

Inhalt:	Seite
1 Allgemeine Hinweise und Erreichbarkeit	2
1.1 Adresse	2
1.2 Öffnungszeiten und Probenannahme des Referenz- und Diagnostiklabor	2
1.3 Organisationsstruktur	2
2 Transportgefäße	3
3 Spezielle Hinweise zur Materialgewinnung:	4
3.1 Knochenmark	4
3.2 Peripheres Blut	4
3.3 Knochenmark oder periphere Blutausstriche	5
3.4 Serum (alternativ: Plasma)	5
3.5 Hautbiopsie	5
3.6 Haare	5
3.7 Speichel- und Wangenabstrichproben	5
3.8 Milz	6
4 Untersuchungsanforderungen	6
5 Beschwerden	7

	Formblatt	Version:	05
	Merkblatt zur Präanalytik	Seite:	2 von 7

1 Allgemeine Hinweise und Erreichbarkeit

1.1 Adresse

Referenz- und Diagnostiklabor
der Klinik für Pädiatrische Hämatologie und Onkologie
ADU2
UNIVERSITÄTSKLINIKUM FREIBURG
Kinder- und Jugendklinik
Pädiatrische Hämatologie und Onkologie

Breisacherstr. 62, 79106 Freiburg

1.2 Öffnungszeiten und Probenannahme des Referenz- und Diagnostiklabor

	Öffnungszeiten		Probenannahme	
Mo-Fr	8:00	17:00	8:00	16:30
Sa	10:00	15:00	10:00	14:30

Telefonnummer Probenannahme: 0761 / 270-43504

1.3 Organisationsstruktur

Akademische Mitarbeiter der Diagnostik	Funktion	Erreichbarkeit
Dr. Dirk Lebrecht	Laborleitung	Tel: 0761 / 270-43859
PD Dr. Brigitte Strahm	Studienleitung SAA	Tel: 0761 / 270-46250
Prof. Dr. Charlotte Niemeyer	Studienleitung MDS international	Tel: 0761 / 270-43645
Dr. Miriam Erlacher	Studienleitung MDS national	Tel: 0761 / 270-43645
PD Dr. Ayami Yoshimi	CSC Studienzentrale Studienärztin	Tel: 0761 / 270-43645

Die sachgerechte Materialgewinnung beeinflusst erheblich die Validität der Befunde. Präanalytische Fehler schränken insbesondere verfügbare labordiagnostische Möglichkeiten ein und belasten den Patienten durch unnötige Untersuchungen. Zusätzlich gilt es für pädiatrische Patienten erforderlichen Entnahme zu minimieren.

	Formblatt	Version:	05
	Merkblatt zur Präanalytik	Seite:	3 von 7

Folgende Schritte müssen korrekt und sorgfältig durchgeführt werden:

1. Probenauswahl entsprechend der Verdachtsdiagnose
2. Probenentnahme
3. Korrekte Anforderung mit für das Labor wesentlichen Information zur Indikation und vollständig ausgefüllter Einsendeschein.
4. Probentransport in das Labor
5. Materialgewinnung
 - Zeitpunkt der Entnahme: alle Proben sollten so früh wie möglich am Vormittag entnommen werden, damit sie am nächsten Tag frisch verschickt werden können, außerdem sollte die Entnahme in der ersten Wochenhälfte geplant werden, damit der Eingang der Proben vor dem Wochenende erfolgt.
 - Beachten der benötigten Volumina
 - Beachten der spezifischen Medien und Antikoagulanzen

2 Transportgefäße

Transportgefäß	Material (Untersuchung)	Untersuchung	Probenlagerung	Kommentar
Heparin-Röhrchen / Abnahmemonovette	Blut	<ul style="list-style-type: none"> • PCR* • Sanger Sequenzierung* • NGS* • Telomerlängen Bestimmung • Methylierung 	Raumtemperatur	3-5 ml Eingang spätestens 3 Tage nach Abnahme
Heparin-Röhrchen / Abnahmemonovette	Knochenmark	<ul style="list-style-type: none"> • PCR* • Sanger Sequenzierung* • NGS* • Telomerlängen Bestimmung • Methylierung 	Raumtemperatur	3-5 ml Eingang spätestens 3 Tage nach Abnahme
Box	Blut und Knochenmark Ausstriche	<ul style="list-style-type: none"> • Morphologie 	Raumtemperatur	1x gefärbter 1x ungefärbter
Steriles Entnahmeröhrchen	Haare	<ul style="list-style-type: none"> • PCR* • Sanger Sequenzierung* • NGS* 	Raumtemperatur	10-15 Haare mit Haarwurzeln
Steriles Röhrchen	DNA	<ul style="list-style-type: none"> • PCR* • Sanger Sequenzierung* • NGS* • Methylierung 	Raumtemperatur Oder gekühlt bei 4-8°C	1-2 µg

	Formblatt		Version:	05
	Merkblatt zur Präanalytik		Seite:	4 von 7

Steriles Entnahmeröhrchen	Nägel	<ul style="list-style-type: none"> • PCR* • Sanger Sequenzierung* • NGS* 	Raumtemperatur	3-5 Nägel
Abstrich-Röhrchen	Mundschleimhautabstriche	<ul style="list-style-type: none"> • PCR* • Sanger Sequenzierung* • NGS* 	Raumtemperatur, Sterile Umverpackung	2-3 Abstriche
Steriles Röhrchen	Zellen, Fibroblasten	<ul style="list-style-type: none"> • Anzucht von Zelllinien • PCR* • Sanger Sequenzierung* • NGS* • 	Auf Trockeneis	
Steriles Röhrchen	Serum		Raumtemperatur	10ml
Steriles Röhrchen	Hautbiopsie	<ul style="list-style-type: none"> • Anzucht von Fibroblasten • PCR* • Sanger Sequenzierung* • NGS* 	gekühlt bei 4-8°C	5 ml steriles Medium oder Puffer

*Leistungen im akkreditierten Bereich

3 Spezielle Hinweise zur Materialgewinnung:

3.1 Knochenmark

Es sollten möglichst zwei Heparinmonovetten (je 5-10 ml) entnommen werden. Wenn mehrere Behälter gefüllt werden sollen, ist eine Neupositionierung der Punktionsnadel ratsam. Entnahme: Heparinisierte Röhrchen verwenden (Natrium- oder Lithiumheparin, mindestens 100IU pro 10ml zur Verhinderung von Gerinnselbildung), Röhrchen sofort nach der Entnahme mehrmals umdrehen.

Lagerung und Versand: Heparinisiertes Material bei Raumtemperatur lagern. Eine Ficollseparation ist nur nach Probeneingang innerhalb von 3 Tagen nach Abnahme möglich. Danach werden die Untersuchungen an der Gesamtzellfraktion durchgeführt!

3.2 Peripheres Blut

Es sollten möglichst zwei Heparinbehälter (je 5-10 ml) entnommen werden. Gewinnung: Heparinisierte Röhrchen (Natrium- oder Lithiumheparin) verwenden, Röhrchen sofort nach der Entnahme mehrmals invertieren.

Lagerung und Versand: Heparinisiertes Material bei Raumtemperatur lagern. Eine Ficollseparation ist nur nach Probeneingang innerhalb von 3 Tagen nach Abnahme möglich. Danach werden die Untersuchungen an der Gesamtzellfraktion durchgeführt!

	Formblatt	Version:	05
	Merkblatt zur Präanalytik	Seite:	5 von 7

3.3 Knochenmark oder periphere Blutausstriche

Gewinnung: Standardverfahren befolgen.

3.4 Serum (alternativ: Plasma)

Gewinnung: In Standard-Serumsammelröhrchen (10 ml) aufziehen.

Lagerung und Versand: Sofort bei Raumtemperatur versenden oder bei -80°C in 1 ml Fraktionen lagern. Wenn das Serum nicht separat entnommen wird, kann das Plasma vor der Ficoll-Separation aus dem heparinisierten Blut/Knochenmark pipettiert und bei -80°C eingefroren werden und dann auf Trockeneis versendet werden.

3.5 Hautbiopsie

Gewinnung: Eine Hautbiopsie kann aseptisch zusammen mit dem Einlegen eines venösen Zentralkanals oder während eines beliebigen chirurgischen Eingriffs entnommen werden. Legen Sie sie in phosphatgepufferte Kochsalzlösung oder ein beliebiges steriles Zellkulturmedium (beachten Sie, dass die Biopsie für Studien unbrauchbar ist, wenn sie in Formalin gelegt wird).

Lagerung: Verwenden Sie mindestens 5 ml steriles Medium oder Puffer in einem 15 ml sterilen Falcon-Röhrchen oder einem beliebigen sterilen Röhrchen. Vor dem Versand bei 4°C aufbewahren, nicht einfrieren.

3.6 Haare

Gewinnung: Sammeln Sie fünfzehn (15) Haarproben unter sauberen Bedingungen (sterile Handschuhe) durch Zupfen von 15 Haaren aus verschiedenen Bereichen der Kopfhaut. Untersuchen Sie das Haar und bestätigen Sie visuell das Vorhandensein eines Haarfollikels. Beachten Sie, dass die Haare nicht abgeschnitten werden sollten, da die Entnahme der Follikel für die DNA-Präparation unerlässlich ist.

Lagerung: Trocken in sterilen Kunststoffbehältern (z. B. Eppendorf, 15 ml Röhrchen oder Urinbehälter) lagern.

3.7 Speichel- und Wangenabstrichproben

Für die Diagnostik von hämatologischen Neoplasien wird die Verwendung von Speichel und Wangenabstrichen als Keimbahnquelle aufgrund der Kontamination mit hämatopoetischen Zellen (Makrophagen etc.) nicht empfohlen. Für den Fall, dass eine zuvor im Blut gefundene Mutation auch in der Wangenabstrich- oder Speichel-DNA gefunden wird, ist noch nicht bekannt, ob es sich um Keimbahn- oder somatische Mutationen handelt.

Bei Wangenabstrichen besteht die Möglichkeit, dass bei nicht ausreichendem Abrieb zu wenig Zellmaterial und somit zu wenig DNA gewonnen wird. Für eine erfolgreiche Probenentnahme beachten Sie bitte folgende Punkte: Möglichst 1 Stunde vor der Entnahme sollte der Patient nicht die Zähne putzen sowie nicht essen und trinken. Stäbchen an der Innenseite der Wange mit kräftigem Druck und kreisenden Bewegungen ~30 Sekunden an der Innenseite der Wange die Mundschleimhaut abreiben. Drücken Sie mit der Hand auf die Außenseite der Wange, um die Reibung zwischen dem Tupfer und der Mundschleimhaut zu erhöhen. Danach Wattestäbchen in ein steriles Plastikgefäß verpacken.

Speichelproben

	Formblatt	Version:	05
	Merkblatt zur Präanalytik	Seite:	6 von 7

Für Genomstudien, in denen Keimbahnvarianten untersucht werden, wurde jedoch DNA aus Speichel mit guten Ergebnissen verwendet. Speichel kann mit Selbstentnahme-Kits (z. B. DNA Genotek Oragene Speichel-Kit) gesammelt und bei Raumtemperatur in einer sterilen Umverpackung versendet werden.

3.8 Milz

Akquisition: Mitarbeiter oder regionale Koordinatoren werden gebeten, frühzeitig mitzuteilen, ob bei einem Kind mit JMML eine Splenektomie indiziert ist. Das koordinierende Studienzentrum wird sich bemühen, einen persönlichen Kurier zu organisieren, der die Milz am Tag der Operation in der Operationseinrichtung abholt. Der Chirurg wird gebeten, das Organ in einen sterilen Plastikbeutel zu legen. Wenn separates Milzmaterial für die pathologische Untersuchung benötigt wird, sollte darauf geachtet werden, dass das verbleibende Material steril bleibt.

Lagerung: So schnell wie möglich an einen Kurier übergeben oder vor Ort verarbeiten, am besten noch am selben Tag. Das Organ wird in kleinere Stücke geschnitten, mit einem sterilen Zerkleinerer püriert und mit steriler phosphatgepufferter Kochsalzlösung durch Zellsiebe geleitet. Die Zellen werden einer Dichtezentrifugation unterzogen, und die mononukleären Zellen werden in Portionen von 100×10^6 Zellen lebensfähig kryokonserviert.

4 Untersuchungsanforderungen

Untersuchungen werden mit dem Einsendeschein angefordert.

Das Untersuchungsspektrum ist auf folgende Formulare verteilt:

- 1) RequisitionForm_MutationalAnalysis_EWOG
- 2) Einsendeschein_DBA
- 3) Hilda-Biobank-Material-Einsendeformular-ZKJ

Alle Einsendescheine sind über die Homepage <https://www.uniklinik-freiburg.de/kinderklinik/behandlungsspektrum/onkologie/diagnostik.html> zu beziehen. Können aber auch vorab per Email über die Studienzentrale bezogen werden (ewog-mds-saa@uniklinik-freiburg.de). Diese erteilt auch Auskünfte über mögliche Untersuchungsverfahren und leistet diagnostische Hilfestellung.

Das korrekte und vollständige ausfüllen des Einsendeschein ist für die ordnungsgemäße Abwicklung des Untersuchungsauftrags unerlässlich.

Hierbei gilt, dass ein erfasster Auftrag der Blutprobe des Patienten zuzuordnen sein muss. Dementsprechend werden Probengefäße ohne eindeutige Identifikation nicht bearbeitet.

5 Beschwerden

Beschwerden jeglicher Art richten sie bitte an ewog-mds-saa@uniklinik-freiburg.de.
Wir versuchen jede Beschwerde zeitnah zu beantworten. Außerdem werden diese Beschwerden dokumentiert, der Grund analysiert und als Chance zur Verbesserung verstanden.
Der direkte Beschwerdeprozess stellt sich wie folgt dar:

