

Citología General ThinPrep®

Preparación de Muestras No Ginecológicas

Beneficios de la Tecnología ThinPrep

El uso de Citología General ThinPrep[®]
para muestras No-ginecológicas:

- Optimiza la preservación celular.
- Estandariza la preparación de las muestras
- Simplifica el screening
- Ofrece la versatilidad para desarrollar técnicas adicionales.



Materialles



Lista de Materiales Necesarios

- Procesador ThinPrep[®] 2000
- Portaobjetos ThinPrep[®] Microscope
- Filtros No-Gine (Azul)
- Vórtex Multi-Mix[™] Racked
- Soluciones CytoLyt[®] and PreservCyt[®]



Lista de Materiales Necesarios

- Centrífuga capacidad tubos 50 ml
- Tubos de centrífuga de 50 ml
- Sistema de tinción y reactivos
- Pipetas de plástico graduadas de 1 ml
- Fijador estándar de laboratorio
- Cubreobjetos y medio de montaje.
- Ácido acético glacial, DTT y solución salina para la resolución de problemas.



Soluciones



Medios Recomendados de Recogida

- CytoLyt[®]
- Plasma-Lyte[®]
- Polysol[®]
- Soluciones electrolíticas equilibradas.

Medios de Recogida No Recomendados

- Mucollexx[®]
- Alcohol
- Líquidos que contengan carbowax
- Saccomanno

Medios de Recogida No Recomendados

- Salino Normal
- Medios de Cultivo
- RPMI
- PBS
- Soluciones que contengan formalina

Soluciones de Hologic

- CytoLyt
- PreservCyt



Soluciones de Hologic

Solución CytoLyt

- Solución conservante tamponada con base de Metanol.
 - lisa los hematíes
 - previene la precipitación de proteínas
 - disuelve el moco
 - conserva la morfología de las células
 - citología general 8 días a temperatura ambiente.

Soluciones de Hologic

Solución CytoLyt

- Como medio de transporte
- Se utiliza en la preparación de la muestra previamente al procesamiento con el ThinPrep2000



Soluciones de Hologic

Solución PreservCyt

- Solución tamponada con base de Metanol, diseñada para mantener las células durante el transporte y la preparación del portaobjetos en el Procesador ThinPrep 2000
- Las muestras deben ser transportadas y almacenadas en Solución PreservCyt previamente al procesamiento



Soluciones de Hologic

Solución PreservCyt

- La solución PreservCyt no puede ser sustituida por ningún otro reactivo.
- Las células en la Solución PreservCyt se conservan unas 3 semanas a temperatura de entre 4-37°C



Recogida y Preparación de la Muestra



Recogida

Punción-Aspiración con Aguja Fina

Depositar y disolver toda la muestra en un tubo de centrifuga que contenga 30 ml de Solución CytoLyt o en una solución electrolítica equilibrada, como Polysol o Plasma-Lyte

Recogida

Muestras Mucosas

- Recoger directamente en 30 ml de Solución CytoLyt
- Si se recoge en fresco , añadir 30 ml de Solución CytoLyt tan pronto como sea posible

Recogida

Muestras Mucosas

- Esputo: Recoger directamente en CytoLyt
- Aspirados/Lavados: Recoger directamente con una solución electrolítica equilibrada.)
- Cepillados: Depositar el cepillo de recogida directamente en un tubo relleno previamente con CytoLyt

Recogida

Líquidos

- Concentrar la muestra en fresco por centrifugación antes de añadir CytoLyt
 - Si no es posible. Recoger las muestras directamente en CytoLyt
 - La relación mínima de CytoLyt y muestra debe ser de 1:3

Recogida

Muestras Superficiales

- Cepillados y raspados superficiales son las únicas muestras no-ginecológicas recogidas directamente en PreservCyt

Preparación

Punción-Aspiración con Aguja Fina

1. Concentrar por centrifugación
2. Tirar el sobrenadante y resuspender el pellet.
3. Evaluar el pellet celular
4. Añadir la muestra al vial de PreservCyt
5. Dejar 15 minutos
6. Poner en el Procesador ThinPrep utilizando la Secuencia 2
7. Fijar, Teñir, y Evaluar



Preparación

Muestras Mucosas

1. Agitación Mecánica
2. Concentrar por centrifugación
3. Desechar el sobrenadante y resuspender el pellet.
4. Evaluar el pellet
5. Añadir la muestra al Vial de PreservCyt
6. Dejar reposar 15 minutos
7. Poner en el Procesador ThinPrep usando la secuencia 3
8. Fijar, Teñir, y Evaluar



Preparación

Líquidos

1. Concentrar por Centrifugación
2. Lavar con CytoLyt
3. Desechar el sobrenadante y resuspender el pellet.
4. Evaluar el pellet
5. Añadir la muestra al Vial de PreservCyt
6. Dejar reposar 15 minutos
7. Poner en el Procesador ThinPrep usando Secuencia 2
8. Fijar, Teñir, y Evaluar



Técnicas de Procesamiento de Muestras



Centrifugación

600g x 10 minutos

- Concentrar el material celular para separar los componentes celulares del sobrenadante.
- Consultar el Capítulo referente a la Velocidad de Centrifugación en la pag 1.14 del Manual del operador del ThinPrep 2000, en la sección de No-Ginecología para determinar la velocidad correcta de la centrífuga para obtener una fuerza de 600g.



Agitación Mecánica

Muestras Mucosas

- Método A
 - Agitar el vórtex la muestra con CytoLyt 10 minutos en un vórtex automático.
- Método B
 - Mezclar la muestra con CytoLyt unos segundos.

Desechar el sobrenadante

- El propósito de este paso es concentrar la muestra.
- Invertir el tubo de centrifuga 180° en *un solo movimiento suave*, desechar todo el sobrenadante y retornar el tubo a su posición original.

Resuspender el Pellet con el Vórtex

- El propósito de este paso es aleatorizar el pellet celular y mejorar los resultados del lavado con Cytolyt.
- Colocar el tubo de centrifuga en un vórtex y agitar el pellet 3 segundos u homogeneizar manualmente inyectando con una pipeta de plástico hacia atrás y adelante.

Lavado con Cytolyt

- El propósito de este paso es conservar la morfología celular a la vez que se lisan hematíes, se disuelve el moco y se reduce la precipitación de proteína.
- Añadir 30 ml de CytoLyt al pellet, concentrar por centrifugación, desechar el sobrenadante y agitar con el vórtex para resuspender el pellet.

Evaluar el Pellet

- Si el pellet es blanco, rosa pálido, tostado o no visible.
 - Añadir la muestra al Vial de PreservCyt

Evaluar el Pellet

- Si el pellet es marcadamente rojo o marrón indicando la presencia de sangre.
 - Hacer un Lavado con CytoLyt
 1. Añadir 30ml de CytoLyt
 2. Concentrar por Centrifugación
 3. Desechar el Sobrenadante
 4. Agitar para Resuspender el Pellet

Evaluar el Pellet

- Para probar que está en forma líquida, coger una pequeña cantidad de muestra con una pipeta y dejar caer unas gotas en el tubo.
 - Si las gotas aparecen fibrosas o gelatinosas, el moco se debe licuar más.

Evaluar el Pellet

Lavado con CytoLyt

1. Agitación Mecánica
2. Concentrar por Centrifugación
3. Desechar el Sobrenadante
4. Agitar con el Vórtex para Resuspender el Pellet.

Añadir la muestra al vial de PreservCyt

- Si el pellet es claramente visible y el volumen es $< 1\text{ml}$
 - Agitar el pellet con el Vórtex y tirar dos gotas a un vial nuevo de PreservCyt

Añadir la muestra al vial de PreservCyt

- Si el volumen del pellet es $> 1\text{ml}$
 - Añadir 1ml de CytoLyt al tubo y agitar con el vórtex brevemente para resuspender el pellet.
 - Tirar 1 gota de la muestra a un vial nuevo de vial PreservCyt

Añadir la muestra al vial de PreservCyt

- Si el pellet no es visible o escaso
 - Añadir el contenido de un vial nuevo de PreservCyt al tubo y agitar brevemente para mezclar.
 - Tirar toda la muestra dentro del vial vacío de PreservCyt.

Solución de Problemas



Muestras Mucosas

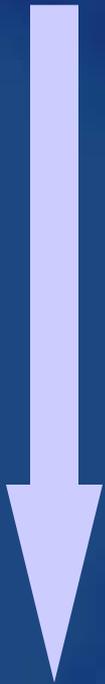
mensaje

“Sample is Dilute”



Sí

Comprobar si la
celularidad es adecuada.
Si no, utilizar más pellet
si lo hay.



No



Muestras Mucosas

Tiene el porta un
“halo” de material
celular y/o
polimorfonucleares?

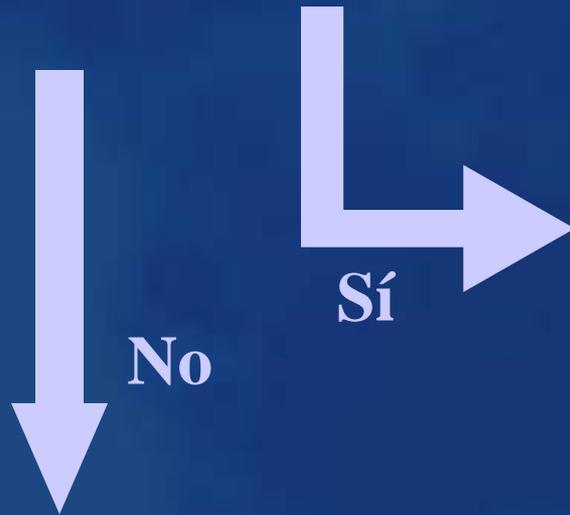


Diluir, añadir a un
vial de PreservCyt. *Si
el halo está presente
en el nuevo porta ,
contactar con el
Servicio Técnico de
Hologic.*



Muestras Mucosas

El porta es escaso
y contiene moco?



Centrifugar, decantar y agitar con el vórtex. Lavar con Solución CytoLyt . *Si el porta resultante es escaso, contactar con el Servicio Técnico de Hologic.*



*Contactar con el
Servicio Técnico de Hologic*

Muestras con sangre o proteínáceas

mensaje
“Sample is Dilute”



Comprobar si la
celularidad es
adecuada. Si no,
utilizar más pellet si
lo hay.



Muestras con sangre o proteínáceas

Tiene el porta un
“halo” de material
celular y/o
polimorfonucleares?



Diluir, añadir a un
vial de PreservCyt. *Si
el halo está presente
en el nuevo porta ,
contactar con el
Servicio Técnico de
Hologic.*



Muestras con sangre o proteínáceas

El porta es escaso y
contiene sangre,
proteínas o restos no
celulares?

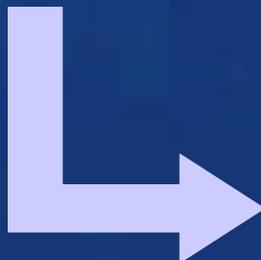


No



*Contactar con el Servicio
Técnico de Hologic*

Sí



Centrifugar, decantar y
agitar con el vórtex. *Si el
porta resultante es
escaso, contactar con el
Servicio Técnico de
Hologic.*

Artefactos Comunes

Detalle Nuclear Borroso

Puede ser causado por el uso de PBS, salino o RPMI como líquidos de recogida.

Recoger la muestra en fresco, en CytoLyt o en solución de electrolitos equilibrada.

Artefactos Comunes

Efecto de halo

En muestras muy densas, sólo el borde externo del material celular se transfiere al porta

Si el porta no es satisfactorio, se puede realizar una segunda preparación utilizando los mismos procedimientos de solución de problemas comentados anteriormente

Artefactos Comunes

Artefacto de Tinción

La preparación muestra una tinción central roja o naranja, principalmente en los grupos celulares, que imita el secado al aire.

Utilizar baños de alcohol nuevos o un baño adicional después de la tinción citoplasmática.

Para más información ...

- Consulte su Manual del Operador
ThinPrep 2000



Para más información ...

- Visite nuestras webs www.hologic.com o www.thinprep.com
 - Catálogos de Producto
 - Información de Contacto
 - Bibliografías completas Ginecología y no Ginecología
 - Presentación de casos de Citología

