Hematoxyline-eosine kleuring: protocol en troubleshooting

Bloemen Nicole Pathologische anatomie AZK Schelles.E en Maes.A

Inleiding

De hematoxyline-eosine kleuring (HE-kleuring) is een kleuringstechniek in de histologie en wordt gebruikt voor het kleuren van weefselcoupes. Het is een overzichtskleuring die wordt toegepast op elk weefsel staal dat opgestuurd wordt naar het laboratorium pathologische anatomie. De kleuring wordt dan toegepast op formaline gefixeerd paraffine ingebed (FFPE) weefsel of op een vriescoupe. Hierdoor is het mogelijk om de structuren van de weefsels microscopisch te beoordelen op cellulair vlak.

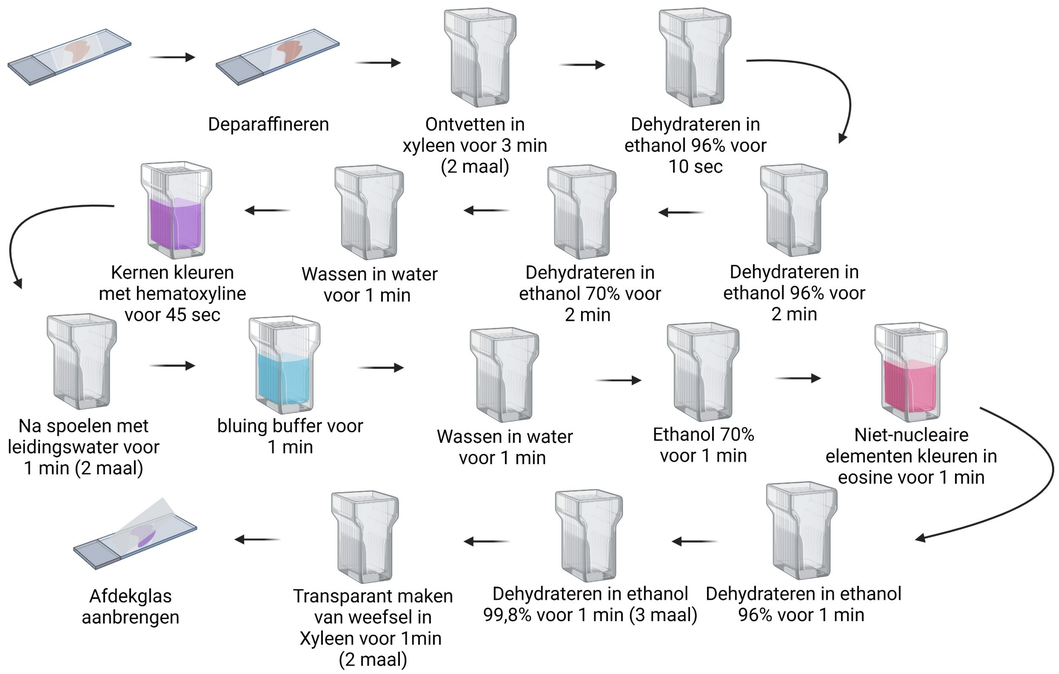
Om de best mogelijke kleuringen te bekomen is het ook zeer belangrijk om rekening te houden met de mogelijke fouten die kunnen optreden tijdens de kleuring.

Troubleshooting

Met de HE-kleuring kunnen er verschillende factoren mislopen, waardoor de kwaliteit van de kleuring minder is. Meestal is contaminatie van de oplosmiddelen en kleurreagentia de oorzaak of is het protocol niet goed ingesteld. Kleine verschillen in tijd kunnen zeer variërende resultaten geven. Ook een slechte fixatie kan invloed hebben op de kleuring. Al deze problemen kunnen de kleuring en beoordeling van het weefsel negatief beïnvloeden.

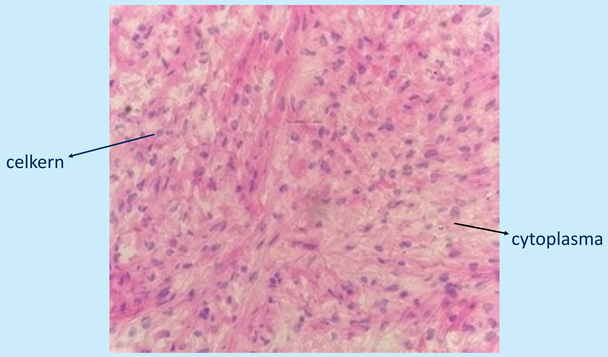
Methoden

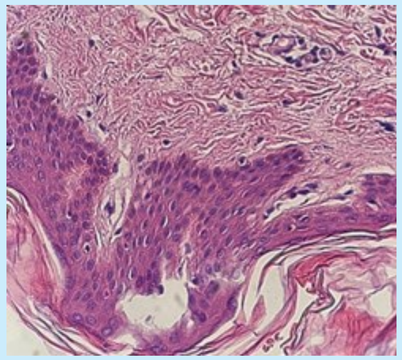
Het kleuren en het afdekken van de glaasjes verloopt in het laboratorium van AZK Turnhout automatisch. Het kleuren vindt plaats in de Tissue-Tek® Prisma van Sakura en het afdekken in de Tissue-Tek® Film van Sakura. De 2 automaten zijn aan elkaar gekoppeld, waardoor de glaasjes makkelijk van de Tissue-Tek® Prisma overgezet worden in de Tissue-Tek® Film. Door de automatisering is de herhaalbaarheid van de kleuring hoger en is de kans op mogelijke fouten lager.
Hematoxyline is een basische kleurstof en bindt aan het DNA waardoor de celkernen paars tot blauw kleuren. De eosine kleurt het cytoplasma roze tot rood door te binden aan eiwitten en andere delen van de cellen.



Resultaten

De kleuring van de weefsels is goed gelukt. De verschillende weefselstructuren zijn duidelijk zichtbaar en goed gekleurd. De celkernen zijn paars tot donkerblauw en het cytoplasma is in verschillende tinten roze. Op foto is de kwaliteit van de kleuring minder goed tegenover de kleuring onder de microscoop. De belichting, het contrast en de scherpte zijn vele beter onder de microscoop waardoor de weefselstructuren ook beter zichtbaar zijn.





Referenties

1. Ottowa hospital. Hematoxyline en eosine (H&E) [internet]. Ottowa: mypathologyreport. [geraadpleegd op 7 mei 2023]. Beschikbaar via: https://www.mypathologyreport.ca/nl/pathology-dictionary/hematoxylin-and-eosin/
2. Agilent. H&E reagents Bluing Buffer, Dako [internet]. Santa Clara: Agilent. [geraadpleegd op 1 juni 2023]. Beschikbaar via: https://www.agilent.com/en/product/hematoxylin-eosin/h-e-reagents/bluing-buffer-dako-75869
3. Sampias C. Rolls G. Overzicht van H&E-kleuring: een gids voor best practices [internet]. België: Leica biosystems. [Geraadpleegd op 5 mei 2023]. Beschikbaar via: https://www.leicabiosystems.com/en-be/knowledge-pathway/he-staining-overview-a-guide-to-best-practices/
4. College of American Pathologists. H&E Troubleshooting Table [internet]. Illinois: College of american Pathologists; January 2019. [geraadpleegd op 7 mei 2023]. Beschikbaar via: https://documents.cap.org/documents/h-and-e-troubleshooting-guide.pdf

Conclusie

Op basis van de coupes die gekleurd worden in de Tissue-tek prisma kunnen diagnoses gesteld worden. De kleuringen hebben een goede kwaliteit en kunnen goed beoordeeld worden door de pathologen. De HE-kleuring is een goede kleuringstechniek om toe te passen in de histologie. Echter moet er wel dagelijks een controle gebeuren om de kwaliteit van de kleuring te garanderen.