

**Masson Trikrom, Histologisk laboratorium, Histologisk enhet, Avdeling for Patologi, SSK**

Side 1 av 4

Dokumentplassering:

**II.MSK.Pat.2.3.2.4.2-7**

Godkjent dato:

**18.08.2020**

Gyldig til:

**18.08.2022**

Dato endret:

**18.08.2020**

Revisjon:

**8.00**

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


DISTRIBUSJONSliste: EK, perm histologisk lab og i forenklet versjon i tarifolder histologisk lab.

ENDRINGER FRA FORRIGE VERSJON: Rettet enkelte skrivefeil. Forlenget

<b>Omfang</b>	Denne prosedyre gjelder for bioingeniører, histologisk laboratorium. ☺
<b>Bakgrunn</b>	Å skille mellom nekrose og fibrose i leverpatologi.
<b>Akkreditert?</b>	Ja
<b>Prinsipp</b>	<p>I denne fargen benyttes trikromprinsippet. Vevsstrukturer får ulik gjennomtrengelighet etter fiksering. Ved trikromfarger utnyttes denne egenskapen. Formalinfiksering danner et uløselig protein-nettverk med større porer i kollagen (spesielt type IV) og mye mindre porer i muskel, erythrocytter og cytoplasma. Formalin er ikke nok for å oppnå godt resultat i trikromfarging. Kryssbindene fiksativer, som for eksempel formalin, maskerer reaktive grupper som ellers ville binde de sure fargene som blir brukt i trikromfarger. Derfor må snittene etterbehandles med Bouins fiksativ før videre farging.</p> <p>Termen trikromfarger refererer til en gruppe av nesten like teknikker for å skille mellom ulike bindevevselementer som kollagen, muskulatur, erythrocytter osv. Man farger først kjernene med jernhematoxylin fordi vi her skal bruke sure løsninger.</p> <p>Deretter brukes to anioniske farger, som gir god kontrast, og som har vidt ulik molekylær størrelse. Kollagen (blå) farges alltid med større fargemolekyl, mens muskel og cytoplasma (rød) farges med de mindre fargemolekylene. Differensiering gir ulike nyanser av rødfarge til slutt.</p> <p>Når fargene brukes i rekkefølge, vil det minste fargemolekylet bindes til kationiske områder i alt vev, men blir lett vasket ut fra steder med større porer. Det lager vei til det største fargemolekylet for å kunne trenge gjennom kollagenstrukturen. Fosformolybdensyre antas å fortrenge små fargemolekyler fra vev med større porer og blir videre selv fortrenget av større fargemolekyler. (Hvordan det egentlig er, strides de lærde, men de antar at det må være slik).</p>
<b>Ytelse</b>	<p>Trikromfarger er spesielt nyttige når man skal vurdere tilstedeværelse og tetthet av fibrose i snitt fra lever, nyre og lunge. Identifisering av tidlig fibrose kan tillate terapeutisk innblanding før sluttstadiet i sykdom. Tidlig fibrose kan være ikke mistenkelig, eller maskert av et inflammatorisk infiltrat i HE-fargen, men en veldifferensiert trikromfarge er sensitiv nok til å vise tidlige endringer.</p> <p>Å farge selektivt er avhengig av fiksativ. Dersom man bruker et fiksativ som ikke inneholder kvikksølvklorid eller pikrinsyre, er det nødvendig å forbehandle med Bouins, mettet pikrinsyre eller kvikksølvklorid. I denne prosedyren brukes Bouins. Selektivitet er også påvirket av pH til fargene, fargetid og vaskesteg.</p>
<b>Sikkerhet</b>	<p><b>Bouins:</b> Inneholder pikrinsyre og formalin. Kreftrisiko og allergirisiko. Må ikke tørke ut, fare for eksplosjon.</p> <p><b>Phosphotungstic/phosphomolybdic Acid:</b> Etsende og irriterer luftveiene.</p> <p><b>Biebrich Scarlet – Acid Fuchsin:</b> Unngå søl, hud- og øyekontakt.</p> <p><b>Det er viktig å jobbe i avtrekk! Bruk hansker!</b></p>


DokumentID:D29575

Utarbeidet av: <b>Fagbioingeniør Hege Wiksén</b>	Fagansvarlig: <b>Hege Wiksén</b>	Godkjent av: <b>Avdelingssjef Hilde Bjørnestøl Hansen</b>	Verifisert av: <b>18.08.2020 - Linda Kvelland Skaara</b>
---	-------------------------------------	--	---

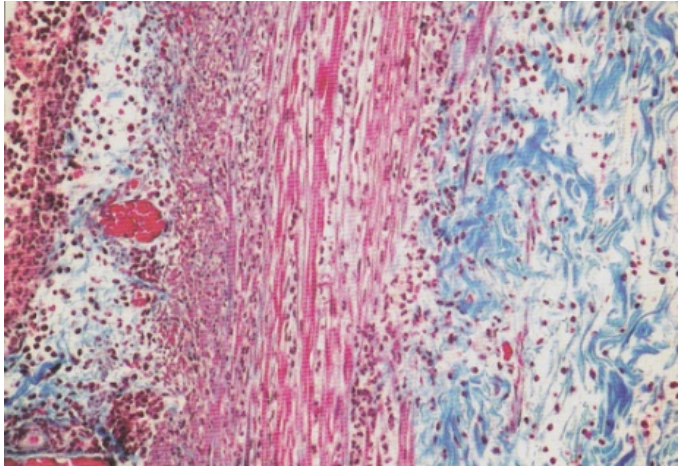
 SØRLANDET SYKEHUS	<b>Masson Trikrom, Histologisk laboratorium, Histologisk enhet, Avdeling for Patologi, SSK</b>				Side: 2 Av: 4
	Dokumentplassering: II.MSK.Pat.2.3.2.4.2-7	Utarbeidet av: Fagbioingeniør Hege Wiksén	Fagansvarlig: Hege Wiksén	Godkjent dato: 18.08.2020	Godkjent av: Avdelingssjef Hilde Bjørnestøl Hansen


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

<i>Prøvemateriale</i>	Parafinsnitt.
<i>Undersøkelse</i>	Farging av snitt til mikroskopering
<i>Forsendelse</i>	Ikke relevant.
<i>Oppbevaring og prøvepreparering</i>	Løsningene oppbevares i syreskap på histologisk enhet. Det hvite glasset som brukes til Bouins, skal stå i avtrekket på histologilab.
<i>Utstyr, kalibrering</i>	Det brukes eget kit fra Polysciences Inc. til deler av prosedyren. Se reagenser.
<i>Interferens/kryssreaksjoner og andre feilkilder</i>	De vanligste feilkildene for denne fargen er at vevet kan være dårlig fiksert, at man ikke har forbehandlet med Bouins væske, brukt for gamle løsninger osv. Se for øvrig side 96- 101 i boka "Histologic Preparations".
<i>Reagenser, slå sammen</i>	Bouins Fixative, 320700, RAL Weigert's Iron Hematoxylin, A: 115974/1 Merck Weigert's Iron Hematoxylin, B: 115974/2 Merck Biebrich Scarlet – Acid Fuchsin Solution, 25088C, 500 mL Phosphotungstic/phosphomolybdic Acid, 25088D, 500 mL Aniline Blue, 25088E, 500 mL 1 % Acetic Acid, 25088F, 500 mL
<i>Tillaging av reagenser</i>	<b>Weigert's Iron Hematoxylin:</b> Like deler av løsning A- og B-løsning.
<i>Kontrollmateriale</i>	Glatt muskulatur i blodårens vegg er nyttig for å verifisere korrekt rød farge. Kollagen, som er til stede i mesteparten av vev (lever), brukes til å verifisere den blå fargen. Kontrollblokkene finnes i skapet på histologilab og i skuff merket "kontrollblokker".
<i>Utførelse</i>	<b>Husk kontrollsnitt på Superfrost+ glass!</b> <b>Arbeid i avtrekk.</b> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Avparafinere og rehydrere ved hjelp av programmet «Avparafinering» i Tissue-Tek Prisma.</li> <li>2. Behandle snittet med forvarmet Bouins i 1 time i 60 °C (Varmeskap i fremføringsrommet)/Evt 1 døgn i romtemperatur. Bruk hvit fargeskål i plastikk med skrukork. Løsningen kan brukes tre ganger.</li> <li>3. Vask i rennende vann under avtrekk for å fjerne pikrinsyren, 5 min.</li> <li>4. Weigert's Iron Hematoxylin bruksløsning, 20 min.</li> <li>5. Vask i rennende vann i minst 10 min</li> <li>6. Skyll kort i deionisert vann.</li> <li>7. Biebrich Scarlet – Acid Fuchsin Solution, 5 min.</li> <li>8. Vask bort overflødig farge i deionisert vann.</li> <li>9. Phosphotungstic/phosphomolybdic acid, 10 min.</li> <li>10. Hell av fargen, ikke skyll!</li> <li>11. Aniline Blue, 5 min.</li> <li>12. Skyll i deionisert vann.</li> <li>13. 1 % Acetic Acid, 1 min.</li> <li>14. Hell av løsning skyll deionisert vann.</li> <li>15. Dehydrere, klare og dekke.</li> </ol>

 SØRLANDET SYKEHUS		<b>Masson Trikrom, Histologisk laboratorium, Histologisk enhet, Avdeling for Patologi, SSK</b>			<b>Side: 3</b> <b>Av: 4</b>
Dokumentplassering: II.MSK.Pat.2.3.2.4.2-7	Utarbeidet av: Fagbioingeniør Hege Wiksén	Fagansvarlig: Hege Wiksén	Godkjent dato: 18.08.2020	Godkjent av: Avdelingssjef Hilde Bjørnestøl Hansen	Revisjon: 8.00

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

	<p><b>Resultat:</b></p> <table border="1"> <tr> <td>Kjerne</td> <td>Brunsort</td> </tr> <tr> <td>Cytoplasma, muskel og røde blodceller</td> <td>Ulike nyanser av rødt</td> </tr> <tr> <td>Kollagen</td> <td>Blå</td> </tr> </table> 	Kjerne	Brunsort	Cytoplasma, muskel og røde blodceller	Ulike nyanser av rødt	Kollagen	Blå
Kjerne	Brunsort						
Cytoplasma, muskel og røde blodceller	Ulike nyanser av rødt						
Kollagen	Blå						
<i>Evaluering av resultat/ Vurdering av kontroller</i>	Kfr. boka "Histologic Preparations, Common Problems and their Solutions", Richard W. Brown						
<i>Usikkerhet</i>	Vevet må være korrekt fiksert og fremført for at farger resultatet skal bli bra. I denne metoden brukes Bouins fikseringsvæske i tillegg for et bra fikseringsresultat. <a href="#">Måleusikkerhet.</a>						
<i>Avfallshåndtering</i>	Bouins fixative kan brukes opp til tre ganger. Se prosedyre for <a href="#">Faremerker/avfallshåndtering for kjemikalier. Avd. for patologi. SSK.</a>						
<i>Validering/dokumentasjon/ referanser</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Clinical studies, Special stains can distinguish hepatic necrosis with regenerative nodules from cirrhosis, Linda D. Ferrell and Mathew S. Greenberg, University of California, San Francisco, CA, USA. Liver International ISSN 1478-3223.</li> <li>Theory and Practice of Histological Techniques, John D. Bancroft and Alan Stevens, Churchill Livingstone</li> <li>Histologic Preparations, Common Problems and their Solutions, av Richard W. Brown, College of American Pathologists Press</li> <li>Polysciences Inc, technical data sheet 922</li> <li><a href="#">Verifisering av kit på Masson Trikrom, Histologisk enhet, Avd. for Patologi, SSK</a></li> <li><a href="#">SLP\Histologi</a> (CQ3-18)</li> </ul>						

 SØRLANDET SYKEHUS	<b>Masson Trikrom, Histologisk laboratorium, Histologisk enhet, Avdeling for Patologi, SSK</b>				<b>Side: 4</b> <b>Av: 4</b>
Dokumentplassering: II.MSK.Pat.2.3.2.4.2-7	Utarbeidet av: Fagbioingeniør Hege Wiksén	Fagansvarlig: Hege Wiksén	Godkjent dato: 18.08.2020	Godkjent av: Avdelingssjef Hilde Bjørnestøl Hansen	Revisjon: 8.00

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

**Kryssreferanser:**

[II.MSK.Pat.10.3.2.3.2.3-8 Verifisering av kit på Masson Trikrom, Histologisk enhet, Avd. for Patologi, SSK](#)  
[II.MSK.Pat.10.4-1 Måleusikkerhet, Histologisk enhet, Avd. for patologi, SSK](#)  
[II.MSK.Pat.2.3.2.4.2-23 Forenklet Masson Trikrom, Histologisk laboratorium, Histologisk enhet, Avd. for patologi, SSK \(ARKIVERT\)](#)