	<b>Formblatt</b>	Version: 06
	FB-PE-002	Stand: 21.10.2021
	<i>Primärprobenhandbuch/Primary sample collection manual</i>	Seite: 1 von 18

## 1. Probenmaterial

### Materialgewinnung durch:


- Knochenmark-Punktion\*
- Blutentnahme\*
- Liquorpunktion: nativ ohne Antikoagulans
- Pleuraerguss/Aszites: nativ ohne Antikoagulans
- Stanzbiopsien/Gewebebiopsien/Lymphknoten: nur NaCl 0,9 % mit Heparin (500 I.E./ml), kein Formalin
- Mundschleimhautabstrich/Nagelmaterial: siehe Infoblatt Homepage unter Downloads/Einsendemodalitäten:  
[https://www.mll.com/Downloads\\_MLL/Informationsblatt\\_Mundschleimhautabstrich\\_Nagelmaterial.pdf](https://www.mll.com/Downloads_MLL/Informationsblatt_Mundschleimhautabstrich_Nagelmaterial.pdf)
- Leukapheresat (Stammzellapheresate, Glaskörperaspirat)
- Paraffinblock/-schnitte (Nur wenige Analysen können mit DNA aus Formalin-fixiertem Paraffin-eingebettetem (FFPE) Material durchgeführt werden)
- DNA (Transport gekühlt)
- cDNA (Transport gekühlt)
- RNA (Transport auf Trockeneis)
- Kryokonservierte Zellen

Nicht geeignete Materialien: PB ohne Antikoagulans, Serum

## 2. Notwendige Probenmenge:

Je nach Untersuchungsmethode werden unterschiedliche Probenmengen benötigt:

Erstellt durch: M. Oppl	Geprüft durch: G. Hörmann	Freigegeben durch: C. Käppel
Datum: 21.10.2021	Datum: 21.10.2021	Datum: 21.10.2021

	<b>Formblatt</b>	Version: 06
	FB-PE-002	Stand: 21.10.2021
	<i>Primärprobenhandbuch/Primary sample collection manual</i>	Seite: 2 von 18

- Chromosomenanalyse: möglichst 5-10 ml Knochenmark oder ggf. peripheres Blut bei V. a. CLL
- FISH 2-3 ml Knochenmark oder peripheres Blut sind bei normaler Zellularität ausreichend; alternativ können bereits angefertigte, nicht fixierte, ungefärbte Ausstriche untersucht werden
- Zytomorphologie: je 6-8 ungefärbte Knochenmark- und Blutausstriche, alternativ Flüssigmaterial für selbst anzufertigende Ausstriche
- Molekulargenetik: 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/peripheres Blut, 3-5 ml Liquor / Pleura / Aszites


Ein Gesamtvolumen von 10 ml Knochenmark ist ausreichend um alle o.g. Untersuchungen durchzuführen.

### 3. Verarbeitung der Proben

#### 3.1 Erforderliche Antikoagulanzen

Je nach Untersuchungsmethode werden bestimmte Antikoagulanzen benötigt:

- Chromosomenanalyse: Heparin; EDTA und Citrat sind nicht geeignet
- FISH: EDTA, Heparin oder Citrat
- Zytomorphologie: EDTA oder Citrat; Heparin ist nicht geeignet
- Molekulargenetik / Immunphänotypisierung: EDTA, Heparin oder Citrat

	<b>Formblatt</b>	Version: 06
	FB-PE-002	Stand: 21.10.2021
	<i>Primärprobenhandbuch/Primary sample collection manual</i>	Seite: 3 von 18

### 3.2 Material in Behälter ohne Antikoagulans abfüllen

Knochenmark/Peripheres Blut: Hinzugabe eines Antikoagulans: Heparin (500 I.E./ml), EDTA, Citrat

KM-Stanzen/Stanzbiopsie (bei punctio sicca): für die Chromosomenanalyse und Molekulargenetik kein Formalin, sondern nur NaCl 0,9% mit Heparin (500 I.E./ml)

Andere Materialien: Liquor/Pleuraerguss/Aszites: nativ ohne Antikoagulans

### 3.3 Kennzeichnung der Röhrrchen

Beschriftung des Röhrrchens mit Nachname, Vorname, Geburtsdatum des Patienten sowie Entnahmedatum

### 3.4 Bestellung der EDTA-/Heparin-Röhrrchen


Die mit den benötigten Antikoagulanzen versetzten Röhrrchen können Sie über Ihr Routinelabor, mit dem Sie zusammenarbeiten, kostenfrei bestellen.

Die Kosten für diese Monovetten laufen unter „Praxisbedarf“ und werden von der AOK Bayern übernommen.

### 3.5 Voraussetzungen für eingeschickte DNA

Wir empfehlen, die DNA unverdünnt zu verschicken. Die Konzentration sollte 20-25 ng/µl nicht unterschreiten. Bitte geben Sie die Konzentration der DNA, das Primärmaterial (ggf. Fixierung) und wenn möglich auch die Messmethode an.

Im Allgemeinen wird für die Sequenzierungen mehrerer Gene 1 µg DNA benötigt. Es können z. B. 50 µl mit 20 ng/µl geschickt werden. Die Analyse einzelner Hotspots (z. B. *FLT3*-TKD) oder unseres MPN Panels (*JAK2*, *CALR* und *MPL*) kann mit 600 ng DNA durchgeführt werden.

	<b>Formblatt</b>	Version: 06
	FB-PE-002	Stand: 21.10.2021
	<i>Primärprobenhandbuch/Primary sample collection manual</i>	Seite: 4 von 18

## 4. Ausfüllen des Untersuchungsauftrags

### Angaben zu Material und Untersuchung:

- Ankreuzen des beigefügten Materials (Knochenmark, peripheres Blut, anderes Material)
- Angabe der Anzahl beigefügter Ausstriche (jeweils für Knochenmark und peripheres Blut)
- Angabe des Datums und der Uhrzeit der Materialentnahme
- Kreuz bei Erstdiagnose oder Verlauf
- Angabe der Studie und der Studiennummer (falls vorhanden)
- Kreuz bei den gewünschten Untersuchungsmethoden (Zytomorphologie, Immunphänotypisierung, Chromosomenanalyse, FISH, Molekulargenetik)

### Ausfüllen der Patientendaten:


- Nachname, Vorname, Geburtsdatum, Geschlecht, Adresse, Krankenversicherung (ggf. Etikett)

### Ausfüllen der Labordaten:

- Zahl der Leukozyten, Hämoglobinwert, Zahl der Thrombozyten, Angabe des Differentialblutbildes (falls vorhanden), Angabe weiterer pathologischer Befunde (falls vorhanden)

### Angabe krankheitsspezifischer Daten:

- Diagnose/Verdachtsdiagnose
- Therapieverlauf (z. B. Angabe über bisherige Therapeutika, Knochenmarktransplantationen mit Angabe des Geschlechts des Spenders, Chemotherapien)

	<b>Formblatt</b>	Version: 06
	FB-PE-002	Stand: 21.10.2021
	<i>Primärprobenhandbuch/Primary sample collection manual</i>	Seite: 5 von 18

**Angaben zum Einsender:**

- Identitätsnachweis einsendende/r Arzt/Ärztin, Institution (Name, Telefonnummer, Faxnummer, Stempel)

**Weitere Angaben:**

- auf den darauf folgenden Seiten des Anforderungsbogens können die gewünschten Untersuchungsmethoden genauer spezifiziert werden

**Ausfüllen der Einverständniserklärung:**


- Angabe des Datums
- Unterschrift des Patienten
- Ausfüllen der Patientendaten (Nachname, Vorname, Geburtsdatum, vollständige Adresse)

**Das Probenmaterial ist zu adressieren an:**

MLL MVZ GmbH  
Postfach 20 14 53  
80014 München

**Für Kurierdienste:**

MLL MVZ GmbH  
Max-Lebsche-Platz 31  
81377 München

	<b>Formblatt</b>	Version: 06
	FB-PE-002	Stand: 21.10.2021
	<i>Primärprobenhandbuch/Primary sample collection manual</i>	Seite: 6 von 18

## 5. Verpackung, Kennzeichnung und Transport des Probenmaterials

### 5.1 Verpackung

Bei den Proben, die ins Labor eingesandt werden, handelt es sich in der Regel um „freigestellte Proben“ (nach Absatz 2.2.62.1.5.6. ADR handelt es sich um Proben, bei denen „eine minimale Wahrscheinlichkeit besteht, dass sie Krankheitserreger enthalten.“)


Verpackungen für medizinische Untersuchungsmaterialien müssen grundsätzlich so beschaffen sein, dass sie allen üblicherweise beim Transport auftretenden Belastungen standhalten und jegliches Freisetzen des Inhalts verhindert wird.

- Verpackungen für freigestellte Patientenproben müssen aus drei Bestandteilen bestehen (zusammengesetzte Verpackung):
  - a) Einem wasserdichten Primärgefäß (z. B. Monovette)
  - b) Einer wasserdichten Sekundärverpackung
  - c) Einer ausreichend festen Außenverpackung (mindestens eine Oberfläche mit Abmessungen von 100 x 100 mm)

Die Sekundärverpackungen sind mit geeignetem Polstermaterial in die Außenverpackung einzusetzen. Bei flüssigen Stoffen muss zusätzlich zwischen Primär- und Sekundärverpackung ausreichend absorbierendes Material eingesetzt werden. Diese Verpackung entspricht bis auf einige Erleichterungen der P650 und wird daher oft als „P650 light“ bezeichnet.

- Verpackungen der Norm P650 für infektiöse Patientenproben und Kulturen der Kategorie B (UN-Nr. 3373)

Diese Verpackungen entsprechen in ihrem Aufbau denen für freigestellte Patientenproben (Dreifachverpackung). Bei der P650 muss jedoch entweder die Sekundär- oder die Außenverpackung starr sein. Zusätzlich muss entweder das Primär- oder das Sekundärgefäß einer Druckdifferenz von 95kPa standhalten. Ferner

	<b>Formblatt</b>	Version: 06
	FB-PE-002	Stand: 21.10.2021
	<i>Primärprobenhandbuch/Primary sample collection manual</i>	Seite: 7 von 18

muss das gesamte Versandstück in der Lage sein, einen Falltest von 1,2 m Höhe unbeschadet zu überstehen.

Entsprechende Transportmaterialien können bei uns angefordert werden.

## 5.2 Kennzeichnung und Dokumentation

Freigestellte Proben vom Menschen sind neben der Angabe von Absender und Empfänger als „Freigestellte medizinische Proben“ zu kennzeichnen.


## 5.3 Transport und Postversand

Die Versanddauer sollte nicht mehr als 24 Stunden betragen. Dies wird durch einen 24h-Express-Service (z.B. DHL, UPS, TNT, GO) oder einen anderen Kurierdienst gewährleistet.

Bei Versand am Freitag sollte darauf geachtet werden, dass die Samstagzustellung angekreuzt wird. Eine Annahme der Proben am Sonntag ist nur mit vorheriger Absprache möglich. Bitte beachten Sie die für die jeweiligen Transportunternehmen unterschiedlichen Versandmodalitäten. Bitte rufen Sie uns hierzu gerne unter der 089/990170 an.

Bei Versand vor Feiertagen sollte darauf geachtet werden, dass Feiertagszustellung angekreuzt ist (Achtung: Feiertagszustellung nicht bei allen Dienstleistern möglich). Bitte beachten Sie hier insbesondere die nicht bundeseinheitlichen Feiertage: 06. Januar Heilige drei Könige, zweiter Donnerstag nach Pfingsten Fronleichnam, 15. August Mariä Himmelfahrt, 01. November Allerheiligen.

Alternativ ist der Versand mit der Deutschen Post AG als Brief „NATIONAL“ möglich.

	<b>Formblatt</b>	Version: 06
	FB-PE-002	Stand: 21.10.2021
	<i>Primärprobenhandbuch/Primary sample collection manual</i>	Seite: 8 von 18

## 6. Entnahme von KM und PB

### 6.1 Entnahme von venösem peripherem Blut

Die benötigten Entnahmegefäße und Kanülen werden bereitgelegt und die Entnahmegefäße vor der Entnahme mit Vor- und Nachnamen sowie Geburtsdatum beschriftet. Der Patient sitzt und legt seinen Arm ab, der Stauschlauch wird angelegt. Mit Desinfektionsspray wird die zu punktierende Stelle desinfiziert. Vor der Punktion etwa 30 Sekunden warten. Die Vene wird mit der Kanüle punktiert, das Entnahmegefäß wird angesteckt und das Blut aspiriert, dann wird der Stauschlauch geöffnet. Das Entnahmegefäß wird nach Beendigung der Blutentnahme wieder entfernt und anschließend die Nadel (bei gleichzeitigem Druck mit Zellstofftupfern auf die Punktionsstelle) gezogen. Die Tupfer werden gefaltet, entlang der punktierten Vene aufgelegt und mit einem Pflasterstreifen unter Zug befestigt. Der Patient wird dazu angehalten, noch mindestens drei Minuten fest mit zwei Fingern auf die Blutentnahmestelle zu drücken und nicht den Arm anzuwinkeln.


### 6.2 Knochenmarkbiopsie und -Aspiration

Die Entnahme der Proben erfolgt vorzugsweise am hinteren Beckenkamm (Spina iliaca posterior superior). Die ehemalige Sternalnadel (Klima-Rosegger-Nadel) (am Becken ohne den Abstandshalter zu verwenden) und eine Histologienadel (sog. Jamshidi-Nadel) sind zur Punktion zu verwenden.

#### 6.2.1 Knochenmarkbiopsie

Zur Gewinnung artefaktfreien Gewebes sollte die Knochenmarkbiopsie vor der Aspiration durchgeführt werden. In Bauchlage wird nach gründlicher Desinfektion und steriler Abdeckung die Haut bis zum Periost der Spina iliaca posterior superior mit mindestens 10 ml Ultracain anästhesiert. Der Zeitraum bis zur befriedigenden Anästhesie beträgt mindestens 5 Minuten. Bevorzugt wird eine Nadelweite von 8 Gauge, bei jungen Patienten mit kräftigem Knochen hat sich die 11 Gauge-Nadel




	<b>Formblatt</b>	Version: 06
	FB-PE-002	Stand: 21.10.2021
	<i>Primärprobenhandbuch/Primary sample collection manual</i>	Seite: 9 von 18


besonders bewährt. Bei besonders adipösen Patienten steht auch eine längere Nadel zur Verfügung. Die Nadel wird auf die Mitte des hinteren Beckenkammes aufgesetzt und nach Entfernung des Mandrins durch die Kortikalis in Richtung auf die zumeist gut tastbare Spina iliaca anterior hineingeschnitten. Eine Biopsielänge bis zu 4 cm ist möglich und erlaubt eine repräsentative Beurteilung des Knochenmarks. Eine große Biopsie erlaubt zudem ein leichteres "Abdrehen" und besseres Haften des gestanzten Knochenmark-Zylinders in der Hohlneedle. Nach Gewinnung des Zylinders können davon ggf. Abrollpräparate angefertigt werden. Je nach der vorgesehenen Verwendung erfolgt Aufnahme der Biopsie in mit Heparin versetzte physiologisch Kochsalzlösung oder ihre Fixation.

### **6.2.2 Knochenmarkaspiration**

Nach der Biopsiegewinnung erfolgt die Aspiration des Knochenmarks. Verwendet werden zumeist Punktionsnadeln nach Klima und Rosegger ohne Arretierung. Auch hier sollten Einmalnadeln wegen des schärferen Schliffs und aus hygienischen Gründen verwendet werden. Man punktiert das Knochenmark durch die bereits erfolgte Hautinzision, ungefähr 1 cm entfernt von der Biopsiestelle und in schrägem Winkel zur Biopsierichtung. Vor dem Aspirieren macht man den Patienten darauf aufmerksam, dass ein kurzzeitiger Schmerz auftreten wird, der auch durch sorgfältige Lokalanästhesie nicht verhindert werden kann. Man aspiriert kurz und kräftig mit einer 10 ml-Spritze bis zum vorgesehenen Volumen. Entnimmt man alle Proben von einer Stelle, so können die letzten Aspirate durch zunehmende Blutverdünnung eine andere Zellzusammensetzung als das erste Aspirat aufweisen. Bei unbefriedigender Aspiration muss die Lage der Punktionsnadel durch Drehen oder durch nochmaliges Punktieren verändert werden. Bei *Punctio sicca* hilft häufig ein Drehen der Nadel im Knochen unter weiterer Aspiration doch noch zur erfolgreichen Materialgewinnung. Bei weiter erfolgloser Punktion kann die andere Seite zusätzlich oder der vordere Beckenkamm nach entsprechender Anästhesie punktiert werden.

	<b>Formblatt</b>	Version: 06
	FB-PE-002	Stand: 21.10.2021
	<i>Primärprobenhandbuch/Primary sample collection manual</i>	Seite: 10 von 18

Nach Anlegen eines Heftpflasterverbandes wird die Punktionsstelle durch Liegen auf einem Sandsack komprimiert. Frühestens 30 Minuten später wird die Stelle auf eine Nachblutung hin kontrolliert.

	<b>Formblatt</b>	Version: 06
	FB-PE-002	Stand: 21.10.2021
	<i>Primärprobenhandbuch/Primary sample collection manual</i>	Seite: 11 von 18

## 1. Sample Material

### Specimen collection


- Bone marrow aspirate
- Peripheral blood
- Lumbar puncture: native cerebrospinal fluid, without anticoagulant
- Pleural effusion/ascites: native, without anticoagulant
- Trephine biopsy / tissue biopsy / lymph nodes: place biopsy into NaCl 0.9 % with heparin (500 I.U./ml), no formalin
- Buccal swabs and fingernails/toenail (refer to the information sheet on the homepage under Downloads/Submissions):  
[https://www.mll.com/Downloads\\_MLL/Information\\_buccal\\_swab\\_collection\\_of\\_nail\\_material.pdf](https://www.mll.com/Downloads_MLL/Information_buccal_swab_collection_of_nail_material.pdf)
- Paraffin embedded sample material (only selected analyses can be performed based on DNA isolated from formalin-fixed paraffin embedded (FFPE) sample material)
- DNA
- cDNA
- RNA (shipment on dry ice)
- Cryopreserved cells

Unsuitable sample material: peripheral blood without anticoagulant, serum

## 2. Required sample volume

Depending on the test method, different volumes of sample material are required:

- **Chromosome analysis:** if possible 5-10 ml bone marrow aspirate, or in case of suspected CLL peripheral blood

	<b>Formblatt</b>	Version: 06
	FB-PE-002	Stand: 21.10.2021
	<i>Primärprobenhandbuch/Primary sample collection manual</i>	Seite: 12 von 18

- **FISH:** 2-3 ml bone marrow aspirate or peripheral blood are sufficient in case of normal cellularity; alternatively, prepared, non-fixed, unstained smears can be examined
- **Cytomorphology:** 6-8 unstained bone marrow smears and peripheral blood smears each, alternatively liquid sample material for preparation of smears
- **Molecular genetics:** preferably 5-10 ml bone marrow aspirate/peripheral blood/other sample material after consultation, 15-20 ml for follow-up examinations of peripheral blood
- **Immunophenotyping:** preferably 5-10 ml bone marrow aspirate/peripheral blood, 3-5 ml cerebrospinal fluid/pleural effusion/ascites

A total volume of 10 ml bone marrow is sufficient to perform all the tests described above.

### 3. Processing of samples

#### 3.1 Specification of anticoagulants


Please consider anticoagulant restrictions for each method of analysis:

- Chromosome analysis: heparin feasible; no EDTA, no citrate
- FISH: EDTA, heparin and citrate all feasible
- Cytomorphology: EDTA or citrate feasible , no heparin
- PCR/mutation analysis/immunophenotyping: EDTA, heparin and citrate all feasible

#### 3.2 Filling the samples into a tube without anticoagulant

Bone marrow/peripheral blood

- Add an anticoagulant: heparin (500 I.E./ml), EDTA, citrate

	<b>Formblatt</b>	Version: 06
	FB-PE-002	Stand: 21.10.2021
	<i>Primärprobenhandbuch/Primary sample collection manual</i>	Seite: 13 von 18

Bone marrow touch preps/trephine biopsies (punctio sicca): for cytogenetics and molecular genetics, **no formalin**, use NaCl 0.9% with heparin (500 I.E./ml)

Other material: liquor/pleural effusion/ascites: native, without any anticoagulant

### 3.3 Labeling of tubes

Label all tubes with surname and first name, date of birth as well as collection date.

### 3.4 Requirements for referral of isolated DNA


We recommend sending the DNA undiluted. The concentration should not be below 20-25 ng/ $\mu$ l.

Please indicate the concentration of the DNA, the primary material (if necessary fixation) and if possible also the quantification method. In general, 1  $\mu$ g DNA is required for the analyses of several genes. For example, 50  $\mu$ l with a concentration of 20 ng/ $\mu$ l can be sent. Analysis of individual hotspots (e.g. FLT3-TKD) or our MPN panel (JAK2, CALR and MPL) can be performed with 600 ng of DNA.

## 4. Completing the order form

### Details on samples and analyses needed:

- Mark the respective box for shipped sample material (bone marrow, peripheral blood, other sample material)
- State the number of shipped smears (separately for bone marrow and peripheral blood)
- State the date and time of withdrawal
- Tick the respective box for diagnostic sample or follow up sample
- Identify the study and study number (if applicable)
- Mark the respective box(es) for analyses to be ordered (cytomorphology, immunophenotyping, chromosome analysis, FISH, molecular genetics)

	<b>Formblatt</b>	Version: 06
	FB-PE-002	Stand: 21.10.2021
	<i>Primärprobenhandbuch/Primary sample collection manual</i>	Seite: 14 von 18

**Patient details:**

- surname, first name, date of birth, gender, address, insurance (labels can be used as well)

**Details on laboratory parameters:**

- WBC count, hemoglobin level, thrombocyte count, differential blood count (if available), further pathological results (if available)

**Details on data specific to disease:**

- diagnosis/suspected diagnosis
- course of therapy (e.g. medication administered so far, bone marrow transplantation with details on the donor's gender, chemotherapies)

**Details on client:**

- identification of referring physician and institution (name, phone number, fax number, stamp)

**Further details:**


- the analyses to be ordered can be specified in more detail on the additional pages of our order form

**Completing the Declaration of Informed Consent:**

- date and patient's signature of the consent form
- patient's data (surname, first name, birth date, address)

**Address the sample material to:**

MLL/MLL Dx  
P.O. Box 20 14 53  
80014 Munich

	<b>Formblatt</b>	Version: 06
	FB-PE-002	Stand: 21.10.2021
	<i>Primärprobenhandbuch/Primary sample collection manual</i>	Seite: 15 von 18

**For courier services:**

MLL/MLL Dx

Max-Lebsche-Platz 31

81377 Munich, Germany

## 5. Packaging, labeling and transport of samples

### 5.1. Packaging


Most sample material being sent to our laboratory is listed as „sample material“ (according to paragraph 2.2.62.1.5.6. of the Recommendations on the Transport of Dangerous Goods by UNECE these are defined as sample material “with minimal risk of containing pathogens”).

The packaging of clinical samples has to be constructed in a way that it can withstand all forces during transport and prevent any release of the sample material.

- Packaging for exempt samples has to consist of three parts (composite packaging):
  - a) waterproof primary container (e. g. monovette)
  - b) waterproof secondary packaging
  - c) sufficiently robust outer packaging (surface dimension of at least 100 x 100 mm)

The secondary packaging has to be put into the outer packaging along with adequate amount of padding material. Fluid sample material requires sufficient absorbing material between the tube and secondary packaging. This packaging roughly matches P650 and is often called „P650 light“.

- Packaging according to the standard P650 for infectious patient sample material and cultures of category B (UN-Nr. 3373)

	<b>Formblatt</b>	Version: 06
	FB-PE-002	Stand: 21.10.2021
	<i>Primärprobenhandbuch/Primary sample collection manual</i>	Seite: 16 von 18

These packages are equivalent to exempt samples (triplicate packaging). Packaging according to P650 requires either an inflexible/rigid secondary packaging or outer packaging. Additionally, either the primary container or the secondary packaging needs to withstand a pressure difference of 95 kPa. Further, the whole package needs to withstand a drop test from 1.2 m height without damages.

Shipment material can be ordered from our laboratory.

## 5.2 Labeling and documentation

For exempt human samples shipment has to be marked as „exempt human specimen“ in addition to indicating sender and recipient.

## 5.3 Transport and mailing

A maximum transportation time of 24 hours should be targeted. This will be warranted by a 24h express service (e. g. DHL, UPS, TNT and GO!) or other providers of express mail service. When sending sample material on Fridays please make sure to order “Saturday delivery”. Samples on Sundays will be accepted only after prior consultation and arrangement.

Please mind the differing transport modalities that apply to the respective transport firm. Please call us for advice on (+49-(0)89-990170).

When sending samples prior to a public holiday, please make sure you order „Public Holiday Delivery“. Be especially aware of holidays that are public only in certain federal states of Germany:


January 6th – Epiphany

Corpus Christi on the second Thursday after Whitsun

August 15th – Assumption of Mary

November 1st – All Saints’ Day.



	<b>Formblatt</b>	Version: 06
	FB-PE-002	Stand: 21.10.2021
	<i>Primärprobenhandbuch/Primary sample collection manual</i>	Seite: 17 von 18

## 6. Withdrawal of bone marrow and venous peripheral blood

### 6.1 Sampling of venous peripheral blood


The required collection tubes and cannulas are prepared and the collection tubes are labeled with the patient's first and last name, collection date and date of birth before collection. The patient sits and puts his arm down, the tourniquet is applied. The area to be punctured is disinfected with disinfection spray. Wait approx. 30 seconds before performing the puncture. The vein is punctured with the cannula, the collection tube is attached and the blood aspirated, then the tourniquet is opened. The collection tube is removed at the end of the blood collection procedure and the needle is then pulled out (while simultaneously applying pressure to the puncture site with cellulose swabs). The swabs are folded, laid along the punctured vein and attached with a plaster strip under tension. The patient is instructed to press firmly on the injection point with two fingers for at least three minutes and not to bend the arm.

### 6.2 Bone marrow biopsy and aspiration

Samples should preferably be taken from the posterior iliac crest (spina iliaca posterior superior). The former sternal needle (Klima-Rosegger Needle) (to be used without the spacer for the pelvis) and a histology needle (so-called Jamshidi needle) are to be used for puncture.

#### 6.2.1 Bone marrow biopsy

Bone marrow biopsy should be conducted before aspiration in order to acquire artifact-free tissue. The patient is placed in a prone position; after thorough disinfection and application of a sterile cover, the skin is anesthetized with at least 10 ml Ultracaine up to the periosteum of the spina iliaca posterior superior. The onset of satisfactory anesthesia will require at least five minutes. An 8-gage needle width is preferred, and the 11-gage needle has proved particularly effective for young patients with strong bones. A longer needle is also available particularly for obese patients. The needle is applied to the center of the posterior iliac crest; after removal of the mandrel, it is

	<b>Formblatt</b>	Version: 06
	FB-PE-002	Stand: 21.10.2021
	<i>Primärprobenhandbuch/Primary sample collection manual</i>	Seite: 18 von 18

inserted through the cortex toward the usually quite easily palpable spina iliaca anterior. Biopsy lengths of up to 4 cm are possible and enable a representative assessment of the bone marrow. Moreover, a large biopsy permits an easier “twisting motion” and will ensure that the stamped bone marrow cylinder will be firmly enclosed in the hollow needle. If needed, biopsy touch preparations can be produced from the obtained cylinder. Depending on the intended use, the material is placed in physiological saline solution supplemented with heparin.

### **6.2.2 Bone marrow aspiration**

After the biopsy has been obtained, the bone marrow aspirate is drawn. Klima and Rosegger puncture needles without arresting are most commonly used. Disposable needles should also be used here because of the sharper cut and for hygienic reasons. The bone marrow is punctured through the previous skin incision, at approximately 1 cm distance from the biopsy site and at an oblique angle to the biopsy direction. Before aspirating, the patient is made aware that a short-term pain will occur, which cannot be prevented even by careful local anaesthesia. Aspirate quickly and vigorously with a 10 ml syringe, up to the intended volume. If multiple tubes are withdrawn and all are taken from the same position, the last aspirates may have a different cell composition than the first aspirate, due to increasing dilution by peripheral blood. If aspiration is unsatisfactory, the position of the puncture needle must be changed by twisting or by puncturing again. In the case of punctio sicca, twisting the needle in the bone under continuous aspiration often allows for successful sample material withdrawal. If the puncture continues to be unsuccessful, the other side can be punctured additionally, or the anterior iliac crest can be punctured after appropriate anesthesia. After applying a bandage, the puncture site is compressed by lying on a sandbag. At the earliest 30 minutes later, the puncture site is checked for postinterventional bleeding.