

Austestung verschiedener Paraffinsorten und Ersatz von Paraffin WAX TEK III

Soheila Azam, Klasse 17-20 A

Bildungsgang Biomedizinische Analytik HF

Institute für Pathologie der Universität Bern

1. Zusammenfassung

Das aktuelle Paraffin WAX TEK III ist im histopathologischen Labor der Universität Bern suboptimal betreffend der Schneidbarkeit und Schnittqualität. Das Ziel dieser Diplomarbeit ist, das bisherige Paraffin zu ersetzen. Der Test besteht aus drei Phasen. Im Gegensatz zum Entwässerungsautomat VIP 6, muss bei Entwässerungsautomat Xpress 120 zwingend das Paraffin von WAX TEK III verwendet werden. In der Vorphase wird bewiesen, dass die neuen Paraffinsorten (H-Plast und Paraplast) mit WAX TEK III in Bezug auf Xpress 120 kompatibel und verträglich sind. Aufgrund des eingeschränkten Zugangs zu den Entwässerungsgeräten für dieses Projekt wird in den weiteren Testphasen ausschliesslich Paraplast mit WAX TEK III verglichen. Die Resultate der Testphase 1 in Bezug auf den VIP 6 zeigen, dass es keinen wesentlichen Unterschied zwischen Paraplast und WAX TEK III gibt. Jedoch verfügt Paraplast über eine bessere Qualität bezüglich der Schneidbarkeit und Sprödigkeit. WAX TEK III zeigt an HE-Schnitten gering bessere Wirkungen auf die Schnittqualität, Farbqualität und Morphologie. Allerdings ist der Unterschied vernachlässigbar. Bei Spezialfärbungen (EVG-PAS), IHC und molekularpathologischen Untersuchungen verhalten sich die beiden Paraffinsorten gleich gut. Bei FISH wird festgestellt, dass Paraplast eine bessere Wirkung als WAX TEK III in Bezug auf die Hybridisierungsqualität zeigt. Die Testphase 2 ist eine Bestätigung für die Testphase 1. In dieser Phase wird Paraplast nicht im Vergleich zum WAX TEK III, sondern nur an sich beurteilt. Die ermittelten Ergebnisse im Rahmen dieser Diplomarbeit zeigen, dass Paraplast ein geeigneter Ersatz für WAX TEK III ist und somit in Zukunft eingesetzt wird.

2. Einleitung

Am Institut für Pathologie der Universität Bern wurden im Jahr 2019 im Routinelabor 1840 kg Paraffin verbraucht und pro Jahr werden über 155'000 Paraffinblöcke hergestellt. Die Anzahl der Blöcke sagt aus, was für eine grosse Rolle das Paraffin in einem histopathologischen Labor spielt. Das Paraffinwachs besteht aus Ketten von Kohlenwasserstoffen, die bei der Raffinierung von Erdöl entstehen [1]. Folgend sind der Ablauf der Verarbeitung der Gewebe und der Verwendung des Paraffins in einem histopathologischen Labor kurz erläutert. Die formalinfixierte Gewebe werden im Entwässerungsautomat in einer aufsteigenden Alkoholreihe entwässert. Das im Gewebe enthaltene Wasser wird durch Xylol ersetzt und anschliessend durch heisses Paraffinwachs infiltriert. Danach werden die Gewebe im heissen Paraffin ausgegossen und die Paraffinblöcke werden erstellt. Anhand des Mikrotoms lassen sich Schnitte herstellen. Die Schnitte werden in einer absteigenden Alkoholreihe entparaffiniert, mit HE-Färbung gefärbt und eingedeckt. Die HE-Schnitte werden durch die Ärzteschaft mikroskopiert. Je nach Krankheit werden zusätzlich Spezialfärbungen oder Spezialuntersuchungen durchgeführt. [2]

3. Ziele und Fragestellungen

- Ziel 1:** Aussuchen eines neuen Paraffins, welches mit dem Paraffin WAX TEK III kompatibel ist.
- Ziel 2:** Verbesserung der Schneidequalität: weniger klebrig, weniger spröde, weniger Klingerverbrauch.
- Fragestellung 1:** Ist das Paraffin WAX TEK III mit dem neuen Paraffin gut verträglich bzw. mischbar?
- Fragestellung 2:** Kann die neue Paraffinsorte das Schneiden erleichtern?

5. Ergebnisse/ Resultate

Testphase 1: In dieser Testphase findet der Vergleich zwischen Paraplast und WAXTEK III statt.

Tab.7 Beurteilung der verschiedenen Eigenschaften von Paraplast (1) und WAX TEK III (2) durch das Laborpersonal

Eigenschaften	gut	mässig	schlecht
Schneidbarkeit (1)	36	6	1
Schneidbarkeit (2)	29	14	0
Sprödigkeit (1)	36	7	0
Sprödigkeit (2)	34	7	2
Klingensparen (1)	38	5	0
Klingensparen (2)	32	9	2

Tab.8 Beurteilung der verschiedenen Eigenschaften von Paraplast (1) und WAX TEK III (2) an HE-Schnitte durch die Ärzteschaft

Eigenschaften	gut	mässig	schlecht
Schnittqualität (1)	35	7	1
Schnittqualität (2)	37	4	2
Farbequalität (1)	38	4	1
Farbequalität (2)	39	3	1
Morphologie (1)	37	5	1
Morphologie (2)	38	4	1

Paraplast				WAX TEK III					
	EVG	PAS							
	gut	mässig	schlecht	gut	mässig	schlecht	gut	mässig	schlecht
Schnittqualität	x			x			x		
Farbequalität	x								x
Morphologie	x			x			x		

Abb.16 Übersicht des mikroskopischen Vergleichs zwischen Paraplast und WAX TEK III mit EVG (Lunge) und PAS (Kolon)

WAX TEK III	E-Cadherine				PD-L1				ER/PgR				
	gut	mässig	schlecht	Intensität	Morphologie	gut	mässig	schlecht	Intensität	Morphologie	gut	mässig	schlecht
	x			x			x			x			

Abb.17 Gegenüberstellung der Resultate Paraplast und WAX TEK III mit den verschiedenen Antikörpern (E-Cadherine auf Kolon, PD-L1 auf Lunge, Er / PgR auf Mamma)

Tab.11 Übersicht des Schneideverhalten von Paraplast

Eigenschaften	gut	mässig	schlecht
Schneidbarkeit	13	3	0
Sprödigkeit	15	1	0
klingensparen	7	9	0

Testphase 2: Die Resultate des Paraplasts bezüglich der Schneidbarkeit und des Viskositätsverhaltens durch Laborpersonal (Tab.11 und 12).

Tab.12 Viskositätsverhalten von Paraplast während des Ausgiessens

Eigenschaft	gut	mässig	schlecht
Viskosität	9	0	0

4. Material, Methodik, Vorgehen

- Vorphase in Bezug auf Xpress 120:** Von jeder Probe werden 3 Kassetten hergestellt, in Xpress 120 entwässert und anschliessend mit WAX TEK III infiltriert. Die Kassette 1 mit H-Plast, die Kassette 2 mit Paraplast und die Kassette 3 mit WAX TEK III werden in den entsprechenden Ausgiessstationen ausgegossen. Alle drei Blöcke einer Probe werden geschnitten und makroskopisch beurteilt. (Anzahl der Stichproben: 10 Proben)
- Testphase 1 in Bezug auf VIP 6 :** Die Routineblöcke werden im mit WAX TEK III-gefüllten VIP 6 und die @Blöcke im mit Paraplast-gefüllten VIP 6 entwässert und infiltriert. Danach werden die Routineblöcke mit WAX TEK III und die @Blöcke mit Paraplast in den entsprechenden Ausgiessstationen eingebettet. Danach werden sie geschnitten und durch Laborpersonal beurteilt. Anschliessend werden die Schnitte mit HE-Färbung gefärbt und durch die Ärzteschaft mikroskopiert und beurteilt. Je nach Gewebe werden die Spezialfärbungen (EVG und PAS) oder Spezialuntersuchungen wie IHC und FISH durch Spezialisten durchgeführt. (Anzahl der Stichproben: 43 Proben)

- Testphase 2 in Bezug auf VIP 6:** Die Testphase 2 ist eine Bestätigung der Testphase 1 in Bezug auf Schneidbarkeit. Hier werden zusätzlich Eigenschaften des Paraplasts beim Ausgiessen beurteilt. Alle Routinegewebe werden nach der Entwässerung im VIP 6 mit Paraplast infiltriert und danach mit Paraplast eingebettet. Die Blöcke werden anschliessend am Mikrotom geschnitten. Am Ende des Tages wird ein Auswertungsbogen durch die zuständigen Personen an den Schneide- und Ausgiessstationen ausgefüllt. (Anzahl der Stichproben: pro Tag rund 500 Blöcke, Dauer: eine Woche)

6. Diskussion

- Vorphase in Bezug auf Xpress 120:** Im Resultat hat sich ergeben, dass sowohl H-Plast als auch Paraplast mit WAX TEK III kompatibel sind. Die Proben, welche im Gerät "Xpress 120" entwässert und anschliessend mit WAX TEK III infiltriert wurden, können mit Paraplast oder mit H-Plast ohne eine Abstossung der beiden Paraffine eingebettet werden.
- Testphase 1 in Bezug auf VIP 6 :** Die Bewertung durch das Laborpersonal hat gezeigt, dass die Schneidbarkeit der mit Paraplast eingebetteten Blöcke ist im Vergleich zu WAX TEK III besser ist. Die Paraffinblöcke von Paraplast sind weniger spröde und weniger statisch aufgeladen. Sie lösen weniger Stauchung aus und weisen stabilere Qualität auf. Somit kann Paraplast das Schneiden erleichtern. Bezüglich der Schnittqualität, Farbqualität und Morphologie an HE-Schnitte zeigt WAX TEK III gering bessere Resultate als Paraplast. Jedoch ist der Unterschied so unerheblich, dass er vernachlässigt werden kann. Bei Spezialfärbungen (EVG-PAS), IHC und Molekularpathologischen Untersuchungen verhalten sich die beiden Paraffinsorten gleich gut. Bei FISH wird festgestellt, dass Paraplast eine bessere Wirkung als WAX TEK III in Bezug auf die Hybridisierungsqualität zeigt.
- Testphase 2 in Bezug auf VIP 6:** In dieser Phase wird bestätigt, dass Paraplast eine gute Qualität betreffend der Schneidbarkeit und der Sprödigkeit bietet. In Bezug auf den Klingerverbrauch lässt sich sagen, dass Paraplast keinen grossen Einfluss auf das Klingensparen hat. Das Laborteam hat Paraplast als weniger klebrig bewertet. Das führt zu einer Zeitersparnis beim Einbetten aufgrund der kürzeren Reinigung zwischen den einzelnen Proben.

Fazit

Die ermittelten Ergebnisse im Rahmen dieser Diplomarbeit haben gezeigt, dass Paraplast einen guten Ersatz für WAX TEK III ist, da Paraplast nicht nur kosteneffektiv ist, sondern auch im Allgemeinen eine bessere Qualität anbietet. Das Pathologielabor der Universität Bern hat sich mit Rücksicht auf die Resultate dieser Diplomarbeit entschieden, WAX TEK III durch Paraplast zu ersetzen. Das Paraffin von H-Plast wird aus Zeitgründen nicht mehr weitergetestet.

Referenzen

- [1] Sakura, Tissue-Tek® Paraffinwachs, Application Bulletin FAQ, (2010)
- [2] Lang, G. (2006), Histotechnik, (2.Auflage), Springer Wien New York

Abbildungen

- Abb. 16, Azam, S. (2020) Übersicht des mikroskopischen Vergleichs zwischen Paraplast und WAX TEK III mit EVG (Lunge) und PAS (Kolon)Abb. 5.2 Eigene Abbildung (2019), Verdünnungsreihe von Anti-D-Standard
- Abb. 17, Azam, S. (2020) Gegenüberstellung der Resultate Paraplast und WAX TEK III mit den verschiedenen Antikörpern (E-Cadherine auf Kolon, PD-L1 auf Lunge, Er / PgR auf Mamma)

Tabellen

Alle Tabellen sind eigene Tabellen