



UZ
LEUVEN

27/05/2025
Eindhoven



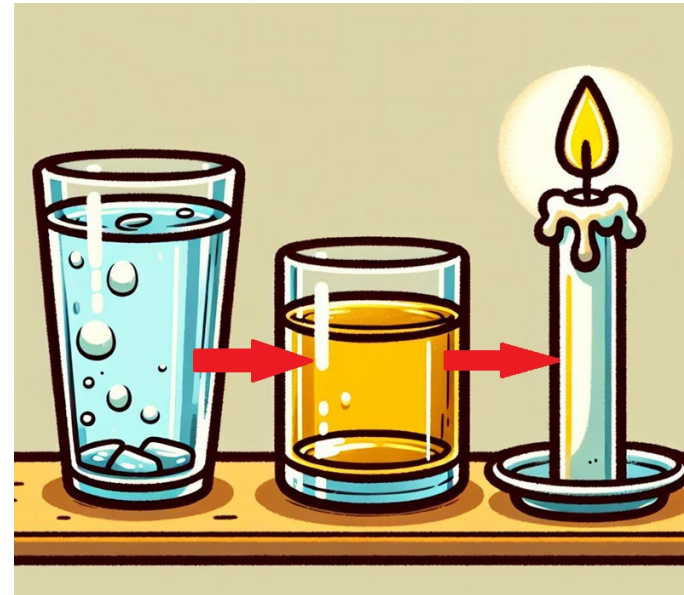
De weg naar xyleenvrij werken.

Tijdens weefselverwerking.

Geert Van der Borcht
UZ Leuven

Wat is weefselverwerking, doorvoeren, dehydrateren of tissue processing?

- Fixeren (gebufferde formaldehyde 4%)
- Dehydrateren (ethanol)
- Klaren (xyleen/isopropanol)
- Impregneren (paraffine)

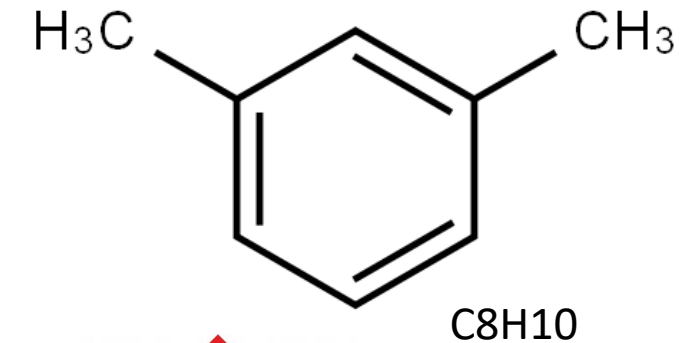


Wat doet die xyleen in ons proces?

1. Ethanol $\leftrightarrow$ Xyleen $\leftrightarrow$ Paraffine.
2. Klaring van het vetweefsel.

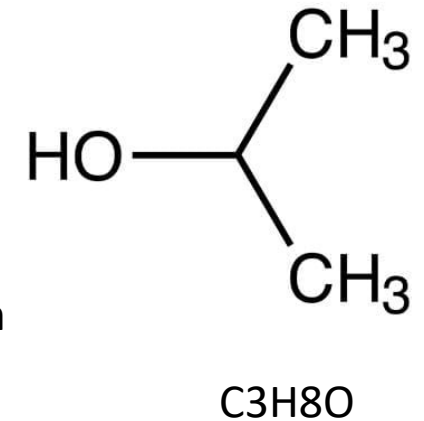
Wat zijn de nadelen van xyleen?

1. Te lange inwerking: verharding en broos worden van het weefsel
2. Irritatie van de luchtwegen, duizeligheid en hoofdpijn, irritatie van de ogen;
3. huidirritatie met ontsteking tot gevolg.
4. Bij langdurige blootstelling: op termijn schade aan het zenuwstelsel, lever en nieren
5. Milieuschade: lucht- en watervervuiling.
6. Licht ontvlambaar!
7. Sterke onaangename geur.



Waarom IPA (isopropanol, 2-propanol, isopropylalcohol)?

- Minder schadelijk bij inademen, contact met huid of ogen.
- Op lange termijn minder schadelijk voor zenuwstelsel, lever of nieren.
- Beter voor het milieu: IPA is beter biologisch afbreekbaar.
- Het heeft dezelfde werking dan xyleen (klaring; dehydraterend; oplosbaar in ethanol en paraffine)
- Vet oplossend vermogen is minder snel: krimpen en uitdroging van het weefsel is minder erg.
- IPA is goedkoper dan xyleen.



Hoe gaan we valideren?

- 1^{ste} Fase: Optimalisatie van de verschillende protocollen.
- 2^{de} Fase: Intrarun – interrunc: Nieuw doorvoertoestel
- 3^{de} Fase: Parallel doorvoeren van weefsel xyleenproces – xyleenvrijproces
- 4^{de} Fase: Immuunhistochemische kleuringen & farmaco-diagnostische testen
- 5^{de} Fase: Moleculaire kleuringen
- 6^{de} Fase: Moleculair genetische testen



1^{ste} Fase: optimalisatie van de verschillende protocollen.

- Transplantprotocol
- 1mm protocol (sponges)
- 3mm protocol (sponges)
- 4mm protocol
- 5mm protocol
- 5mm vet-protocol

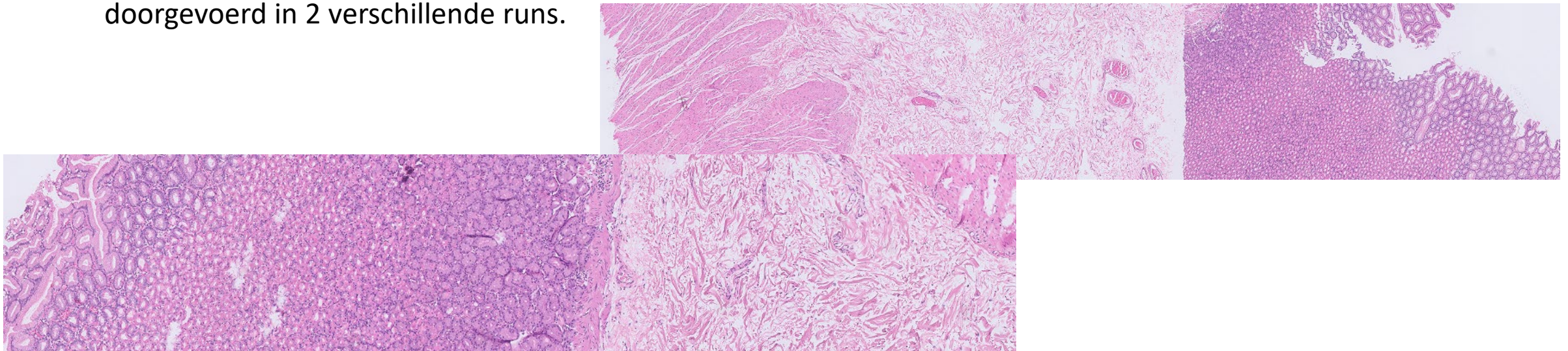
Controle van de doorgevoerde paraffineblokken met HE-kleuring.



2^{de} Fase: intrarun – interrun.

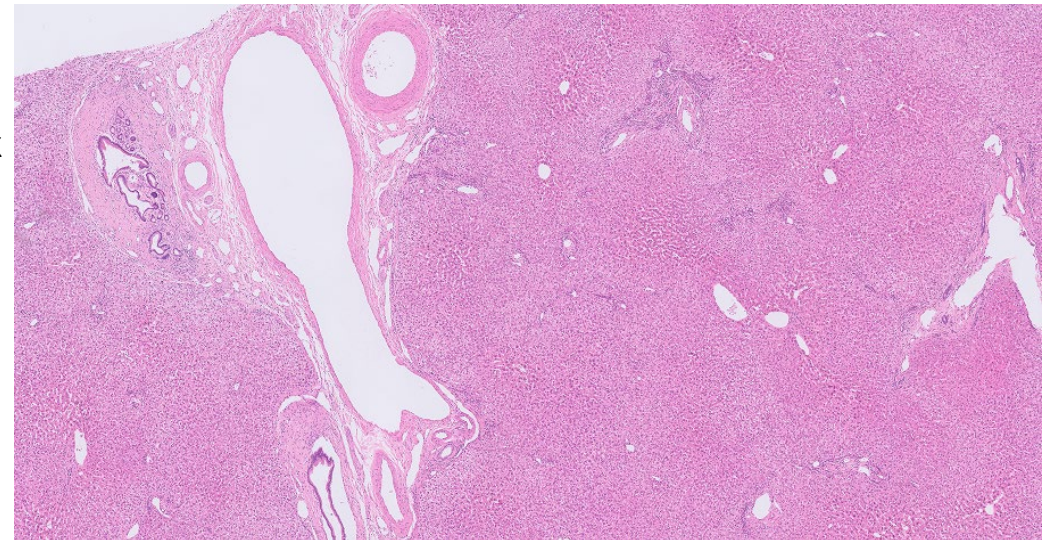
Nieuw toestel:

- Intrarun: binnen zelfde run verschillende fragmenten van zelfde staal op verschillende positie in het toestel doorvoeren
- Interrun: vergelijk van paraffineblokken, doorgevoerd in 2 verschillende runs.



3^{de} Fase: Parallel doorvoeren van weefsel xyleenproces – xyleenvrijproces

- Van de verschillende orgaanblokken worden simultaan bipten doorgevoerd in de doorvoertoestellen
- Bipten moeten elkaars spiegelbeeld zijn.
- Van de bekomen FFPE's worden HE-coupes gemaakt en vergeleken. Resultaat moet gelijkaardig of beter zijn.
- Beoordelingscriteria:
 - Kwaliteit van FFPE: evengoed aansnijbaar
 - Kwaliteit van de HE-coupe: duidelijk celkerndetail, goede cytoplasmatische aankleuring, scherpe aflijning van de cellen.



3^{de} Fase: resultaat

- +/-100 stalen doorgevoerd
- Aard v/h weefsel: gastro-entero; gynaeco; borst; long; dermato; NKO; Uro; weke delen; hemato
- 97% van de stalen gaf een optimaal en volledig vergelijkbaar resultaat tussen de 2 doorvoermethoden.

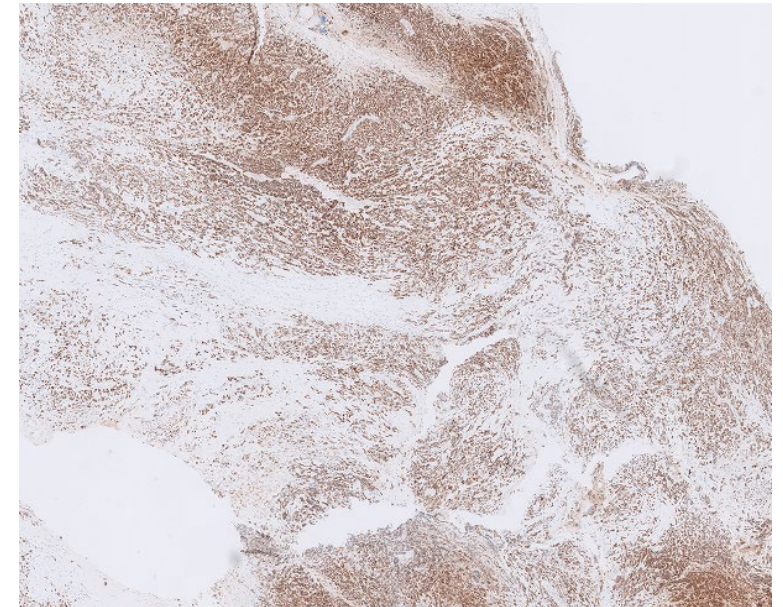


4^{de} Fase: immuunhistochemische kleuringen

- Op basis van orgaanblok werden FFPE's geselecteerd voor IHC-kleuringen
- 4 verschillende IHC-kleuringen:

Ab	Aankleuren
Leucocyte common antigen (CD45)	hemato/lymfoid weefsel
Prekeratine (cytokeratine)	epitheliaal weefsel
S100	zenuwweefsel; melanomen
Vimentine	mesenchymaal weefsel

- Criteria:
 - Specifieke aankleuring
 - Aspecifieke of specifieke achtergrondkleuring
 - Aanwezigheid interne controle
 - Goede tegenkleuring



4^{de} Fase: immuunhistochemische kleuringen

- Resultaat:

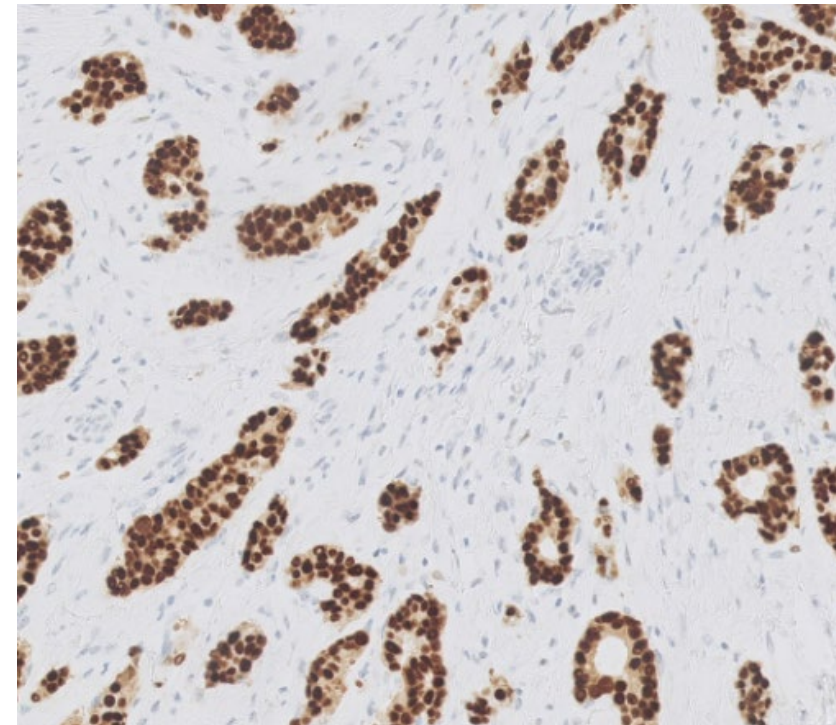
Resultaten				
Immuunhistochemische kleuring	CD45	Vimentine	Prekeratine	S100
Specifieke aankleuring	OK	OK	OK	OK
Aspecifieke of specifieke achtergrondkleuring	OK	OK	OK	OK
Interne controle aanwezig	OK	OK	OK	OK
Tegenkleuring	OK	OK	OK	OK



4^{de} Fase: farmaco-diagnostische IHC-testen

- Tumorweefsel van de borst
- ER; PR & Her2
- Resultaat:

Ab	Aankleuren
HER2	membranair, score 0-3+
ER	membranair, score 0-8 (proportie + intensiteit)
PR	membranair, score 0-8 (proportie + intensiteit)



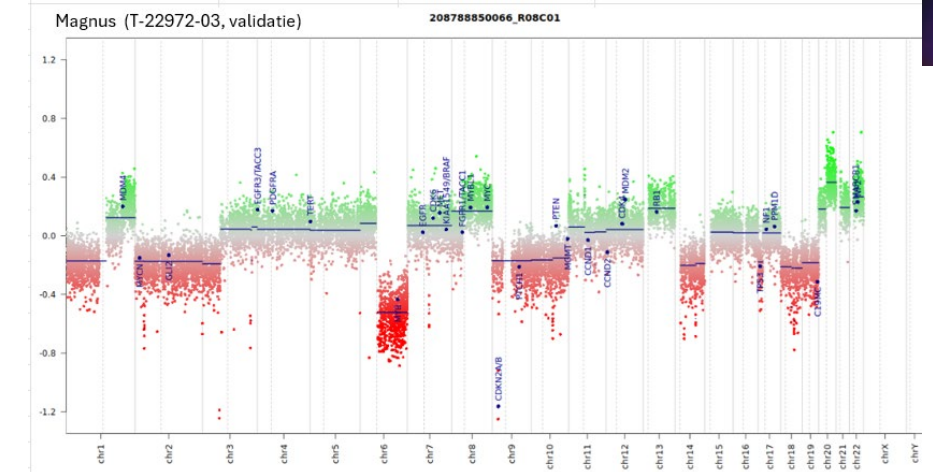
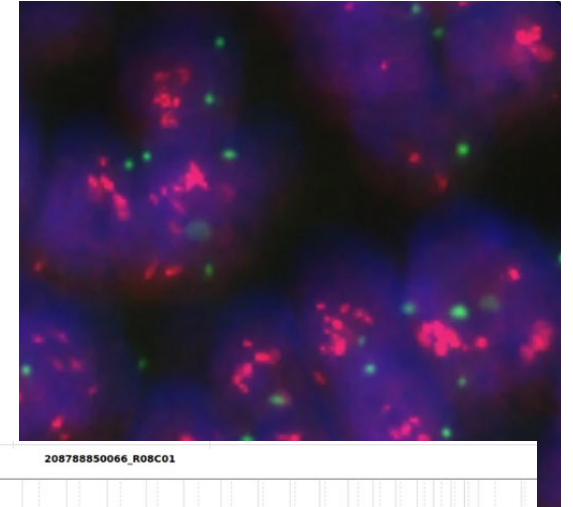
5^{de} Fase: moleculaire testen: FISH

Pathologische ontleedkunde:

- HER2 FISH (Omnis): duidelijke signalen in overeenstemming met de verwachtingen
- MAML2 FISH (Benchmark): duidelijke signalen in overeenstemming met de verwachtingen

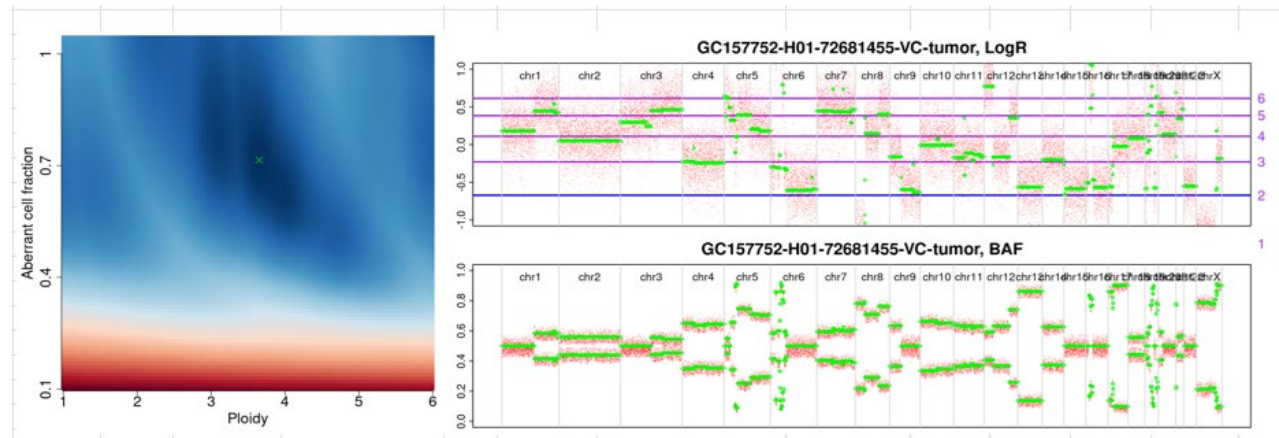
CME (Centrum voor Menselijke Erfelijkheid)

- MDM2: in overeenstemming met de verwachtingen
- MGMT: in overeenstemming met de verwachtingen
- CNA Profiel: in overeenstemming met de verwachtingen
- Twist Target Enrichment HRR-genen / HRD-SNP panel: in overeenstemming met de verwachtingen
- Haloplex HS kankerpanel: in overeenstemming met de verwachtingen



Nog uit te voeren bij CME Hemato:

Reeks PCR-testen op tonsillen: bepalen van de grootte van DNA- & RNA-fragmenten



Bij positief resultaat van deze laatste testen, kan het validatiedossier afgesloten worden en overgegaan worden tot xyleenvrij doorvoeren.

De weg naar xyleenvrij werken

