

VERSION 3

MAR 14, 2024

OPEN BACCESS



Protocol Citation: Annika
Fendler, Bettina Ergün 2024.
Gewebesammlung Frischgewebe
Prostatektomie. protocols.io
https://protocols.io/view/gewebes
ammlung-frischgewebeprostatektomie-danz2df6Version
created by Bettina Ergün

License: This is an open access protocol distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited

Protocol status: Working We use this protocol and it's working

Created: Mar 14, 2024

Last Modified: Mar 14, 2024

Gewebesammlung Frischgewebe Prostatektomie V.3

Annika Fendler¹, Bettina Ergün¹

¹Charité

Urology_Research



Bettina Ergün Charité

ABSTRACT

Dieses Protokoll beschreibt die Schritte für die Sammlung von Frischgewebe, Gefriergewebe (Fresh-frozen), und Blut von Patienten mit Prostatakarzinom bei Prostatektomie.

Verwandte Dokumente:

Protokoll zur Blutaufarbeitung

PROTOCOL integer ID: 96697

Keywords: Gewebesammlung, Gewebeaufarbeitung, Prostata

GUIDELINES

Beschreibung der biologischen Proben:

Probentyp	Kurzbeschreibung Prozess	Zweck	Bemerkung
Gefriergewebe (Fresh-frozen)	Sammlung in 2 ml Kryoröhrchen, schockfrosten in LN, Lagerung bei -70°C	Lagerung für verschiedene Anwendungen	Findet im Rahmen der Biobank Sammlung statt. Zuständig: Michela de Martino
Frischgewebe	Sammlung in Transportmedium in 15 ml Falcon.	Aufarbeitung zu Tumorfragmenten und/oder Einzelzellen	Zuständig: Annika Fendler, Bettina Ergün
2 x EDTA	NA	Aufarbeitung und Lagerung von Vollblut und Plasma	Findet im Rahmen der Biobank Sammlung statt. Zuständig: Michela de Martino
1 x koaguliertes Blut in CAT tubes	NA	Aufarbeitung und Lagerung von Serum	Findet im Rahmen der Biobank Sammlung statt. Zuständig: Michela de Martino

Tabelle 1: zu sammelnde biologische Proben

Einschlusskriterien für Patienten:

Auf Grund des Fokus unserer Projekte auf fortgeschrittene Karzinome, sowie der Problematiken bei der Gewebesammlung bei kleinen Tumoren, fokussieren wir momentan auf Patienten, die mind. ein intermediäres Risiko haben. Die Kriterien sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

Zur erleichterten Einordnung der Risikogruppe steht unter https://www.mdcalc.com/calc/2049/damico-risk-classification-prostate-cancer ein Risk Calculator zur Verfügung.

Zudem sollte vermerkt werden, wie viele Biopsien analysiert wurden und in welchem Bereich der Prostata.

Weiterhin sollte der PIRAD score, sowie die Ausdehnung und Position des Tumors aus dem MRT vermerkt werden (falls vorhanden).

Risikogruppe	Kriterien
Intermediate-risk	PSA 10-20 ng/ml
Günstig (nur 3+4, nur weniger als die Hälfte der Biopsien und nur 1 Kriterium von rechts)	OR ISUP 2-3 (= Gleason 3+4 or 4+3)
Ungünstig (die Hälfte oder mehr als die Hälfte der	OR

	Risikogruppe	Kriterien
	Biopsien bei 3+4, immer 4+3, mehr als 1 Kriterium von rechts)	cT2b (Befall von mehr als 50 % eines Seitenlappens – Tastbefund!)
	=> Material wird eher von den "ungünstigen " Intermediate risk gesammelt	
		PSA >20 ng/ml
		OR
	High-risk	ISUP 4-5 (=Gleason Score 4+4, 4+5, 5+4, 5+5)
		OR
		cT2c (in beiden Seitenlappen vorkommender Tumor) oder suspekter Tastbefund (DRU)
	Locally advanced	Any PSA Any ISUP cT3-4 (extraprostatisches Wachstum oder Infiltration von Nachbarorganen; meist im MRT beschrieben) OR cN+ (Lymphknotenmetastasen pelvin)

Tabelle 2: Einschlusskriterien

Allgemein:

Die Entscheidung von welcher Seite oder ob von beiden Seiten Gewebe entnommen wird, wird auf Grund der vorhandenen Informationen im SAP (welche Stanzen waren positiv bzw. MRT Befund) getroffen, sowie in Rücksprache mit dem Operateur. Tumorsuspekte Areale werden per Tastbefund durch den Operateur oder das Laborpersonal identifizieren. Im Falle von Neurosafe: Gewebe im Bereich der Schnittfläche aus der verbleibenden Prostata entnehmen.

Kein Neurosafe: Prostata ggf. anschneiden, wie für Neurosafe und Gewebe von innen entnehmen. Mit dem Operateur Farbmarkierung anbringen.

Gestanzt wird im vertikalen Winkel zum Gewebe so tief, wie die Stanze erlaubt (kompletter metallener Bereich). Stanzzylinder dann vorsichtig mit Pinzette rausziehen und unteres Ende mit Messer abtrennen.

Falls beide Seiten gestanzt werden, eine neue Stanze für die zweite Seite verwenden.

Verantwortliche:

Sammlung für folgende Arbeitsgruppen:
AG Fendler (Organoide)

Urologische Forschung

Zuständige Labor:

Annika Fendler, Tel.: 515040 Michela de Martino, Tel.: 515040 Bettina Ergün, Tel. 515128/615009

Zuständige Klinik für Urologie:

Antonia Franz Kira Kornienko, Tel. 615166

Zuständige Pathologie:

Simon Schallenberg, Tel.: 536054

Zuständige Klinik für Radiologie: Markus Lerchbaumer, Tel.: 657084

Kontakt Patientenmanagment

Silvia Stark, Tel.: 615028

, 161.. 013020

Nadine Stremlau, Tel.: 615029



MATERIALS

Transportmedium

A	В	С	D	E
Menge		Bestandteil	Cat-No.	Bemerkung
500 ml	98 %	MEM	31095-029	
10,2 ml	2%	Zellshield (100x)	13-0050	vor dem 15.5.2023 wurde nur 1 % Zellshield verwendet

Gefriermedium

	Menge	Bestandteil	Cat-No.
	10 ml	DMSO	
ſ	90 ml	FBS	FBS. S 0615

15 ml Falcons
2 ml Kryoröhrchen
Stanzen 6 mm
Aufkleber AG Uro Patho; Gewebeschein + Stifte
Skalpell und Einweg-Pinzette für den Notfall
Sterile Glas-Petrischale und Pinzette

5

BEFORE START INSTRUCTIONS

Vor der OP:

Patienten werden von Michela de Martino im Rahmen der Biobank Planung identifiziert und gegebenenfalls gemeinsam besprochen.

Prostatagewebe wird direkt im OP gesammelt und muss daher nicht auf der Schnellschnittliste vermerkt werden.

Die Patientenliste mit Datum der vorstationären Aufnahme wird jeweils am Donnerstag an das Patientenmanagement geschickt.

Wenn ein Patient die EVEs unterschrieben hat und Blut abgenommen wurde, wird in SAP im Bemerkungsfeld für das OP-Personal vermerkt, dass sie uns 20 min vor Entnahme der Prostata anrufen sollen.

Änderungen im OP-Plan sollten im besten Fall täglich überprüft und mit dem Team abgesprochen werden.

Am Tag der OP:

Vorbereitung:

Flüssiger Stickstoff, sowie die Box mit Stanzen, Skalpellen, Pinzetten, Kryoröhrchen, Labels und den Gewebescheinen bereit haben

In der Gewebeliste die letzte Gewebenummer identifizieren und nächste fortlaufende Nummer verwenden (vorgelabelte Röhrchen vorhanden)

Nach Anruf des OP-Teams sollten im besten Fall 2 Personen in den OP gehen.

15 ml Falcon mit Transportmedium aus dem Kühlschrank im OP-Trackt (Raum 14; 4. Ebene) holen.

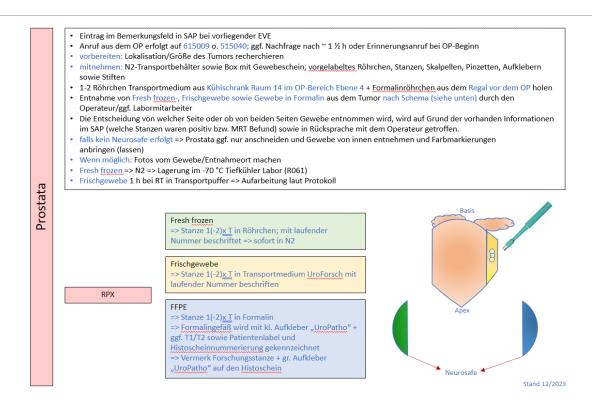
Röhrchen mit Formalin aus dem Regal vor Saal 5 entnehmen.

Gewebesammlung im OP

1 Nach Rückmeldung des OPs geht eine Person zur Gewebeentnahme. Kiste Prostata und Stickstoffbehälter mitnehmen.

Arbeitsanleitung (siehe Abbildung) beachten.

1.1



Arbeitsanleitung

- 2 1x 15 ml Falcons mit 10,2 ml Transportmedium aus dem Kühlschrank Raum 14 OP-Ebene 4 nehmen.
 - 1x kleines Formalingefäß vom Regal vor dem OP nehmen.
- 3 Entnahme durch den Operateur bzw. qualifiziertes Laborpersonal:

3.1 Frischgewebe:

Die erste 6 mm Stanze sollte für Frischgewebe verwendet werden und wird direkt in Transportmedium überführt.

Röhrchen mit Gewebenummer und falls nötig T1 und T2 beschriften.

3.2 Fresh-frozen tissue:

Die zweite Stanze sollte direkt neben der Frischgewebestanze erfolgen und für fresh-frozen erfolgen.

Gewebe direkt in Kryoröhrchen (mit Gewebenummer und T1/T2 beschriftet) überführen und im flüssigen Stickstoff schockfrosten.

3.3	Forschungsstanze:

Dritte Stanze für Forschungsstanze verwenden.

Stanze sollte zwischen den Stanzen für Frischgewebe und fresh-frozen entnommen werden.

Gewebe direkt in das Formalingefäß überführen. Sticker "AG-Uropatho" aufkleben.

Mit T1/T2 beschriften und mit Namenssticker versehen.

Probe auf dem Histoschein vermerken (Sticker "AG-Uropatho" und hnadschriftlich "Forschungsstanze").

Die Nummer auf dem Histoschein auch auf das Röhrchen schreiben.

- 4 wenn möglich Fotos der Entnahmestelle machen.
- **5** Eintragen der Stücke in den Gewebeschein.
- **6**Transport des Gewebes ins Labor.
- 7 Fresh frozen Lagerung in -70 °C TK im Labor

Aufarbeitung im Labor

8 weiter mit Protokoll:

