

Zielsetzung:

Mit dem hier vorliegenden Handbuch sollen

- **allen Einsendern** Hinweise für den Versand von Primärproben, und
- **einsendenden histologischen Laboren** Hinweise zur Vorbereitung von Proben für die molekularpathologische Diagnostik in der Abteilung Pathologie und Molekularpathologie am Bundeswehrkrankenhaus Ulm gegeben werden.

1. Ziel und Zweck

- Dieses Handbuch soll dem Einsender von Gewebeproben zur Durchführung einer histologischen, immunhistologischen und molekularpathologischen Diagnostik als Leitfaden für die Behandlung der zu versendenden Proben dienen.
- Dieses Handbuch soll einsendenden histologischen Laboren, die Proben selbst vorbereiten (z.B. Gewebe in Formalin fixieren oder entkalken) als Entscheidungshilfe dienen, wie die Vorbereitung der Proben durchgeführt werden kann. Es erhebt ferner keinen Anspruch auf Vollständigkeit und muss dem jeweiligen Kenntnisstand der Wissenschaft angepasst werden.

2. Geltungsbereich

Alle Einsender der Abteilung XIII Pathologie des BwKrhs Ulm

3. Probenannahme

Es werden zu folgenden Zeiten Proben angenommen:

Montag-Donnerstag	Uhrzeit
Eiliges Gewebe	07:00 Uhr bis 16:30 Uhr (Bearbeitung bis 15:00 Uhr)
Gewebe	07:00 Uhr bis 16:30 Uhr (Bearbeitung bis 15:00 Uhr)
Liquor	07:00 Uhr bis 16:00 Uhr
Gynäkologische Zytologie	07:00 Uhr bis 16:30 Uhr
Punktions-Aspirationsflüssigkeiten	07:00 Uhr bis 15:30 Uhr
Schnellschnitt	07:00 Uhr bis 15:30 Uhr oder nach Absprache

Freitag	Uhrzeit
Eiliges Gewebe	07:00 Uhr bis 14:00 Uhr (Bearbeitung bis 13:00 Uhr)
Gewebe	07:00 Uhr bis 14:00 Uhr (Bearbeitung bis 13:00 Uhr)
Liquor	07:00 Uhr bis 13:00 Uhr
Gynäkologische Zytologie	07:00 Uhr bis 14:00 Uhr
Punktions-Aspirationsflüssigkeiten	07:00 Uhr bis 13:00 Uhr
Schnellschnitt	07:00 Uhr bis 13:00 Uhr oder nach Absprache

4. Notwendige Informationen auf dem Einsendeschein durch hausinterne Einsender

Bei Proben aus dem BwKrhs Ulm ist eine Anforderung über das KIS zu erstellen.

Bei fehlenden oder widersprüchlichen Angaben erfolgt nach Möglichkeit eine sofortige Rückfrage beim Einsender.

5. Notwendige Informationen auf dem Einsendeschein durch externe Einsender

Bei Proben von externen Einsendern ist der entsprechende aktuelle Einsendeschein von der Homepage herunterzuladen und auszufüllen.

Bei fehlenden oder widersprüchlichen Angaben erfolgt nach Möglichkeit eine sofortige Rückfrage beim Einsender.

6. Verfahrensbeschreibung für Einsender von Primärproben

6.1. Gynäkologische Zytologie

Die für die Untersuchung benötigten Utensilien, wie Objektträger, OT-Mäppchen, Zervikalbürste und Fixiergefäß, sowie der benötigte Anforderungsschein liegen in unserer Abteilung zur Abholung bereit.

➤ Konventionelle Exfoliativzytologie:

Küvettenfixierung: Eintauchen und Verbleib der Objektträger von mindestens 30 Minuten in absolutem Alkohol. Da es durch Verdunstung leicht zu einer Verwässerung der Lösungen und damit zu Fixierfehlern kommt, müssen die Lösungen regelmäßig/arbeitstäglich erneuert werden. Zur Vermeidung von Materialverschleppung dürfen sich die kontaminierten Seiten der Objektträger bei der Bestückung der Küvetten nicht berühren. Nach einer Fixierzeit von mindestens 30 Minuten werden die OT aus der Küvette entnommen, getrocknet und in speziell dafür vorgesehene OT-Mäppchen verpackt.

Sprayfixierung: Noch feuchte Objektträger werden in einem Abstand von mindestens 30 cm (Abstand wichtig, sonst besteht die Gefahr vom sog. Wegdrücken der Zellen) mit dem Sprayfixativ besprüht, bis sie komplett bedeckt sind. Danach an der Luft trocknen.

➤ Dünnschicht (Monolayer)-Zytologie

Nach der Probeentnahme, durch eine spezielle Zervikalbürste, wird der Bürstenkopf in das Einsendengefäß eingetaucht. Der Bürstenkopf verbleibt durch Drehen des Stiels in diesem Gefäß. Anschließend das Einsendengefäß fest verschließen.

6.2. Punktions-Aspirationsflüssigkeiten

Punktions-/Aspirationsflüssigkeiten (Pleuraerguss, Aszites, Urin, BAL etc.) möglichst nativ einsenden und bis zum Transport kühl lagern. (Kühlschrank)

6.3. Liquor

Liquor nativ und gekühlt einsenden

6.4. Schnellschnittuntersuchungen:

Überbringung des zur intraoperativen Schnellschnittuntersuchung entnommenen Gewebes unfixiert. Den Anforderungsschein bitte immer mit der korrekten Rückrufnummer versehen.

Wichtig: Telefonische Anmeldung von Schnellschnittuntersuchungen!

6.5. Histologische Untersuchungen

Biopsien und Operationspräparate sollen grundsätzlich unmittelbar nach Entnahme in Einsendengefäße mit 4% gepuffertem Formalin fixiert und eingesandt werden. Je nach Größe der Gewebeprobe ausreichend große Einsendengefäße mit genügend Formalin verwenden (Volumenverhältnis von Gewebe zu Formalin etwa 1:10). Die Gewebeproben müssen innerhalb der Einsendengefäße von Formalin umgeben und deutlich bedeckt sein.

6.6. Einsendung von Blockmaterial für immunhistologische und/oder molekularpathologische Untersuchungen

Bitte senden Sie für die Durchführung von Sonderfärbungen und immunhistologischen oder molekularpathologischen Untersuchungen nach Möglichkeit das bereits fertige FFPE-Material als Blöcke ein. In der Abteilung Pathologie und Molekularpathologie im BWK ULM werden die notwendigen weiterführenden Schritte durchgeführt.

Bedingt durch die Empfindlichkeit der diagnostischen Verfahren ist eine optimale Qualität des eingesandten Materials (Blöcke) erforderlich. Folgende Punkte sind hierbei zu beachten:

- **Fixierung des Gewebematerials**
Die Gewebeproben werden in geeignete Behälter für ca. 12 Stunden (abhängig von Art und Größe der Probe) in eine neutral gepufferte 4%ige Formalin-Lösung bei Raumtemperatur gelegt. Es wird empfohlen für die Fixierung ca. das 10fache Volumen des zu fixierenden Gewebes zu verwenden. Geeignete neutral gepufferte 4%ige Formalin-Lösungen sind kommerziell erhältlich.
- **Entkalkung von Knochenproben**
Knochenproben werden ebenfalls vom Einsender in Formalin, wie oben beschrieben, eingesandt. Knochenproben werden in der Pathologie, bevor sie dem weiteren Bearbeitungsprozess unterzogen werden können, in EDTA entkalkt. Für KM-Stanzen steht ein Entkalkungs-Schnellprogramm zur Verfügung.
- **Harnsäurekristallnachweis**
Harnsäurekristalle sind wasserlöslich. Demnach muss das zu untersuchende Gewebe vom Einsender nativ oder in 100%-igem Alkohol eingesandt werden.
- **Hoden-PE**
Diese Gewebeproben werden in Bouin-Lösung eingesandt.

6.7. Vollblut

Für die Bestimmung der Resistenz-vermittelnden Mutation Thr790Met in der Kinase-Domäne des *EGFR* Gens aus Blut möchten wir Sie bitten zur Blutabnahme ausschließlich die Blutentnahmeröhrchen „Cell-Free DNA BCR CE“ von Streck zu verwenden. Dieses stabilisiert und konserviert zellfreie Plasma DNA sowie Zellgenom-DNA in kernhaltigen Blutkörperchen sowie zirkulierenden Epithelzellen und verhindert so eine Lyse und Freisetzung der genomischen DNA dieser Zellen. Bei der Entnahme sollten die CLSI GP41-A6 Empfehlungen hinsichtlich der Abnahmereihenfolge eingehalten werden (u.a. Entnahme des Cell-free DNA BCT CE-Röhrchens NACH dem EDTA-Röhrchen und VOR dem Röhrchen mit dem Fluorid-Oxalat (Glykolysehemmer)). Die Röhrchen sollten vollständig befüllt werden.

Um eine gute Durchmischung des Blutes mit dem Stabilisator-Reagenz zu erreichen, muss das Röhrchen sofort nach Abnahme vorsichtig 8 – 10-mal auf den Kopf gedreht werden (eine Umdrehung ist eine vollständige Drehung des Handgelenks um 180° und zurück).

Hinweis: Inadäquates oder verzögertes Mischen kann zu falschen Analyseergebnissen führen.

Das befüllte Röhrchen sollte nach Abnahme spätestens innerhalb von 3 Arbeitstagen bei uns eingegangen sein. Eine Lagerung der Probe(n) bei Raumtemperatur ist ausreichend.

Gerne stellen wir die „Cell-Free DNA BCR CE“-Röhrchen von Streck für Sie zur Verfügung. Auf Anfrage können diese bei uns in der Pathologie abgeholt werden.

6.8. Probenentnahme für den Nachweis von parodontopathogener Markerkeime

Bitte nutzen Sie für Abstriche, die für den Nachweis von parodontopathogenen Markerkeimen bestimmt sind, ausschließlich die Probenentnahme-Sets „micro-Ident/micro-IDENT plus“ von Hain Lifescience GmbH. Bitte übersenden Sie die Abnahmespitzen NICHT in Formalin.

Die Probenentnahme-Sets können von uns bezogen werden.

7. Geeignete Einsendengefäße:

- Ausreichende Größe
- Bruchsichere Gefäße und bruchsichere Verpackung
- Gute Dichtung
- Weite Öffnung
- Medizinproduktegesetz konform => CE-Kennzeichnung

Bei allen Einsendungen bitten wir höflich, immer darauf zu achten, dass keine Verwechslungen von Patienten, Patientennamen, Material, Materialangaben und Materialzuordnungen stattfinden. Dies geschieht am besten durch eine ärztliche Endkontrolle mit Vergleich von Untersuchungsmaterialien und Einsendeschein. Zu diesem Zeitpunkt sollten auch die klinischen Fragestellungen und Diagnosen auf dem Einsendeschein ergänzt und ggf. unter dem Eindruck des diagnostischen Eingriffes und der dabei erhobenen Befunde modifiziert werden. Es versteht sich, dass die klinischen Angaben (Befunde, Anamnese, Therapien, Fragestellung) so konzise wie möglich, aber so ausführlich wie nötig sein müssen, um die von uns mit unseren Einsendern gemeinsam angestrebte optimale Diagnostik zu ermöglichen.

8. Mitgeltende Unterlagen:

- VA Präanalytik Molekularpathologie – Methodik - Grenzen