

Etablierung der Zellblockherstellung mittels HistoGel™ (Epredia)

Alyssa Meyer, BMA 23-26

Bildungsgang Biomedizinische Analytik HF

Kantonsspital Aarau, Abteilung Zytologie

1. Zusammenfassung

Bei der Laborakkreditierung zeigte sich, dass die bisher verwendete Plasma-Thrombin-Methode aufgrund fehlender Standardisierung und der Verwendung von Humanplasma gemäss der In-vitro-Diagnostik-Verordnung nicht weiter eingesetzt werden sollte. Ziel dieser Arbeit war daher zu untersuchen, ob das HistoGel™ eine geeignete Alternative darstellt. Der Vergleich zeigte bei der HistoGel™-Methode eine geringere Zelldichte und morphologische Erhaltung der Zellen sowie einen erhöhten Zeitaufwand. Insgesamt bietet die HistoGel™-Methode keinen ausreichenden Mehrwert und konnte nicht etabliert werden. Daher soll die Plasma-Thrombin-Methode vorerst weitergeführt und eine Ausnahmegewilligung bei Swissmedic beantragt werden, bis eine geeignete Methode evaluiert wurde.

2. Einleitung

Zur Zellblockherstellung wird in der Zytologie am Kantonsspital Aarau die Plasma-Thrombin-Methode eingesetzt. Sie ermöglicht eine schnelle und einfache Herstellung. Jedoch können durch Humanplasma und bovines Thrombin fremde Proteine und zellfreie DNA-Fragmente in die Probe eingebracht werden und molekularbiologische Analysen stören. Das HistoGel™ kommt ohne Humanplasma aus und bietet daher einen Vorteil.

Die Immunzytochemie dient insbesondere der Tumorklassifikation und der Identifikation des Primärtumors bei Metastasen. Verwendet wurden der CD68-Marker, zur Darstellung der Makrophagen. Das Zytokeratin 7 (CK7), welches organspezifisch exprimiert wird und der thyroideale Transkriptionsfaktor 1 (TTF-1), welcher vor allem zur Erkennung eines primären Adenokarzinoms der Lunge dient [1].

3. Ziele und Fragestellungen

Ziel 1: Vergleich der Plasma-Thrombin-Methode mit der HistoGel™-Methode hinsichtlich Zellblockqualität und Immunzytochemie. Es soll überprüft werden, ob die HistoGel™-Methode eine gleichwertige Alternative darstellt und in die Routine etabliert werden kann.

Fragestellung 1: Welche Unterschiede zeigen sich zwischen den beiden Methoden bezüglich Zellblockqualität und Immunzytochemie und ist eine Etablierung der HistoGel™-Methode im Labor umsetzbar?

Ziel 2: Vergleich der Materialkosten und des Zeitaufwandes pro Probe, um den Kosten- und Arbeitsaufwand beider Methoden zu beurteilen.

Fragestellung 2: Wie unterscheiden sich die beiden Methoden zu den Materialkosten und Zeitaufwand und sind mögliche Mehrkosten oder ein erhöhter Arbeitsaufwand vertretbar in der Routine?

4. Methodik und Material

Für den praktischen Teil wurden nach Probeneingang zehn Körperhöhlenergüsse für die zytologische Beurteilung verarbeitet. Dabei handelte es sich um acht Pleuraergüsse, einen Perikarderguss und einen Aszites. Es wurden sowohl benigne als auch maligne Ergüsse untersucht. Anschliessend wurden mit beiden Methoden Zellblöcke hergestellt. Bei der Plasma-Thrombin-Methode wird das Zellsediment mit Plasma und Thrombin vermischt, wodurch ein stabiles Koagel entsteht. Bei der HistoGel™-Methode wird das HistoGel™ bei 65 °C verflüssigt, mit dem Zellsediment vermischt und bei 5 °C abgekühlt, sodass ein festes Zellpellet entsteht [2]. Nach anfänglichen Rissen und Fragmentierungen der HistoGel™-Zellblöcke wurden Rundbodenröhrchen eingesetzt. Zusätzlich wurde eine Variante mit einer Ethanolvorbehandlung getestet, um deren Einfluss auf die Zellerhaltung zu beurteilen. Die Zellblöcke wurden anschliessend fixiert, in der Histologie in Paraffin eingebettet und geschnitten. Danach erfolgte die automatisierte Hämatoxylin-Eosin (HE)-Färbung sowie die drei immunzytochemischen Färbungen.

Die Ergebnisse wurden von zwei zytologischen Fachpersonen anhand eines Beurteilungsbogens ausgewertet. Bewertet wurden die HE-Schnitte, sowie das Expressionsmuster und die Farbtintensität der immunzytochemischen Färbung.

5. Ergebnisse

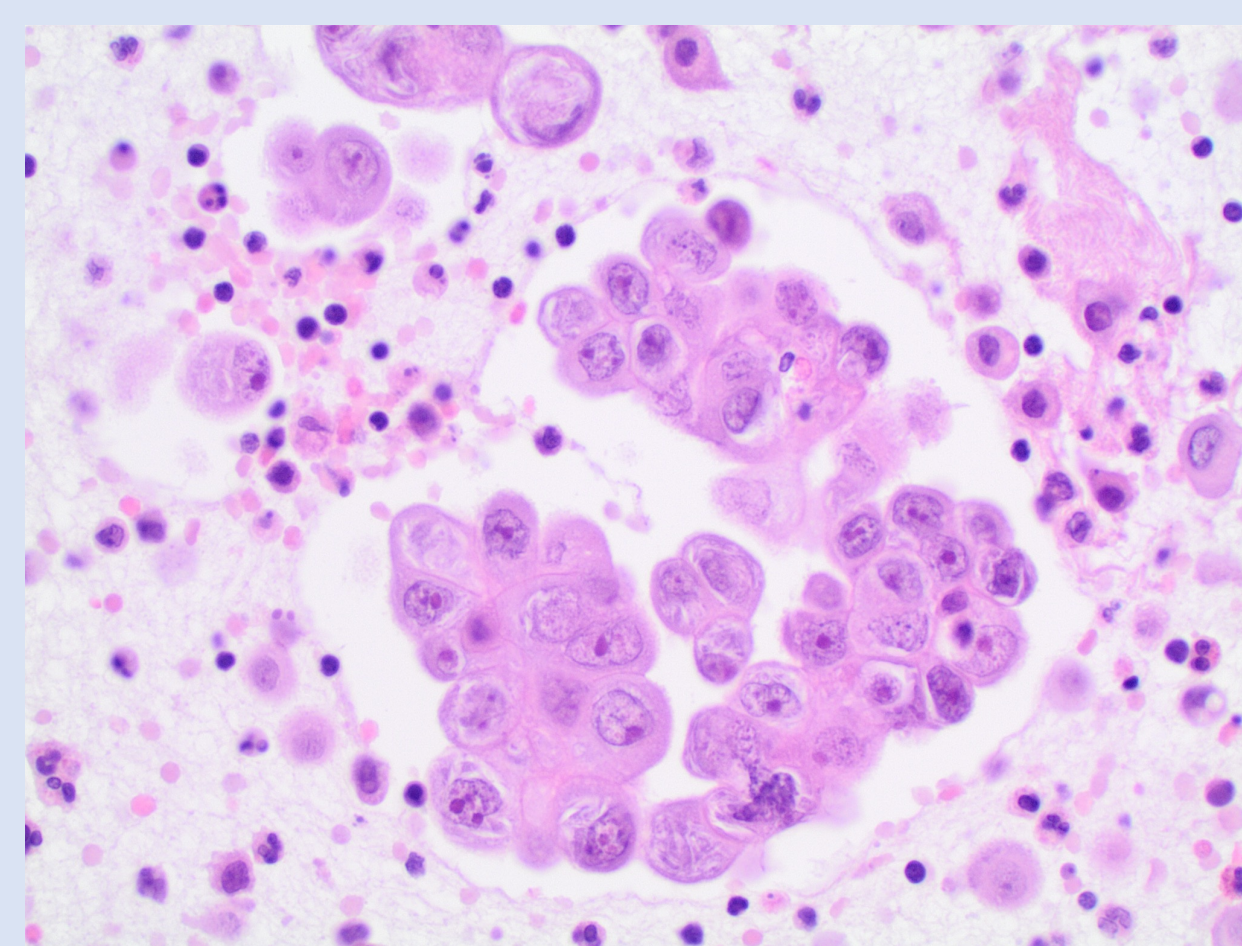


Abb. 1 Probe Nummer 1 mit der Plasma-Thrombin-Methode, 400x, Hämatoxylin-Eosin-Färbung, Pleuraerguss (Meyer, 2026)

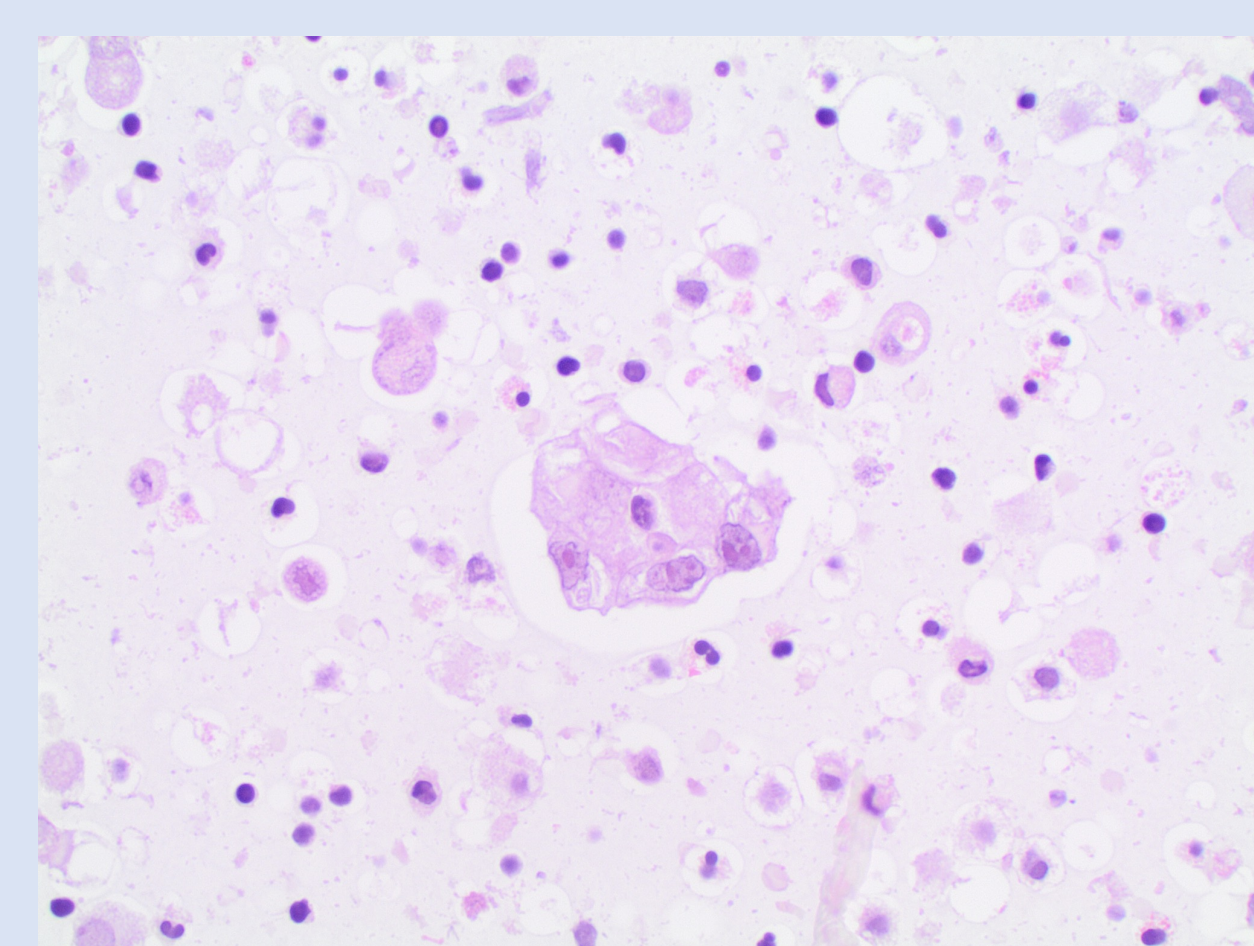


Abb. 2 Probe Nummer 1 mit der HistoGel™-Methode, 400x, Hämatoxylin-Eosin-Färbung, Pleuraerguss (Meyer, 2026)

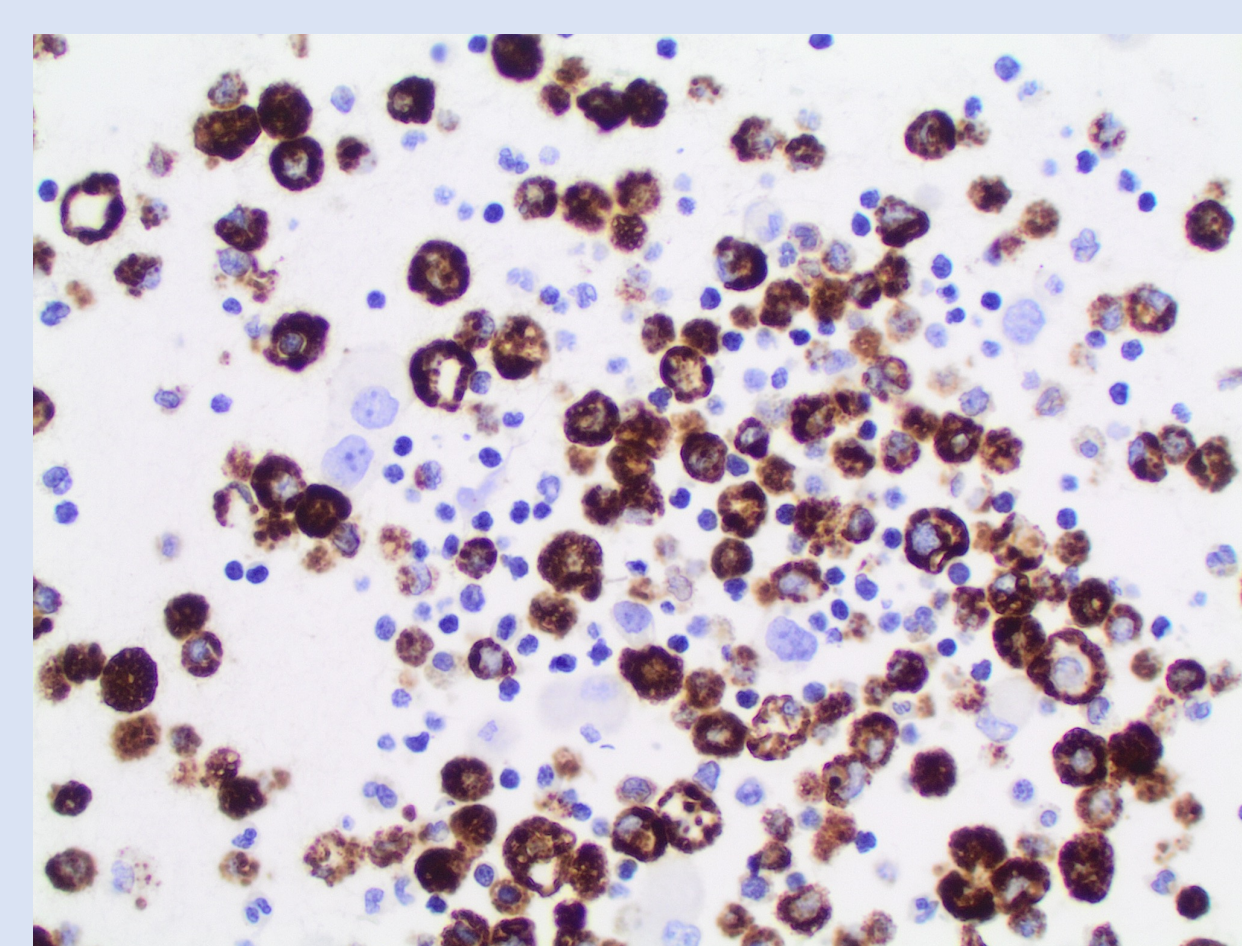


Abb. 3 Probe Nummer 5 mit der Plasma-Thrombin-Methode, 400x, Immunzytochemie CD68, Pleuraerguss (Meyer, 2026)

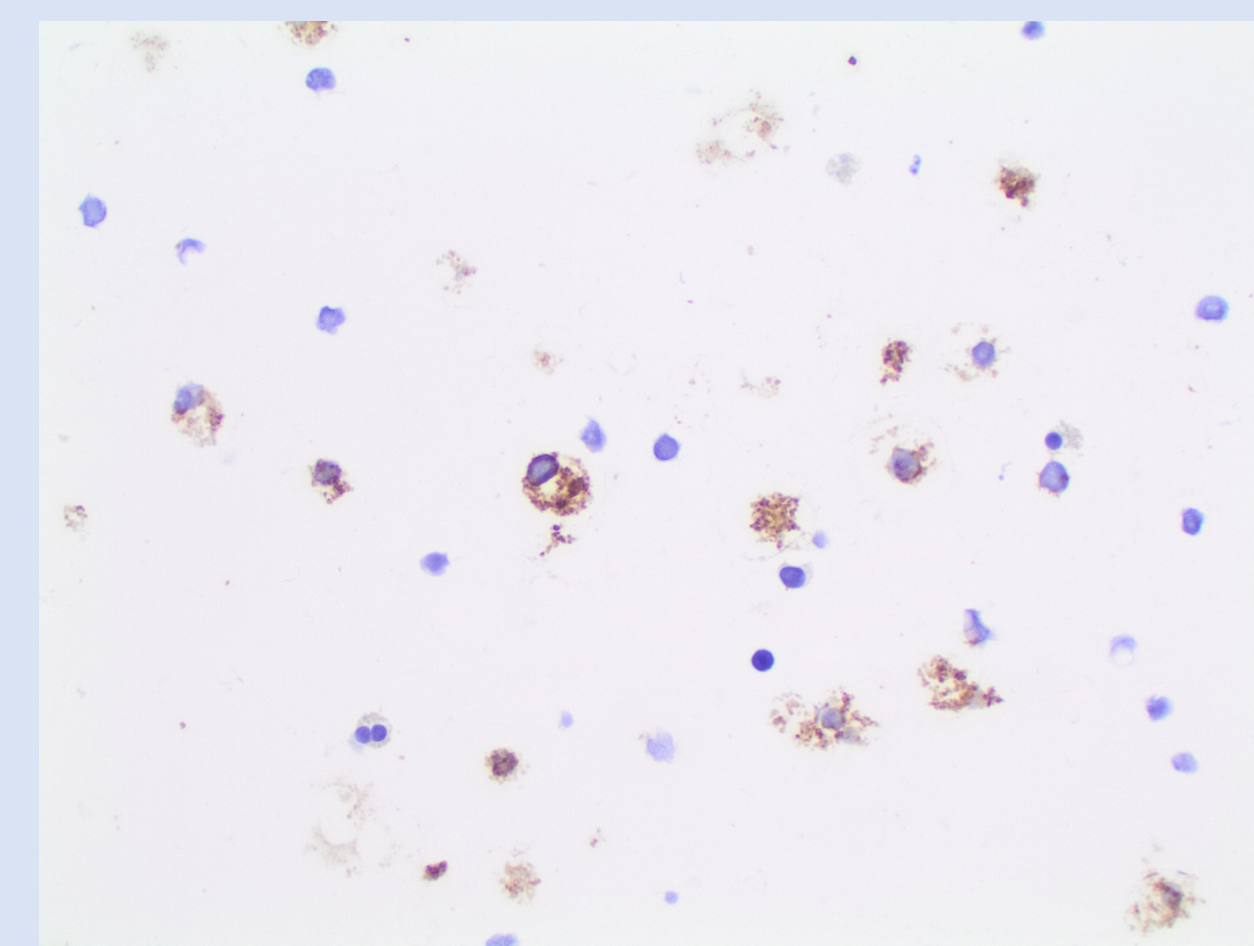


Abb. 4 Probe Nummer 5 mit der HistoGel™-Methode, 400x, Immunzytochemie CD68, Pleuraerguss (Meyer, 2026)

Die mikroskopischen Bilder verdeutlichen die Unterschiede beider Methoden. Bei der Plasma-Thrombin-Methode sind zahlreiche Zellen mit deutlich erkennbarem Chromatin und grosse Zellverbände sichtbar. Die immunzytochemischen Färbungen zeigen klare Expressionsmuster und kräftige Farbtintensitäten. Bei der HistoGel™-Methode sind wenige Zellen mit schlecht erkennbarem Chromatin und kleine Zellverbände vorhanden. In der HE-Färbung und in der Immunzytochemie zeigen sich abgeschwächte Farbtintensitäten. Die Expressionsmuster sind korrekt, wobei beim CD68-Marker durch die aufgeplatzten Makrophagen Hintergrundreaktionen auftraten. Aufgrund der geringen Probenzahl und teils wenigen positiven immunzytochemischen Reaktionen ist die Aussagekraft begrenzt. Die HistoGel™-Methode wies im Vergleich zur Plasma-Thrombin-Methode pro Probe um CHF 0.12 niedrigere Materialkosten und einen um 4 min 23 s höheren Zeitaufwand auf.

6. Diskussion

Die Plasma-Thrombin-Methode zeigte Vorteile bei der zytologischen, das HistoGel™ hingegen bei der histologischen Verarbeitung. Die geringere Zellularität und beeinträchtigte Zellmorphologie beim HistoGel™ könnten auf die lockere Einbettung sowie Zellverluste beim Erhitzen und Herauslösen des Zellpellets zurückzuführen sein. Durch die Ethanolvorbehandlung war vor allem das Chromatin deutlicher erkennbar, der Zeitaufwand erhöhte sich jedoch zusätzlich. Aufgrund dieser Nachteile konnte die HistoGel™-Methode nicht für die Routine etabliert werden. Die zuverlässigen Färbeergebnisse und die schnelle Verarbeitung sprechen weiterhin für die Plasma-Thrombin-Methode als bevorzugte Wahl. Durch eine Ausnahmegewilligung von Swissmedic könnte die Methode weitergeführt werden. Da deren Nachteile aber weiterhin bestehen, sollten weitere Alternativen evaluiert werden. Eine Möglichkeit wäre, die immunzytochemischen Analysen direkt auf den zytologischen Ausstrichen durchzuführen.

Referenzen

[1] LBS AS Product Catalog (2017), *IHC & ISH*, S. 69, 77 & 131.
https://www.leicabiosystems.com/sites/de_fault/files/media_document-file/2021-01/95.14492_LBS_AS_Product_Catalog_2017_LR.pdf

[2] Epredia (2020), *Packungsbeilage HistoGel™*, S. 1

Abbildungen

Abb. 1 Meyer, A. (2026). *Probe Nr. 1 Plasma-Thrombin-Methode*. KSA, Abteilung Zytologie

Abb. 2 Meyer, A. (2026). *Probe Nr. 1 HistoGel™-Methode*. KSA, Abteilung Zytologie

Abb. 3 Meyer, A. (2026). *Probe Nr. 5 Plasma-Thrombin-Methode*. KSA, Abteilung Zytologie

Abb. 4 Meyer, A. (2026). *Probe Nr. 5 HistoGel™-Methode*. KSA, Abteilung Zytologie