

Die wichtigste Voraussetzung für die hämatologische Zytologie ist der optimale Erhaltungszustand des Zellmaterials, der entscheidend von der Art der Vorbehandlung bzw. der Fixation abhängt und die Anzahl der beurteilbaren Zellen / Zellkomplexe. Auch für die Immunphänotypisierung und für molekularpathologische / zytogenetische Untersuchungen sind aspirierte Blut – und Knochenmarksproben erforderlich.

1. Notwendige Probenmenge

Je nach Untersuchungsmethode werden unterschiedliche Probenmengen benötigt:

- Zytomorphologie: je 6-8 ungefärbte Blut- und Knochenmarkausstriche, alternativ 2-5 ml Flüssigmaterial, mit denen die Ausstriche vor Ort angefertigt werden können
- In situ Hybridisierung: 2-3 ungefärbte Blut- und Knochenmarkausstriche
- Molekularpathologie: möglichst 5-10 ml Knochenmark/peripheres Blut/andere Proben nach Rücksprache, 15-20 ml bei Verlaufsuntersuchungen im peripheren Blut
- Immunphänotypisierung: möglichst 5-10 ml Knochenmark/Blut, 3 - 5 ml Liquor, Pleura, Aszites
- Zytogenetik: möglichst 5-10 ml Knochenmarkspirat

2. Verarbeitung des zytologischen Materials

2.1. Erforderliche Antikoagulation

Je nach Untersuchungsmethode und Material werden bestimmte Antikoagulanzen benötigt:

- Zytomorphologie: EDTA oder Citrat, Heparin ist nicht geeignet
- Molekularpathologie und Immunphänotypisierung: EDTA oder Heparin oder Citrat
- Zytogenetik: Heparin

Grundsätzlich kann das Material in ein bereits mit einem Antikoagulant versetztes Röhrchen eingebracht werden, wobei zur Fehlerminimierung am besten ein vom Laborversand angefordertes Originalröhrchen benutzt werden sollte, wodurch auch weitere Arbeitsgänge entfallen (s. 2.5).

2.2. Herstellung der Ausstriche

2.2.1. Nativmethode

Unmittelbar nach der Aspiration wird Markblut in Nähe des beschrifteten Teils auf einen schräggestellten Objektträger ausgespritzt. Sofort danach sollten dann mit einem Deckgläschen Markbröckel mit der Kante aufgenommen werden und wie peripheres Blut ausgestrichen werden. In der „Fahne“ sollten dann die Bröckelchen erkennbar sein.

Vorteil dieser Methode: Brillante Darstellung der Einzelzellen, daher optimal beurteilbare Zytologie.

Nachteil der Methode: Rasche Gerinnung des Markblutes. Es kann nur eine begrenzte Anzahl von Ausstrichen hergestellt werden. Markbröckelchen können fehlen, so dass die Zellularität und der Eisengehalt nicht zuverlässig ermittelt werden kann.

2.2.2. Knochenmarkquetschpräparate mit Natriumcitrat – Antikoagulation

Hier sollte 3-5 ml Knochenmarkblut in eine 20 ml Spritze überführt werden, die 2 ml Natriumcitrat-Lösung 3,13% enthält. Zur Herstellung der Ausstriche werden eine Petrischale, eine Pinzette und Objektträger benötigt. Ein Objektträger wird in die Petrischale gelegt. Vorsichtig wird das Knochenmark auf den Objektträger gedrückt. Dabei läuft das Blut vom Objektträger ab. Mit der Pinzette werden die Markbröckelchen aufgenommen und einzeln auf einen neuen Objektträger gelegt. Mit einem weiteren Objektträger werden die Markbröckelchen langsam ausgestrichen, d.h. dass der Objektträger auf die Bröckelchen gelegt und behutsam in eine Richtung gezogen wird.

Vorteil der Natriumcitrat - Antikoagulationstechnik: Die Anfertigung der Ausstriche kann mit der notwendigen Ruhe und Sorgfalt durchgeführt werden, wobei die Zeitspanne 30 Minuten nicht überschreiten sollte.

Nachteil der Natriumcitrat -Antikoagulationsmethode: Die Ausstriche erreichen nicht ganz die Brillanz der Nativmethode.

Vor der panoptischen Färbung müssen die mit der Natriumcitrat -Antikoagulationstechnik hergestellten Ausstriche für zehn Minuten mit Methanol fixiert werden, daher ist es außerordentlich wichtig, dass die Art der Ausstrichherstellung mitgeteilt wird.