

# Präanalytik- Handbuch

Uniklinikum Ulm

Institut für Pathologie

und Fachbereich Pathologie und  
Molekularpathologie des MVZs am UKU

Prof. Dr. med. Dr. nat. med. Nadine Gaisa

Informationen für Einsender zur Entnahme,  
Lagerung und Transport von Probenmaterial für  
histopathologische, immunhistochemische,  
zytopathologische und molekularpathologische  
Untersuchungen

Bearbeiter*in	Freigeber*in	ID	Revision	Seite
Dörffer, Nicole	Prof.Dr.Dr. Gaisa, Nadine	97130	007/17.04.2026	1 von 15

## Inhalt

1	Ziel und Zweck.....	3
2	Zuständigkeit.....	3
3	Geltungsbereich.....	3
4	Mitgeltende Unterlagen.....	3
5	Verfahrensbeschreibung.....	4
5.1	Generelle Hinweise zur Einsendung von Primärproben.....	4
5.2	Kennzeichnung von Proben.....	4
5.3	Histologisches Probenmaterial.....	5
5.3.1	Fixierung von histologischen Proben.....	5
5.4	Zytologisches Probenmaterial (extragenitale Zytologie).....	6
5.4.1	Flüssigkeiten zur zytologischen Untersuchung.....	6
5.4.2	Urin/ Blasenspülflüssigkeit.....	6
5.5	Zytologisches Probenmaterial (Gynäkologische Zytologie).....	6
5.5.1	Fixierung von Ausstrichen.....	6
5.6	Hinweis für Immunhistochemische Untersuchungen.....	6
5.7	Informationen für die einsendenden Ärzte.....	6
5.8	Probenannahme.....	8
5.9	Notwendige Informationen auf dem Einsendeschein Untersuchungsschein.....	8
5.9.1	Zusätzliche Informationen bei Untersuchungen für das Modellvorhaben.....	8
5.10	Hinweis zur Fixierung des Gewebematerials.....	9
5.11	Hinweise zur Entkalkung von Knochenproben.....	9
5.12	Allgemeine Hinweise zu den molekularpathologischen Analysen.....	10
5.12.1	Hinweise für den Versand von Blutproben zur Isolierung von cfDNA.....	11
5.12.2	Informationen zur Einsendung von Proben für die Lungen-Krebs-Analyse im nationalen Netzwerk Genomische Medizin (nNGM).....	11
5.12.3	Informationen zur Einsendung von Proben für die Analyse im Rahmen des Zentrums für personalisierte Medizin (ZPM).....	11
5.12.4	Hinweise für den Versand von Proben zur EndoPredict®- Testung.....	12
5.12.5	Spezifische Hinweise für die Mutationsanalysen.....	12
5.12.6	Spezifische Hinweise für die Next-Generation-Sequenzierung (NGS).....	13
5.12.7	Spezifische Hinweise für die FISH- Analysen.....	13
5.12.8	Spezifische Hinweise für die Erregerdiagnostik.....	14
5.12.9	Spezifische Hinweise für die Klonalitätsanalysen (Lymphomdiagnostik).....	14
5.12.10	Spezifische Hinweise für die MSI-Analyse (ähnlich auch für STR-Analytik).....	14
5.12.11	Spezifische Hinweise für die HRD-Analytik.....	14
5.13	Versand der Inspektionsberichte.....	15

Bearbeiter*in	Freigeber*in	ID	Revision	Seite
Dörffer, Nicole	Prof.Dr.Dr. Gaisa, Nadine	97130	007/17.04.2026	2 von 15

## 1 Ziel und Zweck

Dieses Handbuch soll dem Einsender von Gewebeproben und Körperflüssigkeiten zur Durchführung einer histologischen, immunhistochemischen, zytologischen und molekularpathologischen Diagnostik als Leitfaden für die Behandlung der zu versendenden Proben dienen.

Es erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit und muss dem jeweiligen Kenntnisstand der Wissenschaft und Technik angepasst werden.

## 2 Zuständigkeit

Sekretariat	Versand der Befunde, Rückfragen, Schreiben der Befunde (in Ausnahmefällen)
Eingangslabor	Probenannahme, -kontrolle
Pathologen	histopathologische Befunderstellung, Identifizierung der Analyseareale, medizinische Validation
MTA	Anfertigung der histopathologischen, immunhistochemischen und zytologischen Präparate und Färbungen sowie der molekularpathologischen Labor-Analysen
Naturwissenschaftler	Auswertung der molekularpathologischen Ergebnisse und Verfassen der technischen Berichte
Bio- IT	Verarbeitung von Daten

## 3 Geltungsbereich

Institut für Pathologie am Universitätsklinikum Ulm und Fachbereich Pathologie und Molekularpathologie des MVZs am Universitätsklinikum Ulm

## 4 Mitgeltende Unterlagen

[Abgabe von Gewebe zur Schnellschnittuntersuchung FB-HIST 5-2](#)

[Analyseauftrag FB-PA 1](#)

[Anforderungsbogen für Zusatzuntersuchungen FB-PA 2](#)

[Anweisung Einsender Exom FB-PE 15](#)

[Anweisung Einsender Liquid Biopsy FB-PE 13](#)

[Beiblatt Einsender Probengefäße FB-HIST 1-7](#)

[Checkliste Einsender Probentransport OP FB-HIST 1-6](#)

[Checkliste Einsender Probentransport Schnellschnitt FB-HIST 1-8](#)

[Checkliste Einsender Probentransport zytologisches Material FB-Zyto 15](#)

[Durchführung von Mutationsanalysen VA-VD 3](#)

[Erreger-Nachweise VA-VD 5](#)

[FISH-Analysen VA-VD 4](#)

[Herzbiopsie-Analyse VA-VD 6](#)

Bearbeiter*in	Freigeber*in	ID	Revision	Seite
Dörffer, Nicole	Prof.Dr.Dr. Gaisa, Nadine	97130	007/17.04.2026	3 von 15

[Klonalitätsanalyse VA-VD 2](#)

[Leistungskatalog gynäkologische Zytologie FB-IP 4](#)

[Leistungskatalog Histopathologie FB-IP 2](#)

[Leistungskatalog Molekularpathologie FB-IP 1](#)

[Leistungskatalog Obduktion FB-IP 5](#)

[Leistungskatalog Zytologie FB-IP 3](#)

[Panel Analytik Überblick FB-PA 1-1](#)

[Überweisung externe Einsender FB-PA 161](#)

[Unvollständiger Probeneingang Institut FB-PA 172](#)

[Unvollständiger Probeneingang Molekularpathologie FB-PA 10](#)

[Versandmaterialanforderung intern/ Taxi FB-PA 177](#)

[Versandmaterialanforderung Postversand FB-PA 176](#)

## 5 Verfahrensbeschreibung

### 5.1 Generelle Hinweise zur Einsendung von Primärproben

Für den Versand von Primärproben für die gängige Diagnostik können dem Einsender

- Gefäße (leere Gefäße in einer Größe von 35 ml bis 5 L, gefüllt mit 4%iger gepufferter neutraler Formaldehydlösung, in den Gefäßgrößen 20 ml und 50 ml),
- Einsendescheine,
- Versandmaterial,
- und Versandmaterialanforderungsscheine

zur Verfügung gestellt werden. Bitte erfragen Sie nähere Informationen bei Frau Hörmann (0731/500-56347) oder fordern Sie eine Versandmaterial-Anforderung per Fax (0731/500-56396) an. Zusätzlich kann der Versandanforderungsschein auch von internen Einsendern (**FB-PA 177**) über roXtra aufgerufen werden und von externen Einsendern über die Instituts-Homepage unter dem Menü Formulare (**FB-PA 176**).

Die Proben können materialabhängig im Temperaturbereich von 2 bis 25 °C über mehrere Tage transportiert/gelagert werden (siehe gesonderte Anmerkungen zum Probenmaterial).

Der Versand der Proben muss so erfolgen, dass eine Gefährdung Dritter ausgeschlossen ist und die Integrität der Proben sichergestellt ist.

Bei ungeeigneten oder beschädigten Proben wird der Einsender unverzüglich informiert.

Zu beachten ist, dass ein fehlerhaftes Versandprozedere (z.B. durch mangelhafte Fixation bzw. generell fehlerhafte Präanalytik) zu einem immer bestehenden Restrisiko in der Untersuchung führt, welches zu einer Einschränkung der diagnostischen Beurteilbarkeit führen kann, diese gelegentlich auch unmöglich macht.

### 5.2 Kennzeichnung von Proben

Die **korrekte** und **eindeutige** Kennzeichnung von histologischen Proben ist entscheidend für die Sicherstellung der Qualität und Integrität von Diagnoseergebnissen. Jede Probe muss mit einem klaren, unverwechselbaren Identifikationssystem versehen werden, um Fehler und Verwechslungen zu vermeiden. Die Kennzeichnung sollte die folgenden Informationen umfassen:

Bearbeiter*in	Freigeber*in	ID	Revision	Seite
Dörffer, Nicole	Prof.Dr.Dr. Gaisa, Nadine	97130	007/17.04.2026	4 von 15

- **Personalien des Patienten:** vollständiger Name, Geburtsdatum, Geschlecht, Art der Versicherung (bei Privatpatienten Anschrift des Patienten) und bei ambulanten Kassenpatienten einen KV-Schein
- **Probenbezeichnung:** Die Art der entnommenen Probe (z. B. Gewebeat, Organ) muss klar angegeben werden, um eine präzise Analyse zu ermöglichen.
- **Entnahmeort:** Es muss der genaue Ort der Probenentnahme dokumentiert werden, etwa der spezifische Bereich des Organs oder Gewebes.
- **Entnahmedatum und -zeit:** Das Datum und die Uhrzeit der Entnahme sind zu vermerken, um den korrekten Kontext und die Reihenfolge der Probenentnahmen zu gewährleisten.
- **Verpackung und Transport:** Jede Probe muss in einem geeigneten Behälter verpackt werden, der die Identifikation während des Transports und der Lagerung garantiert.
- **Zusätzliche Dokumentation:** Wichtig sind noch die Angaben zu klinischen Befunden (Anamnese und Vorbefunde) sowie die Fragestellung.

Die Kennzeichnung muss sowohl auf der **Probe selbst** als auch auf **allen Begleitdokumenten** (wie Einsendeschein) konsistent und deutlich sichtbar sein. Unleserliche, fehlende oder ungenaue Informationen können zu fehlerhaften Diagnosen führen und stellen ein erhebliches Risiko dar. Weiterhin sollte eine **Telefonnummer** für Befundrückfragen angegeben werden und der **Name des einsendenden Arztes in lesbarer Schrift** vermerkt werden.

Einsendungen, die nicht den genannten Vorgaben entsprechen, können vom Institut für Pathologie nicht analysiert werden und werden mit dem Begleitschreiben unvollständiger Probeneingang (FB-PA 172) an die Einsender zurückgesandt.

### 5.3 Histologisches Probenmaterial

Zur Verhinderung von Austrocknung und Autolyse/ Heterolyse muss jede Gewebeprobe sofort fixiert werden. Dies gilt vor allem für Proben für die Routinehistologie, wie z.B. Biopsien und Operationspräparate.

**Ausnahmen:** Schnellschnitte und Proben für Biobanking, diese werden unfixiert versandt.

**Wichtig:** Telefonische Anmeldung für Schnellschnittuntersuchungen von externen Einsendern!

#### 5.3.1 Fixierung von histologischen Proben

Um eine optimale Fixierung zu erreichen, muss folgendes beachtet werden:

- Gewebeprobe sofort in Fixiermittel einbringen
- empfohlenes Fixiermittel: gepufferte, 4%-ige Formaldehydlösung (Formalin)
- ausreichend Fixiermittel verwenden (Mengenverhältnis von Gewebe zu Fixiermittel sollte nach Möglichkeit 1:10 betragen, mindestens aber 1:3)
- Das Fixiermittel sollte von allen Seiten an das Präparat gelangen können (immer zuerst das Fixiermittel in das Probengefäß geben und dann erst das Gewebe einbringen – die Gewebe sollten nicht zusammen bzw. am Boden der Gefäße kleben!)

**Geeignete Probengefäße:** ausreichende Größe, weite Öffnung, gute Dichtung, bruchstabil. Solche, mit Formalin vorgefüllten, Probengefäße sowie Übergefäße können über unser Institut angefordert werden.

Probenmaterial von Patient/innen mit Verdacht auf oder gesicherter Diagnose einer durch Körperflüssigkeiten übertragbaren Infektionskrankheiten sind sowohl am Probengefäß als auch am Einsendungsschein zu kennzeichnen.

Bearbeiter*in	Freigeber*in	ID	Revision	Seite
Dörffer, Nicole	Prof.Dr.Dr. Gaisa, Nadine	97130	007/17.04.2026	5 von 15

Bitte beachten Sie auch unsere Checkliste Einsender Probentransport (**FB-HIST 1-6**) und das zugehörige Beiblatt Einsender Probengefäße (**FB-HIST 1-7**) und ebenso für die internen Einsendungen von Schnellschnitten die Checkliste Probentransport Schnellschnitt (**FB-HIST 1-8**).

## 5.4 Zytologisches Probenmaterial (extragenitale Zytologie)

Probenmaterial zur zytologischen Untersuchung sollte stets so rasch wie möglich an das Institut für Pathologie versendet werden.

### 5.4.1 Flüssigkeiten zur zytologischen Untersuchung

Seröse Flüssigkeiten, Punktate, Aspirate Spülzytologien und andere Flüssigkeiten werden grundsätzlich **unfixiert (nativ)** versandt und müssen bis zum Transport im **Kühlschrank bei 2-8°C** gelagert werden. Ein rascher Transport (innerhalb von 48 h) an das Institut für Pathologie ist einer Lagerung beim Einsender/ an den einsenden Abteilungen stets vorzuziehen.

### 5.4.2 Urin/Blasenspülflüssigkeit

Diese werden entweder 1:1 mit mindestens 50%igem EtOH oder Zytospin-Collection-Fluid fixiert.

Bitte beachten Sie auch hier unsere Checkliste Einsender Probentransport zytologisches Material (**FB-Zyto 15**).

## 5.5 Zytologisches Probenmaterial (Gynäkologische Zytologie)

Wichtig bei gynäkologisch-zytologischen Abstrichen ist eine **repräsentative und schonende Materialgewinnung**.

- Ekto- und Endocervix abstreichen (im Ausstrich sollten Plattenepithelien und Zylinderepithelien sowie Zellen aus eventuellen suspekten Arealen vorhanden sein)
- möglichst blutungsfreie Abstriche
- Ausstriche dünn (nicht zu dick) anfertigen
- Abnahmegeräte längs auf den Objektträger abrollen (nicht kreisförmig)
- gyn.-zytologische Ausstriche immer fixieren (nicht lufttrocknen lassen)

### 5.5.1 Fixierung von Ausstrichen

- **Immer feucht fixieren** (Ausstrich nicht trocknen lassen! Innerhalb von 60 Sekunden nach dem Ausstreichen feucht fixieren, da sonst Trocknungsartefakte entstehen.)
- **geeignete Fixiermittel:**

- **Fixationsspray: M-Fix Fixationsspray („Merckofix“), Fa. Merck**

Das noch feuchte Ausstrichpräparat aus einem Abstand von 30 cm fixieren.

Die Objektträger bitte **bruchsicher** in geeigneten Verpackungen transportieren. Bruch sichere Verpackungen zum Versand von Objektträgern können an unserem Institut angefordert werden.

Der Versand und die Lagerung vor dem Versand können bei Raumtemperatur erfolgen.

## 5.6 Hinweis für Immunhistochemische Untersuchungen

Für immunhistochemische Untersuchungen ist keine spezielle Präanalytik der Proben notwendig, da FFPE-Blöcke das Ausgangsmaterial darstellen.

## 5.7 Informationen für die einsendenden Ärzte

### Für interne Einsender

Bearbeiter*in	Freigeber*in	ID	Revision	Seite
Dörffer, Nicole	Prof.Dr.Dr. Gaisa, Nadine	97130	007/17.04.2026	6 von 15

Bitte fordern Sie Zusatzuntersuchungen über das klinik-interne SAP- System „klinischer Auftrag Pathologie“ an. **Zusätzlich zu der digitalen Anforderung benötigen wird die ausgedruckte Anforderung als Begleitdokument für die eingesandten Proben.**

**Für externe Einsender bzw. Zusender für molekularpathologischen Untersuchungen**

Bitte verwenden Sie unsere vorgedruckten Einsendescheine und Versandmaterialien.

Für die Durchführung von molekularpathologischen Untersuchungen übersenden Sie bitte das bereits fertige externe FFPE-Material als **Blöcke**. Im Institut werden die notwendigen weiterführenden Schritte durchgeführt (s. Abb. 1). Je nach gewünschter Untersuchung (Leistungskatalog, s. u.) sind aber unterschiedliche Details zu beachten, welche weiter unten kurz dargestellt sind.

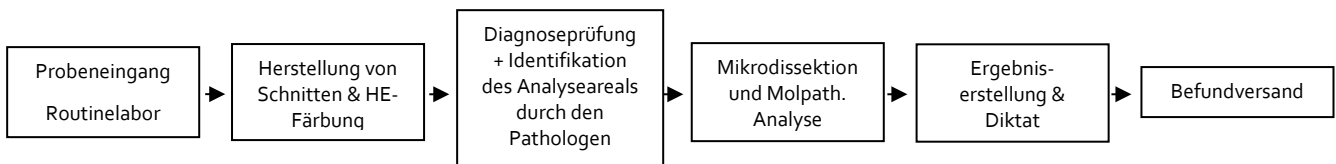


Abbildung 1: Ablaufschema molekularpathologische Analysen

Ansprechpartner			
<b>Histologie &amp; Schnellschnitte</b>	Dr. Annika Beck Dr. Silke Hohensteiner	Tel.: 0731 500 56355 Tel.: 0731 500 56354	annika.beck@uniklinik-ulm.de silke.hohensteiner@uniklinik-ulm.de
<b>Immunhistochemie</b>	PD Dr. Frank Leithäuser Dr. Lisa Baumann	Tel.: 0731 500 56380 Tel.: 0731 500 56351	frank.leithaeuser@uniklinik-ulm.de lisa.baumann1@uniklinik-ulm.de
<b>Zytologie</b>	Dr. Julian Benckendorff	Tel.: 0731 500 56356	julian.benckendorff@uniklinik-ulm.de
<b>Obduktionen</b>	Lisa Hörmann Dr. Svenja Hartung	Tel.: 0731 500 56347 Tel.: 0731 500 56311	lisa.hoermann@uniklinik-ulm.de svenja.hartung@uniklinik-ulm.de
<b>Molekularpathologie</b> Mutationsanalytik, Next-Generation-Sequencing, Liquid Biopsy, HRD-Analytik, ZPM/MoFa, Exom- / Genom- Analytik & Modellvorhaben EndoPredict	Prof. Dr. Ralf Marienfeld	Tel.: 0731 500 56306	ralf.marienfeld@uniklinik-ulm.de
<b>Molekularpathologie</b> nNGM-Analytik	Uwe Gerstenmaier	Tel.: 0731 500 56322	uwe.gerstenmaier@uniklinik-ulm.de
<b>Molekularpathologie</b> Erregernachweis/ Klonalitätsanalytik	PD Dr. Frank Leithäuser	Tel.: 0731 500 56380	frank.leithaeuser@uniklinik-ulm.de
<b>Molekularpathologie</b> FISH-Analytik	Prof. Dr. Thomas Barth	Tel.: 0731 500 56300	thomas.barth@uniklinik-ulm.de
<b>Biobank</b>	Nicole Dörffer Michael Held Dr. Ulrike Kostezka	Tel.: 0731 500 56339 Tel.: 0731 500 56330 Tel.: 0731 500 56032	nicole.doerffer@uniklinik-ulm.de michael.held@uniklinik-ulm.de ulrike.kostezka@uniklinik-ulm.de
<b>Studien</b>	Nicole Dörffer Dr. Ulrike Kostezka	Tel.: 0731 500 56339 Tel.: 0731 500 56302	studien-pathologie@uniklinik-ulm.de sekretariat-pathologie@uniklinik-ulm.de

Tabelle 1: Ansprechpartner für Analysen

Bearbeiter*in	Freigeber*in	ID	Revision	Seite
Dörffer, Nicole	Prof.Dr.Dr. Gaisa, Nadine	97130	007/17.04.2026	7 von 15

Wir bieten unseren Einsendern eine offene, interdisziplinäre Kooperation an. Die Institutsleitung und die zuständigen Mitarbeiter informieren und beraten Ärzte bei Bedarf umfassend in Bezug auf Indikationsstellung, Präanalytik und Befundinterpretation.

Die Beratung von Patienten erfolgt in der Regel durch die klinisch behandelnden Ärzte, da uns nicht alle Informationen zu den Patienten vorliegen. Eventuelle direkte Rücksprachen sind möglich.

## 5.8 Probenannahme

Es werden zu folgenden Zeiten – oder nach vorheriger Absprache – Proben angenommen und bearbeitet:

Standort	Wochentag	Material	Uhrzeiten
Oberer Eselsberg	Montag - Freitag	Formalin-fixiert	08.00 Uhr bis 17.00 Uhr
Oberer Eselsberg	Montag - Freitag	Schnellschnitt	08.00 Uhr bis 15.00 Uhr *
Michelsberg	Montag - Donnerstag	Formalin-fixiert	07.00 Uhr bis 15.10 Uhr
Michelsberg	Freitag	Formalin-fixiert	07.00 Uhr bis 14.00 Uhr
Michelsberg	Montag - Donnerstag	Schnellschnitt	08.00 Uhr bis 15.00 Uhr
Michelsberg	Freitag	Schnellschnitt	08.00 Uhr bis 13.30 Uhr

**CAVE:** Eine direkte Verarbeitung am gleichen Tag der Formalin fixierten Proben ist nur bei einem Eintreffen bis 13 Uhr (am Oberen Eselsberg) und 14 Uhr (nur Mammastanzen am Michelsberg) gewährleistet.

\* Aufgrund der OP- Zeiten im Universitätsklinikum Ulm bietet das Institut für Pathologie am Standort Oberer Eselsberg eine Schnellschnittdiagnostik bis 17 Uhr (Montag- Freitag) an. Schnellschnitte, die nach 15.00 Uhr im Institut eingehen, müssen vorab telefonisch unter 0731-500 56308 angemeldet werden (siehe auch **FB-HIST 5-2 Abgabe von Gewebe zur Schnellschnittuntersuchung**).

## 5.9 Notwendige Informationen auf dem Einsendeschein Untersuchungsschein

Folgende Angaben sollen auf dem Untersuchungsschein leserlich vermerkt werden:

- Nachname, Vorname, Geburtsdatum, Adresse des Patienten;
- Kostenträger, Versicherung, Wahltarif
- Vertragsarztnummer, Krankenhaus, ggf. Station;
- Absender (Adresse des einsendenden Arztes);
- Einsendedatum;
- Untersuchungsmaterial/ Klinische Diagnose;
- Ergebnisse von histologischen Voruntersuchungen / Vorbefunde;
- Klinische Fragestellung bzw. spezifischer Untersuchungsauftrag;
- Anatomischer Entnahmeort der Probe / des Untersuchungsguts;
- (Angaben über Bestrahlung des Tumors und ggf. Vorbehandlung der Probe);

### 5.9.1 Zusätzliche Informationen bei Untersuchungen für das Modellvorhaben

- zu verwendendes Tumorgewebe (im Idealfall Angabe der vorhandenen Histologie-Nummer)

Bearbeiter*in	Freigeber*in	ID	Revision	Seite
Dörffer, Nicole	Prof.Dr.Dr. Gaisa, Nadine	97130	007/17.04.2026	8 von 15

- eindeutige Anforderung der gewünschten Analyse (falls Beschluss des Molekularen und Familiären Tumorboards des CCCU (MoFa) noch nicht vorliegt, dann bitte einen Kommentar „siehe MoFa- Beschluss“)
- Bei mehr als nur TMB/WES/WGS-Anforderung für das Modellvorhaben, z.B. zusätzliche Archer-Analytik, IHC, FISH bitte hierfür separate Anforderung stellen.
- MoFa-Indikationsboard muss bereits erfolgt sein
- Einverständniserklärung zu genetischen Untersuchungen muss dem ZPM vorliegen
- Teilnahmeerklärung für das Modellvorhaben muss dem ZPM vorliegen
- Broad Consent soll dem ZPM vorliegen.

Bei fehlenden oder widersprüchlichen Angaben erfolgt nach Möglichkeit eine sofortige Rückfrage beim Einsender, wobei dieser immer die Verantwortung für die korrekte und gewünschte Anforderung einer Leistung trägt. Ein bloßer Verweis auf Protokolle oder dritte Dokumente und darin enthaltene Beschlüsse genügt nicht und eine solche Anforderung wird regelmäßig zurückgewiesen.

### 5.10 Hinweis zur Fixierung des Gewebematerials

Die Formalin-Fixierung des Gewebes ist ein kritischer Schritt, der die nachfolgenden Untersuchungen wesentlich beeinflussen kann, da z. B. eine „Überfixierung“ des Gewebes eine stark beeinträchtigte Nukleinsäure-Qualität nach sich ziehen kann (DNA, RNA). Um Ihnen als Einsender eine kleine Hilfe an die Hand zu geben, sind im Folgenden die Verfahrensweisen zur Herstellung von FFPE-Materialien im Institut für Pathologie des Universitätsklinikums Ulm dargestellt:

#### **Verfahren:**

Die Gewebeproben werden in geeigneten Behältern für ca. 12 Stunden (abhängig von Art und Größe der Probe) in eine neutral gepufferte 4%igen Formaldehyd bei Raumtemperatur gelegt. Es wird empfohlen, für die Fixierung ein Volumen des Fixativs zu verwenden, das 1:3 bis 1:10 Mal so groß ist wie das Volumen des zu fixierenden Gewebes

Geeignete neutral gepufferten 4%igen Formalin-Lösungen sind kommerziell erhältlich. Geeignete Lösungen sind z. B.:

Formaldehyd 4% gepuffert methanolarm (R. Langenbrinck Labor- und Medizintechnik)

Formaldehyd-Lösung gepuffert (Fisnar).

### 5.11 Hinweise zur Entkalkung von Knochenproben

Vor der Paraffin-Einbettung von Knochengewebe, wie z.B. von Knochenstanzen, erfolgt in der Regel eine Entkalkung des Gewebes. Auch der Entkalkungsprozess bzw. die dafür verwendeten Lösungen und Reagenzien können eventuell nachfolgende molekularpathologische Analysen wesentlich beeinflussen. Um Ihnen als Einsender eine kleine Hilfe an die Hand zu geben, sind im Folgenden die Verfahrensweisen und Materialien dargestellt, die im Institut für Pathologie des Universitätsklinikums Ulm für die Entkalkung von Knochengewebe für die nachfolgende FFPE-Materialherstellung bzw. molekularpathologische Analysen angewendet werden (**SOP-HIST 9**).

Knochen bzw. knöchriges Gewebe kann entweder mit einer EDTA-Lösung oder mit einer Ameisensäure-Lösung entkalkt werden. Bitte beachten Sie, dass eine Entkalkung mit Ameisensäure die DNA im Gewebe stark beschädigt und deswegen nicht geeignet ist, falls nachfolgende molekularpathologische Analysen durchgeführt werden sollen.

Empfohlene EDTA-Lösung für das Entkalken von Knochenstanzen:

Bearbeiter*in	Freigeber*in	ID	Revision	Seite
Dörffer, Nicole	Prof.Dr.Dr. Gaisa, Nadine	97130	007/17.04.2026	9 von 15

## Handbuch für Präanalytik VA-PA 4

Arbeitsschritt- Nr.	Reagenz	Menge	Bemerkungen
1	EDTA	200 g	
2	Formalin 4%	2000 ml	
3	NaOH	20 g	wenn sich alles gelöst hat, pH- Wert unter Rühren mit NaOH- Plättchen auf <b>7,2- 7,4</b> einstellen

Empfohlene EDTA-Lösung für das Entkalken von Knochen:

**MoL-DECALCIFIER 10, Menarini Diagnostics #51413**

Empfohlene Ameisensäure-Lösung für das Entkalken von Knochenstanzen:

Arbeitsschritt- Nr.	Reagenz	Menge	Bemerkungen
1	Aluminiumchlorid	140 g	
2	Ameisensäure	100 ml	
3	Salzsäure 37%	170 ml	
4	A. Dest.	auf 2000 ml	auffüllen

Nach 24 Stunden sollte eine Sicht- und Druckkontrolle erfolgen. Falls sich das entkalkte Gewebe leicht drücken lässt, ist die Entkalkung abgeschlossen.

## 5.12 Allgemeine Hinweise zu den molekularpathologischen Analysen

Bitte senden Sie uns nach Möglichkeit **Blöcke** zu, von denen die notwendigen Schnitte hergestellt werden können.

### **Nachweis und Verdünnungsgrenzen**

Wichtige Punkte, die in einem engen Zusammenhang mit den benötigten Materialmengen stehen, sind die Nachweis- und Verdünnungsgrenzen der durchgeführten molekularpathologischen Analysen. Grob gesagt handelt es sich bei der Nachweisgrenze um den Anteil an spezifischer DNA (z. B. mutierter DNA oder Erreger-DNA) in der eingesetzten Gesamt-DNA.

Die Verdünnungsgrenze ist die Probenmenge (z. B. ng DNA, etc.), die benötigt wird, um eine Analyse (PCR ± nachfolgende Sequenzierung) erfolgreich durchführen zu können. Die Verdünnungsgrenze ist sehr variabel und hängt von folgenden Faktoren ab:

- Größe der Gewebeprobe bzw. des Analyseareals;
- Art, Herkunft und Vorbehandlung der Proben;
- Störfaktoren (s.u.);
- Analysespezifische Variabilität.

### **Störfaktoren**

Störfaktoren sind allgemeine Faktoren, die den Erfolg der molekularpathologischen Analysen negativ beeinflussen oder gar verhindern können.

- „Überfixierung“;

Bearbeiter*in	Freigeber*in	ID	Revision	Seite
Dörffer, Nicole	Prof.Dr.Dr. Gaisa, Nadine	97130	007/17.04.2026	10 von 15

- Entkalkungsprozess;
- PCR-inhibierende Substanzen in der Gewebeprobe (z. B. Melanin, Hämoglobin, etc.);
- Bestrahlung des Patienten / des Tumors;
- Nekrose des Gewebes.

#### 5.12.1 Hinweise für den Versand von Blutproben zur Isolierung von cfDNA

Für die Mutationsanalyse aus Blutproben („Liquid Biopsy“) senden Sie uns bitte mindestens 20ml Vollblut in zwei PAXgene Blood ccfDNA Tubes (2x je ca. 10ml Blut gefüllt, Füllmenge von 10 ml ausschlaggebend für die korrekte Stabilisierung von zirkulierender, zellfreier DNA (circulating, cell-free DNA, ccfDNA)) (Qiagen, # 768115; die PAXgene Blood ccfDNA Tubes können über den Materialanforderung bei uns bestellt werden) oder ähnlich geeigneter spezifischer Röhrchen inkl. eines Überweisungsscheins sowie ggf. vorliegenden Ergebnissen vorheriger Mutationstestungen (z.B. vorheriger EGFR-Mutationstestungen) zu. So ist z.B. eine Angabe zu dem Ergebnis einer früheren EGFR-Mutationsanalyse wichtig für die biologische und klinische Beurteilung der Mutationsanalysen. Generell kann mit der aus dem Plasma gewonnenen zirkulierenden TumordNA (ctDNA) jegliche NGS-basierende DNA-Mutationsanalytik durchgeführt werden. Es gibt jedoch ggf. Einschränkungen aufgrund der ctDNA-Menge und -Güte, die aufgrund unterschiedlicher biologischer Ursachen stark schwanken können. Die Isolierung der cfDNA aus den Blutproben sowie die damit durchgeführten Analysen sind keine akkreditierten Prozesse.

#### 5.12.2 Informationen zur Einsendung von Proben für die Lungen-Krebs-Analyse im nationalen Netzwerk Genomische Medizin (nNGM)

Seit 2018 erfolgt eine Analyse von FFPE-Geweben nicht-kleinzelliger Lungenkarzinome (Non-Small Cell Lung Cancer, NSCLC) im Rahmen des nNGM-Verbundes. Diese Analyse umfasst neben immunhistochemischen Untersuchungen ein nach Plattenepithel- und Adenokarzinom stratifiziertes molekularpathologisches Programm, welches IHC-, FISH-, RNA-Fusionstranskript- sowie NGS-Panel-Sequenzierungs-Untersuchungen umfasst. Die Vorgaben für das Gewebe gleichen den allgemeinen Vorgaben für die Molekularpathologie.

**Falls Sie Interesse an einer NSCLC-Analyse im nNGM-Verbund haben, kontaktieren Sie bitte Angelika Mayer ([angelika.mayer@uniklinik-ulm.de](mailto:angelika.mayer@uniklinik-ulm.de)) oder wenden sich an Prof. Dr. Stefan Stilgenbauer oder Dr. Eugen Tausch (über CCCU).**

#### 5.12.3 Informationen zur Einsendung von Proben für die Analyse im Rahmen des Zentrums für personalisierte Medizin (ZPM)

Die Zentren für Personalisierte Medizin (ZPM) wurden als Basis einer flächendeckenden, regional koordinierten Versorgungsstruktur eingerichtet und zum 15.11.2019 durch den Landeskrankenhausausschuss ausgewiesen. Im Rahmen der Analytik für das ZPM erfolgt eine umfangreiche molekularpathologische Analyse sowie eine Diskussion der Ergebnisse im Molekularen und Familiären Tumorboard (MoFa). Eine Anmeldung erfolgt unter:

Telefon 0731 500-56056

Telefax 0731 500-56055

E-Mail [sekr.ccu@uniklinik-ulm.de](mailto:sekr.ccu@uniklinik-ulm.de)

#### **Einschlusskriterien:**

- Patientinnen und Patienten mit seltenen oder fortgeschrittenen Tumoren, oder mit Tumordispositionssyndromen;

Bearbeiter*in	Freigeber*in	ID	Revision	Seite
Dörffer, Nicole	Prof.Dr.Dr. Gaisa, Nadine	97130	007/17.04.2026	11 von 15

- Eine weitere systemische Behandlung ist möglich;
- Zugelassene Therapien stehen nicht mehr zur Verfügung;
- Eine molekulargenetische Untersuchung soll erfolgen oder ist angedacht.
- Patienten einer gesetzlichen Krankenkasse und fast aller privaten Krankenkassen (Ausnahmen sind zu beachten)

Das ZPM ist am UKU die zentrale Organisationseinheit für den speziellen Einschluss von Patientinnen und Patienten in das Modellvorhaben nach § 64e SGB V. Grundsätzlich können in dieses Modellvorhaben nur Patientinnen und Patienten aufgenommen werden, bei denen bereits eine leitliniengerechte Therapie erfolgt ist. Für die weiterführende molekulare Diagnostik stehen verschiedene NGS-basierte Verfahren zur Verfügung, das sog. große Tumormutationslast (TMB)-Panel, Whole Exome Sequencing (WES) oder Whole Genome Sequencing (WGS). Die Kriterien für den Einschluss sind bei o. g. Kontakt des ZPM zu erfahren.

Die Vorgaben für das Gewebe für die Analytik im ZPM gleicht den allgemeinen Vorgaben für die Molekularpathologie.

Falls WES oder WGS angestrebt wird, benötigen wir für die Analyse neben einem geeigneten FFPE-Tumorgewebe auch 10 ml EDTA-Blut für eine Kontrollsequenzierung. Die Anforderung und die Blutprobe senden Sie an uns, die ausgefüllte und vom Patienten unterschriebene Einwilligungserklärung nach GenDG, die Teilnahmeerklärung am Modellvorhaben und den Broad Consent senden Sie an den o.g. Kontakt/die Geschäftsstelle des ZPM. Sollte eine dieser Komponenten fehlen, können wir mit der Analyse nicht beginnen. Auch hier steht der Kontakt des ZPM für Fragen zum korrekten Ablauf zur Verfügung.

#### 5.12.4 Hinweise für den Versand von Proben zur EndoPredict®- Testung

Seit Aufnahme der Endopredict-Testung in den gesetzlichen Leistungskatalog fordern Sie diesen Test bitte mit dem üblichen Überweisungsschein bei uns an (externe Zusender) oder über das Klinik-interne System (SAP-User). Außer dem Versicherungsstatus (gesetzlich, privat, Selbstzahler) sind für die Auswertung der Nodalstatus und die Tumorgöße zwingend notwendig zu kennen. Ohne diese Angaben ist keine Reporterstellung dieses In-vitro-Diagnostikums (IVD) möglich.

#### 5.12.5 Spezifische Hinweise für die Mutationsanalysen

Die Mutationsanalysen erfolgen in der Regel durch eine PCR-vermittelte Amplifikation des zu untersuchenden DNA-Bereichs gefolgt von einer Sanger-Sequenzierung, einer Pyro-Sequenzierung oder einer NGS-Panel-Sequenzierung. **In der Regel streben wir eine NGS-basierte Sequenzierung an.** Im Folgenden sind die wichtigsten Punkte zusammengefasst, die Sie bei der Beauftragung von molekularpathologischen Untersuchungen durch das Institut für Pathologie des Universitätsklinikums Ulm beachten müssen:

##### **Nachweisgrenzen:**

Für DNA, die aus FFPE-Gewebe isoliert wird, gelten folgende Nachweisgrenzen:

- 10-20% mutierte DNA bei Nachweisen, die mittels Sanger-Sequenzierungen durchgeführt werden.
- 5-10% mutierte DNA bei Nachweisen, die mittels Pyro-Sequenzierungen durchgeführt werden.
- 3-5% mutierte DNA bei Nachweisen, die mittels NGS-Sequenzierungen durchgeführt werden.

Für zellfreie DNA (cfDNA) bzw. freie Tumor-DNA (ctDNA), die aus Liquid-Biopsy-Proben (z.B. Blut) isoliert wird, gilt folgende Nachweisgrenzen:

- $\geq 0,1\%$  mutierte DNA bei Nachweisen, die mittels NGS-Sequenzierungen durchgeführt werden ( $\geq 0,5\%$  bei ESR1/PIK3CA aus Liquid Biopsy). Es kann nicht vorhergesagt werden, wie hoch der Anteil der spezifischen Tumor-DNA an der isolierten zellfreien DNA sein wird.

Bearbeiter*in	Freigeber*in	ID	Revision	Seite
Dörffer, Nicole	Prof.Dr.Dr. Gaisa, Nadine	97130	007/17.04.2026	12 von 15

Das bedeutet, dass möglichst Proben mit hohem relevantem Tumor-Anteil (**nach Möglichkeit sollten 50-80 % eines Areals des Schnittes vitale Tumorzellen enthalten sein**) ausgewählt werden sollten. Für die Durchführung von WES wird ein Tumorzellanteil von mindestens 30% benötigt und für WGS-Analysen mindestens 40%.

Dieser hohe Tumoranteil ist notwendig, da zudem die Möglichkeit besteht, dass der Tumor bezüglich der zu analysierenden Mutation heterogen sein kann und somit nicht jede Tumorzelle die Mutation trägt. Die Verlässlichkeit der ermittelten sog. Komplexen Biomarker (TMB, HRD, MSI), die grundsätzlich eine Therapierationale darstellen können, steigt mit steigendem Tumorzellgehalt.

### **Benötigte Materialmenge (Gewebe)**

- In der Regel wird Material für 2 – 3 Schnitte (5 µm) mit ausreichendem Analyseareal benötigt;
- Größe des Analyseareals: Nach Möglichkeit 0,5 – 1 cm<sup>2</sup>;
- Empfohlener Tumoranteil im Analyseareal: ca. 50-80 %;
- Die Zugänglichkeit der Gewebeprobe wird wesentlich durch Art und Herkunft sowie durch die Vorbehandlung des Gewebes beeinflusst.

### **Benötigte Materialmenge (Blut)**

Für die DNA-Mutationsanalyse aus Blutproben („Liquid Biopsy“) senden Sie uns bitte mindestens 2x 10 ml in PAXgene Blood ccfDNA Tubes (Qiagen, # 768115) oder ähnlich geeigneten spezifischen Röhrchen.

### **5.12.6 Spezifische Hinweise für die Next-Generation-Sequenzierung (NGS)**

Für die Mutationsanalytik mittels NGS steht im Hause ein MiSeq-, ein NextSeq550DX- sowie ein NovaSeq6000-Gerät (Illumina) zur Verfügung. Momentan verwenden wir für die Tumordiagnostik eine Amplicon-basierte Re-Sequencing Technologie von QIAGEN für die NGS-basierte Mutations-Analytik sowie eine Hybridisierungs-basierte Technologie der Firma TWIST für die WES- und WGS- Analytik und FusionPlex-Panels der Firma Archer für den Nachweis von Fusionstranskripten. Die Qiagen- sowie die Archer-Technologien erlauben mit Hilfe von „unique molecular identifier“ eine Nachweisgrenze von 5 % Varianten-Allelfrequenz (für die Mutations-Analytik) bzw. einen hochsensitiven Nachweis von Fusionstranskripten. Im Einzelfall kann diese Nachweisgrenze auf 0,1 % herabgesenkt werden (z.B. bei ctDNA-Analysen), jedoch zu Lasten der Zuverlässigkeit. Alle aufgeführten Genbereiche werden parallel sequenziert, es werden jedoch **nur die angeforderten Untersuchungen abgerechnet**. Die Ergebnisse der zusätzlichen Sequenzierungen können jederzeit auf separate Anforderung ausgewertet und nachfolgend als Zusatzbefund offengelegt werden.

Bitte beachten Sie, dass die beantragte Testung ausschließlich der Untersuchung auf (therapierelevante) somatische Mutationen im Tumorgewebe dient. Die Untersuchung stellt keine Keimbahnanalytik dar bzw. es kann bei der Detektion von Varianten grundsätzlich keine Aussage gegeben werden, ob es sog. Tumor-only Varianten sind oder diese aus der Keimbahn stammen.

Das komplette Leistungsspektrum der auf NGS basierenden Mutations- und Fusionstranskript-Analytik ist auf FB-PA 1-1 nachzulesen. **Bitte kontaktieren Sie uns, wenn Sie Fragen zur NGS-Mutationsanalytik inkl. der Auswahl der Methodik bzw. des Panels haben.**

### **5.12.7 Spezifische Hinweise für die FISH- Analysen**

Auch für die FISH-Analysen gilt, dass die Einsendung von Paraffin-Blöcken bevorzugt wird. Ist es jedoch notwendig Schnitte einzuschicken so ist darauf zu achten, dass

Bearbeiter*in	Freigeber*in	ID	Revision	Seite
Dörffer, Nicole	Prof.Dr.Dr. Gaisa, Nadine	97130	007/17.04.2026	13 von 15

- Genug Material / zu analysierende Zellen auf dem Schnitt vorhanden sind (mindestens 50 Tumorzellen pro Schnitt / Areal);
- Mindestens vier Schnitte mit einer Schnittdicke von 2 µm eingesendet werden (das analysierte Material wird eingerahmt: Ein Schnitt für die erste HE-Färbung, zwei Schnitte für die Analyse und ein Schnitt für die zweite HE-Färbung);
- Die verwendeten Objektträger für eine FISH-Analyse tauglich sind (z. B. können Sie Objektträger der Firma Thermo Scientific, MenzelGläser, Superfrost PLUS (die Oberfläche sollte positiv geladen sein) oder ein vergleichbares Produkt verwenden).

#### 5.12.8 Spezifische Hinweise für die Erregerdiagnostik

Die Erreger-Analysen erfolgen mittels PCR oder Nested-PCR und Agarose-Gelelektrophorese. Für den Nachweis von HPV-Isotypen in FFPE-Gewebe erfolgt eine zusätzliche Sequenzierung der PCR-Produkte. Die Nachweise sind z. T. sehr sensitiv (z. T. können 1-2 Kopien des analysierten Erreger-DNA-Bereichs nachgewiesen werden). Essentiell für den Nachweis der Erreger sind eine gute DNA-Qualität (s. o., „Störfaktoren“) und eine ausreichende Probenmenge (identisch mit den Angaben für Mutationsanalysen).

#### 5.12.9 Spezifische Hinweise für die Klonalitätsanalysen (Lymphomdiagnostik)

Mittels der Klonalitätsanalysen kann zwischen dem Vorliegen eines Lymphoms (= klonale Expansion von Lymphozyten) in einer Gewebeprobe oder eines Gemisches an reaktiven Lymphozyten differenziert werden. Dazu werden die variablen Regionen des rearrangierten B-Zell- oder T-Zell-Rezeptors mittels PCR amplifiziert. Die so gewonnenen PCR-Amplifikate werden durch eine hochauflösende Kapillarelektrophorese (Promega Spectrum Compact) analysiert. Auch hier gelten die bereits angesprochenen Aspekte zum Anteil der Tumorzellen (bzw. Anteil der verdächtigen Lymphozyten) in der Probe, zu den Materialmengen sowie zu den möglichen Störfaktoren. Die Nachweisgrenze liegt im Allgemeinen bei ca. 10-20 % (Hier: Anteil eines B- oder T-Zellklons an der gesamten B- oder T-Zellpopulation im Analyseareal).

#### 5.12.10 Spezifische Hinweise für die MSI-Analyse (ähnlich auch für STR-Analytik)

Die Mikrosatelliten-Analyse erfolgt mittels Multiplex-PCR und Kapillar-Elektrophorese (Promega Spectrum Compact). Wie bei allen PCR-basierenden Nachweismethoden in der Molekularpathologie gelten auch hier die oben genannten Kriterien hinsichtlich der möglichen Störgrößen. Es handelt sich um einen sehr empfindlichen Assay. Für die Durchführung der MSI-Analyse wird nur Material von einem Schnitt benötigt (Empfehlung: 5µm mit einem Analyse-Areal von ca. 0,5 - 1 cm<sup>2</sup>). **Folgende Punkte sind wichtig:**

1. Bitte nur Paraffin- Blöcke einsenden (Material bleibt frischer)
2. Immer Normalgewebe als Vergleich mit einsenden (entweder auf demselben Paraffin-Block oder einen weiteren Paraffin-Block beilegen).

#### 5.12.11 Spezifische Hinweise für die HRD-Analytik

Für die Durchführung der Homologen Rekombinationsdefizienz (HRD)-Analytik ergeben sich die gleichen Voraussetzungen wie für alle anderen NGS-basierten Analysen hinsichtlich der Menge und Güte des Gewebes, des Tumorzellgehalts sowie der Nachweisgrenze für die Varianten in den Homologen Rekombinationsreparatur (HRR)-Genen. Der Tumorzellgehalt sollte möglichst hoch sein (>=30-40%). Es erfolgt darüber hinaus die Bestimmung und der Bericht über HRD-spezifische Alterationen im Tumorgewebe (loss-of-heterozygosity (LOH), Telomer-Imbalancen (TOI), große genomische Umlagerungen (LST)), die in einen gemeinsamen sog. HRD-Score und folgend HRD-Status einfließen. Diese Analyse kann grundsätzlich bei allen Tumoren durchgeführt werden, für eine therapeutische Option bei positivem HRD-Status ist die Fachinformation des geplanten Medikaments zu beachten.

Bearbeiter*in	Freigeber*in	ID	Revision	Seite
Dörffer, Nicole	Prof.Dr.Dr. Gaisa, Nadine	97130	007/17.04.2026	14 von 15

### 5.13 Versand der Inspektionsberichte

Inspektionsberichte (Befunde) können vorzugsweise elektronisch, aber auch per Post, FAX versendet werden.

#### **Elektronischer Versand**

Üblicherweise werden Befunde auf elektronischem Wege übermittelt (Klinikumsintern über das SAP-System). Die Übermittlung erfolgt über eine gesicherte DFÜ-Verbindung an einen definierten Empfänger. Es erfolgt keine Übermittlung per Email. Unter den elektronisch versendeten Befunden befindet sich ein Vermerk, dass diese Befunde durch einen Facharzt freigegeben wurden und ohne Unterschrift gültig sind.

#### **Versand per FAX**

Telefonisch angeforderte Berichte werden nur an bekannte Einsender übermittelt. Voraussetzungen sind zum einen die bereits erfolgte Freigabe des betroffenen Befundes durch den zuständigen Arzt, und zum anderen eine Bestätigung des Empfängers, dass das FAX-Gerät in einem nicht-öffentlichen, gesicherten Umfeld steht (dann kann der betreffende Befund durch das Sekretariat gefaxt werden).

#### **Zudem gilt für die Übermittlung von Inspektionsberichten bzw. Prüfergebnissen:**

- Technische Mitarbeiter (MTA, Naturwissenschaftler) sind nicht befugt Analyseergebnisse zu übermitteln.
- Eine telefonische Übermittlung der Analyseergebnisse erfolgt in der Regel nur durch den befundenen Pathologen.
- Rückfragen bitte an das Sekretariat (0731 500 56328) stellen.

Bearbeiter*in	Freigeber*in	ID	Revision	Seite
Dörffer, Nicole	Prof.Dr.Dr. Gaisa, Nadine	97130	007/17.04.2026	15 von 15