

How to perform correctly the fine-needle biopsy

Sapierzyński R., Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences – SGGW

The aim of this paper was to give practitioners a guideline for the proper performance of fine-needle biopsy. Cytology is the microscopic examination of cells for investigation of clinical disorders. Cytopathology includes the procedures used to obtain and stain cells for microscopic examination, description of the cells and thus establishing final diagnosis. Fine-needle cytology (FNC) is a safe, cheap and rapid diagnostic procedure that can be made in every veterinary practice and does not demand specialist knowledge. There are two major methods of fine-needle biopsy: with aspiration and without aspiration. In fine-needle biopsy specimen is obtained by puncture of lesions that are visible, palpable or can be delineated using imaging techniques. Biopsy samples must contain adequate, representative and well-preserved cells. The equipment, detailed technique of fine-needle biopsy and sample preparation for cytopathological examination are described herein.

Keywords: fine-needle biopsy, cytology, diagnosis.

Co to jest biopsja cienkoigłowa?

Celem działania lekarza jest precyzyjne rozpoznanie choroby u pacjenta, który został doprowadzony do lecznicy, a następnie wdrożenie optymalnego postępowania terapeutycznego doprowadzającego do wyleczenia zwierzęcia bądź poprawy jego stanu zdrowia, który będzie do zaakceptowania

Jak poprawnie wykonać biopsję cienkoigłową

Rafał Sapierzyński

z Zakładu Patomorfologii Katedry Nauk Klinicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie

przez właściciela pacjenta. W obecnych czasach lekarze weterynarii zajmujący się leczeniem małych zwierząt mają dostęp do wielu mniej lub bardziej inwazyjnych metod diagnostycznych zbliżających do ostatecznego rozpoznania. Jedną z metod, która w wielu przypadkach umożliwia postawienie ostatecznego rozpoznania, zawężenie kręgu różnicowo-diagnostycznego lub wybrania dodatkowych metod diagnostycznych, jest biopsja cienkoigłowa (BC). Jest to tania, szybka i łatwa metoda, która w mało inwazyjny sposób (użycie cienkiej igły iniekcyjnej, której średnica jest mniejsza lub równa 1 mm) dostarcza materiału komórkowego ze zmienionych chorobowo tkanek i narządów do mikroskopowego badania cytopatologicznego (1, 2, 3). Zmiana, która może wymagać biopsji cienkoigłowej, może być widoczna bezpośrednio, wyczuwalna w trakcie omacywania pacjenta, a także uwidoczniona w trakcie badań obrazowych (badania rentgenowskie i ultrasonograficzne, tomografia komputerowa). Biopsja dostarcza informacji odnośnie do rodzaju i liczebności komórek w obrębie badanej zmiany, obecności komórek nacieku zapalnego, czynników zakaźnych (bakterii, grzybów, pasożytów),

przez co z mniejszym lub większym prawdopodobieństwem umożliwia określenie natury toczącego się procesu patologicznego. Biopsja cienkoigłowa umożliwia pozyskanie materiału z głębszych partii badanej zmiany i daje w ten sposób możliwość uniknięcia zanieczyszczenia komórkami i drobnoustrojami obecnymi na powierzchni zmiany, co ma miejsce podczas pobierania materiału drogą wymazu, odcisku czy zeszkrobiny (2).

Technika wykonania biopsji cienkoigłowej

Biopsję cienkoigłową można wykonać w każdym zakładzie leczniczym, a także w domu właściciela zwierzęcia. Oczywiście, jeśli istnieje taka możliwość, pacjent może zostać wysłany do ośrodka specjalistycznego celem pobrania materiału, jak i jego oceny mikroskopowej. Jednakże biopsja cienkoigłowa może być wykonana przez lekarza prowadzącego, który przesyła we właściwy sposób pobrany i zabezpieczony materiał do specjalisty cytopatologa (3). Biopsja jest zabiegiem, który wymaga przestrzegania zasad antyseptyki. W przypadku gdy część materiału ma

być przesłana do badania mikrobiologicznego miejsce wprowadzenia igły powinno zostać przygotowane jak do zabiegu chirurgicznego. Jeżeli biopsji poddane mają być zmiany zlokalizowane na powierzchni (skóra, błona śluzowa jamy ustnej), to wystarczy przygotowanie miejsca wkłucia igły, jak do zwykłej iniekcji podskórnej lub dożylniej (ryc. 1; 2, 3). Ewentualne zastosowanie środków trankwilizujących zależy od temperamentu zwierzęcia oraz lokalizacji zmiany i powinno być rozważone dla każdego pacjenta indywidualnie. W większości przypadków farmakologiczne uspokojenie nie jest konieczne. Podobnie rzadko istnieją wskazania do stosowania środków miejscowo znieczulających, a procedura wykonywania nasiękowego znieczulenia miejscowego może być w takim samym, a nawet większym stopniu niekomfortowa dla pacjenta jak biopsja cienkoigłowa.

Sprzęt niezbędny do prawidłowego i wygodnego dla pacjenta oraz lekarza wykonania biopsji obejmuje: jałowe, fabrycznie nowe igły iniekcyjne o średnicy 0,6 mm (0,5–0,9 mm), fabrycznie nowe strzykawki o pojemności 10 ml (2–20 ml), sterylne rękawiczki, czyste fabrycznie szkiełka podstawowe (najlepiej ze szlifowanym końcem, który umożliwia opisanie preparatu), wacik ze środkiem odkażającym. Im zmiana jest mniejsza i ma mniej spistą strukturę, tym użyte igły i strzykawki powinny mieć mniejszy rozmiar. Użycie zbyt grubej igły sprawia, że aspirowane są skupiska komórek lub dochodzi do zanieczyszczenia próbki krwią, co utrudnia ich ocenę cytologiczną (igły o rozmiarach większych powyżej 0,7 mm są bardziej odpowiednie do oceny tłuszczaków). Zastosowanie specjalnego uchwytu do strzykawek nie jest konieczne, jednakże sprzęt ten zdecydowanie poprawia komfort wykonywania zabiegu i daje możliwość lepszego przytrzymania nakłuwanej zmiany za pomocą wolnej dłoni. Większość barwień cytologicznych opiera się na zastosowaniu barwnika Giemsy, dlatego też nie ma konieczności używania żadnych utrwalczy, a wystarczy dokładne wysuszenie preparatu (czynnikiem utrwalającym jest w takich przypadkach suszenie).

Istnieją zasadniczo dwa rodzaje biopsji cienkoigłowej:

- 1) biopsja z aspiracją – biopsja aspiracyjna cienkoigłowa (BAC);
- 2) biopsja cienkoigłowa bez aspiracji (nieaspiracyjna biopsja cienkoigłowa – NBC).

Biopsja aspiracyjna cienkoigłowa wykonywana jest poprzez wprowadzenie do masy guza igły wraz z podłączoną do niej strzykawką, celem uzyskania podciśnienia, dzięki któremu materiał tkankowy zostanie zaaspirowany do igły. W przypadku bardziej spistych zmian wskazane jest



Ryc. 1. Miejsce wprowadzenia igły biopsyjnej powinno być przygotowane w zależności od lokalizacji i charakteru badanej zmiany. W tym przypadku biopsji poddano węzeł chłonny podkołanowy u psa z podejrzeniem chłoniaka



Ryc. 2. Pobieranie materiału metodą biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej – krok 1. Wolną dłonią stabilizuje się nakłuwaną zmianę i wprowadza do niej igłę z podłączoną strzykawką



Ryc. 3. Pobieranie materiału metodą biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej – krok 2. Po wprowadzeniu igły do masy guza cofa się tłoczek strzykawki celem wytworzenia ujemnego ciśnienia w cylindrze strzykawki (tłoczek strzykawki powinien być cofnięty na około 3/4 długości cylindra). Podczas utrzymywania ujemnego ciśnienia w cylindrze strzykawki kilkakrotnie zmienia się ułożenie igły w masie guza poprzez delikatne wycofywanie igły i wprowadzanie jej pod innym kątem (igła stale musi pozostawać w obrębie zmiany). Jeżeli igła zostanie wyciągnięta z masy guza, w czasie gdy w strzykawce panuje podciśnienie, materiał zostanie zaaspirowany do cylindra strzykawki i może być nie do odzyskania



Ryc. 4. Pobieranie materiału metodą biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej – krok 3. Kiedy u nasady igły pojawi się zaaspirowany materiał lub krew, tłoczek strzykawki należy puścić, igłę wyjmuje się z nakuwanej zmiany i zdejmuje ze strzykawki



Ryc. 5. Biopsja cienkoigłowa bez aspiracji. Wolną dłoń stabilizuje się nakuwaną zmianę i wprowadza do niej igłę, a następnie kilkakrotnie zmienia ułożenie igły w masie guza poprzez delikatne wycofywanie igły i wprowadzanie jej pod innym kątem (igła stale musi pozostawać w obrębie zmiany)



Ryc. 6. Technika bez aspiracji jest też polecana przy pobieraniu materiału ze zmian o niewielkich rozmiarach



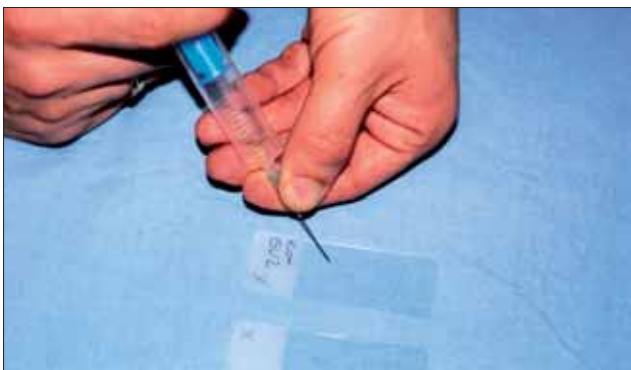
Ryc. 7. Wykonywanie rozmazu – krok 1. Wykonanie rozmazu jest takie samo w przypadku obu typów biopsji cienkoigłowej, badaniu poddany zostaje jedynie materiał zaaspirowany do igły – igła zawierająca zaaspirowany materiał przed podłączeniem do strzykawki.



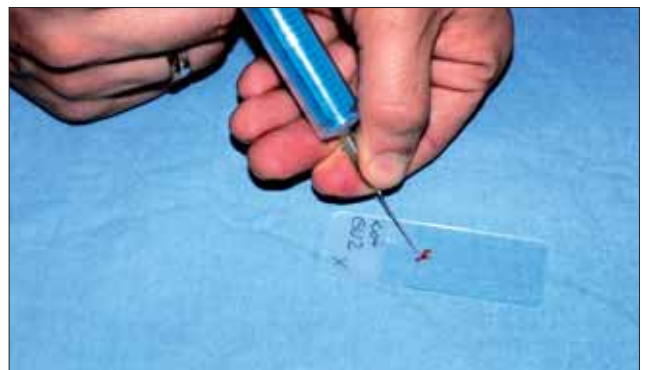
Ryc. 8. Wykonywanie rozmazu – krok 2. Przed podłączeniem strzykawki do igły należy cofnąć tłoczek strzykawki



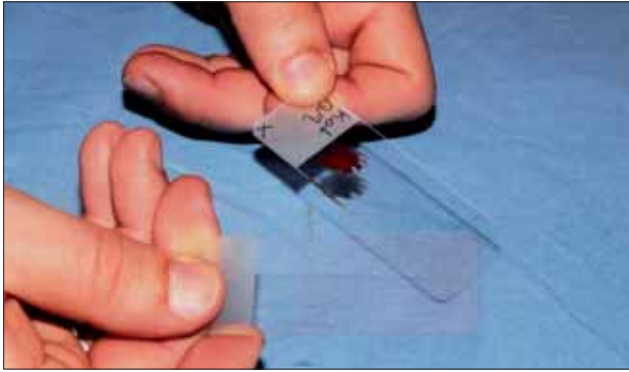
Ryc. 9. Wykonywanie rozmazu – krok 3. Igłę z zaaspirowanym materiałem podłącza się do strzykawki



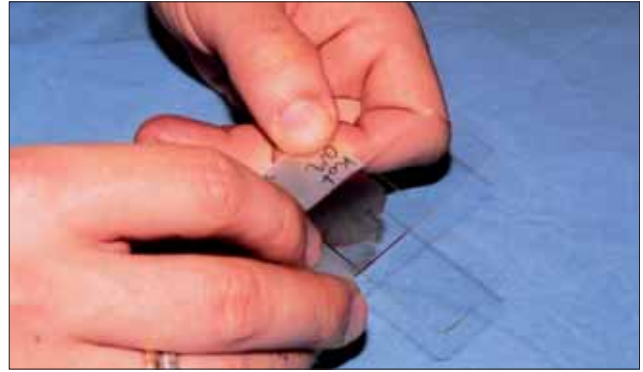
Ryc. 10. Wykonywanie rozmazu – krok 4. Koniec igły zbliża się do szkiełka podstawowego



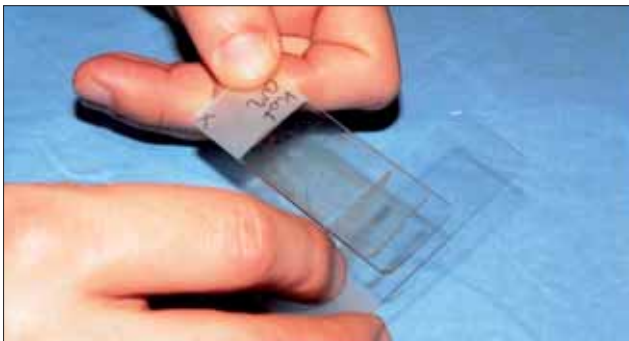
Ryc. 11. Wykonywanie rozmazu – krok 5. Przez dociśnięcie tłoczka strzykawki zaaspirowany materiał przenosi się z kanału igły na szkiełko podstawowe



Ryc. 12. Wykonywanie rozmazu – krok 6. Do wykonania rozmazu używa się drugiego szkiełka podstawowego



Ryc. 13. Wykonywanie rozmazu – krok 7. Do szkiełka podstawowego z naniesionym materiałem przykładają się delikatnie od góry drugie szkiełko podstawowe i pozwala, żeby zaaspirowany materiał rozproszyc się cienką warstwą pomiędzy szkiełkami



Ryc. 14. Wykonywanie rozmazu – krok 8. Wstępnie rozproszony materiał rozmazuje się poprzez płynne i delikatne przesunięcie górnego szkiełka podstawowego, tworząc jedną warstwę zaaspirowanych komórek



Ryc. 15. Wykonywanie rozmazu – krok 9. Rozmaz, po całkowitym wyschnięciu i dokładnym oznaczeniu, poddaje się barwieniu lub przesyła do laboratorium histopatologicznego

zastosowanie większych strzykawek, które dają możliwość uzyskania większego podciśnienia i większej siły ssącej. Kolejne etapy wykonania biopsji aspiracyjnej przedstawiają **ryciny: 2, 3 i 4.**

Biopsję bez aspiracji wykonuje się w sytuacji, gdy spistość zmiany nie jest duża i zastosowanie aspiracji sprawia, że do igły dostaje się duża ilość materiału, z którego trudno uzyskać dobrej jakości rozmaz lub też nawet przy małym podciśnieniu do strzykawki dostaje się krew (krew rozcieńcza materiał ze zmiany i może utrudniać interpretację wyników). Ten rodzaj biopsji cienkoigłowej jest szczególnie polecany w przypadku pobierania materiału z węzłów chłonnych oraz zmian o niewielkich rozmiarach (**ryc. 5, 6**). Użycie samej igły bez podłączonej strzykawki daje możliwość precyzyjniejszej manipulacji i pozyskanie materiału z niewielkich guzków.

Istnieje wiele czynników, które wpływają na ilość i jakość pobranego materiału w czasie biopsji, a co za tym idzie wykonanego preparatu i uzyskanego wyniku. Miejsce i liczba powtórzonych wkłuć igłą, zastosowane podciśnienie (wielkość zastosowanej strzykawki oraz wytworzone podciśnienie, które zależy od odległości, na jaką wyciągnięto tłoczek strzykawki) ma znaczenie kluczowe dla ilości pozyskanego materiału. W przypadku gdy w cylindrze strzykawki pojawia się krew, to

przy następnym wkłuciu należy zastosować mniejsze podciśnienie lub wykonać biopsję bez aspiracji. W przypadku wykonywania biopsji ze zmian objętych martwicą lub tworów torbielowych wskazane jest pobieranie materiału z obwodowych jej części, zmniejsza to bowiem szansę na pozyskanie materiału niediagnostycznego. Delikatne zmiany kierunku prowadzenia igły biopsyjnej, gdy jest ona wprowadzona dość płytko w masę guza, umożliwiła pozyskanie większej ilości materiału cytologicznego. Z kolei gwałtowne manipulowanie igłą, która jest wprowadzona głęboko do wnętrza zmiany prowadzi do uszkodzenia tkanek, co prowadzi do krwawienia zamazującego obraz cytopatologiczny. W czasie całej procedury pobierania materiału podciśnienie w strzykawce powinno być stałe (nie wskazane jest „pompowanie” tłoczkiem strzykawki).

Technika wykonywania i przesyłanie rozmazów

Rozmaz z materiału pobranego drogą biopsji cienkoigłowej powinien być wykonany możliwie szybko. Cała procedura od wprowadzenia igły do wykonania rozmazu powinna trwać maksymalnie 5–10 s. Jeżeli pozyskany materiał jest rozcieńczony płynem lub krwią, to przed wykonaniem rozmazu ich nadmiar można usunąć

ze szkiełka poprzez delikatne przyłożenie chłonnego materiału do próbki (bibuła, chłonny papier). Do wykonywania rozmazów nie wolno stosować szkiełek już raz używanych (myte szkiełka) ani szkiełek, które przeznaczone, ale nie wykorzystano w poprzedniej biopsji. Kolejne etapy wykonywania rozmazu przedstawiają **ryciny: 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 i 15.**

Prawidłowo wykonane i oznaczone preparaty cytologiczne mogą być podane barwieniu i ocenie w miejscu, w którym biopsję wykonywano lub też odpowiednio opakowane i przesłane do ośrodka specjalistycznego. Istnieją różne opakowania przeznaczone do transportu preparatów cytologicznych (**ryc. 16**). W przypadku braku takich opakowań preparaty można owinąć w zwykły papier (szkiełka z rozmazami nie powinny się ze sobą bezpośrednio kontaktować), włożyć do koperty z folią bąbelkową, tekturowego pudełka i tak zabezpieczone przesać do laboratorium. Preparatów nie należy umieszczać w torebkach foliowych, ani szczelnie zamkniętych opakowaniach, w których może dojść do zawilgocenia materiału i jego zniszczenia. Lekarz przesyłający materiał do oceny cytopatologicznej musi pamiętać, że do uzyskania najbardziej wiarygodnego rozpoznania niezbędne jest dołączenie do preparatów skierowania (pisma przewodniego), w którym poda wyczerpujące dane co do



Ryc. 16. Pojemniki do transportowania i przechowywania preparatów cytologicznych

właściciela zwierzęcia, samego pacjenta, charakteru zmiany, okoliczności jej pojawienia się, wcześniej usuwanych zmian guzowatych i wyników wykonanych badań dodatkowych. Bardzo pomocne będzie też wykonanie zdjęcia badanej zmiany

i przesłanie go drogą internetową lub dołączonego jako kolorowego wydruku razem z pismem przewodnim. Z każdej zmiany powinno się wykonać co najmniej 4–6 dobrej jakości rozmazów, a w przypadku nakłuwania różnych zmian, do każdej z nich należy użyć oddzielnej nowej strzykawki i oddzielnych nowych igieł. Preparatów przesyłanych do badania cytopatologicznego nie wolno przetrzymywać, ani przesyłać w jednym pojemniku z materiałem przeznaczonym do badania histopatologicznego (opary formaliny wydobywające się nawet ze szczelnie zamkniętego pojemnika działają na komórki rozmazu i uniemożliwiają ich właściwe barwienie).

W większości przypadków wyniku badania cytopatologicznego można spodziewać się w ciągu 24 godzin od pobrania materiału, a w sprzyjających warunkach („proste” rozpoznanie, laboratorium w pobliżu ośrodka, w którym materiał pobrano) wynik badania może być uzyskany już po kilkunastu minutach od biopsji. Niekiedy

jednak, w sytuacji gdy patolog otrzyma materiał trudny diagnostycznie, wymagana jest konsultacja lub niezbędne są dodatkowe metody barwienia preparatu, czas, jaki mija od przesłania materiału do uzyskania przydatnego dla lekarza klinicysty wyniku, może się znacznie wydłużyć.

Piśmiennictwo

1. Fournel-Fleury C., Magnol J.P., Guelfi J.F.: General principles of methodology and interpretation in cancer cytology. W: Fournel-Fleury C., Magnol J.P., Guelfi J.F.: *Color Atlas of Cancer Cytology of the Dog and Cat*. Conference Nationale Des Veterinaries Specialises en Petits Animaux, Paris 1994, s. 19-35.
2. Meinkoth J.H., Cowell R.L.: Sample collection and preparation in cytology: increasing diagnostic yield. *Vet. Clin. Small Anim.* 2002, **32**, 1187-1207.
3. Taylor J.A., Baker R.: Cytopathology techniques and interpretation. W: Baker R., Lumsden J.H. (edit.): *Color Atlas of Cytology of the Dog and Cat*. Mosby, St. Louis 2000, s. 7-16.

Dr Rafał Sapierzyński, Katedra Nauk Klinicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej SGGW, ul. Nowoursynowska 159C, 43-976 Warszawa, e-mail: sapie@onet.poczta.pl