

## Anforderungen an die Präparation zytologischer Untersuchungsproben

Eine gute zytopathologische Diagnostik setzt eine optimale Gewinnung und Weiterverarbeitung der Untersuchungsproben voraus. Das Spektrum der Untersuchungsproben umfasst nahezu alle Fachgebiete der klinischen Medizin.

Die Zytopathologie ist eine Methode zur Diagnosestellung an ganzen Zellen. Bei der Histopathologie werden dahingegen Gewebeschnitte von Paraffinblöcken oder von intraoperativen Schnellschnitten untersucht. Ein Vorteil der Zytologie liegt in der wenig invasiven oder nicht invasiven Entnahme der Untersuchungsproben sowie in der Möglichkeit, die ganze Zelle ohne Schnittartefakte zu untersuchen. Maligne Tumoren können von gutartigen Läsionen meist mit sehr hoher Spezifität und guter Sensitivität unterschieden werden.

Man unterscheidet die Punktionszytologie beispielsweise von Raumforderungen der Schilddrüse oder des Pankreas, die Exfoliativzytologie, wobei Zellen meist von Schleimhautoberflächen mittels spezieller Bürstchen abgestrichen werden und die Sekretzytologie von pathologischen Flüssigkeitsansammlungen und physiologischen Flüssigkeiten.

Die folgende Broschüre gibt Ihnen für Ihre jeweilige Anwendung Handlungsempfehlungen zur richtigen Behandlung und Fixation der zytologischen Proben für die optimale Diagnostik im MVZ für Pathologie, Zytologie und Dermatologie Viersen.

Bitte kontaktieren Sie uns, wenn Sie Fragen oder Anregungen haben.

Dr. E. Pelz

Dr. I. Theuerkauf

Dr. M. Schramm

## Inhaltsverzeichnis

<b>ALLGEMEINES .....</b>	<b>2</b>
<b>AUSSTRICHTECHNIK .....</b>	<b>3</b>
<b>ERGUSSZYTOLOGIE, ABDOMINELLE SPÜLFLÜSSIGKEITEN .....</b>	<b>4</b>
<b>PUNKTATE DES GLASKÖRPERS .....</b>	<b>4</b>
<b>ZYSTENPUNKTATE UND GELENKPUNKTATE.....</b>	<b>5</b>
<b>LIQUOR.....</b>	<b>5</b>
<b>URIN UND SPÜLFLÜSSIGKEITEN DER HARNWEGE .....</b>	<b>6</b>
<b>MAMILLENSEKRET ODER MAMILLENABSTRICH.....</b>	<b>7</b>
<b>BRONCHIALSEKRETE UND -LAVAGEN .....</b>	<b>7</b>
<b>BÜRSTENABSTRICHE DER BRONCHIEN.....</b>	<b>8</b>
<b>BÜRSTENABSTRICHE DER MUNDSCHLEIMHAUT.....</b>	<b>9</b>
<b>BÜRSTENABSTRICHE DER GALLENWEGE UND DES PANKREASGANGES .....</b>	<b>10</b>
<b>FEINNADELPUNKTATE DER SCHILDDRÜSE .....</b>	<b>11</b>
<b>FEINNADELPUNKTATE DER GROßEN SPEICHELDRÜSEN.....</b>	<b>11</b>
<b>FEINNADELPUNKTATE INNERER ORGANE ODER VON LYMPHKNOTEN (AUCH ALS EBUS- TBNA) .....</b>	<b>12</b>

## Allgemeines

**Bitte denken Sie daran, im Vorfeld der Probenentnahme die benötigten Utensilien für die Probenbearbeitung bereitzulegen:**

- Korrekte Probenröhrchen mit/ohne vorgelegtes Fixativ für Flüssigkeiten, Punktate und Bürstchen (siehe beim jeweiligen Untersuchungsmaterial).
- Bürstenabstriche und Feinnadelpunktate: Objektträger, Bleistift, Alkoholspray, ggf. Röhrchen mit 50% Ethanol, Probenbegleitschein.
- Bitte vor dem Ausstreichen der Probe auf Objektträger das Alkoholspray auf Funktion testen.
- Objektträger mit Mattrand verwenden und mit Bleistift so beschriften, dass diese eindeutig zugeordnet werden können (z.B. Name, Geburtsdatum oder Akronym). Keinen Filzstift verwenden.
- Ausgefüllten Probenbegleitschein beilegen.

**Trocknung der angefertigten Objektträger vor dem Versand:**

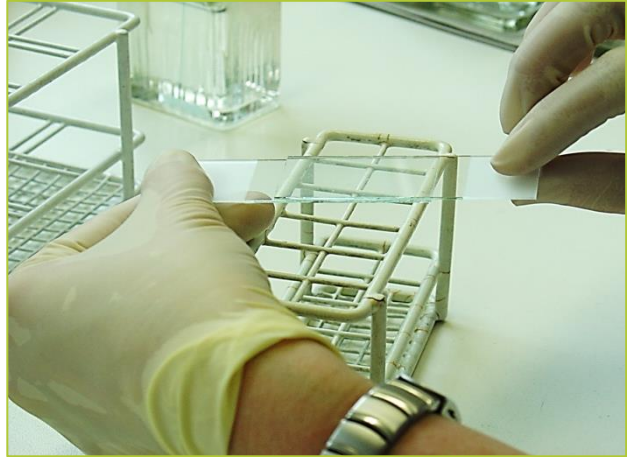
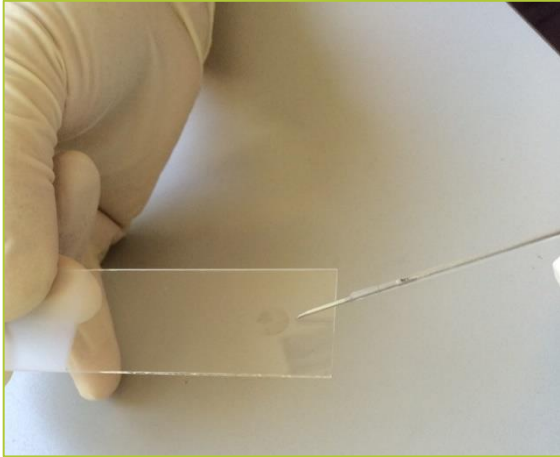
- Alkoholfixierte Objektträger nach vollständiger Trocknung (ca. 40 Minuten) in bruchsicere Versandbehältnisse legen.
- Luftgetrocknete Objektträger nach vollständiger Trocknung an geschützter Stelle an der Zimmerluft (nicht auf der Heizung) für etwa 1 Stunde in bruchsicere Versandbehältnisse legen.

**Folgende Versandgefäße für die Zytologie, Umverpackungen und Fixierspray können Sie bei uns anfordern:**

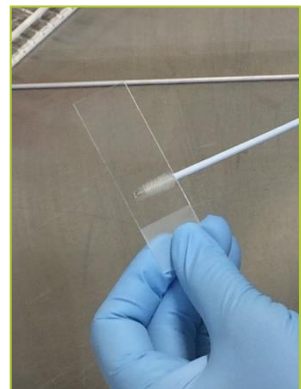
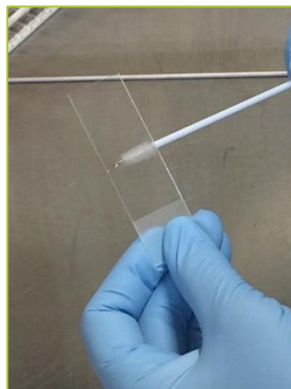
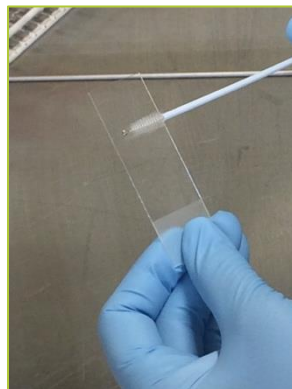
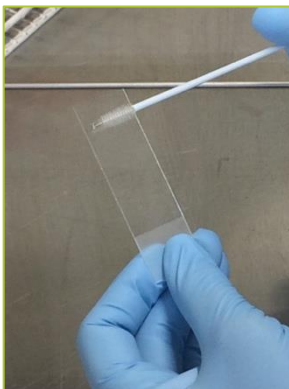
- Alkoholisches Fixationsspray
- 50 ml Probenröhrchen (blauer Deckel) mit 25ml 50% Ethanol (diverse Präparationen)
- 50 ml Probenröhrchen (blauer Deckel) mit 10 ml CytoLyt (nur für Schilddrüsenzytologie)
- Objektträgermappen
- Für Postversand von zu fixierenden Flüssigkeiten (insbesondere Urin): 30 ml Probenröhrchen mit 50% Ethanol und passendes Sekundärröhrchen mit Saugelinlage.

## Ausstrichtechnik

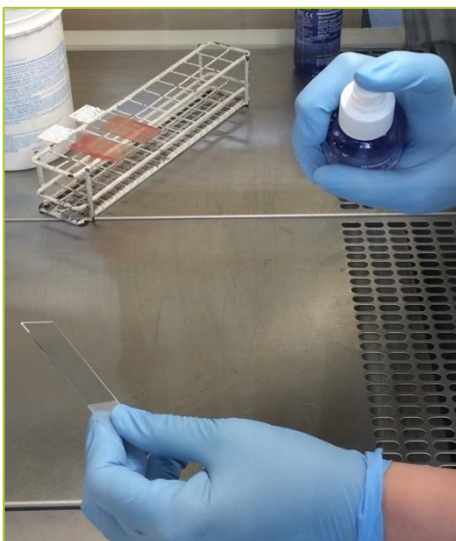
Feinnadelpunktate:



Bürstenausstriche:



Fixieren:

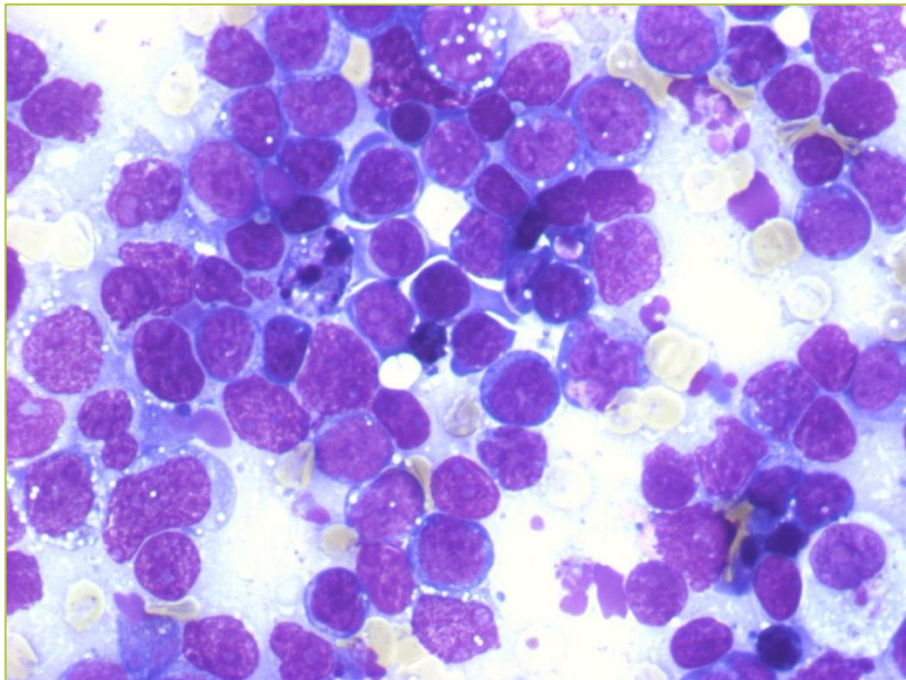


## Ergusszytologie, abdominelle Spülflüssigkeiten

(Pleuraerguss, Perikarderguss, Aszites, abdominelle Spülflüssigkeiten)

Punktat, **nativ**, ohne Zusätze einsenden. Mindestens 50 ml einsenden. Falls nicht die ganze Probe eingesandt werden soll oder kann, bei größeren Mengen die Probe vor Abgießen in Versandgefäße gut durchmischen, z.B. durch Umschwenken des Beutels.

Eine Fixation ist nicht notwendig. Bei geplantem Versand erst nach einem Wochenende bitte die Probe in der Zwischenzeit im Kühlschrank bei 4°C aufbewahren.



*Pleuraerguss, NHL, high-grade*

## Punktate des Glaskörpers

Punktat grundsätzlich **nativ** und zügig zum Versand bringen. Bei geringer Menge z.B. in der für die Punktion verwendeten Spritze (ohne Kanüle einsenden wegen Verletzungsgefahr) oder in einem Eppendorf-Röhrchen.

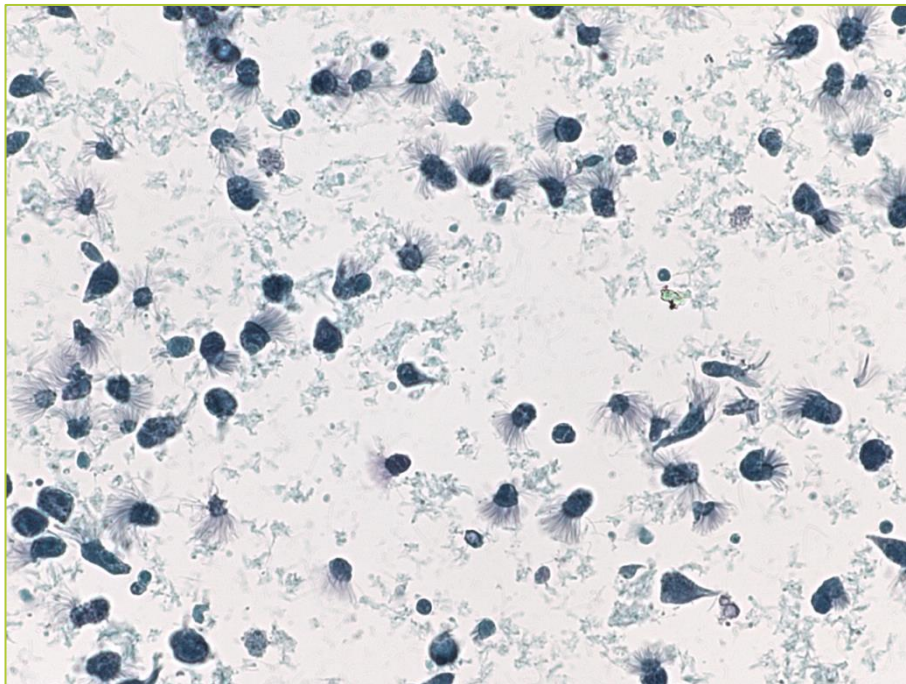
Nachmittags **bitte nach Voranmeldung** einsenden, da das Punktate unmittelbar im Labor verarbeitet werden muss.

## Zystenpunktate und Gelenkpunktate

(z.B. Zysten von Pankreas, Ovar, Mamma, Punktate von Gelenken und Bursen, Serome, Lymphozelen)

**Native** Punktionsflüssigkeit ohne Zusätze in ein bruchsicheres 50 ml Röhrchen füllen, und schnell zum Versand geben, da die Punktate je nach Zusammensetzung schnell degenerieren.

Bei größeren Mengen ggf. mehrere Probenröhrchen verwenden.



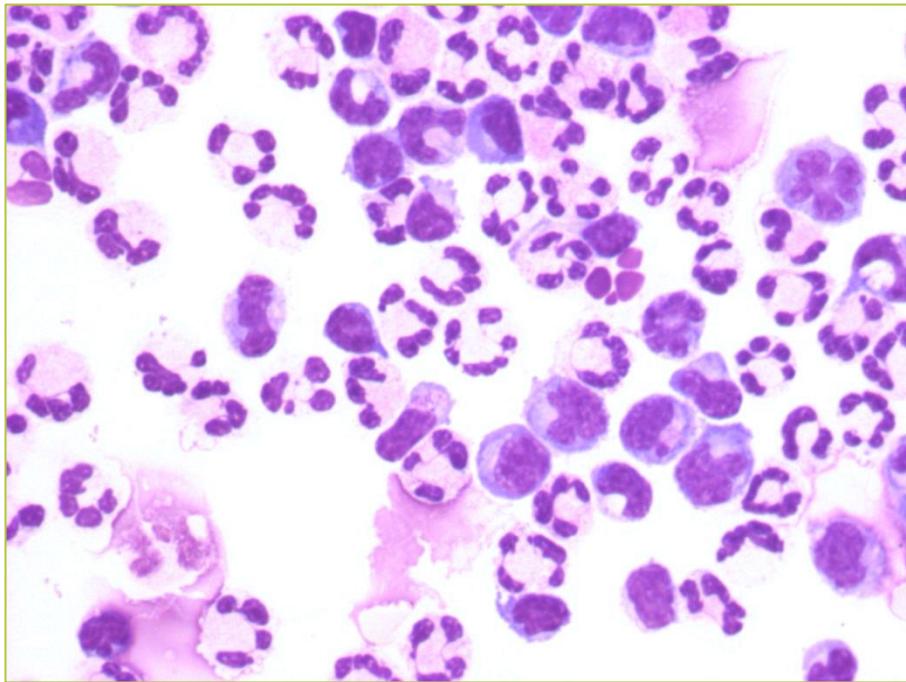
*Punktat einer Vorderdarmzyste des Pankreas*

## Liquor

Wir bearbeiten Liquorproben mit der Fragestellung nach der mikroskopischen Zellzusammensetzung und nach Tumorzellen.

Bitte senden Sie für diese Fragestellung ein Aliquot des punktierten Liquors von möglichst mehr als 2 ml ein. Den Liquor grundsätzlich **nativ** und zügig zum Versand bringen. Er muss möglichst innerhalb von einer Stunde im Labor verarbeitet werden, da die Zellen sehr schnell degenerieren.

Aus diesem Grund sollten nachmittags punktierte Liqueores **nur nach Voranmeldung** eingesandt werden, damit die zügige Verarbeitung im Labor sichergestellt werden kann.



*Liquor, gemischte Pleozytose*

## Urin und Spülflüssigkeiten der Harnwege

Vorbereitung und Abgabe von Spontanurin:

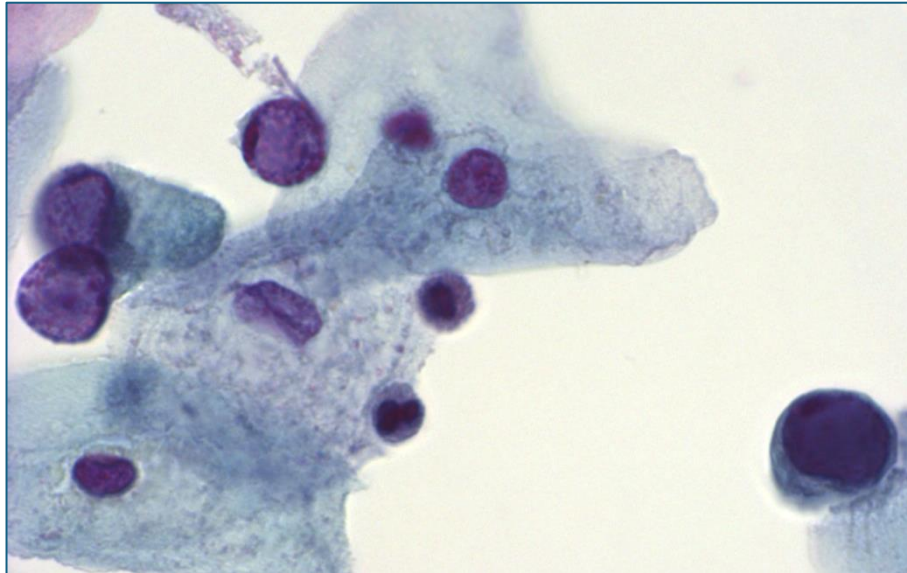
- Morgenurin oder 24-Stunden-Sammelurin sind für die zytologische Untersuchung ungeeignet.
- Am Morgen des Untersuchungstages soll der Patient die Blase entleeren.
- Danach mehrere Gläser Flüssigkeit trinken.
- Vor der Blasenentleerung zur Urinzytologie empfiehlt sich zur Erhöhung der Zahl abgeschilfter Zellen im Urin etwas Bewegung, z.B. Gymnastik, Treppensteigen, Spaziergang.
- Blase vollständig in ein bereitgestelltes Gefäß entleeren.
- Frauen sollten zur Vermeidung der Beimischung von Plattenepithelien vor der Blasenentleerung die Labien mit einem nassen Tuch abtupfen.

Spontan- und Katheterurine sowie Spülflüssigkeiten der Harnwege sollen **1:1 mit 50%igem Ethanol konserviert** werden. Bitte mischen Sie die Urinprobe z.B. durch Umschwenken, damit sedimentierte Zellen aufgewirbelt werden und geben Sie eine Probe in unsere 50 ml Probenröhrchen mit vorgelegten 25 ml 50%igem Ethanol. Bei größeren Mengen nehmen Sie mehrere Probenröhrchen, wobei nach unserer Erfahrung in der Regel 2 Röhrchen genügen.

Bei Postversand stellen wir 30 ml Röhrchen mit 50%igem Ethanol. Diese Röhrchen in ein Sekundärröhrchen mit Saugeinlage schieben.

Die Einsendung von nativen Urinproben ist nur sinnvoll, wenn diese spätestens innerhalb einer Stunde nach der Gewinnung im Labor ankommen.

Bitte Urin nicht nativ per Post schicken.



Urin, Decoy-Zellen

## Mamillensekret oder Mamillenabstrich

Optimal **1 luftgetrocknetes und 1 alkoholfixiertes Ausstrichpräparat** anfertigen: Es empfiehlt sich, einen kleinen Tropfen des Sekrets in der Nähe des Objektträgerrandes aufzutragen. Ein zweiter leerer Objektträger wird aufgelegt, der Tropfen verteilt sich durch die Kapillarkräfte zwischen den Objektträgern. Dies kann durch Vor- und Zurückschieben (ohne Druck!) gefördert werden. Jetzt werden die beiden Objektträger in Längsrichtung auseinandergezogen und einer von beiden sofort (innerhalb von Sekunden!) mit Alkoholspray fixiert. Hierzu 4 Hübe aus ca. 20 cm Entfernung aufsprühen, bis ein Flüssigkeitsfilm entsteht. Den zweiten Objektträger nach dem Ausstreichen des Tropfens für etwa 1 Stunde an geschützter Stelle an der Zimmerluft trocknen lassen (nicht auf der Heizung).

## Bronchialsekrete und -lavagen

Bronchialsekrete, Bronchiallavagen und Katheteraspirationsbiopsien für die zytologische Untersuchung sollen **1:1 mit 50%igem Ethanol konserviert** werden. Bitte geben Sie die bronchiale Probe in unsere 50ml Probenröhrchen mit vorgelegten 25 ml 50%igem Ethanol. Bei Postversand stellen wir 30ml Röhrchen mit 50%igem Ethanol. Diese Röhrchen in ein Sekundärröhrchen mit Saugeinlage schieben.

Bei Lavagen möglichst viel der zurückgewonnenen Spülflüssigkeit verwenden.

Die Einsendung von nativen bronchialen Flüssigkeiten ist nur sinnvoll, wenn diese zügig am selben Tag nach der Gewinnung im Labor ankommen.

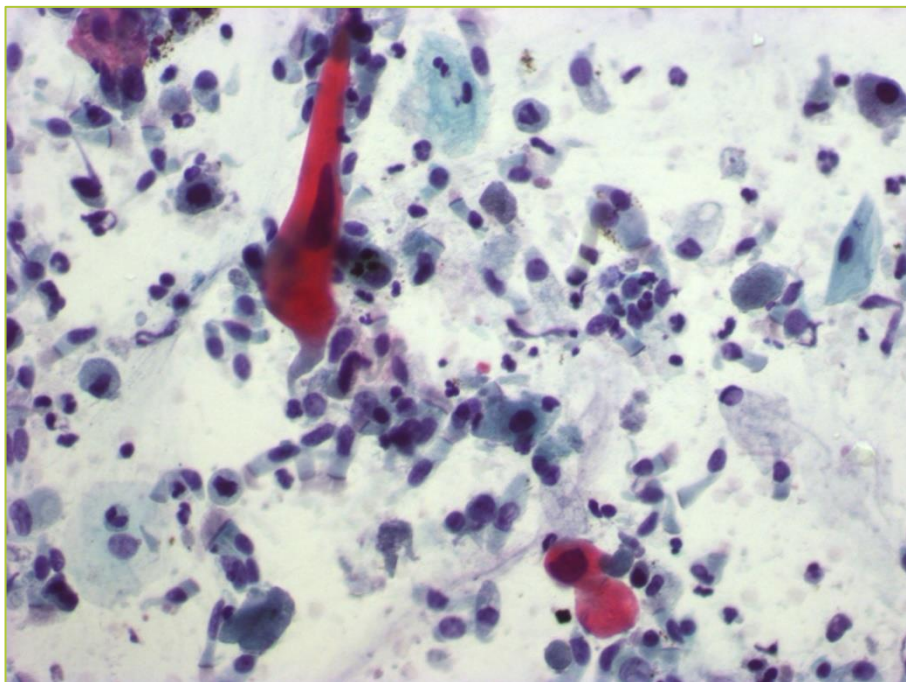
Bitte diese Proben nicht nativ per Post schicken.

## Bürstenabstriche der Bronchien

Optimal 4-6 **alkoholfixierte** Ausstrichpräparate anfertigen: Sofern das Bürstchen nach einem Durchgang Blut enthält, Ausstriche sofort anfertigen (bevor das Blut koaguliert). Die Bürste unter leichtem Druck auf einem Objektträger abrollen, bis kein Material mehr abgeht. Zweiten Objektträger plan auflegen und in Längsrichtung unter leichtem Druck abziehen (Sandwichtechnik). Die Objektträger sofort (innerhalb von Sekunden!), das heißt solange die Ausstriche noch feucht sind, mit alkoholischem Fixationspray einsprühen. Hierzu 4 Hübe aus ca. 20 cm Entfernung aufsprühen, bis ein Flüssigkeitsfilm entsteht. Mit den weiteren Objektträgern ebenso verfahren.

Je nach Wunsch kann nach Anfertigung der letzten Ausstriche der Bürstenkopf in ein 50 ml Probengefäß mit 50%igem Ethanol abgeworfen und ebenfalls zur Untersuchung von restlichen in der Bürste haftenden Zellen eingesandt werden. Es empfiehlt sich, vor dem Abwerfen der Bürste diese ca. 10x mit leichtem Druck gegen die Innenwand des Behälters zu drehen. Hierdurch werden die aufgenommenen Zellen besser wieder abgegeben. Bei Postversand stellen wir 30 ml Röhrchen mit 50%igem Ethanol. Diese Röhrchen in ein Sekundärröhrchen mit Saugelinge schieben.

Objektträger vor dem Versand ca. 40 Minuten trocknen lassen.



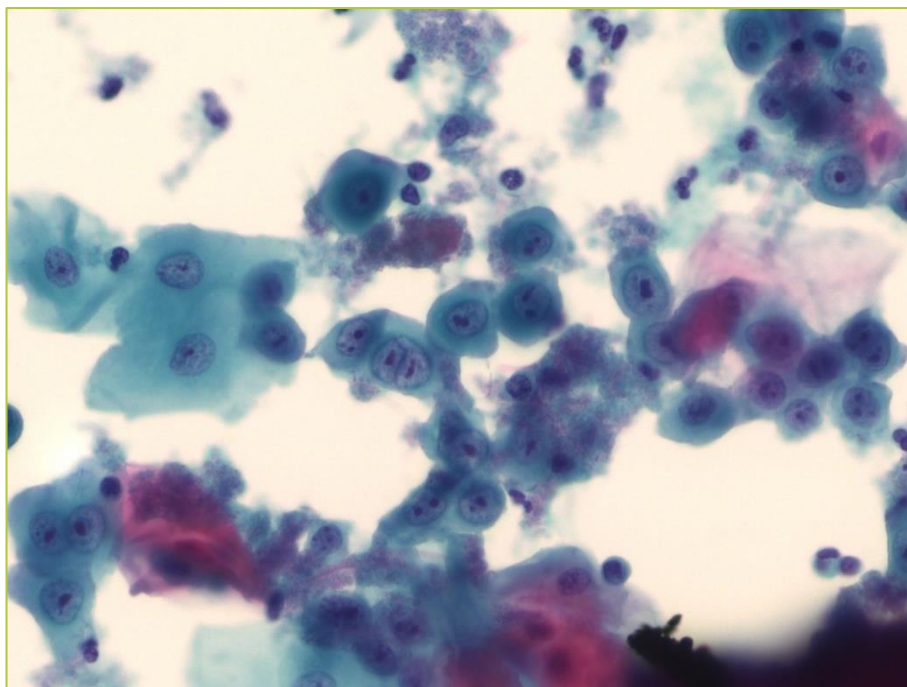
*Bronchiallavage, Plattenepithelkarzinom*

## Bürstenabstriche der Mundschleimhaut

Abstrichtechnik: Bürste unter leichtem Druck mehrmals auf der suspekten Schleimhautläsion um die eigene Achse drehen. Nicht die Drehrichtung wechseln. Hierdurch werden Plattenepithelien aufgenommen.

Bei konventionellen Abstrichen: Optimal 1-2 **alkoholfixierte** Ausstrichpräparate anfertigen: Bürste an vier bis fünf verschiedenen Stellen des Objektträgers unter leichtem Druck und wenigem Vorschieben mehrfach rotieren. Hierdurch werden die aufgenommenen Zellen wieder abgegeben. Den Objektträger sofort (innerhalb von Sekunden!), das heißt solange der Ausstrich noch feucht ist, mit alkoholischem Fixationspray einsprühen. Hierzu 4 Hübe aus ca. 20 cm Entfernung aufsprühen, bis ein Flüssigkeitsfilm entsteht. Ggf. mit dem weiteren Objektträger ebenso verfahren.

Objektträger vor dem Versand ca. 40 Minuten trocknen lassen.



*Mundschleimhautabstrich, Pemphigus vulgaris*

### Bei flüssigkeitsbasierter Zytologie:

Es ist ebenfalls eine Einsendung von Mundschleimhautabstrichen als so genannte Flüssigkeitsbasierte Zytologie möglich. Dieses Verfahren ist prinzipiell bei uns diagnostisch auswertbar und es besteht langjährige Expertise sowohl mit der Beurteilung konventioneller als auch flüssigkeitsbasierter Mundschleimhautabstriche.

Die Transportcontainer für flüssigkeitsbasierte Zytologie mit dem Fixativ sind kommerziell erhältlich. Bitte richten Sie sich bei der Präparation nach den Angaben des Herstellers.

Grundsätzlich ist aber eine zügige Entfernung der mit dem Abstrich aufgenommenen Zellen aus der Bürste erforderlich, sobald diese in das Fixationsmedium eingebracht wurden. Eine verzögerte Abgabe von Zellen aus der Bürste in das Fixationsmedium führt zu Verklumpungen von Zellen und zum erschwerten Herauslösen der Zellen im Labor mit der Folge zellarmer Präparate.

Nach unserer Erfahrung empfiehlt es sich daher, die Bürste in den Transportbehälter mit Fixationsmedium zu überführen und ca. 10x mit leichtem Druck gegen die Innenwand des Behälters zu drehen. Hierdurch werden die aufgenommenen Zellen wieder abgegeben. Der Bürstenkopf kann danach je nach Modell vom Stiel gelöst oder abgeschnitten und mit in den Transportbehälter mit Fixationsmedium gegeben werden. Sachttes Schütteln des Behälters mit den Bürstenköpfen unterstützt das Lösen der Zellen aus der Bürste.

## Bürstenabstriche der Gallenwege und des Pankreasganges

Optimal 4-6 **alkoholfixierte** Ausstrichpräparate anfertigen:

Nach dem endoskopischen Bürstenabstrich: Bürste wieder in den Katheter zurückziehen, Katheter aus dem Instrumentierkanal des Endoskops ziehen, Bürste wieder vorschieben und auf einen vorher beschrifteten Objektträger an vier bis fünf verschiedenen Stellen mit wenig Druck unter Vorschieben abrollen (je ca. eine halbe Umdrehung). Hierdurch werden die aufgenommenen Zellen wieder abgegeben. Jeden Objektträger sofort (innerhalb von Sekunden!), das heißt solange die Ausstriche noch feucht sind, mit alkoholischem Fixationspray einsprühen. Hierzu 4 Hübe aus ca. 20 cm Entfernung aufsprühen, bis ein Flüssigkeitsfilm entsteht. Mit den weiteren Objektträgern ebenso verfahren.

Je nach Wunsch kann nach Anfertigung der letzten Ausstriche der Bürstenkopf in ein 50 ml Probengefäß mit 50%igem Ethanol abgeworfen und ebenfalls zur Untersuchung von restlichen in der Bürste haftenden Zellen eingesandt werden. Es empfiehlt sich, vor dem Abwerfen der Bürste diese ca. 10x mit leichtem Druck gegen die Innenwand des Behälters zu drehen. Hierdurch werden die aufgenommenen Zellen besser wieder abgegeben.

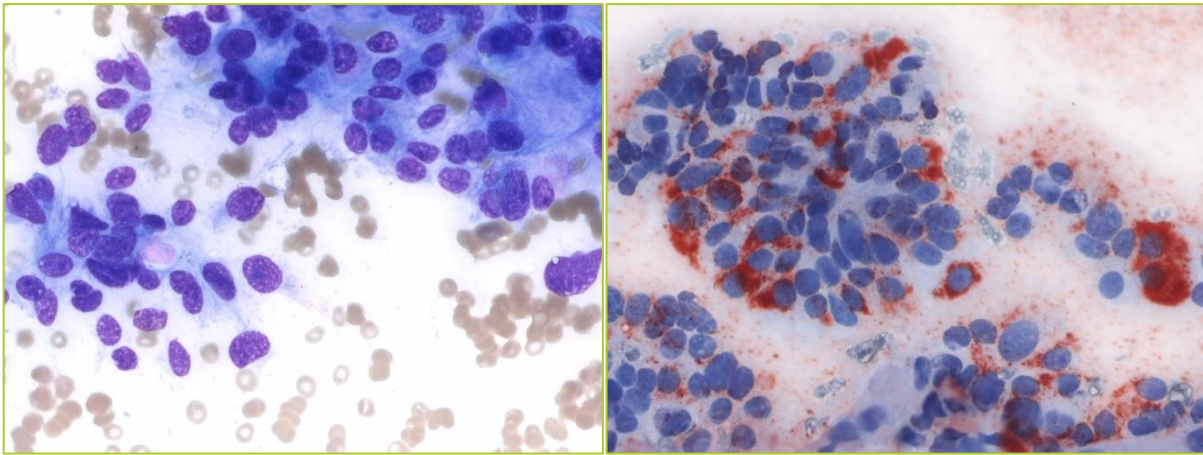
Bei Postversand stellen wir 30 ml Röhrchen mit 50%igem Ethanol. Diese Röhrchen in ein Sekundärröhrchen mit Saugelinge schieben.

Objektträger vor dem Versand ca. 40 Minuten trocknen lassen.

## Feinnadelpunktate der Schilddrüse

Optimal 4-6 **luftgetrocknete** Ausstrichpräparate anfertigen: Es empfiehlt sich, je einen kleinen Tropfen des Punktats in der Nähe des Objektträgerrandes aufzutragen. Ein zweiter leerer Objektträger wird aufgelegt, der Tropfen verteilt sich durch die Kapillarkräfte zwischen den Objektträgern. Dies kann durch Vor- und Zurückschieben (ohne Druck!) gefördert werden. Jetzt werden die beiden Objektträger in Längsrichtung auseinandergezogen und für etwa 1 Stunde an geschützter Stelle an der Zimmerluft getrocknet (nicht auf der Heizung). Mit den weiteren Objektträgern ebenso verfahren.

Übriges Punktat und Spülungen der Punktionsnadel in ein 50 ml Probengefäß mit **vorgelegten 10 ml Cytolyt** geben.



*Medulläres Schilddrüsenkarzinom, MGG-Färbung und Calcitonin-Immunzytochemie*

## Feinnadelpunktate der großen Speicheldrüsen

Optimal **2 luftgetrocknete und 2 alkoholfixierte** Ausstrichpräparate anfertigen: Es empfiehlt sich, je einen kleinen Tropfen des Punktats in der Nähe des Objektträgerrandes aufzutragen. Ein zweiter leerer Objektträger wird aufgelegt, der Tropfen verteilt sich durch die Kapillarkräfte zwischen den Objektträgern. Dies kann durch Vor- und Zurückschieben (ohne Druck!) gefördert werden. Jetzt werden die beiden Objektträger in Längsrichtung auseinandergezogen und sofort (innerhalb von Sekunden!) mit Alkoholspray fixiert. Hierzu 4 Hübe aus ca. 20 cm Entfernung aufsprühen, bis ein Flüssigkeitsfilm entsteht. Zwei weitere Objektträger nach dem Ausstreichen des Tropfens für etwa 1 Stunde an geschützter Stelle an der Zimmerluft trocknen lassen (nicht auf der Heizung).

Übriges Punktat und Spülungen der Punktionsnadel in ein 50 ml Probengefäß mit vorgelegten 25 ml 50%igem Ethanol geben.

Bei Postversand stellen wir 30 ml Röhrchen mit 50%igem Ethanol. Diese Röhrchen in ein Sekundärröhrchen mit Saugelinlage schieben.

## Feinnadelpunktate innerer Organe oder von Lymphknoten (auch als EBUS-TBNA)

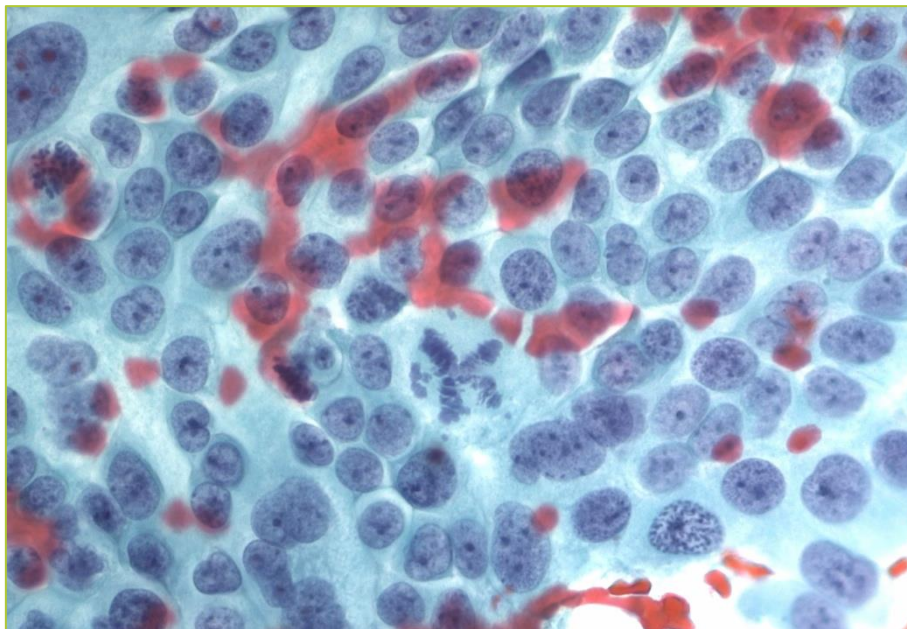
### Innere Organe, Lymphknoten:

Optimal 6 **alkoholfixierte** Ausstrichpräparate anfertigen: Es empfiehlt sich, je einen kleinen Tropfen des Punktats in der Nähe des Objektträgerrandes aufzutragen. Ein zweiter leerer Objektträger wird aufgelegt, der Tropfen verteilt sich durch die Kapillarkräfte zwischen den Objektträgern. Dies kann durch Vor- und Zurückschieben (ohne Druck!) gefördert werden. Jetzt werden die beiden Objektträger in Längsrichtung auseinandergezogen und sofort (innerhalb von Sekunden!) mit Alkoholspray fixiert. Hierzu 4 Hübe aus ca. 20 cm Entfernung aufsprühen, bis ein Flüssigkeitsfilm entsteht. Mit den weiteren Objektträgern ebenso verfahren.

Übriges Punktat und Spülungen der Punktionsnadel in ein 50 ml Probengefäß mit vorgelegten 25 ml 50%igem Ethanol geben.

Bei Postversand stellen wir 30 ml Röhrchen mit 50%igem Ethanol. Diese Röhrchen in ein Sekundärröhrchen mit Saugeinlage schieben.

Objektträger vor dem Versand ca. 40 Minuten trocknen lassen.



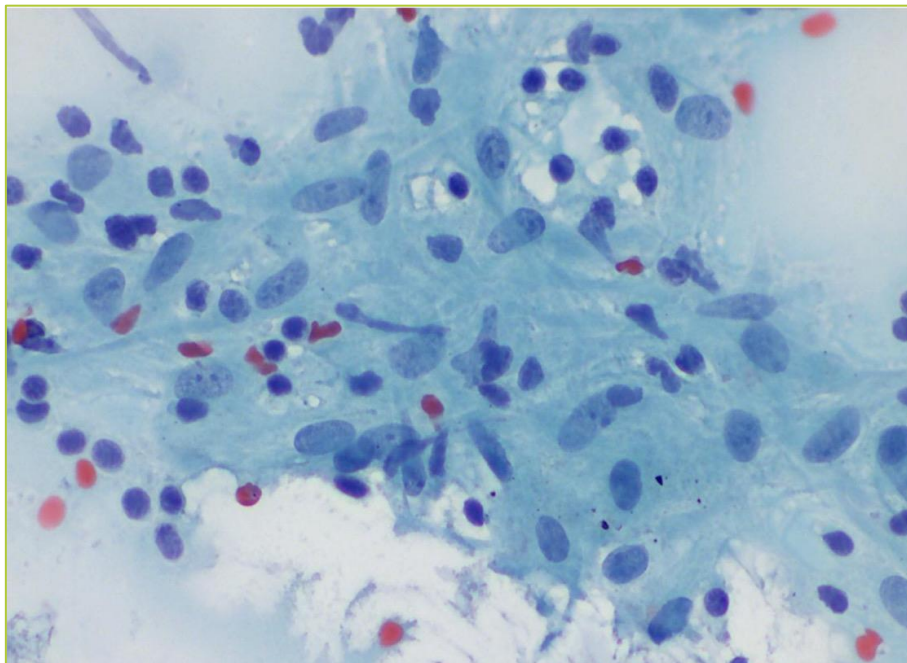
*FNA des Pankreas mit atypischer Mitose*

### Lymphknoten (EBUS-TBNA):

Optimal 2 **alkoholfixierte** Ausstrichpräparate anfertigen. Sofort (innerhalb von Sekunden!) mit Alkoholspray fixieren. Hierzu 4 Hübe aus ca. 20 cm Entfernung aufsprühen, bis ein Flüssigkeitsfilm entsteht. Übriges Punktat und Spülungen der Punktionsnadel in ein 50 ml Probengefäß mit vorgelegten 25 ml 50%igem Ethanol geben.

Bei Postversand stellen wir 30 ml Röhrchen mit 50%igem Ethanol. Diese Röhrchen in ein Sekundärröhrchen mit Saugeinlage schieben.

Objektträger vor dem Versand ca. 40 Minuten trocknen lassen.



*EBUS-TBNA Lymphknoten: Epitheloidzellen bei Sarkoidose*