

Kurzanleitung zur Materialasservierung

(Ausnahme: NHL-Studie: Aufarbeitung gemäß Vorgabe der Studie, s. dort)

WICHTIG: immer mit sterilen Handschuhen arbeiten, *steriles* Skalpell, anatomische Pinzette etc. verwenden (zum Schutz vor RNAsen und zur Erhaltung der Sterilität).

1. Vorgehensweise bei resektablem Tumor:

Der Tumor soll vom Pathologen aufgeschnitten und verteilt werden (Resektionsränder, Nekrosen beachten, beim Neuroblastom noduläre Areale immer asservieren).

Mindestens zwei repräsentative Blöcke **A** und **B** entnehmen (möglichst mehr: **C, D**, Größe ca. 1 cm³)

A und **B** jeweils in 4 Stücke teilen: **A1, A2, A3, A4** und **B1, B2, B3, B4**.

A2, A3, A4: in flüssigem Stickstoff einfrieren.

A1: zuerst 10 Tupfpräparate für FISH herstellen und dann das Stück in 4% Formalin für die Bestimmung des Tumoranteils geben. Tupfpräparate beschriften und *lufttrocknen*.

Mit **B1, B2, B3** und **B4** wie mit den A-Stücken verfahren.

Üblicherweise erhält der Pathologe das restliche Material. Falls bei einem größeren Operationspräparat der Pathologie nicht das gesamte restliche Tumorgewebe zur Diagnostik braucht, übrig gebliebenes Tumorgewebe klein schneiden, in 50 ml Becher einfrieren und versenden. *Welches Tumorgewebe grundsätzlich eingefroren werden kann, entscheidet der Pathologe!*

2. Vorgehensweise bei nichtresektablem Tumor:

Die Aufteilung des Tumorgewebes hängt von der Größe der Biopsie ab und soll vom *Pathologen* vorgenommen werden. Falls möglich, sollte der Chirurg beim Neuroblastom 2 unterschiedliche Areale A und B (Größe ca. 1 cm³) entnehmen. Abhängig von der Biopsiengröße einen Teil für die histologische Diagnostik asservieren und restliche Tumoranteile schockgefrieren (s.o.). Bei kleinen Biopsien entscheidet der Pathologe, wie viel Gewebe eingefroren werden kann, was möglichst geschehen sollte. (Unbedingt erforderlich beim Neuroblastom: stratifizierende Marker)

Hinweise zum Einfrieren in flüssigem Stickstoff:

- 50 ml Becher mit flüssigem Stickstoff füllen
- Mehrere 1,8 ml Röhrchen (ROT) beschriften (Name, Geburtsdatum, Lokalisation (A, B), OP-Datum)
- Tumoranteile, die nicht in die 1,8 ml Röhrchen passen, klein schneiden
- Schockgefrieren durch Fallenlassen in flüssigem Stickstoff (*NICHT mit der Pinzette in den Stickstoff eintauchen und Stücken NICHT an der Gefäßwand haften lassen!*)
- 1,8 ml Röhrchen aus dem flüssigen Stickstoff nehmen
- Gefrorene Stücke in 1,8 ml Röhrchen überführen und verschließen (es darf KEIN flüssiger Stickstoff in den Röhrchen sein!). Uhrzeit notieren
- Verschlussene Röhrchen mit Tumorstücken in flüssigem Stickstoff gefroren halten
- Dauer und Zeit auf dem Einsendebogen notieren
- Falls erforderlich: Lagerung bei -70 bzw. -80 °C bis zum Versand

Vergleichsblut und Normalgewebe:

5-10 ml peripheres Blut in Citrat-Monovette (grün) abnehmen, gut durchmischen, aber nicht schütteln und in flüssigem Stickstoff einfrieren.

Vergleichsgewebe evtl. klein schneiden und ebenfalls in flüssigem Stickstoff in 1,8 ml Röhrchen (grün) einfrieren. (Vorgehen s.o.)

Versand

Tiefgefrorene Tumorstücke in 1,8 ml Röhrchen, Normalgewebe und Citratblut auf Trockeneis in der Tumorbox per Express versenden. Kammer in der Tumorbox komplett mit Trockeneis füllen.

Tumortupfpräparate in den Deckel der Tumorbox (4 °C) legen.