

# PRÄANALYTIK

## BLUTENTNAHME

### Patientenvorbereitung

Der Patient sollte zur Blutentnahme nüchtern sein. Dies gilt vor allem für die Bestimmung von Nüchtern-glucose, Insulin und C-Peptid (mindestens 8 Stunden) und für die korrekte Triglyzeridbestimmung (12 Stunden). Serumeisen, anorganisches Phosphat und die Aminosäuren steigen im Nichtnüchtern-Serum an. Zudem werden Laboranalysen auf der Basis von Trübungsmessungen bei stark lipämischen (milchig trüb) Proben beeinträchtigt. Starke körperliche Belastung sollte vor der Probennahme vermieden werden. Auch sind diagnostische Maßnahmen idealerweise erst nach der Blutentnahme durchzuführen.

### Zeitpunkt

Die Blutentnahme sollte in der Regel, vor allem aber bei Verlaufsbeurteilungen, immer zur etwa gleichen Tageszeit – standardmäßig morgens zwischen 7 und 9 Uhr erfolgen. Ebenso sollte die Abnahme vor der Morgenmedikation durchgeführt werden. Dies gilt insbesondere für das therapeutische Drugmonitoring: Der Medikamenten-Talspiegel zum Ausschluß einer Toxizität wird in der Blutprobe, die unmittelbar **vor** der nächsten Medikamentengabe gewonnen wurde, bestimmt. Der Medikamenten-Spitzenpiegel (maximaler Wirkspiegel) wird **nach** Medikamentengabe bestimmt. Der richtige Zeitpunkt hängt hier sehr stark von den pharmakokinetischen Eigenschaften des jeweiligen Medikamentes ab.

### Tagesrhythmik

Zu beachten sind zudem die starken tageszeitlichen Schwankungen vieler Hormonkonzentrationen, die mehrere Blutentnahmen zu unterschiedlichen Tageszeitpunkten erforderlich machen (Adrenalin und Noradrenalin, Kortisol, ACTH, Prolaktin, Somatotropin, Testosteron, TSH). Neben der ausgeprägten Tagesrhythmik, spielt die Pulsatilität der Hormonausschüttung eine große Rolle. Zwischen den Pulsen liegen die Konzentrationen physiologischerweise unter der Nachweisgrenze.

### Körperlage

Die Blutentnahme sollte immer in der gleichen Position, d. h. beim sitzenden oder liegenden Patienten im gleichen Gefäßgebiet – etwa in der peripheren Armvene – erfolgen. Beim Übergang vom Liegen in die stehende Position kommt es bei korpuskulären und makromolekularen Substanzen zu Konzentrationsanstiegen bis zu 10% (Leukozyten, Erythrozyten, Hämoglobin, Hämatokrit, Gesamteiweiß, Enzyme, Lipoproteine und proteingebundene Ionen, wie Kalzium und Eisen). Für ausgesuchte klinische Fragestellungen gelten besondere Vorgaben bezüglich Körperlage des Patienten, z. B. bei der Bestimmung von Renin, Aldosteron und der Katecholamine.

### Entnahmesysteme – Antikoagulantienzusätze

Die Entnahme erfolgt heute weitgehend mit speziellen Plastikgefäßen (Monovetten®) oder evakuierten Glasgefäßen (Vacutainer™). Diese Entnahmesysteme sind so konzipiert, daß eine Gefährdung der Person, die die Blutabnahme vornimmt, weitgehend ausgeschlossen ist.

## BLUTENTNAHMESYSTEME

### Probennahme mit Monovetten® – geschlossenes System

WEISS	<p><b>Serumgewinnung</b></p> <p><b>Klinisch chemische Analytik, Immunologie, Infektionserologie</b></p> <p><b>Serumeiweißelektrophorese, Kreuzprobe</b></p> <p>Die gerinnungsfördernde Substanz ist auf Kunststoffgranulat aufgebracht, das aufgrund seiner spezifischen Dichte beim Zentrifugieren eine Trennschicht zwischen Serum und Blutkuchen bildet. Die Gerinnung des Blutes ist in 30 Minuten (Raumtemperatur) abgeschlossen. Zentrifugation (7 min, 2900 x g). Der Überstand (=Serum) wird in ein Sekundärrohrchen ohne Zusatz überführt. Bei zu langem Stehen kommt es durch glykolytischen Abbau zum Abfall der Glucosekonzentration und Anstieg von Phosphor, Kreatinin, LDH, GOT, GPT und AP.</p>
BRAUN	<p><b>Serumgewinnung mit Gel</b></p> <p>Die mit Gel präparierte Monovette gewährleistet nach der Zentrifugation eine undurchlässige Trennschicht zwischen Serum und Blutkuchen. So wird die Diffusion von Stoffen aus den Blutzellen, v. a. den Erythrozyten, verhindert.</p>
ORANGE	<p><b>Plasmagewinnung ohne und mit Gel</b></p> <p>Heparinsalze (Na-, NH<sub>3</sub>- oder Lithium-Heparinat) dienen als Antikoagulans für die Gewinnung von Plasma. Die Dosierung liegt im Bereich von 10-30 I.E./ml Blut.</p>
ROT	<p><b>Hämatologie und EDTA-Plasmagewinnung</b></p> <p>Kalium-EDTA (Ethylen-Diamin-Tetra-Acetat) dient als Antikoagulans für die Durchführung von hämatologischen Untersuchungen. 1,2 – 2 mg EDTA/ml Blut sind in der Monovette vorgelegt. Die Verdünnung durch die flüssige EDTA-Lösung beträgt maximal 1%. Die gerinnungshemmende Wirkung von EDTA wird durch lagerungsbedingtes Austrocknen nicht beeinträchtigt.</p>
GELB	<p><b>Glukose- und Lactatbestimmung</b></p> <p>In Verbindung mit einem Antikoagulans wird Fluoridsalz (Glykolysehemmer) in einer Konzentration von 2-3 mg/ml Blut in der Monovette vorgelegt. Die Verdünnung durch die flüssige Fluoridsalzlösung liegt unter 1,5%.</p>
GRÜN	<p><b>Gerinnungsanalytik</b></p> <p>Als Antikoagulans wird 0,106 molare Tri-Natriumcitratlösung (Calcium wird dadurch komplexiert) vorgelegt. Nur bei vollständiger Füllung der Citrat-Monovette bis zur vorgegebenen Markierung wird das Mischungsverhältnis 1:10 (1 Teil Citratlösung + 9 Teile Blut) genau eingehalten und man erhält 3,2%ig gepuffertes Citratblut.</p>
VIOLETT	<p><b>Blutkörperchensenkung</b></p> <p>Als Antikoagulans wird 0,106 molare Tri-Natriumcitratlösung vorgelegt. Nur bei vollständiger Füllung der Monovette bis zur vorgegebenen Markierung wird das Mischungsverhältnis 1 Teil Citratlösung + 4 Teile Blut eingehalten.</p>

## Probennahme mit BD Vacutainer™ System

GOLD	<p><b>Serumgewinnung</b></p> <p>Trenngel und Gerinnungsaktivator</p> <p>Das inerte Polyestergerel wandert während der Zentrifugation an der Röhrchenwand nach oben und legt sich als Diffusionsbarriere zwischen Serum und Blutkuchen, was zur Analytenstabilität beiträgt.</p>
LILA	<p><b>Hämatologie</b></p> <p>Kalium-EDTA (Ethylendiamintetraacetat) wird als Antikoagulans eingesetzt. In den Kunststoffröhrchen ist <math>K_3</math> EDTA 7,5%, 0,072 ml vorgelegt. Die EDTA-Endkonzentration beträgt 1,8 mg/mL. Auch hier gilt, nach der Blutentnahme Röhrchen mehrmals leicht schwenken. Nicht schütteln!</p>
GRAU	<p><b>Glukose- und Lactatbestimmung</b></p> <p>Natrium-Fluorid (2,5mg/ml) und Kalium-Oxalat (2,0mg/ml) werden zur Glykolysehemmung und Antikoagulation in pulverisierter Form vorgelegt.</p>
HELLBLAU	<p><b>Gerinnungsanalytik</b></p> <p>Das Röhrchen enthält 0,129 molare gepufferte Tri-Natrium-Citratlösung (entspricht 3,8%iges Tri-Natrium-Citrat). Das Mischungsverhältnis von Blut zu Additiv beträgt bei Füllung bis zur vorgegebenen Markierung 1:10 (1 Teil Citratlösung + 9 Teile Blut). 3,8%ig gepuffertes Citratblut ist auch für die Bestimmung der in vitro Verschlusszeit geeignet.</p>
SCHWARZ	<p><b>Blutkörperchensenkung</b></p> <p>Als Antikoagulans ist im Glasröhrchen 0,105 molares gepuffertes Natrium<sub>3</sub>-Citrat (entspricht 3,2%) vorgelegt.</p>

### Vorbereitung der Blutentnahme

Hautdesinfektion **vor** Venenstauung mit zugelassenen Desinfektionsmitteln – Einwirkzeit ca. 30 Sekunden. Die Venenstauung sollte maximal 1 Minute anhalten, bzw. kann nach erfolgreicher Punktion die Stauung gelöst werden. „Pumpen“ oder wiederholten Faustschluß vermeiden!

Probengefäße müssen sofort nach Entnahme 4-5 mal „über Kopf“ gekippt, Schaumbildung und starkes Schütteln (Hämolysel!) jedoch vermieden werden. Bei erneutem Versuch, ist der gegenüberliegende Arm vorzuziehen. Zudem darf nie oberhalb einer laufenden Infusion punktiert werden!

Bei Blutentnahmen aus Zugängen ist zunächst die Infusion zu stoppen, der Katheder mit isotoner NaCl-Lösung zu spülen, bzw. sollten die ersten 3-5ml Blut verworfen werden.

### Reihenfolge der Blutentnahme

Bei der Entnahme von mehreren Blutproben sollte das Gerinnungsröhrchen nicht am Anfang stehen (Freisetzung von Gewebsthrombokinase). Nativröhrchen sind immer vor Röhrchen mit Additiven (Kontaminationsgefahr) anzuwenden.

Reihenfolge: 1. Blutkulturen, 2. Nativblut (Serum, Serum-Gel), 3. Citratblut, 4. Lithium-Heparin-Blut, 5. EDTA-Blut, 6. Fluoridblut, 7. Blutkörperchensenkung.

### Spezielle Blutabnahmematerialien

Nicht routinemäßig verwendete spezielle Abnahmematerialien sind jederzeit auf Anfrage im Labor erhältlich:

In-vitro Blutungszeit in Citratvollblut: 3,8%ig gepufferte Citrat-S-Monovette/blau oder Gerinnungs-Vacutainer/hellblau (nicht zentrifugieren!)

Homocysteinspiegel: 9NC-S-Monovette/blaßlila

Metalle und Spurenelemente: EDTA-K<sub>2</sub>-S-Monovette/orange oder K<sub>2</sub>-EDTA-Vacutainer/königsblau

Abstammungsgutachten, Lymphozyten-Transformations-Test (LTT-MELISA®), Septin 9-Bestimmung: CPDA-S-Monovetten/gelb (CitratPhosphatDextroseAdenin) oder ACD-Vacutainer/blaßgelb (AcidCitrateDextrose/Glukose), Röhrchen nicht zentrifugieren!

Spezialgefäße zur Bestimmung von Holzschutzmitteln im Blut

Rollrandfläschchen zur Bestimmung von Lösungsmitteln im Blut

QuantIFeron-TB GOLD-Blutentnahmesystem für die Tuberkulosedagnostik

## PROBENAUFBEWAHRUNG UND -TRANSPORT

### Klinische Chemie

Die meisten Enzyme, Substrate und Elektrolyte sind im Serum, beziehungsweise Plasma 24 Stunden bei Raumtemperatur und bei Kühlschranktemperatur (4°C) im verschlossenen Gefäß in der Regel vier bis sieben Tage stabil. Ausnahmen sind die Serumglucose, Ammoniak und Lactat.

Bilirubin, Folsäure und B-Vitamine sind zudem lichtempfindlich. Ausfällungen (Kryoglobuline) durch Probenkühlung müssen vor der Analytik durch Erwärmung in Lösung gebracht werden. Für eine Langzeitverwahrung (> 1 Woche) empfiehlt sich, das Serum bzw. Plasma einzufrieren (-20°C).

Wiederholtes Einfrieren und Auftauen ist jedoch zu vermeiden. Vollblutröhrchen ohne Serum- oder Plasmatrennung mittels Gel oder Filter dürfen nie tiefgefroren werden (vollständige Hämolyse!).

Ebenfalls muß beachtet werden, daß tiefgefrorene Proben beim Wiederauftauen verdünnt werden, wenn sich bei nicht ordnungsgemäßigem Verschluss durch Kondensation eingedrungener Luftfeuchtigkeit Eis gebildet hat.

Grundsätzlich sollten bis auf wenige Ausnahmen (z.B. Vollblut für Blutgruppenbestimmung) nur Serum oder Plasma für den Postversand verwendet werden.

Besonders instabile Analyte, wie z.B. ACTH und Renin in EDTA-Plasma sollten gefroren versendet werden. Ammoniak ist bei 4-8°C im EDTA-Plasma nur 3 Stunden stabil. Die direkte Blutentnahme im Labor ist zur Vermeidung falsch hoher Konzentrationen zu bevorzugen.

### Hämatologie

Für hämatologische Untersuchungen ist eine zügige Aufarbeitung erforderlich, da es insbesondere bei längerem Stehen bei Raumtemperatur zu Veränderungen im Differentialblutbild kommt. Granulozyten sind kurzlebig, Lymphozyten blähen sich auf und erscheinen atypisch vergrößert, ähnlich wie überalterte Erythrozyten (MCV steigt). Thrombozyten neigen bei einigen Patienten zur Autoagglutination, was bei Überalterung zu einer Pseudothrombozytopenie führen kann. Der Transport sollte bei Raumtemperatur stattfinden.

Bei Raumtemperatur bleiben die Erythrozytenzahl und die Hämoglobinkonzentration innerhalb von zwei Tagen konstant. Bei den Thrombozyten und Leukozyten fällt die Zellzahl nach 12 Stunden ab. Für die Durchführung eines Differentialblutbildes darf die Probe zunächst nicht im Kühlschrank gelagert werden.

Der Blutausstrich sollte mit der frischen Probe angefertigt werden. Im Kühlschrank (4°C) bleiben die zellulären Bestandteile und das Hämoglobin bis zu 2 Tage stabil.

### Gerinnung

Zur Messung der plasmatischen Gerinnungsfaktoren sollte das Citratblut 1/2 bis spätestens 4 Stunden nach Abnahme zentrifugiert werden (üblicherweise 1500 x g, 15 Minuten). Citratplasma ist dann bei Raumtemperatur (!) bis zu 24 Stunden stabil, d.h. es konnten keine signifikanten Unterschiede für die INR/Quick-Wert, sowie für die Einzel-Gerinnungsfaktoren II, VII, IX und X gefunden werden. Dasselbe konnte für die aPTT und die Thrombinzeit, sowie für Fibrinogen, Antithrombin und die D-Dimere gezeigt werden.

Die Lagerung im Kühlschrank hingegen führt zu Präzipitationen von vor allem Fibrinogen und des von Willebrand-Faktors. Die Gerinnungsanalyse sollte also so zeitnah wie möglich erfolgen. Das Citratblut und -plasma immer bei Raumtemperatur lagern, beziehungsweise am Blutentnahmetag versenden.

Für Bestimmungen zu einem späteren Zeitpunkt sollten Aliquots von plättchenarmem (!) Citratplasma schockgefroren und bei -20°C gelagert werden. Plättchenarmes Plasma (*platelet poor plasma*) wird durch eine erneute Zentrifugation (2000-2500 x g, 15-10 Minuten) des Citratplasmas gewonnen. Dies ist besonders für die Lupusdiagnostik und Protein S-Aktivitätsbestimmung erforderlich.

Auftauen sollte rasch im 37°C-Wasserbad erfolgen, um die Bildung von Kryopräzipitaten (enthalten Faktor VIII, von Willebrand-Faktor und Fibrinogen) zu vermeiden. Der Gerinnungsfaktor-VIII-Spiegel ist hierbei am instabilsten, d.h. Faktor-VIII-Aktivitätsverluste sind dann ursächlich für aPTT-Verlängerungen.

Thrombozytenfunktionstests (Aggregationstestung), bzw. Blutungszeitbestimmungen machen nur unmittelbar, bzw. spätestens 3 Stunden nach Blutentnahme Sinn (telefonische Vorankündigung erforderlich oder Einbestellung des Patienten in die Gerinnungsambulanz).

Für die Testung der Thrombozytenaggregation ist die Gewinnung von thrombozytenreichem Plasma (*platelet rich plasma*) erforderlich – Zentrifugation bei 200 x g für 5 Minuten. Die Bestimmung der in-vitro Blutungszeiten erfolgt im 3,8%ig gepufferten Citratvollblut.

## PROBENNAHME FÜR PCR-DIAGNOSTIK

Da die PCR (Polymerase-Ketten-Reaktion) eine sehr sensitive Methode ist, müssen besondere Vorkehrungen bei der Probennahme getroffen werden. Kontaminationen mit Fremd-DNA bzw. -RNA sind zu vermeiden, da es sonst zu falsch positiven Ergebnissen kommen kann. Die Probennahme sollte mit Einmalhandschuhen erfolgen.

Das Probenmaterial sollte sofort in separate Probengefäße (meist EDTA-Röhrchen) überführt und gut verschlossen werden. Das erneute Öffnen dieses Probenröhrchens oder Umfüllen und Splitten des Probenmaterials sollte strikt vermieden werden. Heparinzusätze sind nicht geeignet, da sie die PCR-Reaktion hemmen.

### Weitere Probenmaterialien

Andere Probenmaterialien, wie Urin, Sputum, BAL (Bronchoalveolarlavage), Liquor, Sekrete, Punkttate, Fruchtwasser und Aszites sollten in sterile Röhrchen ohne Zusätze überführt und ebenfalls gut verschlossen werden. Gewebeprobe(n) (z.B. Biopsiematerial) werden in sterile Röhrchen mit physiologischer Kochsalzlösung überführt und in dieser Form eingesandt.

## URINPROBEN

Verschiedene Meßgrößen im Urin erfordern verschiedene Arten von Urinproben, die zudem zu unterschiedlichen Zeiten gewonnen werden:

### Erster Morgenurin

Die letzte Miktion sollte mindestens 4 Stunden zurückliegen. Verwendet wird der sogenannte Mittelstrahlurin für mikrobiologische Untersuchungen, wobei die erste Urinportion verworfen wird, um Kontaminationen zu vermeiden. Der erste Morgenurin ist auch geeignet für: Teststreifen, Sediment, Proteindiagnostik, klinisch-chemische Untersuchungen.

### Zweiter Morgenurin

Die Urinprobe, die 2-4 Stunden nach dem ersten Morgenurin gewonnen wird. Der zweite Morgenurin wird häufig bei ambulanten Patienten eingesetzt.

Die sogenannte erste Portion von **Spontanurin** – das ist der Urin, der irgendwann im Lauf des Tages gewonnen wird – dient ausschließlich zum Nachweis von Chlamydien oder Gonokokken.

### Sammelurin

Die Sammelperiode beträgt meist 24 Stunden, in der Regel in einem Intervall von Tag 1 (08.00 Uhr morgens) bis Tag 2 (08.00 Uhr morgens). Prinzipiell aber kann die Urinsammlung jederzeit begonnen werden. Wichtig ist, daß vor Beginn der Sammlung die Blase vollständig entleert wird. Grundsätzlich sollte der Sammelbehälter immer gekühlt und lichtgeschützt gelagert werden.

Sammelurin wird zur quantitativen Proteinbestimmung, v.a. zur Erfassung des Ausmaßes einer Proteinurie, bzw. zur Plausibilitätsprüfung des Protein-Ausscheidungsmusters verwendet.

Darüberhinaus erfolgt die Porphyriediagnostik (Urin lichtgeschützt sammeln!) zur Erfassung von Gesamtporphyrine, Porphobilinogen, Delta-Aminolävulinsäure, Uroporphyrine und Urobilinogen im Sammelurin. Ebenso wird Sammelurin für die Bestimmung der Katecholamine Adrenalin, Noradrenalin und Dopamin und deren Metabolite 5-Hydroxyindolessigsäure, Vanillinmandelsäure und Homovanillinsäure verwendet (im Sammelbehälter ist 10%ige Salzsäure vorgelegt).

### Urinteststreifen

Der Nutzen von Urinteststreifen besteht in erster Linie in der Erkennung von Infektionen oder Blutungen im Urogenitaltrakt und der Überwachung von Diabetikern. Die mittels der verschiedenen Reaktionsfelder des Streifens erfassbaren Parameter sind:

ph-Wert, spezifische Dichte, Leukozyten, Nitrit, Protein, Glucose, Ketone, Urobilinogen, Bilirubin, Blut (Hämoglobin, Erythrozyten). Die Urinteststreifen-Beurteilung sollte immer in Zusammenhang mit dem Harnsediment und unter Berücksichtigung der Anamnese (Medikation!) des Patienten erfolgen, um falsch positive oder falsch negative Ergebnisse einordnen zu können.

Spezifische Teststreifen zur Erfassung von Albumin und Kreatinin im Urin – immunologischer Test, z.B. MigralTest® – haben eine verbesserte Nachweisgrenze zur Erkennung einer beginnenden diabetischen Nephropathie – Albumin-Nachweisgrenze 20mg/l, Kreatinin als Bezugsgröße 0,1 g/l.

### Urinsedimentuntersuchung

Folgende Bestandteile sollten bei der Sedimentuntersuchung enthalten sein: Erythrozyten / dysmorphe Erythrozyten, Granulozyten, Epithelzellen / Übergangsepithelzellen / Tubulusepithelzellen, Zylinder / Erythrozytenzylinder / Leukozytenzylinder / Epithelzylinder / Wachszylinder / granulierte Zylinder / Fettzellzylinder, Bakterien, Hefen, Trichomonaden, Zystin- und Tyrosinkristalle.

### Erregernachweis aus Urin

Keimzahlbestimmung und Erregerdifferenzierung mit Resistenzbestimmung (Antibiogramm) erfolgt im Mittelstrahl-Morgenerin oder im Blasenpunktionsurin. Die Eintauchobjektträger sind umgehend nach Uringewinnung zu beimpfen und sofort oder nach (Vor-)Bebrütung einzusenden. Für die Tuberkulosedagnostik 3 mal 30ml Morgenerin – korrekt als Mittelstrahlurin entnommen – einsenden (Lagerung bei 2-8°C).