



JÖNKÖPING UNIVERSITY
School of Health and Welfare

Ättiksyrans påverkan på mesotelcellers morfologi vid tvätt av exsudat

HUVUDOMRÅDE: *Biomedicinsk laboratorievetenskap*

FÖRFATTARE: *David Ling*

HANDLEDARE: *Emma Andersson, Anna-Karin From och Renate S. Olsen*

EXAMINATOR: *Sandra Karlsson*

JÖNKÖPING 2019 juni

Sammanfattning

En vanlig orsak till otillfredsställande cytologiska preparat är kontamination av blod. På Cytologilaboratoriet, Länssjukhuset Ryhov tvättas blodiga gynekologiska preparat i Cytolyt® solution och ättiksyra för att reducera kontaminationer. Syftet med studien var att studera den potentiella påverkan tvätt med Cytolyt® solution och ättiksyra har på mesotelcellers morfologi. I studien ingick 60 exsudat av pleuravätska och ascites som analyserades med konventionell cytologisk metod. Utstryk utfördes och analyserades utan tvätt (kontroller) och efter tvätt i olika tider varpå preparaten bedömdes med avseende på mesotelcellers morfologi. Av kontrollerna hade 53% en välbevarad cytoplasma men endast 5.8% av de tvättade proverna. Cirka 87% av kontrollerna och 46% av de tvättade proverna hade en välbevarad och distinkt cellkärna. Morfologiska förändringar hos mesotelceller kunde påvisas efter tvätt i Cytolyt® solution och ättiksyra men förändringarna kunde inte kopplas till eller misstolkas som patologiska förändringar.

Nyckelord: Pleuravätska, ascites, konventionell cytologi, ättiksyra, cytologi

Summary

The effect of wash with acetic acid on the morphology of mesothelial cells in exudates

A common reason for unsatisfactory cytological smears is contamination of blood. Blood contaminated gynaecological samples are washed with Cytolyt[®] solution and acetic acid at the Cytological Laboratory, County Hospital Ryhov to reduce contaminations. The objective of this study was to determine the potential effect of Cytolyt[®] solution and acetic acid on the morphology of mesothelial cells. In this study 60 samples of pleural effusions and ascites was analysed with conventional cytological method. Cytological smears were prepared without wash (controls) and with wash for different durations. The morphology of mesothelial cells in the samples were then examined. Out of the controls 53% had a well-preserved cytoplasm while this distribution decreased to 5.8% amongst the washed smears. About 87% of the controls and 46% of the washed smears had a preserved and distinct nucleus. Changes in morphology could be seen in mesothelial cells after wash with Cytolyt[®] solution and acetic acid. However, the changes could not be associated with disease. Washing exudates with Cytolyt[®] solution and acetic acid can alter morphological changes in mesothelial cells although the changes seen cannot be mistaken for pathological changes.

Keywords: Pleural effusion, ascites, conventional cytology, acetic acid, cytology

Innehållsförteckning

Inledning	1
Bakgrund	1
Cytologi	1
Exsudat och mesotelceller	1
Prepareringsmetod och färgning	2
Konventionell cytologi	2
Papanicolaoufärgning	2
Ättiksyra och dess inverkan på cellmorfologi	2
Syfte	3
Material och metod	4
Provmaterial	4
Provhantering	4
Kontroller utan tvätt.....	4
Prover med tvätt	4
Färgning och montering	4
Bedömning och bedömningskriterier	4
Etiska överväganden	6
Resultat	7
Diskussion	9
Slutsatser	11
Omnämmanden	12
Referenser	13

Inledning

Cytologiska preparat som inte går att bedöma benämns otillfredsställande. En av de vanligaste anledningarna till otillfredsställande cytologiska preparat är förekomst av blod i preparatet som döljer cellerna och försvårar den patologiska bedömningen (1). Ättiksyra har en hemolyserande effekt och cytologiska preparat kan därför behandlas med ättiksyra för att minska förekomsten av blod i preparatet (1–4). Påvisande av olika celltyper samt bedömning av dessa cellers morfologi är en vital del i den cytologiska diagnostiken. Därför är det av stor vikt att kontaminationer avlägsnas från preparatet men att denna behandling inte påverkar cellernas morfologi (2, 5–7). På Cytologilaboratoriet, Länssjukhuset Ryhov tvättas idag blodiga gynekologiska prover med Cytolyt® solution (Hologic Inc., Marlborough, Massachusetts, USA) och ättiksyra. Cytologilaboratoriet önskar att undersöka om cellers morfologi påverkas av denna tvätt.

Bakgrund

Cytologi

Cytologi betyder läran om cellen och innebär diagnostik av celler. Med cytologiska analyser kan exempelvis inflammation och malignitet påvisas (2). Cytologi är en viktig del inom patologin där sjukliga förändringar som till exempel cancer kan upptäckas genom att visuellt bedöma cellers morfologi. Jämfört med histologi har cytologi fördelar, till exempel är cytologisk provtagning billigare för sjukvården och mindre riskfylld än kirurgiska ingrepp. Två vanliga provtagningstekniker inom cytologi är aspirationscytologi, där celler från vävnaden som skall undersökas aspireras med en nål, och exfoliativ cytologi, där celler som skrapats bort eller lossnat naturligt från sin naturliga lokalisering undersöks (2, 9). Urin, cystvätskor och exsudat är exempel på kroppsvätskor som kan innehålla exfoliativa celler (2).

Exsudat och mesotelceller

I kroppen finns hålrum mellan organ och omkringliggande vävnader, exempelvis lungsäck och bukhåla. Hålrummen avgränsas av ett skivepitel som kallas mesotel som är semipermeabelt och tillåter diffusion av små mängder vätska och molekyler. Hålrummen innehåller normalt en liten mängd vätska som minskar friktion och underlättar organens rörelse (2, 9). Vid olika patologiska tillstånd ökar kapillärers permeabilitet vilket kan leda till att mängden vätska i dessa hålrum liksom cell- och proteininnehållet ökar. Dessa patologiskt bildade vätskeansamlingar benämns exsudat, i lungsäck och bukhåla benämns de pleuravätska respektive ascites (2, 5, 9). Mesotelceller, makrofager och lymfocyter påträffas ofta i exsudat. Mesotelcellerna, som är de enda specifika cellerna för hålrummen, är runda till formen och har en rund kärna (Figur 1). Mesotelceller kan finnas i kluster eller som enskilda celler (9). Analys av exsudat kan vara viktigt vid cancerdiagnostik eftersom maligna celler har lägre adhesivitet än friska och därför ofta lossnar från sin naturliga lokalisering. Tumörceller kan både bevisa förekomst av cancer och ge information om cancerens ursprungsvävnad. Majoriteten av de maligna celler som påvisas i exsudat kommer från metastaser från omkringliggande vävnader, till exempel har de maligniteter som påträffas i pleuravätska ofta lungorna som ursprung. Mesoteliom från hålrummens hinnor är den enda primära cancerformen som kan påvisas i exsudat (2, 5).



Figur 1: Mesotelceller. Mononukleära, runda celler med rund kärna. Fotografiet är taget i ljusmikroskop genom 40x objektiv.

Prepareringsmetod och färgning

Konventionell cytologi

Konventionell cytologi är en enkel och billig metod där provmaterialet stryks ut direkt på objektglas. Preparaten kan därefter analyseras i mikroskop och analyseras utifrån cellernas morfologi (2). Vid analys med konventionell cytologisk metod bevaras bakgrundsmaterial eftersom provmaterialet inte genomgår några behandlingssteg innan analys. Bevarat bakgrundsmaterial kan ge korrekt *in vivo*-bild av preparatet vilket är betydelsefullt vid bedömning och diagnosticering av proven (6). För att säkerställa att preparaten innehåller celler koncentreras först cellerna i provmaterialet genom centrifugering innan proven stryks ut på objektglas (2). Dock kan utstryken bli tjocka, ojämna och innehålla element av till exempel blod som kan störa bilden och försvåra bedömning (7).

Papanicolaoufärgning

För att kunna bedöma och diagnostisera cytologiska preparat måste preparatets celler visualiseras genom infärgning. En färgmetod inom cytologi är Papanicolaou där färgerna hematoxylin, Orange G och eosin azure ingår. Hematoxylin färgar in cellkärnor som får en mörkt blå färg och Orange G färgar proteinet keratin i cellers cytoplasma som får en svag orange färg. Eosin azure består av ett antal färgämnen som eosin och light green och ger cellers cytoplasma en rosa till grön färg beroende på egenskaper som till exempel pH (2, 9–11). Mesotelcellers cytoplasma färgas grön och kärnan mörkt blå med Papanicolaoufärgning (9).

Ättiksyra och dess inverkan på cellmorfologi

Om blödning förekommer i vävnaden eller uppstår som en kontamination vid provtagning kan blodet försvåra bedömning av cellmorfologin och diagnostik då det döljer eventuella patologiska förändringar (1–3, 12). Flera studier på ättiksyras fördelar vid cytologiska analyser har genomförts. Studier av Islam *et al.* (1), Frisch *et al.* (3) och Bentz *et al.* (4) har visat att ättiksyrans hemolyserande effekt underlättar bedömning av kontaminerade, cytologiska preparat med cervikala epitelceller. Studierna visar även att majoriteten av de preparat som tidigare bedömts som otillfredsställande kan diagnostiseras efter behandling med ättiksyra (1, 3, 4). Dessutom har en studie av Izhar *et al.* (13) visat att ättiksyrabehandling av cytologiska preparat ger goda och mer lättbedömda preparat samt att morfologin hos skiveepitelceller och körtelepitelceller inte uppvisar några diagnostiskt relevanta förändringar efter behandling av ättiksyra. Däremot presenterar Frisch *et al.* (3) i sin studie att antalet prov som diagnostiseras som låggradiga förändringar i cervikalt körtelepitel minskar efter behandling med ättiksyra och föreslår möjligheten att ättiksyran i sig förändrar cellernas utseende.

Syfte

Syftet med studien var att studera potentiell påverkan tvätt med Cytolyt® solution och ättiksyra har på mesotelcellers morfologi genom att tvätta exsudat under olika tider.

Material och metod

Provmaterial

I studien användes exsudat från pleura och ascites som fixerats direkt efter provtagning med lika delar 70% etanol och några droppar heparin. Totalt inkluderades 60 prov som analyserades med konventionell cytologisk metod. Samtliga prov analyserades både utan och med tvätt med Cytolyt® solution (Hologic Inc.) och ättiksyra. Provmaterialet samlades in på Cytologilaboratoriet, Länssjukhuset Ryhov där de förvarades i +4°C. Exsudat med en volym på minst 38 mL efter rutindiagnostik valdes ut istället för gynekologiska prover. Inför studien identifierades inte vilket prov som kom från ascites respektive pleura och fördelningen mellan dessa två provtyper är således inte känt.

Provhantering

Kontroller utan tvätt

Proverna blandades genom att uppsamlingsflaskorna vändes tills att exsudaten var homogena. Tio mL prov överfördes till ett centrifugrör och centrifugerades vid 620g (Rotanta 460, Hettich Lab Technology, Tuttligen, Tyskland) i 10 minuter. Supernantanten dekanterades, pelleten homogeniserades med hjälp av vortex varpå en droppe av pelleten överfördes till ett objektglas (Tomo® IHC Adhesive Glass Slides, Matsunami Glass Ind., Ltd., Osaka, Japan). Provet ströks sedan ut manuellt med ett täckglas varpå det fixerades i 95% (v/v) etanol (CCS Healthcare AB, Borlänge, Sverige) i 24 timmar.

Prover med tvätt

Av de blandade proven överfördes 7 mL till centrifugrör. De centrifugerades sedan vid 620g (Rotanta 460, Hettich Lab Technology) i 10 minuter. Därefter dekanterades supernantanten varpå 7 mL Cytolyt® solution (Hologic Inc.) och 7 mL 10% (v/v) ättiksyra (VWR international, Paris, Frankrike) tillsattes till centrifugrören. Centrifugrören blandades med hjälp av vortex och centrifugerades vid 620 g (Rotanta 460, Hettich Lab Technology) i 10 minuter. Supernantanten (Cytolyt® solution och ättiksyra) dekanterades direkt, 30 minuter, 60 minuter respektive 24 timmar efter centrifugeringen. Därefter homogeniserades pelleten med hjälp av vortex, en droppe av pelleten överfördes till ett objektglas (Tomo® IHC Adhesive Glass Slides, Matsunami Glass Ind., Ltd.) och ströks ut manuellt med ett täckglas varpå preparaten fixerades i 95% (v/v) etanol (CCS Healthcare AB) i 24 timmar.

Färgning och montering

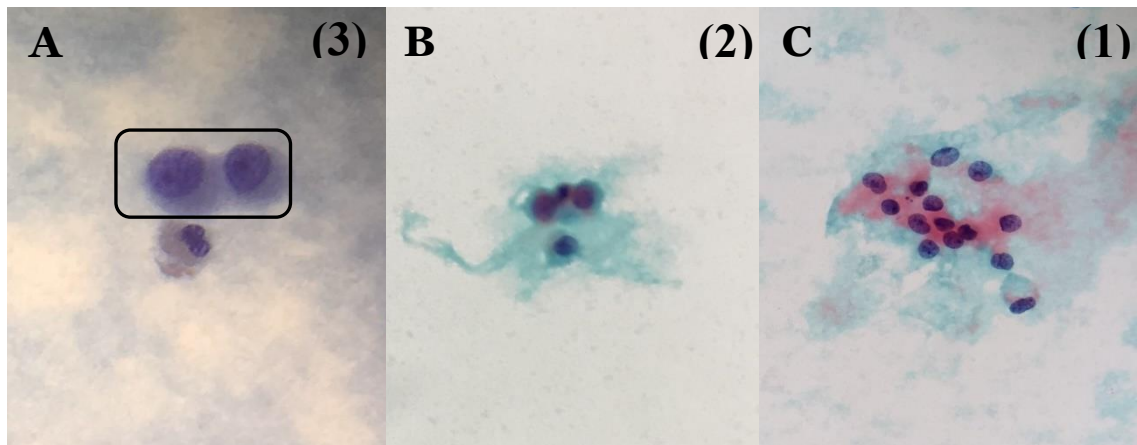
Samtliga prov färgades instrumentellt med Leica Autostainer XL (Leica Biosystems Nussloch GmbH, Nussloch, Tyskland) med Papanicolaoufärgning (Hologic Inc.). Även montering utfördes instrumentellt med Leica CV5030 Coverslipper (Leica Biosystems Nussloch GmbH).

Bedömning och bedömningskriterier

Mesotelceller i proven bedömdes av två cytodiagnostiker, oberoende av varandra, i ljusmikroskop med 10x och 40x objektiv. Prover som tvättats med ättiksyra och Cytolyt® solution (Hologic Inc.) jämfördes med de otvättade proven och bedömdes efter cytoplasmans utseende, kärnans kromatinstruktur och kärnmembranets utseende. Då bedömningarna inte alltid var identiska räknades ett medelvärde för provens två bedömningar, benämnt medelscorevärde, ut för kriterierna. Inför bedömning markerades objektglasen om och proverna bedömdes blint.

Proven graderades 1–3 baserat på följande morfologiska kriterier (Figur 2):

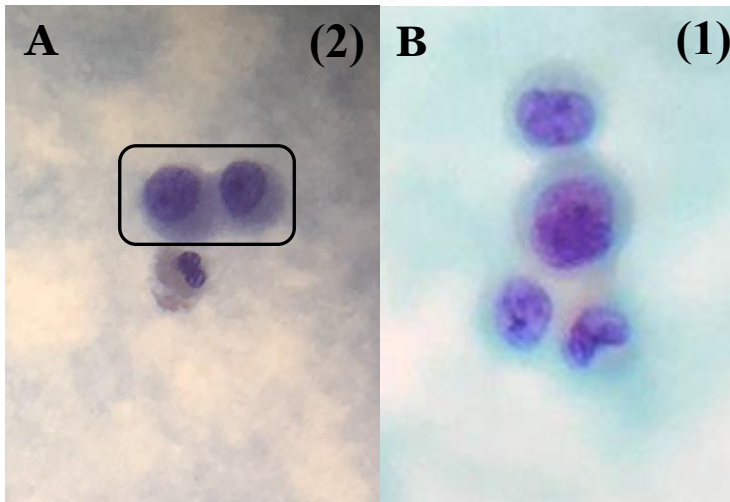
1. Cytoplasman är uppluckrad, suddig och cytoplasmamembranets gränser är otydliga
2. Cytoplasman är lätt uppluckrad och cytoplasmamembranets gränser är något oskarpa men ändå synliga
3. Cytoplasman är välbevarad och väl synlig



Figur 2: Exempel på mesotelceller från studien. Fotografierna är tagna i ljusmikroskop genom 10x (B och C) och 40x (A) objektiv. Mesotelcellerna illustrerar de olika graderingarna i hänseende av cytoplasma och cytoplasmamembran där (A) visar mesotelceller (markerade) med välbevarad och väl synlig cytoplasma, (B) visar mesotelceller med lättuppluckrad cytoplasma och något oskarpa cytoplasmamembran, och (C) visar mesotelceller med uppluckrad och suddig cytoplasma.

Proven graderades 1–3 baserat på följande morfologiska kriterier (Figur 3):

1. Kromatinstrukturen och kärnmembranet är ljus och otydlig
2. Kromatinstrukturen och kärnmembranet är välbevarad, tydlig och distinkt



Figur 3: Exempel på mesotelceller från studien. Fotografierna är tagna i ljusmikroskop genom 40x objektiv. Mesotelcellerna illustrerar de olika graderingarna i hänseende av kromatinstruktur och kärnmembran där (A) visar mesotelceller (markerade) med välbevarade och distinkta cellkärnor och (B) visar på otydliga och ljusa cellkärnor.

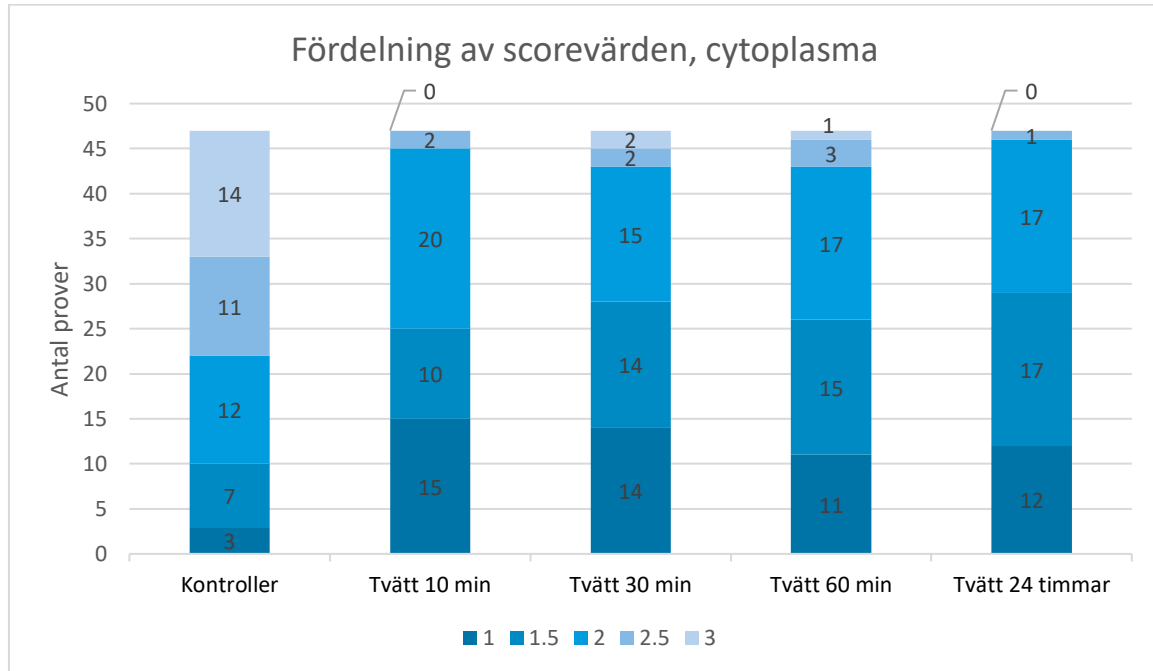
Etiska överväganden

Provmaterialet som användes i studien var aidentifierat och kunde således inte härledas till enskilda patienter. Inte heller information rörande patientens ålder, kön eller dylikt kunde spåras. Patienterna påverkades inte av studien eftersom proverna sedan tidigare har blivit analyserade och provsvaren utlämnade. Provmaterialet behövdes inte inom vård, diagnostik eller behandling och skulle kasseras och omfattas därmed inte av biobankslagen (14).

Resultat

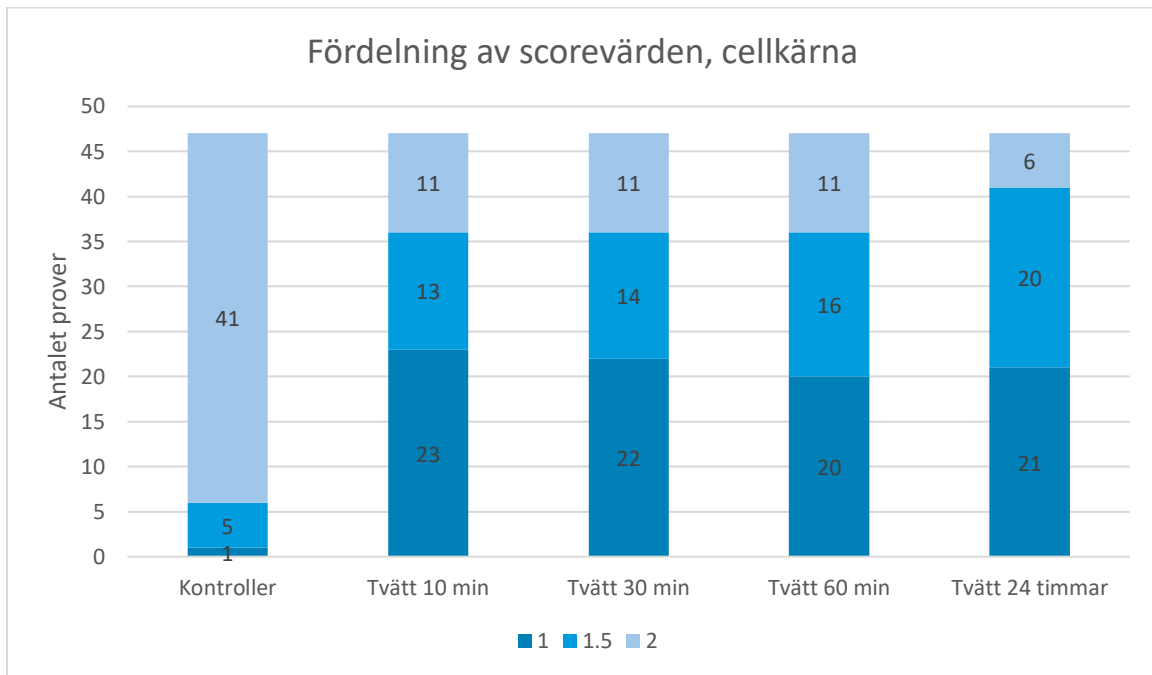
I studien ingick 60 prov av exsudat, dock föll 13 prover (22%) bort då inga mesotelceller kunde påvisas i preparaten. De 47 övriga proven bedömdes utifrån satta kriterier rörande morfologi på mesotelcellernas cytoplasma och cellkärna.

För kriteriet ”cytoplasma och cytoplasmamembran” har 30% (14/47) av de otvättade kontrollerna ett medelscorevärde på 3. För de tvättade proverna är denna siffra 5,8% (11/188). Andelen kontroller med ett medelscorevärde på 1 är 6,4% (3/47) och andelen tvättade prover med medelscorevärde på 1 är 28% (52/188), se Figur 4.



Figur 4: Fördelningen av exsudat (n=47) som fått respektive medelscorevärde med avseende på morfologin på cytoplasma och cytoplasmamembran hos mesotelceller efter de olika tvättiderna.

För kriteriet ”kromatinstruktur och kärnmembran” har 87% (41/47) av de otvättade kontrollerna ett medelscorevärde på 2 och 2% (1/47) har ett medelscorevärde på 1. Av de tvättade proverna har 21% (39/188) ett medelscorevärde på 2 och 46% (86/188) ett medelscorevärde på 1, se Figur 5.



Figur 5: Fördelningen av exsudat (n=47) som erhållit respektive medelscorevärde med avseende på kromatinstruktur och kärnmembran hos mesotelceller efter del olika tvättiderna.

Diskussion

På Cytologilaboratoriet, Länssjukhuset Ryhov tvättas gynekologiska prover med Cytolyt® solution (Hologic Inc.) och ättiksyra. Syftet med studien var att studera den potentiella påverkan som denna tvätt har på cellers morfologi i cytologiska preparat. I studien studerades Cytolyt® solution (Hologic Inc.) och ättiksyras påverkan på mesotelceller genom att tvätta exsudat under olika tider. Därefter bedömdes morfologin på mesotelcellernas cytoplasma och cellkärna varpå förändringar som uppstod under tvättsteget kunde påvisas och jämföras.

Resultaten från studien visar att majoriteten av de otvättade kontrollerna erhöll höga medelscorevärden medan en majoritet av de tvättade proverna har låga värden. Detta gäller för både för kriteriet "cytoplasma och cytoplasmamembran" och för kriteriet "kromatinstruktur och kärnmembran". Resultatet av studien tyder på att mesotelcellers morfologi med avseende på både cytoplasma och cellkärna förändras efter tvätt med Cytolyt® solution (Hologic Inc.) och ättiksyra. Vid bedömning av cytoplasma och cytoplasmamembran sjönk andelen prover med ett medelscorevärde på 3 markant efter tvätt i jämförelse med de otvättade kontrollerna. Alltså blir cytoplasman uppluckrad, suddig och cytoplasmamembranets gränser otydliga efter tvätt med Cytolyt® solution och ättiksyra. Även kromatinstrukturen och kärnmembranet blir ljusare och otydligare efter tvätt med Cytolyt® solution och ättiksyra. En stor majoritet av de otvättade kontrollerna hade välbevarad, tydlig och distinkt cellkärna medan andelen tvättade prover som uppfyllde detta kriterie var mycket mindre. Eftersom samtliga 47 preparat tvättats i alla respektive tider bör inte biologisk variation påverkat resultatet, de prov som fått ett högt scorevärde utan tvätt är även representerade i grupperna som analyserats efter tvätt. Dock tyder resultatet från denna studie på att tiden som de cytologiska proven behandlas med ättiksyra inte spelar någon större roll eftersom bedömningarna är konstanta mellan de olika grupperna med tvättade prov. Antalet exsudat som användes i studien var endast 60 vilket medförde att en statistisk analys inte kunde genomföras. Ett större provmaterial skulle möjliggöra statistiska tester som ANOVA där variansen inom proven som tvättats under samma tid och skillnaden mellan medelvärdena av proverna som tvättats under olika tider analyseras. Genom att utföra ANOVA skulle signifikansen av skillnaderna mellan de olika tvättiderna kunna bestämmas.

Cytolyt® solution (Hologic Inc.) är en metanolbaserad lösning som enligt tillverkaren, Hologic Inc., lyserar erythrocyter och förhindrar proteinutfällning och bevarar cellmorfologin (8). Bakgrunden reducerades avsevärt efter tvätt i Cytolyt® solution (Hologic Inc.) och ättiksyra vilket bekräftar resultaten från tidigare studier av Islam *et al.* (1), Frisch *et al.* (3) och Bentz *et al.* (4) samt informationen från tillverkaren av Cytolyt® solution (8). Mesotelcellernas morfologi påverkades efter tvätten med Cytolyt® solution (Hologic Inc.) och ättiksyra. Eftersom Cytolyt® solution (Hologic Inc.) bevarar cellmorfologin är det troligen ättiksyran som påverkat cellmorfologin. För att bekräfta att endast ättiksyran påverkar cellmorfologin skulle ytterligare studier med preparat som enbart tvättas i Cytolyt® solution (Hologic Inc.) genomföras. Studierna av Frisch *et al.* (3) och Bentz *et al.* (4) menar att ättiksyrabehandling underlättar bedömning av blodkontaminerade cytologiska preparat. Ättiksyrans hemolyserande effekt har observerats även i denna studie men förändringar i cellmorfologi har också kunnat påvisas efter ättiksyrabehandling. Frisch *et al.* (3) och Bentz *et al.* (4) har undersökt gynekologiska preparat med bland annat cervikalt skiv- och körtelepitel som material medan denna studie fokuserat på mesotelceller i exsudat.

Konventionell cytologisk metod var en lämplig metod för studiens frågeställning då provmaterialet stryks ut direkt på objektglaset utan några tidigare behandlings- eller prepareringssteg. Dessutom användes kontrollglas från material som inte tvättades, vilket potentiellt skulle kunna påverka cellmorfologi eller bakgrundsinfärgning i preparatet. Kontrollglaset, som inte behandlats med Cytolyt® solution (Hologic Inc.) och ättiksyra, var starkt och heltäckande infärgat. Hos de prov som tvättats i Cytolyt® solution (Hologic Inc.) och ättiksyra reducerades mängden bakgrundsmaterial markant. I mikroskop resulterade avsaknad av bakgrundsmaterial hos de tvättade preparaten till en mycket klarare bakgrund. Bakgrundsmaterial kan störa bilden vid bedömning av cytologiska preparat men är sällan ett problem. Däremot sågs en mindre cellrikedom i de tvättade preparaten vilket kan innebära att viktig information rörande provet kan försvinna under tvätten (Bodil Isén, personlig kommunikation, 2019-05-15).

I studien sågs bortfall av prov som ansågs obedömbara, anledningen var att inga mesotelceller kunde hittas i preparaten. En möjlig orsak till att inga mesotelceller kunde påträffas i dessa exkluderade prov är att det aspirerade exsudatet endast innehöll en sparsam mängd av dessa celler.

Vid patologiska tillstånd som cancer kan morfologin på både cytoplasma och cellkärna påverkas. Cytoplasman kan få en förändrad form och cellkärnans storlek och kromatininnehåll kan förändras (2, 5). Eftersom morfologin hos cytoplasma och cellkärna är viktig vid bedömning av cytologiska preparat valdes bedömningskriterier där dessa faktorer ingick. Kriterierna och scorevärdena diskuterades fram i samråd med bedömande cytodiagnostiker. Även om förändringar kunde ses i morfologin hos mesotelceller kunde de förändringar som observerades inte kopplas till patologiska tillstånd och därmed är risken för feldiagnostisering på grund utav tvätt med Cytolyt® solution (Hologic Inc.) och ättiksyra liten. Izhar *et al.* (13) styrker detta resultat med sin studie som visar på att inga diagnostiskt relevanta förändringar i cellmorfologi uppstod efter ättiksyrabehandling av gynekologiska preparat.

På Cytologilaboratoriet, Länssjukhuset Ryhov tvättas idag blodiga gynekologiska prover med Cytolyt® solution (Hologic Inc.) och ättiksyra inom rutinverksamheten och man önskade undersöka om denna tvätt kan påverka cellmorfologin i cytologiska preparat. I rutinarbetet på Cytologilaboratoriet, Länssjukhuset Ryhov prepareras exsudat med konventionell cytologisk metod och därmed användes denna metod i studien. Det optimala utförandet hade varit att använda gynekologiska prover men detta omöjliggjordes av dessa provers volym. Konventionell cytologisk metod fungerade väl och gav tillfredställande resultat för studiens syfte. Dock kan inga slutsatser dras om tvättens påverkan på gynekologiska preparat eftersom celltyperna skiljer sig från de som påträffas i exsudat.

Cytologiska analyser är subjektiva bedömningar. För att kompensera för den osäkerhet som subjektiviteten bidrar med bedömdes glasen blint och av två, utav varandra oberoende, cytodiagnostiker. Bedömningarna som erhöles visade på liten variation då både bedömningarna och kommentarer om bifynd var mycket lika varandra. Att två cytodiagnostiker oberoende av varandra bedömt preparaten likvärdigt och noterat samma avvikelser får ses som en bekräftelse på resultatens tillförlitlighet. Bedömande cytodiagnostiker ansåg att friska och normala mesotelceller var lämpligast att utvärdera eftersom det är en naturligt förekommande celltyp i exsudat. Andra celler som eventuellt kan påträffas i preparatet som leukocyter och tumörceller bedömdes inte. Leukocyter är förhållandevis små och tumörceller är ofta otydliga i cytoplasman och har ofta ett förändrat kromatinmönster (9). Av dessa anledningar är leukocyter och tumörceller inte lämpliga att bedöma med avseende på morfologiska förändringar som uppstått vid tvätt på ett tillfredställande sätt (Anna-Karin From, personlig kommunikation, 2019-04-01).

År 2016 fick över 60 000 personer i Sverige en cancerdiagnos (16). Genom att bedöma cytologiska preparat kan förekomst av cancer och cancers ursprungsvävnad påvisas, ju snabbare cellförändringar kan hittas ju bättre blir ofta prognosen för patienten (2, 5). Dock kan kontaminationer som blod dölja celler i preparatet och försvåra bedömning vilket kan leda till förlängda svarstider (1, 3, 4, 17). Cytologiska analyser kan bidra med livsavgörande information och tid är en kritisk faktor som ofta avgör prognos och behandling av cancersjukdomar. Därför är det av yttersta vikt att arbetet underlättas för laboratoriepersonalen och att processen från provtagning till provsvar är så effektiv som möjligt. Studien tyder på att ättiksyra har en påverkan på cytoplasmamorfologi och kromatinstruktur hos cytologiska preparat men ytterligare studier är att rekommendera på grund av de begränsningar denna studie har. Till exempel bör en eventuell framtida studie behandla ett större provmaterial för att säkerställa repeterbarheten i försöket. Ett mer varierat provmaterial som inkluderar olika typer av cytologiska material bör också undersökas för att mer generaliserbara slutsatser ska kunna dras.

Slutsatser

I studien har exsudat tvättats i Cytolyt® solution (Hologic Inc.) och ättiksyra varpå mesotelcellers morfologi har bedömts. Cytologiska preparat kan tvättas i Cytolyt® solution (Hologic Inc.) och ättiksyra för att eliminera kontaminationer men studien visar på att denna tvätt ger upphov till vissa morfologiska förändringar med avseende på cytoplasma och cellkärna hos mesotelceller. De morfologiska förändringar som observerats i studien har ingen patologisk relevans och tiderna som cellerna exponeras för ättiksyra verkar inte ha någon betydelse. Dock är studien begränsad och vidare forskning, med till exempel ett mer varierat provmaterial, är därför att rekommendera.

Omnämmanden

Ett stort tack till personalen på Cytologilaboratoriet på Länssjukhuset Ryhov som alltid haft ett trevligt bemötande och fått mig att känna mig välkommen. Ett särskilt stort tack till min vetenskapliga handledare Renate Slind Olsen och mina metodhandledare Anna-Karin From och Emma Andersson som har bidragit med både praktisk och teoretisk kunskap, svarat på frågor och funderingar och stöttat mig genom hela arbetet.

Jag vill också tacka Bodil Isén och Anna-Karin From som båda tagit sig tid att bedöma preparaten och delat med sig av sina kunskaper.

Tack!

Referenser

1. Islam S, West AM, Saboorian MH, Ashfaq R. Reprocessing unsatisfactory Thin Prep® Papanicolaou test specimens increases sample adequacy and detection of significant cervicovaginal lesions. *Cancer Cytopathology*. 2004;102(2):67-73.
2. Cook DJ, Warren PJ. *Cellular Pathology*. Third ed. Banbury: Scion Publishing Limited; 2015. p. 31-2, 109, 245-7, 252-3, 264, 269-70, 274-5, 277, 282-5.
3. Frisch NK, Ahmed Y, Sethi S, Neill D, Kalinicheva T, Shidham V. The effectiveness of acetic acid wash protocol and the interpretation patterns of blood contaminated cervical cytology Thin Prep® specimens. *CytoJournal*. 2015;12:23.
4. Bentz JS, Rowe LR, Gopez EV, Marshall CJ. The unsatisfactory Thin Prep® Pap Test: missed opportunity for disease detection? *American journal of clinical pathology*. 2002;117(3):457-63.
5. Wied GL, Keebler CM, Koss LG, Patten SF, Rosenthal DL. *Compendium on Diagnostic Cytology*. Seventh ed. *Tutorials of Cytology, International Academy of Cytology*; 1992. p. 30-1, 320-1.
6. Fischer AH, Clayton AC, Bentz JS, Wasserman PG, Henry MR, et al. Performance differences between conventional smears and liquid-based preparations of thyroid fine-needle aspiration samples: analysis of 47,076 responses in the College of American Pathologists Interlaboratory Comparison Program in Non-Gynaecologic Cytology. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*; Northfield Vol. 137, Iss. 1, (Jan 2013): 26-31.
7. Hoda, RS (2007), Non-gynaecologic cytology on liquid-based preparations: A morphologic review of facts and artefacts. *Diagn. Cytopathol.*, 35: 621-634.
8. Hologic Inc. *Thin Prep® 5000 Processor Operators Manual*. Marlborough, Hologic Inc., 2016.
9. Shambayati B. *Cytopathology*. New York: Oxford University Press; 2011. p. 13, 33, 162-3, 169, 210, 217-22.
10. Raju K. Evolution of Pap Stain. *Biomedical Research and Therapy* 2016;3(2):490-500.
11. Hologic Inc. *Thin Prep® Stain User's manual*. Marlborough, Hologic Inc., 2017.
12. Kalinicheva T, Frisch N, Giorgadze T, Madan S, Shidham A, Bhalla A, et al. Etiologic factors related to unsatisfactory Thin Prep® cervical cytology: Evaluation and potential solutions to improve. *CytoJournal*. 2015;12:21.
13. Izhar S, Kaur R, Masih, K. Efficacy of Rapid, economical, acetic acid, Papanicolaou stain in cervical as an alternative to conventional Papanicolaou stain. *Journal of Cytology*. Vol. 31, Iss. 3, (Jul 2014): 154-7.
14. Lag (2002:297) om biobanker i hälso- och sjukvården m.m. (SFS 2018:1273). Stockholm: Socialdepartementet.
15. Piga I, Capitoli G, Tettamanti S, Denti V, Smith A, Chinello C, et al. Feasibility Study for the MALDI-MSI Analysis of Thyroid Fine Needle Aspiration Biopsies: Evaluating the Morphological and Proteomic Stability Over Time. *Proteomics in Pathology*. Vol. 13, Iss. 1 (Jan 2019).
16. Cancerfonden. Statistik [Internet]. Stockholm: Cancerfonden. [År saknas]. Hämtad ifrån: <https://www.cancerfonden.se/cancerfondsrapporten/statistik>
17. Rosa M, Pragasam P, Saremian J, Aoalin A, Graf W, Mohammadi A. The unsatisfactory Thin Prep® Pap Test™: analysis of technical aspects, most common causes, and recommendations for improvement. *Diagnostic Cytopathology*. 2013;41(7):588-94.