

# Hervalidatie Hematoxyline en Eosine kleuring van vriescoupes

Nihal Tanriseven - UCLL Leuven, Noorderhart Pelt

## INLEIDING

Een vriescoupe wordt gemaakt als een snelle diagnose tijdens de operatie gewenst is. Dit komt bijvoorbeeld voor als het voorafgaand aan de operatie onzeker is of een afwijking kwaadaardig is. Ook kan het zijn dat de chirurg tijdens de operatie iets onverwachts tegenkomt. Op dat moment wordt een biopsie afgenomen en ter plekke door een analist van het laboratorium bewerkt en gekleurd. Ter hervalidatie worden 2 eosine kleuringen (oud en nieuw) met elkaar vergeleken. De hervalidatie is uitgevoerd omdat de oude Erythrosine B (ERY-3) wordt vervangen door de nieuwe Erythrosine B (ERY-4). Deze moet aan dezelfde criteria voldoen. De Hematoxyline-Eosine kleuring (HE-kleuring) is de meest gebruikte kleuring voor het bekijken van details in cel- en weefselstructuren. Hematoxyline is basisch en kleurt bijgevolg de verschillende componenten van de kern paars/blauw, inclusief het heterochromatine en de nucleoli. Eosine is de meest gebruikte tegenkleuring en is een zure kleurstof die de verschillende soorten cytoplasmatische componenten waaronder collageen vezels, elastische vezels, spiervezels en rode bloedcellen met verschillende tinten roze kleurt.

## MATERIAAL EN METHODE

### Staalverwerking

Gemiddeld 30 minuten per vriescoupe



**Inschrijving**  
Staal identificatie  
B-nummer



**Macroscopie**  
Uitgenomen  
weefselstukje  
schetsen, afmeten en  
kleuren



**Snijden**  
Weefsel in tissue tek  
(vriesbare lijm)  
Huid op -25 graden  
Celcius



**Kleuren**  
HE-kleuring en  
mounting glaasjes

### Reagentia en werkwijze



### Reagentia HE-kleuringen

Reagentia	Tijd
Spoel in een recipiënt met zuiver kraantjeswater door de coupe enkele malen op en neer te bewegen.	
Hematoxyline	30 sec
Spoel in een recipiënt met zuiver kraantjeswater door de coupe enkele malen op en neer te bewegen.	
Erythrosine B oplossing	10 sec
Spoel in een recipiënt met zuiver kraantjeswater door de coupe enkele malen op en neer te bewegen.	
Dehydrateer in 2 recipiënten isopropylalcohol door de coupe enkele malen op en neer te bewegen in elk recipiënt.	
Breng een druppel Clearium mounting medium op een dekglasmaasje en monteer de coupe.	

## RESULTATEN

Ter validatie worden 10 stalen gekleurd met de oude en nieuwe eosine. Na de kleuring worden de coupes samen met het beoordelingsblad afgegeven aan de patholoog. Op het beoordelingsblad worden de volgende criteria besproken voor Hematoxyline en eosine:

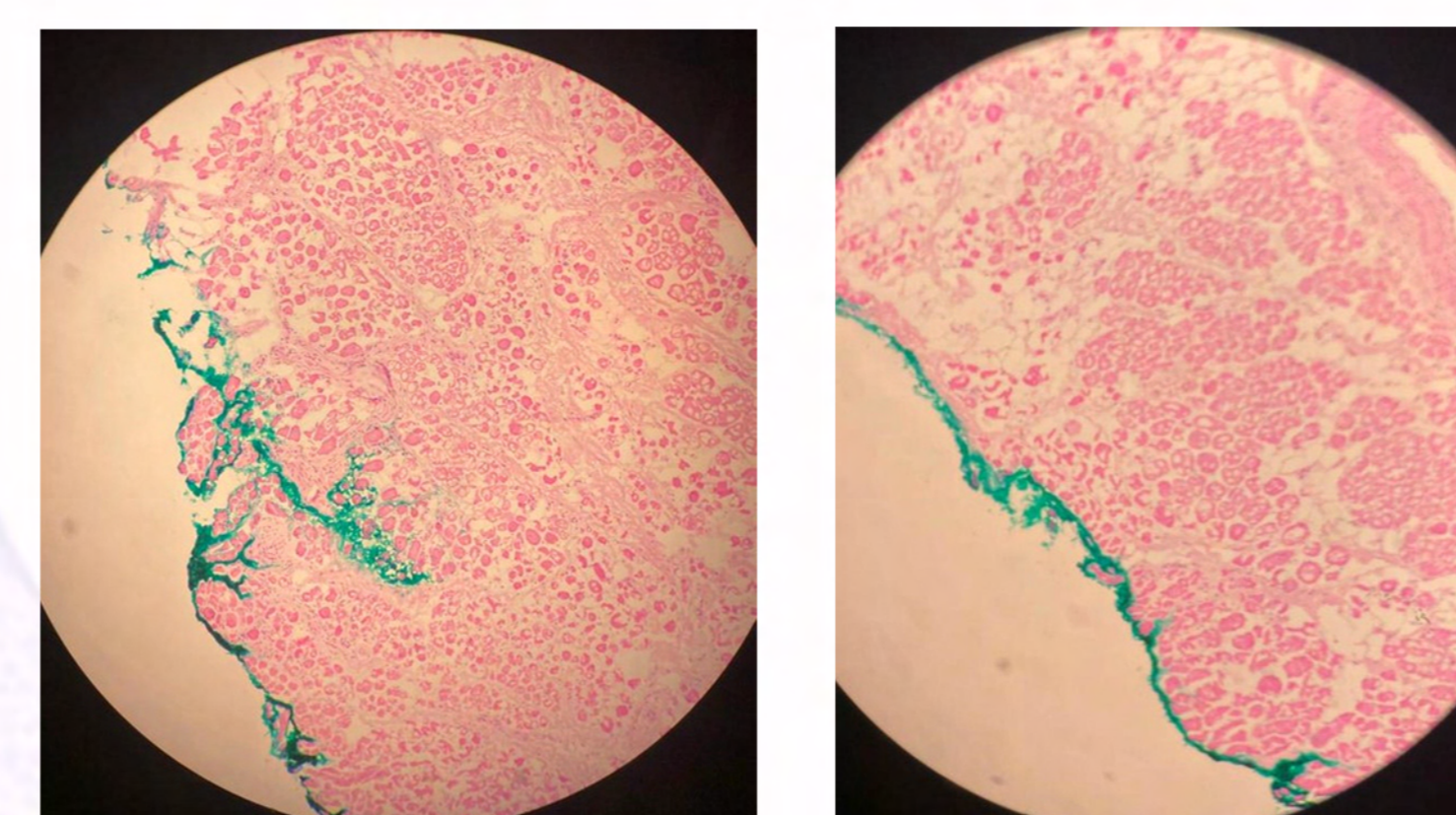
- Specificiteit: 0 (geen), 1 (Matig), 2 (specifiek)
- Achtergrondkleuring: 0 (sterk), 1 (matig), 2 (geen)
- Uniformiteit: 0 (geen), 1 (uniform)

ID	Initialen patholoog	Hematoxyline specificiteit			Hematoxyline achtergrond			Hematoxyline uniformiteit			Eosine specificiteit			Eosine achtergrond			Eosine uniformiteit			Score t.o.v. originele kleuring (/5)	Totaal (/10)	Locatie
1	NK	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	5/5	10/10	Archief LBS
2	NK	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	5/5	10/10	Archief LBS
3	NK	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	5/5	10/10	Archief LBS
4	NK	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	5/5	10/10	Archief LBS
5	NK	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	5/5	10/10	Archief LBS
6	NK	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	5/5	10/10	Archief LBS
7	NK	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	5/5	10/10	Archief LBS
8	NK	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	5/5	10/10	Archief LBS
9	NK	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	5/5	10/10	Archief LBS
10	I/W	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	5/5	10/10	Archief LBS

Resultaten validatie HE-vriescoupes



Coupe nummer 7 nieuw en oud



Coupe nummer 7 nieuw en oud

## CONCLUSIE

De HE-kleuring van de coupes worden semi-kwantitatief beoordeeld op kwaliteit van de kleuring. Dit houdt in dat er een duidelijke aankleuring is van het cytoplasma en de celkernen met een duidelijke distinctie van het kernmateriaal met optimale kleurintensiteit. De kleuring moet volgens beoordelingscriteria optimaal scoren voor de specificiteit, achtergrondkleuring en uniformiteit. Alle geteste coupes scoren optimaal en behalen een aanvaardbaarheids-criterium van 90%. Er is besluit dat de hervalidatie is voldaan aan de aanvaardbaarheids-criteria. Dit wilt zeggen dat de HE-kleuring van de vriescoupes met bijhorende protocol gebruikt kan worden voor het uitvoeren van analyses in het kader van het Noorderhart in Pelt.

### Werkwijze HE-kleuring

## REFERENTIES

- Praktijkrichtlijn Pathologische anatomie. (z.d.). sciensano.be. <https://www.sciensano.be/nl/biblio/praktijkrichtlijn-pathologische-anatomie>
- Evers, R. (z.d.). Vriescoupe. <https://labpon.nl/algemene-informatie/histologie/vriescoupe>
- Vriescoupe — Labo Pathologie PA2 van de groepering GZA-ZNA. (z.d.). Labo Pathologie PA2 van de groepering GZA-ZNA. <https://www.labopathologiegza.zna.com/vriescoupe>
- Chan, J. K. (2014). The Wonderful Colors of the Hematoxylin-Eosin Stain in Diagnostic Surgical Pathology. International Journal of Surgical Pathology, 22(1), 12–32. <https://doi.org/10.1177/1066896913517939>
- Validatie. (z.d.). RIVM. [https://www.rivm.nl/prezies/over-prezies/validatie#:~:text=Het%20doel%20van%20validatie%20is,\(Zi%20Zorginfectie\).](https://www.rivm.nl/prezies/over-prezies/validatie#:~:text=Het%20doel%20van%20validatie%20is,(Zi%20Zorginfectie).)
- [Evaluation of frozen sections and cytological diagnosis during surgery]. (2004, 6 maart). PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15042891/>