

Giemsa (Romawsky), Histologilaboratorium, Histologisk enhet, Avd. for patologi SSK

Side 1 av 4

Dokumentplassering:

II.MSK.Pat.2.3.2.4.2-4

Godkjent dato:

14.04.2023

Gyldig til:

14.04.2025

Dato endret:

14.04.2023

Revisjon:

11.00

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


DISTRIBUSJONSliste: EK

ENDRINGER FRA FORRIGE VERSJON: ny maskinell metode

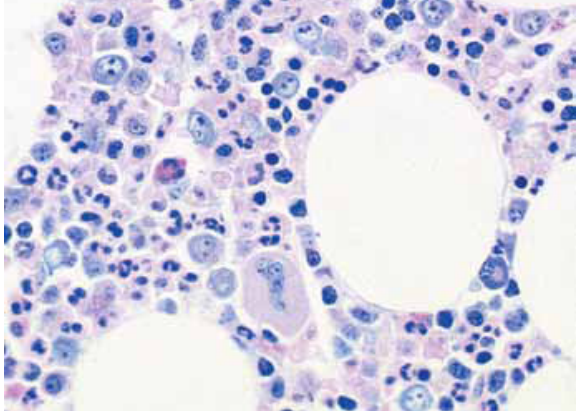
Omfang	Prosedyren gjelder for bioingeniører ved Enhet for histologi, med opplæring i bruk av spesialfargeinstrumentet Benchmark Special Stains (BSS) og softwareprogrammet Ventana Special Stains (VSS).
Bakgrunn	<p>Kvalitativ fargeteknikk</p> <ul style="list-style-type: none"> Differensierer leukocytter - benyttes på benmarg og annet hematopoetisk vev, f.eks. lymfeknuter. Påvise enkelte mikroorganismer, som Helicobacter pylori i gastrobiopsier. Påvise mastceller ved kutan mastocytose.
Akkreditert?	Ja
Prinsipp	<p>I Romanowskyfargemetoden Giemsa benyttes en polykromatisk fargeløsning som består av en blanding av oksiderte metylenblå (Azure B) farger og Eosin Y. De ulike celletypene og mikroorganismene har ulik affinitet for de forskjellige fargene i løsningen.</p> <p>Studier av reaksjoner mellom DNA og Azure B indikerer at Azure B finnes som dimerer i løsning og fester seg til de negativt ladede fosfatgruppene i DNA. Tiltrekking av eosin-anioner til Azure B-dimerer som er bundet til DNA, gjør at fargen på kjernen endres fra blå til blållilla. Eosin er også tiltrukket til proteiner som for eksempel hemoglobin i erytrocytter og basisk protein i eosinofile granulocytter. Fargingen må vare lenge nok for å oppnå differensial farging.</p> <p>Vann er polart, slik at bindingen av basiske fargeioner til sure vevskomponenter (og syreioner til basiske komponenter) er mer effektiv. Dersom vann ikke er tilstede, kan man risikere at Azurfargene ikke farger metakromatisk.</p> <p>Differensiering med fortynnet eddiksyre fjerner den basiske fargen som overfarger snittet og maskerer eosin.</p>
Ytelse	Aktive molekyler absorberes meget raskt av cellulære strukturer.
Sikkerhet	Meget brannfarlig. Giftig ved innånding, hudkontakt og svelging.
Prøvemateriale	Parafinsnitt, 3 µm tykt, (1,5 µm for benmargssnitt) på superfrost plus-glass med tilhørende kontroll.
Undersøkelse	Farging av snitt til mikroskopering.
Forsendelse	Ikke relevant.
Oppbevaring og prøvepreparering	<p>Fargesettet oppbevares i romtemperatur på hylle ved instrumentet.</p> <p>Bulkreagenser oppbevares i romtemperatur.</p> <p>Instrumentet er helautomatisk.</p> <p>Prøvepreparering omfatter kun skjæring av snitt, printing på objektglass og klistring av blank lapp over merkefeltet.</p>
Utstyr, kalibrering	BenchMark Special Stains med tilhørende utstyr og software, Tissue-Tek Prisma og – Film, superfrost plus-glass med aktuelt kontrollsnitt.
Interferens/kryssreaksjoner og andre feilkilder	<p>Hette på reagensflaskene ikke fjernet.</p> <p>For lite bulkreagenser til at protokollen kan fullføres.</p> <p>Forbytting av bulkreagenser.</p> <p>Dårlig vannkvalitet.</p> <p>Dårlig snittkvalitet, for tykt eller for tynt.</p>


DokumentID:D01954

Utarbeidet av: Britt Bringaker, Hege Wiksén	Fagansvarlig: Hege Wiksén	Godkjent av: Avdelingsjef Hilde Bjørnestøl Hansen	Verifisert av: 14.04.2023 - Linda Kvelland Skaara
---	-------------------------------------	---	---

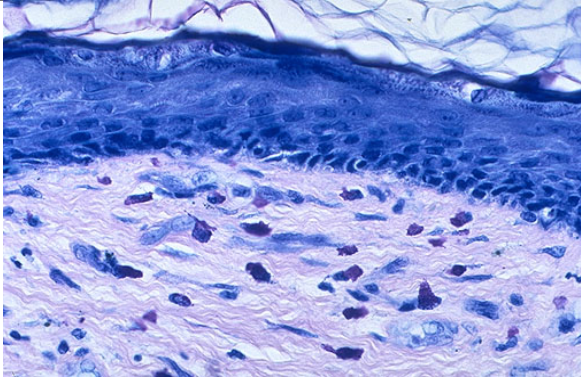
	Giemsa (Romawsky), Histologilaboratorium, Histologisk enhet, Avd. for patologi SSK				Side: 2 Av: 4
Dokumentplassering: II.MSK.Pat.2.3.2.4.2-4	Utarbeidet av: Britt Bringaker, Hege Wiksén	Fagansvarlig: Hege Wiksén	Godkjent dato: 14.04.2023	Godkjent av: Avdelingssjef Hilde Bjørnestrøl Hansen	Revisjon: 11.00

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

	Overdifferensiering dersom snittet blir stående for lenge i 0,1% eddiksyre eller etanol.								
<i>Reagenser, slå sammen</i>	Giemsa Staining Kit, 860-006, Roche BenchMark Special Stains Deparaffinization Solution (10 X), 860-036, Roche BenchMark Special Stains Liquid Coverslip, 860-034, Roche BenchMark Special Stains Wash II, 860-041, Roche Deionisert vann 0,1 % Eddiksyre								
<i>Tillaging av reagenser</i>	Fargesettet er klart til bruk. Bulkreagenser blandes ved behov. Se egen prosedyre. 0,1 % Eddiksyre: Konsentrert eddiksyre fortynnes med deionisert vann 1:10.								
<i>Kontrollmateriale</i>	Vev med mastceller. Kontrollblokker, kontrollsnitt og snitteske er merket Giemsa.								
<i>Utførelse</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Superfrost plus-glass med kontrollsnitt hentes fra snitteske. • Objektglasset merkes ved hjelp av SlideMate objektglassmerkemaskin. Se egen prosedyre. • Snitt fra aktuell prøve monteres nedenfor kontrollsnittet. • Fargeprotokollen utføres på spesialfargemaskinen BenchMark Special Stains. Se egen prosedyre. • Ved fullført protokoll differensieres snittet i 0,1% eddiksyre med et par raske dypp. • Deretter dehydreres, klares og dekkes prøven i Tissue-Tek Prisma/-Film ved hjelp av programmet «spesfarg dehydrering». Se egen prosedyre. 								
<i>Evaluering av resultat/ Vurdering av kontroller</i>	<table border="1"> <tr> <td>Kjerner</td> <td>Blålilla</td> </tr> <tr> <td>Erytrocytter</td> <td>Rosa mot rød</td> </tr> <tr> <td>Eosinofile granulocytter</td> <td>Rød</td> </tr> <tr> <td>Monocyttter, lymfocytter og mastceller</td> <td>Blå mot lilla</td> </tr> </table> 	Kjerner	Blålilla	Erytrocytter	Rosa mot rød	Eosinofile granulocytter	Rød	Monocyttter, lymfocytter og mastceller	Blå mot lilla
Kjerner	Blålilla								
Erytrocytter	Rosa mot rød								
Eosinofile granulocytter	Rød								
Monocyttter, lymfocytter og mastceller	Blå mot lilla								

 SØRLANDET SYKEHUS	Giemsa (Romawsky), Histologilaboratorium, Histologisk enhet, Avd. for patologi SSK				Side: 3 Av: 4
Dokumentplassering: II.MSK.Pat.2.3.2.4.2-4	Utarbeidet av: Britt Bringaker, Hege Wiksén	Fagansvarlig: Hege Wiksén	Godkjent dato: 14.04.2023	Godkjent av: Avdelingsjef Hilde Bjørnestøl Hansen	Revisjon: 11.00

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

	 <p>Mastceller i dermis</p> <ul style="list-style-type: none"> • Det skal være lett å skjelne mellom de ulike hematologiske cellene. • Bakterielle former er lett å kjenne igjen og siden mucin er så å si ufarget er det lett å se dem.
Usikkerhet	Farging av vevssnitt er mer variabel enn i blodutstryk fordi vevssnittene inneholder flere fargbare komponenter. Måleusikkerhet.
Avfallshåndtering	Se prosedyre for Faremerker/avfallshåndtering for kjemikalier. Avd. for patologi. SSK.
Validering/dokumentasjon/referanser	<ul style="list-style-type: none"> • Manual of Histological Techniques and their Diagnostic Application. Bancroft and Cook, Churchill Livingstone (opprinnelig kilde). • Bryan Llewellyn • BenchMark Special Stains General Reference Guide_v1.0 • BenchMark Special Stains Product Guide_v3.0 • Pakningsvedlegg: Giemsa staining Kit, Ref 860-006,Roche, 15107EN Rev G • SLP: O:\Medisinsk serviceklinikk\Avdeling for patologi SSK\Felles\SLP\Histologi\UKNEQAS • Verifiseringsvedlegg: O:\Medisinsk serviceklinikk\Avdeling for patologi SSK\Histologi\Felles\Histologi\BencMark Special Stains Ventana\Verifisering_BSS_2020.xlsx • Endringskontroll • Verifisering

Kryssreferanser:

[II.MSK.Pat.10.4-1 Måleusikkerhet, Histologisk enhet. Avd. for patologi. SSK](#)

[II.MSK.Pat.2.1-8 Faremerker/avfallshåndtering for kjemikalier. Avd. for patologi. SSK.](#)

[II.MSK.Pat.2.3.2.1-5 Merking av objektglass, Enhet for histologi, Avd. for patologi, SSK](#)

[II.MSK.Pat.2.3.2.4.1-2 Spesialfargekjøring. BenchMark Special Stains. Histologilaboratorium, Histologisk enhet, Avdeling for patologi. SSK](#)


[II.MSK.Pat.2.3.2.4.1-3 Bulkreagenser. BenchMark Special Stains. Histologilaboratoriet, Histologisk enhet, Avd. for patologi, SSK](#)

[II.MSK.Pat.10.3.2.3.1.9-2 Endringskontroll. Benchmark Special Stain. Enhet for histologi. Avd. for patologi. SSK](#)

[II.MSK.Pat.10.3.2.3.2.10-2 Verifisering av BenchMark Special Stains. Enhet for Histologi. Avdeling for Patologi. SSK](#)

[II.MSK.Pat.10.3.2.3.2.10-2 Verifisering av BenchMark Special Stains. Enhet for Histologi. Avdeling for Patologi. SSK](#)

[II.MSK.Pat.2.3.2.1-10 Tissue-Tek® Prisma® Film®, Histab, Histologisk enhet, Avd. for patologi, SSK](#)

 SØRLANDET SYKEHUS	Giemsa (Romawsky), Histologilaboratorium, Histologisk enhet, Avd. for patologi SSK				Side: 4 Av: 4
Dokumentplassering: II.MSK.Pat.2.3.2.4.2-4	Utarbeidet av: Britt Bringaker, Hege Wiksén	Fagansvarlig: Hege Wiksén	Godkjent dato: 14.04.2023	Godkjent av: Avdelingssjef Hilde Bjørnestøl Hansen	Revisjon: 11.00

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

Eksterne referanser:

<O:\Medisinsk serviceklinikk\Avdeling for patologi SSK\Avd for patologi SSK\HIST Seksjon\Mailer fra Bryan Llewellyn, 2013>