

Auszug aus dem xtra-Magazin 2/2017

# Digitale Pathologie

Für die sichere Diagnose  
von Tumoren



*IHC-Färbungen helfen bei der Diagnose von Tumoren. Um die Sicherheit der Analyse zu gewährleisten, sind Kontrollgewebeprobe­nen notwendig. Digitale Tissue-Micro-Array-Geräte von Sysmex ermöglichen, diese effizient in großem Umfang herzustellen.*

**TEXT** Dr. Olaf Scheel

Immunhistochemische Färbungen (IHC) sind eine wichtige Methode in der diagnostischen Histologie zur Identifikation und Klassifizierung von Tumorzellen. Über den immunhistochemischen Nachweis spezifischer Marker wie Transkriptionsfaktoren oder Membranproteine können morphologisch gleich erscheinende Tumore, die sich jedoch in ihrem Wachstumsverhalten, ihrer Entität, ihrer Aggressivität, Metastasenbildung oder auch Therapieantwort unterscheiden können, differenziert werden. Um in der diagnostischen Routine die Sensitivität und Spezifität von IHC-Färbungen sicherzustellen, ist es notwendig, geeignete Kontrollfärbungen als Positiv- und Negativkontrollen an zuvor entsprechend validierten Gewebeprobe­nen mitzuführen. Bei Onslide-Kontrollen wird direkt auf dem Objektträger, auf dem sich das zu untersuchende Gewebe befindet, dieses Kontrollgewebe aufgebracht. Es durchläuft dann parallel zum diagnostischen Gewebe den gleichen Färbeprozess und ist somit ein geeignetes Werkzeug zur Qualitätssicherung der IHC-Färbungen.

Durch eine wohldurchdachte Auswahl an Referenzgewebe lässt sich ein Kontrollset erstellen, mit dem sich sowohl die Spezifität als auch die Sensitivität der eingesetzten IHC-Färbung überprüfen

lässt. Solch eine Kontrollgewebeauswahl umfasst dann mindestens Positiv- und Negativkontrollen für das eingesetzte Nachweissystem. Für eine quantitative Validierung sind zusätzlich Positivkontrollen nötig, die eine validiert unterschiedliche Expression des nachzuweisenden Biomarkers aufweisen. Während ein rein qualitatives Testset nur mindestens zwei Kontrollgewebe umfasst, ist für eine quantitative Validierung ein Set von insgesamt acht bis 16 Gewebesamples nötig, wenn man zusätzlich Gewebheterogenitäten ausschließen möchte. Da auf einem Objektträger nur begrenzt Fläche für das Aufziehen dieser Kontrollsamples zur Verfügung steht, liegt es auf der Hand, bei umfangreichen Kontrollsets möglichst kleine Kontrollgewebestücke zu verwenden und den zur Verfügung stehenden Platz effizient zu nutzen. Unter wirtschaftlichen Gesichtspunkten ist zudem eine wenig arbeitsintensive Methode zur Erstellung der Kontrollen wünschenswert, ohne dass es dabei zu Einbußen in Qualität und Reproduzierbarkeit der Ergebnisse kommt. Dies gilt insbesondere, wenn in der Routinediagnostik einige Zehntausende Objektträger pro Jahr mit Onslide-Kontrollen bestückt werden sollen. Ziel ist die Etablierung eines automatischen, standardisierten und arbeitseffizienten Workflows, um die Kontrollsets in hoher, gleichbleibender Qualität zu einem akzeptablen Kosten- und Arbeitsaufwand herstellen zu können.

### **Digitale TMAs**

Tissue Micro Arrays (TMA) eignen sich daher besonders zur Herstellung von Onslide-Kontrollen in der Routine. TMAs bieten die Möglichkeit, Hunderte von Gewebeprobe­nen zeit- und kosteneffizient zu untersuchen. Dazu werden kleine Gewebesäulen aus dem in einen Paraffinblock eingebetteten Gewebe (Spenderblock) ausgestanzt und in einen sogenannten Empfängerblock überführt, der über 500

## „Einzig vernünftige Methode“

### Warum sind Onslide-Kontrollen wichtig?

Dr. Carol-Immanuel GEPPERT: Sie sind die einzig vernünftige und nach den aktuellen DAkkS-Vorgaben sinnvoll einsetzbare Methode, um ein umfassendes Qualitätsmanagement der IHC-Färbungen in der Pathologie sicherzustellen. Von dem Einsatz profitieren das Labor und die diagnostisch tätigen Ärzte und damit letzten Endes auch die Patienten, da eine zuverlässige Diagnostik sichergestellt ist.

### Wie stellen Sie Onslide-Kontrollen her?

Wir haben ein Aufkommen von 70.000 IHC-Färbungen pro Jahr. Für die Herstellung von entsprechend vielen Kontrollen setzen wir u. a. ein semi-automatisches TMA-Gerät, den TMA Grand Master von Sysmex ein.

### Welche Vorteile bietet ein automatisiertes TMA-Gerät?

Der Vorteil der automatischen Erstellung der TMAs für Onslide-Kontrollen liegt in der nahtlosen Integration in den digitalen Produktions-Workflow dieser Kontrollen im Institut. Darüber hinaus führen der hochpräzise Gewebetransfer und die zügige automatisierte Erstellung der TMA-Blöcke zu einem signifikanten Effizienzgewinn und damit auch zu Kosteneinsparungen.

FOTO: privat



Dr. med. Carol-Immanuel Geppert ist Assistenzarzt am Pathologischen Institut des Universitätsklinikums Erlangen

solcher Gewebesäulen enthalten kann. Vom Empfängerblock können dann histologische Schnitte wie von normalen Gewebeblöcken angefertigt werden. Gegenüber der konventionellen Herstellung von TMAs bietet die digitale Herstellung von TMAs einige Vorteile:

1. Qualitätssicherung des Prozesses durch Barcode-Codierung der Proben und Barcode-Erfassung durch den Objektträger-scanner und das TMA-Gerät
2. Probennachverfolgung und Prozessdokumentation zum Beispiel mit Microsoft Excel
3. Zeitersparnis durch Automation
4. Standardisierter und präziser Arbeitsablauf
5. Einsparpotenzial bei Reagenzien

### Onslide-Kontrollen mit digitalem TMA

Für die Herstellung von Onslide-Kontrollen bietet sich die Verwendung von automatisierten TMA-Geräten an. Die Einbindung in den digitalen Pathologie-Workflow ermöglicht per Software die komfortable Auswahl der Referenzgewebe und die Festlegung der Gewebeareale, die für die Onslide-Kontrollen genutzt werden sollen. Ebenso lassen sich bequem über das TMA-Layout die Zusammenstellung und die Anordnung dieser Referenzen festlegen, um einen möglichst aussagekräftigen Kontrollsatz auf möglichst kleiner Fläche zu erhalten. Der Gewebetransfer erfolgt dann weitgehend automatisiert, was einerseits einen minimalen Arbeitsaufwand bedeutet und andererseits eine hohe Transfergenauigkeit sichert, die zudem komplett dokumentiert und damit nachvollziehbar ist.

Mithilfe von automatischen digitalen TMA-Geräten können Onslide-Kontrollen effizient, in großer Menge, mit hoher Qualität und Reproduzierbarkeit hergestellt werden. Dies sichert die Qualität von IHC-Färbungen und auch *in-situ*-Hybridisierungen in der histopathologischen Routinediagnostik. Damit ist es für Labore möglich, einen klar definierten und kalkulierbaren Ablauf auch zur formalen Qualitätssicherung aufzusetzen und so aktiv auf den stärker werdenden Druck zur Akkreditierung der Labore und Laborprozesse reagieren zu können. Im Zuge der stetig komplexer werdenden histopathologischen Fälle – hervorgerufen durch einen unaufhaltsamen Fortschritt in der Entwicklung von spezifischen und sensitiven Tumormarkern und neuen Target-Therapieansätzen – steigt auch die Zahl der Färbungen kontinuierlich an. Dazu kommt die Zunahme der Fälle durch die steigende Alterung der Bevölkerung. Die Automatisierung der Herstellung der Onslide-Kontrollen mit digitalen TMA-Geräten wird diesen Anforderungen schon jetzt gerecht.

Weitere Informationen zu Lösungen für den digitalen Workflow finden Sie unter [www.sysmex.de/digitalepathologie](http://www.sysmex.de/digitalepathologie)

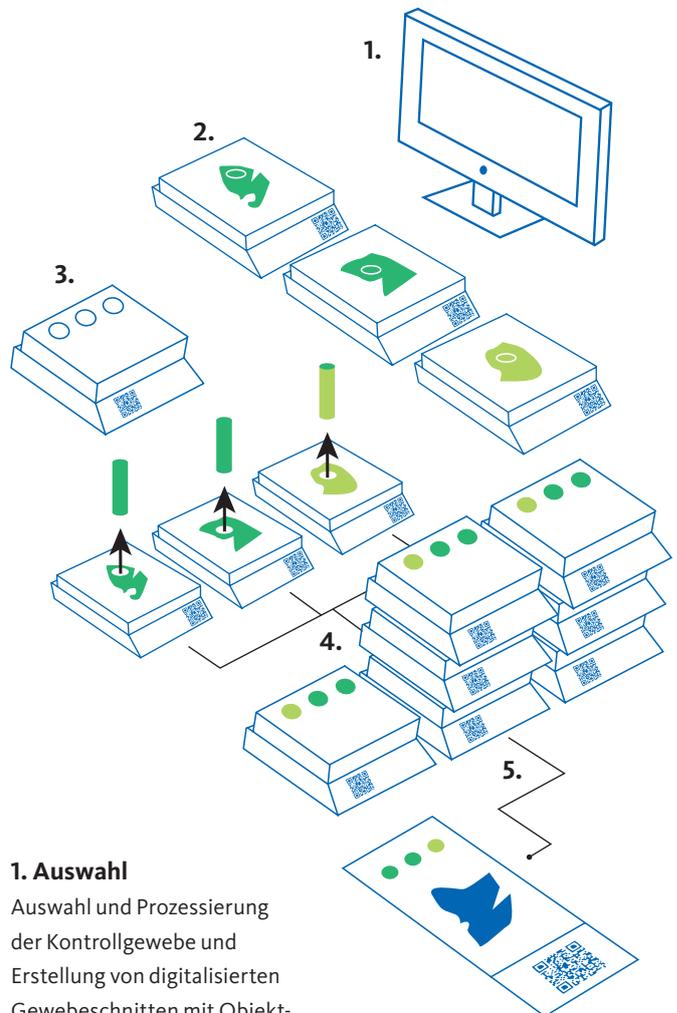
### SUMMARY

- Die von Sysmex vertriebenen TMA-Geräte von 3DHitech Ltd. gewährleisten innerhalb eines standardisierten Prozesses einen hohen Grad an QM-Sicherheit und Effizienz in der Erstellung von Onslide-Kontrollen

## Digitaler Workflow

# Vom Kontrollgewebe zur Onslide-Kontrolle

Der digitale Workflow zur Herstellung von TMAs lässt sich in die folgenden Arbeitsschritte unterteilen



#### 1. Auswahl

Auswahl und Prozessierung der Kontrollgewebe und Erstellung von digitalisierten Gewebeschnitten mit Objekttrügerscannern

#### 2. Markierung

Festlegung der zu transferierenden Gewebestellen – der sogenannten TMA-Marker – auf dem digitalen Gewebeschnitt am virtuellen Mikroskop und Übertragung dieser digitalen TMA-Marker auf den entsprechenden Spenderblock, also den Block mit dem Referenzgewebe

#### 3. Layout

Erstellen des Layouts des Empfängerblocks

#### 4. Transfer

Vollautomatischer Transfer der Gewebestellen aus den Spenderblöcken in die Empfängerblöcke

#### 5. Finale Onslide-Kontrolle

Die fertigen TMA-Blöcke mit den Kontrollsamples werden geschnitten, parallel mit dem diagnostischen Gewebe auf den Objektträgern aufgebracht und durchlaufen gemeinsam mit diesem alle Schritte des Färbeprozesses

## Die Vorteile des digitalen TMA-Workflows auf einen Blick



Qualitätssicherung durch  
Barcode-Erkennung



Probennachverfolgung  
mittels Microsoft Excel®



Zeitersparnis durch  
Automation



Standardisierter und  
präziser Arbeitsablauf



Einsparpotenzial  
bei Reagenzien

## Technische Daten

- Stanzendurchmesser wählbar (0,6 mm, 1,0 mm, 1,5 mm oder 2,0 mm)
- Digitales Slide Overlay, um die TMA-Marker schnell und punktgenau vom gefärbten Gewebeschnitt auf den Spenderblock zu übertragen
- Vollautomatische Probenentnahme für PCR-Analysen ohne Kontamination der Stanze
- Bilderfassung und -speicherung der prozessierten Spenderblöcke zur Nachverfolgung und Qualitätssicherung
- Komfortabler Datenexport über Excel-Tabellen

### TMA Master II

- Kompaktes halbautomatisches TMA-Gerät für bis zu 5 Paraffinblöcke (Kombination variabel)
- Bis zu 558 Stanzen ( $\varnothing = 0,6$  mm) pro Paraffinblock (37 mm  $\times$  24 mm)
- Abmessungen (L  $\times$  B  $\times$  H):  
ca. 380 mm  $\times$  240 mm  $\times$  290 mm



### TMA Grand Master

- Vollautomatisches TMA-Gerät für bis zu 72 Paraffinblöcke (12 Empfängerblöcke und bis zu 60 Spenderblöcke)
- Schneller integrierter Workflow durch paralleles Überführen, Stanzen, Bohren und Bilderfassen
- Bis zu 558 Stanzen ( $\varnothing = 0,6$  mm) pro Paraffinblock (37 mm  $\times$  24 mm)
- Übertragung von bis zu 280 Stanzen pro Stunde
- Abmessungen (L  $\times$  B  $\times$  H):  
ca. 810 mm  $\times$  500 mm  $\times$  440 mm

