

10006, 10007, 10012, 10031

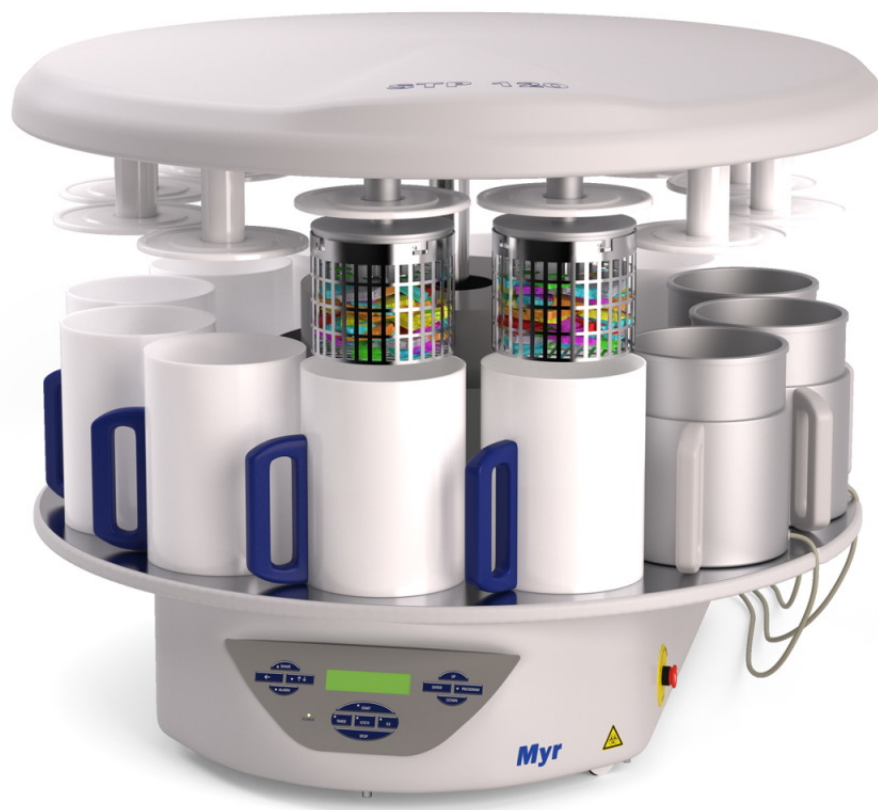
# Fremføring av vev med Spin Tissue Processor STP 120

Bacheloroppgave i Bachelor i bioingeniørfag

Veileder: Anne Elin Varhaugvik

Mai 2023

# Fremføring av vev med Spin Tissue Processor STP 120



BI301305 Bacheloroppgave i bioingeniørfag

22.05.2023, Bachelor i bioingeniørfag

Antall sider innlevert: 56

## **Sammendrag**

Fremføring er behandling av vev for å bevare vevsstrukturene slik at de kan undersøkes uten påvirkning av indre og ytre faktorer. Spin Tissue Processor STP 120 er en fremføringsmaskin som skal benyttes i studie- og forskningssammenheng ved NTNU Ålesund. Det er utprøvd ulike programmer som har resultert i et rutine-, fett- og hurtigprogram. Disse programmene og annen informasjon er sammenfattet i en brukervennlig manual produsert av studentene som har skrevet denne bacheloroppgaven. Under praktisk arbeid ble det gjennomført makrobekjæring, fremføring, støping, snitting, farging og mikroskopering av vev fra fisk.

Tissue processing is the treatment of tissue to preserve the structures so that they can be examined without the influence of internal and external factors. Spin Tissue Processor STP 120 is a processing machine used in study and research contexts at NTNU Ålesund. Various programs have been tested which have resulted in a routine, fat and rapid program. These programs and other information are summarized in a user-friendly manual produced by the students who wrote this bachelor's thesis. During practical work, macrosectioning, processing, embedding, sectioning, staining, and microscopy of fish tissue were performed.

## **Forord**

Bacheloroppgaven går ut på å produsere en brukermanual for fremføringsmaskinen Spin Tissue Processor STP 120. Her presenteres og diskuteres prosessen av det praktiske arbeidet, samt utforming av brukermanualen. Oppgaven er bygget opp med IMRoD-modellen og inneholder introduksjon, metode, resultat, diskusjon og konklusjon. Det rettes en stor takk til veileder Anne Elin Varhaugvik for faglig innspill under hele prosessen. Studentene vil også takke bachelorgruppen som hjalp til med å teste ut rutineprogrammet under oppstart av det praktiske arbeidet.

Forsidebildet viser fremføringsmaskinen Spin Tissue Processor STP 120 (1).



# Innhold

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Sammendrag</b> .....  | <b>2</b>  |
| <b>Forord</b> .....  | <b>3</b>  |
| <b>1 Introduksjon</b> .....  | <b>2</b>  |
| 1.1 Bakgrunn.....  | 2         |
| 1.2 Ordliste.....  | 4         |
| <b>2 Metode</b> .....  | <b>5</b>  |
| 2.1 Rutineprogram .....  | 6         |
| 2.2 Fettprogram .....  | 6         |
| 2.3 Hurtigprogram .....  | 6         |
| <b>3 Resultat</b> .....  | <b>8</b>  |
| Tabell 3-1: Programoversikt .....  | 8         |
| Figur 3-1: Skinn fra rognkjeks fremført med godkjent rutineprogram.....              | 9         |
| Figur 3-2: Gjeller fra laks fremført med godkjent fettprogram.....                   | 9         |
| Figur 3-3: Skinn fra rognkjeks fremført med godkjent hurtigprogram – 1 mm.....       | 10        |
| Figur 3-4: Skinn fra rognkjeks fremført med godkjent hurtigprogram – 2 mm.....       | 10        |
| Figur 3-5: Skinn fra rognkjeks fremført med godkjent hurtigprogram – 3 mm.....       | 11        |
| Figur 3-6: Skinn fra rognkjeks fremført med godkjent hurtigprogram – 4 mm.....       | 11        |
| Figur 3-7: Skinn fra rognkjeks fremført med ikke godkjent hurtigprogram – 2 mm. .... | 12        |
| <b>4 Diskusjon</b> .....   | <b>13</b> |
| <b>5 Konklusjon</b> .....  | <b>18</b> |
| <b>6 Referanser</b> .....  | <b>19</b> |
| <b>7 Appendiks: Brukermanual for Spin Tissue Processor STP 120</b> .....             | <b>20</b> |
| <b>8 Vedlegg</b> .....   | <b>21</b> |
| Vedlegg 8-1: Risikovurdering. ....   | 22        |
| Vedlegg 8-2: Prosedyrer fra Helse Møre og Romsdal HF.....                            | 26        |
| Vedlegg 8-3: Prosedyrer fra St. Olavs hospital HF. ....                              | 31        |
| Vedlegg 8-4: HES fargeprosedyre. ....  | 34        |

# 1 Introduksjon

## *1.1 Bakgrunn*

Bacheloroppgaven er valgt på bakgrunn av studentenes interesse for fagfeltet patologi. Gjennom utdanningen har studentene hatt undervisning på patologilaboratoriet ved NTNU Ålesund, og sett behovet for forbedring. Laboratoriet har ikke hatt en fremføringsmaskin og det har dermed ikke vært mulig å fremføre vev ved universitetet fram til nå. Arbeidet med denne bacheloroppgaven kan bidra til utvikling av NTNU som forskningsinstitusjon. Formålet med oppgaven er å utarbeide en brukermanual for fremføringsmaskinen Spin Tissue Processor STP 120 som står på rom K133/134, ved NTNU Ålesund. Dette er en praktisk oppgave hvor problemstillingen er å utforme en brukervennlig manual for fremføringsmaskinen som kan benyttes av studenter og ansatte ved institusjonen, som ikke har tidligere kunnskap om maskinen. Manualen skal være tilgjengelig for bruk i forskning, bachelor-, master- og doktorgradsoppgaver. Den skal inneholde program for rutine-, fett- og hurtigfremføring. Manualen vil også inneholde veiledning for hvordan man programmerer nye fremføringsprogram, samt bruk og vedlikehold av STP 120. STP 120 er ment for fremføring av humant vev, men med bakgrunn i at maskinen skal brukes til forskning utenfor sykehus, er dette ikke aktuelt. Oppgaven blir derfor begrenset til fremføring av vev fra rognkjeks og laks. Kjemikalier og vev fra fisk er gjort tilgjengelig av universitetet. Arbeidet med bacheloroppgaven går over to måneder under vårsemesteret 2023. Oppgaven er delt i to deler; hvor del én er teoretisk bakgrunn, utførelse av praktisk arbeid og diskusjon, mens del to er brukermanualen.

Mikroskopering av vevsmateriale kan først skje etter at vev har vært gjennom fiksering, makrobeskjæring, fremføring, støping i parafin, snitting på mikrotom, tørking på objektglass, og til slutt farging. Makrobeskjæring er prosessen hvor vev beskrives og deles i mindre deler som får plass i fremføringskassetter. Ferdig fremført vev legges i støpeformer, orienteres og fylles med flytende parafin. Parafinen kjøles ned på kjøleplate til den stivner og vevsblokken kan snittes på mikrotom. Hensikten med snitting er å oppnå tynne lag av vevsbiten, ideelt ett til to celledags tykkelse (2). Disse legges på objektglass som tørkes i varmeskap slik at vevet fester seg og ikke løsner under farging. Til farging av vev benyttes ulike fargeprosedyrer avhengig av hvilke deler av vevet man ønsker å studere. Denne oppgaven går dypere inn på fremføring.

Umiddelbar og tilstrekkelig lang fiksering er viktig for å danne et godt grunnlag for fremføringsprosessen. Bein- og bruskholdig vev kan dekalsineres før fremføring for å gjøre det mer permeabelt for kjemikaliene. Dersom en vevsbit ikke blir dekalsinert etter behov, eller blir dårlig fremført, kan det være vanskelig å snitte den. Dette kompliserer den mikroskopiske vurderingen av prøven. Vev som ikke er tilstrekkelig dekalsinert, kan også dekalsineres etter støping ved å benytte for eksempel Perenyi's syre for å gjøre det lettere å snitte (3). Vev som er ferdig makrobeskjært legges i kassetter, samles i en prøvebeholder og settes inn i fremføringsmaskinen. Maskinen har flere bad med ulike kjemikalier som alle behandler vevet på forskjellig måte. Fremføringsprosessen deles i fire ulike trinn; videre fiksering i formalin, dehydrering, klaring i xylen og parafinimpregnering (4). Formalin og xylen er helseskadelige kjemikalier som krever spesielle vernetiltak ved bruk. Henviser til risikovurdering, vedlegg 8-1.

Første steg i fremføringsprosessen er videre fiksering i formalin. Formalin benyttes for å bevare strukturene i vevet og å stoppe forråtnelsesprosessen. Dette steget er viktig for å få et resultat som er minst mulig påvirket av indre og ytre faktorer. De indre faktorene er nedbrytningsprosesser som settes i gang når en vevsbit fjernes fra verten. Enzymer frigjøres fra cellene og fører til oppløsning av vevet, kalt autolyse. De ytre faktorene, for eksempel romtemperatur og oksygen, kan påvirke vevets morfologi dersom det ikke fikseres umiddelbart (5).

Dehydrering foregår ved å skifte ut vann med hydrofobe stoffer. Det første som skjer i dette steget er at vann og formalin fjernes fra vevet og deretter erstattes av et organisk løsemiddel. Etanol er et godt dehydreringsmiddel, fordi det har en hydrofil og en hydrofob gruppe hvor begge har mulighet til å danne hydrogenbindinger (4). Dehydreringsmiddelet benyttes i økende konsentrasjon for å fjerne alle vannløselige stoffer, uten å ødelegge vevet som følge av diffusjonsprosesser. Vevet føres derfor først ned i etanol av 70% løsning, deretter 96% og til slutt absolutt alkohol. Dersom vevet føres direkte fra vann til absolutt alkohol kan det oppstå overflatespenning på cellene, som vil gi utfordringer ved videre behandling, blant annet farging (5). Det er også viktig at vevsbiten ikke oppholdes for lenge i alkohol da dette kan tørke ut vevet.

Det neste steget er klaring hvor målet er å bytte ut etanol med parafin. Etanol fjernes for å gjøre vevet permeabelt for andre kjemikalier. Klaringsmiddel velges etter dets evne til å erstatte dehydreringsmiddelet, og hvor lett det igjen kan erstattes av parafin. Xylen er ett klaringsmiddel som kan løses både i etanol og parafin, og er derfor vanlig å benytte. Vevet bør ikke stå for lenge i xylen, da dette kan føre til at det blir sprøtt og vanskelig å snitte (5). Det siste steget er parafinimpregnering hvor klaringsmiddelet erstattes med flytende parafinvoks. Etter impregnering er vevet klart for videre innstøping med ytterligere parafin. Hensikten med impregnering er å oppnå tilnærmet lik fasthet mellom vev og parafin, slik at vevsblokken kan snittes uten at strukturene blir ødelagt (4).

De fire trinnene i fremføringsprosessen har ulik varighet, avhengig av vevstype og størrelse. Rutineprogram benyttes for de aller fleste vev av ulik størrelse, bortsett fra hasteprover, og vev som inneholder store mengder fett eller brusk. Fett- og bruskevvet trenger ytterligere fremføring i forhold til vev som kan fremføres med rutineprogram. Dette skyldes at fett og brusk er mindre permeabelt for kjemikalier. Derfor oppholdes denne typen vev lengre i de ulike badene i fremføringsprosessen, slik at kjemikaliene får tilstrekkelig tid til å trekke inn i vevet. Et alternativ er å legge til et avfettingstrinn hvor man benytter en blanding av alkohol og xylen, med et forhold på 1:1 (6). Hurtigprogram benyttes for fremføring av mindre vevsbiter, som nålebiopsier eller andre små vevsbiter, hvor man ønsker en hurtig vurdering av et foreløpig resultat. I slike tilfeller trenger ikke vevet å ligge like lenge i hvert bad som når vevsbitene er større. Dette gjør det mulig å benytte et hurtigprogram der tiden vevet oppholdes i hvert bad kan kortes ned. Ved bruk av hurtigprogram er det viktig å ha krav til størrelsen på vevsbiten og til hvilken type vev som kan fremføres (4).

## *1.2 Ordliste*

Diffusjonsprosess: «Diffusjon er spredning av ett stoff i et annet stoff, eller spredning av lys og lyd» (7).

Permeabilitet: «Permeabiliteten er av fundamental betydning for opptak og transport av stoffer i celler eller mellom celler» (8).

## 2 Metode

Arbeidet startet med å samle inn litteratur i form av prosedyrer og vitenskapelige tekster. Prosedyrene ble hentet fra Helse Møre og Romsdal HF (HMR) og St. Olavs hospital HF. Det ble også utført søk etter litteratur i Oria. Litteratursøket ble avgrenset til fagområdet patologi, histologi og behandling av vev. Prosedyrene som ble benyttet var laget for fremføringsmaskiner med ulikt antall bad enn STP 120. STP 120 har 12 bad, mens fremføringsmaskiner som benyttes i HMR og St. Olavs har 14. Tidene det ble tatt utgangspunkt i ble justert i hvert bad. Rotasjon av kurven med prøver ble valgt ved å definere spin. I de tre programmene som ble utformet ble spin 1 benyttet i hvert kjemikaliebad, som tilsvarer 60 rpm. Fremføringsprogrammene ble utformet med utgangspunkt i litteraturen, deretter testet og forbedret ut ifra resultatet av fremføringen.

For å komme i gang med den praktiske delen av prosjektet ble fremføringsmaskinen plassert i et lokale med punktavsug. Dette ble rom K133/134 som ligger på Kompasset ved NTNU Ålesund. Videre ble de tre ferdig utformede programmene programmert på maskinen. Produsentens brukermanual ble benyttet som hjelpemiddel for forklaring av maskinens innstillinger og kontrollpanel.

Under det praktiske arbeidet med oppgaven ble det benyttet verneutstyr som hansker, vernemaske og laboratoriefrakk. Kjemikalierne xylen, parafin, formalin og alkohol (70 %, 96 % og absolutt alkohol) ble tilført badene i maskinen. For å fremstille 1 L av hver alkoholkonsentrasjon ble absolutt alkohol blandet med destillert vann. Forholdet ble 7 dl absolutt alkohol i 3 dl destillert vann for å lage 70 % alkohol. For å fremstille 96 % alkohol ble 9,6 dl absolutt alkohol blandet med 0,4 dl destillert vann. 70 % og absolutt alkohol ble også gjort tilgjengelig på laboratoriet for rengjøring ved søl.

Makrobeskjæring av rognkjeks og laks ble utført i avtrekksskap på patologilaboratoriet. Det ble makrobeskjært gjeller fra laks for å gjennomføre kjøring av fettprogram. For rutineprogram og hurtigprogram ble det makrobeskjært skinn fra rognkjeks. Til kjøring av hurtigprogrammet ble det makrobeskjært skinn i ulike tykkelser, fra 1 mm til 5 mm. Totalt ble det makrobeskjært 8 vevsbiter av gjeller fra laks og 14 vevsbiter av skinn fra rognkjeks.

Vevsbitene ble plassert i fremføringskassetter og fraktet i formalin til rom K133/134 for fremføring.

Etter endt fremføring ble vevsbitene fraktet i en beholder fra rom K133/134 til patologilaboratoriet for å bli støpt i parafin. Under støping ble vevsbitene orientert i støpeformer på en slik måte at ønskelig snittflate ble tilgjengelig ved snitting. Gjellene fra laks ble orientert slik at den mest kompakte delen treffer kniven først. Skinn fra rognkjeks ble orientert med tverrsnitt, slik at alle lagene av skinnet ble synlig.

### *2.1 Rutineprogram*

Rutineprogrammet ble programmert med utgangspunkt i prosedyrer for rutineprogram fra HMR (vedlegg 8-2) og fra produsenten av STP 120 (9). Under første kjøring ble kassetene med vev sittende fast i parafin som ikke var smeltet. Til tross for at programmet ikke ble fullført, ble disse vevsbitene støpt i parafin, snittet på mikrotom, farget med HES (vedlegg 8-4) og mikroskopert. Temperaturen på parafinbadene ble deretter regulert fra 55 °C til 60 °C for å få gjennomført de neste kjøringene av rutineprogrammet. Programmet varte i 13 timer og 37 minutter. Etter støping, snitting og farging ble rutinefremføringen vurdert tilfredsstillende av veileder.

### *2.2 Fettprogram*

Fettprogrammet ble utformet med utgangspunkt i prosedyrer for fettprogram fra HMR. Kjøringen ble gjort med fire vevsbiter av gjeller fra laks. Programmet varte i 31 timer og 52 minutter. Etter endt fremføring ble vevsbitene støpt i parafin, snittet på mikrotom og farget med HES. Vevssnittene fra de fire parallellene ble vurdert tilfredsstillende fremført av veileder etter mikroskopering.

### *2.3 Hurtigprogram*

Hurtigprogrammet på STP 120 ble utformet med utgangspunkt i «Theory and Practice of Histological Techniques» og prosedyrer for hurtigfremføring fra St. Olavs (vedlegg 8-3). Første kjøring av programmet ble gjort med vevsbiter fra rognkjeks av ulik tykkelse, fra 1–3 mm. Etter at vevet ble støpt i parafin, snittet på mikrotom og farget med HES, ble det konkludert med at vevet ikke var tilstrekkelig fremført for å få et tilfredsstillende resultat. Med bakgrunn i første kjøring ble tidene i alle badene, bortsett fra alkoholbadene, fordoblet.

Etter ny kjøring ble snittene med størrelse opp til og med 3 mm godkjent av veileder. Det ble gjennomført en tredje kjøring med hurtigprogram. I denne kjøringen ble det inkludert vevsbiter med størrelser opp til og med 5 mm. Programmet varte i 4 timer og 40 minutter.

### 3 Resultat

Brukermanualen for STP 120 ligger som appendiks, side 20.

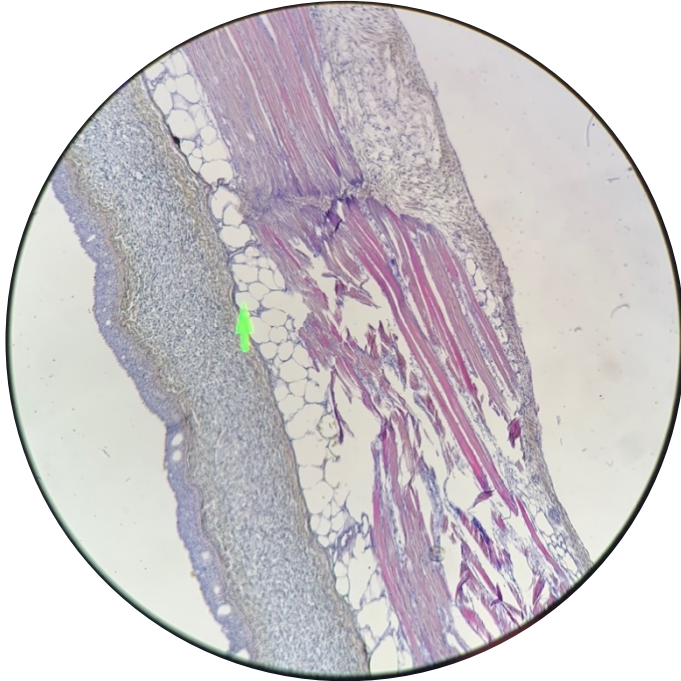
*Tabell 3-1: Programoversikt.*

Tabellen viser utformingen av de tre programmene programmert på STP 120.

Spin: 0 = 0 rpm. 1 = 60 rpm. 2 = 70 rpm.

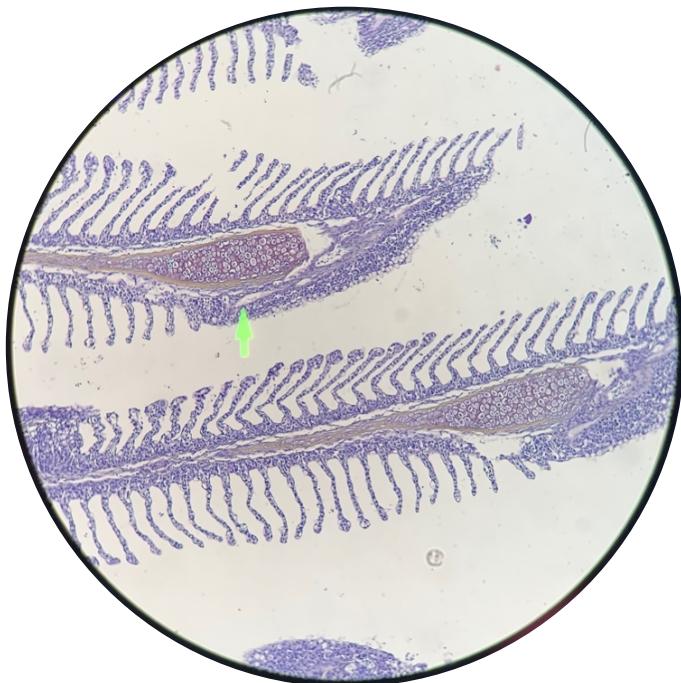
| <b>Bad</b> | <b>Reagens</b> | <b>Rutineprogram<br/>(tt:mm)</b> | <b>Fettprogram<br/>(tt:mm)</b> | <b>Hurtigprogram<br/>(tt:mm)</b> | <b>Spin</b> |
|------------|----------------|----------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|-------------|
| 1          | Formalin       | 00:45                            | 01:30                          | 00:20                            | 1           |
| 2          | Formalin       | 00:55                            | 01:30                          | 00:20                            | 1           |
| 3          | Alkohol 70 %   | 00:40                            | 02:30                          | 00:10                            | 1           |
| 4          | Alkohol 70 %   | 00:40                            | 02:15                          | 00:10                            | 1           |
| 5          | Alkohol 96 %   | 00:45                            | 02:15                          | 00:10                            | 1           |
| 6          | Alkohol 96 %   | 01:00                            | 02:30                          | 00:10                            | 1           |
| 7          | Alkohol 100 %  | 01:00                            | 02:30                          | 00:10                            | 1           |
| 8          | Alkohol 100 %  | 01:00                            | 03:00                          | 00:10                            | 1           |
| 9          | Xylen          | 01:30                            | 03:00                          | 00:20                            | 1           |
| 10         | Xylen          | 01:30                            | 03:00                          | 00:20                            | 1           |
| 11         | Parafin        | 02:00                            | 04:00                          | 00:20                            | 1           |
| 12         | Parafin        | 01:30                            | 03:30                          | 00:20                            | 1           |





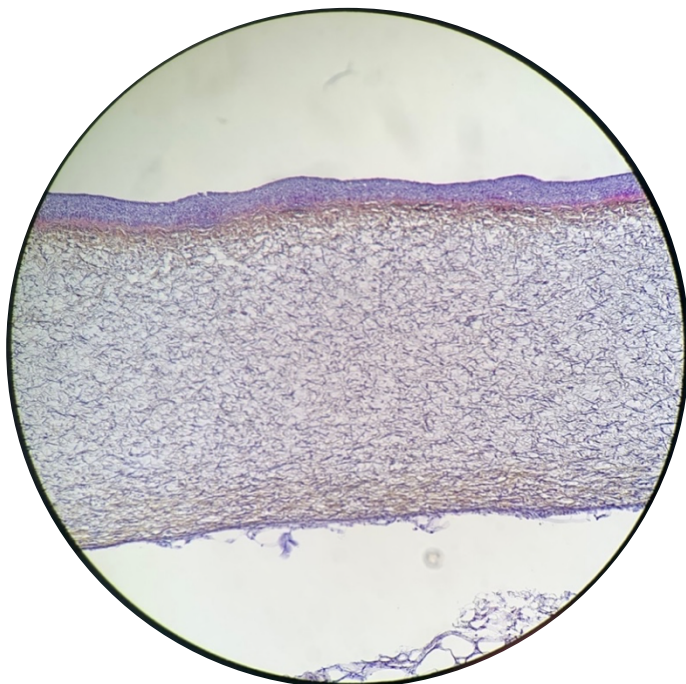
*Figur 3-1: Skinn fra rognkjeks fremført med godkjent rutineprogram.*

Mikroskopering av skinn fra rognkjeks som er tilfredsstillende fremført med rutineprogrammet.

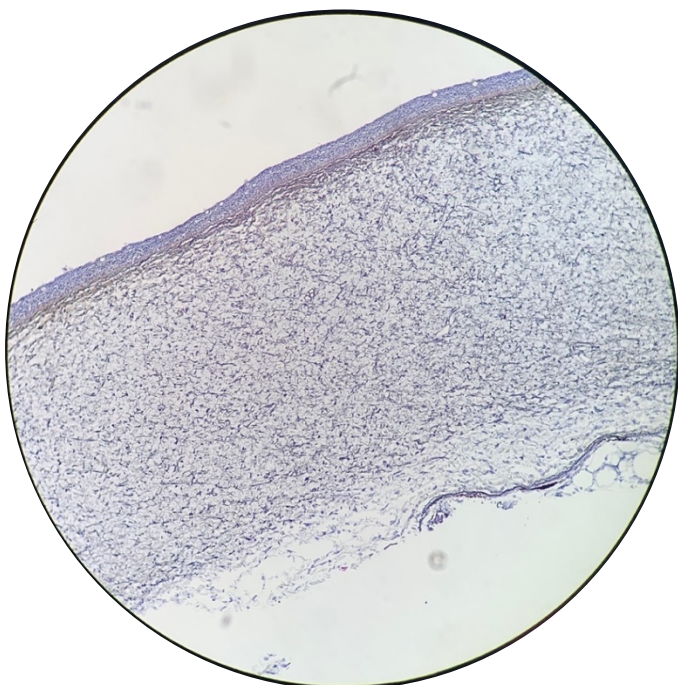


*Figur 3-2: Gjeller fra laks fremført med godkjent fettprogram.*

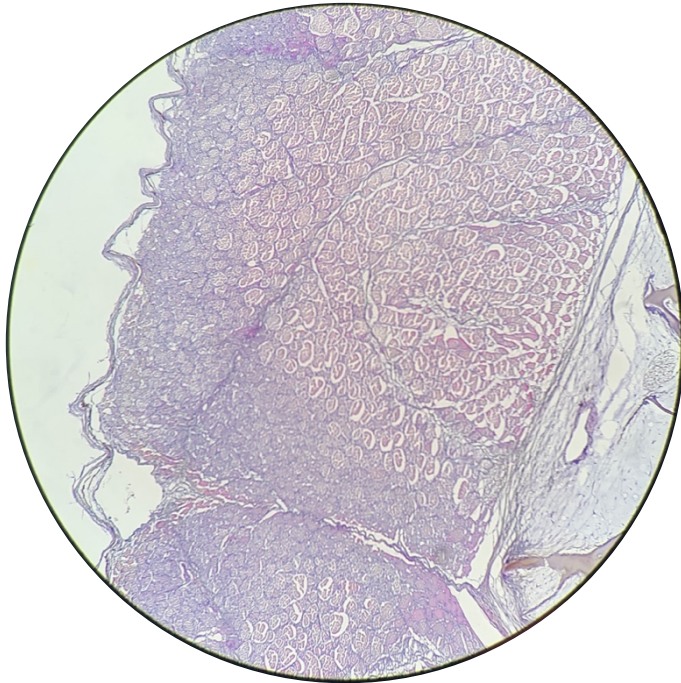
Mikroskopering av gjeller fra laks som er tilfredsstillende fremført med fettprogrammet.



*Figur 3-3: Skinn fra rognkjeks fremført med godkjent hurtigprogram – 1 mm.*  
Mikroskopering av skinn fra rognkjeks som er tilfredsstillende fremført med hurtigprogrammet. Vevsbiten som ble fremført var 1 mm.



*Figur 3-4: Skinn fra rognkjeks fremført med godkjent hurtigprogram – 2 mm.*  
Mikroskopering av skinn fra rognkjeks som er tilfredsstillende fremført med hurtigprogrammet. Vevsbiten som ble fremført var 2 mm.

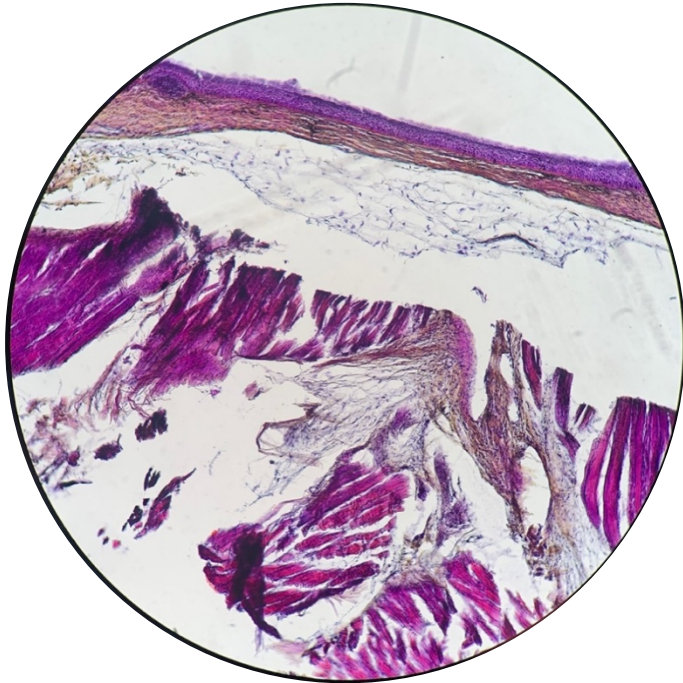


*Figur 3-5: Skinn fra rognkjeks fremført med godkjent hurtigprogram – 3 mm.*  
Mikroskopering av skinn fra rognkjeks som er tilfredsstillende fremført med hurtigprogrammet. Vevsbiten som ble fremført var 3 mm.



*Figur 3-6: Skinn fra rognkjeks fremført med godkjent hurtigprogram – 4 mm.*  
Mikroskopering av skinn fra rognkjeks fremført med godkjent hurtigprogram. Vevsbiten som ble fremført var 4 mm og ble ikke godkjent.





*Figur 3-7: Skinn fra rognkjeks fremført med ikke godkjent hurtigprogram – 2 mm.*

Mikroskopering av skinn fra rognkjeks fremført med det første hurtigprogrammet som ikke ble godkjent. Snittet har tykkelse på 20 mikrometer. Vevsbiten som ble fremført var 2 mm og ble ikke godkjent.

## 4 Diskusjon

Bachelorarbeidet startet med innsamling av litteratur for å ha teoretisk kunnskap å basere det praktiske arbeidet på. Dette ga et utgangspunkt for å utarbeide de aktuelle fremføringsprogrammene som avgrenset i problemstillingen. STP 120 har ulikt antall kjemikaliebad enn maskinene de opprinnelige prosedyrene er utformet for. Dette er tatt høyde for ved utforming av de nye programmene. Derfor er tidene i badene justert opp for å kompensere for færre bad. I de innhentede prosedyrene er spin definert, men rpm-verdien er ikke oppgitt. Det er derfor valgt å utprøve spin på 60 rpm, ettersom det kommer fram fra de andre prosedyrene at spin er over 0 rpm, men ikke den eksakte verdien. 60 rpm viser seg å fungere.

STP 120 er ment for fremføring av humant vev, men skal ved NTNU benyttes til forskning og undervisning. Det er disponert fisk og annet materiale fordi det ikke er lovlig å benytte seg av humant vev i slike sammenhenger. Dette har medført at utarbeiding av brukermanualen er basert på vev fra laks og rognkjeks. Utviklingen av programmene er gjort med bakgrunn i at vev som fremføres skal farges med HES. Programmene er ikke utarbeidet mot immunhistokjemiske metoder og burde dermed utprøves ytterligere dersom dette skulle bli aktuelt.

Brukermanualen inneholder daglig, ukentlig og månedlig vedlikehold, og generell bruk. Dette er inkludert for å kunne benytte brukermanualen uten å ha behov for produsentens manual under daglige kjøring. I tillegg er det et kapittel som beskriver fremgangsmåten for å programmere et nytt program. Dette er tatt med basert på muligheten til å utvikle et program rettet mot blant annet immunhistokjemi. Under kapittelet «Alarmer» i brukermanualen refereres det til produsentens brukermanual ved filterbytte. Dette valget er tatt basert på at studentene ikke hadde behov for å skifte filter under arbeidet med bacheloroppgaven. I brukermanualen er det ikke inkludert hvordan man endrer klokkeslett, språk eller annet generelt oppsett av instrumentet. Dette inngår ikke i daglig bruk og er allerede innstilt. Det vurderes derfor å ikke være nødvendig i en brukermanual rettet mot studier og forskning. I slike tilfeller kan produsentens brukermanual benyttes.

STP 120 skal stå i et rom med godt avtrekk. Instrumentet står på rom K133/134, fordi det har punktavsug, men rommet er likevel ikke godt nok ventilert for bruk av xylen og formalin. Disse kjemikaliene er helseskadelige og bør derfor håndteres på en forsvarlig måte, noe som er utfordrende på dette rommet. Punktavsugget som henger over STP 120 er i veien da instrumentet er basert på at lokket heves og senkes under hele kjøringen. Dette fører til at punktavsugget må flyttes slik at det ikke har mulighet til å fjerne kjemikaliene i rommet på forsvarlig måte. Studentene er informert om at det er gjort innkjøp av en ventilasjonsdel som kobler punktavsugget til instrumentet. Dette løser problemet med at punktavsugget er i veien når lokket heves og senkes, men spredningen av kjemikalier når lokket er hevet er fortsatt et problem. Det foreslås at STP 120 flyttes til et rom med bedre ventilasjon for å forhindre helseskadelig bruk. Det ideelle er om maskinen står i et avtrekksskap, men utformingen av den gjør dette utfordrende, da den er rund og man må ha tilgang til hele maskinen. Til av- og på-lasting av prøver er det kun behov for å benytte kontrollpanelet, og bad 1 og 12, som er de fremste badene. Det er likevel nødvendig å ha tilgang til strømbryteren på baksiden av maskinen, samt alle badene ved fylling og tømning av kjemikalier. Dette er ikke mulig dersom maskinen står i et avtrekksskap.

Munnbindene som ble benyttet i startfasen av prosjektet er ikke egnet for xylen eller formalin. Disse kjemikaliene er helseskadelige ved innånding, og krever vernemasker med egnet filter dersom det ikke er gode ventilasjonsforhold. I tillegg kan kjemikaliene være skadelige dersom det blir søl på huden. Det er nødvendig å benytte spesielle hansker som beskytter bedre mot kjemikalier enn hanskene som vanligvis brukes på laboratoriet. Hanskene som ble benyttet fungerer under kortere eksponering av formalin, men ikke til lengre eksponering eller makrobeskjæring. Studentene burde ha gått til innkjøp av vernemasker og spesialhansker tidligere i forløpet.

Rom K133/134 befinner seg i en annen bygning enn patologilaboratoriet, som er stedet for all annen håndtering av vev enn fremføring. Dette medfører at vevsbiter må fraktes mellom de to rommene ute i skolens områder der det oppholder seg studenter. Under transporten blir vevet oppbevart i formalin eller parafin. Til tross for at det blir benyttet en pose eller bøtte for å hindre at kjemikaliene kommer ut i omgivelsene er dette ikke optimalt. Flytting av vev mellom de to rommene medfører også at det tar lengre tid før ferdig fremført vev blir støpt. Dette er problematisk, fordi vevet bør holdes varmt mellom disse to stegene, for å hindre at

det tørker ut. Instrumentet som smelter parafin, er gammelt og upålitelig. Under bachelorarbeidet kunne det ta alt fra minutter til timer før det skrudde seg på. Dette resulterte i noen tilfeller i at studentene måtte gjennomføre manuell smelting av parafin, som tar lengre tid og krever flere hender. Det er derfor grunn til å kjøpe et nytt instrument som smelter parafin for innstøping av vev, slik at man får nytte av at det blir godt fremført. Det er hensiktsmessig at fremføringsmaskinen og instrumentet som smelter parafin befinner seg i samme rom.

Under første kjøring av rutineprogrammet ble kassetten med vev sittende fast i første bad med parafin. Årsaken til dette er at parafinen ikke var fullstendig smeltet på grunn av for lavt innstilt temperatur i parafinbadene. Etter undersøkelse av parafinens smeltepunkt ble temperaturen endret fra 55 °C til 60 °C, som løste problemet. Ettersom det var et parafinbad kurven med vevsbiter ble sittende fast i, ble vevet likevel fullstendig fremført. Det skyldes at vevet har vært gjennom alle de fire trinnene i fremføringsprosessen. Vevsbitene ble støpt i ytterligere parafin og snittet for å vurdere om fremføringsprogrammet fungerer godt. Fastheten mellom parafinen og vevet er tilnærmet lik, som indikerer at vevsbiten ble tilstrekkelig parafinimpregnert selv om vevskassetten ikke gikk gjennom begge parafinbad. Ved farging med HES ble vevskomponentene som forventet i henhold til prosedyre. Under mikroskopering av vevet kan man se at morfologien er intakt og dermed at vevet er godt fremført. Som vist på figur 3-1 er skinnet fra rognkjeksammenhengende med muskel-, fett- og bindevev. Rutineprogrammet ble kjørt ytterligere en gang. Ved denne kjøringen ble det bekreftet at programmet er godt fordi vevsblokkene er mulig å snitte, og mikroskoperingen viser at vevets morfologi er bevart.

Til utprøving av fettprogrammet er det brukt gjeller fra laks. Dette vevet er bruskheldig og har derfor behov for lengre tid i hvert bad grunnet mindre permeabilitet. Programmet kalles fettprogram ettersom prosedyrene det ble tatt utgangspunkt i har dette navnet. Programmet har lengre varighet, noe som gir kjemikaliene mulighet til å trenge inn i fett- og bruskheldig vev. Kjøringen er gjort med fire vevsbiter for å kunne vurdere kvaliteten med utgangspunkt i flere paralleller. Som vist på figur 3-2 er gjellene tilfredsstillende fremført fordi morfologien i vevet er sammenhengende og strukturene kan ses tydelig. Fastheten mellom parafinen og vevet er tilnærmet lik som gjør det mulig å snitte vevet på mikrotom. Fargingen med HES er godt gjennomført og viser ønsket fremstilling av de ulike vevskomponentene.

En svakhet i prosessen med å utvikle fettprogrammet er at det kun ble gjennomført én kjøring. Dette valget ble tatt på bakgrunn av at det ble godt fremført etter første kjøring, og at fettprogrammet er basert på en prosedyre som benyttes ved Ålesund sykehus, som gjør det pålitelig. En annen svakhet er at det kun ble gjort kjøring med bruskhoidig vev og ikke fetthoidig, samt at det ikke er undersøkt hvor stor mengde bruske vevet kan inneholde for at det skal bli tilstrekkelig fremført. Årsaken til dette er at fetthoidig vev, og vev med ulik mengde bruske, ikke var tilgjengelig. En løsning kan være å kjøre programmet med forskjellig vev med varierende mengde bruske og fett. Det kan gi et klarere bilde over hvor bruskhoidig vevet kan være før det må dekalseres og hvor godt programmet fungerer på fetthoidig vev.

Hurtigprogram er vanligvis ment for å kunne gjøre en hurtig, midlertidig vurdering av vevet, og dermed avgjøre hvorvidt man skal arbeide videre med det eller ikke. Dette kan gå på bekostning av et pålitelig resultat. Ved universitetet skal programmet i tillegg benyttes til forskning. For å samle informasjon til å utarbeide hurtigprogrammet tok studentene kontakt med St. Olavs. Det er også samlet inn litteratur fra biblioteket ved TNTU Ålesund for å finne andre hurtigprogram. Boken «Theory and Practice of Histological Techniques» (5) er fra 2008, som gjør kilden utdatert, men mangel på litteratur gjorde at denne boken likevel ble benyttet. Med bakgrunn i disse to hurtigprogrammene, ble det programmert et forslag på STP 120.

I første kjøring var tidene i hvert bad 10 minutter. Etter endt fremføring var vevet vanskelig å snitte, sprøtt, og derfor ikke tilfredsstillende fremført. Som vist på figur 3-7 er vevet usammenhengende og overfarget. Dette skyldes at vevet ikke kunne snittes tynnere enn 20 mikrometer, som er årsaken til den høye fargeintensiteten. Vevet har gått i oppløsning etter snitting og mistet sin struktur. Det antas at tiden i hvert bad under fremføringen var for kort, da vevet var for hardt for å snittes med en tykkelse på 2,5 mikrometer. Dette indikerer at fastheten mellom vevet og parafinen ikke er tilnærmet lik. Det antas at vevet ble sprøtt fordi det ble oppbevart for lenge i alkohol i forhold til de andre kjemikaliene. I neste kjøring av hurtigprogrammet ble derfor tidene i alle bad, bortsett fra alkoholbadene, fordoblet. Under denne kjøringen ble det benyttet vevsbiter fra 1 mm til 3 mm. Som vist på figur 3-3, 3-4 og 3-5 er vevet sammenhengende og fargingen er vellykket. I denne kjøringen er morfologien god, og fremføringen er derfor vurdert tilfredsstillende.



For å eliminere variabler og å sette en øvre grense i forhold til størrelsen på vevsbitene, ble hurtigprogrammet kjørt igjen. Til denne kjøringen ble det makrobeskjært ytterligere vevsbiter i ulike tykkelser, fra 1 mm til 5 mm. Det er konkludert med at vevsbiter opp til og med 3 mm blir tilstrekkelig fremført med programmet. Vevsbitene på 4 og 5 mm er for store og blir ikke tilstrekkelig fremført. Som vist på figur 3-6 er snittet fra vevsbiten på 4 mm usammenhengende på grunn av utfordringer under snitting. Det er ikke farget og mikroskopert snitt fra vevsbitene på 5 mm, fordi det ikke var mulig å snitte disse.

Under støping bør vevet orienteres slik at snittene viser et representativt bilde av strukturene under mikroskopering. Gjellene er orientert med den mest kompakte delen av vevsbiten ned mot kniven, fordi de tynnere strukturene ytterst på gjellene kan bli skadet dersom de møter kniven først. Når det kommer til orientering av skinn fra rognkjeks er det viktig at alle lagene er synlig på snittet, for å undersøke om det henger sammen og om morfologien i hvert lag er bevart.

Når STP 120 skal avsluttes og rengjøres, skal badene tømmes ved å helle kjemikaliene over i andre beholdere. Dette er ikke mulig å gjennomføre uten søl fordi badene ikke har helletut, de tilgjengelige traktene er små, og avfallsbeholderne er egnet for mindre mengder avfall. Dette medfører en tidkrevende og uforsvarlig rengjøringsprosess. Et forbedringspotensiale for rengjøring er å anskaffe en form for tut som kan settes på badene slik at innholdet kan helles ut uten at det blir søl. Alternativt kan man vurdere å skaffe en pumpe som suger opp innholdet. Trakter med store åpninger kan bidra til å gjøre mengden søl mindre. Det er også hensiktsmessig å anskaffe større avfallsbeholdere slik at man ikke trenger å benytte flere ulike beholdere for hver kjemikalie.

## **5 Konklusjon**

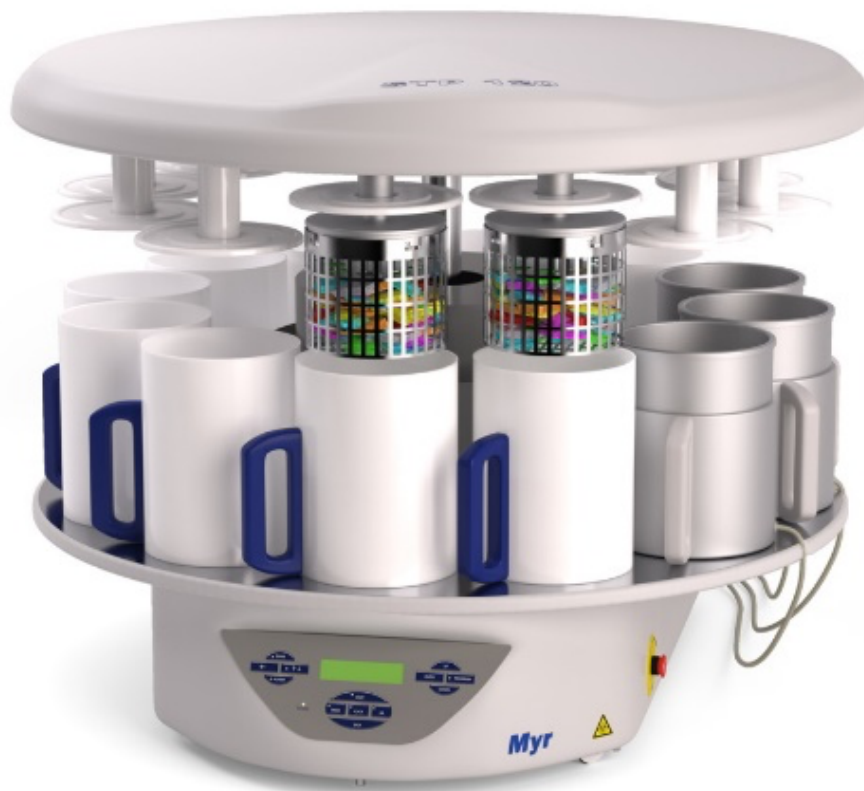
Det ble utformet en brukervennlig manual for fremføringsmaskinen STP 120 med utgangspunkt i innsamlede prosedyrer fra ulike helseforetak. Disse ble utprøvd, tilpasset og forbedret for å utforme tre programmer til fremføring av vev fra fisk. Manualen er utarbeidet til bruk i forskning og studier, og skal ligge tilgjengelig ved maskinen på rom K133/134.

## 6 Referanser

1. Myr. Spin Tissue Processor STP 120 for tissue infiltration [Internett]. Tarragona: Especialidades Médicas MYR, S.L. [hentet 21. februar 2023]. Tilgjengelig fra: <https://myr.com.es/index.php/products/spin-tissue-processor-stp-120?lang=en>
2. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Basic Histology: Text & Atlas. 13th edition. New York: McGraw-Hill; 2013.
3. Mondal SK. Manual of Histological Techniques [Internett]. India: Jaypee brothers Medical Publishers; 2019 [hentet 2. Mai 2023]. Tilgjengelig fra: [https://web.p.ebscohost.com/ehost/ebookviewer/ebook/bmxlYmtfXzI5NzE5OTBfX0FO0?sid=eeeb6756-6a7f-4840-b5fb-4a67794d56e1@redis&vid=0&format=EB&lpid=lp\\_80&rid=0](https://web.p.ebscohost.com/ehost/ebookviewer/ebook/bmxlYmtfXzI5NzE5OTBfX0FO0?sid=eeeb6756-6a7f-4840-b5fb-4a67794d56e1@redis&vid=0&format=EB&lpid=lp_80&rid=0)
4. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods. 5. utg. Storbritannia: Scion Publishing; 2015.
5. Bancroft JD, Gamble M. Theory and Practice of Histological Techniques. 6. utg. Storbritannia: Churchill Livingstone; 2008.
6. Lioswski A., Walter A. Processing Fatty Specimens [Internett]. United States: Leica Biosystems; 2023 [hentet 08. februar 2023]. Tilgjengelig fra: <https://www.leicabiosystems.com/knowledge-pathway/processing-fatty-specimens/>
7. Pedersen B. Diffusjon [Internett]. Universitet i Oslo: Store norske leksikon; 09. september 2022 [hentet 19. april 2023]. Tilgjengelig fra: <https://snl.no/diffusjon>
8. Store norske leksikon. Permeabilitet [Internett]. Store norske leksikon: Store norske leksikon [oppdatert 8. juni 2019; hentet 19. april 2023]. Tilgjengelig fra: [https://snl.no/permeabilitet\\_-\\_biologi](https://snl.no/permeabilitet_-_biologi)
9. Myr. Spin tissue processor Model STP 120 User's manual. Utg. 12. Llorenç Penedès: Especialidades Médicas MYR, S.L; 2022.

## **7 Appendiks: Brukermanual for Spin Tissue Processor STP 120**

**Brukermanual**  
**for**  
**Spin Tissue Processor STP 120**



# Innhold

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1 Introduksjon</b> .....                  | <b>2</b>  |
| <b>2 Generell bruk</b> .....                 | <b>3</b>  |
| 2.1 Regler for generell bruk.....            | 3         |
| 2.2 Kontrollpanel.....                       | 3         |
| 2.3 Oppstart av maskinen .....               | 4         |
| 2.4 Avslutning av maskinen .....             | 4         |
| <b>3 Rengjøring ved søl</b> .....            | <b>5</b>  |
| 3.1 Rengjøring ved søl av xylen .....        | 5         |
| 3.2 Rengjøring ved søl av formalin.....      | 5         |
| <b>4 Vedlikehold</b> .....                   | <b>6</b>  |
| 4.1 Daglig vedlikehold.....                  | 6         |
| 4.2 Ukentlig vedlikehold .....               | 6         |
| 4.3 Månedlig vedlikehold.....                | 6         |
| <b>5 Kjemikalieoversikt</b> .....            | <b>7</b>  |
| <b>6 Alarmer</b> .....                       | <b>8</b>  |
| <b>7 Programmering av nytt program</b> ..... | <b>9</b>  |
| <b>8 Rutineprogram</b> .....                 | <b>10</b> |
| 8.1 Starte program.....                      | 10        |
| 8.2 Avslutte program.....                    | 10        |
| 8.3 Programmets utforming.....               | 11        |
| <b>9 Fettprogram</b> .....                   | <b>12</b> |
| 9.1 Starte program.....                      | 12        |
| 9.2 Avslutte program.....                    | 12        |
| 9.3 Programmets utforming.....               | 13        |
| <b>10 Hurtigprogram</b> .....                | <b>14</b> |
| 10.1 Starte program.....                     | 14        |
| 10.2 Avslutte program.....                   | 14        |
| 10.3 Programmets utforming.....              | 15        |
| <b>11 Referanser</b> .....                   | <b>16</b> |

# 1 Introduksjon

Denne brukermanualen er et produkt av en bacheloroppgave skrevet ved NTNU Ålesund, våren 2023. Spin Tissue Processor STP 120 er en fremføringsmaskin ment for humant vev, men skal ved NTNU Ålesund benyttes til forskning og fremføring av vev fra fisk og annet ikke-humant materiale. Den har tolv bad som individuelt kan fjernes fra maskinen ved behov. Ved anvendelse av STP 120 er det behov for gode muligheter for avtrekk. Kjemikaliene som benyttes ved bruk av maskinen er formalin, xylen, parafin og alkohol av ulike konsentrasjoner. Forsidebildet viser fremføringsmaskinen Spin Tissue Processor STP 120 (1).

## 2 Generell bruk

### 2.1 Regler for generell bruk

- STP 120 skal stå godt ventilert for å sikre trygg bruk og forhindre innånding av farlige kjemikalier.
- STP 120 skal stå flatt og stabilt.
- Sikkerhetsutstyr som skal benyttes ved bruk av STP 120:
  - Laboratoriefrakk.
  - Vernemaske.
  - Hansker.
  - Vernebriller.
- Ikke berør kontrollpanelet med hansker da disse kan være forurenset av kjemikalier.
- Ikke bruk makt for å åpne lokket, benytt heller knappene på kontrollpanelet. STP 120 er et halvautomatisk instrument som selv hever og senker lokket, og flytter kurven mellom badene.
- Kjemikalier fylles manuelt. Ikke overskrid maksimal mengde som er merket i hvert bad. Denne merkingen korresponderer med kurven for å forsikre at alle vevskassetene blir dekket av kjemikaliene.
- Utvis forsiktighet ved håndtering av bad 11 og 12, da de er oppvarmet når maskinen er påskrudd.
- Ikke slå av maskinen dersom den ikke er tømt for kjemikalier.

### 2.2 Kontrollpanel

STP 120 har et brukervennlig grensesnitt med et kontrollpanel og skjerm i front. Viser til side 15 i produsentens brukermanual, hvor knappenes funksjon står forklart.



Figur 1: Brukergrensesnitt for kontrollpanel (1).



### 2.3 Oppstart av maskinen

- Start STP 120 ved å trykke på strømbryteren på baksiden.
- Trykk ↑↓ for å løfte lokket.
- Fyll opp bad 1–12 med tilhørende kjemikalier som merket på utsiden. Disse fylles opp til merket på innsiden av badene.
- Still inn temperatur på parafinbadene. Ønsket temperatur er 56–60 °C.
  - Trykk **PROGRAM** og velg SETUP MENU ved å trykke **UP/DOWN**, bekreft med **ENTER**.
  - Velg **PARAFFIN TEMP** ved å trykke **UP/DOWN**, bekreft med **ENTER**.
  - Velg bad 11 eller 12 ved å trykke **UP/DOWN**, bekreft med **ENTER**.
  - Still inn ønsket temperatur ved å trykke **UP/DOWN**, bekreft med **ENTER**.
  - Dersom temperaturen er stilt inn og badene koblet til; kontroller at parafinen er smeltet før start av kjøring.
- Trykk ↑↓ for å senke lokket.

### 2.4 Avslutning av maskinen

- Når STP 120 skal avsluttes må kjemikaliene kastes på forsvarlig vis, se kjemikalieoversikt side 7.
- Trykk ↑↓ for å løfte lokket.
- For å fjerne parafin fra kurvene må parafinen stivne i avtrekkskap for så å skrapes av. Stivnet parafin kastes i risikoavfall.
- Badene vaskes med absolutt alkohol og deretter med husholdningssåpe og vann.
- Badene tørkes og settes tilbake i maskinen.
- Trykk ↑↓ for å senke lokket.
- STP 120 skrur av med strømbryteren på baksiden.

### 3 Rengjøring ved søl

Ved bruk av STP 120 benyttes en rekke helseskadelige kjemikalier og det er viktig å ha kunnskap om hvordan man håndterer disse, se kjemikalieoversikt side 7. Bruk alltid verneutstyr som beskrevet i «Regler for generell bruk» ved håndtering av maskinen og kjemikaliene.

#### 3.1 Rengjøring ved søl av xylene

- Tørk opp væsken med papir.
- Vask med absolutt alkohol.
- Vask til slutt med vann for å unngå skade på materialer.
- Overflødig væske tørkes opp med papir.
- Avfall med xylene-søl kastes i lukket pose og oppbevares i avtrekkskap i minimum 20 minutter. Deretter kastes posen i risikoavfall.

#### 3.2 Rengjøring ved søl av formalin

- Hell på formalinabsorberende pulver, Polyform-F, dersom dette er tilgjengelig.
- Tørk opp med papir.
- Vask med 70 % alkohol.
- Vask til slutt med vann for å unngå skade på materialer.
- Overflødig væske tørkes opp med papir.
- Avfall med formalin-søl kastes i lukket pose og oppbevares i avtrekkskap i minimum 20 minutter. Deretter kastes posen i risikoavfall.

## 4 Vedlikehold

### 4.1 Daglig vedlikehold

- Rengjør kurvene.
  - For å fjerne parafin fra kurvene må parafinen stivne i avtrekkskap for så å skrapes av. Stivnet parafin kastes i risikoavfall.
- Kontroller nivået av kjemikalier i instrumentet.
  - Trykk ↑↓ for å løfte lokket, og se om det er nok kjemikalier i hvert bad.
  - Trykk ↑↓ for å senke lokket etter kontroll.
- Tørk over instrumentet med fuktig klut.

### 4.2 Ukentlig vedlikehold




- Parafinbadene må kobles ut når instrumentet ikke er i bruk, og over helg.
  - Slå av instrumentet med strømbryteren på baksiden.
  - Koble ut ledningene.
  - Slå på instrumentet med strømbryteren på baksiden.
- STP 120 må ikke stå avskrudd med kjemikalier i badene da den interne viften også vil være avslått.

### 4.3 Månedlig vedlikehold

- Kjemikalier skiftes ut en gang i måneden ved regelmessig bruk av instrumentet, eller ved behov.

## 5 Kjemikalieoversikt

Tabell 1: Kjemikalieoversikt.

| Kjemikalier | Faresymbol  | Avfallshåndtering  |
|-------------|---|--|
| Xylen       |  (2)   | <p>Samles i egnede avfallsbeholdere. Disse må merkes med avfall og aktuelle farevarsler.</p> <p>Oppbevares midlertidig i avtrekksskap på C331.</p>     |
| Etanol      |  (2)   | <p>Samles i egnede avfallsbeholdere. Disse må merkes med avfall og aktuelle farevarsler.</p> <p>Oppbevares midlertidig i avtrekksskap på C331.</p>     |
| Formalin    |  (2) | <p>Samles i egnede avfallsbeholdere. Disse må merkes med avfall og aktuelle farevarsler.</p> <p>Oppbevares midlertidig i avtrekksskap på C331.</p>     |
| Parafin     | Ingen   | <p>Hell over i egnet beholder.</p> <p>Disse må merkes med avfall og aktuelle farevarsler. La stivne i avtrekksskap, deretter kaste i risikoavfall.</p> |

## 6 Alarmer

Tabell 2: Oversikt over alarmer som kan løses av brukeren.

| Alarm                   | Problem  | Løsning   |
|-------------------------|--|---|
| «Solid paraffin»        | STP 120 har forsøkt å føre en kurv ned i et parafinbad som ikke er smeltet.  | Vent til parafinen er smeltet, eventuelt øk temperaturen.                         |
| «Power failure»         | Strømforsyningen til instrumentet har feilet. Dette kan føre til at prosessen ikke er gjennomført på optimalt vis. | Vurder om fremføringen skal repeteres.  |
| «Probe failure 10 1112» | Parafinbadene er koblet fra instrumentet.  | Koble parafinbadene til korresponderende støpsel.                                 |
| «Change filter»         | Filteret må byttes.  | Se side 31 i produsentens brukermanual.   |
| «Samples out»           | Et program er startet uten at lokket er nede.<br>Prøvene kan ha vært utenfor badene for lenge.                     | Vurder om vevets kvalitet er svekket. Sett kurven i startposisjon og senk lokket. |
| «Check battery»         | Lavt batteri på instrumentet.  | Kontroller om batteriet er tilkoblet og at sikringen ikke har gått.               |

Alarmer hvor autorisert servicetekniker må kontaktes:

- «Holder lowered»
- «Holder in centre»
- «Holder raised»
- «Vertical failure»
- «Horizontal failure»
- «Horizontal motor on»
- «Regulator failure»
- «Holder out of range»
- «Unit failure»

## 7 Programmering av nytt program

På STP 120 er det mulig å programmere ti forskjellige fremføringsprogram for ulike bruk. Før programmering er det viktig at maskinen er riktig oppkoblet.

### Fremgangsmåte

1. Trykk **PROGRAM** for å få tilgang til menyen. Velg EDIT PROGRAM ved å trykke **ENTER**.
2. Trykk **UP/DOWN** for å velge hvilket nummer programmet skal ha, fra P01–P10. For å bekrefte valg; trykk **ENTER**.
3. Trykk **UP/DOWN** for å definere kurvens varighet i aktuelt bad. For å bekrefte valg; trykk **ENTER**.
4. Trykk **UP/DOWN** for å definere spin. For å bekrefte valg; trykk **ENTER**.
  - 0 = 0 rpm. 1 = 60 rpm. 2 = 70 rpm.

Punkt 3 og 4 gjennomføres for alle tolv bad. De tolv badene er som følger:

1. Formalin.
2. Formalin.
3. 70 % alkohol.
4. 70 % alkohol.
5. 96 % alkohol.
6. 96 % alkohol.
7. 100 % alkohol.
8. 100 % alkohol.
9. Xylen.
10. Xylen.
11. Parafin.
12. Parafin.

## 8 Rutineprogram

Rutineprogrammet er egnet for rutinefremføring av vev på størrelse opp til og med 5 mm. Programmet tar 13 timer og 37 minutter. Rutineprogram er lagt inn på STP 120 under P01. Før start av program, kontroller at alle kjemikalier er tilstede i korresponderende bad.

### 8.1 Starte program

1. Trykk **START** og velg program P01 med **UP/DOWN**. Bekreft med **ENTER**.
2. Trykk **TIMER** for å velge tidspunkt for ønsket avsluttet fremføring. Juster med **UP/DOWN**. Bekreft med **ENTER**.
3. Trykk **START**.
  - Skjermen vil vise klokkeslett for programmets start.
  - Maskinen kan ikke brukes nå.

### 8.2 Avslutte program

4. Trykk **STOP** når STP 120 er ferdig med fremføringsprosessen. Trykk **↑↓** for å løfte lokket.
5. Løft av kurven med egnet verktøy og fjern kassetter med fremført vev.
6. Sett inn kurven i posisjon 12.
7. Trykk **←** for å flytte kurven fra posisjon 12 til startposisjon over bad 1. Trykk **↑↓** for å senke lokket.

### 8.3 Programmets utforming

Tabell 3: Rutineprogrammets utforming. Spin: 0 = 0 rpm. 1 = 60 rpm. 2 = 70 rpm.

| Bad | Reagens       | Rutineprogram (tt:mm) | Spin |
|-----|---------------|-----------------------|------|
| 1   | Formalin      | 00:45                 | 1    |
| 2   | Formalin      | 00:55                 | 1    |
| 3   | Alkohol 70 %  | 00:40                 | 1    |
| 4   | Alkohol 70 %  | 00:40                 | 1    |
| 5   | Alkohol 96 %  | 00:45                 | 1    |
| 6   | Alkohol 96 %  | 01:00                 | 1    |
| 7   | Alkohol 100 % | 01:00                 | 1    |
| 8   | Alkohol 100 % | 01:00                 | 1    |
| 9   | Xylen         | 01:30                 | 1    |
| 10  | Xylen         | 01:30                 | 1    |
| 11  | Parafin       | 02:00                 | 1    |
| 12  | Parafin       | 01:30                 | 1    |



## 9 Fettprogram

Fettprogrammet er egnet for fremføring av fett- og bruskeholdig vev med størrelse opp til og med 5 mm. Dersom vevet inneholder svært mye brusk, bør det dekalsineres først.

Programmet tar 31 timer og 52 minutter. Fettprogrammet er lagt inn på STP 120 under P02. Før start av program, kontroller at alle kjemikalier er tilstede i korresponderende bad.

### 9.1 Starte program

1. Trykk **START** og velg program P02 med **UP/DOWN**. Bekrefte med **ENTER**.
2. Trykk **TIMER** for å velge tidspunkt for ønsket avsluttet fremføring. Juster med **UP/DOWN**. Bekreft med **ENTER**.
3. Trykk **START**.
  - Skjermen vil vise klokkeslett for programmets start.
  - Maskinen kan ikke brukes nå.

### 9.2 Avslutte program

4. Trykk **STOP** når STP 120 er ferdig med fremføringsprosessen. Trykk **↑↓** for å løfte lokket.
5. Løft av kurven med egnet verktøy og fjern kassetter med fremført vev.
6. Sett inn kurven i posisjon 12.
7. Trykk **←** for å flytte kurven fra posisjon 12 til startposisjon over bad 1. Trykk **↑↓** for å senke lokket.

### 9.3 Programmets utforming

Tabell 4: Fettprogrammets utforming. Spin: 0 = 0 rpm. 1 = 60 rpm. 2 = 70 rpm.

| Bad | Reagens       | Fettprogram (tt:mm) | Spin |
|-----|---------------|---------------------|------|
| 1   | Formalin      | 01:30               | 1    |
| 2   | Formalin      | 01:30               | 1    |
| 3   | Alkohol 70 %  | 02:30               | 1    |
| 4   | Alkohol 70 %  | 02:15               | 1    |
| 5   | Alkohol 96 %  | 02:15               | 1    |
| 6   | Alkohol 96 %  | 02:30               | 1    |
| 7   | Alkohol 100 % | 02:30               | 1    |
| 8   | Alkohol 100 % | 03:00               | 1    |
| 9   | Xylen         | 03:00               | 1    |
| 10  | Xylen         | 03:00               | 1    |
| 11  | Parafin       | 04:00               | 1    |
| 12  | Parafin       | 03:30               | 1    |

## 10 Hurtigprogram

Hurtigprogrammet er egnet for rask fremføring av vev. Vevsbitene kan ha en størrelse på til og med 3 mm. Programmet tar 4 timer og 40 minutter. Hurtigprogrammet er lagt inn på STP 120 under P03. Før start av program, kontroller at alle kjemikalier er tilstede i korresponderende bad.

### 10.1 Starte program

1. Trykk **START** og velg program P03 med **UP/DOWN**. Bekrefte med **ENTER**.
2. Trykk **TIMER** for å velge tidspunkt for ønsket avsluttet fremføring. Juster med **UP/DOWN**. Bekreft med **ENTER**.
3. Trykk **START**.
  - Skjermen vil vise klokkeslett for programmets start.
  - Maskinen kan ikke brukes nå.

### 10.2 Avslutte program

4. Trykk **STOP** når STP 120 er ferdig med fremføringsprosessen. Trykk **↑↓** for å løfte lokket.
5. Løft av kurven med egnet verktøy og fjern kassetter med fremført vev.
6. Sett inn kurven i posisjon 12.
7. Trykk **←** for å flytte kurven fra posisjon 12 til startposisjon over bad 1. Trykk **↑↓** for å senke lokket.

### 10.3 Programmets utforming

Tabell 5: Hurtigprogrammets utforming. Spin: 0 = 0 rpm. 1 = 60 rpm. 2 = 70 rpm.

| Bad | Reagens       | Hurtigprogram (tt:mm) | Spin |
|-----|---------------|-----------------------|------|
| 1   | Formalin      | 00:20                 | 1    |
| 2   | Formalin      | 00:20                 | 1    |
| 3   | Alkohol 70 %  | 00:10                 | 1    |
| 4   | Alkohol 70 %  | 00:10                 | 1    |
| 5   | Alkohol 96 %  | 00:10                 | 1    |
| 6   | Alkohol 96 %  | 00:10                 | 1    |
| 7   | Alkohol 100 % | 00:10                 | 1    |
| 8   | Alkohol 100 % | 00:10                 | 1    |
| 9   | Xylen         | 00:20                 | 1    |
| 10  | Xylen         | 00:20                 | 1    |
| 11  | Parafin       | 00:20                 | 1    |
| 12  | Parafin       | 00:20                 | 1    |

## 11 Referanser

1. Myr. Spin Tissue Processor STP 120 for tissue infiltration [Internett]. Tarragona: Especialidades Médicas MYR, S.L. [hentet 21. februar 2023]. Tilgjengelig fra: <https://myr.com.es/index.php/products/spin-tissue-processor-stp-120?lang=en>
2. Berg C. Faresymboler og faremerking – få full oversikt her [Internett]. EcoOnline [hentet 25. april 2023]. Tilgjengelig fra: <https://www.ecoonline.no/blogg/faresymboler-og-faremerking>

## **8 Vedlegg**

Vedlegg 8-1: Risikovurdering.

**Risikofaktorer**

Tabellforklaring: S = sannsynlighet, K = konsekvens, RF = risikofaktor.

| Risikofaktor  | S | K | RF | Mottiltak   |
|---|---|---|----|---|
| Xylen   | 5 | 5 | 25 | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Avtrekkskap</li> <li>- Spesialhansker</li> <li>- Vernemaske</li> <li>- Laboratoriefrakk</li> <li>- Absolutt alkohol tilgjengelig</li> </ul>  |
| Formalin  | 5 | 5 | 25 | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Avtrekkskap</li> <li>- Hansker</li> <li>- Vernemaske</li> <li>- Laboratoriefrakk</li> <li>- Formalinabsorberende tørrstoff:<br/>Polyform-F</li> <li>- 70 % alkohol tilgjengelig</li> </ul> |
| Arbeide alene på laboratoriet                       | 1 | 3 | 3  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Minst to laboratoriepartnere</li> <li>- Telefonnummer til relevante kontaktpersoner</li> </ul>   |
| Brannskader på grunn av varme fra fremføringsmaskin | 1 | 4 | 4  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Løfte parafinbad i håndtak</li> <li>- Ha kaldt vann tilgjengelig</li> </ul>  |
| Søl på tøy  | 3 | 2 | 6  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Laboratoriefrakk</li> <li>- Benytte sko med lukket tå</li> <li>- Tildekke bar hud</li> </ul>   |
| Åpen flamme   | 1 | 5 | 5  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Unngå åpen flamme</li> <li>- Ikke dekk til varme områder av maskinen</li> <li>- Brannsløkkingsapparat</li> </ul>   |
| Skjære seg på mikrotom                              | 2 | 4 | 8  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dekke kniven</li> <li>- Låse sveiv</li> </ul>  |
| Feilplassering av fremføringsmaskinen               | 5 | 5 | 25 | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Lese brukermanual og plassere instrumentet deretter</li> </ul>   |

| Risikofaktor                  | S | K | RF | Mottiltak  |
|-------------------------------|---|---|----|--|
| Farging av snitt, kjemikalier | 3 | 2 | 6  | - Farge inne i avtrekksskap<br>- Følge prosedyre for fargeteknikker                                |
| Innstøping i parafin, varme   | 3 | 1 | 3  | - Benytte hansker<br>- Være forsiktig, skylle med kaldt vann dersom man du får parafin på seg selv |

### Risikohåndtering

Beskrivelse av tiltak for oppfølging av kritiske risikofaktorer slik at sannsynligheten for at de inntreffer reduseres og kan holdes under kontroll.

- Fremføringsmaskinen trenger eget ventilasjonssystem på grunn av xylen og formalin.
- Ha tilgjengelig H- og P-setninger.
- Vaske bort eventuell xylensøl med alkohol.
- Ved uhell må laboratorieansvarlig kontaktes.

### Xylen



| Faresetninger |   |
|---------------|---|
| H226          | Brannfarlig væske og damp.  |
| H315          | Irriterer huden.  |
| H319          | Gir alvorlig øyeirritasjon.   |
| H335          | Kan forårsake irritasjon av luftveiene.                             |
| H373          | Kan forårsake organskader ved langvarig eller gjentatt eksponering. |

(2)



| Sikkerhetssetninger |   |
|---------------------|---|
| P102                | Oppbevares utilgjengelig for barn.  |
| P210                | Holdes vekk fra varme, varme overflater, gnister, åpen ild og andre antenningskilder. Røyking forbudt.  |
| P260                | Ikke innånd støv/røyk/gass/tåke/damp/aerosoler.   |
| P280                | Benytt vernehansker/vernebriller.   |
| P302/352            | VED HUDKONTAKT: Vask med mye såpe og vann.  |
| P305/351/338        | VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen. |
| P309/311            | Ved eksponering eller ubehag: Kontakt et GIFTINFORMASJONSSENTER eller lege.   |
| P501                | Innholdet/emballasjen skal avhendes i henhold til de lokale/regionale/nasjonale/internasjonale forskrifter.   |

(2)

### Formalin



(1)

| Faresetninger |  |
|---------------|--|
| H350          | Kan forårsake kreft.                   |
| H341          | Mistenkes å kunne gi genetiske skader. |
| H302          | Farlig ved svelging.                   |
| H317          | Kan utløse en allergisk hudreaksjon.   |

(3)

| Sikkerhetssetninger |   |
|---------------------|---|
| P201                | Innhent særskilt instruks før bruk.                           |
| P281                | Bruk påkrevd personlig verneutstyr.                           |
| P302+P352           | VED HUDKONTAKT: Vask med mye såpe og vann.                    |
| P308+P313           | Ved eksponering eller mistanke om eksponering: søk legehjelp. |

(3)

## Referanser

1. Berg C. Faresymboler og faremerking – få full oversikt her [Internett]. EcoOnline [hentet 25. april 2023]. Tilgjengelig fra:  
<https://www.ecoonline.no/blogg/faresymboler-og-faremerking>
2. Roth. Sikkerhetsdatablad [Internett]. Norge: Roth; 28. juni 2016 [oppdatert 20. desember 2022; hentet 25. april 2023]. Tilgjengelig fra:  
<https://www.carlroth.com/medias/SDB-4436-NO-NO.pdf?context=bWFzdGVyfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0c3wzMDMyNTI8YXBwbGljYXRpb24vcGRmfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0cy9oOTMvaGQ4LzkwOTYwNjkxODU1NjYucGRmfDUzY2NiYzIwODc2MzhmNWE3ZjllZDIxYWUwYWNINThjYTk0ZGQ5MWYyYzk2ZjgxMDliMzRkZTM1ZGE0MjM2NzE>
3. VWR prolabo chemicals. Sikkerhetsdatablad [Internett]. Norge: VWR International AS. [oppdatert 01. april 2015; hentet 25. april 2023]. Tilgjengelig fra:  
[https://no.vwr.com/assetsvc/asset/no\\_NO/id/11978348/contents/sds\\_vwrqfor.pdf](https://no.vwr.com/assetsvc/asset/no_NO/id/11978348/contents/sds_vwrqfor.pdf)

## Rutineprogram

24.01.2023, 11:24

Dokument «Fremføringsmaskin Excelsior AS », ID 39034 - EQS

### Fremføringsmaskin Excelsior AS

Forfatter: Julianne Holmset Slyngstadli  
Godkjent av: Hilde Guttormsen

Gyldig fra: 06.08.2020  
Revisjonsfrist: 06.08.2023

Revisjon: 1.0  
ID: 39034

### Hensikt

Sikre riktig bruk av fremføringsmaskinen Excelsior AS fra Thermo, og gi en oversikt over programmene.

### Ansvar

Fagbioingeniør har ansvar for vedlikehold av prosedyren.

Alle bioingeniører ved histologi lab skal kjenne denne prosedyren. De skal kunne utføre daglig vedlikehold og sette i gang et program.

Fagbioingeniør og bioingeniør II har ansvar for månedlig og halvårlig vedlikehold.

### Omfang

Omfatter fremføring av formalinfikserte vevsprøver i instrumentet Excelsior AS fra Thermo. Prosedyren gjelder for alle bioingeniører ved histologi lab.

### Bakgrunnsinformasjon

For at vevet ikke skal bli ødelagt, fikseres det i formalin. Senere vil vi støpe vevet i flytende parafin. For å få til dette må vi behandle vevet med stigende grader av alkohol, xylene (et løsemiddel som er blandbart både med parafin og alkohol) og flytende parafin. Dette skjer i fremføringsmaskinen, vanligvis om natta, slik at prøvene er klare til innstøping om morgenen. Brukt formalin, alkohol og xylene helles i eget avløp og samles opp før destruksjon. Se egen prosedyre. Om fremføringsprogrammet endres, er det viktig å ha i tankene at endringen kan få konsekvenser for fargerresultater ved immunhistokjemi. Fagbioingeniør ved immunseksjonen bør derfor konsulteres ved slike endringer.

### HMS

Bruk alltid hansker i kontakt med fargeløsninger og andre kjemikalier. Arbeid i avtrekkskap (evt. vernebriller/friskluftsmaske). Ved søl på øye eller hud, skylle lenge med vann. Forhåndsregler ut over dette vil stå i tabell.

| Kjemikalie  | Faresymbol  | Forhåndsregler | Avfallshåndtering   |
|---|---|----------------|---|
| Xylen   |  |                | Eget avløp. Se <a href="#">Håndtering av xylene, sprit og formalin</a> (Gyldig) |
| Etanol  |  |                |   |
| Formalin bufret 10 %<br>Formaldehydoppløsning 4 % |  |                |   |
| Histowax  | Ingen   |                | La stivne i avtrekk, deretter vanlig søppel.                                    |

### Arbeidsbeskrivelse

#### Starte et program

Det vanlige rutineprogrammet **Rutine Overnight** starter om ettermiddagen, går over natt, og er ferdig om morgenen. Programmet varer i ca 13,5 timer. I helgen starter programmet søndag ettermiddag. Nøyaktige tidspunkt finner du på instrumentet.

1. Åpne prøvekompartimentet og sett karusellene med prøvene i, og legg på metall lokk, så ikke kassetene flyter opp under fremføringen.
2. Trykk **Level** til ønsket nivå. (Antall høyder med karuseller).
3. Kontroller end time/date på skjermen. Hvis dette er ok, trykk **Delayed Start**.

4. Kontroller at maskinen tapper inn formalin og at det telles ned til programstart på skjermen.

(Dersom maskinen settes i gang så sent at den må starte med en gang, trykk **Immediate start**)

### Dersom maskinen ikke vi starte

Dersom der en liten skiftenøkkel nederst på skjermen vil ikke maskinen starte, da endres skjermbildet. Følg da instruksene på skjerm og husk å starte maskinen på nytt.

Vanlig feil meldinger er;

- Det derfor lavt nivå i et av vokskarene, etterfyll og trykk Acknowledge.
- Eller det kan være at maskina vil skifte et/flere reagens, se hvilken kanne/beholder som har svart kant rundt seg, og følg veiledning for skifting av reagenser.

**NB! HUSK Å STARTE MASKINEN PÅ NYTT!**

### Etter at programmet er ferdig

1. Trykk **Drain all Level** og vent til kammeret er tomt for voks.
2. Trykk **Lid Release**, åpne lokket og ta ut karusellene.
3. Tørk ut av prøvekommer og sensorer.

### Vaskeprogram

Utføres når man er ferdig å støpe dagens prøver, for å vaske prøvekommer, korg og metallformer. Varer i ca 20 min.

1. Sett korga/karusellene med metallformene (etter at de har stått til smelting i varmeskap) ned i maskinen. Trykk på **Level** til du har tom maskin.
2. Programmet **Standard Flush** kommer opp på skjerm, trykk **Start**. Kontroller at maskinen tapper inn første reagens (xylene).
3. Når programmet er ferdig; **Flush complete**, trykk **Ok**.
4. Ta ut karusellene og sett de under avtrekk. Tørk kammeret og sensorene med et tørkepapir. Maskina er klar til å startes

### Vedlikehold

Vedlikeholdsskjema (se vedlegg) er printet ut og henger ved instrumentet. Daglig vedlikehold skal ikke signeres. Øvrig vedlikehold signeres når det er utført.

Alle har ansvar for daglig vedlikehold og vask under bunnplaten(halvårlig). Fagbioingeniør og bioingeniør II har ansvar for øvrig vedlikehold.

#### Daglig vedlikehold

- Rens prøvekommeret med tørkepapir, bruk aldri skarpe gjenstander.
- Tørk de 4 nivåsensorene forsiktig med tørkepapir.
- Sjekk at pakningen i kammerlokket er uten skader.
- Sjekk at deksellåsen fungerer riktig.

#### Månedlig vedlikehold

- Stengsel på reaksjonskammervarmer. Se brukerhåndbok.
- Bryter til batteriisolering. Se brukerhåndbok.
- Sjekk av backup batterier, se plakaten i avtrekksskapet.

#### Halvårlig vedlikehold

- Vask høyre og midtre parafinbad.
- Ta ut alle reagenskanner, ta ut metallplaten i bunnen og vask under denne.

#### Skifte av reagenser

- Formalin skiftes hver 5. gang.

- Alkohol skiftes når konsentrasjonen blir for lav (varseltrekant og varseltrekant over alkoholsøylen). Vi skifter da også xylen.
- Voks skiftes etter 15 ganger, altså en voksskifting hver 5. gang.
- Vaskeprogrammet skiftes etter 5 ganger.

#### Skifte av formalin

1. Maskinen kommer med varseltrekant i fix 1 etter at den har pumpet inn 1. reagens. Skift formalin dagen etterpå.
2. Ta vekk den fremste formalinkannen, tøm den i eget avløp.
3. Sett den bakerste kannen fremst og plasser en ny kanne bakerst. Pass på at det er ikke er knekk på rørene.
4. Trykk på skjermen på kanne Fix2 (Formalin), velg [Remove](#) og deretter [New](#).
5. Trykk på [Detailed Information](#) Trykk på skjermen på den formalinkannen Fix1 som er fremst (kanne blir marker med svart skygge) trykk [Adjust Count](#), skriv tallet til hvor mange ganger den er brukt (2 eller 3), trykk [Ok](#). Trykke «*pil tilbake*», så kommer du deg ut av dette skjermbildet.

#### Skifte av vaskeprogram

Reagenser til vaskeprogrammet skiftes hver 5. gang. Maskinen kommer med varseltrekant på kannene F1 (Xylen) og F2 (Alkohol), de skal skiftes samme dag. Trykk på [Quality Control](#) Ta vekk kannene, alkohol og xylen tømmes i eget avløp. Sett en ny xylenkanne på plassen til F1, Trykk på skjermen på kanne F1 (Xylen), velg [Remove](#) og deretter [New](#). Sett ny alkoholkanne plassen til F2. Trykk på skjermen på kanne F2(Alkohol), velg [Remove](#) og deretter [New](#).

#### Skifte av alkohol og xylen

Når alkoholkonsentrasjonen i den første alkoholflasken A1 blir for lav, kommer det en varseltrekant over alkoholsøylen og øverst på skjermen. Samtidig skifter vi xylen. Prosessen går over 2 dager.

##### Dag 1:

1. Sjekk at avfallskannene Ex1 og Ex2 står på plass og at de er tomme. Trykk på skjermen på A1-A6 (alkoholkannene) teksten på skjerm er "Rotation due next run" rett under Alcohol. Trykk [Acknowledge](#). Teksten endres til: "Will rotate on next run" og maskinen kvitter seg med den 1. alkohol om natta.
2. Trykk på skjermen på X1-X3 (xylenekannene) på teksten på skjerm er "Rotation due next run" rett under Xylen. Trykk [Acknowledge](#), teksten endres til "Will rotate on next run" og maskinen kvitter seg med den 1. xylen om natta.
3. Start nå maskinen som vanlig.

##### Dag 2:

1. Neste dag vises det på skjermen at A6 og X3 er tomme. Avfallskannene til alkohol Ex 1 og xylen Ex 2 er fulle. Ta ut begge avfallskannene og tøm dem i eget avløp.
2. Sett en ny kanne med alkohol på Ex1, og en ny med xylen på Ex2. Trykk [Quality Control](#). Trykk på skjermen på kanne Ex1, tykk [New](#). Teksten «New reagent required" under Alcohol vil endres til «Will replenish next run». Trykk på skjermen på kanne Ex2, tykk [New](#). Teksten under Xylene vil endres til «Will replenish next run».
3. Trykk [Ok](#). Så kommer du til hovedmenyen. Start maskina som vanlig.

#### Skifte av voks

Voks skiftes etter 15 ganger.

Dag 1. Maskinen gir beskjed dagen før.

1. I program i [Quality Control](#) teksten «Discard due next run» star under Wax, trykk [Acknowledge](#), tekst endres til «Will discard next run».
2. Start program som vanlig.



**Dag 2.** Begynn forholdsvis tidlig på dagen

1. Ta ut engangs avfallskar med voks, og sett inn et nytt kar.
2. Tørk ut restene i W3 med tørkepapir, sjekk at det ikke ligger igjen papirrester.
3. Fyll på pellets i W3. Sjekk i løpet av dagen om det må fylles på mer pellets.
4. Gå inn i **Quality Control**. Trykk på vokskaret W3 på skjermen, Trykk **Remove**. Trykk **Confirm Wax is loaded**

**Programmer**

Dag/helgeprogram. Varer ca. 13,5 timer.

|    | Reagens  | Temp. | Tid  | Drain | Vacuum | Stir |
|----|----------|-------|------|-------|--------|------|
| 1  | Formalin | Amb.  | 0,45 | 30    | Off    | 5    |
| 2  | Formalin |       | 0,55 | 60    | On     | 5    |
| 3  | Alkohol  | 30    | 0,40 | 30    | On     | 5    |
| 4  | Alkohol  | 30    | 0,40 | 30    | On     | 5    |
| 5  | Alkohol  | 30    | 0,45 | 30    | On     | 5    |
| 6  | Alkohol  | 30    | 1,00 | 30    | On     | 5    |
| 7  | Alkohol  | 30    | 1,00 | 30    | On     | 5    |
| 8  | Alkohol  | 30    | 1,00 | 60    | On     | 5    |
| 9  | Xylen    | 30    | 1,00 | 30    | On     | 5    |
| 10 | Xylen    | 30    | 1,00 | 30    | On     | 5    |
| 11 | Xylen    | 30    | 1,00 | 60    | On     | 5    |
| 12 | Histowax | 60    | 1,00 | 120   | On     | 5    |
| 13 | Histowax | 60    | 1,00 | 120   | On     | 5    |
| 14 | Histowax | 60    | 1,30 | 120   | On     | 5    |

**Forandring av klokke (skifte av sommer/vintertid)**

Gå inn i hovedprogrammet, trykk **Options**, trykk **Set time**. Forandre klokka med piltastene. og trykk **Ok**.

**Forandring av sluttid (ved helligdager etc.)**

Før du starter maskina: trykk på **End time**. Velg ønsket slutt til, og trykk **Ok**

**Alarmer**

- Hvis det kommer opp en gul trekant er det et eller flere reagens som skal skiftes. Gå inn i, **Quality Control**. Følg instuksjer.
- Hvis det kommer opp en bjelle går alarmen på manøversentralen. Trykk på knappen med bjelle for å skru lyden av og prøv å finne årsaken. Kvitter for at feilen er ordnet (trykk **acknowledge**) Hvis årsaken er at lokket ikke var skikkelig igjen, har prøvene vært i første formalin.
- Hvis det kommer opp en skiftenøkkel, er det noe som skal fylles på eller skiftes, finn årsaken, følg instruksjer på skjerm og trykk **acknowledge**.

**Referanser/Vedlegg**

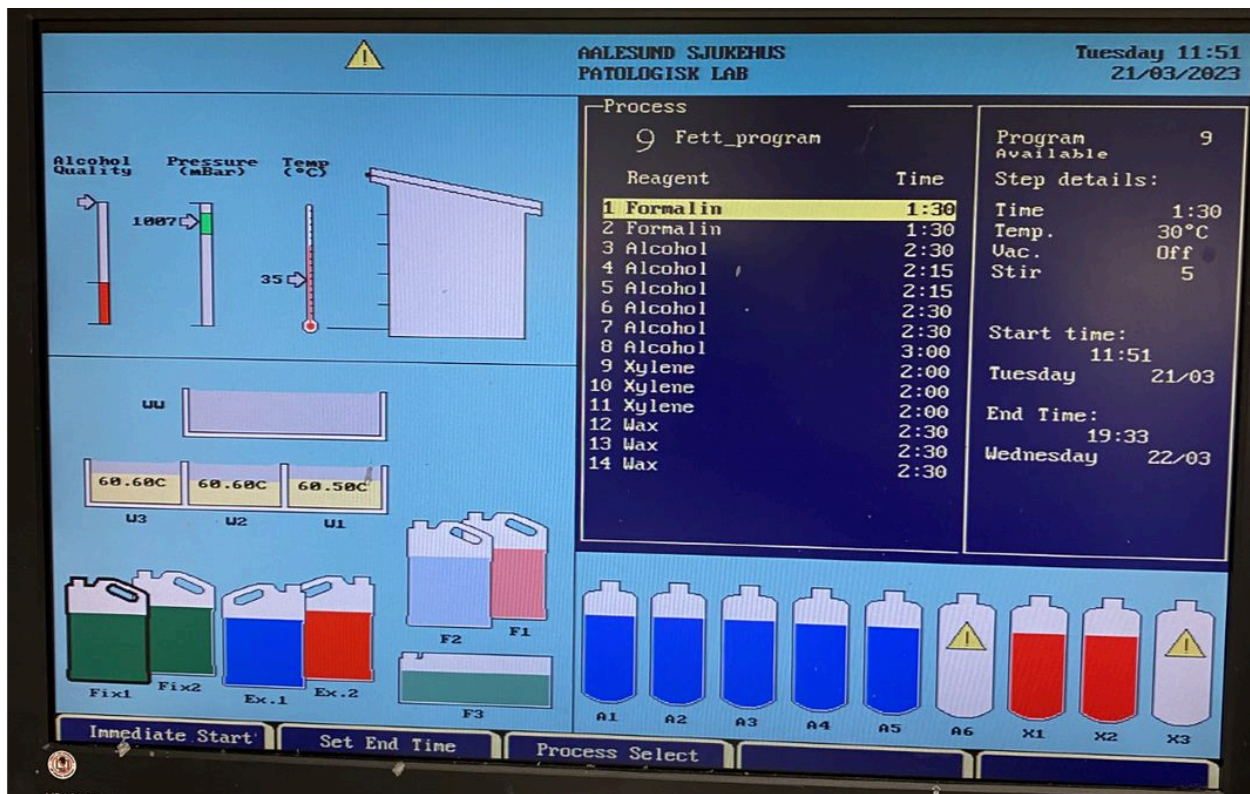
Brukermanual i hulle ved støpesenter.

Stoffkartotek: [Ecoonline](#). Firmakode 71. Du trenger ikke brukernavn/passord.

 [<Håndtering av xylen, sprit og formalin>](#)

[Skjema for vedlikehold av Excelsior AS](#)

# Fettprogram



## Hurtigprogram



### Rutine over natt

| Station | Reagent          | Duration | Temp | P/V | Mix  |
|---------|------------------|----------|------|-----|------|
| 1       | Formalin         | 01:00    | 37   | P/V | Slow |
| 2       | Formalin         | 01:30    | 37   | P/V | Slow |
| 3       | Ethanol 70%      | 00:30    | 37   | P/V | Slow |
| 4       | Ethanol 80%      | 00:30    | 37   | P/V | Slow |
| 5       | Ethanol 96%      | 01:00    | 37   | P/V | Slow |
| 6       | Ethanol 96%      | 01:00    | 37   | P/V | Slow |
| 7       | Ethanol Absolute | 01:00    | 37   | P/V | Slow |
| 8       | Ethanol Absolute | 01:00    |      | P/V | Slow |
| 9       | Tissue-Clear     | 02:00    |      | P/V | Slow |
| 10      | Tissue-Clear     | 02:00    |      | P/V | Slow |
| 11      | Histowax         | 00:30    | 62   | P/V | Off  |
| 12      | Histowax         | 00:30    | 62   | P/V | Off  |
| 13      | Histowax         | 01:00    | 62   | P/V | Off  |
| 14      | Histowax         | 01:00    | 62   | P/V | Off  |

### Rutine over natt helg

| Station | Reagent          | Duration | Temp | P/V | Mix  |
|---------|------------------|----------|------|-----|------|
| 1       | Formalin         | 01:00    | 37   | P/V | Slow |
| 2       | Formalin         | 01:30    | 37   | P/V | Slow |
| 3       | Ethanol 70%      | 00:30    | 37   | P/V | Slow |
| 4       | Ethanol 80%      | 00:30    | 37   | P/V | Slow |
| 5       | Ethanol 96%      | 01:00    | 37   | P/V | Slow |
| 6       | Ethanol 96%      | 01:00    | 37   | P/V | Slow |
| 7       | Ethanol Absolute | 01:00    | 37   | P/V | Slow |
| 8       | Ethanol Absolute | 01:00    |      | P/V | Slow |
| 9       | Tissue-Clear     | 02:00    |      | P/V | Slow |
| 10      | Tissue-Clear     | 02:00    |      | P/V | Slow |
| 11      | Histowax         | 00:30    | 62   | P/V | Off  |
| 12      | Histowax         | 00:30    | 62   | P/V | Off  |
| 13      | Histowax         | 01:00    | 62   | P/V | Off  |
| 14      | Histowax         | 01:00    | 62   | P/V | Off  |



### Prostata

| Station | Reagent          | Duration | Temp | P/V | Mix  |
|---------|------------------|----------|------|-----|------|
| 1       | Formalin         | 01:00    | 37   | P/V | Slow |
| 2       | Formalin         | 01:00    | 37   | P/V | Slow |
| 3       | Ethanol 70%      | 01:30    | 37   | P/V | Slow |
| 4       | Ethanol 80%      | 01:30    | 37   | P/V | Slow |
| 5       | Ethanol 96%      | 01:30    | 37   | P/V | Slow |
| 6       | Ethanol 96%      | 01:30    | 37   | P/V | Slow |
| 7       | Ethanol Absolute | 01:30    | 37   | P/V | Slow |
| 8       | Ethanol Absolute | 02:00    |      | P/V | Slow |
| 9       | Tissue-Clear     | 02:00    |      | P/V | Slow |
| 10      | Tissue-Clear     | 02:30    |      | P/V | Slow |
| 11      | Histowax         | 01:00    | 62   | P/V | Off  |
| 12      | Histowax         | 01:00    | 62   | P/V | Off  |
| 13      | Histowax         | 01:00    | 62   | P/V | Off  |
| 14      | Histowax         | 02:00    | 62   | P/V | Off  |

### Mamma storblokk

| Station | Reagent          | Duration | Temp | P/V | Mix  |
|---------|------------------|----------|------|-----|------|
| 1       | Formalin         | 01:30    | 37   | P/V | Slow |
| 2       | Formalin         | 01:30    | 37   | P/V | Slow |
| 3       | Ethanol 70%      | 02:30    | 37   | P/V | Slow |
| 4       | Ethanol 80%      | 02:30    | 37   | P/V | Slow |
| 5       | Ethanol 96%      | 02:30    | 37   | P/V | Slow |
| 6       | Ethanol 96%      | 02:30    | 37   | P/V | Slow |
| 7       | Ethanol Absolute | 02:30    | 37   | P/V | Slow |
| 8       | Ethanol Absolute | 03:00    |      | P/V | Slow |
| 9       | Tissue-Clear     | 03:00    |      | P/V | Slow |
| 10      | Tissue-Clear     | 03:00    |      | P/V | Slow |
| 11      | Histowax         | 01:30    | 62   | P/V | Off  |
| 12      | Histowax         | 01:30    | 62   | P/V | Off  |
| 13      | Histowax         | 02:00    | 62   | P/V | Off  |
| 14      | Histowax         | 02:30    | 62   | P/V | Off  |

### Hurtigprogram kort

| Station | Reagent          | Duration | Temp | P/V | Mix  |
|---------|------------------|----------|------|-----|------|
| 1       | Formalin         | 00:00    | 37   | P/V | Slow |
| 2       | Formalin         | 00:00    | 37   | P/V | Slow |
| 3       | Ethanol 70%      | 00:05    | 37   | P/V | Slow |
| 4       | Ethanol 80%      | 00:00    | 37   | P/V | Slow |
| 5       | Ethanol 96%      | 00:00    | 37   | P/V | Slow |
| 6       | Ethanol 96%      | 00:10    | 37   | P/V | Slow |
| 7       | Ethanol Absolute | 00:00    | 37   | P/V | Slow |
| 8       | Ethanol Absolute | 00:15    |      | P/V | Slow |
| 9       | Tissue-Clear     | 00:10    |      | P/V | Slow |
| 10      | Tissue-Clear     | 00:15    |      | P/V | Slow |
| 11      | Histowax         | 00:10    | 62   | P/V | Off  |
| 12      | Histowax         | 00:10    | 62   | P/V | Off  |
| 13      | Histowax         | 00:10    | 62   | P/V | Off  |
| 14      | Histowax         | 00:00    | 62   | P/V | Off  |

### Hurtigprogram langt

| Station | Reagent          | Duration | Temp | P/V | Mix  |
|---------|------------------|----------|------|-----|------|
| 1       | Formalin         | 00:00    | 37   | P/V | Slow |
| 2       | Formalin         | 00:30    | 37   | P/V | Slow |
| 3       | Ethanol 70%      | 00:00    | 37   | P/V | Slow |
| 4       | Ethanol 80%      | 00:15    | 37   | P/V | Slow |
| 5       | Ethanol 96%      | 00:00    | 37   | P/V | Slow |
| 6       | Ethanol 96%      | 00:15    | 37   | P/V | Slow |
| 7       | Ethanol Absolute | 00:00    | 37   | P/V | Slow |
| 8       | Ethanol Absolute | 00:30    |      | P/V | Slow |
| 9       | Tissue-Clear     | 00:15    |      | P/V | Slow |
| 10      | Tissue-Clear     | 00:30    |      | P/V | Slow |
| 11      | Histowax         | 00:10    | 62   | P/V | Off  |
| 12      | Histowax         | 00:15    | 62   | P/V | Off  |
| 13      | Histowax         | 00:30    | 62   | P/V | Off  |
| 14      | Histowax         | 00:00    | 62   | P/V | Off  |

## Vedlegg 8-4: HES fargeprosedyre.

HES fargemetode med Leica ST5020 Multistainer

### HES fargemetode med Leica ST5020 Multistainer

Forfatter: Hilde Guttormsen  
Godkjent av: Hilde Guttormsen

Gyldig fra: 06.01.2015  
Revisjonsfrist: 05.01.2018

Revisjon: 2.2  
ID: 13635

#### Hensikt

Gi oversikt over HES-farging i Leica ST5020 Multistainer.  
Sørge for riktig bruk og vedlikehold av instrumentet.

#### Ansvar

Alle bioingeniører ved histologi lab skal kjenne prosedyren og kunne bruke instrumentet. Fagbioingeniør har ansvar for vedlikehold av prosedyren.

#### Arbeidsbeskrivelse

##### Oppstart

- Ta lokkene av fargekarene.
- Slå på maskinen og skru på vannet. Maskinen gjør først en kalibrering av stativholderen for å stille seg i riktig startposisjon.
- Sett bøyle på stativet, velg brikke etter ønsket fargeprogram. Rød for HES, gul for immun (kjernefarge) og hvit for å velge program selv. Dra ut startskuffen og sett stativet i. Lukk skuffen.
- Maskinen registrerer brikken og starter fargeprogrammet. Dette markeres med fargesymbol på displayet.
- Fargeprogrammet er ferdig etter ca 30min.
- Dra skuffen helt ut fra exit posisjon og fjern stativet. Se at symbolet for stativet forsvinner på displayet. Blir 2 stativer stående i exit posisjon samtidig kommer det en alarm. Trykk da "confirm" og ta ut stativene.

##### Skifte av reagens / Vedlikehold

|        |  |
|--------|--|
| Daglig | Tøm ut 70 % etanol, stasjon 21. Flytt frem kar i stasjon 22 og 30. Fyll ny 100 % etanol i rent kar i stasjon 30. Tøm abs. etanol i 28, flytt fram 27. Fyll på ny abs. etanol i 27. Etterfyll alle reagenser til riktig væsknivå.   |
| Fredag | Fyll på safran. Bland erythrosin. Filtrer evt ny hematoxylin, den skal skiftes annenhver uke. Det henger liste ved maskinen. På slutten av dagen skiftes avparafineringsrekke og xylene. Vask/skure alle de gule skyllekarene. Stikk opp hullet der vann skal renne ut. Vask under fargekar. |
| Mandag | Før oppstart, bytt til ny erythrosin.  |

##### Fargeprogram for HES, Leica ST5020

| STEP | STASJON | REAGENS               | VARIGHET | EKSAKT | DIP |
|------|---------|-----------------------|----------|--------|-----|
| 1    | 1       | Xylen                 | 2.00     | No     | Yes |
| 2    | 2       | Xylen                 | 2.00     | No     | Yes |
| 3    | 3       | Abs alk               | 1.00     | No     | Yes |
| 4    | 4       | 96% alk               | 1.00     | No     | Yes |
| 5    | 5       | 70% alk               | 1.00     | No     | Yes |
| 6    | 11      | Vann                  | 1.00     | No     | No  |
| 7    | 24      | Hematoxylin cyt       | 4.00     | No     | Yes |
| 8    | 12      | Vann                  | 5.00     | No     | No  |
| 9    | 20      | Erythrosin m/hmt/hist | 1.00     | Yes    | yes |
| 10   | 9       | Vann                  | 0.15     | No     | Yes |
| 11   | 8       | Vann                  | 0.15     | No     | Yes |
| 12   | 21      | 70%alk                | 0.30     | No     | Yes |
| 13   | 22      | 96% alk               | 0.30     | No     | Yes |
| 14   | 30      | Abs. alk              | 0.30     | No     | Yes |
| 15   | 29      | Safran                | 1.00     | Yes    | Yes |
| 16   | 28      | Abs. alk              | 0.30     | No     | Yes |
| 17   | 27      | Abs. alk              | 0.30     | No     | Yes |

1/3



|    |      |       |  |  |  |
|----|------|-------|--|--|--|
| 18 | Exit | Xylen |  |  |  |
|----|------|-------|--|--|--|

## Resultat

Cellekjerner blå  
Muskler rød  
Bindevev gult

## Reagenser

### Erythrosin

10g erythrosin i 1 liter dest. vann (erythrosinpulveret «støver» veldig, vask vekta etterpå).  
Til fargekaret med erythrosin tilsettes 1 ml hist. hematoxylin, som står i kjøleskap på lab.

### Hematoxylin cyt

Harris Hematoxylin fra Histolab.

### Hematoxylin (hist)

|                             |         |
|-----------------------------|---------|
| Hematoxylin                 | 2,5g    |
| Glycerol                    | 100 ml  |
| Eddiksyre (kons)            | 50 ml   |
| Perjodsyre 1 %              | 27,5 ml |
| Aluminiumkaliumsulfat (K10) | 25g     |
| Destillert vann             | 350 ml  |

Ha hematoxylin i en 1-liters kolbe. Fyll på glycerol, eddiksyre og 100 ml vann.

Rør på magnetrører til alt er oppløst. Tilsett så perjodsyre. Aluminiumkaliumsulfat løses i resten av vannet (250 ml), bruk magnetrører med varme. De to løsningene helles sammen. Oppbevares i mørket i kjøleskap. Holdbar i maksimum 2 mnd. Filtreres før bruk.

### Safran

Lages av 4,0 g safran og ca 1 liter abs. alkohol.

Safran helles på en kolbe med ansats for kjølekappe, og en fyller på 150 ml av alkoholen. Dette skal så koke i 1 time på vannbad. Husk kjøling på kolben, ellers fordamper spriten. Spriten med oppløst safran filtreres opp i en flaske. Tilsett så nye 150 ml sprit i safranen, kok i 1 time til. Dette skal gjøres i alt 7 ganger. Restene av safran kastes.

## Leica ST 5020 Multistainer. Diverse funksjoner.

- RMS: Reagent Management System. Holder oversikt over reagensholdbarhet og hvor mange racks som har gått igjennom. Funksjonen er avslått.
- Maskinen har 2 brukerfunksjoner som er markert med to ulike fargesymboler: **Gul bruker:** Kjører fargeprogram. Kan se på fremdriften til stativene, hvor langt de er kommet. **Rød bruker:** Alle brukerfunksjoner er aktive. Brukes når det er behov for å programmere nye parametere. OBS. Det er ikke mulig å sette inn stativer til farging når rød bruker er aktivert. Dessuten må alle farginger være avsluttet før en kan aktivere rød bruker.

## Symboler i displayet

|   |  |
|---|--|
| R | Reagensstasjon   |
| O | Ovn  |
| W | Water  |
| L | Load   |
| E | Unload   |
| R | Reagensstasjon. Er markert med ulike fargesymboler under fargeprosessen. Hvit stripe i øvre del forteller at armen er over stasjonen akkurat nå. Midtre del viser symbol for hvilket fargeprogram som er valgt. Nedre del viser # og nummer i rekken av stativ som er farget i løpet av dagen. |

W Vannstasjon. Blått merke viser at vann strømmer gjennom stasjonen. Hvitt merke markerer at det ikke er vann i stasjonen.

I øvre venstre del av displayet viser fargeprogrammene som er lagt inn i maskinen. Disse er HES, PAP og Imm. Ved å trykke på symbolene kommer det frem fargeprogramdetaljer. Se oversikt over detaljene for PAP i egen prosedyre.

#### Endre parametrene tid, eksakt tid og dip på reagenslista.

- Rød bruker
- Options fra hovedmeny
- Station options
- Velg PAP
- Flytt markøren med opp/ned pilene til det aktuelle reagenset som skal endres.
- Trykk på duration (legg inn ny tid), Exact eller Dip ( yes/no).
- Confirm

#### Endre dip hastighet, frekvens eller slagstyrke.

- Rød bruker
- Options
- Movement
- Number of dips (0-9)=6
- Lift speed (1-9)=5
- Dip amplitude (1,2)=2
- Trykk på disse til ønsket effekt.
- Jo lavere nummer på lift speed (hastighet), jo lavere er farten. Lavere hastighet gjør at mindre reagens blir med over til neste kar.
- Confirm

#### Referanser/Vedlegg

Manual i perm på histologi lab.

Stoffkartotek: [Ecoonline](#). Firmakode 71. Du trenger ikke brukernavn/passord.

#### Papirkopi

Ett eksemplar ved instrumentet.

