Variabilität der Signalmuster bei der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung mit der CytoCell® BCR/ABL (ABL1) Dual Fusion Translokationssonde

Sarina Strahm, BMA 22-25

Bildungsgang Biomedizinische Analytik HF

Kantonsspital Aarau (KSA), Medizinische Genetik, Zytogenetik

1. Zusammenfassung

Die Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) ist eine zentrale Methode in der Zytogenetik zum Nachweis chromosomaler Aberrationen[1]. Diese Arbeit untersuchte die Variabilität der Signalmuster mit der CytoCell® BCR/ABL (ABL1) Translokationssonde anhand von Vergleichsdaten aus 2023/2024 und 2025.
Die Ergebnisse zeigen eine konstante Signalverteilung über die letzten zweieinhalb Jahre und bestätigen die Stabilität der Methode. Das reguläre Muster (2 grün, 2 rot) tritt am häufigsten auf. Das atypische Muster (1 fusioniert, 1 grün, 1 rot) tritt mit ca. 11 % auch regelmässig auf, ist aber meist durch Signalüberlagerungen bedingt. Alle weiteren Muster bleiben selten und liegen deutlich unterhalb des Cut-off-Werts. Damit erweist sich der bestehende Cut-off weiterhin als angemessen. Die Übersicht über die Variabilität ist aber hilfreich für die Interpretation der Ergebnisse.

2. Einleitung

Bei der Anwendung von Dual Color Dual Fusion Sonden, wie sie zum Nachweis von t(9;22) Translokation verwendet werden, zeigt sich eine gewisse Variabilität in den beobachteten Signalmustern[2]. Aufgrund dieser Variabilität wurde in der Zytogenetik des Kantonspitals Aarau ein Cut-off-Wert von 10–20 % festgelegt.
Das normale Signalmuster besteht aus zwei grünen und zwei roten Signalen (2g2r) auf den normalen Chromosomen 9 und 22 (Abb. 1, erste Reihe). Wenn eine t (9;22) Translokation vorhanden ist, besteht das typische BCR/ABL1 Fusionsmuster aus zwei fusionierten Signalen, einem grünen und einem roten Signal (Abb.1, zweite Reihe)[2].

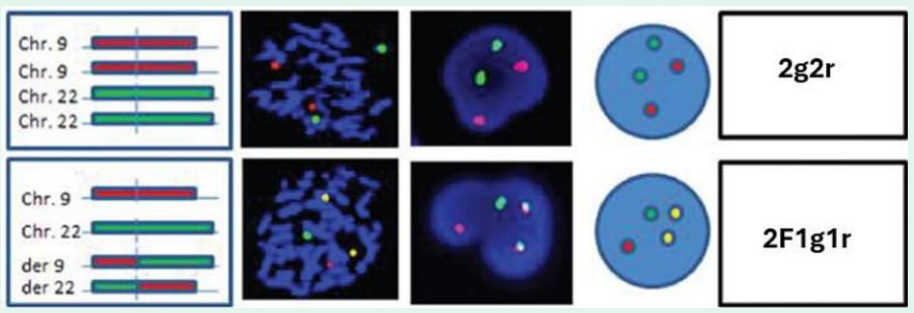


Abb.1: verschiedene BCR::ABL1 FISH- Signalmuster (Jain et al., 2018, S. 349) - adaptiert

Die t(9;22)-Translokation, auch Philadelphia-Chromosom genannt, tritt am häufigsten bei der chronischen myeloischen Leukämie (CML) auf. Sie kann aber auch bei einem Teil der akuten lymphatischen Leukämien und bei akuten myeloischen Leukämien vorkommen [3].

3. Ziele und Fragestellungen

Ziel: Beurteilung der Variabilität der CytoCell® Dual Fusion BCR/ABL (ABL1) Sonde von OGT bei *BCR::ABL1*-negativen Patient:innen.
Fragestellungen:

- Welche Signalverteilung der Sonde zeigt sich bei BCR::ABL1 negativen Patient: innen?
- Kann der bisherige Cut-Off Wert beibehalten werden?
- Wie stark weicht die Auswertung bei zwei Personen (BMA i. A. und BMA) ab?

4. Material, Methodik, Vorgehen

Für die Durchführung dieser Diplomarbeit wurden zwei Vergleiche mit verschiedenen Probenkollektiven durchgeführt, um die Signalmuster bei der FISH-Analyse bei BCR::ABL1 negativen Fällen zu vergleichen.

Probenkollektiv 2023/2024
Für den Vergleich 2023/2024 wurden alle BCR::ABL1-negativen Befunde der letzten zwei Jahre ausgewertet. Insgesamt umfasst dieses retrospektiv zusammengestellte Kollektiv 14 Fälle.

Probenkollektiv 2025
Zur Erhebung der Daten des Vergleichs 2025 wurde bei zehn Fälle aus der Routinediagnostik eine FISH-Analyse durchgeführt. Bei allen lag kein Nachweis des BCR::ABL1-Fusionsgens vor. Um dies sicherzustellen, wurden gezielt Patient:innen mit den Diagnosen MDS, MPN oder AML ausgewählt.

5. Ergebnisse

Das Balkendiagramm (Abb. 2) zeigt die Variabilität der Signalmuster im direkten Vergleich. Im Ganzen sind 18 verschiedene Signalmuster aufgetreten. Das häufigste Muster in beiden Jahren ist 2g2r (normaler Befund). Das zweithäufigste Muster ist 1F1g1r. Weitere Muster wie 2g1r und 1g2r kommen ebenfalls in beiden Vergleichen vor, allerdings mit einer geringeren Häufigkeit. Die restlichen Muster treten mit einer von weniger als 1% auf.

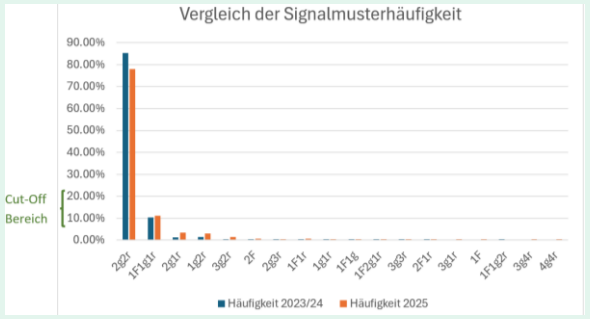


Abb.2: Vergleich der Signalmusterhäufigkeit (Strahm, 2025a)

Die Kreisdiagramme zeigen die Häufigkeit der beobachteten Signalmuster. Als Beispiel sind die Diagramme von Patient 10 eingefügt. Links ist die Auswertung der BMA in Ausbildung dargestellt, rechts diejenige der diplomierten BMA mit jeweils 100 gezählten Interphasekernen. Signalmuster, die in mehr als fünf Kernen vorkommen, sind separat aufgeführt. Seltenere Muster wurden gemeinsam als „sonstige Muster“ zusammengefasst.

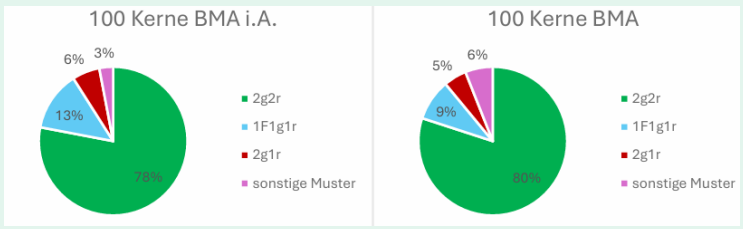


Abb.3: Ergebnis Vergleich 2025: Kreisdiagramme zu Patient 10 (Strahm, 2025b)

6. Diskussion

Die Auswertung der FISH-Analysen bei BCR::ABL1-negativen Patient: innen zeigt eine stabile Verteilung über die letzten zweieinhalb Jahre hinweg. Das normale Muster 2g2r war in allen Zellen am häufigsten. Das atypische Muster 1F1g1r trat in etwa 11 % der Kerne auf, meist durch Signalüberlagerungen. Andere Muster kamen selten (<2 %) vor und meist technisch bedingt, z. B. durch Waschbedingungen.
Der Vergleich zwischen der BMA i. A. und den diplomierten BMA ergab nur geringe Unterschiede in der Signalmusterinterpretation, insbesondere nach einer gewissen Einarbeitungszeit.
Die Konstanz der Methode, sowie die Variabilität und Häufigkeit der Signalmuster bestätigen, dass der bestehende Cut-off-Wert weiterhin angemessen ist. Dennoch ist ein Überblick über die Variabilität der Signalmuster hilfreich für die Interpretation der Ergebnisse.

Referenzen
[1] Arsham et al., (2017). The AGT cytogenetics laboratory manual (4. Auflage). Wiley Blackwell.
[2] Jain et al., (2018). https://doi.org/10.4103/0377-4929.101742
[3] Schulz, W. (2024). Molekularbiologie menschlicher Krebserkrankungen (2. Auflage).
Abbildungen
Abb. 1 Jain et al., 2018, S. 349 - adaptiert https://doi.org/10.4103/0377-4929.101742
Abb. 2 Strahm, S. (2025a). Vergleich der Signalmusterhäufigkeit. medi
Abb. 3 Strahm, S. (2025b). Ergebnis Vergleich 2025: Kreisdiagramme zu Patient 10. medi