



| | | | |
|--|----------------------------------|----------|---------|
|  | Formblatt | | |
| | Merkblatt zur Präanalytik | Version: | 07 |
| | | Seite: | 1 von 8 |

Stand: 11.08.2025

| 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 _____ | 4 |
| 3 Spezielle Hinweise zur Materialgewinnung: _____ | 5 |
| 3.1 Knochenmark _____ | 5 |
| 3.2 Peripheres Blut _____ | 5 |
| 3.3 Knochenmark oder periphere Blutausstriche _____ | 5 |
| 3.4 Serum (alternativ: Plasma) _____ | 5 |
| 3.5 Hautbiopsie _____ | 6 |
| 3.6 Haare _____ | 6 |
| 3.7 Speichel- und Wangenabstrichproben _____ | 6 |
| 3.8 Milz _____ | 7 |
| 4 Untersuchungsanforderungen und Einverständnisse _____ | 7 |
| 5 Beschwerden _____ | 8 |

| | | | |
|--|----------------------------------|-------------|---------|
|  | Formblatt | Version: 07 | |
| | Merkblatt zur Präanalytik | Seite: | 2 von 8 |

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 | | |
| | Merkblatt zur Präanalytik | Version: | 07 |
| | | Seite: | 3 von 8 |

Folgende Schritte müssen korrekt und sorgfältig durchgeführt werden:

1. Probenauswahl entsprechend der Verdachtsdiagnose
2. Korrekte Anforderung mit für das Labor wesentlichen Information zur Indikation und vollständig ausgefüllter Einsendeschein.
3. Probenentnahme/Materialgewinnung
 - Zeitpunkt der Entnahme: alle Proben sollten so früh wie möglich am Vormittag entnommen werden, damit sie am selben oder 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
 - Genaue Beschriftung des Probenröhrchens zur genauen Zuordnung zum Patienten:
 - Name, Geburtsdatum
 - Materialart (z.B.: Blut, Knochenmark)
 - Abnahmedatum
4. Probenverpackung
 - Probe (Transportgefäß) in stabile Umverpackung (Röhrchen oder Box) verpacken
 - Diese in einen verschließbaren Plastikbeutel (mit saugfähigen Einsatz) geben.
 - Pro Patient einen eigenen Beutel verwenden.
5. Probenbeutel und vollständig ausgefüllten Einsendeschein in einer stabilen Umverpackung (Versandkarton) versenden
6. Probentransport in das Labor

2 Transportgefäße

| Transportgefäß | Material (Untersuchung) | Untersuchung | Probenlagerungs-/Versandtemperatur | Kommentar |
|--|---------------------------------|---|--|--|
| EDTA/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 |
| EDTA/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 gefärbt 1x ungefärbt |
| 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 |
| 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 Entnahmeröhrchen | Speichel | <ul style="list-style-type: none"> • PCR* • Sanger Sequenzierung* • NGS* | Raumtemperatur, Sterile Umverpackung | |
| Steriles Röhrchen | Zellen | <ul style="list-style-type: none"> • Anzucht von Zelllinien • PCR* • Sanger Sequenzierung* • NGS* | Auf Trockeneis | |

| | | | | |
|--|----------------------------------|--|----------|---------|
|  | Formblatt | | Version: | 07 |
| | Merkblatt zur Präanalytik | | Seite: | 5 von 8 |

| | | | | |
|--------------------|-------------|---|-------------------|----------------------------------|
| Steriles Röhrcchen | Serum | | Raumtemperatur | 10ml |
| Steriles Röhrcchen | 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 EDTA- oder Heparinmonovetten (je 5-10 ml) entnommen werden. Wenn mehrere Behälter gefüllt werden sollen, ist eine Neupositionierung der Punktionsnadel ratsam.

Entnahme: EDTA/Heparinisierte Röhrcchen verwenden (Natrium- oder Lithiumheparin, mindestens 100IU pro 10ml zur Verhinderung von Gerinnselbildung), Röhrcchen sofort nach der Entnahme mehrmals umdrehen.

Lagerung und Versand: Material bei Raumtemperatur lagern.

Eine Ficoll-Separation 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 EDTA- oder Heparinbehälter (je 5-10 ml) entnommen werden.

Gewinnung: EDTA- oder Heparinisierte Röhrcchen (Natrium- oder Lithiumheparin) verwenden, Röhrcchen sofort nach der Entnahme mehrmals invertieren.

Lagerung und Versand: Material bei Raumtemperatur lagern.

Eine Ficoll-Separation ist nur nach Probeneingang innerhalb von 3 Tagen nach Abnahme möglich. Danach werden die Untersuchungen an der Gesamtzellfraktion durchgeführt!


3.3 Knochenmark oder periphere Blutausstriche

Gewinnung: Standardverfahren befolgen.

3.4 Serum (alternativ: Plasma)

Gewinnung: In Standard-Serumsammelröhrcchen (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.

| | | | |
|--|----------------------------------|----------|---------|
|  | Formblatt | | |
| | Merkblatt zur Präanalytik | Version: | 07 |
| | | Seite: | 6 von 8 |

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

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.

| | | | |
|--|----------------------------------|----------|---------|
|  | Formblatt | Version: | 07 |
| | Merkblatt zur Präanalytik | Seite: | 7 von 8 |

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 und Einverständnisse

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 Einsendescheins 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.

Einverständnisse

Für genetische Untersuchungen benötigen wir eine unterschriebene und vollständig ausgefüllte genetische Einverständniserklärung. Dieses Einverständnis finden sie hier: <https://ewog-mds-saa.org/diagnostics.html>. Außerdem ein Einverständnis zur Lagerung der Proben in der Hilda Biobank. Eine Information diesbezüglich und die jeweiligen altersspezifischen zugehörigen Dokumente, sind über die Homepage der Hilda Biobank <https://www.uniklinik-freiburg.de/kinderklinik/forschung-und-klinische-studien/hilda-biobank-freiburg/dokumente.html> herunter zu laden. Können aber auch vorab per Email über die Studienzentrale bezogen werden (ewog-mds-saa@uniklinik-freiburg.de).

| | | |
|--|------------------|----------------|
|  | Formblatt | |
| | Version: | 07 |
| Merkblatt zur Präanalytik | | Seite: 8 von 8 |

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:

