



Navodilo za pripravo vzorcev FFPE na stekelcih za genotipizacijo iz tumorskega tkiva

Pri sprejemu in tehnični obdelavi tkiva upoštevajte standarde kakovosti v patologiji (tkivo mora biti fiksirano čim prej, optimalno fiksirano v 10 % nevtralnem formalinu - volumen fiksativa mora biti 5-10x večji od volumna tkiva, tehnična obdelava in vklop tkiva morajo biti optimizirani). Za testiranje patolog določi primeren vzorec tumorja, v katerem naj bi bilo vsaj 70 % tumorskega tkiva (lahko je to vzorec endoskopske biopsije ali vzorec odvzet iz resektata primarnega tumorja ali v primeru, ko to indicira lečeči zdravnik, izjemoma vzorec metastaze tumorja).

Pri pripravi rezin za molekularno biološko preiskavo:

- uporabite vsakič novo rezilo mikrotoma med vzorci;
- očistite vodno kopel med vzorci;
- med rezanjem si nadenite čiste rokavice.

Navodila:

Za izolacijo DNA neposredno iz tumorskega tkiva pripravite vzorce FFPE iz ustreznega bloka, ki ga določi patolog. Narežite rezino za HE preparat (debeline 5 µm) in takoj za njo še 6 zaporednih (debeline 5 µm) neobarvanih rezin, brez vmesnega poglabljanja:

- HE preparat označite s številko biopsije, oznako bloka in oznako globine (npr. XXX/12 Y.1, ker gre za prvi rez). Patolog na HE stekelcu pod mikroskopom izbere **področje z največjo gostoto tumorskih celic** (tumorske celice predstavljajo vsaj 70 % celic v področju) in to področje na hrbtni strani stekelca **oriše z markerjem. Odstotek tumorskih celic v označenem področju vpiše na zahtevek.**
- Neobarvane rezine položite na pripravljena in označena stekelca (ena rezina na eno predmetno steklo) v isti orientaciji kot je HE preparat (neobarvanih rezin **ne pokrivajte** s krovnimi stekelci). Predmetna stekla (ni potrebno uporabiti IHK stekelc) označite s številko biopsije, oznako bloka in oznako globine (npr. XXX/12 Y.2 do 7, kjer 2 pomeni drugo zaporedno rezino, 7 pomeni sedmo zaporedno rezino).

Temperatura vodne kopeli, ki jo uporabljate pri nanašanju rezin na stekelca, naj ne bo več kot 50 °C. Preparate sušite na zraku 5 min, nato še 30 min na 56 °C ali čez noč na 37 °C. Do transporta jih hranite v hladilniku pri temperaturi 2-8 °C.

Transport lahko poteka pri sobni temperaturi. Kadar pošiljate več vzorcev hkrati, prosimo pošljite vsak vzorec v svoji embalaži za transport stekelc.

Opombe: Če je **površina tumorja enaka ali manjša od 2 mm²**, prosimo pripravite 1 HE preparat in 10 neobarvanih rezin oz. maksimalno možno število rezin.

Patolog zagotavlja, da je na osnovi ocenjene globine rezov in podatka o debelini tumorja v bloku na vseh neobarvanih rezinah prisotno tumorsko tkivo.

Pripravljen biopsijski material in izpolnjen »Zahtevek za pripravo vzorcev za genotipizacijo iz biopsijskega materiala« pošljite na naslov:

Onkološki inštitut Ljubljana

Oddelek za molekularno diagnostiko, stavba B

Zaloška 2

1000 Ljubljana