

# Optimalisatie en validatie van geautomatiseerde speciale kleuringen met Artisan Link Pro

Laura Verhaegen, Anatomopathologie - Imeldaziekenhuis

## Inleiding

Speciale kleuringen worden gebruikt wanneer het voor de patholoog niet mogelijk is om een diagnose te stellen op basis van een hematoxyline-eosine (H&E)-kleuring. Er bestaan tientallen speciale kleuringen die gebruikt kunnen worden om een juiste diagnose te stellen. Met deze kleuringen kunnen bepaalde weefselstructuren, elementen of zelfs micro-organismen gevisualiseerd worden, die met een H&E-kleuring niet zichtbaar worden gemaakt. Tot op heden worden de speciale kleuringen nog steeds manueel uitgevoerd, maar doordat er op manuele kleuringen veel variatie zit, zullen deze kleuringen geautomatiseerd en dus gestandaardiseerd worden. De initiële optimalisatie en validatie zal voor zes verschillende kleuringen uitgevoerd worden (Artisan Link Pro, Dako/Agilent). Deze zes kleuringen zijn Congorood, Periodic Acid-Schiff (PAS), Grocott, Iron, Masson's Trichroom en Reticuline. [1]



Bio-Optica kit [2]

Optimalisatie en validatie



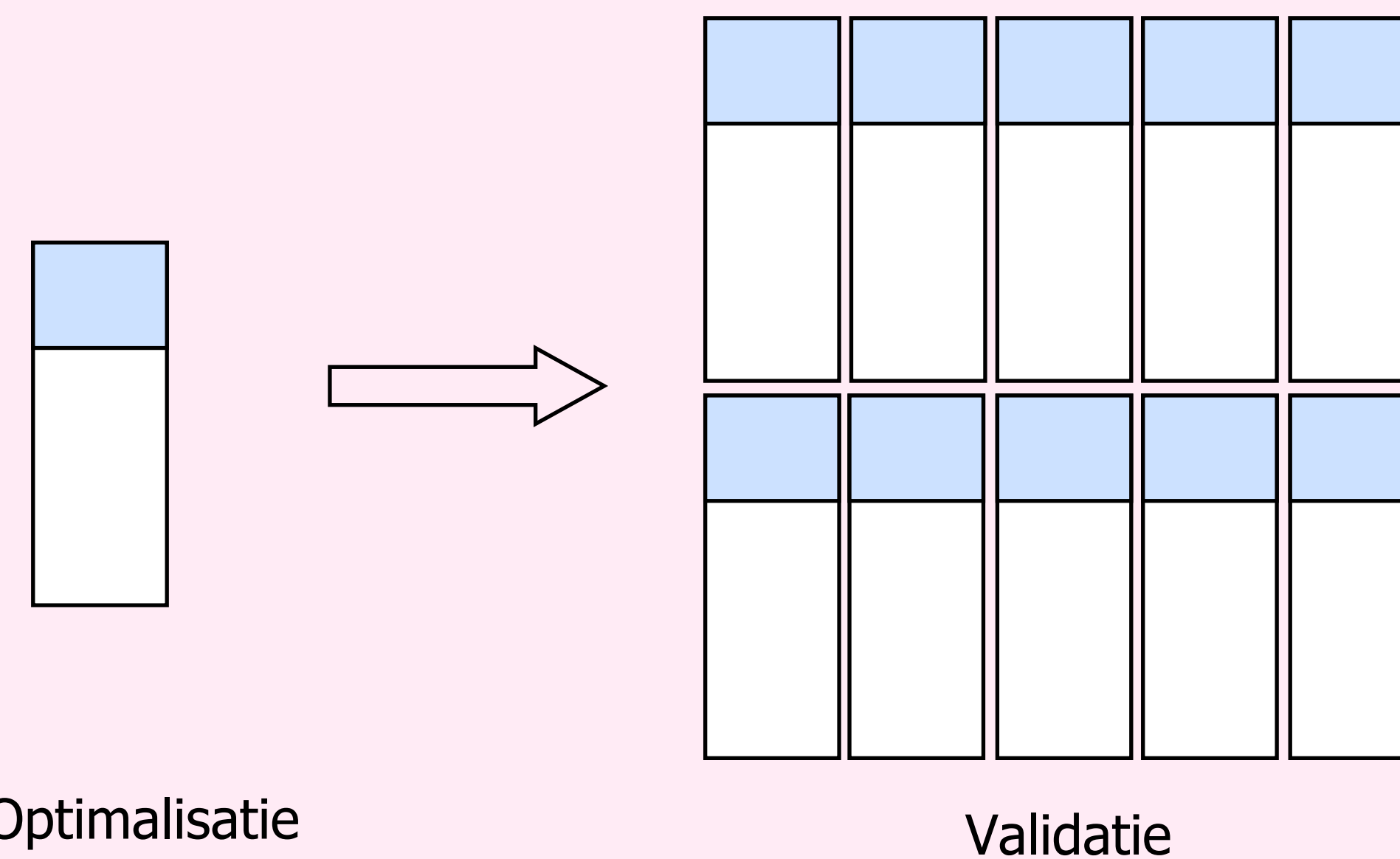
Artisan Link Pro [3]

## Materialen en methoden

Het Artisan Link Pro Special Staining systeem is ontworpen voor het automatiseren van speciale kleuringen op met formiline gefixeerd, in paraffine ingebedde weefselcoupes. Dit walk-away systeem bestaat uit een reactiekamer, een carrousel met een capaciteit van 48 draagglasjes en een carrousel met 50 reagensposities. De kant-en-klare reagentia zijn verpakt in een reagenscartridge die een nauwkeurige dosering van reagentia mogelijk maakt. [4]

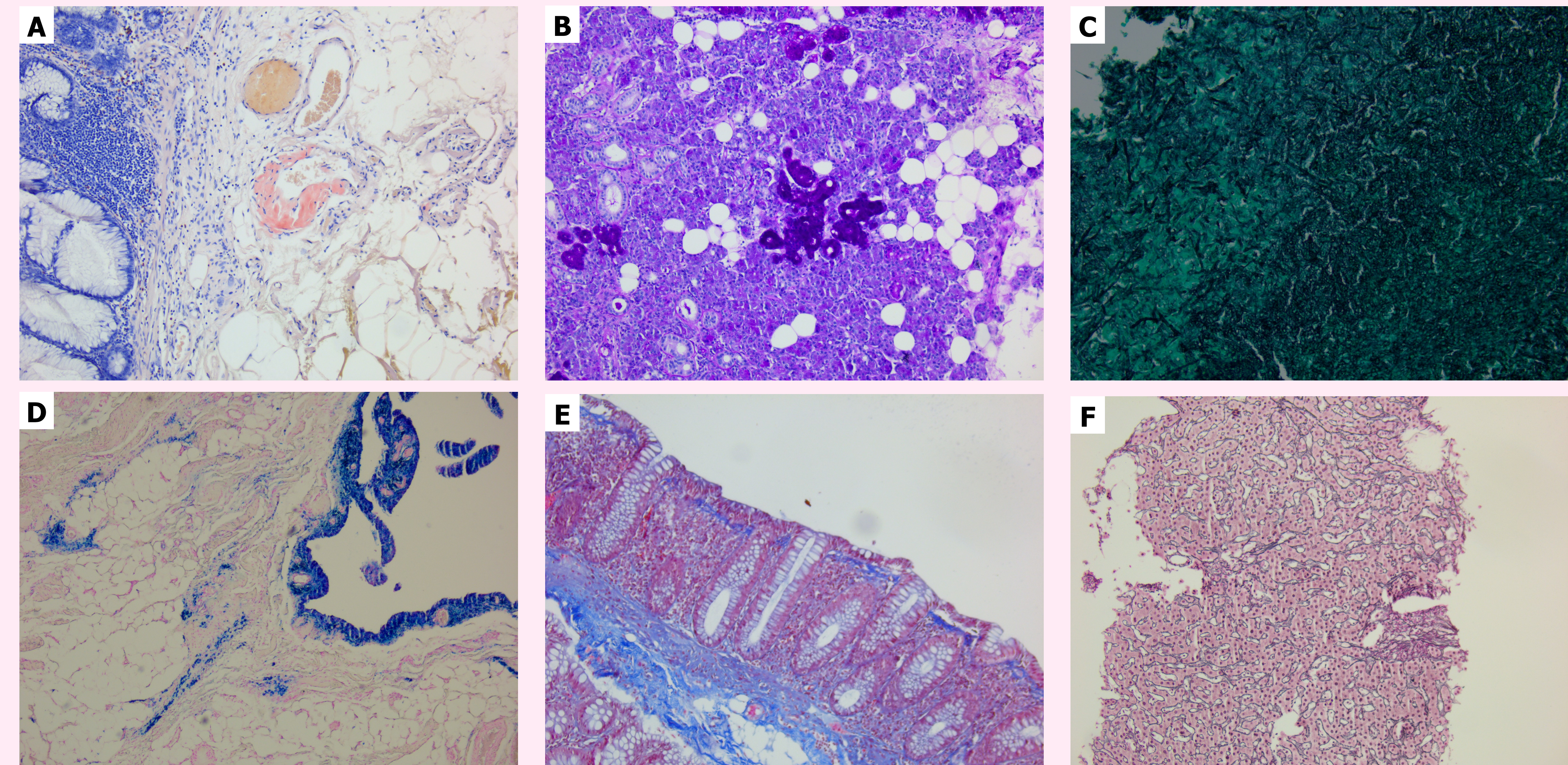
De blokken die gebruikt werden, werden uit het archief van het Imeldaziekenhuis gehaald. Hierbij werd rekening gehouden met de informed consent. De validatiecoupes werden gesneden (RM2245, Leica; HM355S, Thermo Scientific) op een dikte van 3 µm, met uitzondering van de coupes voor de Congorood-kleuring, deze werden op 8 µm gesneden. Nadien werden de coupes aangebracht op een standaard draagglasje, met uitzondering van de coupes voor de Congorood-kleuring, deze werden aangebracht op een gecoat draagglasje. Daarna werden de draagglasjes 15 minuten verwarmd op 60°C om de paraffine te laten smelten. De deparaffinatie werd uitgevoerd op het kleurtoestel met behulp van de clearing solution. Na de kleuring werden de coupes afgedekt (Coverstainer, Dako).

Eerst werd voor elk van de kleuringen één coupe gekleurd met het originele Dako-protocol, waarna er aanpassingen gedaan werden indien nodig. Nadien werden er voor een protocol met referentie vijf validatieglasjes gekleurd en voor een protocol zonder referentie tien.



## Resultaten

Het standaardprotocol van de PAS-, de Iron-, de Masson's Trichroom- en de Reticuline-kleuring werd goedgekeurd. Voor de Congorood- en Grocott-kleuring waren er enkele aanpassingen nodig. Bij de Congorood-kleuring werd gekozen voor een protocol waarbij de incubatietijd van alcoholische congorood licht werd opgehoogd. Bij de Grocott-kleuring werd gekozen voor een protocol waarbij de incubatietijd van methenamine boraat licht werd opgehoogd. Ook werd er bij de Grocott-kleuring gekozen om gebruik te maken van een ander protocol om de draagglasjes af te dekken, zodat de wateroplosbare, groene achtergrond niet weggespoeld werd.



Geoptimaliseerde protocols van de speciale kleuringen. A: Congorood-kleuring: amyloid in de vaatwand kleurt positief; B: PAS-kleuring: mucineuze acini in de speekselklier kleuren aan; C: Grocott-kleuring: schimmeldraden kleuren zwart; D: Iron-kleuring: ijzerstapeling kleurt blauw; E: Masson's Trichroom-kleuring: slijmbekercellen kleuren licht blauw, collageen kleurt blauw; F: Reticuline-kleuring: reticulinevezels in de lever kleuren aan

## Conclusie

De geoptimaliseerde en gevalideerde protocols zijn klaar om in gebruik genomen te worden in de routine. Er zullen nog meer kleuringen geoptimaliseerd en gevalideerd worden, maar er zullen nog steeds enkele kleuringen manueel uitgevoerd moeten worden.

## Dankwoord

Met dank aan het team van anatomopathologie van het Imeldaziekenhuis in Bonheiden, en in het bijzonder dr. S. Van Aelst, dr. E. Pierré, kwaliteitscoördinator I. Van Hee en hoofdlaborante C. Goris.

## Referenties

- Anderson, J., & Rolls, G. (2023). An introduction to Routine and Special Staining. Leica Biosystems. <https://www.leicabiosystems.com/en-be/knowledge-pathway/an-introduction-to-routine-and-special-staining/>
- Bio-Optica. (2020, 16 oktober). Manual Staining Kits—The bet quality stains for your lab. <https://www.bio-optica.it/en/news/detail/735>
- Agilent. (z.d.) Artisan Link Pro Staining System. Geraadpleegd op 7 juni 2023, van <https://www.agilent.com/en/product/special-stains/automated-special-staining/artisan-link-pro-special-staining-system-776828>
- Dako/Agilent (2022). Artisan Link Pro Basic User Guide.