaten weefselblokjes

(autopsie, ev. gedeelte van verwijderde lymfeknoop,...):

Recht vlak snijden met scalpel, afdeppen op papier, "stempeltechniek".

5. Swabs (bvb. tussen de tenen, oren, vaginaal):

Droge laesies: wisser bevochtigen met fysiologisch serum.

B. Lymfeknopen

- steeds aanprikken bij (veralgemeende) lymfadenopathie en/of voor controle op metastasen van tumoren distaal van de lymfeknoop
- vermijd (indien mogelijk) aspiratie van submandibulaire lymfeknopen: door drainage van de mond zijn deze vaak reactief, wat een cytologische beoordeling bemoeilijkt

C. Vloeistoffen uit lichaamsholten

- om stolling te voorkomen het **vocht in EDTA** buisjes opsturen
- idealiter:
 - 1 x ongefixeerd
 - een 2 -tal glaasjes zelf uitstrijken
 - (ev. 1 x gefixeerd (cfr supra))
- indien cultuur gewenst is, dit staal apart markeren en opsturen in een wisser met bewaar-medium (e-swab). Vocht in een EDTA-buisje (zoals vereist voor cytologie) kan niet gebruikt worden voor cultuur.
- wissers voor bacteriologisch onderzoek zijn NIET geschikt voor cytologie
- vocht uit cysten of holtes in of rond een tumor is vaak weinig informatief

D. Urine

- urine in EDTA-buisje gekoeld opsturen (+ aanvraagformulier cytologie)
- indien cultuur en/of identificatie van kristallen gewenst is, dit staal apart markeren en opsturen in een steriel recipiënt (urinepotje met rood deksel)

E. Spoelvochten

- ongefixeerde porties koelen en in een EDTA-buisje opsturen!
- indien cultuur gewenst is, dit staal apart markeren en opsturen in een wisser met bewaar-medium (e-swab)

F. Beenmerg

- beenmergaspiraten worden best verstuurd in een EDTA-buisje. Een goed staal bevat beenmergspicules (macroscopisch waarneembaar als “zandkorrels”)
- voeg steeds de uitslag van het bloedonderzoek toe, en/of een bloeditstrijkje. Dit is cruciaal voor een goede beoordeling van het beenmerg
- indien het EDTA-buisje met beenmerg niet binnen de 24u in het laboratorium kan zijn, is het aangeraden zelf reeds enkele uitstrijkjes te maken en mee te geven

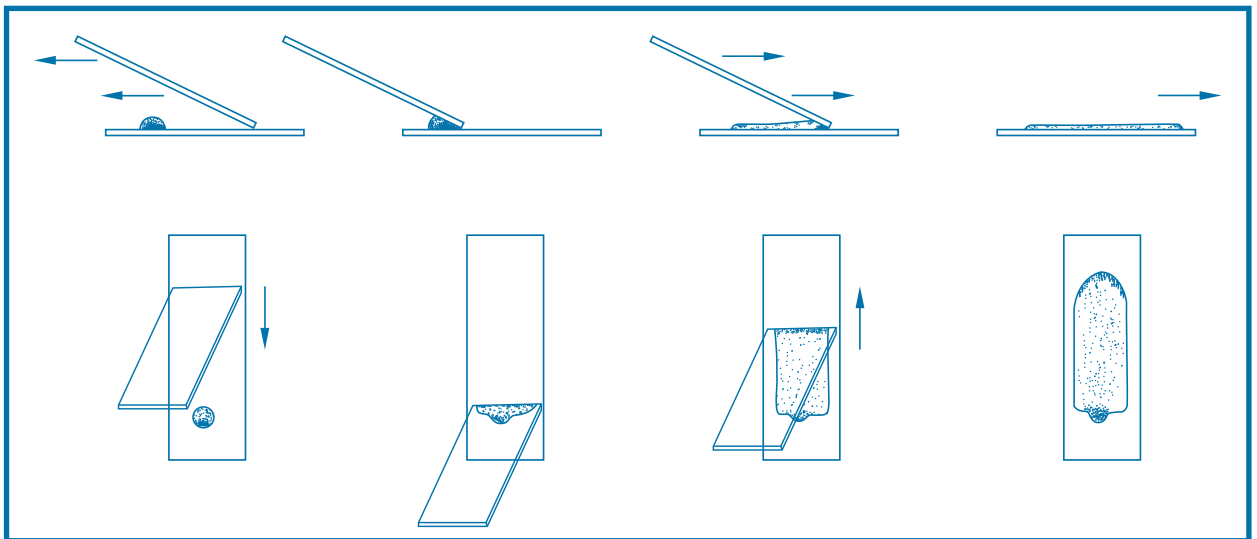
Algemene regel: vochten voor cytologie horen thuis in een EDTA-buisje, zodat de cellen beter bewaard blijven.

3 UITSTRIJKTECHNIKEN

A. Huidmassa's

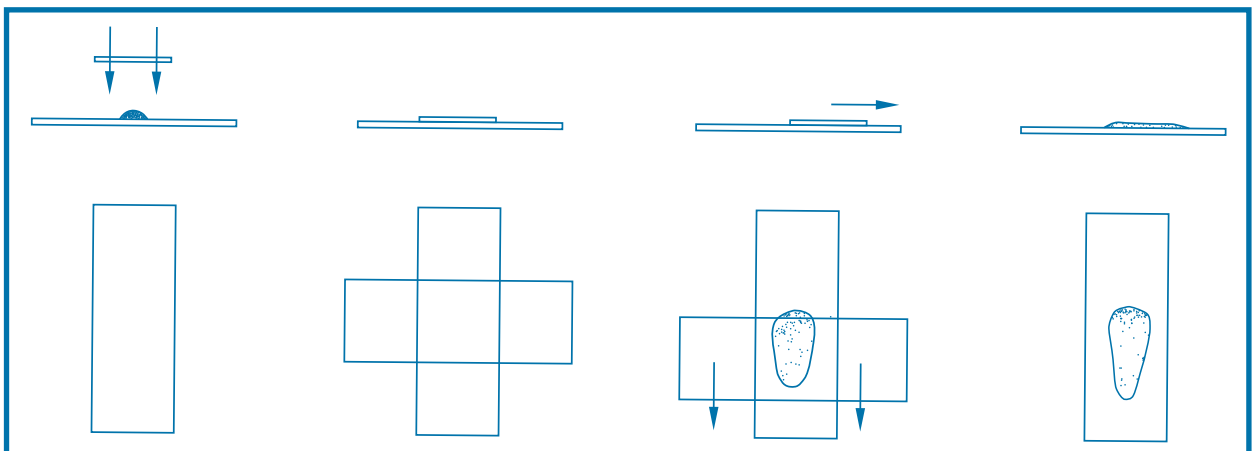
Doel: monolayer, zo weinig mogelijk strijkartefacten (beschadigde cellen), snelle droging (fixatie).

1. Zoals bij een bloeditstrijkje



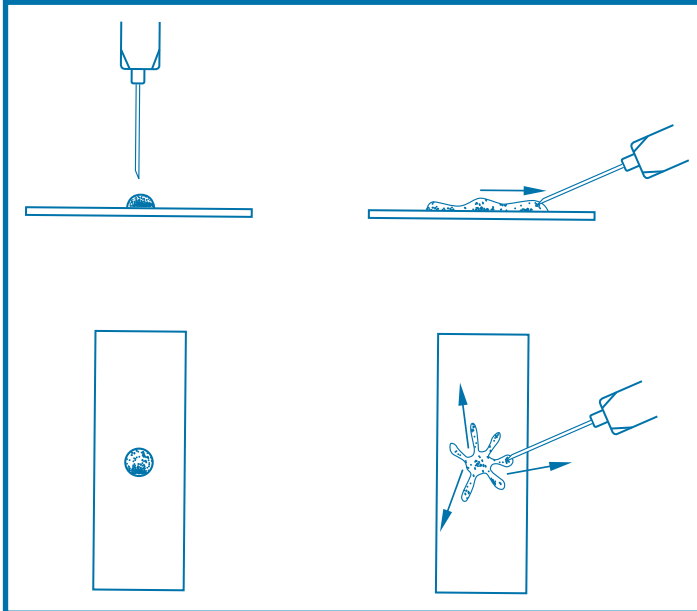
Vermijden om materiaal tot voorbij de rand van het objectglasje te strijken, vaak bevinden de interessantste cellen zich juist in het gedeelte dat 'over the cliff' gaat.

2. Squashteknik



Enkel het gewicht van het objectglasje gebruiken, uitstrijken indien nodig, geen extra druk zetten.

3. Met de naald streepjes trekken



Vaak een goede techniek bij tere cellen en weinig materiaal.

4. Swabs

Enkele malen zacht op objectglasje afdrukken, rollen, niet wrijven.

5. Combinaties van verschillende technieken.

Na fixatie aan de lucht dient contact met formalinedampen ten allen prijze vermeden te worden, dus deze stalen niet samen met een histopathologisch staal of een met formaline gefixeerd vloeibaar staal in één zakje vervoeren!

4

BEHANDELING VAN AFGENOMEN STALEN/FIXATIEMETHODEN

- Uitstrijkjes:

Het is zeer belangrijk om na staalname het materiaal **zo snel mogelijk** op een objectglaasje aan te brengen en uit te strijken tot een dunne laag (monolayer) en het staal zo snel mogelijk te drogen aan de lucht (eventueel haardroger gebruiken).

Dit laatste is erg belangrijk om de morfologie van de cellen goed te bewaren en een goede cytologische beoordeling mogelijk te maken.

- Vloeistoffen > STEEDS in EDTA, liefst gekoeld opsturen:
 - **ongefixeerd (NF):**
 - in edta: gewrichtsvocht, abdominale en thoracale effusies, bloederige vochten,... (koelen!)
 - **gefixeerd (F):**
 - 2-tal uitstrijkjes luchtgefixeerd (+/- celrijke vochten)
 - Indien het staal niet binnen de 48u in een EDTA-buisje op het laboratorium zal aankomen kan men dit 1/1 verdunnen met 50% ethanol (voorkeur) of methanol (als noodoplossing).

In het belang van een snelle staalverwerking (= kwaliteit!) is het bijzonder interessant om voor cultuur een aparte ongefixeerde portie (of wisser met bewaarmedium) op te sturen!

- Huidstalen:
 - olie-achtige, wasachtige of droge letsels voor detectie microorganismen:
 - Fixatie in de vlam: 3-4 x +/- 1 sec boven de vlam houden.

De stalen markeren als niet gefixeerd (NF) of gefixeerd (F), cultuur!

Dit is van belang daar er andere kleurtechnieken worden toegepast op gefixeerde dan op niet gefixeerde stalen.

Het kan nuttig en soms zelfs werkbesparend zijn om als anamnese of bij wijze van aanvulling hiervan relevante consultatiefiches, protocols van andere aanvullende onderzoeken en/of foto's (ev. per e-mail) bij het aanvraagformulier te voegen.

Gebruik steeds een aanvraagformulier voor cytologie (gepersonaliseerde formulieren, na aanvraag, te verkrijgen bij ons laboratorium).

5. MOGELIJKE OORZAKEN VAN NIET-DIAGNOSTISCHE STALEN

- er werd naast het letsel geprikt/de naald heeft het letsel niet geraakt
- een niet-representatief deel van het letsel werd aangeprikt (bvb ontsteking, necrose,...)
- het letsel exfolieert niet of slecht (cellen komen moeilijk los uit het letsel)
- het uitstrijkje is te dik
- het uitstrijkje bevat teveel bloed (gebruik eventueel een smallere naald)
- de cellen zijn slecht bewaard (stuur vochten steeds op in een EDTA-buisje)
- de cellen werden beschadigd bij het uitstrijken (te krachtig uitgestreken, waardoor de cellen kapot gewreven werden)
- de cytologie-glaasjes werden samen met een formolpotje in hetzelfde plastic zakje opgestuurd (formoldampen tasten de cellen aan)

INTERESSANTE LITERATUUR

Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat
Cowell, Tyler, Meinkoth, isbn 978-0-323-03422-7

Canine and Feline Cytology, a Color Atlas and Interpretation Guide
Raskin, Meyer, isbn 978-1-4160-4985-2

Diagnostic Cytology and Hematology of the horse
Cowell, Tyler, isbn 0323013171

