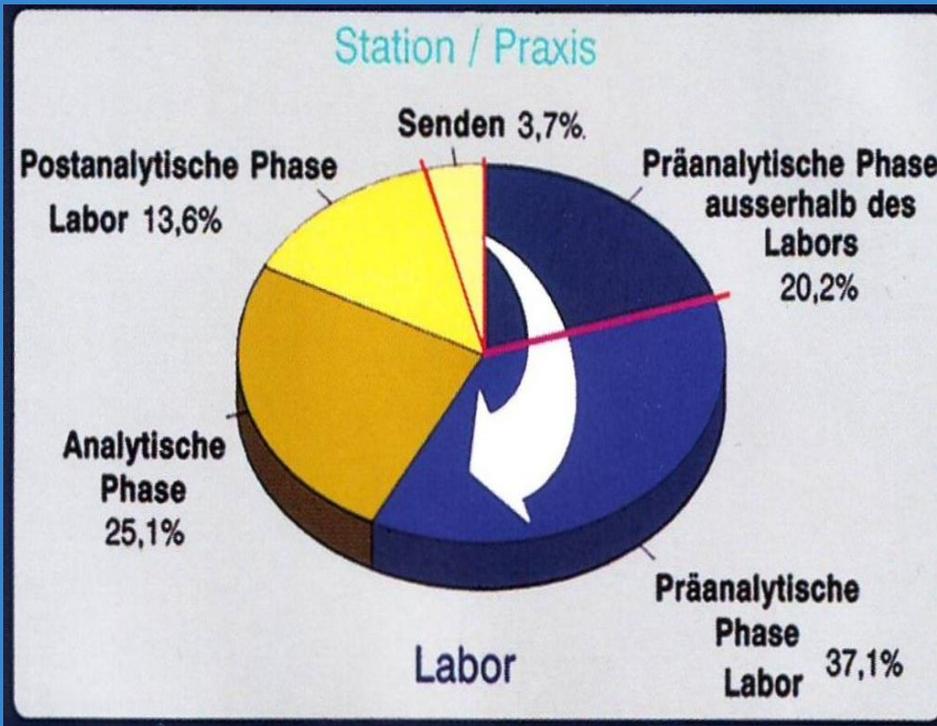


Grundlagen der Labormedizin

Proben zwischen Patient und Labor

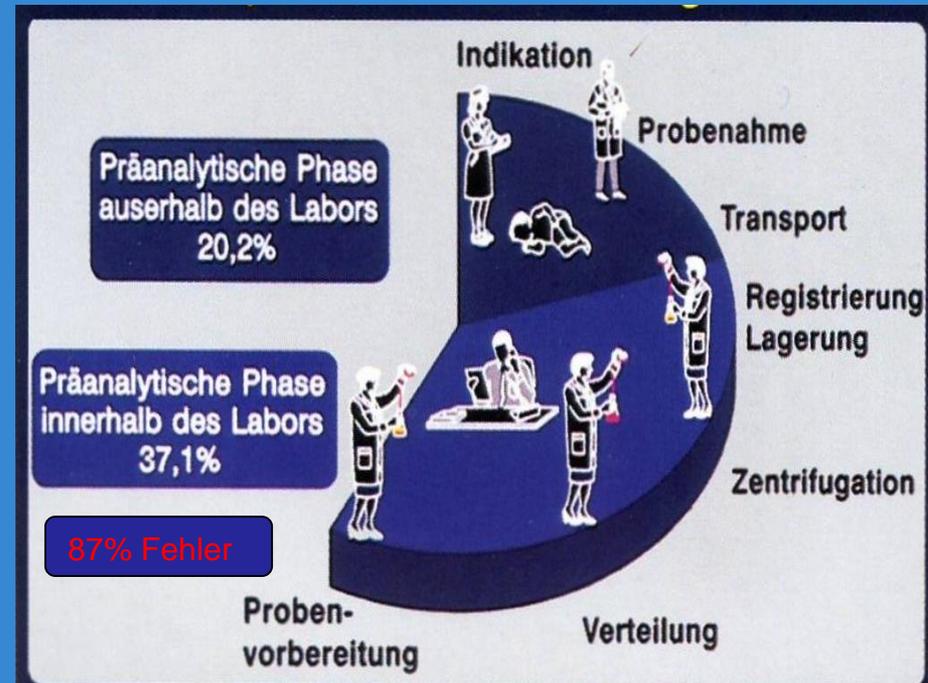
Semmelweis-Universität Budapest

Dr.Monika Kleiber

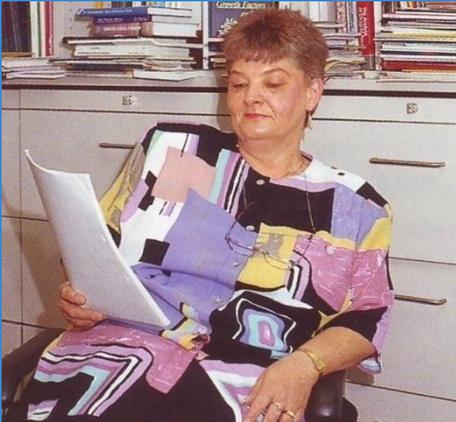


Relativer Beitrag der präanalytischen Phase zum Gesamtablauf eines diagnostischen Testes

Personen, die in die präanalytische Phase involviert sind.



Ein Fallbeispiel zur Einführung: "Traum"



Frau Hausmann
Alter: 56 Jahre
Beschwerden :
Gewichtszunahme
Durst
Harndrang
Hautjucken

Besuch beim Hausarzt

Urinuntersuchung mittels Schnelltest:
Ergebnis: erhöhter Zuckergehalt
Bestimmung der Glukosekonzentration aus
Vollblut mit einem Schnelltest: 15,56mmol/L

Überweisung zum Facharzt

Venöse Blutprobe nach einem Probefrühstück.
Am nächsten Tag nach 12-stündigem Fasten werden aus der
Armvene eine Heparin- und eine EDTA- Probe entnommen
und -nach den Zentrifugieren der Heparinprobe-Plasma und
Vollblut in das Labor versendet.

Laborergebnisse:

Hämoglobin A1C	: 8,5%	(2,5-6,0)
Hämoglobin	: 14,4 g/dl	(12 -15)
Kalium	: 3,6 mmol/L	(3,5-4,5)
Kreatinin	: 82 µmol/l	(44 - 80)

Fallbeispiel: „Wirklichkeit“



Frau Hausmann geht mit ihren Beschwerden zum Hausarzt:

Urin-Stix : Ergebnis: positiv

Blutzuckerwert: 6,0 mmol/L

Zur Sicherheit erfolgt eine Überweisung zum Facharzt

Sie bekam einen Termin zu einem Glukosetoleranztest. Die einzige Auflage war, dass sie nicht zu Abend essen dürfte.

Ergebnisse:

Glukose nüchtern : 8,89 mmol/L

Glukose nach 2 Stunden: 6,67 mmol/L

Da der Diabetologe keine Diagnose stellen konnte, wurde die Patientin am nächsten Tag zur Blutabnahme bestellt.

Ergebnisse der Laboruntersuchungen:

Hämoglobin A1C : 8,5 %

Hämoglobin : 13,5 g/dl

Kalium : 5,8 mmol/L

Glukose : 6,0 mmol/L

Kreatinin : 82 µmol/l

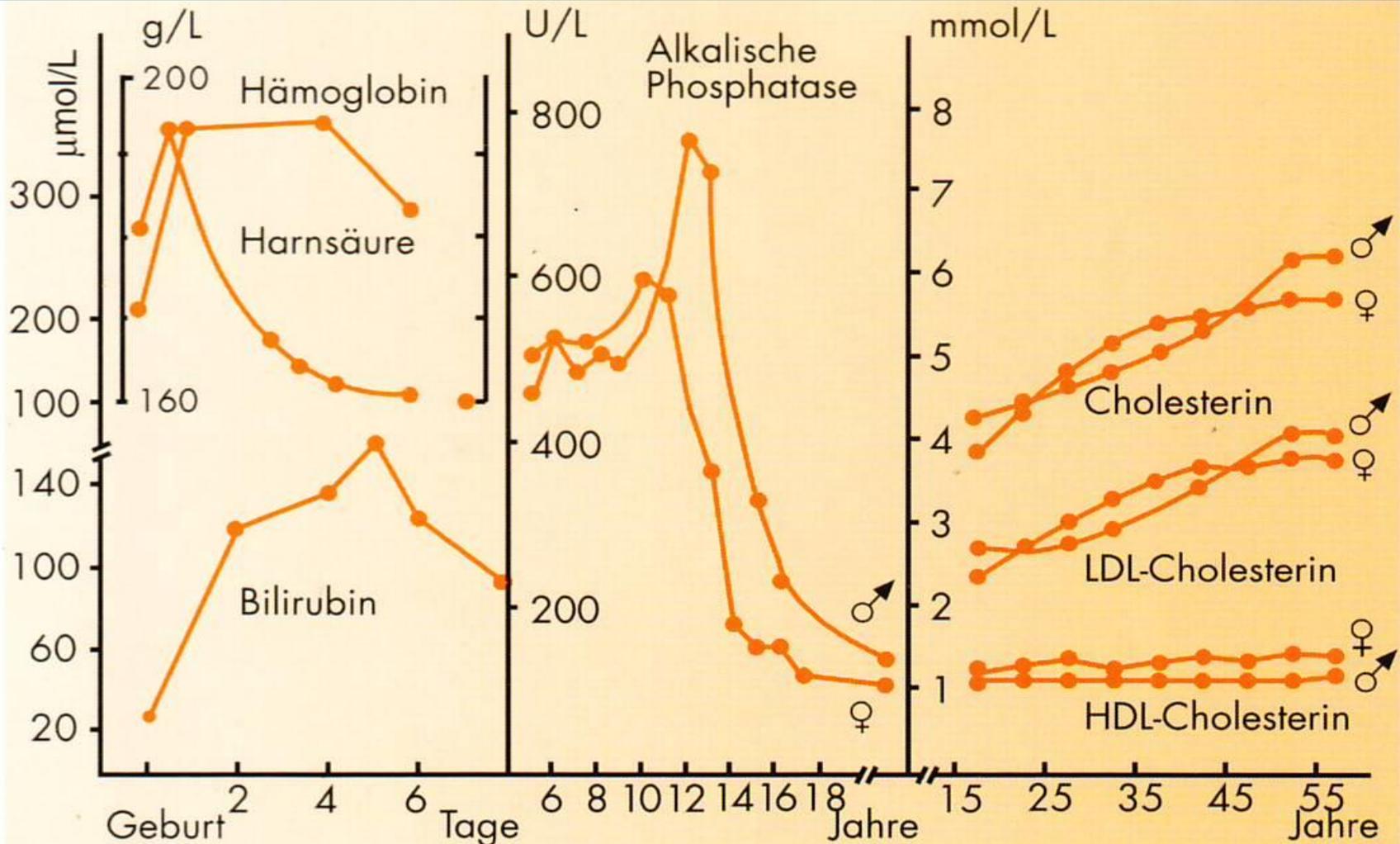
Was passierte mit Frau Hausmanns Proben?

Die präanalytische Phase

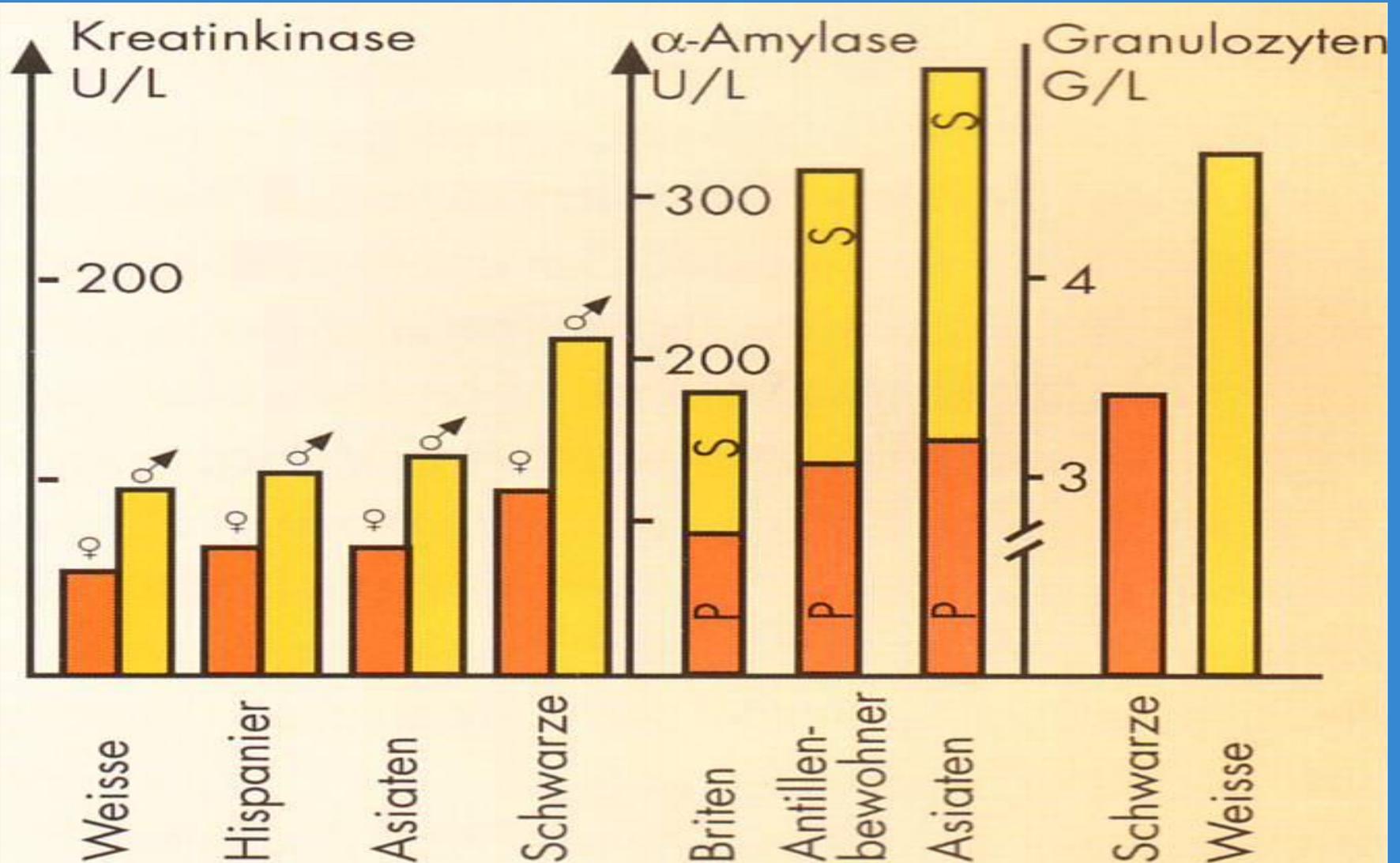
Biologische Variabilität oder unveränderliche Einflüsse

- Alter
- Ethnische Zugehörigkeit
- Geschlecht
- Schwangerschaft

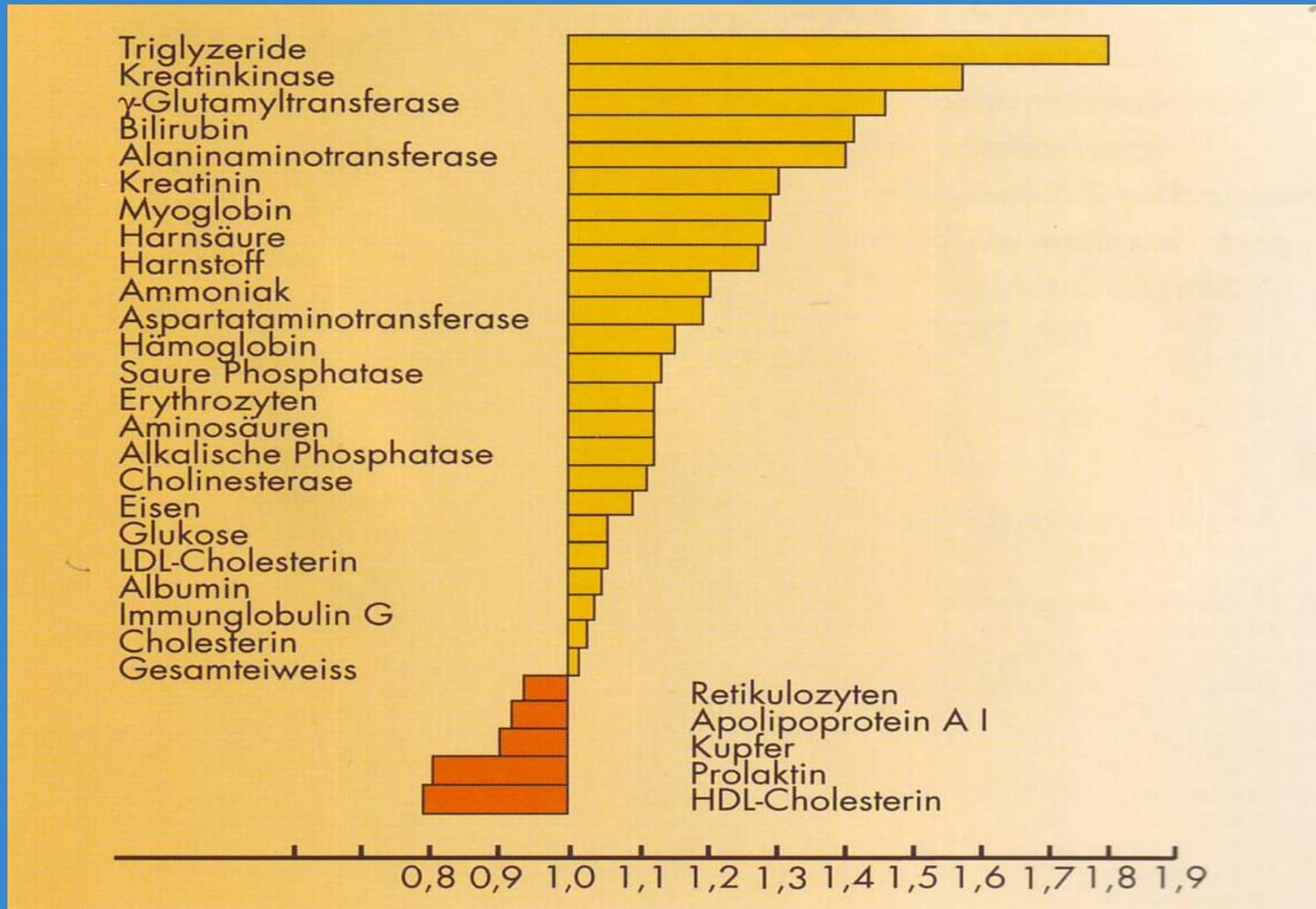
Einfluss des Alters auf Laborergebnisse



Einfluss der ethischen Zugehörigkeit auf Laborergebnisse



Geschlechtsabhängigkeit labormedizinischer Messgrößen



Einfluss der Schwangerschaft auf Laborergebnisse

Erhöhte Werte:

β -HCG !

Alk. Phosphatase

Amylase

Fette

Gerinnungswerte

Blutsenkung

Kupfer

Niedrige Werte:

Leberenzyme

Elektrolyte

Bilirubin

Hamoglobin

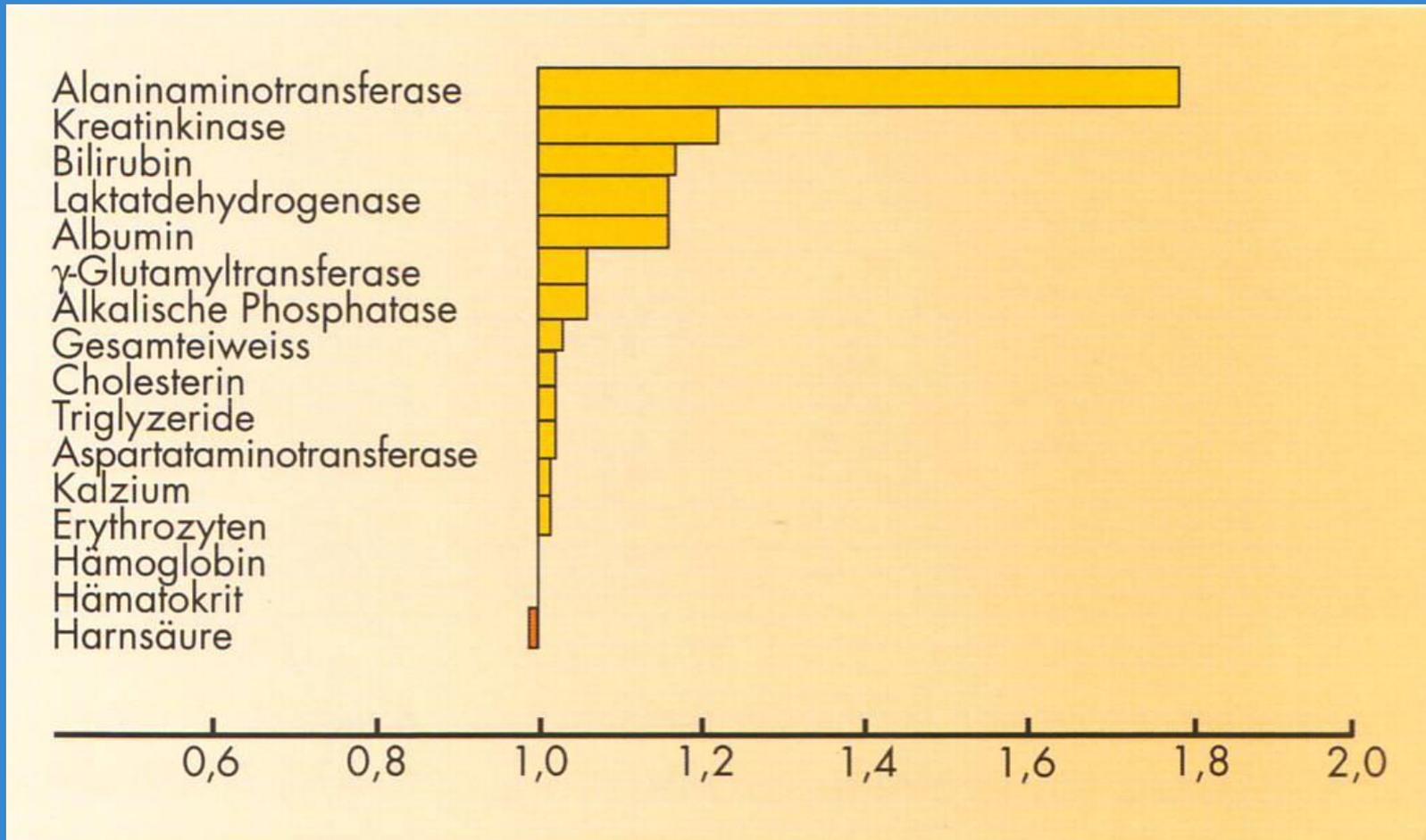
Ferritin, Eisen



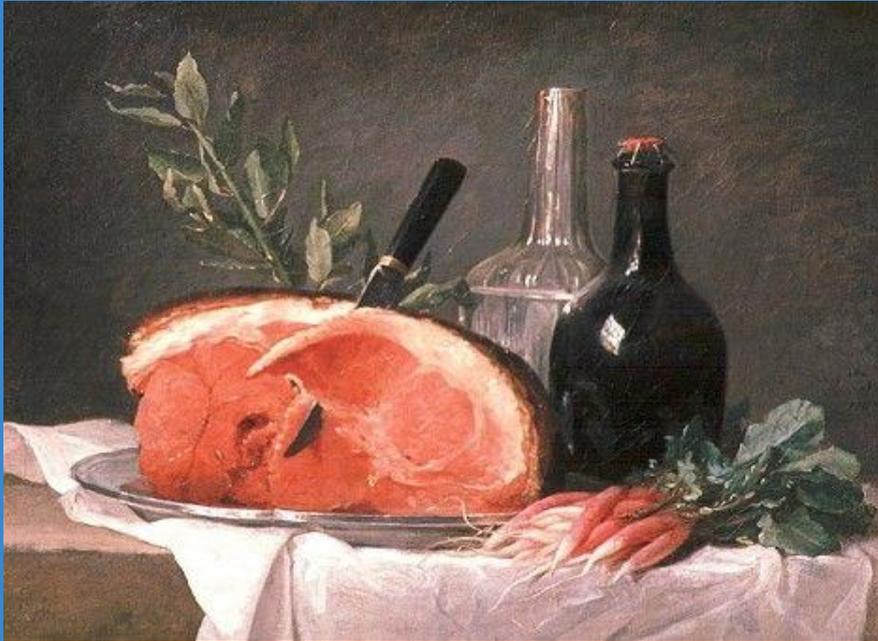
Wechselnde Einflüsse im Zusammenhang mit der Lebensweise

- Nahrungsaufnahme, Diäten
- Hunger
- Körperliche Aktivität
- Geographische Höhe

Veränderung der Serumkonzentration verschiedener Messgrößen zwei Stunden nach einer Standardmahlzeit



Essgewohnheiten und Laborparameter



Eiweiß- und purinreiche Ernährung erhöht die Harnsäurewerte und ist eine Hauptursache der Gichtkrankung

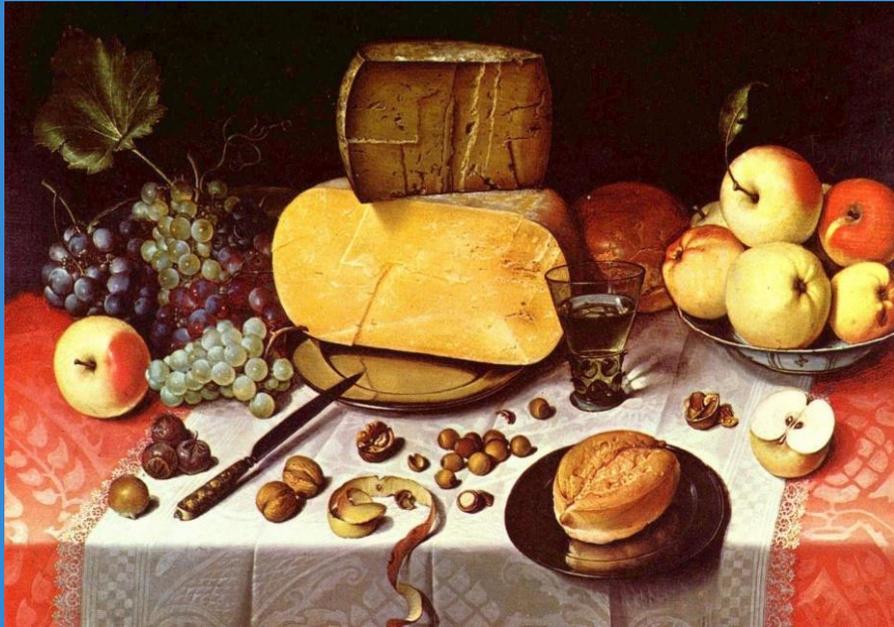


Fett- und kohlehydratreiche Ernährung trägt letztlich zu Gefäßveränderungen bei und erhöht somit die kardiovaskulären Risikofaktoren

Essgewohnheiten, Diäten

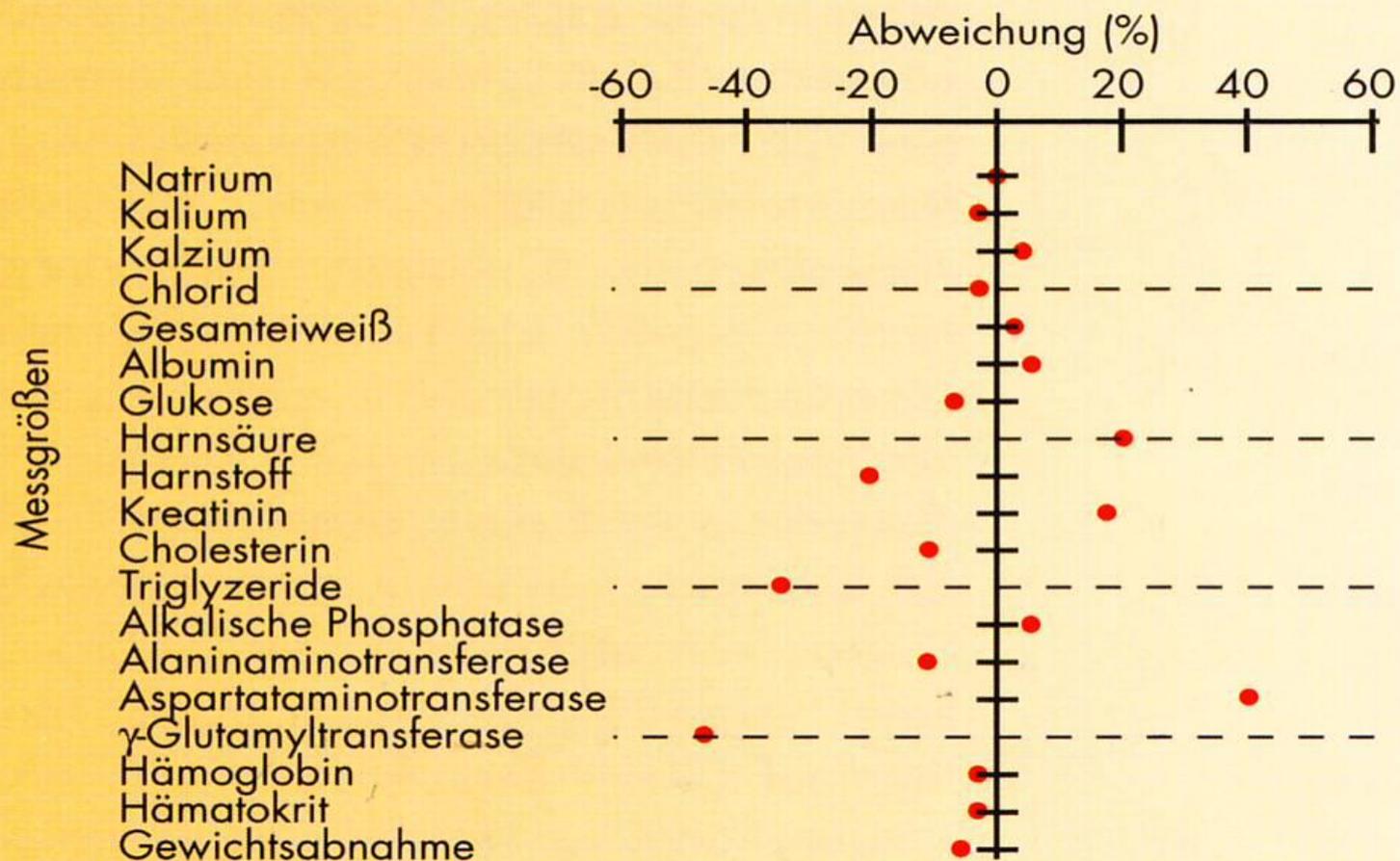
Vegatarianer

Veganer

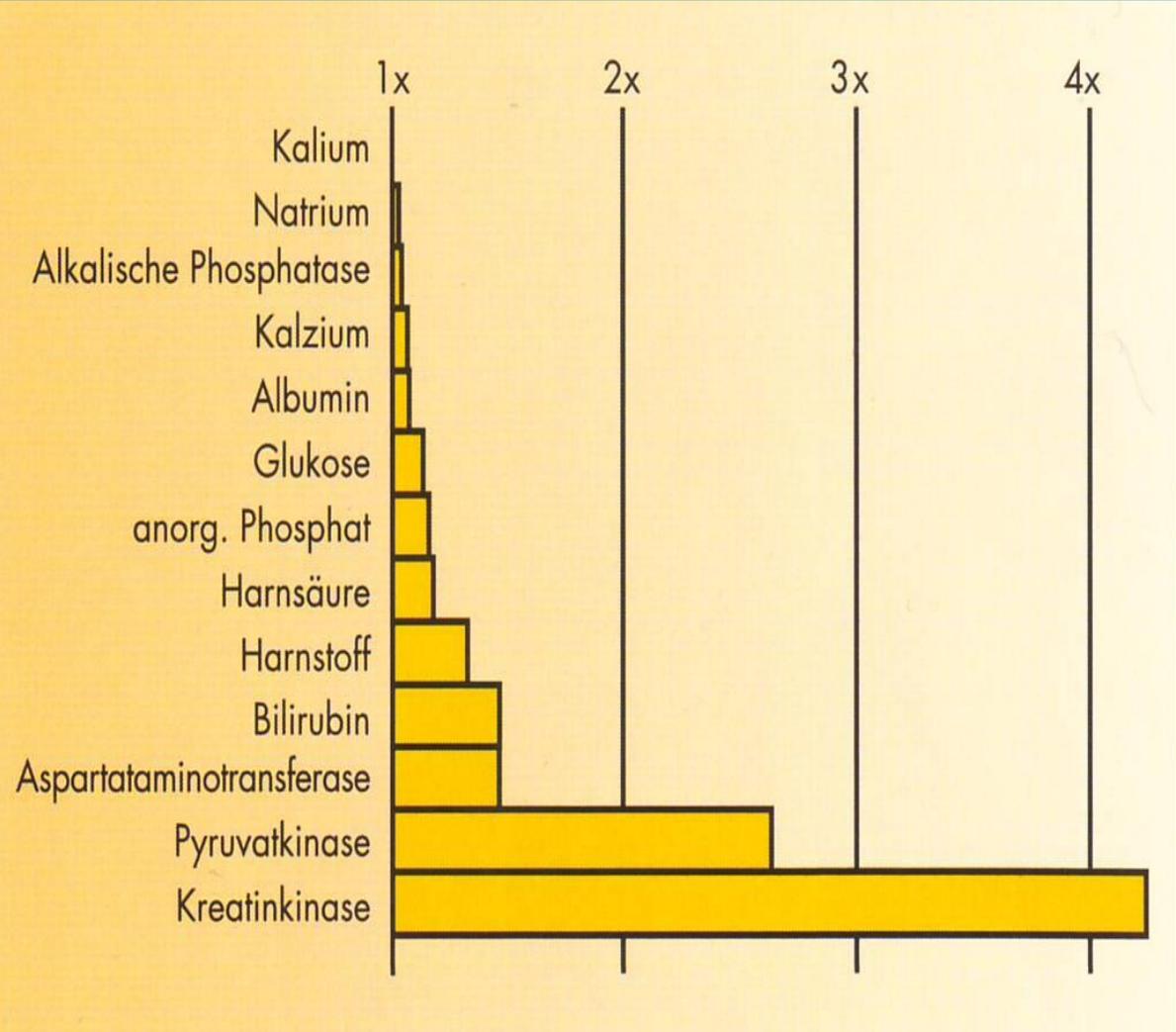


Das Fehlen ausreichender tierischer Nahrungskomponenten kann u.a. zu einem Mangel an Eiweiß, Eisen, Vitamin D und B12 führen und Ursache für eine Anämie sein.

Prozentuale Veränderungen der Konzentration klinisch-chemischer Messgrößen nach einer vierwöchigen Hungerperiode



Anstieg der Serumkonzentration verschiedener Analyte nach körperlicher Aktivität



Einfluss der geographischen Höhe auf einige Laborparameter



1400m - Hgb und Ht
um 8% erhöht

3600m – CRP um 65%
erhöht

5400m
 β -Mikroglobulin 65%
erhöht

Leben in 4000m Höhe:
EPAS1 Genvariante

Genuss-und Suchtmittel als biologische Einflussgrößen

Koffein

Alkohol

Nikotin

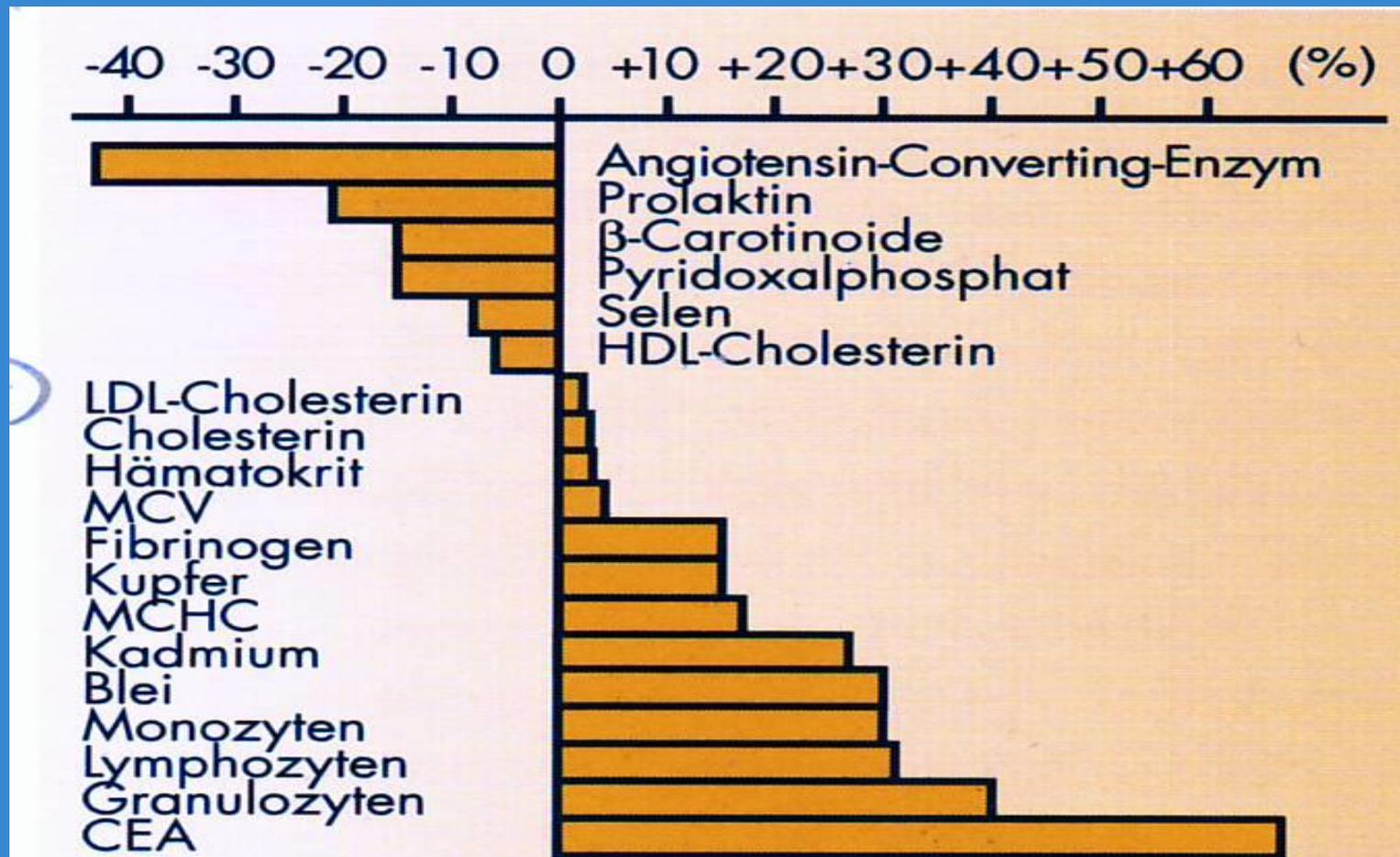
Drogen

Darf man vor der Blutabnahme Kaffee trinken ?

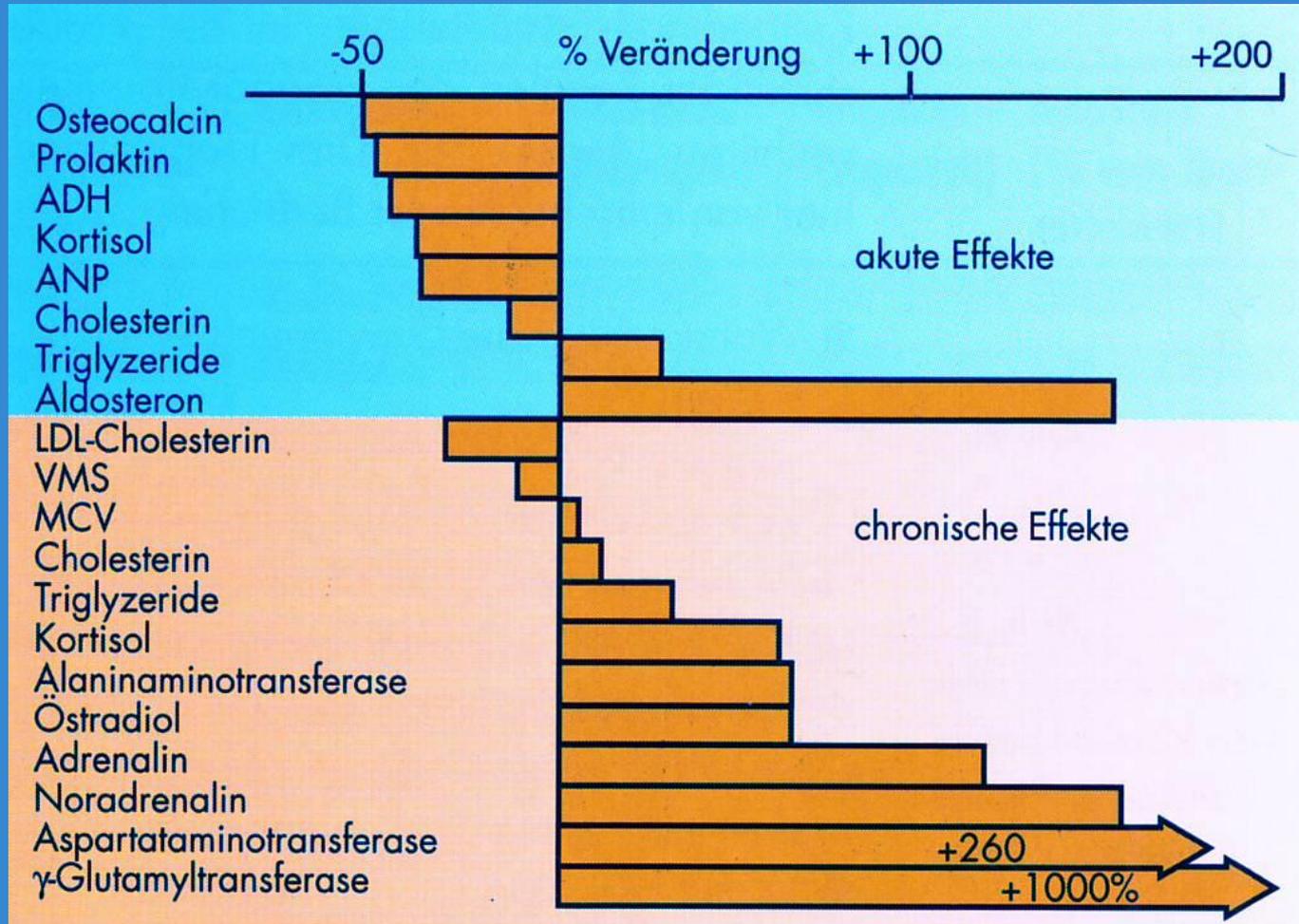
Koffein erhöht folgende Laborwerte:

- Lipidwerte:Cholesterin
- Glukose
- Schilddrüsenhormone
- Cortisolspiegel

Differenz der Durchschnittswerte (%) verschiedener Parameter bei Rauchern gegenüber Nichtrauchern



Akute und chronische Auswirkungen von Alkohol-konsum auf klinisch-chemische Messgrößen



Wirkung von Drogen auf die Konzentration von Messgrößen

Droge	Anstieg/Abfall im Plasma	Droge	Anstieg/Abfall im Plasma
1. Amphetamine	Anstieg: freie Fettsäuren.	3. Heroin	Anstieg: pCO_2 , T_4 , Cholesterin, Kalium bei schwerer Rhabdomyolyse.
2. Morphine	Anstieg: α -Amylase, Lipase, AST,  ALT, Bilirubin, Alkalische Phosphatase, Gastrin, TSH, Prolaktin Abfall: Insulin, Noradrenalin, Neurotensin, Pankreatisches Polypeptid.	4. Cannabis	Anstieg: Natrium, Kalium, Harnstoff, Insulin, Chlorid. Abfall: Kreatinin, Glukose, Harnsäure.

Unmittelbare Einflüsse auf Laborwerte bei der Blutentnahme

- Chronobiologische Einflüsse
- Psychischer Stress
- Körperlage
- Stauung

Chronobiologische Einflüsse bei ausgewählten Messgrößen

Zirkadiane Veränderungen bei ausgewählten Messgrößen (S = Serum, U = Urin)

Messgröße	Maximum (Tageszeit)	Minimum (Tageszeit)	Amplitude (% vom Tagesmittelwert)	Messgröße	Maximum (Tageszeit)	Minimum (Tageszeit)	Amplitude (% vom Tagesmittelwert)
Kortikotropin (ACTH)	6-10	0-4	150-200	Noradrenalin (S,U)	9-12	2-5	50-120
Kortisol (S,U)	5-8	21-3	180-200	Hämoglobin	6-18	22-24	8-15
Testosteron	2-4	20-24	30-50	Eosinophile	4-6	18-20	30-40
TSH	20-2	7-13	5-15	Eisen (S)	14-18	2-4	50-70 ●
Thyroxin	8-12	23-3	10-20	Kalium (S)	14-16	23-1	5-10
Somatotropin	21-23*	1-21	300-400	Phosphat, anorg.(S)	2-4	8-12	30-40 ●
Prolaktin	5-7	10-12	80-100	Natrium (U)	4-6	12-16	60-80
Aldosteron	2-4	12-14	60-80	Phosphat (U)	18-24	4-8	60-80
Renin	0-6	10-12	120-140	Volumen (U)	2-6	12-16	60-80
Adrenalin (S)	9-12	2-5	30-50	Körpertemperatur	18-20	5-7	0.8 – 1.0 °C

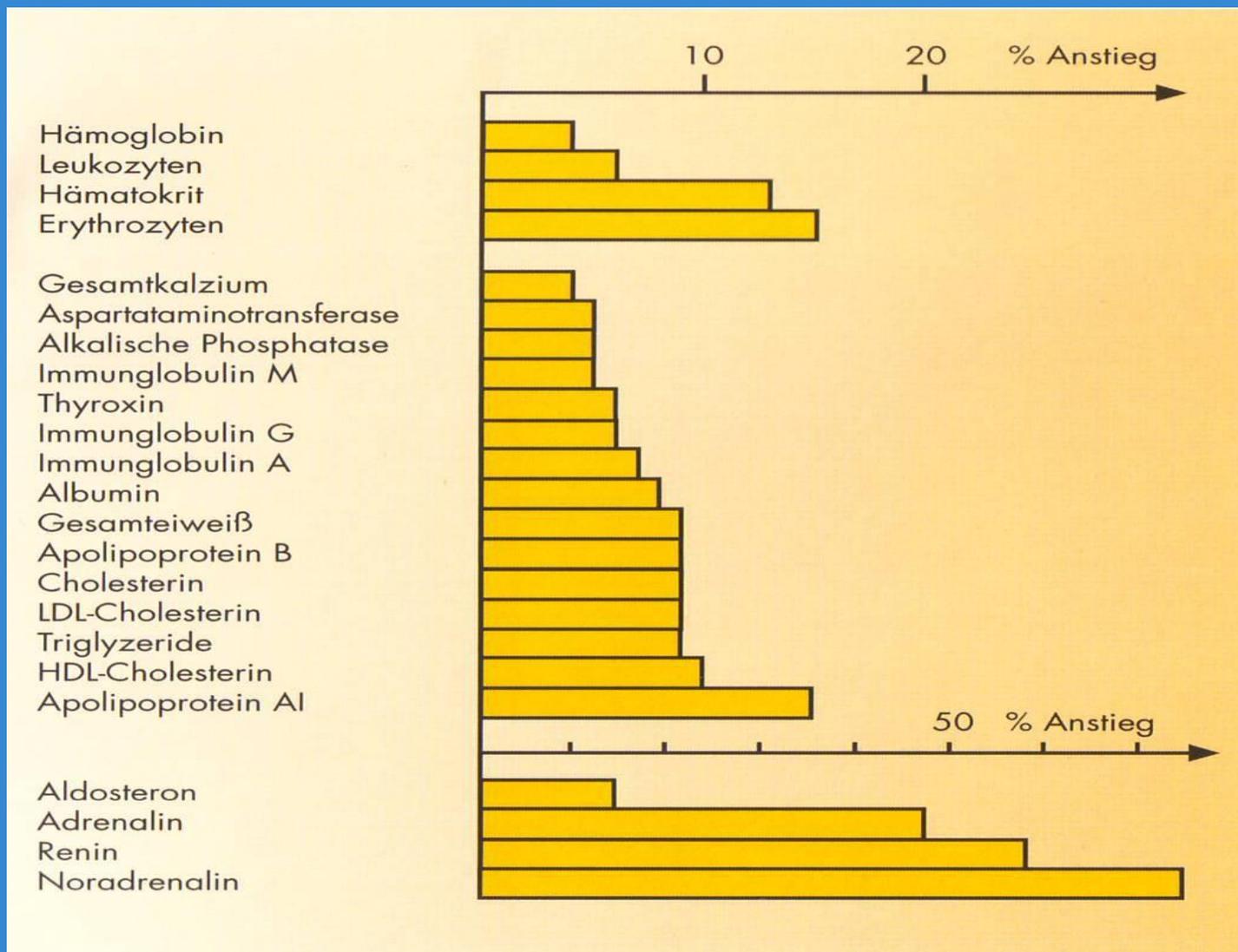
Wichtige Regeln für die Wahl des Zeitpunktes einer Probennahme

- Wenn möglich, sollte die Blutabnahme zwischen 7.00 und 9.00 Uhr erfolgen,
- Eine Entnahme sollte nach 12 stündiger Karrenz stattfinden,
- Die Probennahme sollte **vor** anderen diagnostischen und therapeutischen Maßnahmen liegen,
- Beim therapeutischen Drug Monitoring sollte die Blutentnahme in Abhängigkeit von der Medikamentation geschehen!
- *Beachte: Eine Probe, die zur falschen Zeit gewonnen wurde, kann schlechter sein als gar keine Probe.*
- *Eine Probe, deren Befund zu spät beim Anfordernden ankommt, ist wertlos.*

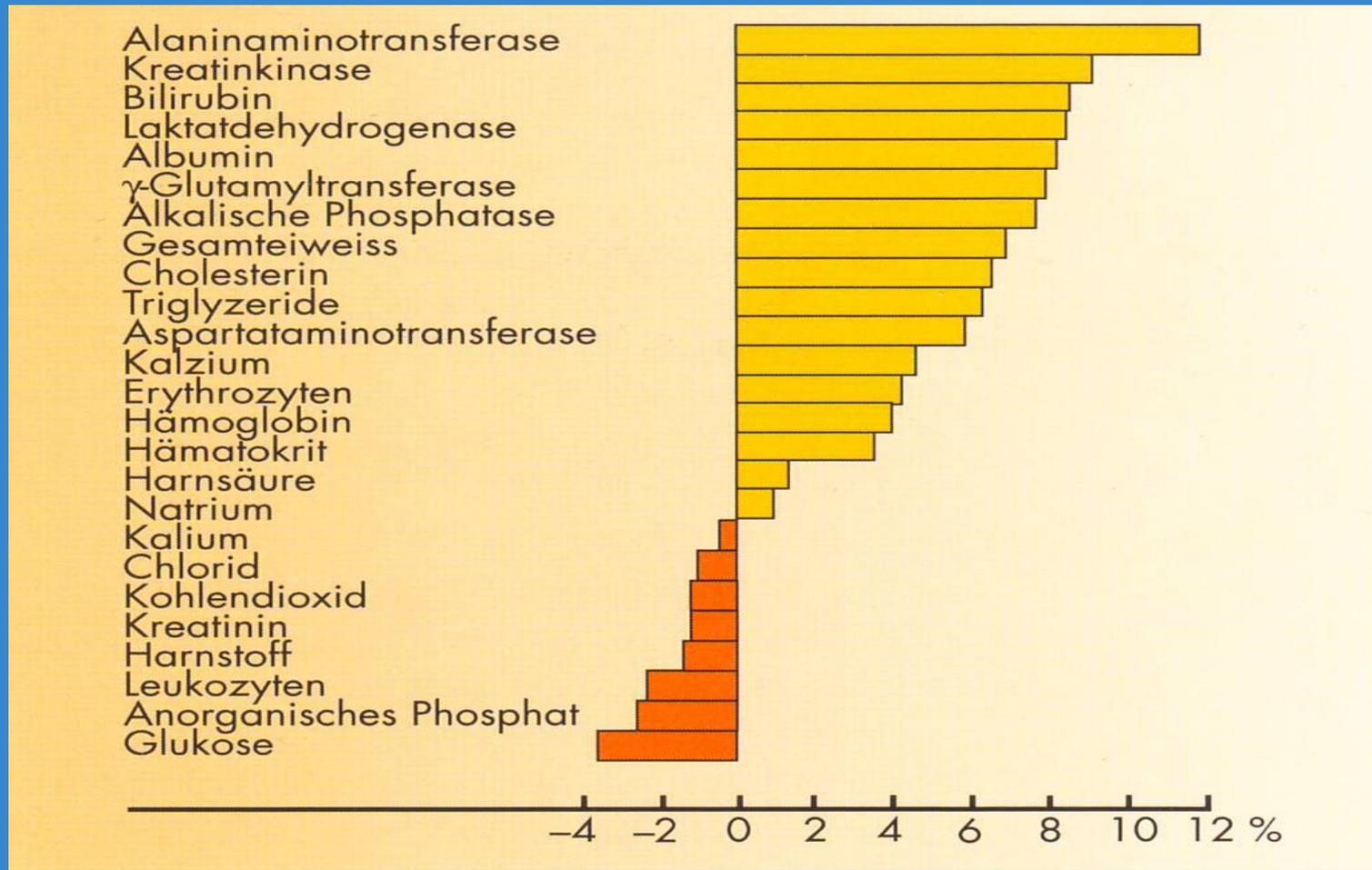
Psychischer Stress



Prozentualer Anstieg der Plasmakonzentration verschiedener Analyte bei Veränderung der Körperlage vom Liegen zum Sitzen



Veränderung der Messgrößen nach einer sechsminütigen Stauzeit



Techniken der Probengewinnung

- Wahl des Proberöhrchen
- Serum oder Plasma?
- Probenidentifikation
- Reihenfolge zur Gewinnung der Proben
- Venöse Blutentnahme
- Komplikationen bei der Venenpunktion
- Problematische Venenpunktionen
- Kapillarblutentnahme
- Blutentnahme aus Kathetern
- Urin als Untersuchungsmaterial
- Liquor

Wahl des Proberöhrchens

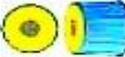
VACUETTE® Röhrchen	Farbcodierung der Kappe	Zusatz	Bestimmungen
Serum		Gerinnungsaktivator	Bestimmungen in Serum in der Klinischen Chemie, mikrobiologische Serologie, Immunologie, TDM
Serum Gel		Gerinnungsaktivator und Gel	Bestimmungen in Serum in der Klinischen Chemie, mikrobiologische Serologie, Immunologie, TDM
Serum Granulat		Gerinnungsaktivator und Granulat	Bestimmungen in Serum in der Klinischen Chemie, mikrobiologische Serologie, Immunologie
Serum Kreuzprobe		Gerinnungsaktivator	Bestimmungen in Serum für Kreuzproben
Plasma		Natrium Heparin Lithium Heparin Ammonium Heparin	Bestimmungen in heparinisiertem Plasma in der klinischen Chemie
Plasma Gel		Lithium Heparin und Gel	Bestimmungen in heparinisiertem Plasma in der klinischen Chemie
EDTA		K ₂ EDTA K ₃ EDTA	Bestimmungen in EDTA-Vollblut in der Hämatologie
EDTA Kreuzprobe		K ₃ EDTA	Bestimmungen in EDTA-Vollblut für Kreuzproben
EDTA Gel		K ₃ EDTA und Gel	Bestimmungen in EDTA-Plasma bei der molekularbiologischen Identifizierung von Viren, Parasiten und Bakterien
Gerinnung		Zitrat Lösung (3,2 %) Zitrat Lösung (3,8 %)	Bestimmungen in Zitrat-Plasma in der Hämostaseologie
CTAD		CTAD (3,2 %)	Bestimmungen in Zitrat-Plasma in der Hämatologie, wobei eine beschleunigte Freisetzung der Plättchenfaktoren in das Zitrat-Plasma verhindert wird
Glukose		Anticoagulant Glykolysehemmer	Bestimmungen von Glukose und Laktat in stabilisiertem und anticoagulierte Vollblut
Spurenelemente		Gerinnungsaktivator Natrium Heparin	Bestimmungen von Spurenelementen in Serum bzw. heparinisiertem Plasma
Blutgruppen		ACD-A ACD-B CPDA	Bestimmungen in ACD / CPDA Vollblut für Blutgruppenbestimmungen

Abb. 23: Internationale Farbcodierung nach ISO 6710

Messgröße	Störende Antikoagulanzen
Albumin	Heparin
Akalkische Phosphatase	Zitrat, EDTA, Fluorid, Oxalat
Apha-Amylase	Zitrat, EDTA, Fluorid
Apha-1-Antitrypsin	Zitrat, EDTA, Oxalat
Bilirubin	Zitrat, Fluorid, Oxalat
Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG)	Heparin
Kalzium	Zitrat, EDTA, Oxalat
Cholesterin	Zitrat, Fluorid
Cholinesterase	EDTA, Fluorid, Heparin
Coenuopasmin	EDTA
Kreatin-Kinase (CK)	Zitrat, Fluorid, Oxalat
CK-MB	Zitrat, EDTA, Fluorid, Heparin, Oxalat
Eisen	Zitrat, EDTA, Heparin, Oxalat
Eisenbindungskapazität	EDTA
Gamma-GT	Zitrat, Fluorid, Heparin, Oxalat
GLDH	Fluorid
Glukose	Zitrat, Oxalat
GOT (ASAT)	Oxalat
GPT (ALAT)	Oxalat
Harnsäure	EDTA, Zitrat, Fluorid
Harnstoff	Fluorid
HBDH	Oxalat
HDL-Cholesterin	Zitrat, Fluorid
Insulin	Oxalat
Kalium	Oxalat
Kreatinin	Zitrat, EDTA, Fluorid
Kupfer	Zitrat, EDTA, Fluorid, Oxalat
LAP	Zitrat, EDTA, Fluorid, Heparin, Oxalat
LDH	Fluorid, Oxalat
LDL-Cholesterin	Oxalat
Lipase	EDTA
Lipide	EDTA
Lipidelektrophorese	Oxalat
Lithium	Oxalat
Natrium	Zitrat, EDTA, Oxalat
Phosphat	Zitrat
Proteinelektrophorese	Oxalat
Quick (Thromboplastinzeit)	Oxalat
Saure Phosphatase	Zitrat, EDTA, Fluorid, Heparin, Oxalat
T3 (Trijodthyronin)	Oxalat
Triglyzeride	Zitrat, Fluorid, Oxalat
Vitamin B12	Oxalat

Abb. 24: Einfluss von Antikoagulanzen auf ausgewählte Parameter

Serum oder Plasma?

Vorteile von Serum:

Keine Störungen bei der Elektrophorese

Keine Störungen durch Antikoagulantien

Keine Kontamination mit Kationen

Vorteile von Plasma:

Zeitgewinn

Höhere Ausbeute

Keine Nachgerinnung

Plasmaergebnisse repräsentieren den *invivo* Status des Patienten besser als die Serumwerte

Risiko für Hämolyse und Thrombozytolyse ist gering

Probenidentifikation

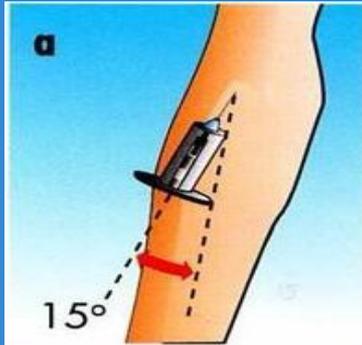
Als Minimalanforderung sollte die Probe folgende Informationen enthalten:

- Name, Vorname
- Geburtsdatum
- Geschlecht
- Identitätsnummer: Patientenummer, ein-
zweidimensionale Barcode, elektron. Chips
- Einsender
- Zeit der Probenentnahme

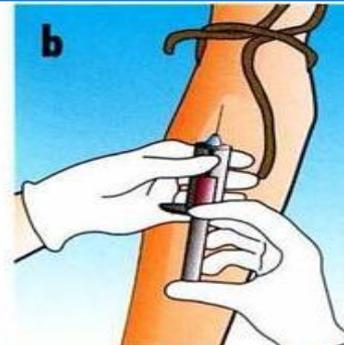
Reihenfolge der Blutentnahme

- Blutkultur
- Röhrchen ohne Zusatz
- Zitrat
- Heparin
- EDTA
- Glykosehemmer

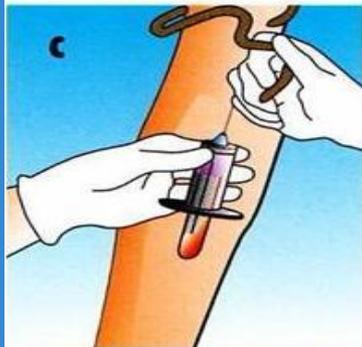
Stufen der venösen Blutentnahme mit evakuierten Röhrchen



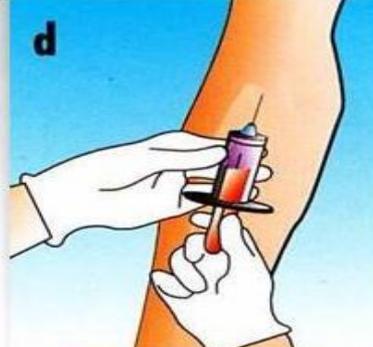
Durchstoße die Haut und halte die gesamte Nadel-einheit zwischen Daumen und Zeigefinger der rechten Hand.



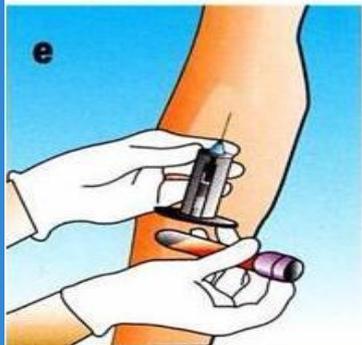
Wechsle die Handposition, sobald die Nadel in der Vene ist. Schiebe mit dem Daumen der rechten Hand das Röhrchen in den Halter, halte den Halter der Nadel mit Zeige- und Mittelfinger.



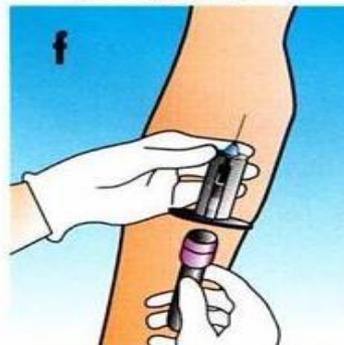
Das Blut wird durch das Vakuum angesaugt und fließt von selbst in das Röhrchen. Löse die Stauung und halte mit der linken Hand den Nadelhalter.



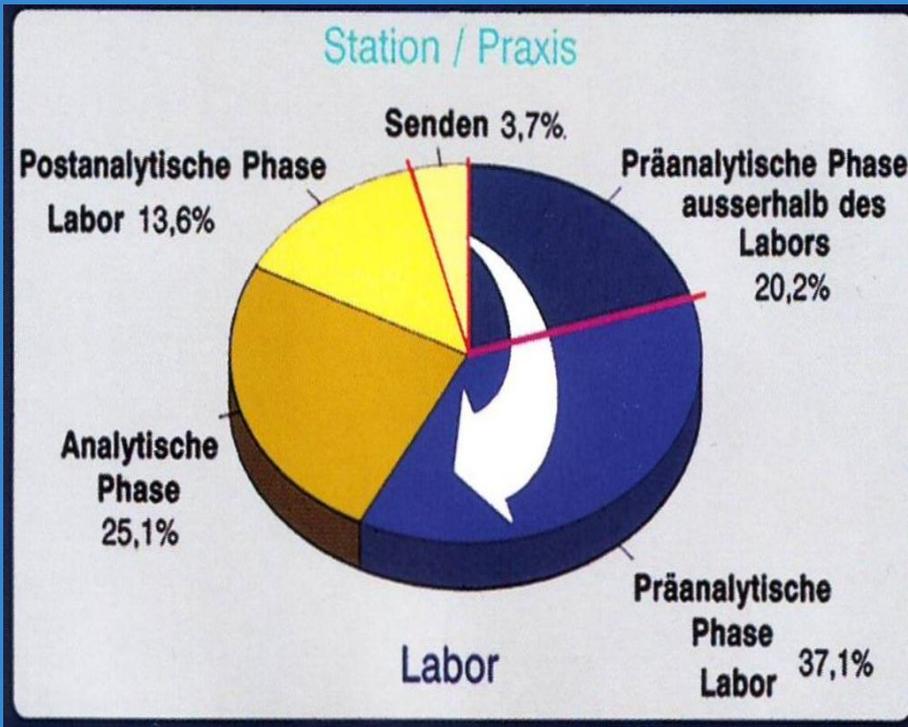
Ziehe das Röhrchen mit der rechten Hand aus der Nadel und halte diese am Halter mit der linken Hand fest.



Schwenke das Röhrchen vorsichtig einige Male hin und her, um eine angemessene Mischung mit dem Antikoagulans zu sichern.

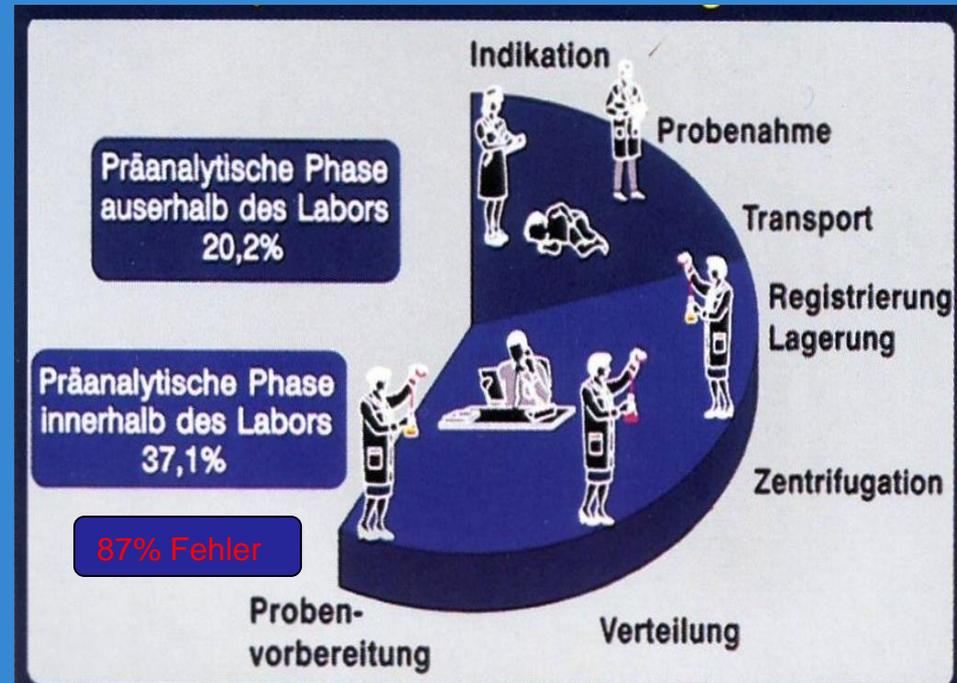


Wenn mehrere Blutröhrchen entnommen werden, nimm das zweite Röhrchen und wiederhole die Vorgänge, beginnend mit Abschnitt b.



Relativer Beitrag der präanalytischen Phase zum Gesamtablauf eines diagnostischen Testes

Personen, die in die präanalytische Phase involviert sind.



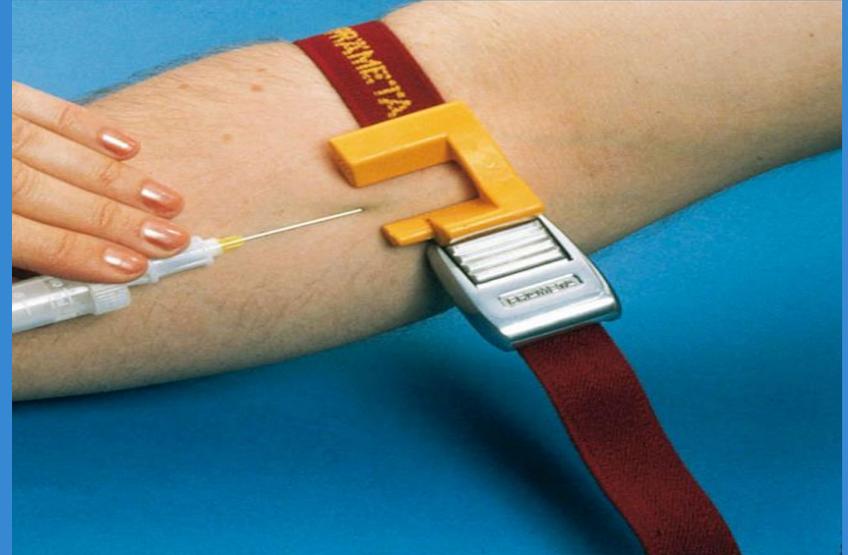
Komplikationen bei der Venepunktion

- Venenkollaps, Zweitpunktion
- Hämatom
- Nachblutung

- Phlebitis
- Thrombose

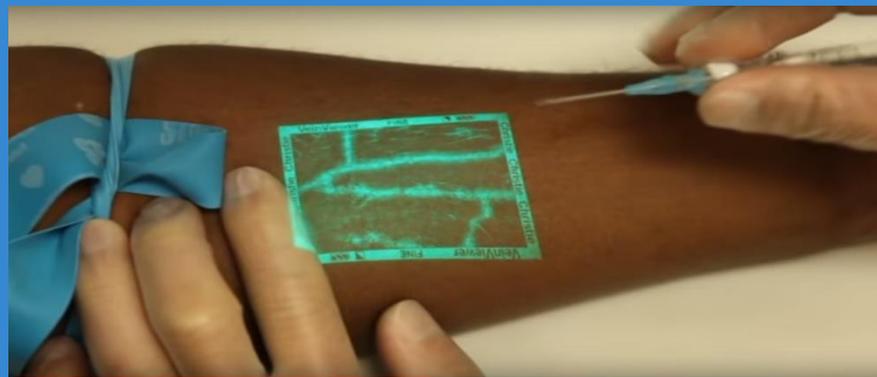
Problematische Venenpunctionen I

- Rollvenen
- Platzvenen
- Vernarbte Venen
(Drogensucht, Chemotherapie u.s.w).

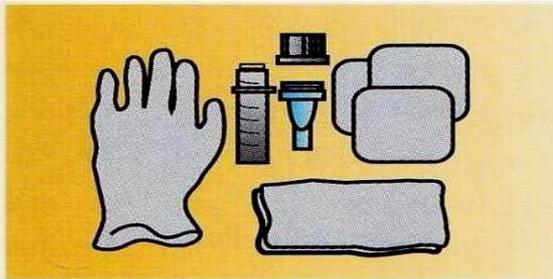


Problematische Venenpunktion II

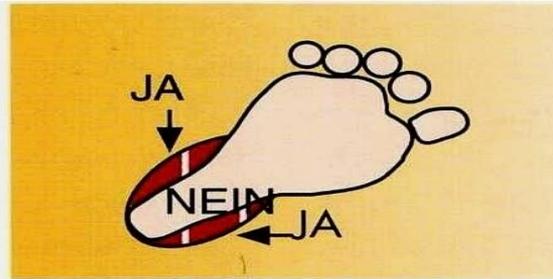
- Versteckte Venen Venensuchgeräte



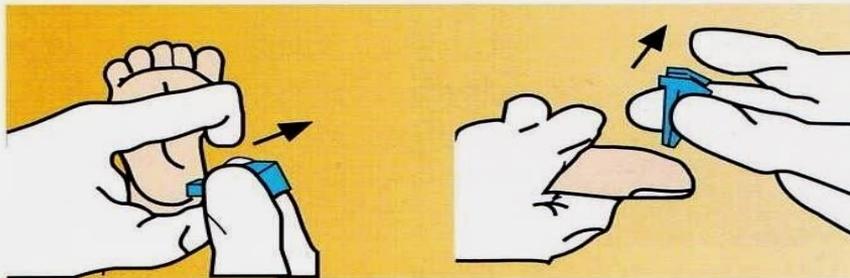
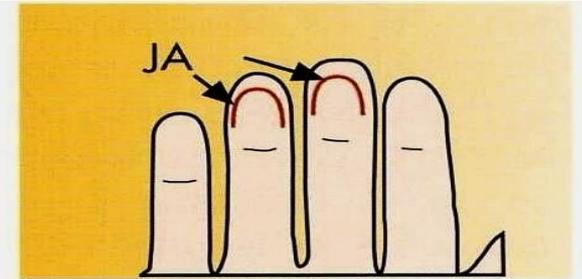
Abnahme von Kapillarblut



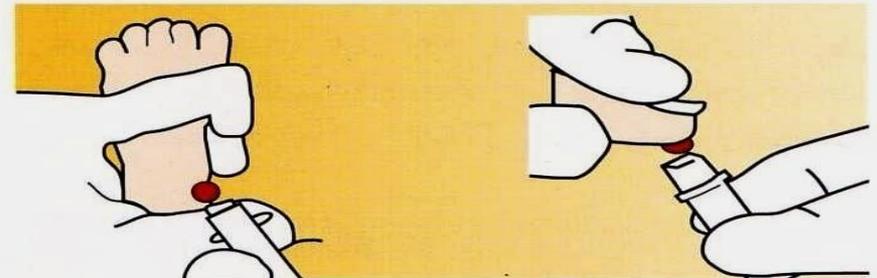
a) Materialien zusammenstellen und Patienten vorbereiten.



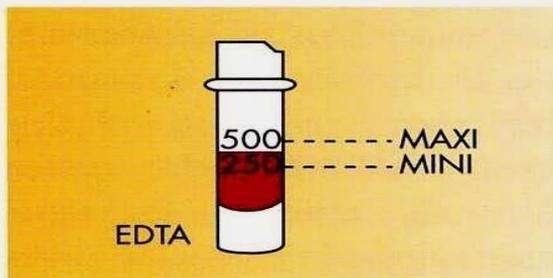
b) Punktionsstelle auswählen, erwärmen, desinfizieren und lufttrocknen lassen.



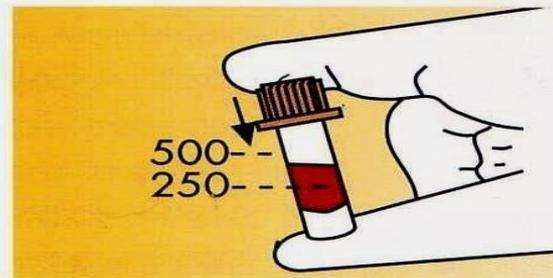
c) Punktion ausführen: Ferse bzw. Finger mit festem Griff halten, die Lanzette benutzen, Kolben entfernen, Lanzette in einem speziellen stichfesten Container entsorgen.



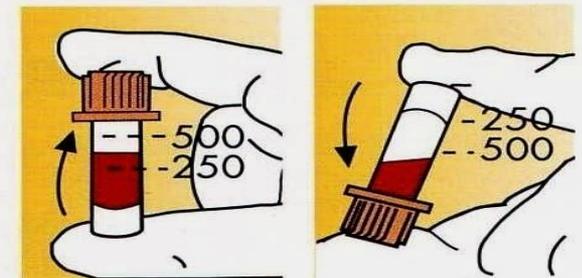
d) Ersten Tropfen Blut wegwischen, Röhrchen an die Punktionsstelle bringen, Blutfluss unterhalb der Mitte des Kollektors in das Röhrchen leiten. **Nicht massieren!**



e) EDTA-Röhrchen zwischen Markierung 250 μ L und 500 μ L auffüllen.



f) Deckel herabdrücken, bis ein Klicken hörbar ist.

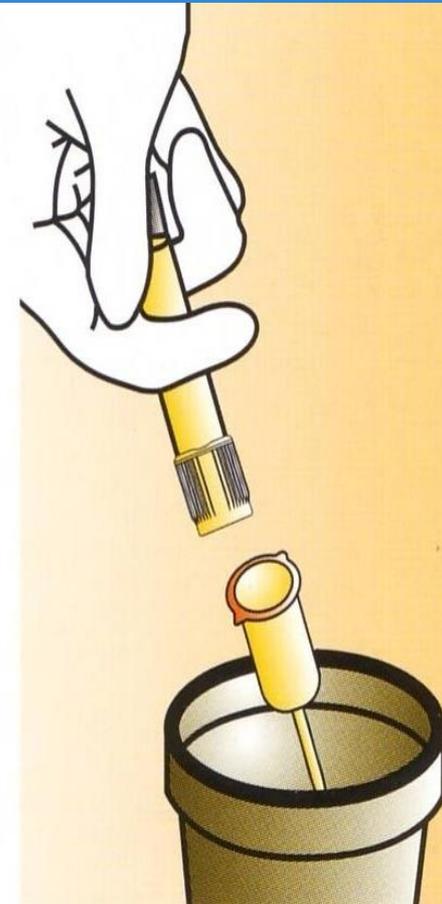
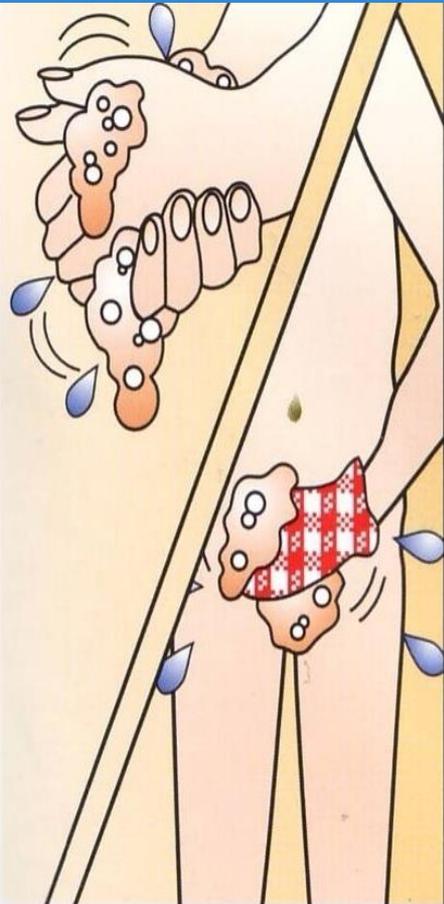


g) Sofort mischen durch zehnmalsiges Schwenken des Röhrchens um 180°. **Nicht schütteln!**

Blutgewinnung aus Kathetern

- Eine der *häufigsten* Probleme der präanalytischen Interferenzen im stationären Bereich ist die Kontamination mit Infusionslösungen:
- Blut sollte niemals oberhalb der Infusions-stelle abgenommen werden!
- Unabhängig vom Kathetervolumen sollte mit isotonischer Kochsalzlösung gespült werden!
- Die ersten 5 ml Blut sind zu verwerfen!

Sammlung und Probengewinnung von Mittelstrahlurin



Urinproben

Morgenurin I: Urin der ersten Miktion des Tages

Mikrobiologische Bestimmungen

Schwangerschafts-Ovulationsnachweis

Morgenurin II: Quantitative Bestimmungen von Analyten

(Glukose, Ca, Mikroalbumin)

mikroskopische Untersuchung der Sedimente

Sammelurin : Überwachung der Nierenfunktion ohne

chronobiologische Schwankungen

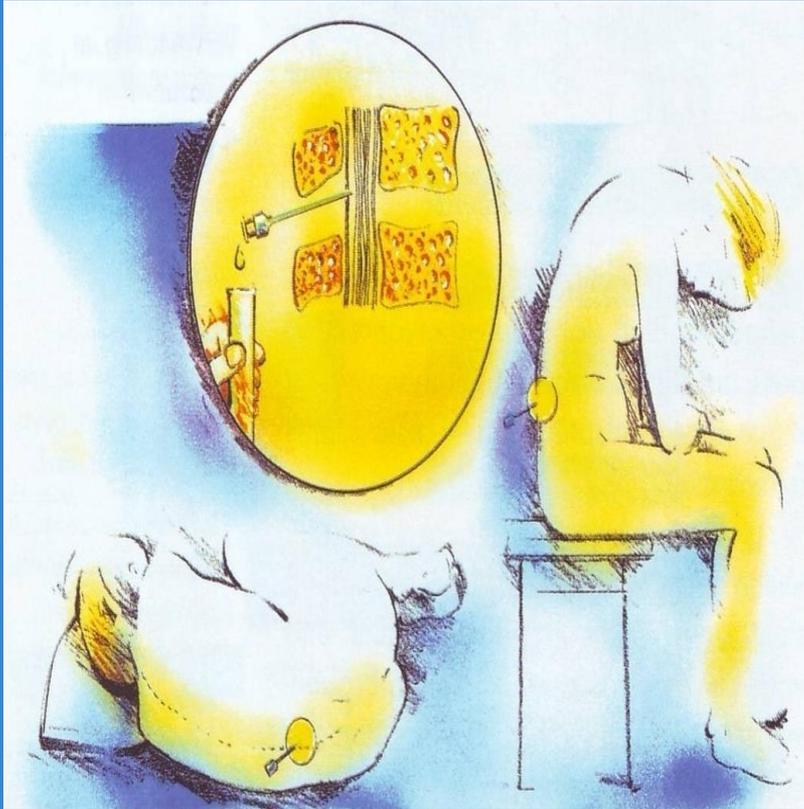
Spontanurin : Zumeist für akute Diagnosestellung oder

Ausschluss von Erkrankungen

Dauerkatherurin: Nicht aus dem Beutel entnehmen!

Drei-Gläser-Urin: Lokalisierung einer Hämaturie

Spezifische Aspekte von Liquorproben 1

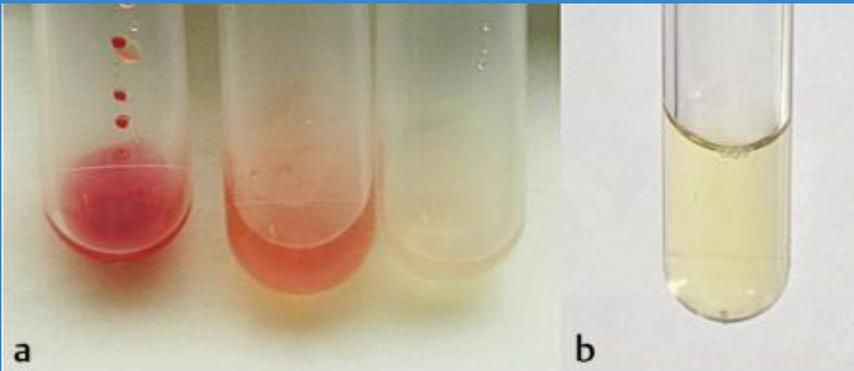


- Die Probe muss sofort nach der Entnahme in das Labor geschickt werden!
- Bei zytologischen Untersuchungen sind Röhrchen ohne Zusätze zu verwenden !**
- Da Liquor nicht besonders „zellfreundlich“ ist, sollte er innerhalb einer Stunde verarbeitet werden, danach ist Eiskühlung angebracht
Ausnahme : mikrobiologischen Bestimmungen, Meningokokken sind kälteempfindlich !

Spezifische Aspekte von Liquorproben 2



Röhrchen mit weissem Stopfen:
Steril und ohne Zusätze !

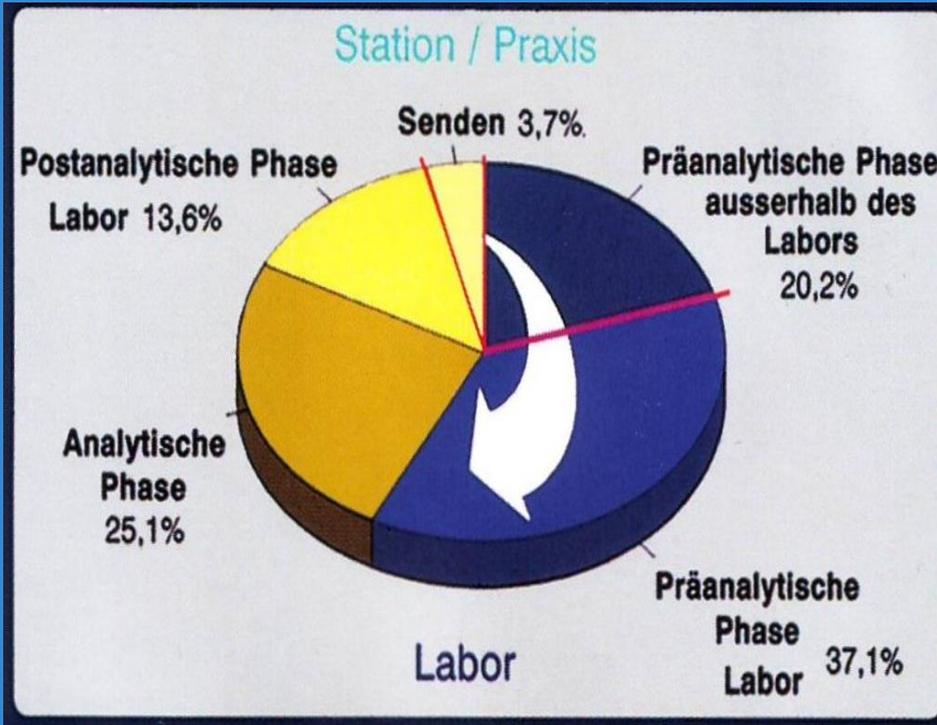


Bei blutigem Liquor Probe
in Fraktionen abnehmen, zur
Lokalisation der Blutung

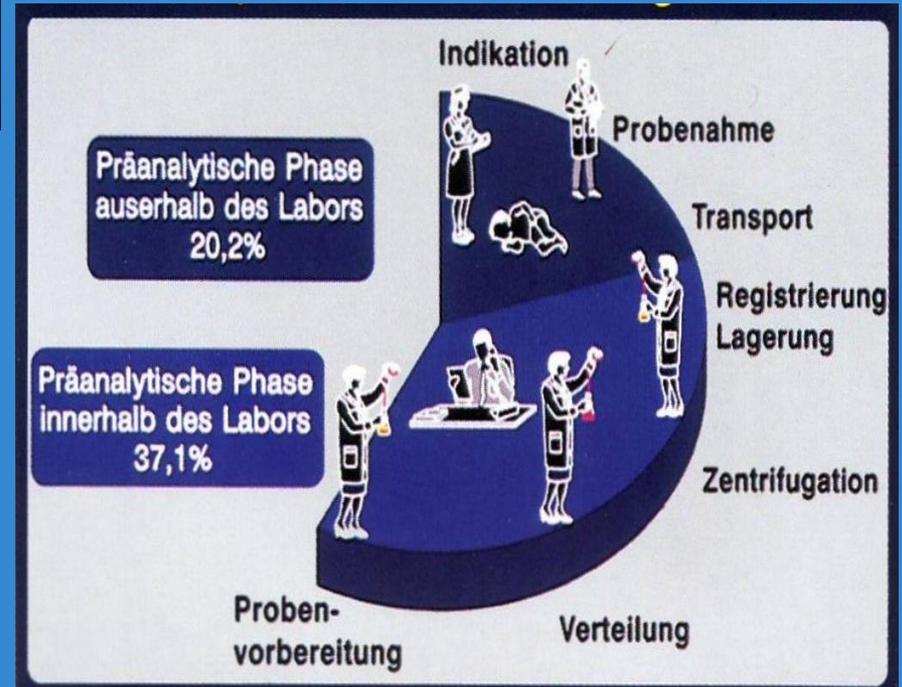
Probentransport Rohrpost



Relativer Beitrag der präanalytischen Phase zum Gesamtablauf eines diagnostischen Testes



Personen, die in die präanalytische Phase involviert sind.



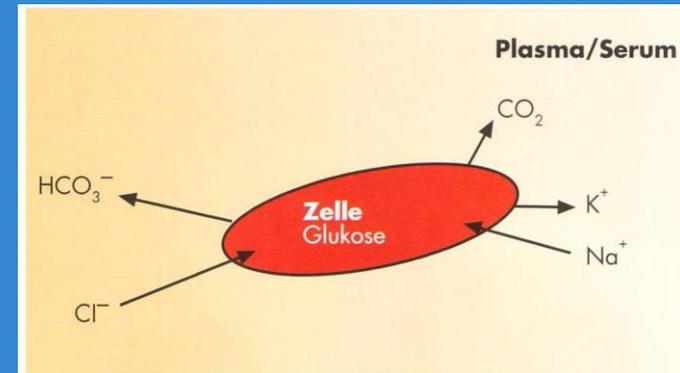
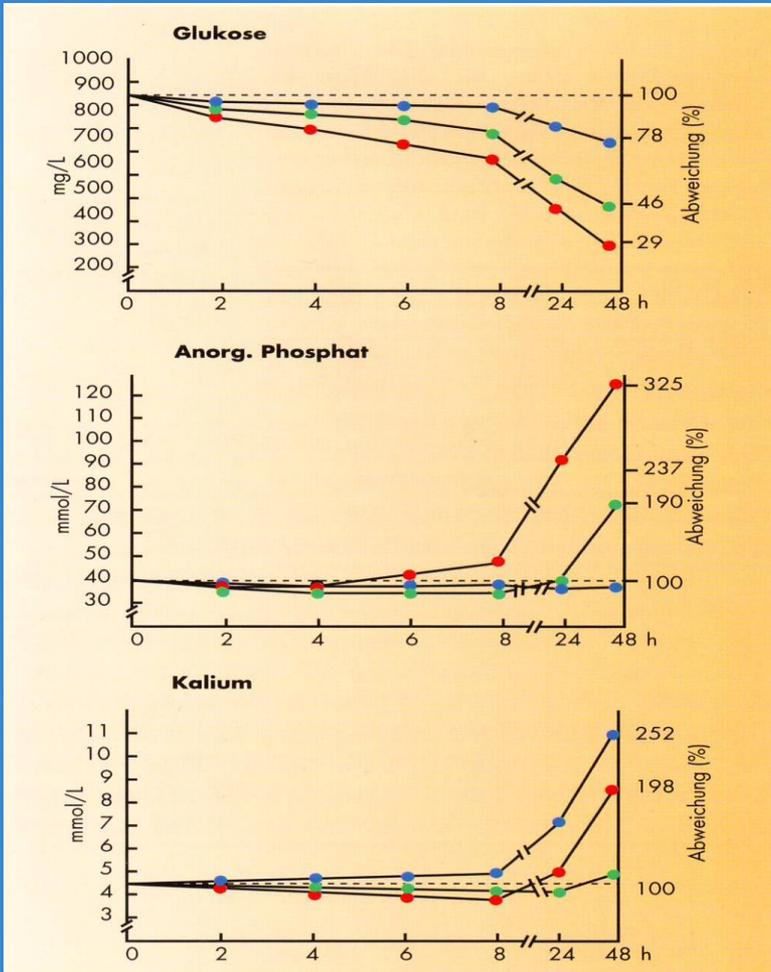
Sortierer



Richtige Lagerung von Laborproben

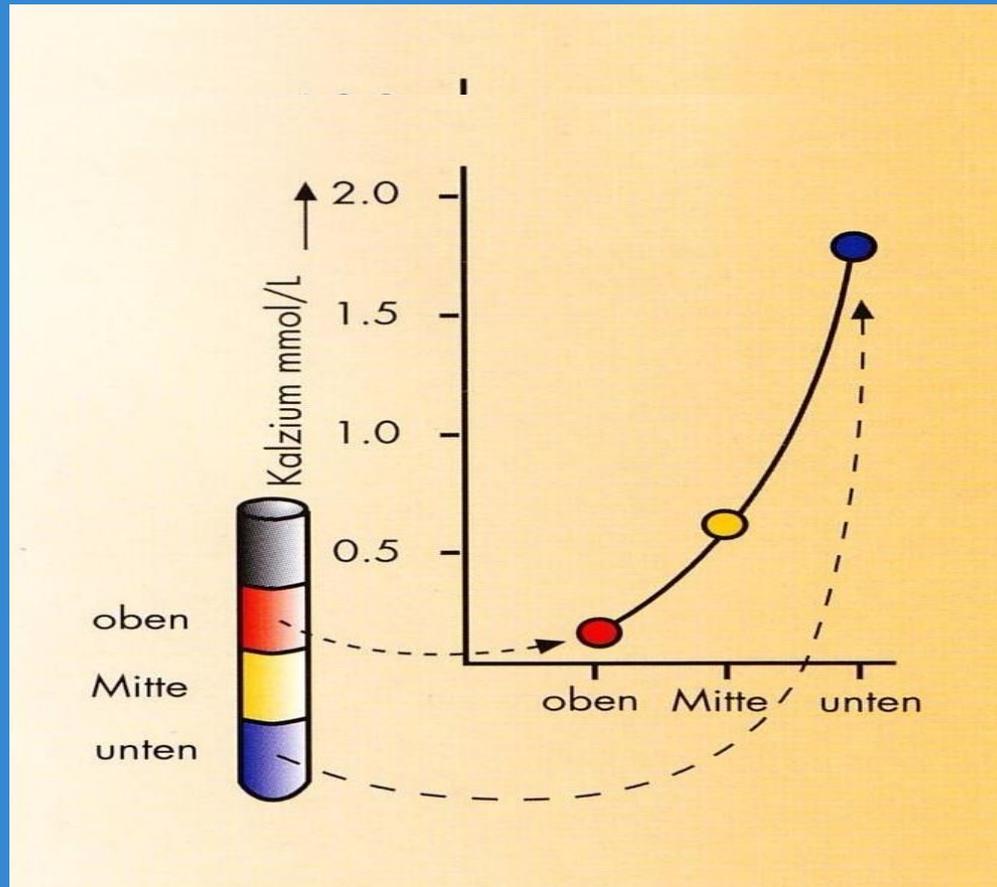
- Lagerung von Vollblut vermeiden
- Glykolyse vermeiden (Glukose, Laktat, PH)
- Lichteinwirkung vermeiden (Bilirubin, Vitamin C)
- Luftkontakte vermeiden (Verdunstung)
- Proben für bestimmte Messgrößen nicht tiefrieren (hämatologische Proben, Seren für Lipoproteinbestimmungen)
- Wiederauffindung sichern (Identitätskontrolle)

Einflüsse von Zeit und Temperatur auf einige Serumanalyte im Vollblut



- 4 C°
- 23 C°
- 30 C°

Auftauen von Proben



Ausbildung eines Konzentrationsgradienten von Kalzium im Plasma nach Auftauen ohne anschliessendes Mischen

Die Sorgenkinder des Labors

- Lipämische Proben
- Hämolytische Proben
- Antikörper als Stolperstein

Die lipämische Probe

Die Trübung einer Probe ist immer klinisch bedeutsam und sollte dokumentiert werden.

Chylomikrone oder VLDL?

Trübungen als Störgrößen:

- Inhomogenität (Aufrahmen der Probe)
- Wasserverdrängung bis zu 10% (Na,K↑)
- Trübungen (bei photometrischen Verfahren)
- Physikochemische Mechanismen (Affinität zu Antikörpern)

Behandlung von Störungen durch Lipämie

- Man verdünnt mit verschiedenen Mengen eines klaren Serums
- Ultrazentrifugieren
- Präzipitation
- Methodenänderung

Man sollte unbedingt darauf achten, dass nicht die Klärung einer Probe selbst zur Ursache einer Störung wird!



Die hämolytische Probe

Hämolyse ist definiert als Freisetzung von Bestandteilen der Blutzellen ins Plasma/Serum und geht zumeist mit einer Rotfärbung des Plasmas einher.

Hämolyse ist mit dem bloßen Auge erst in einer Konzentration von etwa 300 mg/l erkennbar.

Neben dem Hämoglobin können auch Bestandteile von Thrombocyten und Granulozyten austreten.

Ursachen für Hämolyse

- Hämolyse durch Krankheiten
- Zu enge Kanülen
- Zu starke Aspiration
- Verteilen von Blut aus Spritzen
- Schütteln einer Probe
- Verzögertes Abtrennen von Zellen
- Zu langes und zu starkes Zentrifugieren
- Temperatureinflüsse
- Einfrieren von Vollblut

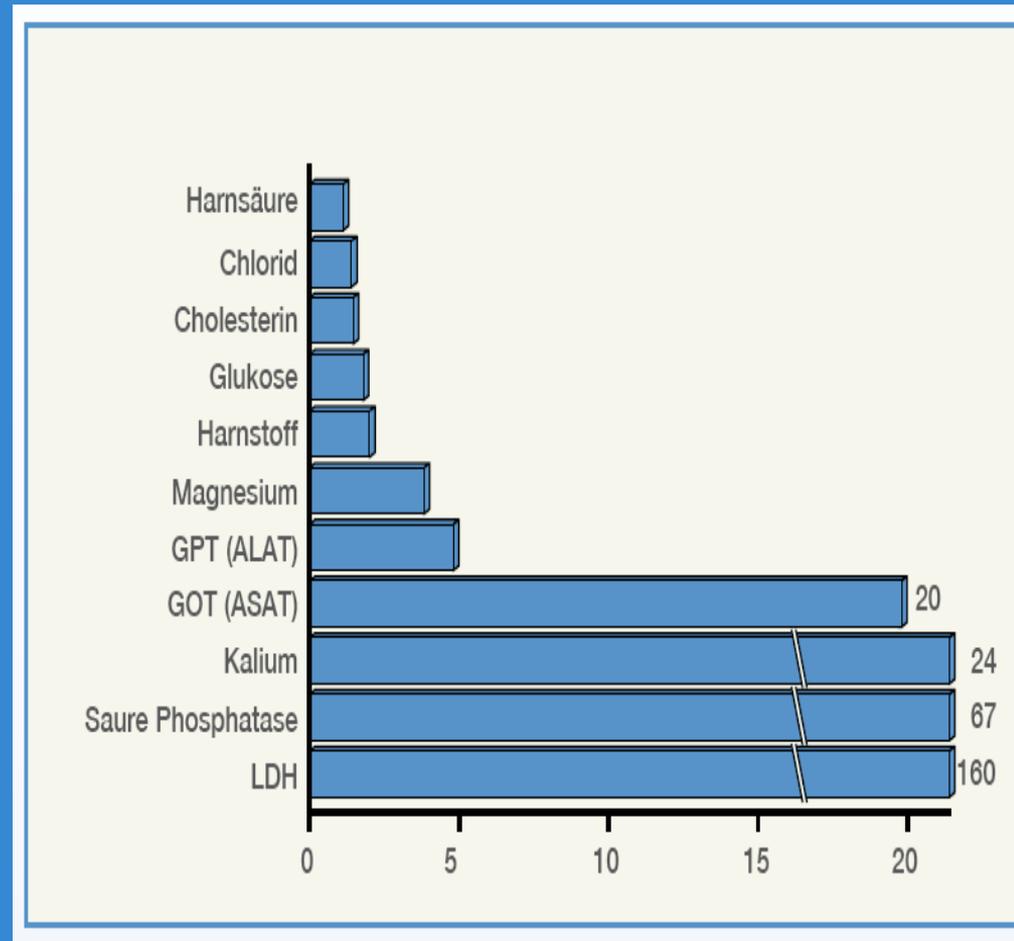


Mechanismen der Störungen durch Hämolyse

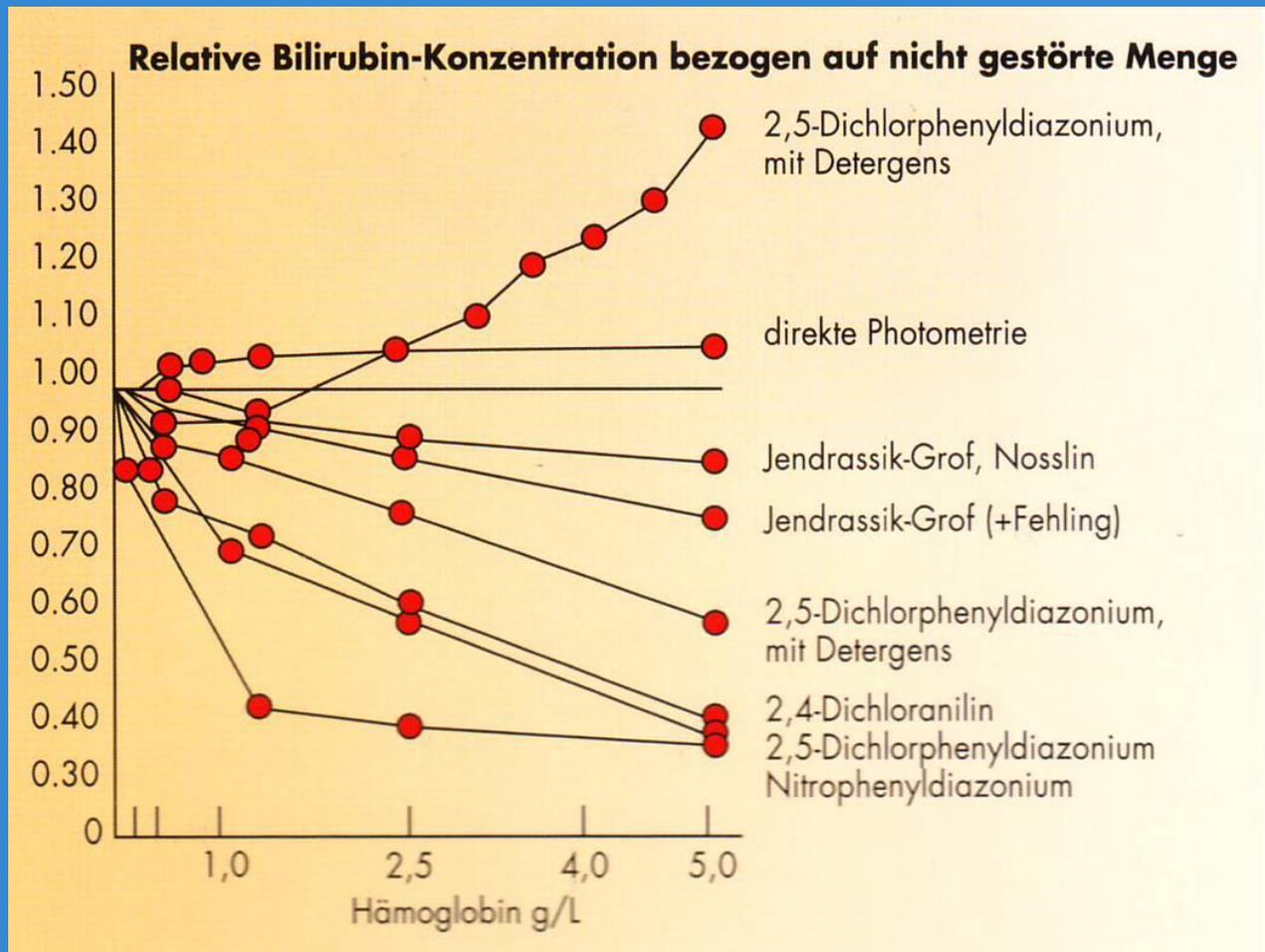
- Anstieg der intrazellulären Bestandteile im Extrazellulärraum.
- Optische Interferenz ist zumeist durch die Farbe des Hämoglobins bedingt.
- Störung durch intrazelluläre Bestandteile mit der Reaktion des Testreagentien.

Konzentrationsverhältnis verschiedener Parameter in Erythrozyten und Serum

Jeder unerwartete Anstieg hämolyse-sensitiver Analyte sollte solange als durch Hämolyse verursacht gesehen werden, bis diese als Ursache ausgeschlossen werden kann!



Methodenabhängige Störung durch Pseudooxydase-Effekt des Häm



Antikörper als Stolpersteine

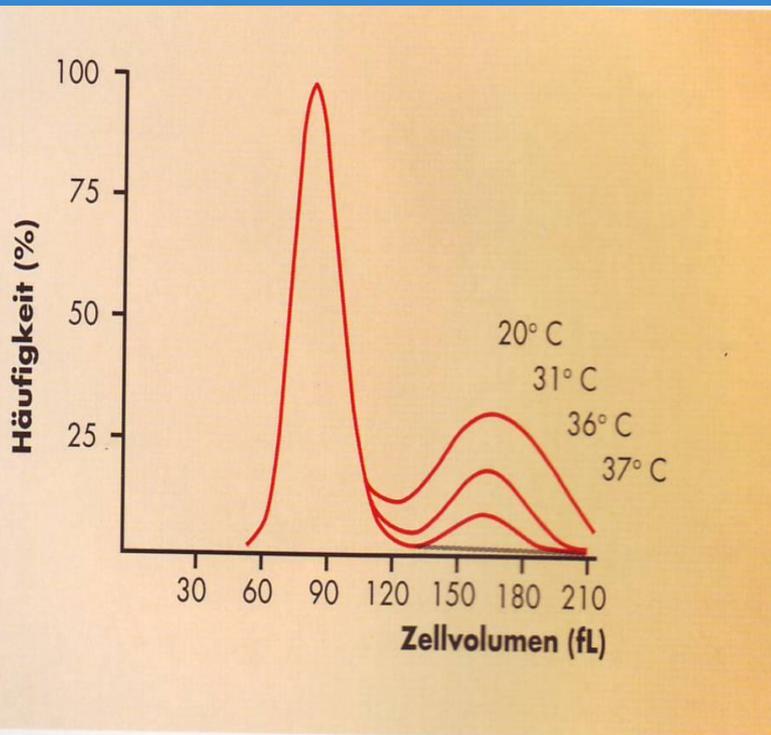
- Kälteagglutin
- EDTA-abhängige Antikörper
- Kryoglobuline
- Makroenzyme

Kälteagglutinine

Temperatureinfluss auf MCV-Messergebnisse bei Vorliegen von Kälteagglutininen

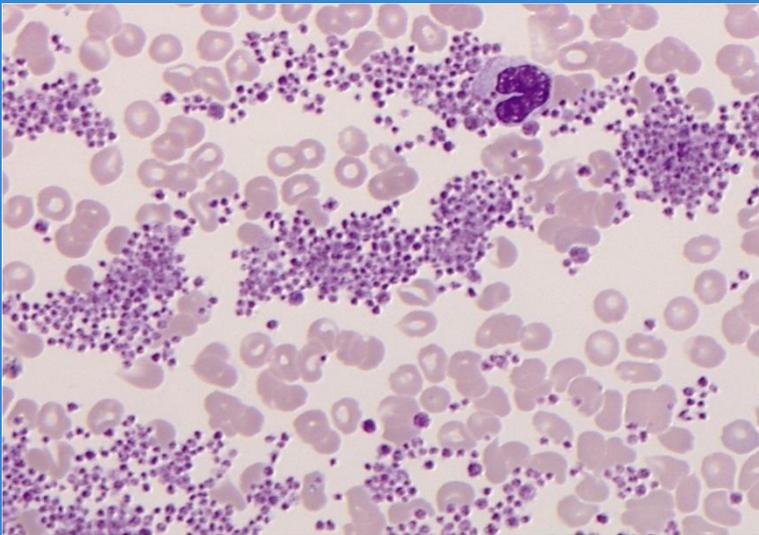
Kälteagglutinine verursachen:

- Erythrozytenagglutination
- Niedrige Erythrozytenzahl
- Normal Hbg
- Stark erhöhte MCV Werte
- Stark erhöhte MCHC Werte!
- Stark erhöhte MCH Werte

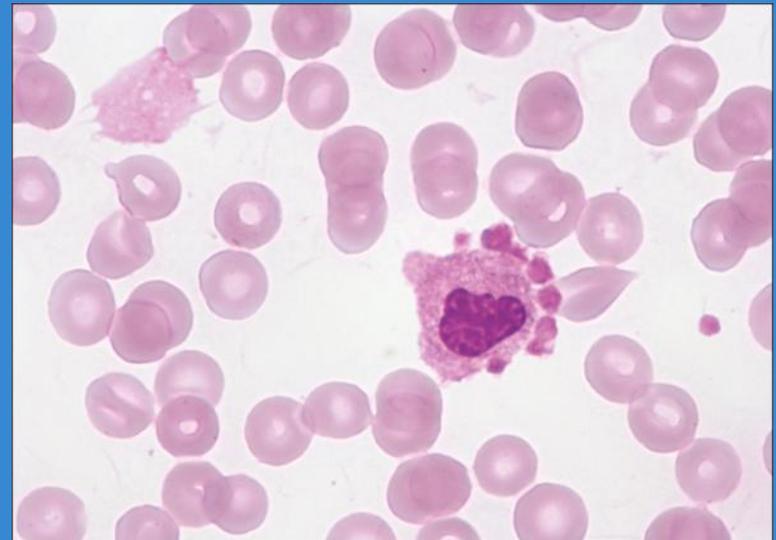


EDTA-abhängige Antikörper

Ursache sind Kälteagglutinine, die in Gegenwart von EDTA wirksam sind und durch Agglutination *Pseudothrombopenie* verursachen



Agglutination



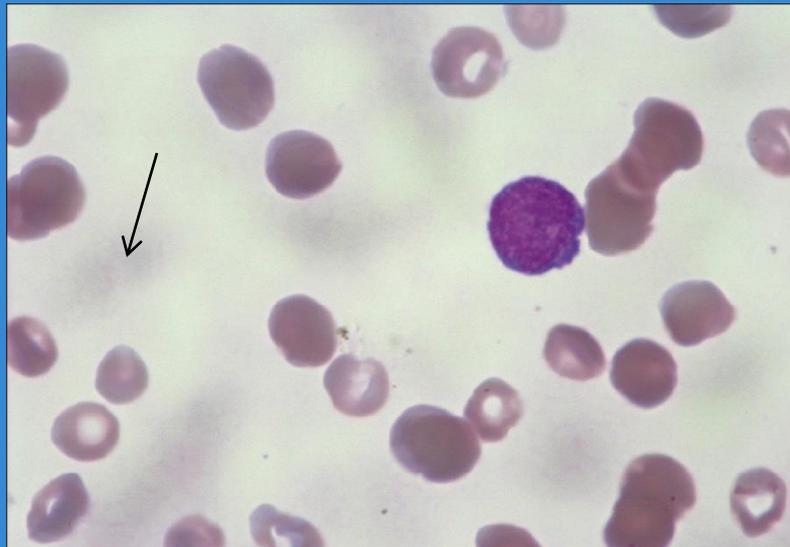
Satellitenphänomen

Kryoglobuline

Kryoglobuline fallen durch Stehen der Blutprobe bei Zimmertemperatur aus.

Sie können *Pseudoleukozytose* verursachen.

Im Ausstrich findet man flockenförmige Niederschläge



Makroglobuline

- Enzyme im zirkulierenden Blut, die mit sich selbst oder anderen Molekülen Komplexe bilden. Dabei nimmt ihre relative Molekülmasse zu.
- Extrem hohe *Serumenzymwerte* ohne entsprechendem Klinikum.
- Zumeist betroffene Enzyme:
Amylas, Creatinkinase, LDH und alk. Phosphatase

