

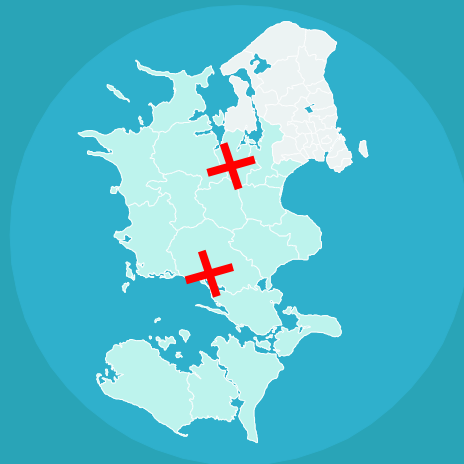
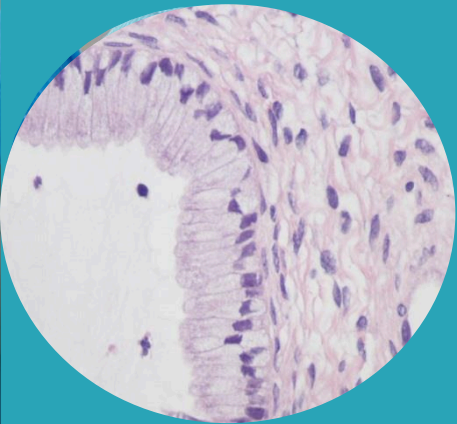


Hvordan laver vi god

Vævspræparation

- og med hvilket udstyr

Inkl. brugerundersøgelse



v/ Janne Jensen

Fagligt ansvarlig for Histologilaboratoriet

samt Bioanalytikerunderviser

Patologi SUH, afsnit Næstved

REGION SJÆLLAND
SJÆLLANDS UNIVERSITETSHOSPITAL



- vi er til for dig

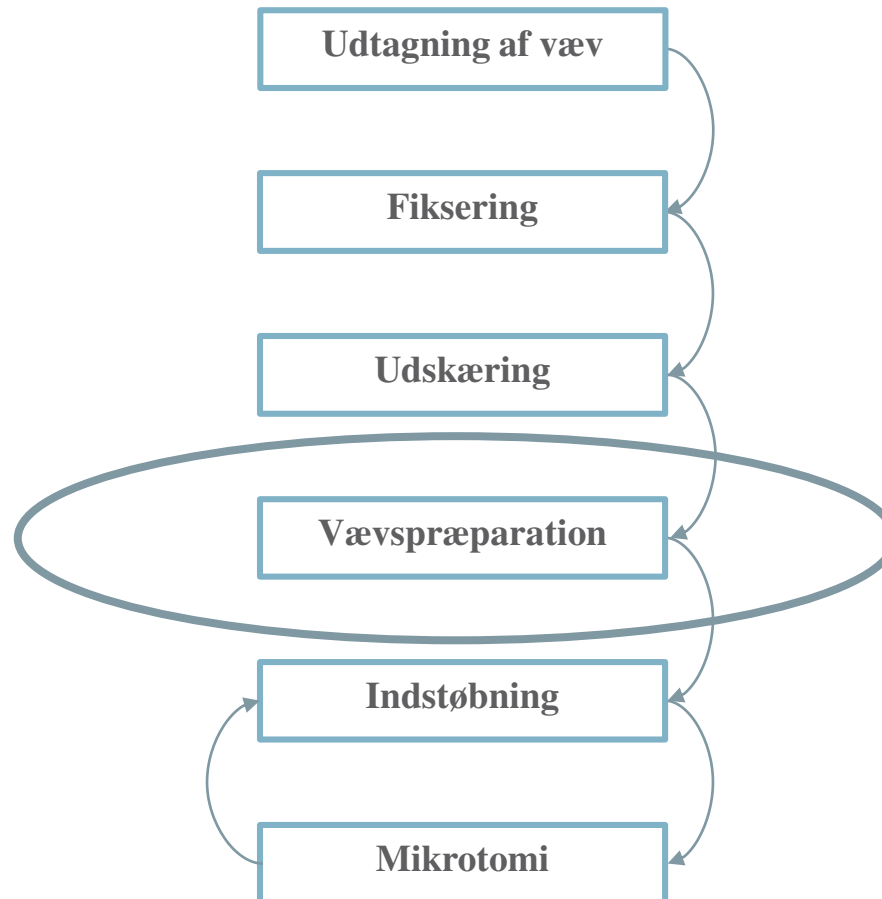
Brugerundersøgelsen

16 afdelinger har bidraget med data via udsendte spørgeskema

- 12 Patologiafdelinger fra Danmark
- 1 Patologiafdeling fra Sverige
- 3 Laboratorier der dækker forskning, medicinal industri og dyreforsøg

Jeg forsøger en form for anonymitet – og så kan I selv give jer til kende, i det omfang I selv synes.

Præanalyse - overordnet



Vævspræparation

Formål

At føre vævet fra det hydrofile miljø i fikseringsvæsken, til det hydrofobe miljø i paraffin, så det efterfølgende er muligt at indlejre vævet i paraffin og kunne foretage mikrotomi.

Processen er:

- Evt. Fiksering
- Dehydrering
- Klaring
- Paraffin

Processen tager fra få timer til "Natten over" afhængigt af udstyr/program

Processen bør ikke have indflydelse på vævet!



Udstyr



Excelsior
Axlabs



Donnatello
DiaPath



Peloris
Triolab



Magnus
Axlabs



Logos
Axlabs



Pegasus
Triolab



VIP
Sakura



"ASP"
Triolab



Pathos Delta
Axlabs



KOS
Axlabs

Konventionel
proces

Mikrobølge
baseret proces

Udstyr - fortsat

- 6 laboratorier har blandet udstyr af Konventionel og Mikrobølger
- 8 laboratorier har KUN Konventionelt udstyr
- 2 laboratorier har KUN udstyr baseret på Mikrobølger (Nogle af disse udstyr kan dog fungere uden mikrobølger)



Udstyr - fortsat

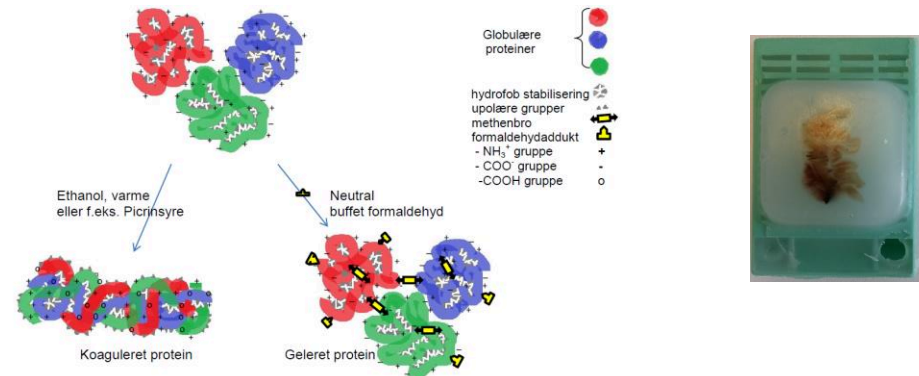
Laboratorier 16 ialt	Antal udstyr	Konventionel	Blandet konventionel og mikrobølger	Mikrobølger
2	1	2		
3	2	2	1	
1	3			1
3	5	1	1	1
3	6	1	2	
1	8		1	
2	9		2	
1	12		1	



Vævspræparation trin for trin

Evt. fikseringstrin

- 14 af 16 deltagende laboratorier benytter fikseringstrin i vævspræparation
- Fikseringstrin (evt. v. 40°C) – giver det egentlig nogen gevinst?
 - Hvis formalinfiksering er utilstrækkelig, så vil ethanol (dehydrering) virke koagulerende på vævets proteiner - som kan have fatal betydning for analyser som IHC, mv.



- Man skal huske: At selvom vævet ikke er velfikseret, kan processen for vævspræparation jo godt forløbe optimalt... (!)
- (!) man skal huske at vævspræparation, nok altid giver lidt koagulerende fiksering af vævet!

Vævspræparation trin for trin

Dehydrering

- Denne proces har til formål at trække AL vandig væske ud af vævet.
- Historisk har man brugt (og bruger stadig ved de konventionelle udstyr) stigende % ethanol (70%, 96%, 99,9%)
- Isopropanol
- Andre opløsninger (eks. MileOne)



Optimal kvalitet af dehydreringsprocessen, er at få trukket alt "vand" ud af vævet uden at "overgøre" det!!

Overpræparering

- Hvis tiden i "ethanol" bliver for lang, er der risiko for skrumpning af vævet og ændring af morfologi

Underpræparering

- Hvis tiden i "ethanol" er for kort/utilstrækkelig (uren "ethanol") udtrækkes alt vandet ikke og efterfølgende blanding med organisk opløsningsmiddel bliver suboptimal.
 - Over tid vil vævet hærde (trække sig sammen) og blive hårdt.
-

Vævspræparation trin for trin

Klaring

Denne proces er den organiske fase, hvor formålet er, at få trukket AL "ethanol" ud af vævet, før paraffinfasen

Underpræparering

- Hvis tiden i "ethanol" er for kort/utilstrækkelig (uren ethanol) udtrækkes alt vandet ikke og efterfølgende blanding med organisk opløsningsmiddel bliver suboptimal.
- Hvis dehydrering har været optimal – men klaringen er suboptimal, vil "ethanol" ikke vaskes ud og kan hærde vævet over tid

Historisk:

80'erne – alle brugte Xylen

90'erne og start 00'erne – der var gang i substitueringprocesserne 😊 Petroleum, Estisol, Tissueclear/Histolabclear

2024: MileOne, MileTwo, Mile Green



2024 – bruger vi:

Xylen	5 laboratorier
Isopropanol	9 laboratorier
Tissueclear/Histolabclear	9 laboratorier
JFC	1 laboratorie

Vævspræparation trin for trin

Paraffinfasen

Denne proces har til formål, at få trukket AL klaringsmedie ud af vævet, så vævet er fuldt infiltreret af paraffin

Delay start – hellere ekstra fiksering end lang tid i paraffin temp. ca. 60°C, som kan have koagulerende effekt

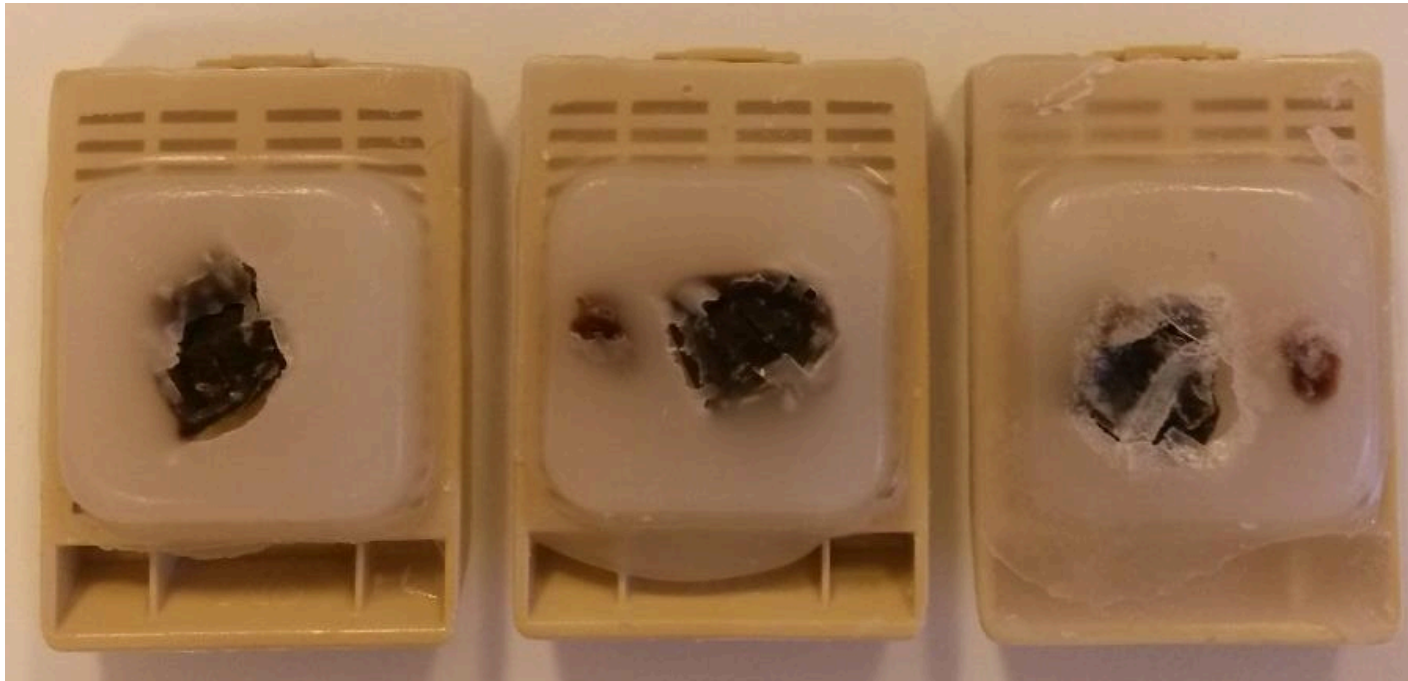
Paraffintyper, smeltepunkt og indstøbning

Lab.	Paraffin	Smeltepunkt	Indstøbning	
			Ja	Nej
2	Paramat Gurr, VWR	55-58	2	1
4	Hounissen PA Paraffin	54-56	4	2
2	Histowax/Histolab	56-58	2	1
1	Leica Paraplast	56	1	
1	Tissue-Tek Paraffin processing/Embedding Medium, Formula 3	56-58	1	
1	Tissue-tek Paraffin Wa Tek3 (polymer)	54-57	1	
1	Tissue-Tek Parafform	?	1	1
1	Sakura autotec/histolab	62	1	
1	Tissuetek VIP finetek	56-58	1	



*jeg ved ikke om alle disse Tissue-Tek paraffintyper, er nogle af de samme?

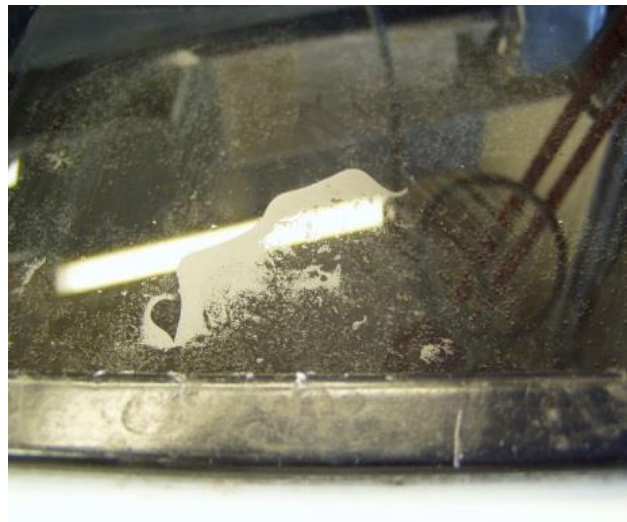
Vævspræparation – tjek kvaliteten



Tjek paraffinblokkene efter indstøbning, det kan give et billede af, om vævspræparationen har været optimal



Vævspræparation – tjek kvaliteten



Hvordan kan mangelfuld vævspræparation fanges?

Gå i arkivet og kig på blokkene.

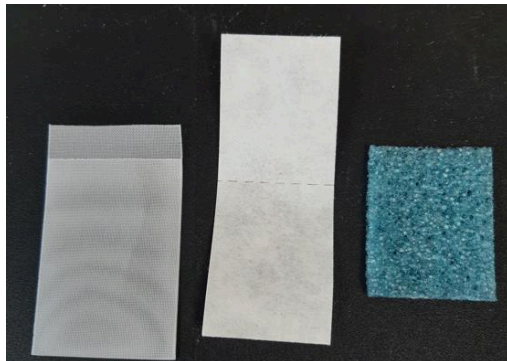
Ekstrabestillinger kan også afsløre det.



Hvad kan vævspræparation også påvirkes af

Udskæring

Ja, størrelse og tykkelse af vævsstykkerne
Brug af "indlæg" (skumpuder, poser, papir)



Udtagning af væv

Fiksering

Udskæring

Vævspræparation

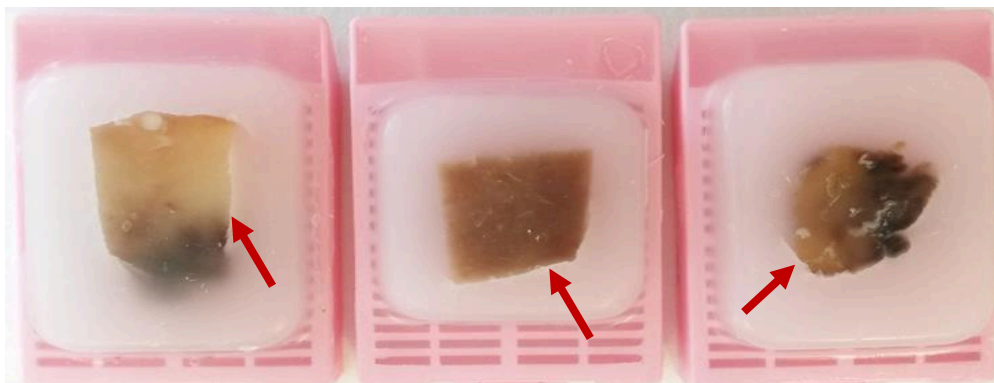
Indstøbning

Mikrotomi

Udstyr, vævsstykkernes størrelse, vævets sammensætning, og brug af "indlæg" har uden tvivl sammenhæng med, hvor god en vævspræparation, man opnår!!

Her vil valgt program også have indflydelse (vi kigger også lidt på programmer)

Hvordan kan vævspræparation påvirke Indstøbning

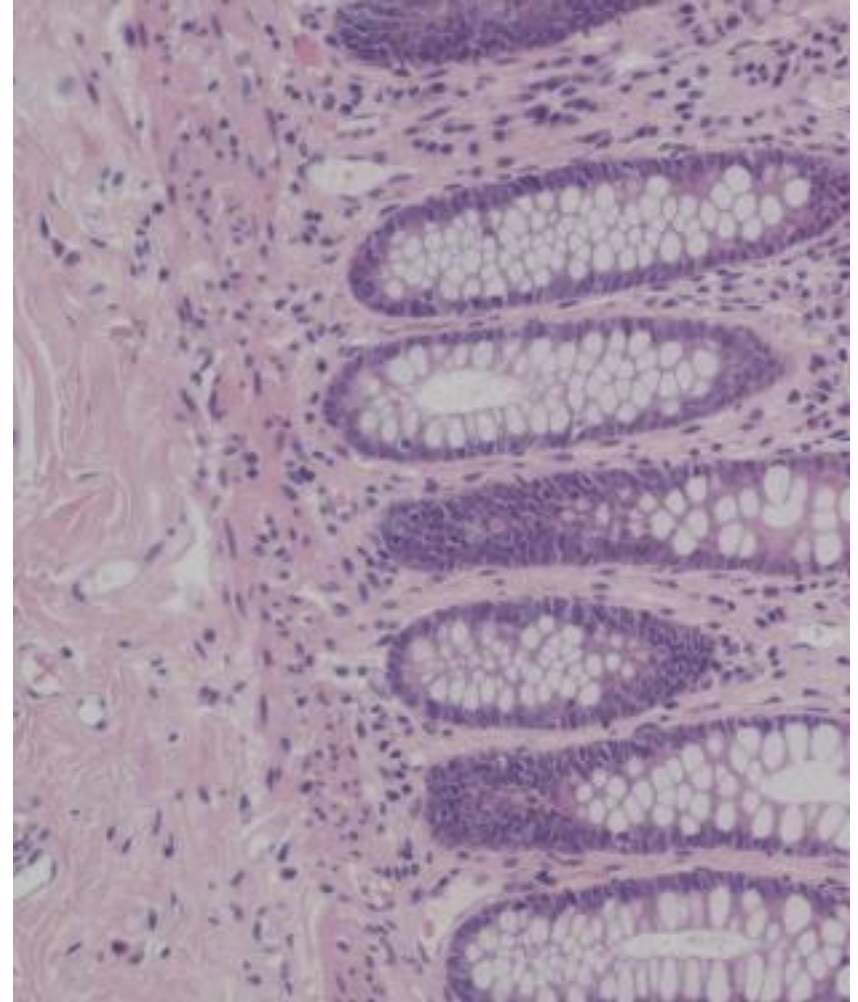
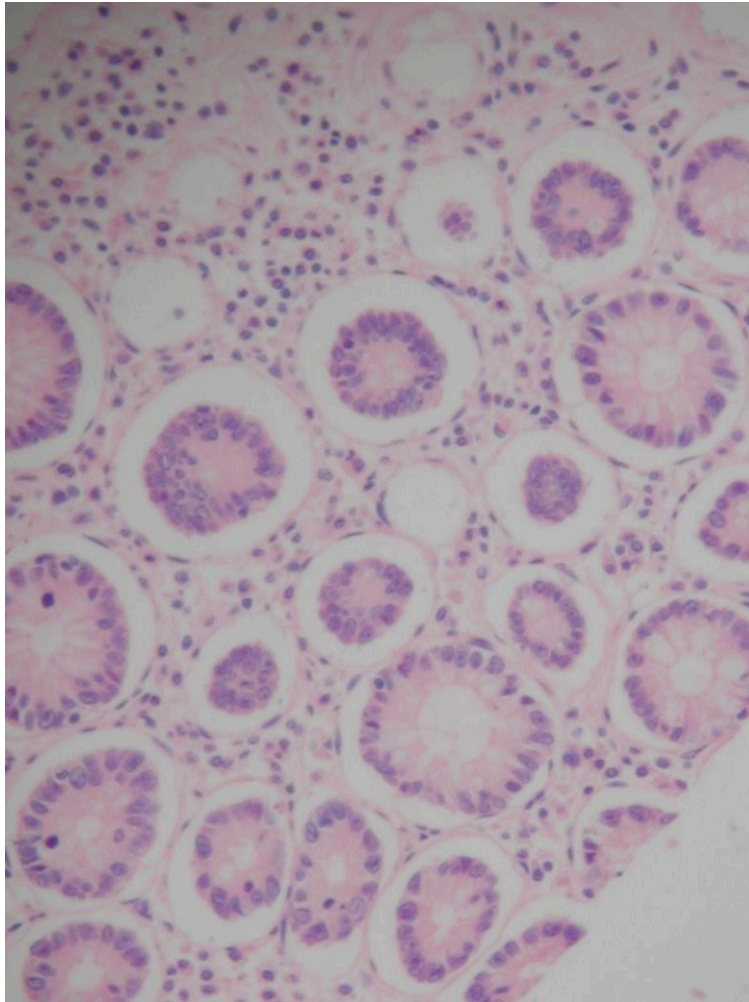


Paraffintype til indstøbning

- Det samme som i vævspræparation
- Forskelligt fra vævspræparation

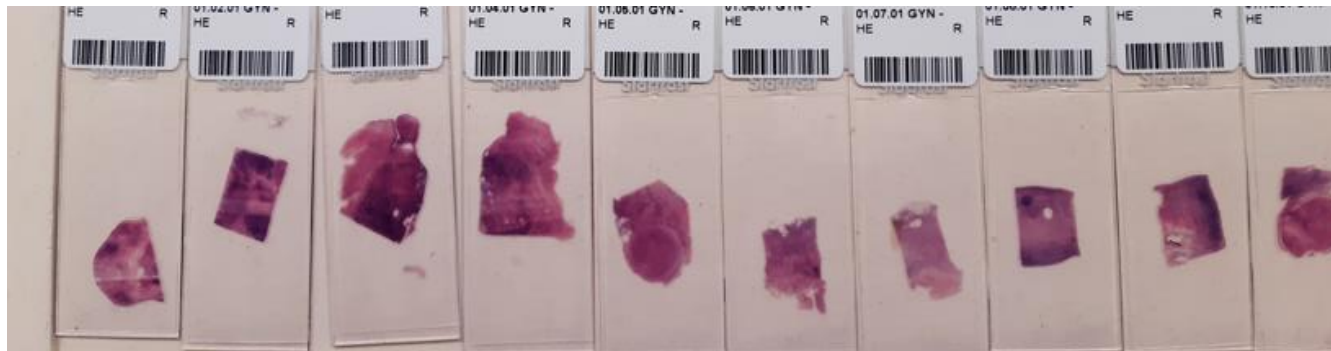


Hvordan kan vævspræparation påvirke Skrumpling og morfologi



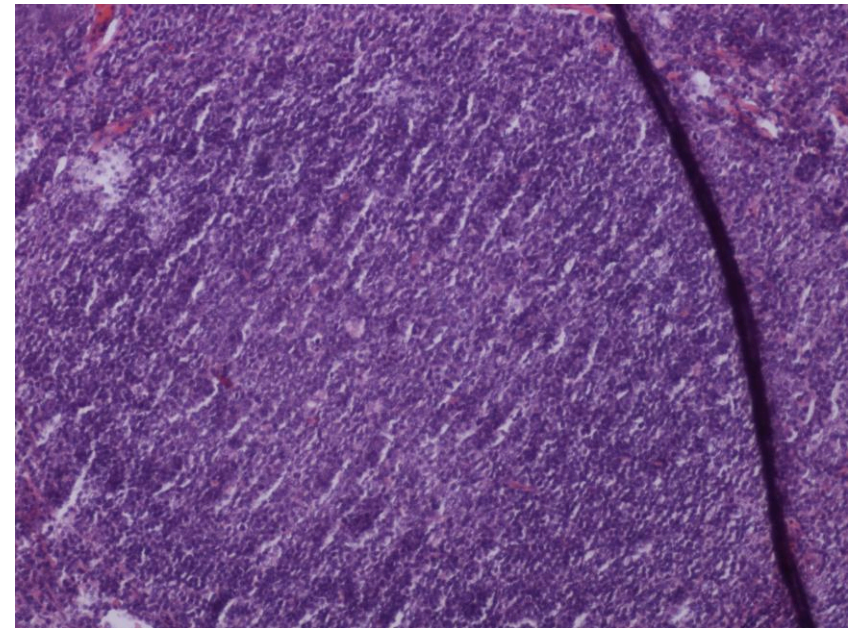
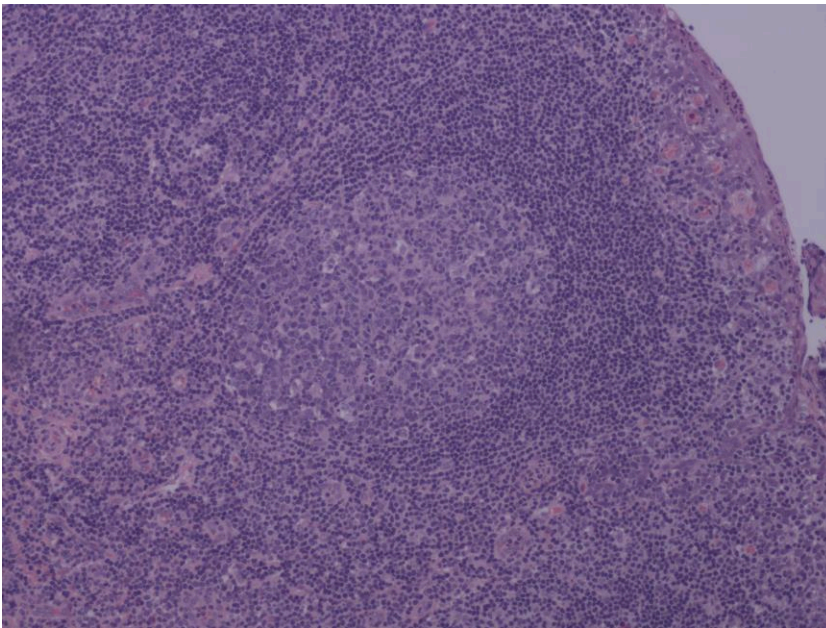
HUSK: At rød HE – indikerer koagulerende fiksering

Hvordan kan vævspræparation påvirke HE (Dako Coverstainer)



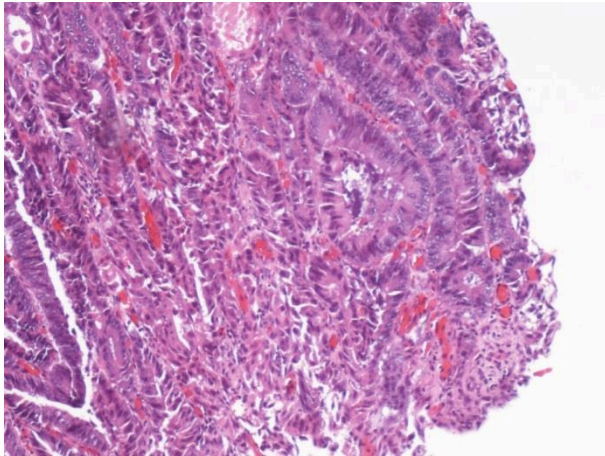
Hvordan kan vævspræparation påvirke Mikrotomi

Blokke der er ordentligt infiltreret (= god vævspræparation) er nemmere at skære gode snit af!

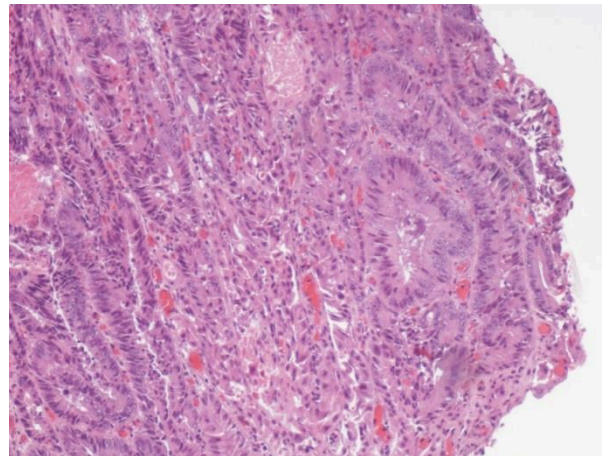


Hvordan kan vævspræparation påvirke Mikrotomi

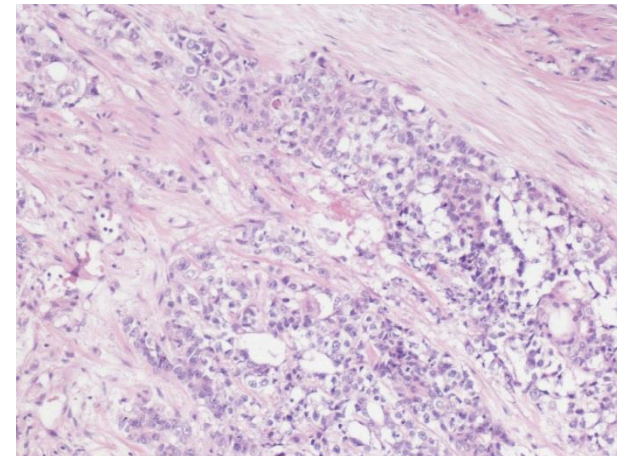
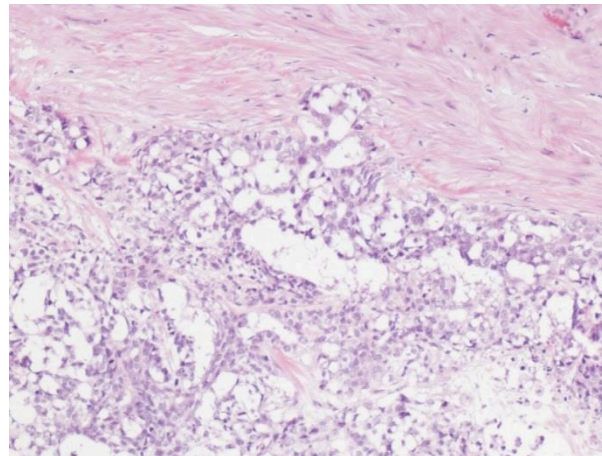
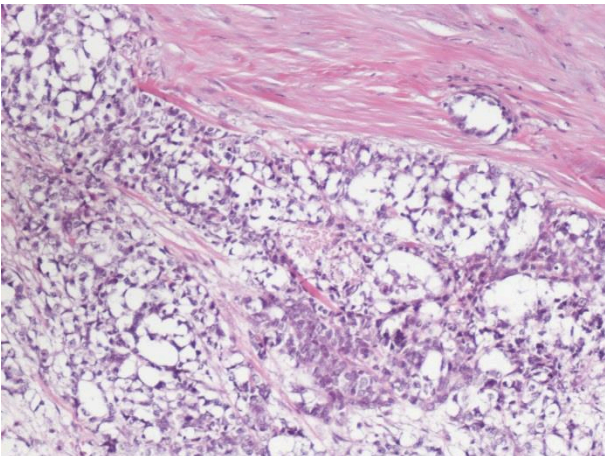
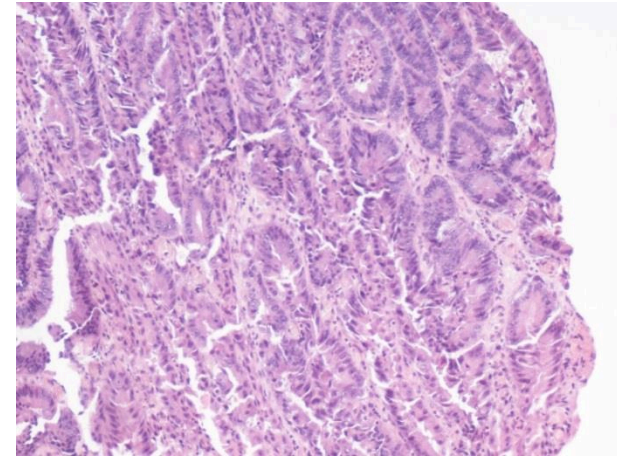
Symphony



Prisma



Dako



Programmer

Programmer	Antal brugere
Overnight + weekend – delay start	15
Kort program uden fiksering	5
3mm	1
6 mm	1
4 timers	2
Haste nyre	1
2 timers program	7
Fedt program*	7
Makroblokke	6
Andre:	
Hjerneprogram* *	2
Mamma	1
Transplantationsbiopsier	2
Specialprogrammer NBF/Bouin fiks.	1
Med blå puder	1
Uden blå puder	1
Afkalkningsprogram?	1

* Mamma

** Hjerneprogram: Hjerne, mamma, lipomer, hud



Skift, rens og vedligeholdelse af udstyr

Vedligehold	Antal
Hvad bestemmer skift af væsker/paraffin:	
Antal blokke	10
Antal kørsler	7
Vandflush Ja/Nej	10/2
Afkalkning Ja/Nej	10/1
Afvask/skyl af reagensbeholdere Ja/Nej	12/0
Andet vedligehold: Service Tørre kammer af efter hver kørsel Dysser renses Genstart Daglig rengøring Paraffinkar Nej!	Her besvares lidt i flæng..



Personale

Laboratorier	Antal udstyr	Skift af væsker	Vedligehold	Sætte over	Tage af	Andet personale
2	1	2/-	1/-	2/-	2/-	Nej/-
3	2	8/11/4	8/11/4	8/11/4	8/11/7	Nej /Nej/Nej
1	3	15	15	15	15	Nej
3	5	11/20/18	SB/20/18	32/30/18	36/20/18	Nej/Nej/Nej
3	6	12/8/25 og 4**	6/8/25 og 4	12/++/40	14/8/1	Nej/Nej/Nej
1	8	6	1	15	5	Nej
2	9	10/6	10/6	10/18	10/6	Evt. Portør/Ja
1	12	2	2	1+	1	Nej

SB: superbruger

+: kontrol x 2

++: mange

*: personer med special funktion

-: ej svaret



Gruppearbejde

Spørgsmål – Jeg har allerede et par 😊

- Hvordan organiserer de store steder (dem med mange maskiner/udstyr), hvad der skal i hvilken maskine
- Dagskørsler – eks nålebiopsier! Hvordan håndteres det?
- Hvad gør I ved "fejlkørsler"?
 - Eks. der er fyldt forkert på maskinen – byttet om på en ethanol og et klaringsmedie?
- Maskinen er stoppet i 99% ethanol?
- Har I alarm tilkoblet disse udstyr?
- Og og og..

