

		Medisinsk serviceklinikk			Prosedyre
Skjære snitt av blokker, Histologilab, Enhet for histologi, Avd. for patologi, SSK				Side 1 av 3	
Dokumentplassering: II.MSK.Pat.2.3.2.1-2		Godkjent dato: 17.10.2023	Gyldig til: 17.10.2025	Dato endret: 17.10.2023	Revisjon: 22.00

Medisinsk serviceklinikk/Avd for patologi SSK/Pasienter og brukere/Histologisk enhet/Histologilaboratorium

DISTRIBUSJONSLISTE: EK

ENDRINGER FRA FORRIGE VERSJON: Lagt til at blokk som tas tilbake til kjøleplate legges i annen retning for å unngå at snitt fra blokk havner på glass med annen ID enn blokk.

Omfang

Denne prosedyre gjelder for bioingeniører med sertifisering i snitting av parafininnstøpt vev, enhet for histologi.

Hensikt

Denne prosedyre beskriver hvordan det skal skjæres snitt fra blokker med formalinfiksert, parafininnstøpt vev.

Handling

- MIKROTOM:** Slå på. Det henvises til manual for de aktuelle mikrotomene for riktig montering og håndtering av mikrotomene.
- KJØLEPLATE:** Slå på.
- VANNBAD:** Fylles med nytt, deionisert vann og slås på ved oppstart. Temperaturen stilles til 45-48°C, som et utgangspunkt. Viktig at temperaturen er minimum 5°C lavere enn parafinvoksens smeltepunkt (56-58°C). Unntak er fettrikt vev som kan ha behov for lavere temperatur.
- For høy temperatur fører til sprekke-dannelser i snittet.
 - For lav temperatur fører til at folder ikke retter seg ut.

Unngå forbyttning av prøver.

- Før snitting:** Sjekk at det ikke ligger utskrevne objektglass på snitteplassen.
- Under snitting:** Skriv kun ut glass til én blokk. Fullfør snitting og fest til glass før nytt glass skrives ut. Dersom blokk må tilbake på kjøleplate, legg denne i annen posisjon enn blokkene som venter i kø slik at den skiller seg fra resten.
- Festing til objektgl.:** Sjekk at H-nummer og blokknummer stemmer overens og at vev i blokk og objektglass stemmer overens.

Unngå at vev faller ut.


- Blokker:** Uten sprekker og luftbobler.
Fri for voksrester. Fjern eventuelle rester langs sidene og på baksiden.
Fest godt fast i holderen.
- Mikrotomknivblad:** Skarpt både ved grov- og finsnitting. Sløvt knivblad kan dra med seg biter ut.
Fest godt i knivbladholderen.
- Knivbladholder:** Fest godt fast.
Klaringsvinkel må ikke være for liten.

Unngå forurensing

- Snitteutstyr:** Vaskes fri for rester mellom hver blokk.
(Knivholderens metallplate, kost, pensel, pinsett og metallstikkere)
- Mikrotomknivblad:** Forside og bakside børstes nedenfra og opp mellom hver blokk.
- Vannoverflaten:** Renses med egnet papirark etter snitting av hver blokk.
Nytt vann to ganger daglig – ved oppstart om morgenen og rundt lunsjtider.

DokumentID:D01914

Utarbeidet av: Fagbioingeniør Hege Wiksén	Fagansvarlig: Hege Wiksén	Godkjent av: Avdelingssjef Hilde Bjørnestøl Hansen	Verifisert av: 17.10.2023 - Linda Kvelland Skaara
-----------------------------------------------------	-------------------------------------	--------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------

 SØRLANDET SYKEHUS	Skjære snitt av blokker, Histologilab, Enhet for histologi, Avd. for patologi, SSK				Side: 2
					Av: 3
Dokumentplassering: II.MSK.Pat.2.3.2.1-2	Utarbeidet av: Fagbioingeniør Hege Wiksén	Fagansvarlig: Hege Wiksén	Godkjent dato: 17.10.2023	Godkjent av: Avdelingssjef Hilde Bjørnestøl Hansen	Revisjon: 22.00

Medisinsk serviceklinikk/Avd for patologi SSK/Pasienter og brukere/Histologisk enhet/Histologilaboratorium

GROVSKJÆRING

Blokker:	Auto-Tec-støpte blokker bør ha romtemperatur når bunnen av plastinnlegget skjæres av. Manuelt støpte blokker og megablokker kan grovskjæres mens de er kalde.
Mikrotomknivblad:	Skarpt nok til at det skjærer gjennom vevet, ikke bare drar av vev pga. kraften som oppstår som følge av høy hastighet. Slik reduseres risiko for at biter løsner.
Tykkelse:	Vanligvis 20-30 µm. Ved lite eller hardt vev brukes tynnere grovsnitt.
Hastighet:	Vanligvis max. hastighet, men vurderes løpende av snitter. Ved lite eller hardt vev brukes lavere hastighet eller manuell grovskjæring.

1. Grovskjære til representativ snittflate kommer frem. Få fram hele reseksjonsrender og sørg for at snittflaten er jevn og uten hull.
2. Ta noen snitt med finsnitttykkelse til slutt for å «polere» overflaten og unngå hullede snitt.
3. Legg blokken på kjøleplaten eller isblokk og gjenta prosessen til alle blokkene er grovskåret.


SKJÆRING AV FINSNITT

Snittene skal optimalt sett være hele, uten folder, riper eller bobler over vevet. Dersom det er vanskelig å produsere snitt, se avsnitt nederst.

Blokker:	Gjennomkalde for best resultat. Bruk kjøleplate. Isblokk med litt smeltevann kan benyttes i tillegg, men kun et par minutter slik at ikke vannet trekker langt inn i vevet.
Mikrotomknivblad:	Skift eller flytt til et ubrukt område etter grovskjæring og ellers etter behov. Vinkel justeres etter mikrotom og knivtype.
Tykkelse:	Ønsket tykkelse på snittene er ett cellelag. Utgangspunkt 2,5-3µm. Se egen oversikt for tykkelse til forskjellig vev/farger. Tykkelsen på snittene kan variere fra mikrotom til mikrotom, fra vev til vev, eller fra dag til dag avhengig av ytre påvirkninger. Gjør derfor fortløpende vurdering av snitt-tykkelse og justere etter skjønn.
Hastighet:	Jevn og rolig rotasjon gir penest snitt. Optimal hastighet avhenger av vevets hardhet og temperatur.
Øvrige tips og triks:	Step 35-51, Leica 101 steps to better histology Feilkilder, Thermo Feilkilder, Leica

1. Les inn blokk i labdatasystemet LVMS.
2. Skriv ut aktuelt glass fra glassprinter.
3. Nederst på merkefeltet finnes en kode som indikerer hvilken farge snittet skal ha, om det skal være seriesnitt og om det skal være snitt i ulike plan/nivåer. Hva som gjelder for hvilket materiale, er listet opp i [egen oversikt](#).
 - a. HE- kun ett snitt på glasset
 - b. AB – kun ett snitt på glasset
 - c. 3s – tre seriesnitt på ett glass. Dersom det ikke er plass til tre, ta to eller evt kun ett snitt.
 - d. 1-3 – tre snitt i tre ulike nivå. Dersom det ikke er plass på et glass, fordeles snittene på to eller tre glass.

Obs! Egne retningslinjer for polypper fra GI i tekstboks under.

 SØRLANDET SYKEHUS	Skjære snitt av blokker, Histologilab, Enhet for histologi, Avd. for patologi, SSK				Side: 3 Av: 3
Dokumentplassering: II.MSK.Pat.2.3.2.1-2	Utarbeidet av: Fagbioingeniør Hege Wiksén	Fagansvarlig: Hege Wiksén	Godkjent dato: 17.10.2023	Godkjent av: Avdelingssjef Hilde Bjørnestøl Hansen	Revisjon: 22.00

Medisinsk serviceklinikk/Avd for patologi SSK/Pasienter og brukere/Histologisk enhet/Histologilaboratorium

Polypper med prosess GI og Tarmscreening snittes i henhold til [Kvalitetsmanual for Tarmscreeningsprogrammet](#):

Hele polypper <5 mm snittes i tre nivå. Med dette skal man komme inn til cirka 50 % av dybden av materialet. Det skal være 50-100 µm mellom nivåene.

4. Produser en serie snitt.
5. Det første snittet fjernes da det mest sannsynlig ikke har riktig tykkelse. Legg resten, eller utvalgte snitt over på vannbad. Ved optimal temperatur skal snittene flate ut umiddelbart, uten at voksen smelter.
6. Overfør ønsket snitt fra vannbadet over på ferdigmerket objektglass innen 15 sekunder. Dersom det skal flere opplegg på samme glass, skal det tilstrebes å orientere snittene rett under hverandre med samme orientering. Storsnitt fra megablokk fiskes opp på store objektglass med merking på glassetikett.
7. Objektglasset bakerst på stativet (plass til 20 glass). Forsiden av stativet er merket Up side. Storsnitt plasseres i de samme stativene, men med en innsats som gir plass til fem snitt på langs.
8. Ferdigskårede blokker legges løpende i hvite bokser (start nederst til vestre) umiddelbart etter snitting. Tørk av eventuell fuktighet. Fuktighet på blokkene kan over tid kan føre til rehydrering og dårlig morfologi og falske negative resultater ved etterbestilte immunanalyser.

Dersom vevet ikke lar seg snitte:

- For hardt: Prøv med bløtevæske i et par minutter. Skyll blokken etterpå med vann. Legg inn kommentar om at bløtevæske er brukt.
- Ved mistanke om for lite eller manglende dekalsinering, før tilbake til formalin for dekalsinering. Registrer «Hendelse» i LVMS.
- For mye fett/utilstrekkelig dehydrering: Konsulter med en patolog om det er aktuelt med damping. Damping kan ikke utføres på tumorvev og eller ved behov for immunfarging. Registrer «Hendelse» i LVMS.
 - Blokkene legges i passende støpeform og plasseres i varmekammeret i støpestenteret, fra noen timer til natten over (avhengig av hvor fettrikt preparatet er). Støpes så på vanlig måte med ny voks.
- Ved mistanke om feil ved fremføring, føres blokkene tilbake til formalin. Registrer «Hendelse» i LVMS.
- Ved feil orientering av vev: Smelt blokken og støp på nytt. Registrer «Hendelse» i LVMS.
- Luftbobler i blokken: Smelt blokken og støp på nytt. Registrer «Hendelse» i LVMS.

Referanser

[II.MSK.Pat.2.3.2.1-25 Snitting, Oversikt: plan, spesialfarger, Histologisk enhet, Histologilaboratorium, Avd. for patologi, SSK](#)

[II.MSK.Pat.2.3.2.1-19 Mikrotom, Thermo Scientific HM 355S, Histologilaboratorium, Histologisk enhet, Avd. for patologi, SSK](#)

[II.MSK.Pat.2.3.2.1-20 Mikrotom, Thermo Scientific, Section Transfer system 771200, Histologilaboratorium, Histologisk enhet, Avd. for patologi, SSK](#)

Vedlegg

Tips og triks for snitting:

[O:\Medisinsk serviceklinikk\Avdeling for patologi SSK\Histologi\Felles\Histologi\snitting](#)