

Anleitung für Liquor

1. Angewendetes CellPrint[®]-System:

CellPrint[®]- Liquor 5 µm, CE



Abb. 1

Das komplette System (Abb. 1)

Das CellPrint[®]-System besteht aus einer Filtriereinheit, die nur für eine Befundung verwendet werden kann.

Mit der ersten Lieferung von CellPrint[®] Liquor-Systemen werden zwei Standardspritzen mit einer Dichtmanschette an der Spitze geliefert. Diese Spritze kann für alle Präparationen benutzt werden, da sie beim Präparieren nicht mit Probenmaterial in Kontakt kommt, also nicht kontaminiert wird.



Abb. 2

Zusammensetzung des Systems (Abb. 2)

Das CellPrint[®]-System besteht aus einem Filtrationstubus mit einer Filtereinheit auf der ein Probenröhrchen sitzt, und einem Stopfen am anderen Ende, in den eine Pipettenspitze eingesetzt ist. Diese Pipettenspitze lässt einen Volumenausgleich zu, wenn Probenflüssigkeit über das Filter in den Filtrationstubus gelangt. Sie dient gleichzeitig zum Ansetzen der Spritze, mit der die Feuchtigkeit an der Filterfront geregelt werden kann.

2. Vorteile von CellPrint® bei der Zelluntersuchung von Liquor

CellPrint® arbeitet schonend, da die Zellen ohne Einwirken äußerer Kräfte (Druck in der Probenflüssigkeit oder Zentrifugalkräfte) aus der Probenflüssigkeit gewonnen werden. Sie setzen sich beim Filtrieren der Probenflüssigkeit auf der Filterfront ab.

Mit **CellPrint®** erhält man morphologisch klare Zellen.

3. Vorbehandlung

3.1. Probenvorbehandlung

Eine Probenvorbehandlung ist im Allgemeinen nicht erforderlich. Jedoch empfiehlt sich bei sehr geringen Probemengen (< 0,5 ml) und wenn die Probenflüssigkeit nach der Filtration nicht weiteren Labortests zugeführt wird zunächst eine Verdünnung mit physiologischer Lösung auf ein Gesamtvolumen von 3-4 ml, um danach eine effizientere Filtration mit besserer Zellausbeute zu ermöglichen.

3.2. Objektträger

Eine Vorbehandlung des Objektträgers mit **CellPrint® Slide-Prep** ist erforderlich, um Beschädigungen der sehr empfindlichen Zellen beim Kontakt mit der Glasoberfläche des Objektträgers zu vermeiden.

4. Probenaufbereitung mit CellPrint®



Abb. 3

Das Filtrieren mit CellPrint®-Liquor (Abb. 3)

Die Probenflüssigkeit wird in das Röhrchen, das auf dem Filter des **CellPrint®**-Systems sitzt, gegeben. Dann wird das **CellPrint®**-Liquor System mit dem Röhrchen nach oben möglichst senkrecht in eine Halterung (Ständer oder Becher) gestellt. Die Probenflüssigkeit wird nun durch die Kapillarkwirkung des Filters durch den Filter gezogen. Dabei setzen sich die Zellen auf der Filterfront ab. Bei einer Probenmenge von 3 ml dauert der Filtrationsprozess bis zur völligen Entleerung des Röhrchens 7-8 Minuten. Nun haben sich alle Zellen auf der Filterfront abgesetzt.



Abb. 4

Dosieren der Feuchtigkeit an der Filterfront (Abb. 4)

Nach dem Filtrationsvorgang wird für die Übertragung des Zellmaterials auf den Objektträger die für die Anwendung mit dem **CellPrint**[®]-System vorbereitete Spritze in die im Stopfen des Filtrationstubus eingesetzte Pipettenspitze gesteckt. Dabei dichtet die elastische Manschette an der Spritze die Verbindung von Spritze und Filtrationstubus ab. Der Spritzenkolben soll dabei in der Mitte stehen, so dass er in beide Richtungen verschoben werden kann. Beim Einsetzen der Spritze wird im Filtrationskolben ein leichter Überdruck erzeugt, durch den etwas Flüssigkeit aus dem Filter wieder an die Filterfront gedrückt wird, was an einem kleinen „Flüssigkeitshügel“ auf der Filterfront zu erkennen ist.

Nachdem sich diese Flüssigkeit infolge der Kapillarwirkung des Filters wieder in den Filter zurückgezogen hat, wird das Röhrchen vom Filtersystem entfernt, wobei die Filtereinheit (Farbige Ringe) mit einer Hand an der geriffelten Außenfläche festgehalten und mit der anderen Hand das Röhrchen abgezogen wird. Diese Vorgehensweise stellt sicher, dass beim Abziehen des Röhrchens die Filtereinheit nicht aus dem Filtrationstubus gezogen wird.

Nun kann mit diesem System durch Verschieben des Spritzenkolbens sowohl ein Unterdruck als auch ein Überdruck im Filtrationstubus erzeugt werden, wodurch es möglich ist, Flüssigkeit von der Filterfront in das Filter zu ziehen oder Flüssigkeit aus dem Filter an die

Die Zellübertragung auf den Objektträger erfolgt nun in folgenden Schritten:



Abb. 5

Das erste Zeldeponat

Für das erste Zeldeponat wird die Filterfront auf den Objektträger gesetzt. Dabei setzen sich die Zellen aus der auf der Filterfront befindlichen Flüssigkeit auf dem Objektträger ab. Nach ca. 15 Sekunden wird mit Hilfe der Spritze der Flüssigkeitstropfen, der am Rande des Filters sichtbar ist (Abb. 5), in den Filter gesogen. Dazu wird der Spritzenkolben solange vorsichtig angezogen, bis keine Flüssigkeit mehr zwischen Filterrand und Objektträger zu sehen ist (Abb. 6). Nach weiteren 3 Sekunden wird das **CellPrint**[®]-System vom Objektträger abgehoben.



Abb. 6

Das zweite und weitere Zelldeponate

Für das nächste und alle weiteren Zelldeponate wird die Filterfront wieder auf den Objektträger gesetzt und dann mit der Spritze durch vorsichtiges Vorschieben des Spritzenkolbens die im Filter sitzende Flüssigkeit soweit auf den Objektträger gedrückt, dass zwischen dem Filterrand und dem Objektträger Flüssigkeit sichtbar wird (Abb. 5). Bei diesem Vorgang werden weitere Zellen von der Filterfront gelöst und auf den Objektträger übertragen, auf dem sie sich festsetzen. Wie beim ersten Deponat wird nach ca. 15 Sekunden die Flüssigkeit in den Filter gesogen, bis kein Flüssigkeitsrand mehr zu sehen ist (Abb.6). Nach weiteren 3 Sekunden wird das **CellPrint**[®]-System vom Objektträger abgehoben.

Der Vorgang für das zweite Zelldeponat sollte noch viermal wiederholt werden, damit durch insgesamt 6 Deponate die höchste Zellausbeute erreicht werden kann. Erfahrungen zeigen, dass für eine hohe Zellausbeute von ca. 90 % die Anfertigung von bis zu 6 Deponaten sinnvoll ist.

Nach Herstellung der Zelldeponate auf zwei Objektträgern und leichtem Antrocknen kann die im jeweiligen Labor übliche Praxis des Fixierens und des Färbens folgen.

4.2. Fixierung

Die Deponate lässt man auf dem Objektträger leicht antrocknen. Die Probe wird anschließend nach Laborstandard (z. B. in Alkohol, abs.) fixiert

4.3. Färbung

Das fixierte Präparat kann nach der in der Laborpraxis üblichen Methode gefärbt werden.

CellPrint GmbH
Im Neuenheimer Feld 582
D-69120 Heidelberg
Fon: +49-6221-86806-0
Fax: +49-6221-86806-10
kontakt@cell-print.de
www.cell-print.de