

Optimierung des maschinellen Färbeprozesses von gastrointestinalen Biopsien

Lara Biral, BMA 23-26

Biomedizinische Analytik HF

Pathologie Länggasse AG

1. Zusammenfassung

Aufgrund der steigenden Anzahl eingesendeter Proben gewinnt die Effizienz der Laborprozesse zunehmend an Bedeutung. Im Fokus steht die Fragestellung, ob die routinemässig eingesetzte Elastika-van-Gieson-Färbung (EvG) durch eine alternative Bindegewebsfärbung ersetzt werden kann. Als mögliche Alternativen wurden die Färbungen Chromotrop-Anilinblau (CAB) und Pikro-Siriusrot (PSR) ausgewählt. Dazu werden diese bisher manuell durchgeführten CAB- und PSR-Färbungen auf den automatisierten Tissue-Tek Prisma Färbeautomaten (FA) übertragen. Es wurden verschiedene Färbeprotokolle entwickelt, getestet, verglichen und schrittweise optimiert. Für die beiden Färbungen konnten automatisierte, reproduzierbare Protokolle mit guter Qualität etabliert werden. Anhand gastrointestinaler Biopsien (GIB) wurden die EvG-, CAB- und PSR-Färbung von zwei Fachärzten für Pathologie verglichen und bewertet. Die Ergebnisse zeigen, dass sowohl CAB als auch PSR grundsätzlich eine geeignete Alternative zur EvG-Färbung darstellen. Alle drei Färbungen weisen spezifische Vor- und Nachteile auf. Jedoch ist und bleibt die beste Option noch die EvG-Färbung.

2. Einleitung

Für die diagnostische Beurteilung von GIB werden verschiedene histologische Färbungen eingesetzt. Eine davon ist die Bindegewebsfärbung EvG. Der Färbeprozess dauert ca. 60 Min. und es werden drei verschiedene Lösungen benötigt. Das Resorcin-Fuchsin färbt die elastischen Fasern dunkelviolett bis schwarzviolett an, das Weigert's Eisenhämatoxylin die Kerne schwarz und die Van-Gieson-Lösung (Pikrinsäure und Säurefuchsin) die kollagenen Fasern rot, die Muskulatur gelb und die Erythrozyten gelb-orange [1]. Aufgrund der langen Färbedauer und der benötigten unterschiedlichen Lösungen stellt sich die Frage, ob es eine alternative Bindegewebsfärbung zu EvG gibt. Eine mögliche Alternative ist CAB. Die manuelle Färbezeit beträgt ca. 15 Min. und wie bei der EvG werden die Zellkerne mit Weigert's Eisenhämatoxylin schwarz angefärbt. Die saure Chromotrop-Anilinblau-Lösung färbt die Muskelfasern und Erythrozyten rot und die kollagenen Fasern blau [2]. Eine weitere Färbung ist PSR, bei der auch die Zellkerne durch Weigert's Eisenhämatoxylin schwarz angefärbt werden. Die verwendete Pikro-Siriusrot-Lösung (Siriusrot und Pikrinsäure) färbt die kollagenen Fasern rot und die nicht kollagenen Strukturen, wie die Muskelfasern, gelb an. Die Färbedauer beträgt manuell ca. 75 Min. [3].

3. Ziele und Fragestellung

Ziele: Die Färbungen CAB und PSR nach der Umstellung von manuell auf maschinell mit der EvG-Färbung in den Vergleich stellen. Dabei spielen Färbezeitdauer, Kosten der Reagenzien sowie Nutzen für die Beurteilung von GIB eine wichtige Rolle.

Fragestellung: Welche Färbung, EvG, CAB oder PSR, würde am besten die Kriterien für die Beurteilung der GIB erfüllen?

4. Material, Methodik, Vorgehen

Es wurde Gewebe verwendet, das in 4% Formalin fixiert wurde. Dieses wurde in geeignete Kassetten eingekapselt und entwässert. Nach diesem Prozess im Entwässerungsautomaten wurde das Gewebe manuell in Paraffin eingebettet. Aus den Paraffinblöcken wurden an einem Mikrotom Gewebeschnitte hergestellt und auf die Objektträger für die darauffolgende Färbung übertragen. Die Färbungen wurden auf dem Tissue-Tek Prisma FA durchgeführt. Für den Vergleich wurden 30 Paraffinblöcke mit und ohne pathologische Veränderungen verwendet. Die Präparate wurden von zwei Fachärzten für Pathologie anhand eines Fragebogens unabhängig voneinander beurteilt. Die zu beurteilenden Strukturen waren die Zellen, die glatte Muskulatur, das Bindegewebe, die Gefässe und das subepitheliale Kollagenband.

5. Ergebnisse/ Resultate

Das manuelle Färbeverfahren konnte mit einer vergleichbaren Färbequalität auf maschinell umgestellt werden. Bezüglich der Färbedauer ergaben sich zwischen den drei Färbungen nur geringe Unterschiede: EvG 60 Min. mit 21 Färbeschritten, CAB 66 Min. mit 24 Schritten und PSR 61 Min. mit 20 Schritten. Die ungefähren Kosten eines befüllten FA (250 ml pro Küvette) betragen für EvG 65.05 CHF, CAB 94.75 CHF und PSR 107.25 CHF. Bei CAB ist für ein gutes Färbeergebnis eine Inkubation in Bouin nötig. Es konnte dafür keine Anpassung gefunden werden, was den Arbeitsprozess dieser Färbung erschwert bzw. auch verlängert. Bei der CAB-Färbung ohne Inkubation in Bouin wird alles vorwiegend blau angefärbt, was die Differenzierung von Bindegewebe und Muskulatur erschwert. Färbungen sind subjektiv und sehen in jedem Labor anders aus. Ich habe versucht mit Kriterien, wichtige Punkte fürs Mikroskopieren hervorzuheben. Für die Beurteilung des subepithelialen Kollagenbandes sind CAB und PSR besser als das EvG (Abb. 1). Bei der Beurteilung von Gefässen sind die beiden weniger geeignet, da die elastischen Fasern nicht dargestellt werden (Abb. 2). EvG und CAB wirken durch ihre unterschiedlichen Farben kontrastreich und ermöglichen so einen guten Eindruck über die Gewebestrukturen. Im EvG und im PSR ist es möglich einen Verdacht auf Amyloid zu stellen, da es sich farblich von Bindegewebe unterscheidet. Nur in der Kongorotfärbung wird dieser Verdacht bestätigt (Abb. 3).

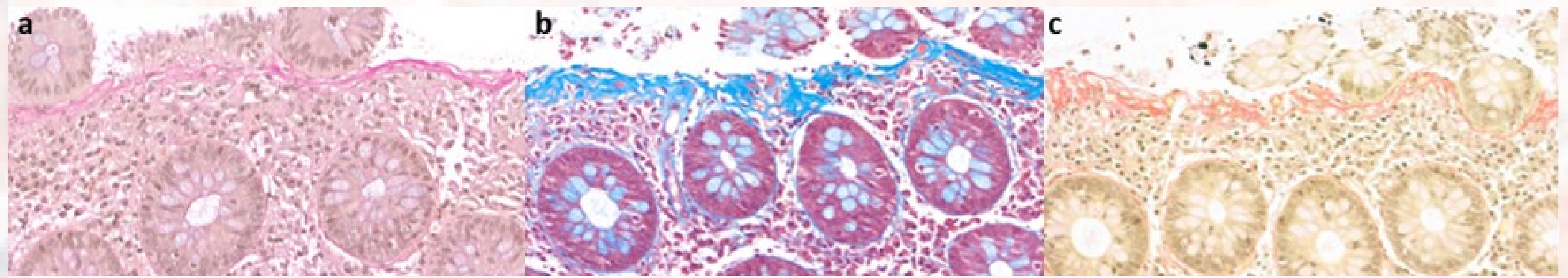


Abb. 1: Dickdarmbiopsie mit Kollagenkolitis a EvG, b CAB, c PSR

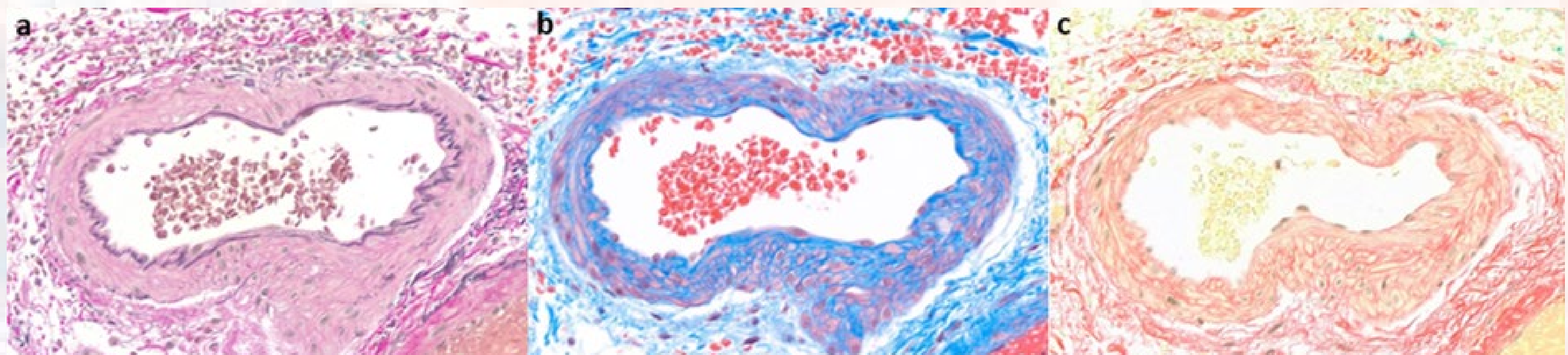


Abb. 2: Magen submuköse Gefässe a EvG, b CAB, c PSR

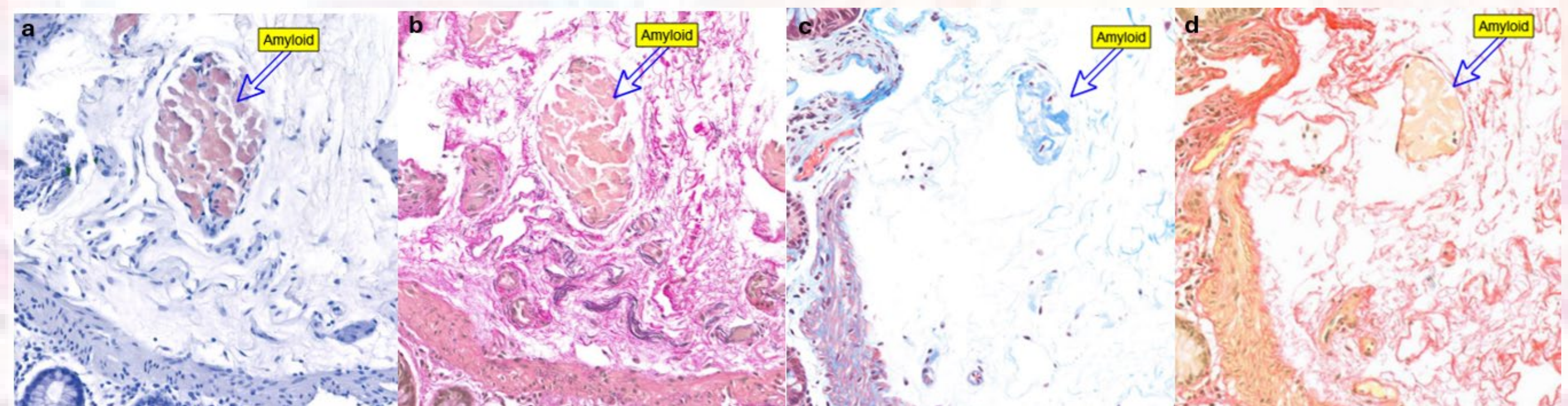


Abb. 3: Dickdarm mit Amyloidose a Kongorot, b EvG, c CAB, d PSR

6. Diskussion

Es zeigt sich, dass für die Beurteilung der GIB die EvG-Färbung die beste Option bleibt. Beide Färbungen eignen sich als Alternative zu EvG. Die CAB-Färbung bietet eine kontrastreichere Darstellung als die PSR-Färbung. Bei dieser kann im Gegensatz zu CAB das Amyloid von Bindegewebe abgegrenzt werden. In der täglichen Routine bleibt die EvG-Färbung die bessere Wahl. Der Mehraufwand mit der Bouin-Lösung bei der CAB-Färbung und die Kosten der PSR-Färbung sprechen gegen diese Färbemethoden. Zudem konnte die Färbedauer bei keiner so heruntergesetzt werden, dass ohne Qualitätseinbusse ein Zeitvorteil erzielt werden kann.

Referenzen

- [1] Pathologie Länggasse, 2025; Biosystems; Mulisch & Welsch, 2010, S. 216, 223; Lang, 2025, S.279
- [2] Pathologie Länggasse, 2025; Biosystems; medi, 2020; Lang, 2025, S.279
- [3] Pathologie Länggasse, 2025; Biosystems
- [4] Biral R, Lötscher S, persönliche Kommunikationen, 15.06.2026

Abbildungen

Abb. 1: Dickdarmbiopsie mit Kollagenkolitis a EvG, b CAB, c PSR, Biral L, 2026

Abb. 2: Magen submuköse Gefässe a EvG, b CAB, c PSR, Biral L, 2026

Abb. 3: Dickdarm mit Amyloidose a Kongorot, b EvG, c CAB, d PSR, Biral L, 2026