

 SØRLANDET SYKEHUS				Medisinsk serviceklinikk		Prosedyre	
Masson Trikrom, Histologisk laboratorium, Histologisk enhet, Avdeling for Patologi, SSK						Side 1 av 6	
Dokumentplassering: II.MSK.Pat.2.3.2.4.2-7			Godkjent dato: 22.01.2025	Gyldig til: 22.01.2027	Dato endret: 22.01.2025	Revisjon: 9.00	

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

DISTRIBUSJONSliste: EK

ENDRINGER FRA FORRIGE VERSJON: Justert til BenchMark Special Stains

Omfang	Prosedyren gjelder for bioingeniører med opplæring i bruk av spesialfargeinstrumentet BenchMark Special Stains (BSS) og softwareprogrammet Ventana Special Stains (VSS).
Bakgrunn	Kvalitativ fargeteknikk. Skiller bindevev (kollagen) fra muskelvev, epitel og blodceller i formalinfikserte parafininnstøpte (FFPE) vevssnitt farget på BenchMark Special Stains instrument. Brukes ved evaluering av fibrose. Den primære markøren for fibrose er overvekst og/eller arrdannelse som er assosiert med kollagenvolum. Fibrose som oppstår i vev/organer kan føre til organdysfunksjon. Fargemetoden kan derfor brukes til å påvise skader på organer ved sykdommer som kronisk nyresykdom, skrumplever, hjerteinfarkt og til å vurdere graden av bindevevsreaksjon rundt svulster.
Akkreditert?	Ja
Prinsipp	Trikromprinsippet er basert på prinsippene for syre-base kjemi og fortrenning av fargestoff ved at de ulike vevskomponentene har ulik permeabilitet og fargebindingsaffinitet for de ulike sure fargestoffene som benyttes. Vevsstrukturer får ulik gjennomtrengelighet etter fiksering. Formalinfiksering danner et uløselig protein-nettverk med større porer i kollagen (spesielt type IV) og mye mindre porer i muskel, erytrocytter og cytoplasma. Formalinfiksering gir ikke optimale forhold for vevets syre-base-egenskaper. 10% bufret formalin vil medføre dannelse av kryssbindende metylenbroer mellom aminosyrer. Permeabiliteten for de sure fargene nedsettes. Etterbehandling med Bouins' fiksativ (blanding av eddiksyre, pikrinsyre og formaldehyd) reverserer formalinfikseringen til en viss grad slik at metylenbroene ikke hindrer fargemolekyler å trenge inn. pH senkes til et nivå som er fordelaktig for sure fargeløsninger. Fargeintensiteten økes. Tre sure løsninger brukes slik at basiske vevskomponenter farges selektivt, ved hjelp av pH, molekylvekt og inkuberingstid med de ulike reagensene. 1. Plasmafargen Trichome Red, som inneholder Biebrich scarlet og syrefuksin, har fargemolekyler med lav molekylvekt. Disse trenger gjennom porer i cellene og farger hele vevet rødt. 2. Trichrome Mordant består av fosforwolframsyre og fosfomolybdensyren (polyacid). Dette er større molekyler med høyere molekylvekt som trenger gjennom porene som er store nok og fortrenger de mindre røde fargemolekylene, forutsatt at det ikke er høy affinitet for de sistnevnte. Kollagen lar seg lett avfarge. 3. Fiberfargen Trichrome Blue inneholder Anilinblå. Fargemolekylene fra denne løsningen fortrenger og erstatter polyacid enklere enn plasmafargen. Dermed vil kollagen farges blått, mens plasma beholder sin røde farge. Weigerts jernhematoxylin er motstandsdyktig mot syre og brukes derfor som

DokumentID:D29575

Utarbeidet av: Fagbioingeniør Hege Wiksén	Fagansvarlig: Hege Wiksén	Godkjent av: Avdelingssjef Hilde Bjørnestøl Hansen	Verifisert av: 22.01.2025 - Linda Kvelland Skaara
---	-------------------------------------	--	---

 SØRLANDET SYKEHUS	Masson Trikrom, Histologisk laboratorium, Histologisk enhet, Avdeling for Patologi, SSK				Side: 2 Av: 6
Dokumentplassering: II.MSK.Pat.2.3.2.4.2-7	Utarbeidet av: Fagbioingeniør Hege Wiksén	Fagansvarlig: Hege Wiksén	Godkjent dato: 22.01.2025	Godkjent av: Avdelingssjef Hilde Bjørnestøl Hansen	Revisjon: 9.00

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

	kjernefarge.																																														
Ytelse	En veldifferensiert trikromfarge er sensitiv nok, og gir tydelig nok kontrast til å vise tidlige endringer som ikke vises med HE-farge. Trichrome Staining Kit er testet for å vise kollagenfibre, muskel- og bindevev. Det henvises til metodeark fra Roche for ytterligere informasjon om analytisk ytelse.																																														
Sikkerhet	<table><thead><tr><th>Fare</th><th>Kode</th><th>Setning</th></tr></thead><tbody><tr><td rowspan="2"></td><td>H225</td><td>Svært brannfarlig væske og damp.</td></tr><tr><td>H302 + H332</td><td>Farlig ved svelging eller innånding.</td></tr><tr><td rowspan="2"></td><td>H314</td><td>Gir alvorlige etseskader på hud og øyne.</td></tr><tr><td>H317</td><td>Kan gi en allergisk hudreaksjon.</td></tr><tr><td rowspan="2"></td><td>H341</td><td>Mistenkes for å kunne forårsake genetiske skader.</td></tr><tr><td>H350</td><td>Kan forårsake kreft.</td></tr><tr><td rowspan="2"></td><td>H371</td><td>Kan forårsake organskader.</td></tr><tr><td>P201</td><td>Innhent særskilt instruks før bruk.</td></tr><tr><td rowspan="2"></td><td>P210</td><td>Holdes borte fra varme, varme overflater, gnister, åpen flamme og andre antenningskilder. Røyking forbudt.</td></tr><tr><td>P260</td><td>Ikke pust inn tåke eller damp.</td></tr><tr><td></td><td>P280</td><td>Benytt vernehansker/verneklær/øyevern/ansiktsvern/hørselve m.</td></tr><tr><td></td><td>P303 + P361 + P353</td><td>VED HUDKONTAKT (eller håret): Tilsølte klær må fjernes straks. Skyll huden med vann.</td></tr><tr><td></td><td>P304 + P340 + P310</td><td>VED INNÅNDING: Flytt personen til frisk luft og sørg for at vedkommende har en stilling som letter åndedrettet. Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER/en lege.</td></tr><tr><td></td><td>P305 + P351 + P338 + P310</td><td>VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen. Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER/en lege.</td></tr><tr><td></td><td>P308 + P311</td><td>Ved eksponering eller mistanke om eksponering: Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER/en lege.</td></tr><tr><td></td><td>P370 + P378</td><td>Ved brann: Slukk med tørr sand, tørt kjemikalie eller alkoholresistent skum som sløkkemiddel.</td></tr></tbody></table> Dette produktet inneholder sertifisert Aniline Blue W/S. Kan gi en allergisk reaksjon. Hentet fra metodeark	Fare	Kode	Setning		H225	Svært brannfarlig væske og damp.	H302 + H332	Farlig ved svelging eller innånding.		H314	Gir alvorlige etseskader på hud og øyne.	H317	Kan gi en allergisk hudreaksjon.		H341	Mistenkes for å kunne forårsake genetiske skader.	H350	Kan forårsake kreft.		H371	Kan forårsake organskader.	P201	Innhent særskilt instruks før bruk.		P210	Holdes borte fra varme, varme overflater, gnister, åpen flamme og andre antenningskilder. Røyking forbudt.	P260	Ikke pust inn tåke eller damp.		P280	Benytt vernehansker/verneklær/øyevern/ansiktsvern/hørselve m.		P303 + P361 + P353	VED HUDKONTAKT (eller håret): Tilsølte klær må fjernes straks. Skyll huden med vann.		P304 + P340 + P310	VED INNÅNDING: Flytt personen til frisk luft og sørg for at vedkommende har en stilling som letter åndedrettet. Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER/en lege.		P305 + P351 + P338 + P310	VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen. Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER/en lege.		P308 + P311	Ved eksponering eller mistanke om eksponering: Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER/en lege.		P370 + P378	Ved brann: Slukk med tørr sand, tørt kjemikalie eller alkoholresistent skum som sløkkemiddel.
Fare	Kode	Setning																																													
	H225	Svært brannfarlig væske og damp.																																													
	H302 + H332	Farlig ved svelging eller innånding.																																													
	H314	Gir alvorlige etseskader på hud og øyne.																																													
	H317	Kan gi en allergisk hudreaksjon.																																													
	H341	Mistenkes for å kunne forårsake genetiske skader.																																													
	H350	Kan forårsake kreft.																																													
	H371	Kan forårsake organskader.																																													
	P201	Innhent særskilt instruks før bruk.																																													
	P210	Holdes borte fra varme, varme overflater, gnister, åpen flamme og andre antenningskilder. Røyking forbudt.																																													
	P260	Ikke pust inn tåke eller damp.																																													
	P280	Benytt vernehansker/verneklær/øyevern/ansiktsvern/hørselve m.																																													
	P303 + P361 + P353	VED HUDKONTAKT (eller håret): Tilsølte klær må fjernes straks. Skyll huden med vann.																																													
	P304 + P340 + P310	VED INNÅNDING: Flytt personen til frisk luft og sørg for at vedkommende har en stilling som letter åndedrettet. Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER/en lege.																																													
	P305 + P351 + P338 + P310	VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen. Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER/en lege.																																													
	P308 + P311	Ved eksponering eller mistanke om eksponering: Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER/en lege.																																													
	P370 + P378	Ved brann: Slukk med tørr sand, tørt kjemikalie eller alkoholresistent skum som sløkkemiddel.																																													
Prøvemateriale	Histologiske snitt (4,5 µm) fra formalinfiksert parafininnstøpt vev.																																														
Undersøkelse	Farging av snitt til mikroskopering																																														
Forsendelse	Ikke relevant.																																														
Oppbevaring og prøvepreparering	Fargesettet oppbevares i 2-8°C, i kjøleskap på rom 1013BI. Bulkreagenser oppbevares i romtemperatur på rom 1009BI. Instrumentet er helautomatisk. Prøvepreparering omfatter kun skjæring av snitt: Tykkelse: 4,5 µm.																																														
Utstyr, kalibrering	BenchMark Special Stains med tilhørende utstyr og software. Tissue-Tek Prisma og –Film. Mikrotom, kjøleplate, vannbad, objektglassmerkemaskin, mikrotomknivblad. Objektglass: Superfrost plus- eller Tomo Adhesive-glass med aktuelt kontrollsnitt.																																														

 SØRLANDET SYKEHUS	Masson Trikrom, Histologisk laboratorium, Histologisk enhet, Avdeling for Patologi, SSK				Side: 3 Av: 6
Dokumentplassering: II.MSK.Pat.2.3.2.4.2-7	Utarbeidet av: Fagbioingeniør Hege Wiksén	Fagansvarlig: Hege Wiksén	Godkjent dato: 22.01.2025	Godkjent av: Avdelingssjef Hilde Bjørnestøl Hansen	Revisjon: 9.00

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

	Mikroskop. Kjøleskap.
<i>Interferens/ Kryssreaksjoner og andre feilkilder</i>	Feil fiksering eller utilstrekkelig avparafinering ➤ kan gi falskt negativt resultat eller fargingsartefakter. Nekrotisk eller autolysert vev ➤ kan vise ikke-spesifikk farging. Fargetid ➤ tilpasses slik at molekylerne fra hvert reagens får nok tid til å trenge inn i de vevskomponentene de skal farge, men ikke så lenge at de også klarer å trenge inn i de andre vevskomponentene. Skylletid ➤ kan gi dårlig selektivitet dersom den er forlenget slik at farge vaskes ut. Snittykkelse ➤ kan påvirke kvalitet og fargingsintensitet. Uladet objektglass ➤ kan føre til at snittene vaskes av. Lang tid i instrumentet etter endt kjøring ➤ kan det påvirke fargingskvaliteten og intensiteten. Feil oppbevaring av reagenser ➤ kan gi dårligere kvalitet og påvirke fargerresultatet.
<i>Reagenser, slå sammen</i>	Trichrome Staining Kit, 6521908001, Roche BenchMark Special Stains Deparaffinization Solution (10 X), 6523102001, Roche BenchMark Special Stains Liquid Coverslip, 6523072001, Roche BenchMark Special Stains Wash II, 8309817001, Roche Deionisert vann
<i>Tillaging av reagenser</i>	Fargesettet er klart til bruk. Bulkreagenser blandes ved behov. Se egen prosedyre .
<i>Kontrollmateriale</i>	Humant FFPE-vev fra kolon, nyre, lever eller hud kan benyttes som positiv kontroll. Kontrollvev skal være prøver fra nylig foretatt obduksjon, biopsi eller operasjon som er klargjort eller fiksert så snart som mulig på samme måte som testsnittene. Glatt muskulatur i blodårens vegg er nyttig for å verifisere korrekt rødfarge. Kollagen i f.eks lever brukes til å verifisere den blå fargen. Kontrollblokkene finnes i skuff merket "kontrollblokker".
<i>Utførelse</i>	Benytt Superfrost plus- eller TOMO-glass. • Objektglass merkes med riktig prøve-id ved hjelp av LVMS og SlideMate. • Kontrollsnitt og snitt fra aktuell prøve snittes ferskt, 10 µm tykt og monteres på objektglasset. • Kontrollsnittet plasseres cirka 0,5-1 cm nedenfor merkefeltet, og snitt fra prøven monteres nedenfor. • Forsegling festes over merkeområdet med prøve-id. • Fargeprotokollen utføres på spesialfargemaskinen BenchMark Special Stains. Se egen prosedyre for hvordan instrumentet betjenes. For detaljert protokoll, se under. • Ved fullført protokoll dehydreres, klares og dekkes prøven i Tissue-Tek Prisma/-Film ved hjelp av programmet «spesfarg dehydrering». Dette kan eventuelt gjøres manuelt.

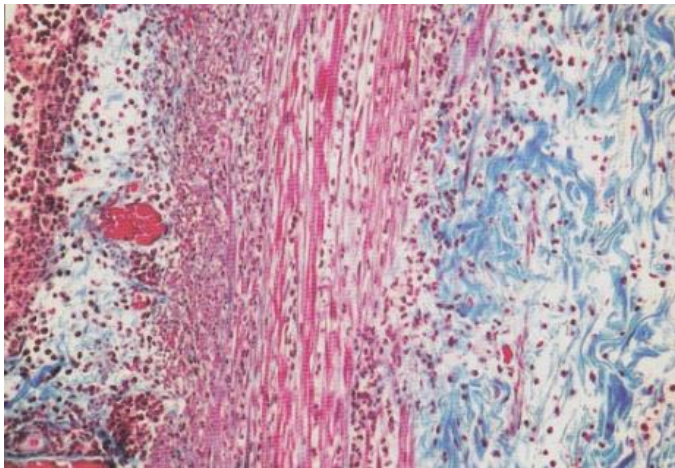
 SØRLANDET SYKEHUS	Masson Trikrom, Histologisk laboratorium, Histologisk enhet, Avdeling for Patologi, SSK				Side: 4 Av: 6
Dokumentplassering: II.MSK.Pat.2.3.2.4.2-7	Utarbeidet av: Fagbioingeniør Hege Wiksén	Fagansvarlig: Hege Wiksén	Godkjent dato: 22.01.2025	Godkjent av: Avdelingssjef Hilde Bjørnestøl Hansen	Revisjon: 9.00

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

	Protocol # 10 : Trichrome Blue (22.10.2020) Version: 3Validated: NoActive: Yes Procedure: S Trichrome (v3.00.0052) BenchMark Special Stains Ventana Medical Systems, Inc., 1910 Innovation Park Drive Tucson, Arizona USA <table><tr><th>Step No</th><th>Procedure Step</th></tr><tr><td>1</td><td>Warmup Slide to [75 Deg C], and Incubate for [16 Minutes]</td></tr><tr><td>2</td><td>Warmup Slide to 75 Deg C, and Incubate for 4 Minutes</td></tr><tr><td>3</td><td>Apply 1000ul Depar Volume Adjust</td></tr><tr><td>4</td><td>Rinse Slide (Depar 2)</td></tr><tr><td>5</td><td>Apply 1000ul Depar Volume Adjust</td></tr><tr><td>6</td><td>Rinse Slide (Depar 2)</td></tr><tr><td>7</td><td>Apply 1000ul Depar Volume Adjust</td></tr><tr><td>8</td><td>Apply Coverslip</td></tr><tr><td>9</td><td>Warmup Slide to 76 Deg C, and Incubate for 4 Minutes</td></tr><tr><td>10</td><td>Rinse Slide (Depar 2)</td></tr><tr><td>11</td><td>Apply 500ul Depar Volume Adjust</td></tr><tr><td>12</td><td>Apply Coverslip</td></tr><tr><td>13</td><td>Disable Slide Heater</td></tr><tr><td>14</td><td>Rinse Slide (SS Wash)</td></tr><tr><td>15</td><td>Adjust SS Wash Volume</td></tr><tr><td>16</td><td>Apply Coverslip</td></tr><tr><td>17</td><td>Warmup Slide to 50 Deg C</td></tr><tr><td>18</td><td>Rinse Slide (SS Wash)</td></tr><tr><td>19</td><td>Adjust SS Wash Volume</td></tr><tr><td>20</td><td>Apply Coverslip, 300ul of Trich Bouins A, and Incubate for [32 Minutes]</td></tr><tr><td>21</td><td>Disable Slide Heater</td></tr><tr><td>22</td><td>Rinse Slide (SS Wash)</td></tr><tr><td>23</td><td>Apply Volume Adjust + 300ul SS Wash Volume Adjust</td></tr><tr><td>24</td><td>Apply Coverslip</td></tr><tr><td>25</td><td>Rinse Slide (SS Wash)</td></tr><tr><td>26</td><td>Apply Volume Adjust + 300ul SS Wash Volume Adjust</td></tr><tr><td>27</td><td>Apply Coverslip</td></tr><tr><td>28</td><td>Rinse Slide (SS Wash)</td></tr><tr><td>29</td><td>Adjust SS Wash Volume</td></tr><tr><td>30</td><td>Apply Coverslip</td></tr><tr><td>31</td><td>Rinse Slide (SS Wash)</td></tr><tr><td>32</td><td>Adjust SS Wash Volume</td></tr><tr><td>33</td><td>Apply Coverslip, 150 ul each of HEMATOXYLIN A+B, and Incubate for [4 Minutes]</td></tr><tr><td>34</td><td>[Default - 12 minutes]</td></tr><tr><td>35</td><td>Rinse Slide (SS Mega)</td></tr><tr><td>36</td><td>Apply Volume Adjust + 300ul SS Wash Volume Adjust</td></tr><tr><td>37</td><td>Apply Coverslip</td></tr><tr><td>38</td><td>Rinse Slide (SS Wash)</td></tr><tr><td>39</td><td>Apply Volume Adjust + 300ul SS Wash Volume Adjust</td></tr><tr><td>40</td><td>Apply Coverslip</td></tr><tr><td>41</td><td>Rinse Slide (SS Wash)</td></tr><tr><td>42</td><td>Apply Volume Adjust + 300ul SS Wash Volume Adjust</td></tr><tr><td>43</td><td>Apply Coverslip</td></tr><tr><td>44</td><td>Warmup Slide to [37 Deg C] from 37-60 Deg C Temperatures (Red for Blue)</td></tr><tr><td>45</td><td>[Default - 37 Deg C]</td></tr><tr><td>46</td><td>Rinse Slide (SS Wash)</td></tr><tr><td>47</td><td>Adjust SS Wash Volume</td></tr><tr><td>48</td><td>Apply Coverslip, 300ul+ of Trich Red, and Incubate for [4 Minutes]</td></tr><tr><td>49</td><td>[Default - 8 minutes]</td></tr><tr><td>50</td><td>Warmup Slide to [37 Deg C] from 37-60 Deg C Temperatures (1st Mordant)</td></tr><tr><td>51</td><td>[First Mordant Default - 37 Deg C]</td></tr><tr><td>52</td><td>Rinse Slide (SS Wash)</td></tr><tr><td>53</td><td>Adjust SS Wash Volume</td></tr><tr><td>54</td><td>Apply Coverslip, 150ul+ of Trich Mordant, and Incubate for [24 Minutes]</td></tr><tr><td>55</td><td>[First Mordant Default - 12 minutes]</td></tr><tr><td>56</td><td>Warmup Slide to [37 Deg C] from 37-60 Deg C Temperatures (2nd Mordant)</td></tr><tr><td>57</td><td>[Second Mordant Default - 37 Deg C]</td></tr><tr><td>58</td><td>Rinse Slide (SS Wash)</td></tr><tr><td>59</td><td>Adjust SS Wash Volume</td></tr><tr><td>60</td><td>Apply 100 ul of Trich Mordant, and Incubate for [4 Minutes], Apply Coverslip</td></tr><tr><td>61</td><td>[Second Mordant Default - 4 minutes]</td></tr><tr><td>62</td><td>Warmup Slide to [37 Deg C] from 37-60 Deg C Temperatures (Blue)</td></tr><tr><td>63</td><td>[Default - 37 Deg C]</td></tr><tr><td>64</td><td>Apply 300 ul+ of Trich Blue, and Incubate for [32 Minutes], blowoff</td></tr><tr><td>65</td><td>[Default - 16 minutes]</td></tr><tr><td>66</td><td>Rinse Slide (SS Wash)</td></tr><tr><td>67</td><td>Adjust SS Wash Volume</td></tr><tr><td>68</td><td>Apply Coverslip</td></tr><tr><td>69</td><td>Disable Slide Heater</td></tr><tr><td>70</td><td>Rinse Slide (SS Wash)</td></tr><tr><td>71</td><td>Adjust SS Wash Volume</td></tr><tr><td>72</td><td>Apply Coverslip, 100ul of Trich Clarifier, and Incubate for [4 Minutes]</td></tr><tr><td>73</td><td>[Default - 4 minutes]</td></tr><tr><td>74</td><td>Rinse Slide (SS Wash)</td></tr></table>	Step No	Procedure Step	1	Warmup Slide to [75 Deg C], and Incubate for [16 Minutes]	2	Warmup Slide to 75 Deg C, and Incubate for 4 Minutes	3	Apply 1000ul Depar Volume Adjust	4	Rinse Slide (Depar 2)	5	Apply 1000ul Depar Volume Adjust	6	Rinse Slide (Depar 2)	7	Apply 1000ul Depar Volume Adjust	8	Apply Coverslip	9	Warmup Slide to 76 Deg C, and Incubate for 4 Minutes	10	Rinse Slide (Depar 2)	11	Apply 500ul Depar Volume Adjust	12	Apply Coverslip	13	Disable Slide Heater	14	Rinse Slide (SS Wash)	15	Adjust SS Wash Volume	16	Apply Coverslip	17	Warmup Slide to 50 Deg C	18	Rinse Slide (SS Wash)	19	Adjust SS Wash Volume	20	Apply Coverslip, 300ul of Trich Bouins A, and Incubate for [32 Minutes]	21	Disable Slide Heater	22	Rinse Slide (SS Wash)	23	Apply Volume Adjust + 300ul SS Wash Volume Adjust	24	Apply Coverslip	25	Rinse Slide (SS Wash)	26	Apply Volume Adjust + 300ul SS Wash Volume Adjust	27	Apply Coverslip	28	Rinse Slide (SS Wash)	29	Adjust SS Wash Volume	30	Apply Coverslip	31	Rinse Slide (SS Wash)	32	Adjust SS Wash Volume	33	Apply Coverslip, 150 ul each of HEMATOXYLIN A+B, and Incubate for [4 Minutes]	34	[Default - 12 minutes]	35	Rinse Slide (SS Mega)	36	Apply Volume Adjust + 300ul SS Wash Volume Adjust	37	Apply Coverslip	38	Rinse Slide (SS Wash)	39	Apply Volume Adjust + 300ul SS Wash Volume Adjust	40	Apply Coverslip	41	Rinse Slide (SS Wash)	42	Apply Volume Adjust + 300ul SS Wash Volume Adjust	43	Apply Coverslip	44	Warmup Slide to [37 Deg C] from 37-60 Deg C Temperatures (Red for Blue)	45	[Default - 37 Deg C]	46	Rinse Slide (SS Wash)	47	Adjust SS Wash Volume	48	Apply Coverslip, 300ul+ of Trich Red, and Incubate for [4 Minutes]	49	[Default - 8 minutes]	50	Warmup Slide to [37 Deg C] from 37-60 Deg C Temperatures (1st Mordant)	51	[First Mordant Default - 37 Deg C]	52	Rinse Slide (SS Wash)	53	Adjust SS Wash Volume	54	Apply Coverslip, 150ul+ of Trich Mordant, and Incubate for [24 Minutes]	55	[First Mordant Default - 12 minutes]	56	Warmup Slide to [37 Deg C] from 37-60 Deg C Temperatures (2nd Mordant)	57	[Second Mordant Default - 37 Deg C]	58	Rinse Slide (SS Wash)	59	Adjust SS Wash Volume	60	Apply 100 ul of Trich Mordant, and Incubate for [4 Minutes], Apply Coverslip	61	[Second Mordant Default - 4 minutes]	62	Warmup Slide to [37 Deg C] from 37-60 Deg C Temperatures (Blue)	63	[Default - 37 Deg C]	64	Apply 300 ul+ of Trich Blue, and Incubate for [32 Minutes], blowoff	65	[Default - 16 minutes]	66	Rinse Slide (SS Wash)	67	Adjust SS Wash Volume	68	Apply Coverslip	69	Disable Slide Heater	70	Rinse Slide (SS Wash)	71	Adjust SS Wash Volume	72	Apply Coverslip, 100ul of Trich Clarifier, and Incubate for [4 Minutes]	73	[Default - 4 minutes]	74	Rinse Slide (SS Wash)
Step No	Procedure Step																																																																																																																																																						
1	Warmup Slide to [75 Deg C], and Incubate for [16 Minutes]																																																																																																																																																						
2	Warmup Slide to 75 Deg C, and Incubate for 4 Minutes																																																																																																																																																						
3	Apply 1000ul Depar Volume Adjust																																																																																																																																																						
4	Rinse Slide (Depar 2)																																																																																																																																																						
5	Apply 1000ul Depar Volume Adjust																																																																																																																																																						
6	Rinse Slide (Depar 2)																																																																																																																																																						
7	Apply 1000ul Depar Volume Adjust																																																																																																																																																						
8	Apply Coverslip																																																																																																																																																						
9	Warmup Slide to 76 Deg C, and Incubate for 4 Minutes																																																																																																																																																						
10	Rinse Slide (Depar 2)																																																																																																																																																						
11	Apply 500ul Depar Volume Adjust																																																																																																																																																						
12	Apply Coverslip																																																																																																																																																						
13	Disable Slide Heater																																																																																																																																																						
14	Rinse Slide (SS Wash)																																																																																																																																																						
15	Adjust SS Wash Volume																																																																																																																																																						
16	Apply Coverslip																																																																																																																																																						
17	Warmup Slide to 50 Deg C																																																																																																																																																						
18	Rinse Slide (SS Wash)																																																																																																																																																						
19	Adjust SS Wash Volume																																																																																																																																																						
20	Apply Coverslip, 300ul of Trich Bouins A, and Incubate for [32 Minutes]																																																																																																																																																						
21	Disable Slide Heater																																																																																																																																																						
22	Rinse Slide (SS Wash)																																																																																																																																																						
23	Apply Volume Adjust + 300ul SS Wash Volume Adjust																																																																																																																																																						
24	Apply Coverslip																																																																																																																																																						
25	Rinse Slide (SS Wash)																																																																																																																																																						
26	Apply Volume Adjust + 300ul SS Wash Volume Adjust																																																																																																																																																						
27	Apply Coverslip																																																																																																																																																						
28	Rinse Slide (SS Wash)																																																																																																																																																						
29	Adjust SS Wash Volume																																																																																																																																																						
30	Apply Coverslip																																																																																																																																																						
31	Rinse Slide (SS Wash)																																																																																																																																																						
32	Adjust SS Wash Volume																																																																																																																																																						
33	Apply Coverslip, 150 ul each of HEMATOXYLIN A+B, and Incubate for [4 Minutes]																																																																																																																																																						
34	[Default - 12 minutes]																																																																																																																																																						
35	Rinse Slide (SS Mega)																																																																																																																																																						
36	Apply Volume Adjust + 300ul SS Wash Volume Adjust																																																																																																																																																						
37	Apply Coverslip																																																																																																																																																						
38	Rinse Slide (SS Wash)																																																																																																																																																						
39	Apply Volume Adjust + 300ul SS Wash Volume Adjust																																																																																																																																																						
40	Apply Coverslip																																																																																																																																																						
41	Rinse Slide (SS Wash)																																																																																																																																																						
42	Apply Volume Adjust + 300ul SS Wash Volume Adjust																																																																																																																																																						
43	Apply Coverslip																																																																																																																																																						
44	Warmup Slide to [37 Deg C] from 37-60 Deg C Temperatures (Red for Blue)																																																																																																																																																						
45	[Default - 37 Deg C]																																																																																																																																																						
46	Rinse Slide (SS Wash)																																																																																																																																																						
47	Adjust SS Wash Volume																																																																																																																																																						
48	Apply Coverslip, 300ul+ of Trich Red, and Incubate for [4 Minutes]																																																																																																																																																						
49	[Default - 8 minutes]																																																																																																																																																						
50	Warmup Slide to [37 Deg C] from 37-60 Deg C Temperatures (1st Mordant)																																																																																																																																																						
51	[First Mordant Default - 37 Deg C]																																																																																																																																																						
52	Rinse Slide (SS Wash)																																																																																																																																																						
53	Adjust SS Wash Volume																																																																																																																																																						
54	Apply Coverslip, 150ul+ of Trich Mordant, and Incubate for [24 Minutes]																																																																																																																																																						
55	[First Mordant Default - 12 minutes]																																																																																																																																																						
56	Warmup Slide to [37 Deg C] from 37-60 Deg C Temperatures (2nd Mordant)																																																																																																																																																						
57	[Second Mordant Default - 37 Deg C]																																																																																																																																																						
58	Rinse Slide (SS Wash)																																																																																																																																																						
59	Adjust SS Wash Volume																																																																																																																																																						
60	Apply 100 ul of Trich Mordant, and Incubate for [4 Minutes], Apply Coverslip																																																																																																																																																						
61	[Second Mordant Default - 4 minutes]																																																																																																																																																						
62	Warmup Slide to [37 Deg C] from 37-60 Deg C Temperatures (Blue)																																																																																																																																																						
63	[Default - 37 Deg C]																																																																																																																																																						
64	Apply 300 ul+ of Trich Blue, and Incubate for [32 Minutes], blowoff																																																																																																																																																						
65	[Default - 16 minutes]																																																																																																																																																						
66	Rinse Slide (SS Wash)																																																																																																																																																						
67	Adjust SS Wash Volume																																																																																																																																																						
68	Apply Coverslip																																																																																																																																																						
69	Disable Slide Heater																																																																																																																																																						
70	Rinse Slide (SS Wash)																																																																																																																																																						
71	Adjust SS Wash Volume																																																																																																																																																						
72	Apply Coverslip, 100ul of Trich Clarifier, and Incubate for [4 Minutes]																																																																																																																																																						
73	[Default - 4 minutes]																																																																																																																																																						
74	Rinse Slide (SS Wash)																																																																																																																																																						

 SØRLANDET SYKEHUS		Masson Trikrom, Histologisk laboratorium, Histologisk enhet, Avdeling for Patologi, SSK			Side: 5 Av: 6
Dokumentplassering: II.MSK.Pat.2.3.2.4.2-7	Utarbeidet av: Fagbioingeniør Hege Wiksén	Fagansvarlig: Hege Wiksén	Godkjent dato: 22.01.2025	Godkjent av: Avdelingssjef Hilde Bjørnestøl Hansen	Revisjon: 9.00

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

Evaluering av resultat/ Vurdering av kontroller		
	Kjerne	Brunsort
	Cytoplasma, muskel og røde blodceller	Ulike nyanser av rødt
	Kollagen	Blå
		
Usikkerhet	<u>Måleusikkerhet.</u> Se avsnitt Interferens/Kryssreaksjoner og andre feilkilder.	
Avfallshåndtering	Se prosedyre for <u>Faremerker/avfallshåndtering for kjemikalier. Avd. for patologi. SSK.</u>	
Validering/ dokumentasjon/ referanser	• <u>Metodeark Trichrome Staining Kit 06521908001, Roche.</u> • Benchmark Special Stains General Reference Guide_v1.0 • Benchmark Special Stains Product Guide_v3.0 • Theory and Practice of Histological Techniques, John D. Bancroft and Alan Stevens, Churchill Livingstone • Histologic Preparations, Common Problems and their Solutions, Richard W. Brown, College of American Pathologists Press • Verifiseringsvedlegg: <u>O:\Medisinskserviceklinikk\Avdeling_for_patologi_SSK\Histologi\Felles\Histologi\BenchMark Special Stains Ventana\Verifisering_BSS_2020.xlsx</u> • <u>Endringskontroll</u> • <u>Verifisering</u>	

 SØRLANDET SYKEHUS		Masson Trikrom, Histologisk laboratorium, Histologisk enhet, Avdeling for Patologi, SSK			Side: 6 Av: 6
Dokumentplassering: II.MSK.Pat.2.3.2.4.2-7	Utarbeidet av: Fagbioingeniør Hege Wiksen	Fagansvarlig: Hege Wiksen	Godkjent dato: 22.01.2025	Godkjent av: Avdelingssjef Hilde Bjørnestøl Hansen	Revisjon: 9.00

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