1. **Przygotowanie pojemnika transportowego**
2. Przed rozpoczęciem procedury pobierania materiału należy przygotować pojemnik transportowy
o odpowiedniej wielkości oraz sprawdzić dostępność, nazwę, stężenie i datę ważności wymaganego odczynnika utrwalającego.
3. Pojemnik transportowy powinien spełniać następujące wymagania:
4. pojemnik specjalnego przeznaczenia, jednorazowy, przystosowany do transportu materiałów biologicznych, odporny na działanie odczynników utrwalających,
5. powinien mieć szeroki otwór umożliwiający bezpieczne włożenie i wyjęcie materiału oraz szczelne zamknięcie, chroniący materiał i znajdujący się w nim odczynnik utrwalający przed wydostaniem się na zewnątrz,
6. powinien posiadać miejsce do opisu/oklejenia danymi pacjenta,
7. wielkość pojemnika przeznaczonego do utrwalenia i transportu materiału powinna być dobrana odpowiednio do wielkości materiału, min. 10-krotnie większej niż objętość pobranego materiału biologicznego.
8. Pojemniki transportowe są wyrobem medycznym, przeznaczonym do diagnostyki *in vitro* wg dyrektywy 98/79/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 27 października 1998 r. i rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2017/746 z dnia 5 kwietnia 2017 r. w sprawie wyrobów medycznych do diagnostyki *in vitro*.
9. **Oznaczenie pojemnika transportowego**
10. Każdy pojemnik transportowy z pobranym materiałem musi być wyraźnie i czytelnie oznakowany etykietą.
11. Dane etykiety powinny zawierać:
12. imię i nazwisko pacjenta,
13. numer PESEL/ data urodzenia/PID,
14. rodzaj pobranego materiału.
15. Etykieta z danymi na pojemniku musi być trwała, odporna na ścieranie i działanie stosowanych odczynników utrwalających (10% formalina, etanol).
16. Dane na etykiecie muszą się zgadzać z danymi na skierowaniu.
17. Bardzo istotne jest właściwe oznaczenie pojemników z różnymi materiałami np. z różnych lokalizacji
od tego samego pacjenta.
18. **Zasady utrwalania i zabezpieczania materiału tkankowego i cytologicznego do badania patomorfologicznego**
19. **Materiał do badania śródoperacyjnego „INTRA**”.
20. Materiał bezpośrednio po pobraniu należy umieścić w **czystym i suchym** pojemniku transportowym, **bez żadnego utrwalacza.**
21. W wyjątkowych sytuacjach dopuszcza się umieszczenie materiału w gaziku zwilżonym solą fizjologiczną.
22. Opcjonalnie dopuszcza się zabezpieczenie pobranego materiału w czystej plastikowej foli, koszulce lub folii aluminiowej.
23. **Materiał do badania histopatologicznego: małe wycinki tkankowe, wyskrobiny, materiał biopsyjny.**
24. Materiał bezpośrednio po pobraniu należy umieścić w pojemniku transportowym wypełnionym min. **10-krotnie większą objętością środka utrwalającego** w porównaniu do objętości pobranego materiału.
25. Do utrwalania należy stosować **10% neutralną, zbuforowaną formalinę o pH 7,2-7,4** (4% wodny zbuforowany roztwór formaldehydu) w temperaturze pokojowej (20-25°C) z aktualną datą ważności.
26. Pobrany materiał musi **luźno pływać** w pojemniku transportowym i być całkowicie zatopiony
w utrwalaczu aby nie dopuścić do jego wyschnięcia.
27. **Materiał do badania histopatologicznego: materiał pooperacyjny.**
28. Materiał bezpośrednio po pobraniu należy umieścić w pojemniku transportowym wypełnionym min. **10-krotnie większą objętością środka utrwalającego** w porównaniu do objętości pobranego materiału/narządu.
29. Do utrwalania należy stosować **10% neutralną, zbuforowaną formalinę o pH 7,2-7,4** (4% wodny zbuforowany roztwór formaldehydu) w temperaturze pokojowej z aktualną datą ważności.
30. Pobrany materiał/narząd musi być całkowicie zatopiony w utrwalaczu, swobodnie pływać
nie dotykając ścianek pojemnika transportowego.
31. W przypadku braku możliwości zatopienia całości narządu w utrwalaczu (wystawanie części tkanki ponad lustro płynu utrwalającego) wystającą część tkanki należy przykryć gazą nasączoną utrwalaczem.
32. W przypadku materiałów tkankowych pobranych na Bloku Operacyjnym NIO-PIB dopuszcza się zabezpieczanie materiału w czystym i suchym pojemniku transportowym o pojemności 10-krotnie większej niż objętość pobranego materiału/narządu lub w foli aluminiowej, bez żadnego utrwalacza i dostarczyć do ZdPN w czasie do 10-15 min od momentu pobrania.
33. W szczególnych przypadkach (duże materiały chirurgiczne oraz kostne), ze względu na brak pojemników transportowych o bardzo dużych wymiarach dopuszcza się zabezpieczenie materiału tkankowego np. w dużym worku na odpady medyczne lub 60L pojemniku koloru czerwonego.
34. W przypadku pobrania dużych bloków tkankowych np: pierś, narząd rodny, mięsak czy jelito
z guzem, gdy szacowany czas transportu przekroczy 24 godziny zalecane jest wykonanie przez chirurga pojedynczego cięcia przez guz wraz z umieszczeniem w tym miejscu gazika/ów
 i dopiero wtedy umieszczenie pobranego materiału/narządu w pojemniku z utrwalaczem.
	1. **Materiał z biopsji szpiku kostnego: trepanobiopsja.**
35. Materiał bezpośrednio po pobraniu należy umieścić w pojemniku transportowym wypełnionym min. **10-krotnie większą objętością środka utrwalającego** w porównaniu do objętości pobranego materiału.
36. Do utrwalania należy stosować **Utrwalacz Oxfordzki** przechowywany w temperaturze pokojowej z aktualną datą ważności.
37. W szczególnych przypadkach dopuszcza się stosowanie 10% neutralnej, zbuforowanej formaliny o pH 7,2-7,4 jako środka utrwalającego.
38. Pobrana trepanobiopsja musi **luźno pływać** w pojemniku transportowym i być całkowicie zatopiona w utrwalaczu aby nie dopuścić do jej wyschnięcia.
	1. **Materiał do badania cytologicznego: rozmazy z biopsji, wymazy lub inny materiał biologiczny naniesiony jako rozmaz na szkiełku podstawowym:**
39. Rozmazy z biopsji, wymazy lub inny materiał biologiczny naniesiony jako rozmaz na szkiełku podstawowym należy bezpośrednio po pobraniu umieścić w pojemniku transportowym wypełnionym środkiem utrwalającym.
40. Do utrwalania należy stosować **96% lub 70% alkohol etylowy (alkohol może być skażony)**  przechowywany w temperaturze pokojowej z aktualną datą ważności.
41. Przed wykonaniem rozmazu należy opisać preparaty oznaczeniem pacjenta min. inicjały pacjenta/imię nazwisko pacjenta, PID/PESEL**). Opisy na szkiełkach należy wykonywać wyłącznie ołówkiem**.
42. Rozmaz należy wykonać na szkiełku podstawowym z matowym lub kolorowym polem do opisu, należy zwrócić szczególną uwagę, aby materiał znalazł się na tej samej stronie szkiełka co pole
do opisu i tą część szkiełka należy oznaczyć symbolem ”X”.
43. Do wykonania rozmazu używamy drugiego szkiełka podstawowego. Do szkiełka z naniesionym materiałem przykładamy delikatnie od góry drugie szkiełko podstawowe i pozwalamy aby naniesiony materiał rozprowadził się cienką warstwą pomiędzy szkiełkami. Między szkiełkiem podstawowym a szkiełkiem, które przykładamy powinien być kąt 30-45ᵒC.
44. Materiał rozprowadzamypoprzez płynne, delikatne przesunięcie górnego szkiełka, tworząc w ten sposób jedną warstwę komórek.
45. **Uwaga! Zbyt silne „rozcieranie” materiału może spowodować zgniecenie komórek, zbyt słabe - rozmazy „grube”, nieczytelne**.
46. Jeżeli w jednym pojemniku transportowym umieszcza się większą liczbę szkiełek z naniesionym rozmazem, należy łączyć je „plecami” lub założyć na szkiełka spinacze biurowe, aby zabezpieczyć materiał przez sklejaniem.
47. Po wykonaniu rozmazu szkiełka natychmiast zamaczamy płynnym ruchem w 96% lub 70% alkoholu etylowym. Po zamoczeniu szkiełka, można wyjąć z utrwalacza w celu obejrzenia jakości pobranego materiału.
48. **W przypadku bardzo skąpego materiału czas od wykonania rozmazu do jego zanurzenia
w utrwalaczu powinien wynosić 1-2 sekundy.**
49. Opcjonalnie dopuszcza się utrwalenie wykonanych rozmazów przy użyciu komercyjnych preparatów w aerozolu do utrwalania pobranych na szkiełka mikroskopowe rozmazów np: Cytofix, Fixocyt.
	1. **Materiał do badania cytopatologicznego: płyny z jam ciała, popłuczyny, plwocina, wydzieliny, mocz.**
50. Materia**ł** należy pobrać bezpośrednio do czystego pojemnika transportowego (strzykawka, probówka, moczówka) i dostarczyć do ZdPN do 1 godziny od momentu pobrania w temperaturze pokojowej.
51. **Uwaga! Płyn mózgowo-rdzeniowy pobieramy bezpośrednio do probówki i zawsze dostarczamy do ZdPN w przeciągu 30 min. od momentu pobrania w temperaturze pokojowej**.
52. Mocz należy pobrać z drugiej lub trzeciej dziennej mikcji w ilości nie większej niż 100 ml.
	1. **Materiał do badania z wykorzystaniem techniki cytobloku.**
53. Materiał bezpośrednio po pobraniu należy umieścić/wstrzyknąć z igły do plastikowej probówki
o pojemności 10-12 ml **wypełnionej w całości środkiem utrwalającym (zleceniodawca zewnętrzny) lub stanowiącym 2/3 objętości probówki (komórki organizacyjne NIO-PIB).**
54. do utrwalania należy stosować **10% neutralną, zbuforowaną formalinę o pH 7,2-7,4** (4% wodny zbuforowany roztwór formaldehydu) w temperaturze pokojowej z aktualną datą ważności.
55. Po pobraniu i zabezpieczeniu materiału w probówce należy delikatnie wymieszać jej zawartość
tak aby nie dopuścić do pozostawienia materiału na ściance naczynia.
	1. **Materiał do badania z wykorzystaniem techniki mikroskopii elektronowej.**
56. Materiał bezpośrednio po pobraniu należy umieścić w pojemniku transportowym wypełnionym min. **10-krotnie większą objętością środka utrwalającego** w porównaniu do objętości pobranego materiału.
57. Do utrwalania należy stosować **świeżo rozrobiony glutardehyd** wykonywany i dostarczany przez pracowników Laboratorium Mikroskopii Elektronowej ZdPN wyłącznie po uprzednim, telefonicznym ustaleniu po numerem **wew. 23 42, 28 36.**
58. Pobrany materiał musi **luźno pływać** w pojemniku transportowym i być całkowicie zatopiony
w utrwalaczu aby nie dopuścić do jego wyschnięcia.
	1. **Niedopuszczalnym jest wkładanie materiałów pobranych z różnych lokalizacji od tego samego pacjenta do wspólnego pojemnika transportowego**.
	2. **Materiał przeznaczony do badania patomorfologicznego musi być przekazany do ZdPN w całości*.* Niedopuszczalnym jest dzielenie materiału i przesyłanie do różnych zakładów /pracowni.**
59. **Wykaz utrwalaczy stosowanych w ramach świadczeń w zakresie badań patomorfologicznych
i sposoby ich przygotowania.**

|  |
| --- |
| **ODCZYNNIKI UTRWALAJĄCE** |
| **Rodzaj materiału biologicznego** | **Nazwa utrwalacza** | **Uwagi** |
| Materiał do badania śródoperacyjnego „INTRA” | Bez żadnego utrwalacza | Dopuszcza się umieszczenie materiału w gaziku zwilżonym solą fizjologiczną. |
| Materiał tkankowy do badania histopatologicznego | 10% neutralna, zbuforowana formalina (4% wodny zbuforowany roztwór formaldehydu) | - 10% roztwór formaliny w buforze fosforanowym o ph pomiędzy7,2-7,4,- roztwór przechowywany w temperaturze pokojowej,- sposób przygotowania roztworu opisany poniżej,- roztwór oferowany przez liczne firmy mikrotechniczne jako odczynnik gotowy do użycia. |
| Materiał z biopsji szpiku kostnego - trepanobiopsja | Utrwalacz Oxfordzki | - roztwór przechowywany w temperaturze pokojowej,- sposób przygotowania roztworu opisany poniżej. |
| Materiał do badania cytopatologicznego: rozmazy z biopsji, wymazy lub inny materiał biologiczny naniesiony jako rozmaz na szkiełku podstawowym | 96% lub 70% alkohol etylowy lub opcjonalnie preparat w aerozolu do utrwalania rozmazów cytologicznych np: Cytofix, Fixocyt  | - 96% lub 70% alkohol etylowy (alkohol może być skażony formaliną, acetonem lub hibitanem),- odczynnik przechowywany w temperaturze pokojowej,- w przypadku stosowania preparatów w aerozolu np.: Cytofix, Fixocyt należy postępować dokładnie wg instrukcji dostarczonego przez producenta. |
| Materiał do badania cytopatologicznego: płyny z jam ciała, popłuczyny, plwocina, wydzieliny, mocz | Bez żadnego utrwalacza | Brak |
| Materiał do badania z wykorzystaniem techniki cytobloku | 10% neutralna, zbuforowana formalina (4% wodny zbuforowany roztwór formaldehydu | - 10% roztwór formaliny w buforze fosforanowym o ph pomiędzy7,2-7,4,- roztwór przechowywany w temperaturze pokojowej,- sposób przygotowania roztworu opisany poniżej, - odczynnik oferowany przez liczne firmy mikrotechniczne jako roztwór gotowy do użycia. |
| Materiał do badania z wykorzystaniem techniki mikroskopii elektronowej | Glutaraldehyd | - roztwór świeżo przygotowany w dniu pobrania materiału,- roztwór przechowywany w lodówce w temperaturze 4ᵒC,- sposób przygotowania roztworu opisany poniżej. |
| **PRZYGOTOWANIE 10% WODNEJ ZBUFOROWANEJ FORMALINY****(4% WODNY ZBUFOROWANY ROZTWÓR FORMALDEHYDU)** |
| Aby uzyskać roztwór roboczy:1. odmierz 250 ml 40% formaliny handlowej,
2. dodaj 6,5 g Na2HPO4 x H2O,
3. dodaj 4 g NaH2PO4,
4. dodaj 750 ml wody destylowanej,
5. dokładnie wymieszaj,
6. nanieś na pojemnik datę rozrobienia roztworu.
 |
| **PRZYGOTOWANIE ROZTWORU UTRWALACZA OXFORDZKIEGO** |
| Aby uzyskać roztwór roboczy:1. odważ 43,5 gNaCl, rozpuścić w 4500 ml wody destylowanej,
2. dodaj 500 ml formaliny handlowej,
3. dodaj 100 ml Kwasu octowego 99,5% czda,
4. dokładnie wymieszaj,
5. nanieś na pojemnik datę rozrobienia roztworu.
 |
| **PRZYGOTOWANIE ROZTWORU GLUTARALDEHYDU** |
| Aby uzyskać roztwór roboczy:1. przygotuj 5 ml 0,2 M buforu kakodylowego pH 7,4,
2. dodaj 4,5 ml wody dejonizowanej,
3. dodaj 0,5 ml 50% glutataldehydu,
4. dokładnie wymieszaj,
5. nanieś na pojemnik datę i godzinę przygotowania roztworu.
 |