

Informationsblatt KD00434217

Präanalytik für Leukämie-Diagnostik

ZPL Hämatologie und Onkologie Kinderspital Zürich

1. Durchflusszytometrie

1.1 Präanalytik

Voraussetzung für eine aussagekräftige Untersuchung ist die Gewinnung von repräsentativem Material, zwingend an den Zeitpunkten von FCM-MRD.

Aus diesem Grunde sollte direkt **das erste Aspirat** für die Durchflusszytometrie gewonnen werden. Um die Sensitivität des Tests zu maximieren und eine Hämodilution von Knochenmark-Proben zu vermeiden. Das Probenmaterial mit **Nummer 1 FLOW beschriften**, bei weiteren Probenröhrchen die entsprechende Reihenfolge der Aspiration kennzeichnen.

Als Untersuchungsmaterial eignen sich Heparin-antikoaguliertes Knochenmark (ohne Zusatz von Trenngel oder Latexpartikel).

Als Ausnahme kann bei einer Initialdiagnose mit Punctio sicca peripheres Blut eingesetzt werden.

Der Transport muss unverzüglich bei Raumtemperatur erfolgen.

2. Zytomorphologie

Voraussetzung für eine aussagekräftige Untersuchung ist die Gewinnung von repräsentativem Material und eine fachgerechte Präparation. Als Untersuchungsmaterial eignen sich Ausstriche von peripherem Blut, Knochenmark, sowie andere flüssigen Punktionsmaterialien (i.R. Liquor). Einsendung von nicht gefärbten Ausstrichpräparaten. Vor Versand mindestens 30 Minuten trocknen lassen.

2.1.1 Blutbildpräparate

Qualitativ gute Blutausstriche weisen eine allmählich abnehmende Dichte auf, so dass die Erythrozyten isoliert nebeneinander liegen und feinere Kernstrukturen der Leukozyten erkennbar sind. 4-6 Blutausstrich-Präparate einsenden.

2.1.2 Knochenmarkpräparate

Aus ca. 1mL Knochenmark-Aspirat ohne Zusatz Ausstrichpräparaten anfertigen. Es muss sehr schnell verarbeitet werden, da das Material innerhalb weniger Sekunden gerinnt.

Hierbei ist darauf zu achten, dass genügend Knochenmarkbröckel auf die Objektträger gelangen. Die Bröckel werden mit dem Undrizglas vom schräg gestellten Objektträger abgestreift. Das Undrizglas wird rasch und drucklos im Winkel von ca. 30 - 45 Grad über den Objektträger geschoben und das Material damit nachgezogen. Einsenden von 6-8 Knochenmarkpräparaten

2.1.3 Liquorpräparate

Einsenden von 2 Nativ-Zytospinpräparaten, für die Beurteilung des CNS-Status ist die Angabe von Zellzahl und Beschaffenheit erforderlich (siehe Leukämie-Auftragsformular). Bei der Präparation empfiehlt es sich, zuerst jeweils ein Tropfen Albumin 20% in die Zytozentrifugat-Küvette vorzulegen und anschließend 500 µL Nativliquor zu pipettieren.

3. Genetik

Voraussetzung für eine aussagekräftige Untersuchung ist die Analyse von repräsentativem Material. Eine Hämodilution von Knochenmark-Proben kann zu falsch-negativen Genetikresultaten führen.

Als Untersuchungsmaterial eignen sich Heparin-antikoaguliertes Knochenmark (ohne Zusatz von Trenngel oder Latexpartikel).

Als Ausnahme kann bei einer Initialdiagnose mit Punctio sicca peripheres Blut eingesetzt werden, wenn mindestens 10 % Blasten ausgeschwemmt werden.

Für MRD-Analysen sollte das Untersuchungsmaterial mindestens 10 Millionen Leukozyten enthalten.

4-6 Knochenmarkpräparate für FISH einsenden. Die Präparate wie unter 2.1.2 beschrieben herstellen. Der Transport des Flüssigmaterials muss unverzüglich bei Raumtemperatur erfolgen, da das Material spätestens 24 Stunden nach der Entnahme verarbeitet sein sollte.

Für molekulargenetische Fragestellungen, welche eine NGS-Analyse einschliessen, benötigen wir zusätzlich eine EDTA-Probe.