



Dr. Monika Kleiber

Praktikum Labormedizin

2020

Einführung

Nach Studien in Deutschland beruhen 70-85% der klinischen Entscheidungen auf Laboranalysen-Ergebnissen. Es gibt auch Diagnosen, die ausschließlich auf der Basis eines Laborbefundes gestellt werden können (z.B. Blutgruppen). Laborwerte reagieren bereits sehr empfindlich auf geringe Abweichungen vom Normalzustand oder auf eine Veränderung im Krankheitsverlauf.

Von grundlegender Bedeutung ist daher, dass einerseits die Laborergebnisse **richtig** sind und andererseits auch geringe Veränderungen der Messgrößen **exakt** erfasst werden. Die moderne Labortechnik und empfindliche Analyseverfahren versetzen uns in die Lage, in Verbindung mit einem anspruchsvollen Qualitätssicherungssystem, diese beiden Bedingungen zu erfüllen.

Voraussetzung ist, dass die zu analysierenden Proben in *dem* Zustand in das Laboratorium gelangen, der ihrem *in vivo* Zustand entspricht.

Verschiedene Einflussgrößen und Störfaktoren, die zwischen Patient und Labor, also **vor** der eigentlichen Analyse, in der sogenannten präanalytischen Phase wirksam sind, können den Laborbefund erheblich verfälschen und damit zu fehlerhaften Einschätzungen, im ungünstigen Fall sogar zu Fehldiagnosen, falscher Therapie führen. 0.3% aller Laborergebnisse sind „Laborfehler“ und innerhalb derer haben 25% Konsequenzen für die Patienten.

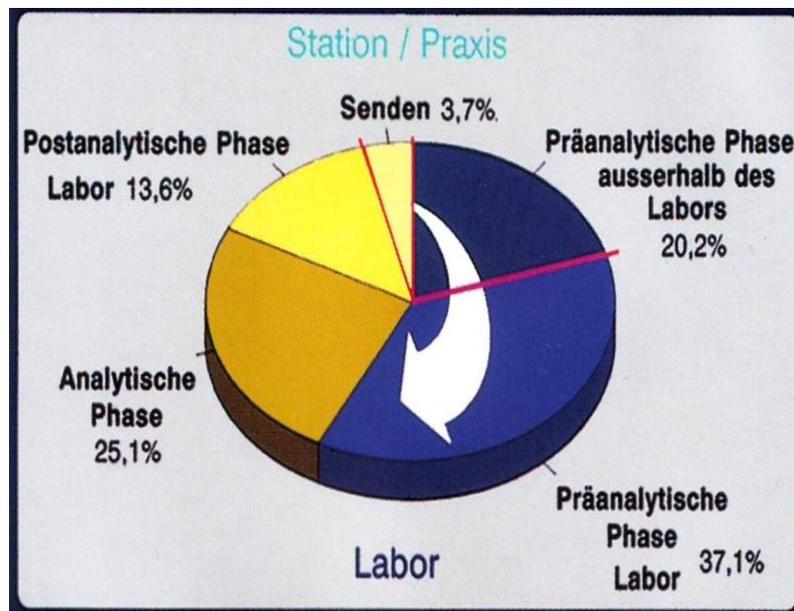


Abb.1

Die Präanalytik beinhaltet alle Prozesse, die vor der Laboranalyse ablaufen, wie Gewinnung, Lagerung, Transport und Vorbereitung der Proben. Im Ablauf des diagnostischen Gesamtprozesses beträgt ihr Anteil im Durchschnitt 57% (Abb.1). Bis zu 70% (32-75%) aller fehlerhaften Ergebnisse sind in diesem Bereich angelegt. Da die meisten Teilprozesse der Präanalytik in der Krankenstation oder in der Ambulanz

stattfinden, ist es für alle Ärzte von besonderer Bedeutung die typischsten Fehler dieser Phase zu kennen.

Technik der Probengewinnung

A. Vorgehen bei der venösen Blutentnahme

„venöses Blut ist das wichtigste Untersuchungsmaterial zur Beantwortung medizinischer Fragestellungen. Die richtige Blutentnahmetechnik ist somit von besonderer Bedeutung“

A1. Identifikation:

Patientenidentifizierung: Name, Vorname, Geburtsdatum, ev. Laufnummer/Station. (Namen immer Nachfragen um Verwechslungen auszuschließen.)

Probenidentifizierung: Etikettierung- z.B. Barcode (Abb. 2)

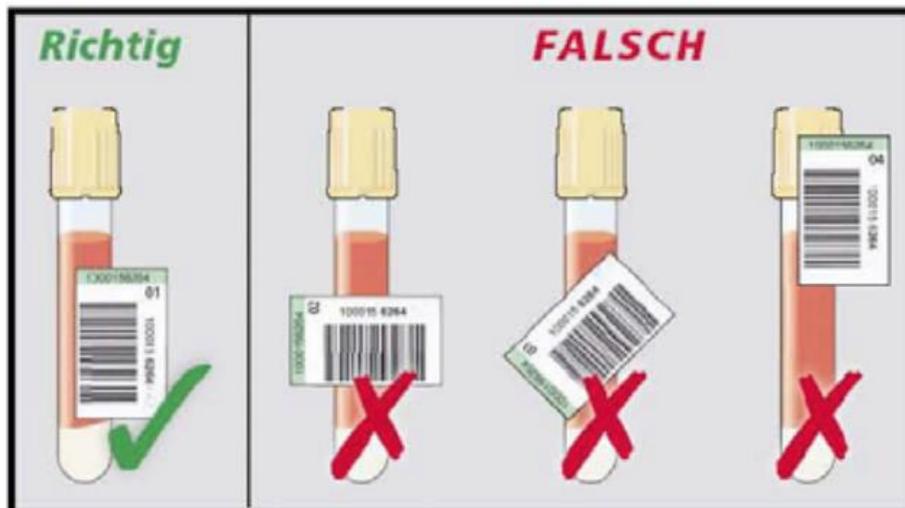


Abb.2

A2. Wahl des Probenröhrchens:

Zusätze der Röhrchen sind durch eine Farbcodierung des Stopfens gekennzeichnet. Aufgrund der *nicht* bindenden internationalen Standardisierungsvorschläge können die einzelnen Hersteller unterschiedliche Farbcodierungen verwenden. Hier sind die Codierungen der beiden in Deutschland und Ungarn herkömmlichsten Hersteller (Abb. 3).

Spezimen	Vacutainer intern. Farbcode DIN ISO 6710	Monovette
Serum ohne Zusatz	Rot	Weiß
Serum mit Trennhilfe	Goldgelb	Braun
EDTA-Blut	Violett	Rot
Citratblut (1+9)	Hellblau	Grün
Citratblut (1+4)	Schwarz	Violett
Li-Heparinat-Blut	Grün	Orange
Fluorid (NaF + Oxalat)	Grau	gelb



Seni Labdiagnostik Druck 2010.ppt, Folie 26, 22. März 2010

Dr. Falck / Dr. Kierysch
Zentralinstitut für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik

Abb. 3

A3. Reihenfolge der Blutentnahme:

1. Blutkulturen
2. Zitratblut für Gerinnungsdiagnostik
3. Vollblut zur Serumgewinnung
4. Heparinblut zur Plasmagewinnung
5. EDTA-Blut für hämatologische Untersuchungen
6. Na-Fluoridblut für die Blutzuckerbestimmung
7. Weitere Bestimmungen

A4. Technik der venösen Blutentnahme bei unterschiedlichen Systemen

1. Methode mit Vakuumtechnik:

Hersteller: BD/Greiner

Verwendetes Zubehör: Vakuumröhrchen, Kanülen, Flügelkanülen, Adapter (sog. Glocken), Sicherheitskanülen (Abb. 4).



Abb.4 (https://www.praxisdienst.de/Injektion-Infusion/Blutentnahme/Blutentnahmeroehrchen/?ldtype=grid&_artperpage=12&listorder=desc&listorderby=oxprice)

Stufen der venösen Blutentnahme mit evakuierten Röhrchen

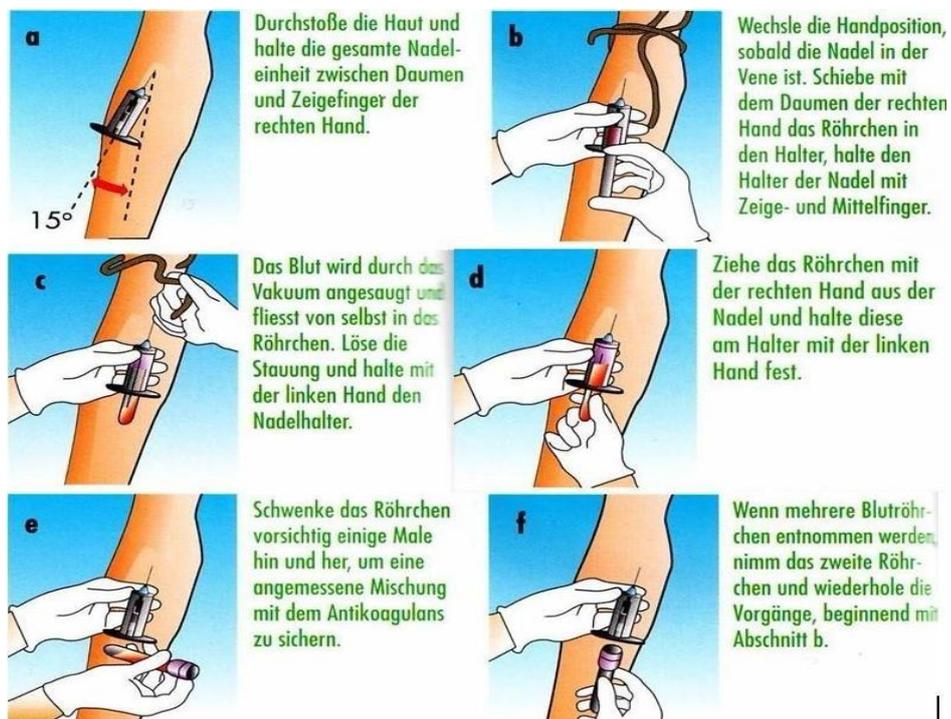


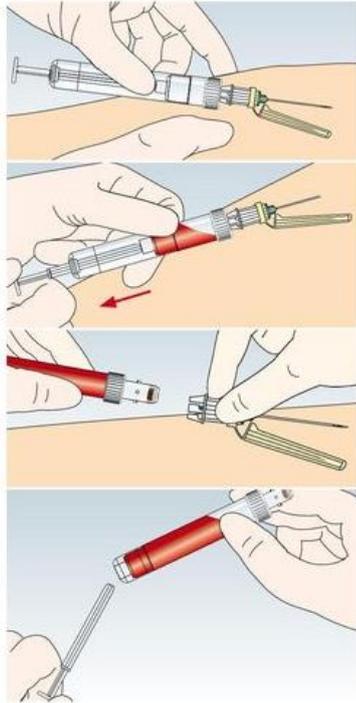
Abb.5

2. Kombinierte Methode: Aspirations- und Vakuumtechnik

Hersteller: Sarstedt

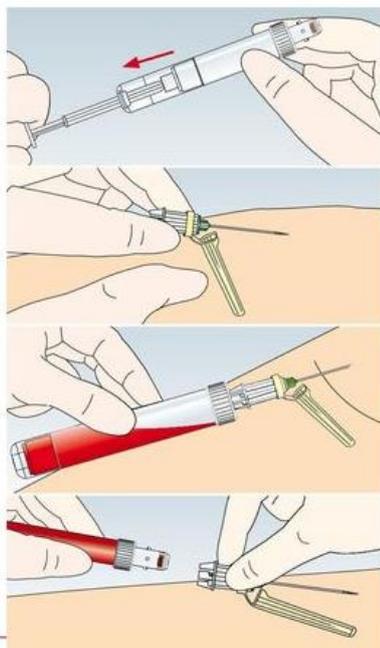
Verwendetes Zubehör: Röhrchen (S-Monovette) Safety-Kanülen, verschiedene Adapter.

Aspirationstechnik



- 1 Unmittelbar vor der Blutentnahme wird die Safety-Kanüle mit der S-Monovette® komplettiert. Es folgt die Punktion.
- 2 Durch langsames Zurückziehen der Kolbenstange entsteht ein schonender Blutfluss. Bei Mehrfachblutentnahmen werden weitere S-Monovetten in der Safety-Kanüle arretiert und Blutproben, wie zuvor beschrieben, entnommen.
- 3 Nach Beendigung der Blutentnahme wird die letzte S-Monovette® aus der Safety-Kanüle gelöst und die Kanüle aus der Vene gezogen.
- 4 Zur Sicherheit bei Transport und Zentrifugation wird der Kolben im Boden der S-Monovette® eingerastet und die Kolbenstange abgebrochen.

Vakuumtechnik



- 1 Durch Zurückziehen und Einrasten des Kolbens im Boden der S-Monovette® wird ein frisches Vakuum direkt vor der Blutentnahme hergestellt. Die Kolbenstange wird abgebrochen.
- 2 Die Vene wird unmittelbar vor der Blutentnahme mit der Safety-Kanüle/Safety-Multify® punktiert.
- 3 Die evakuierte S-Monovette® wird mit der in der Vene liegenden Safety-Kanüle/Safety-Multify® konnektiert und befüllt. Bei Mehrfachblutentnahmen wiederholt sich dieser Vorgang entsprechend.
- 4 Nach Beendigung der Blutentnahme wird die letzte S-Monovette® aus der Safety-Kanüle/Safety-Multify® gelöst und die Kanüle aus der Vene gezogen.

Abb.6

A5. Komplikationen bei der Blutabnahme

Wenn das Blut nicht fließt...:

- Kanüle liegt an der Venenwand → *Lösung*: Leichtes Zurückziehen bis Blutfluss einsetzt.
- Kanüle sticht die Vene durch → *Lösung*: Zurückziehen bis Blutfluss einsetzt bzw. Zweitpunktion.
- Venenkollaps → *Lösung*: Warten bis sich die Vene erholt, vorsichtiges aspirieren.
- Nachblutung → *Lösung*: Kompressionsverband, Nachkontrollieren.

Was sonst noch passieren kann:

- Thrombusbildung/Phlebitis: eher bei Dauerkatheterpatienten.
- Patient kollabiert: *Unversehrtheit sichern, Blutentnahme im Liegen fortsetzen.*
- Schreileukozytose bei Kleinkindern: Erhöhung der Leukozytenzahl ohne Linksverschiebung derselben.
- Auslösung eines epileptischen Anfalls: *Notfallversorgung*

A6. Problematische Venenpunktion

- Rollvenen → *Lösung*: Fixierung mit der Hand evt. Spezialgurt, Doppelfixierung
- Platzvenen → *Lösung*: Fixierung, Doppelfixierung, Dauerkatheter bei stationären Patienten (Abb. 7)
- Vernarbte Venen (z.B. Drogensucht, Chemotherapie, usw.) → *Lösung*: Punktion an weniger konfrontierten Stellen.
- „Unsichtbare Venen“: sehr dünne oder sehr tiefliegende Venen → *Lösung*: Venensuchergerät (Abb. 8)



Abb.7



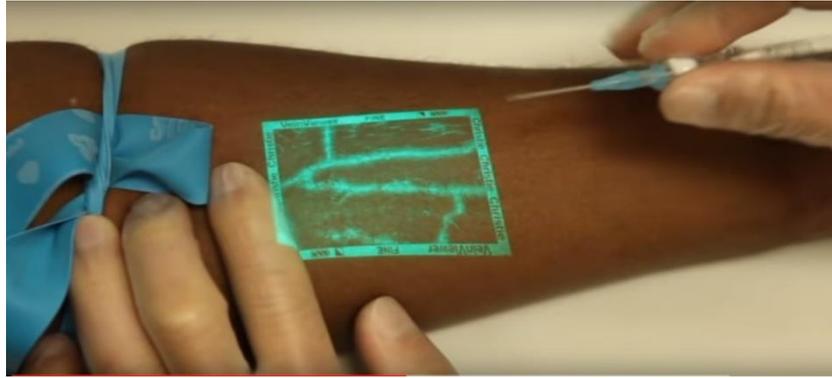


Abb.8

A7. Häufige Fehler bei der venösen Blutentnahme

- Verwechslung der Proben: Beschriftung und Zuordnung der Proben genauestens prüfen!
- Tagesschwankungen in Betracht ziehen: Blutabnahme zwischen 7-9 Uhr.
- Enges Volumen der Kanüle oder zu starke Aspiration → Folge: Verfälschung der Messergebnisse durch Hämolyse.
- „Pumpen“, Venenklopfen, verlängerte Stauzeit (mehr als 3-6 Minuten) → Folge: Anstieg der K^+ - und Na^+ -Konzentrationen, unrealer Gerinnungsparameter.
- Unzureichendes oder zu spätes Mischen der Proben → Folge: Mikrogerinnungsbildung, Thrombozytenaggregation, dadurch auch Probleme an den Automaten.
- Zu frühes Entfernen der Kanüle, schwaches Vakuum, Missachten der Füllmarke → Folge: Veränderung der Mischverhältnisse und damit eine Verfälschung der Messwerte.

A8. Sorgenkinder des Labors

1. Hämolytische Proben



Abb.9

Ursachen :

- **In vivo:** Krankheiten wie z.B. angeborene und erworbene hämolytische Anämien verschiedenster Genese. |

- **In vitro:** Fehler in der präanalytischen Phase: bei der Blutentnahme, Verzögertes Abtrennen von Vollblut, falsches Zentrifugieren, Einfrieren von Vollblut, Temperatureinflüsse (Abb. 10).

Verfälschung der Ergebnisse:

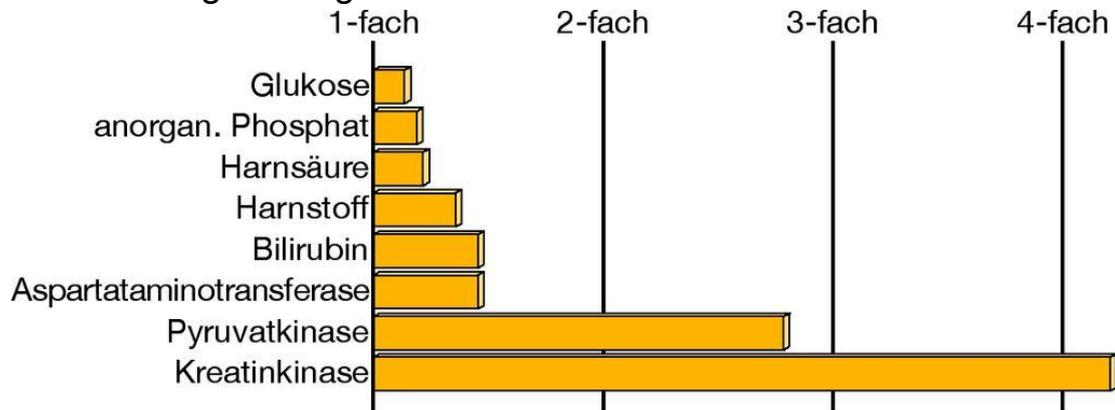


Abb.10

2.Lipämische Proben:



Abb.11

Ursachen:

1. Die Blutentnahme erfolgte nicht auf nüchternem Magen (häufig)
2. Krankheiten: Pankreatitis, Diabetes, Alkohol-Missbrauch, Nierenversagen.
3. Angeborene Stoffwechseleränderungen: Enzymdefekte usw.

Trübungen als Störgrößen:

- Inhomogenität: Aufrahmen der Probe (Konzentrationsunterschiede)
- Wasserverdrängung: bis zu 10% (Na, K, Cl, Leberenzyme, CRP)
- Störung der photometrischen Verfahren
- Physikomechanische Mechanismen, z.B. Affinität zu Antikörpern

3. Ikterische Proben



Abb.12

Störungen: Durch Interferenz bei enzymatischen Messverfahren von Glukose, Harnstoff, Cholesterin und Triglyzeriden. Indirektes Bilirubin verbindet sich mit Albumin und verursacht somit erniedrigte Werte.

B. Die kapilläre Blutentnahme

Definition: Kapillarblut ist ein Flüssigkeitsgemisch und setzt sich aus Arteriolen-, Venolen- und Kapillaren-, sowie intrazellulären und extrazellulären Flüssigkeiten zusammen.

Anwendungsbereiche:

- Pädiatrie
- Geriatric
- bei Erwachsenen für Blutgasbestimmungen und Glukosemessung
- Point-of-Care Tests (POCT)

Ausschlusskriterien:

- Mengenbedarf mehr als 1ml Blut (z.B. Blutkultur)
- Gerinnungsanalyse
- Schockzustand

Punktionsstellen:



Abb.12

1. Punktierung von Erwachsenen(POCT): Seitlich an der Fingerbeere, die Kuppe ist weniger geeignet, da empfindlicher.
2. Methode der Wahl für Säuglinge im ersten Halbjahr. Nicht am Fersenende Punktieren wegen Gefahr der Knochenverletzung!
3. Besonders gut geeignet für Blutgasanalyse, weil gut arteriellisierbar.

Ausführung

Vorbereitung der Punktionsstelle:

Erwärmung erhöht den Blutfluss um das Siebenfache: Hand unter warmes Wasser halten, beim Säugling warme Kompresse, am Ohr eventuell eine hyperämisierende Salbe verwenden. Punktionsstelle desinfizieren, Stechhilfe vorbereiten (Abb. 14).

Wegwerflanzetten:



Abb.14

Durchführung der Punktion:

1. Ersten Blutropfen verwerfen
2. Punktionsstelle nach unten halten
3. Austretenden Blutropfen auffangen
 - direkt auf den Teststreifen aufbringen
 - mittels Kapillartechnik abnehmen
 - per Abtropftechnik in Mikroküvette auffangen (100-500µl)
4. letztlich Punktionsstelle mit Tupfer oder Pflaster versorgen

Häufige Fehler:

- Beimischung von Desinfektionsmitteln, Gewebeflüssigkeit oder Schweiß durch Verwendung des ersten Blutropfens.
- Wiederholtes Pressen und „Melken“ führt zu Hämolyse und falschen Messergebnissen.
- Verwischen des Blutropfens vermeiden, da Luftbläschen in die Kapillare gelangen können.

Unterschied zwischen Kapillarblut und venösem Blut:

Gesamt-Eiweiß, Bilirubin, Kalzium, Natrium und Chlorid sind signifikant niedriger in Kapillarblut verglichen mit venösem Blut!

C. Gewinnung von Urinproben

Grundsätzlich ist eine Uringewinnung mittels Mittelstrahlurin empfehlenswert, um eine möglichst reine Probe zu erhalten.

Durchführung:

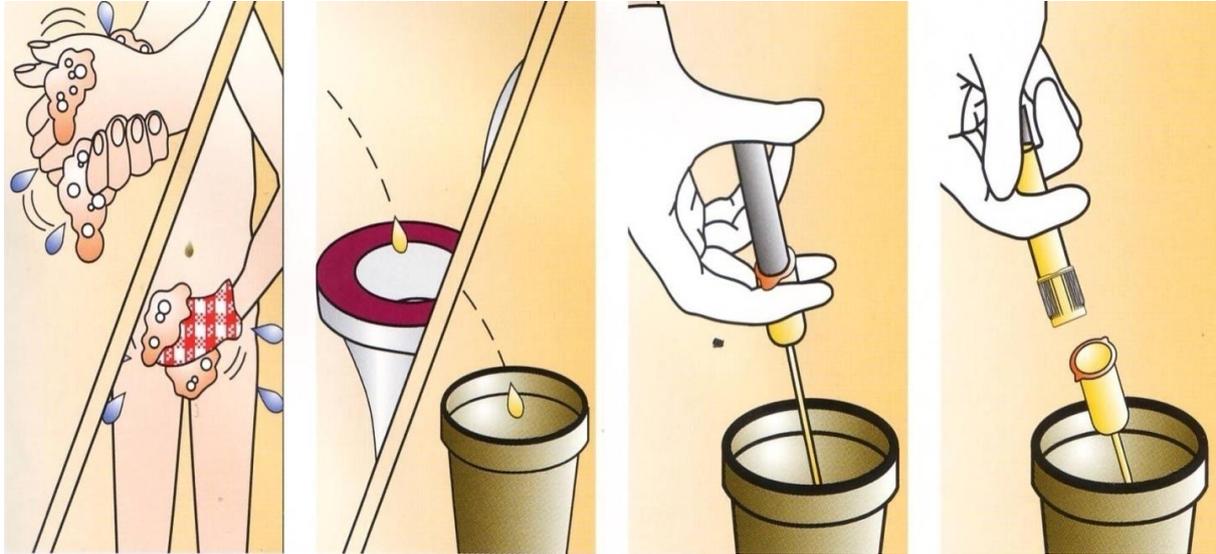


Abb.15

C1. Arten der Urinproben

Erster Morgenurin: Urin der ersten Miktion des Tages, der konzentrierteste Urin.
Anwendungsbereiche: Bakterielle Untersuchungen, Teststreifen, Sedimente, Proteindiagnostik, Schwangerschaftsteste, klinisch-chemische Untersuchungen, Nachweis von Nitrit.

Zweiter Morgenurin: Schon auf der Basis des Tagesstoffwechsels, liefert am ehesten Durchschnittswerte.
Anwendungsbereiche: Teststreifen, Glukose, Protein.

Spontanurin: Bei Verdacht auf Harnwegsinfektionen, Intoxikationen, Drogennachweis. Nachteil:
Verdünnungsfaktor als Fehler.

Katheterurin: Zumeist Dauerkatheter bei chronisch bettlagigen Patienten. Zu diagnostischen Zwecken darf Urin nicht aus dem Sammelbeutel entnommen werden, sondern aus dem Adapter am Zuleitungsschlauch!

Sammelurin: In Form von 12 oder 24 Stundenurin.
Anwendungsbereich: Bestimmungen Katecholamine, Kreatin Clearance, Oxalsäure ect., oft mit stabilisierenden Zusätzen (Essigsäure, Salzsäure je nach Art der Bestimmung) versetzt.

C2. Probenvorbereitung

Es kann gleich unmittelbar aus dem Probenbecher gearbeitet werden oder z.B. mit einem Vakuumsystem der Urin zur Weiterverarbeitung in Proberöhrchen umgefüllt werden. Letztere bei mikrobiologischen Proben natürlich unter sterilen Bedingungen.



Abb.16

C3. Methoden der Harnanalyse

Teststreifen- wohl die heutzutage zumeist angewandte Technik - ermöglichen je nach Anzahl der Testfelder die Überprüfung diverser Werte, wie z. B. sp. Gewicht, Glukose, pH, Proteinkonzentration, Leukozytenzahl, usw. Die durch den Vergleich des Testfeldfarbumschlages mit dem Testfeld erhaltene Information ist nur ein Indikator und sollte durch weitere Untersuchungen präzisiert werden. Wichtig ist, neben dem strikten Einhalten der Ablesezeit, dass der Teststreifen vollständig und intensiv benetzt wird. Diese Methode kann auch automatisiert werden.

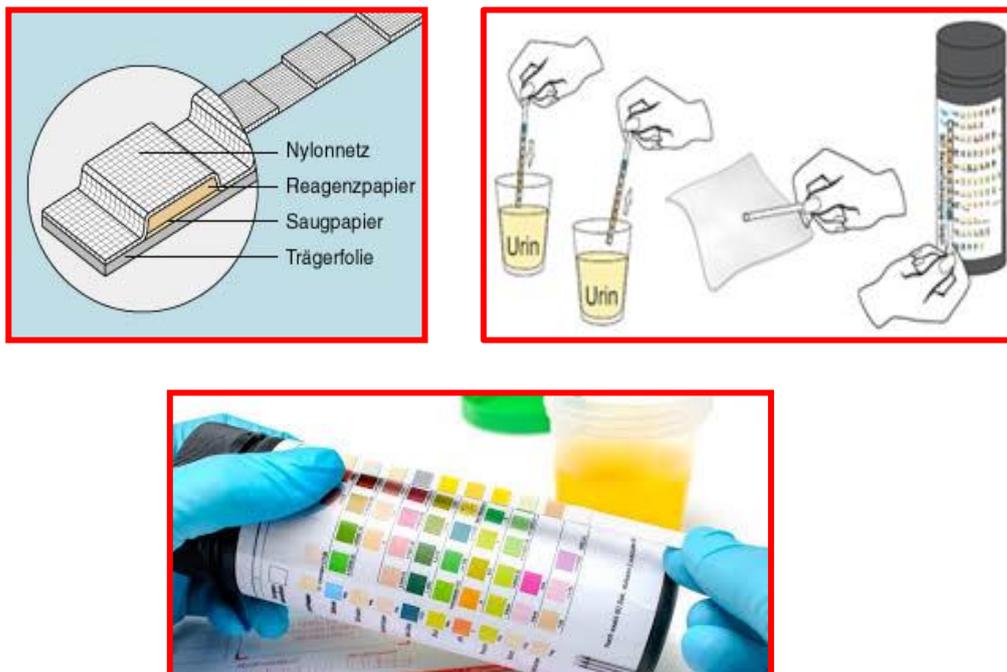


Abb.17

Weiterführende Untersuchungen: Sedimentuntersuchungen mit dem Mikroskop oder entsprechenden Automaten, klinisch-chemische Methoden oder auch mikrobiologische Verfahren.

Point-of- Care-Testing

(„POCT“ oder Patientennahe Labordiagnostik)

Definition:

Medizinisch-diagnostische Untersuchung, die - nach den Regeln der Labormedizin - jedoch nicht in Laboratorien, sondern am Ort und zum Zeitpunkt der Patientenversorgung erfolgen.

POCT ist eine moderne Variante der Labormedizin als sinnvolle Ergänzung zur konventionellen Labormedizin.

Vorteile von POCT- Bestimmungen:

1. Rasche Verfügbarkeit der Ergebnisse, die lebensrettende, therapeutische Auswirkungen haben können.
2. Es handelt sich um Einzelbestimmungen mit einfach zu bedienenden Messsystemen unter Anwendung von Fertigreagenzien, ohne Probenvorbereitung und damit kaum präanalytische Fehlerquellen.
3. Auch Personen ohne medizinische-technische Ausbildung können diese Untersuchungen durchführen.
4. Methode der Wahl in der Pädiatrie.
5. Es gibt Untersuchungen, die nur mit POCT durchgeführt werden können (z.B. Laktat).

Nachteile von POCT-Bestimmungen:

1. Höherer personeller Aufwand.
2. Höhere Reagenzkosten.
3. Geringere Sensibilität und Spezifität in vielen Fällen (ja-nein Antworten).
4. Keine unmittelbare Vergleichbarkeit mit anderen Labormethoden.
5. Die geringen Probenmengen repräsentieren nicht immer den in vivo-Status.
6. Nicht alle Laboruntersuchungen sind für POCT geeignet.

Der Einsatzbereich erstreckt sich von der klinischen und ambulanten Krankenversorgung über die Patientenselbstkontrolle bis zu Spezialgebieten wie Militäreinsätzen, Seefahrt und Raumfahrt.

Patientennahe Bestimmungen im Laborpraktikum

A. Blutzuckerbestimmung

Eine der wohl häufigsten POCT-Bestimmungen und steht unter den Patientenselbstkontrollen an erster Stelle. Man unterscheidet zwischen invasiven und noninvasiven Methoden.

Unter den invasiven Methoden ist die amperometrische Methode am meisten verbreitet (auch elektrochemische Methode).

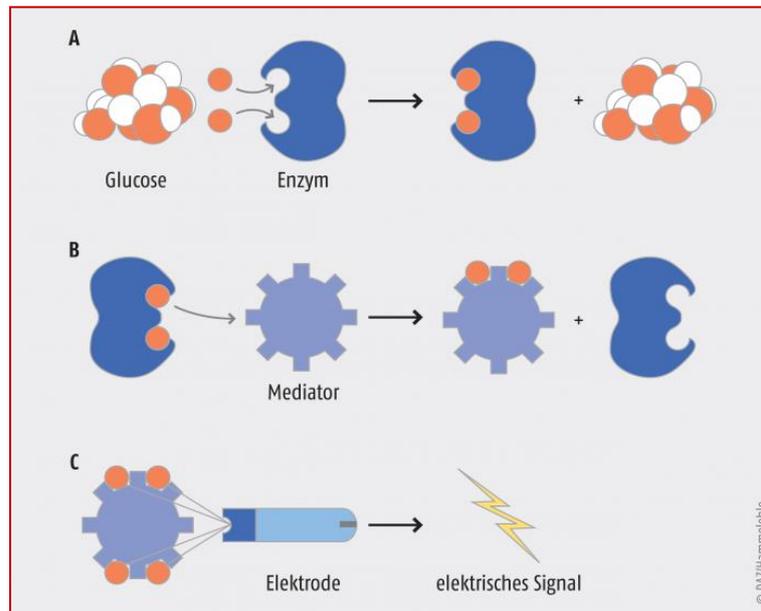


Abb.18

A1. Prinzip:

- Ein kleines Reaktionsfeld im Teststreifen enthält das Enzym Glucose-Dehydrogenase (GDH), in der Regel in Kombination mit einem Coenzym: Flavin-adenin-dinucleotid (GDH-FAD), Nicotinamid-adenin-dinucleotid (GDH-NAD) oder Pyrrolochinolinchinon (GDH-PQQ).

- Gelangt Blut auf das Reaktionsfeld, oxidiert GDH die Glucose zunächst zu Gluconsäure/Gluconolacton. Durch die Aufnahme der freigewordenen Elektronen und Wasserstoffatome wird das enzymgebundene Coenzym reduziert, beispielsweise FAD zu FADH₂ (Abb. 18A).

- Der Enzymkomplex wiederum überträgt (z. B. durch die Reduktionsäquivalente FADH₂) Elektronen auf einen Mediator, der durch diese Reaktion selbst in eine reduzierte Form überführt wird (Abb.18 B).

- Durch die vom Blutzucker-Messgerät an die Elektrode des Sensors angelegte elektrische Spannung wird der reduzierte Mediator nun wieder rückoxidiert und gibt dadurch Elektronen ab (Abb.18 C).

- Dieser freigesetzte Elektronenfluss ist der Glucose-Konzentration in der Blutprobe proportional und wird am Display in mg/dl bzw. mmol/l der „Blutzuckerwert“ angezeigt.

A2. Durchführung der Messung

Durch einen kleinen Einstich in die Fingerkuppe wird ein Blutropfen gewonnen. Bei Berührung der Auftragszone des Teststreifens mit dem Tropfen, wird die benötigte Blutmenge automatisch eingesogen. Ergebnis erscheint in Kürze auf dem Displayer (Abb. 19).



Abb.19



Abb.20

A3. Noninvasive Methoden: Diese Messungen erfolgen mit Hilfe von Sensoren, die zumeist innerhalb der Haut oder auf der Haut angebracht werden und den Glukosegehalt der Kapillaren kontinuierlich messen. Sie können mit einem automatischen Insulinspender elektronisch vernetzt sein (Abb.20).

B. Blutgruppenbestimmung

Vor jeder Transfusion wird die Blutgruppe des Patienten bestimmt. Einmal in Form eines Bedside-Tests und in der Regel noch einmal im Laboratorium mit dem doppelseitigem Spiegeltest, zusammen mit der Bestimmung der irregulären Antikörpern wiederholt.

Der Test kann aber auch als Patientenselbstkontrolle fungieren. Einmal aus Vorsorgegründen, z.B. bei einem eventuellen Unfall u.a.. Zum anderen, um bestimmten Diäten (D'Adamo) folgen zu können, oder um sich über an Blutgruppen gekoppelte Erkrankungsrisiken zu informieren.

Testdurchführung (Abb. 21):

1. Je einen Tropfen (ca. 50 μ l) Blut auf die Reaktionsfelder bringen. Einen etwa gleich großen Tropfen isotone Kochsalzlösung dazugeben.
2. Jedes Feld ca. 30 Sekunden rühren, bis das Reagenz vollständig aufgelöst ist. Für jedes Feld ist das Rührstäbchen zu reinigen oder ein anderes zu benutzen.
3. Die Karte ca. 30-60 Sekunden leicht schwenken, so dass die Tropfen in kreisender Bewegung sind, danach ablesen.
4. Zwecks Dokumentierung die Karte abtrocknen lassen, anschließend mit einer Folie abdecken.
5. Der Test ist nur bei einwandfreier Autokontrolle bewertbar.

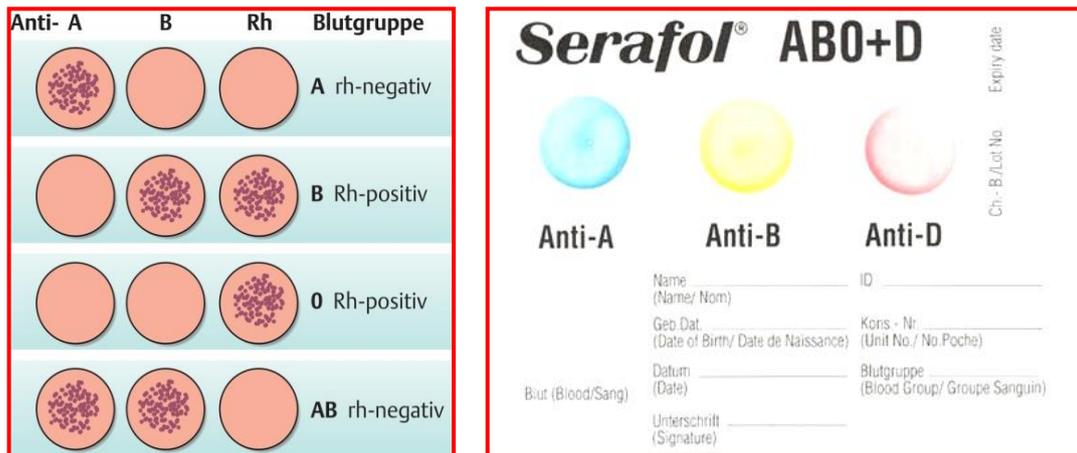
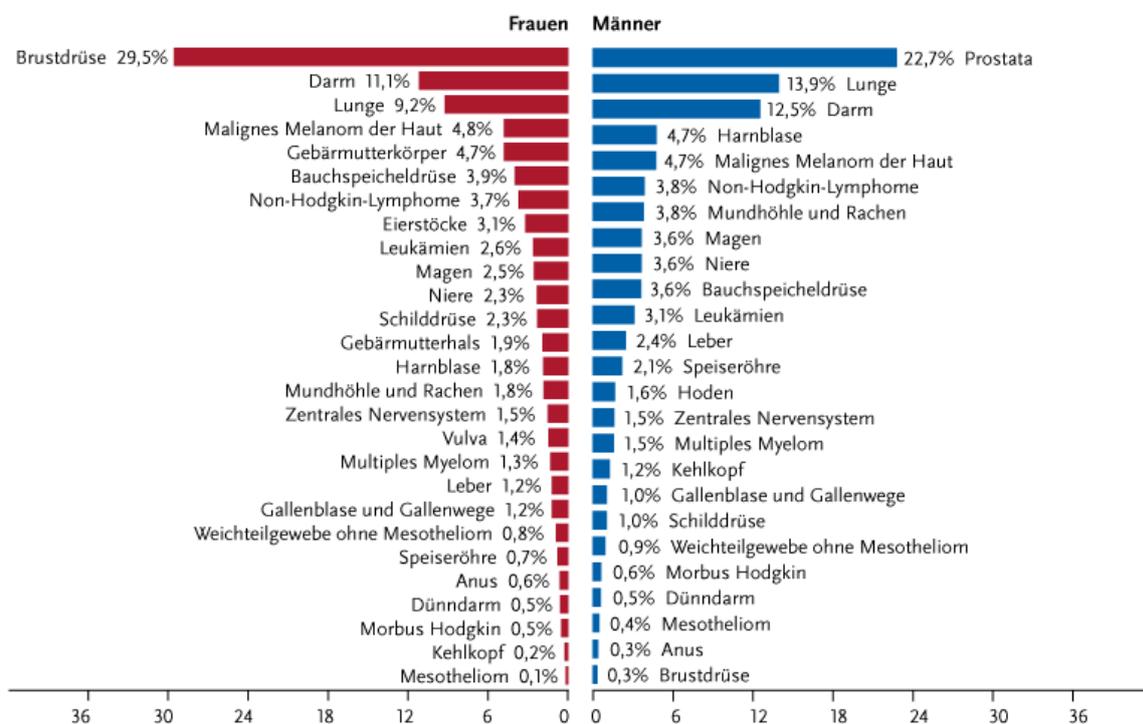


Abb.21

C. Nachweis von okkultem Blut aus dem Stuhl

Der immunologische Test auf okkultes Blut ist im Stuhle eine zuverlässige Früherkennungsmethode für Darmkrebs und seine Vorstufen. Diese können Blutungen in Darm erzeugen, die bereits in kleinsten Mengen durch iFOB-Teste (immunologischer Farbttest auf okkultes Blut) erkannt werden können.

Prozentualer Anteil der häufigsten Tumorlokalisationen an allen Krebsneuerkrankungen in Deutschland 2016 (ohne nicht-melanotischen Hautkrebs)



© Zentrum für Krebsregisterdaten im Robert Koch-Institut

Abb.22

Bei der statistischen Verteilung von Tumoren stehen Darmtumore prozentual bei den Frauen an zweiter, bei Männern an dritter Stelle (Abb.22). (Wegen des großen

Erkrankungsrisikos von Darmkrebs, werden seit 2017 die Vorsorgeuntersuchungen von den Versicherungen gezahlt.)

C1. Die Methode der Wahl...

...ist -wegen der guten Sensitivität (66%) und hohen Spezifität (92%) - *das laterale Flow-Essay* (seitlicher Flusstest), eine Kombination von Dünnschichtchromatographie und Immunfärbung. Das Prinzip birgt eine Vielfalt von Bestimmungsmöglichkeiten: Nachweis von Malaria, Tularämie, Drogen, Tollwut, Schwangerschaft, usw. Genauer soll es am Beispiel eines Schwangerschaftstestes demonstriert werden (Abb.23). Beim iFOP-Test haben wir anstelle des hCG-Antigens, das Hämoglobin.

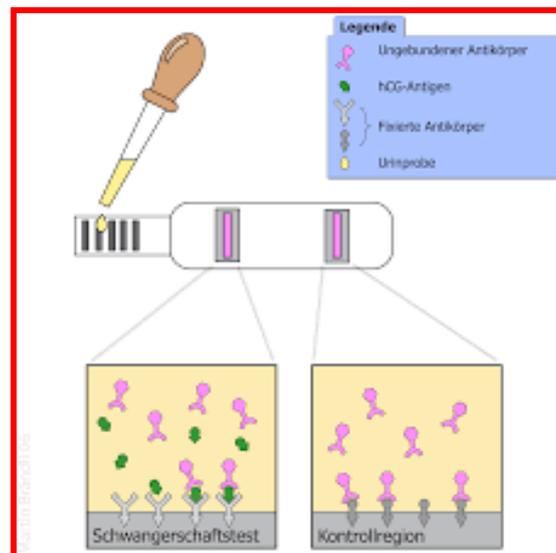


Abb.23

C2. Ausführung des Tests:

Es handelt sich um ein POCT-Verfahren, das routinemäßig in Laboratorien bestimmt wird, aber auch als Selbstbestimmungstest fungieren kann.

1. Der Stuhl wird mit einem Tuch aufgefangen und mit der kleinen Spirale an drei Stellen Material entnommen (Abb. 24/a).
2. Die Spirale wird in das Pufferröhrchen zurückgeschraubt und ein paarmal geschwenkt (b).
3. In die entsprechende Vertiefung der Kasette 5 Tropfen der Lösung tropfen.
4. Nach 5 Minuten das Ergebnis ablesen.

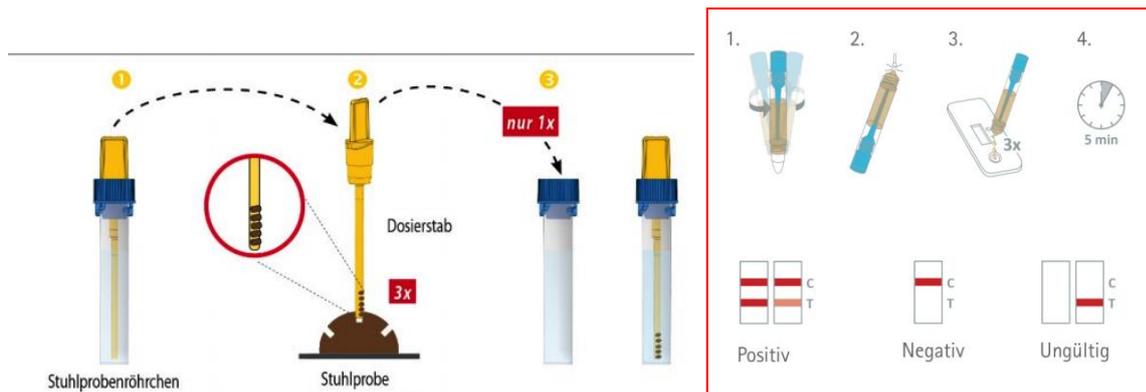


Abb.24 (https://www.blackholm.com/fileadmin/user_upload/Stuhlprobennahme_ifobt.pdf)

Messungen im medizinischen Laboratorium

Wichtige Voraussetzung für alle Laboranalysen ist ein exaktes **Qualitätssicherungssystem**. Man unterscheidet zwischen einer inneren und einer äußeren Qualitätskontrolle.

Unter **innerer Qualitätskontrolle** versteht man die ständige Überprüfung von Richtigkeit und Präzision der Analyseverfahren, anhand von täglichen Kontrollproben **mit bekanntem Analysegehalt**, die zusammen mit den Patientenproben gemessen werden. Eine Methode ist „unter Kontrolle“, wenn die erhaltenen Messwerte symmetrisch um den Mittelwert und innerhalb des Kontrollbereiches von $\pm 3s$ liegen. Die äußeren Qualitätskontrollen sind die **Ringversuche**. Von zentralen Organisationen erhalten die Laboratorien sog. Blindproben in je zwei Konzentrationen. Ziel ist die Messgenauigkeit generell und in dem beteiligten Institut zu überprüfen und anhand der Ergebnisse Messverfahren zu harmonisieren und Methoden zu vergleichen. Die Teilnahme ist gesetzliche Pflicht und dient neben der Qualitätskontrolle auch der Kompetenzsicherung.

A. Hämatologische Analyser

Grundlage der Zellzählung ist die *Durchflusszytometrie*. Man unterscheidet elektrische und optische Messverfahren.

A1. Prinzip der Impedanz

Dieses Prinzip wird in erster Linie zur Erfassung von Größe, Anzahl und Verteilung der Leukozyten, Erythrozyten und Thrombozyten verwendet.

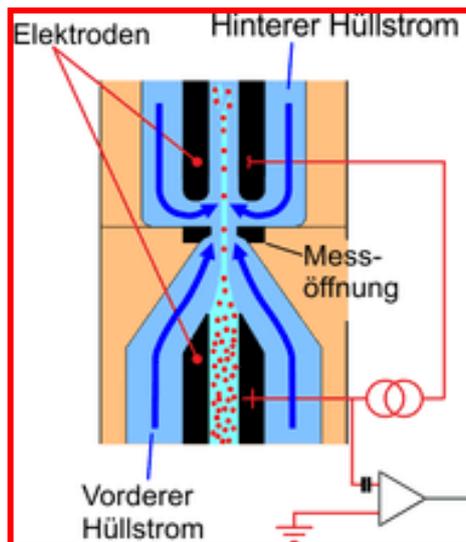


Abb.25

Die Blutzellen einer verdünnten Vollblutprobe treten einzeln nacheinander durch eine Messöffnung, die typisch einen Durchmesser und eine Länge von jeweils 60 μm besitzt (Abb. 25). Der vordere Hüllstrom dient der hydrodynamischen Fokussierung des Probenstromes, in dem sich die Blutzellen befinden. Der hintere Hüllstrom ist erforderlich, um die Rezirkulation von Blutzellen, die die Messöffnung passiert haben, zu verhindern. Als Flüssigkeit wird isotone Kochsalzlösung verwendet. An den Elektroden liegt ein konstanter Strom von bis zu 1mA. Die Spannung zwischen den beiden Elektroden ändert sich durch die Abnahme der Leitfähigkeit beim Durchtritt einzelner Blutzellen durch die Messöffnung, was zu ihrem Nachweis benutzt werden kann. Die Signalhöhe ist näherungsweise dem Volumen der Teilchen proportional. Damit lassen sich rote Blutzellen (Volumen etwa 90 fl) und Blutplättchen (Volumen etwa 6 fl) in einem Histogramm unterscheiden, in dem die Anzahl der registrierten Impulse über der Impulshöhe aufgetragen ist (Abb. 26). Zur Zählung der Leukozyten mit dem Impedanzverfahren werden vorher die Erythrozyten durch Hinzufügen von Lyse-Reagenzien zerstört.

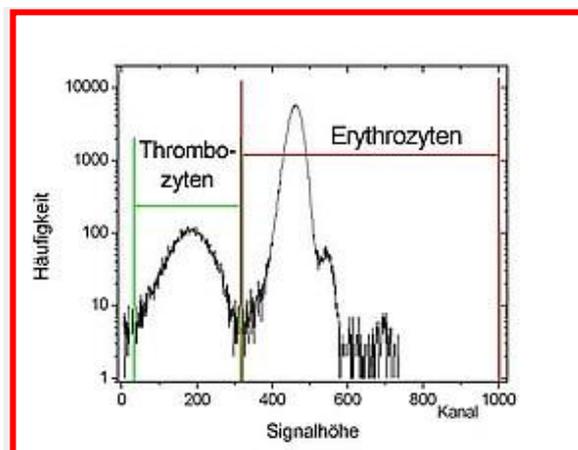


Abb.26 (<https://www.ptb.de/cms/ptb/fachabteilungen/abt8/fb-83/ag-832/grundlagen-der-zellzaehlung.html>)

A.2 Prinzip der Laser Durchflusszytometrie

Blutzellen einer verdünnten Messsuspension passieren eine Kanüle, werden durch einen Mantelstrom hydrodynamisch fokussiert und treten durch eine Düse (Durchmesser 50 μm - 100 μm), so dass sich ein freier Flüssigkeitsstrahl bildet. Die Blutzellen, die einzeln nacheinander durch die Foki mehrerer Laserstrahlen treten, können wie üblich in der Durchflusszytometrie durch die simultane Messung der Lichtstreuung in Vorwärtsrichtung und seitlicher Richtung sowie - bei Verwendung von Fluoreszenzfarbstoffen - durch die Laser-induzierte Fluoreszenz nachgewiesen werden.

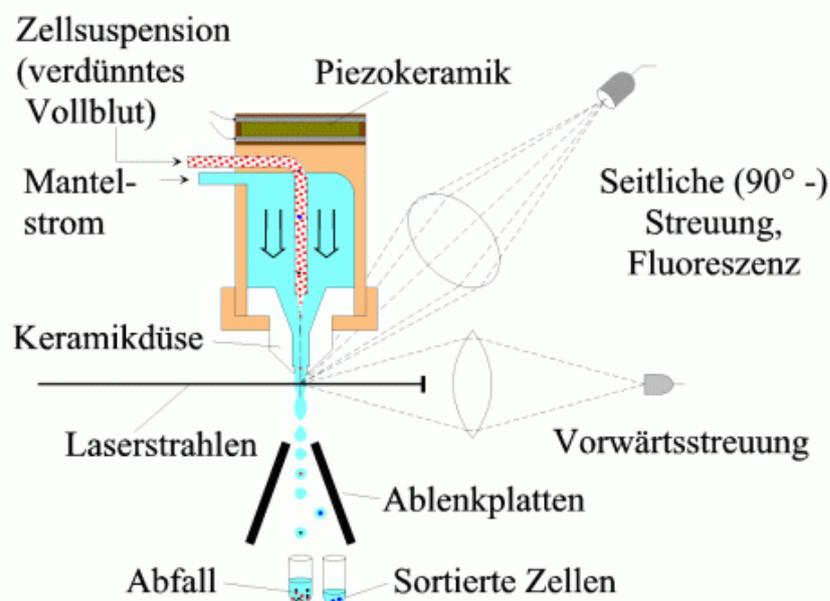


Abb.27

Fluoreszenzfärbung zur Differenzierung unreifer Leukozyten:

Die Intensität der Fluoreszenz ist Proportional mit dem Anteil von DNS und RNS.

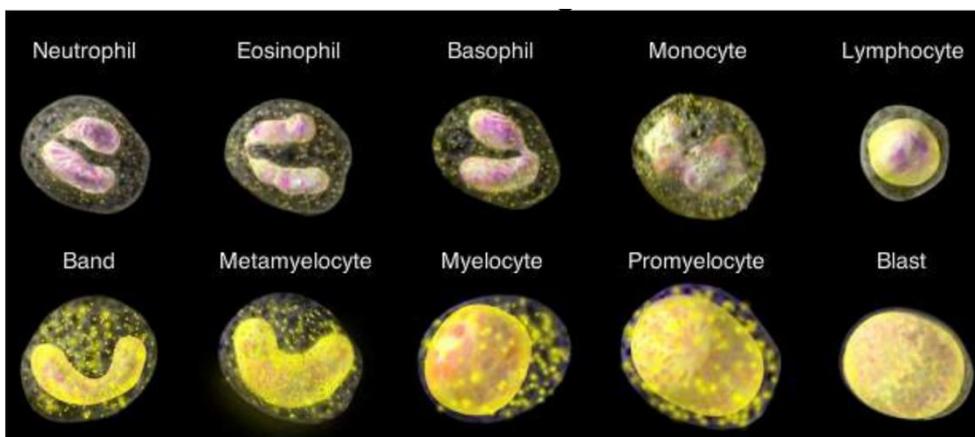


Abb.28 Fluoreszenzfärbung zur Differenzierung verschiedener Leukozyten

Seitwärtsstreuung (SSC) und Seitwärtsfluoreszenzstreuung (SFL) werden ausgewertet und in einem Scattergram dargestellt. Zellen mit ähnlichen Eigenschaften sind im selben Bereich angesiedelt (Abb. 29).

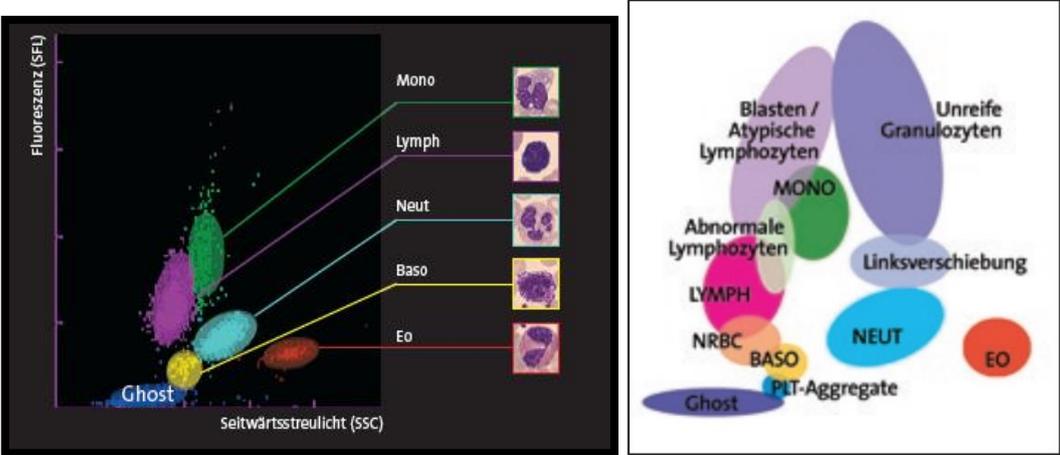
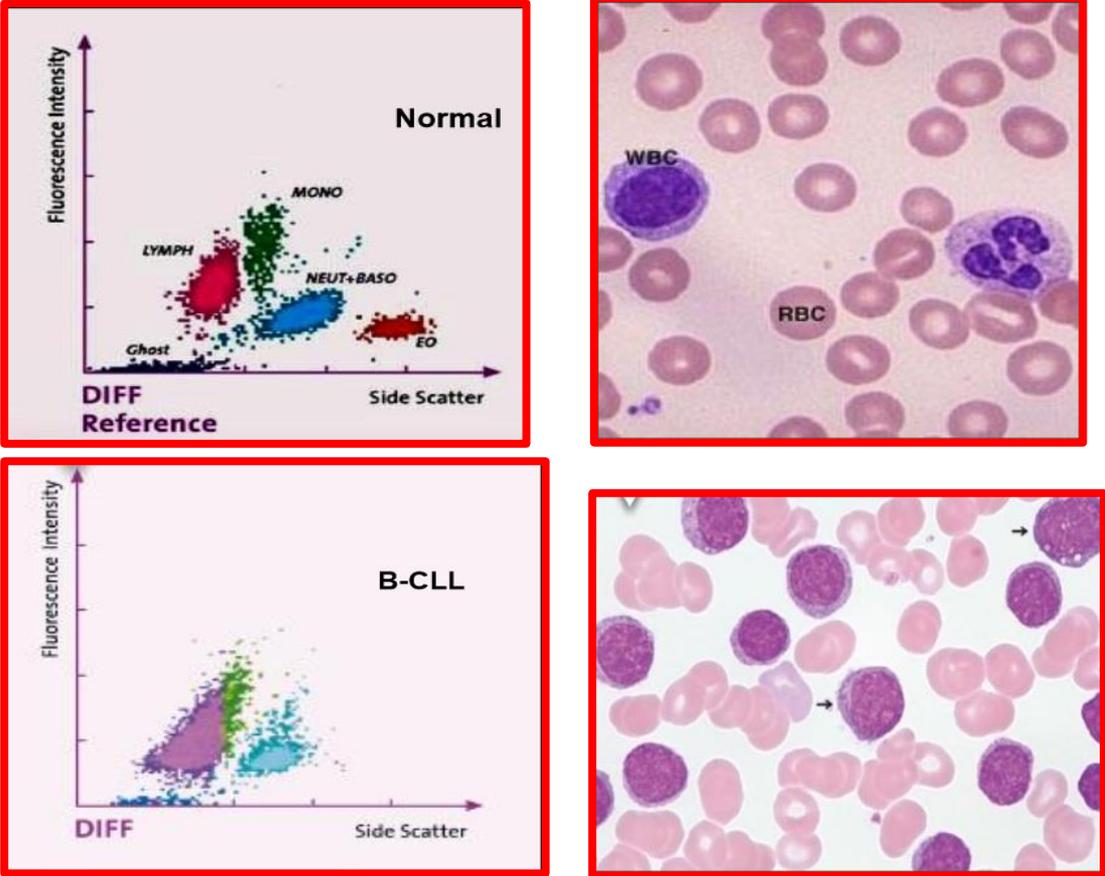


Abb. 29 (Sysmex Handbuch)

Hierzu einige Beispiele zum Vergleich mit dem mikroskopischen Bild (Abb. 30):



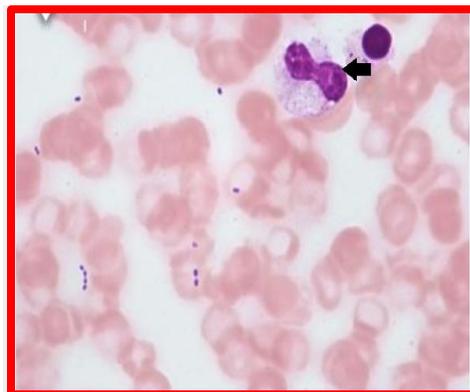
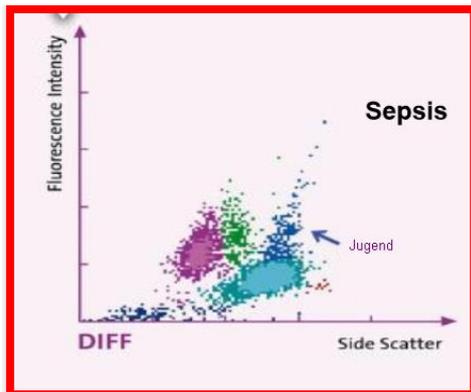
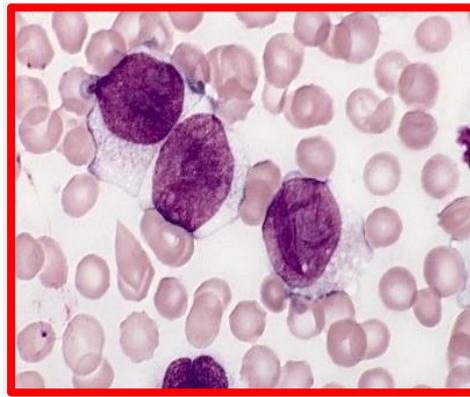
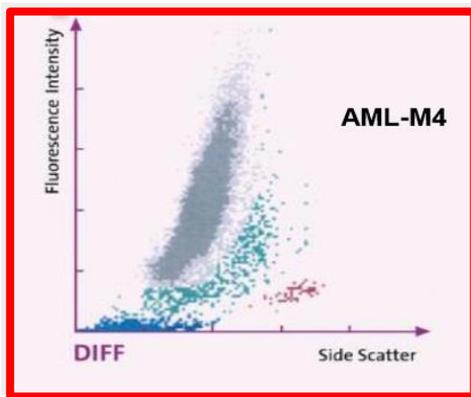


Abb.30

A3. Hämoglobinbestimmung

In einem separaten Kanal werden die Erythrozyten lysiert, das Hämoglobin freigesetzt, das zweiwertige Eisen wird zu dreiwertigem oxydiert, welches sich mit Natrium-Lauryl-Sulfat zu einem optisch messbaren (555nm) Farbkomplex verbindet (Abb. 31).

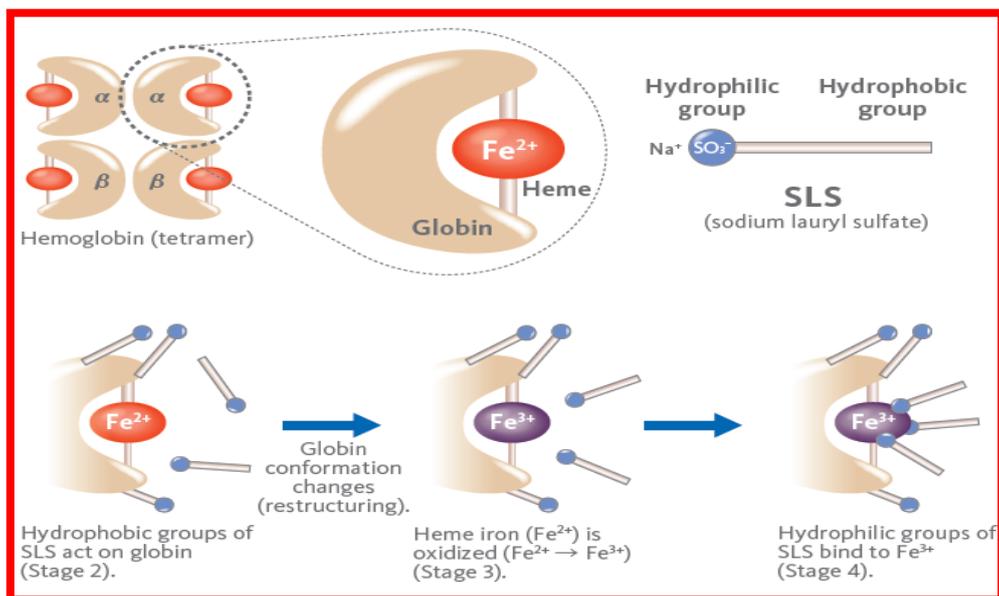


Abb.31

B. Messverfahren der Klinischen Chemie

B.1 Allgemeines

Der Begriff **Klinische Chemie** beschreibt die analytische Erfassung chemischer Kenngrößen, die sich aus physiologischen oder biochemischen Vorgängen im Körper ergeben. In einem enger gefassten medizinischen Sinne gehört sie zu den Teilgebieten der Laboratoriumsmedizin, wo sie sich mit pathologischen Veränderungen von diagnostischer Relevanz befasst.

Als Namensgeber und Mitbegründer der Klinischen Chemie gilt der Chemiker Johann Joseph von Scherer, der sein Würzburger Labor in Veröffentlichungen ab 1843 bereits als „Klinisch-chemisches Laboratorium“ bezeichnet.

Der Fachbereich Klinische Chemie beinhaltet heutzutage folgende Untersuchungsschwerpunkte:

Analytik von

- Enzymen und Stoffwechselfparametern
- Elektrolyten und Spurenelementen
- Hormonen und Tumormarkern
- Vitaminen
- Medikamenten und Drogen
- Proteindiagnostik.

Die Basis sind Analysensysteme, die in Kombination von klinisch-chemischen Verfahren (z.B. Glukose, Cholesterin) und immunologischen Nachweismethoden (z.B. Hormone, infektionsserologische Parameter) die effiziente Abarbeitung der Tests garantieren.

Ergänzend stehen weitere Analyseverfahren zur Verfügung: Nephelometrie, Elektrophorese, Atom-Absorptions-Spektroskopie, Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC), Radio-Immunoassay (RIA) u.a.

B2. Klinisch-chemische Analyser

Messverfahren:

Fotometrie: Absorption und Farbe einer Flüssigkeit oder eines transparenten Festkörpers hängen von der stofflichen Konzentration ab. Mithilfe des sichtbaren Lichtes kann die Konzentration von farbigen Flüssigkeiten bestimmt werden.

Potentiometrie (ISE): Messung mit ionenselektiven Elektroden. Das Potential der Referenzelektrode ist bekannt und konstant, das Potential der Messelektrode dagegen von der Aktivität der Messlösung abhängig. Das Voltmeter vergleicht die Potentiale beider Elektroden und daraus kann rechnerisch (Nernst'sche Gleichung) die Konzentration der Messlösung ermittelt werden.

Turbidimetrie : Eine Form der quantitativen Analyse, bei der die Teilchenkonzentration in Gasen oder Flüssigkeiten durch Abschwächung des Lichtstrahles bestimmt wird.

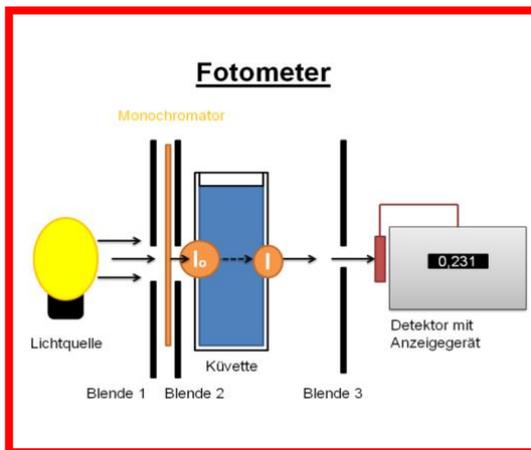


Abb.32 Fotometrische Messung(abiweb.de.)

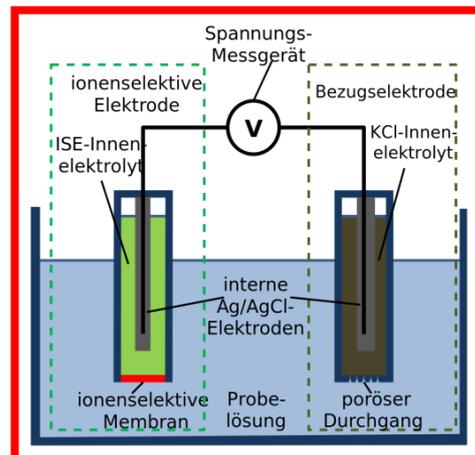


Abb.33 Potentiometrische Messung (de.wikipedia.org)

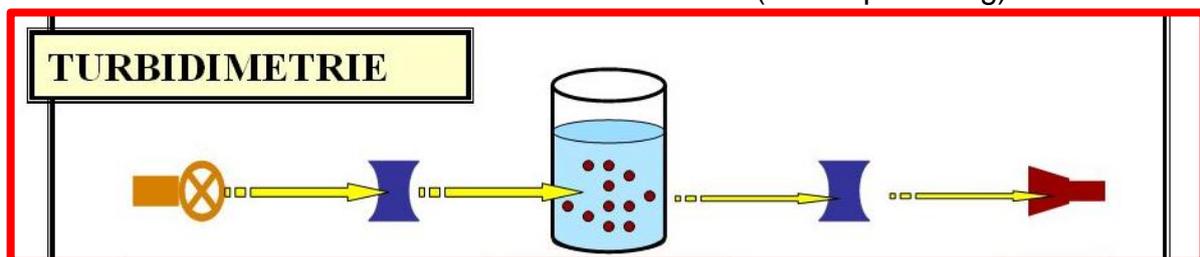


Abb.34 Turbidimetrische Messung

Charakteristika eines Analyser's mittlerer Kapazität:

- kann bis 800 Tests pro Stunde ableisten
- 215 Proben können gleichzeitig aufgegeben werden
- das Gerät verfügt über mindesten 86 Panelle (Bestimmungsmöglichkeiten)
- für eine Probe wird das Volumen von 1,5-30 μl (im Durchschnitt 6 μl) benötigt
- automatische Verdünnung (z.B. bei hohen Konzentrationen)
- ikterische, hämolytische und lipämische Seren werden angezeigt
- Proben mit Bläschenbildung, Mikrogerinnseln werden angezeigt
- bis zu 50 000 Ergebnisse können aktuell gespeichert werden.