



## Vom Patienten zur Analysenprobe – Präanalytik für die klinische Chemie, Gerinnung und Hämatologie

Die korrekte Vorbereitung des Patienten, die richtige Blutentnahme, die Benutzung der richtigen Abnahmegefäße und die optimale Behandlung der Probe für den Transport in das Labor sind wichtige Voraussetzungen, um ein Analyseergebnis von hoher Qualität zu erhalten.

Im Folgenden stellen wir Ihnen kurz die wichtigsten Dinge dar, die Sie beachten sollten, damit wir für Sie ein optimales Analyseergebnis erzielen können:

- Welche Blutentnahmeröhrchen für welche Untersuchung?
- Einflussfaktoren auf die Blutentnahme (Wann muss der Patient nüchtern sein?)
- Richtige Blutentnahme
- Reihenfolge der Abnahme
- Kennzeichnung der Proben
- Serumgewinnung / Plasmagewinnung / richtig zentrifugieren
- Probe richtig aufbewahren (Lichtschutz, Kühlschrank)
- Gerinnungsuntersuchungen
- Bestimmung von Medikamentenspiegeln
- Molekularbiologische Untersuchungen
- Spezielles:
  - Hämolyse
  - Niedrige Thrombozytenzahlen (EDTA-bedingter Pseudothrombozytopenie)
- Blutausstrich – so funktioniert es richtig
- Urinproben – richtig sammeln
- Ansäuern des Urins

**Natürlich stehen wir Ihnen aber auch immer gerne für Ihre Fragen zur Verfügung  
(Tel.: 0851-9593 00)**

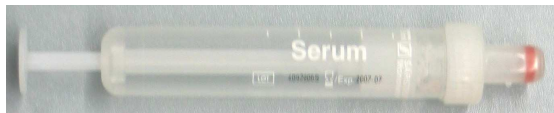


## Welche Blutentnahmeröhrchen für welche Untersuchung?

Laboruntersuchungen aus menschlichem Blut können aus Vollblut, Serum oder Plasma durchgeführt werden. Unter Serum versteht man den unverdünnten extrazellulären Anteil des Blutes nach Abschluss der Gerinnung.

Plasma setzt immer einen Zusatz eines Antikoagulanzen (z.B. Citrat oder Heparin) voraus und enthält daher im Gegensatz zu Serum Fibrinogen.

Zur Blutentnahme stehen Ihnen unterschiedliche Blutentnahmeröhrchen zur Verfügung. Diese enthalten bereits den richtigen Antikoagulanzenzusatz zur Plasma- oder zur Serumgewinnung. Im einzelnen sind dies folgende Röhrchen:



**Serum-Röhrchen**

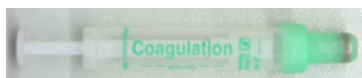
Untersuchungen

Klinische Chemie  
Serologie  
Spezialuntersuchungen



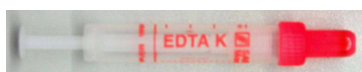
**Lithium-Heparin-Röhrchen**

Plasmagewinnung für klinische Chemie



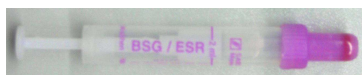
**Citrat-Röhrchen (1:10)**

Gerinnungsanalytik  
(z.B. Quick, PTT, TZ, etc.)



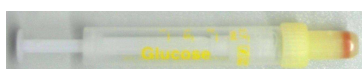
**EDTA-Röhrchen**

Hämatologie  
HbA1c



**Citrat-Röhrchen (1:5)**

BSG-Bestimmung



**Fluorid-Röhrchen**

Lactatbestimmung  
Glukoseestimmung



## **Einflussfaktoren auf die Blutentnahme (Wann muss der Patient nüchtern sein?)**

Nahrungsaufnahme kann ebenso wie körperliche Belastung, Entnahmezeit oder Körperlage zu einer Veränderung verschiedener Parameter führen.

Wichtige Einflussfaktoren auf die Ergebnisse von Blutentnahmen sind in folgender Tabelle dargestellt (Auswahl):

Rauchen	Anstieg der Leukozyten, einiger Tumormarker (z.B. CEA)												
Alkohol	Anstieg der Leberenzyme, Verminderung von Folsäure												
Morphine	Anstieg von Amylase, Lipase, GOT, GPT, AP, Bilirubin Gastrin, Prolaktin												
Cannabis	Anstieg von Natrium, Kalium, Harnstoff, Chlorid, Insulin Verminderung von Kreatinin, Glukose, Harnsäure												
Mehrtägiges Fasten	Verminderung der Glukose Anstieg von Natrium, Kalium, Bilirubin												
Starke körperliche Belastung	z.B. 45 min nach einem Marathonlauf Anstieg von CK, GOT, Bilirubin, Harnstoff, Harnsäure, anorg. Phosphat Glukose, Albumin, Calcium												
Stauzeit	Bei Verlängerung auf 3 Minuten Anstieg von:												
	<table> <tr> <td>Bilirubin</td> <td>8 %</td> </tr> <tr> <td>Eisen</td> <td>7 %</td> </tr> <tr> <td>Cholesterin</td> <td>5 %</td> </tr> <tr> <td>Lipase</td> <td>5 %</td> </tr> <tr> <td>Protein</td> <td>5 %</td> </tr> </table>	Bilirubin	8 %	Eisen	7 %	Cholesterin	5 %	Lipase	5 %	Protein	5 %		
Bilirubin	8 %												
Eisen	7 %												
Cholesterin	5 %												
Lipase	5 %												
Protein	5 %												
	<table> <tr> <td>Abnahme von</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Albumin</td> <td>2 %</td> </tr> <tr> <td>Kalium</td> <td>5 %</td> </tr> <tr> <td>Kreatinin</td> <td>9 %</td> </tr> <tr> <td>Glukose</td> <td>9 %</td> </tr> <tr> <td>gGT</td> <td>10 %</td> </tr> </table>	Abnahme von		Albumin	2 %	Kalium	5 %	Kreatinin	9 %	Glukose	9 %	gGT	10 %
Abnahme von													
Albumin	2 %												
Kalium	5 %												
Kreatinin	9 %												
Glukose	9 %												
gGT	10 %												



Viele Parameter zeigen auch im Tagesverlauf typische Schwankungen.  
Eine Auswahl der häufigsten Parameter zeigt folgende Tabelle:

Maximum	Parameter	Abweichung (%)
morgens	ACTH	+ 200
	Renin	+ 140
	Noradrenalin	+ 120
	Prolaktin	+ 100
	Aldosteron	+ 80
	Cortisol	+ 50
	Hämoglobin	+ 20
	Leukozyten	+ 20
	Bilirubin	+ 20
mittags	Eisen	+ 100
	Kalium	+ 15
abends	STH	+ 400
	Kreatinin	+ 100
	Myoglobin	+ 70
	Harnstoff	+ 50
	TSH	+ 50



## Richtige Blutentnahme

### Blutentnahme aus der Vene:

- Blutentnahme nach Möglichkeit immer zur gleichen Tageszeit (v.a. zur Verlaufsbeurteilung), idealerweise morgens nach einer Nüchternperiode von ca. 12h
- Der Patient sollte mindestens 10 Minuten sitzen oder liegen
- Staubbinde etwa eine Handbreit herzwärts der Punktionsstelle anlegen, Staudruck zwischen 50 und 100 mm HG (Pulsschlag bleibt fühlbar); Stauzeit ca. 1 Minute, kein (!) Faustschluss
- Auswahl der Punktionsstelle und Desinfektion mit zugelassenen Substanzen
- Punktion in Verlaufsrichtung der ausgewählten Vene. Bei der Blutabnahme keine zu feine Kanüle verwenden (bei Erwachsenen mind. Nr. 12), da die Gefahr der Hämolyse des Probenmaterials mit abnehmendem Kanüledurchmesser massiv steigt. Viele Untersuchungen werden durch Hämolyse gestört (siehe Seite ...). Abnahmeröhrchen immer vollständig füllen, da Zusätze im Röhrchen (z.B. Citrat) für ein komplett gefülltes Röhrchen ausgelegt sind (Gefahr falscher Ergebnisse)
- Nach erfolgter Punktion Stauung lösen und Blutentnahme in vorgegebener Reihenfolge
- Punktionsstelle nach Entfernung der Kanüle ausreichend lange (ca. 5 Minuten) mit einem Tupfer unter ausreichendem Druck verschließen
- Alle gefüllten Blutentnahmeröhrchen unmittelbar nach der Entnahme mehrmals (2-3mal) „über Kopf“ mischen (nicht schütteln) und anschließend bis zur Zentrifugation stehend lagern.

Beachten Sie bitte, dass zur Bestimmung von Blutalkohol kein alkoholisches Desinfektionsmittel verwendet werden sollte.

Medikamentenspiegel in der Regel kurz vor der nächsten Medikamenteneinnahme bestimmen (Talspiegel). Anderer Abnahmezeitpunkt (z.B. Spitzenspiegel) auf Anforderungsschein vermerken.

Nur in Ausnahmefällen aus liegenden Zugängen (venös oder arteriell) die Blutentnahme durchführen (Gefahr der Ergebnisverfälschung durch Infusionslösung).

### Kapillarblutentnahme:

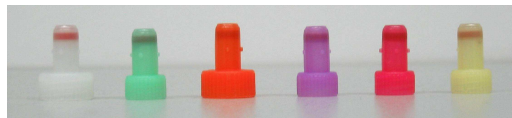
- Nur bei intakten peripheren Kreislaufverhältnissen durchführen
- Erwärmen der Punktionsstelle vor der Blutentnahme (Arterialisierung des gewonnen Blutes)
- Punktionsstellen: Fingerbeere, bei Säuglingen laterale oder mediale plantare Oberfläche der Ferse), Ohrläppchen
- Zur Blutbildkontrolle nur die Fingerbeere benutzen; dabei nicht drücken, da dies die Werte verfälscht.
- Sammelgefäß sofort schließen und durch schwenken mit eventuell vorgelegten Zusätzen im Sammelgefäß mischen (EDTA-Zusatz zur Verhinderung der Blutgerinnung)



## Reihenfolge der Abnahme

Folgende Reihenfolge wird bei der Blutentnahme empfohlen<sup>1</sup>

1. Blutkultur
2. Serum-Röhrchen
3. Citrat-Röhrchen
4. Heparin-Röhrchen
5. EDTA-Röhrchen
6. Röhrchen mit zusätzlichen Stabilisatoren (z.B. Glykolyse-Inhibitoren)



### Wichtig:

Um ein richtiges Mischungsverhältnis von Antikoagulanzen und Blut zu erhalten ist es zwingend erforderlich, dass die Citratröhrchen bis zum Eichstrich gefüllt werden (der Stempel bei Sarstedt-Monovetten rastet bei vollständiger Befüllung deutlich wahrnehmbar ein).

Nicht vollständig gefüllte Probenröhrchen gehören zu den häufigsten Fehlerquellen bei Laboruntersuchungen (falsches Mischungsverhältnis, zu wenig Material für Untersuchung, Ausgasen von flüchtigen Untersuchungsparametern in die überstehende Gasphase etc.)

### Kennzeichnung der Proben

- Die korrekte Kennzeichnung der entnommenen Proben und der jeweiligen Anforderungsscheine ist zur fehlerfreien Identifizierung unbedingt erforderlich.
- Für immunhämatologische Bestimmungen (**Blutgruppenuntersuchungen**) muss nach den gültigen Rechtsvorschriften eine eigens für diese Untersuchung entnommene Probe bereitgestellt werden.
- Bei **Stimulationstesten oder Tagesprofilen** ist zusätzlich die Angabe der Entnahmezeit auf dem Probengefäß und dem Anforderungsschein erforderlich.
- Wird Serum oder Plasma in der Praxis gewonnen und in Sekundärproben überführt, bitte immer auch vermerken, um welches Material es sich im Sekundärröhrchen handelt!

<sup>1</sup> Die Qualität diagnostischer Proben; Empfehlung der Arbeitsgruppe Präanalytik der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie und der Deutschen Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin 2000

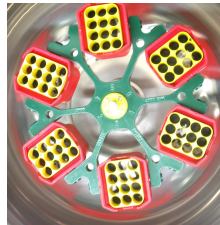


## Serumgewinnung/Plasmagewinnung

**Serumgewinnung:** Die Blutprobe sollte mindestens 20 min durchgerinnen (höchstens jedoch eine Stunde). Nach Zentrifugation (siehe unten) den gewonnenen Überstand (Serum) in neutrale Probenröhrchen überführen und entsprechend der Vorschriften des Testparameters lagern.

**Plasmagewinnung:** Die Blutprobe sollte gut durchmischt sein und rasch zentrifugiert werden. Nach Zentrifugation den gewonnenen Überstand (Plasma) in Probenröhrchen überführen und entsprechend der Vorschriften des Testparameters lagern.

## Richtig zentrifugieren



Richtig zentrifugieren ist Voraussetzung, um in kurzer Zeit die festen Blutbestandteile vom Serum oder Plasma zu trennen. Die Serumausbeute beträgt ohne Zentrifugierhilfe ca. 30%, mit Zentrifugierhilfe ca. 40%. Dabei sollte die Zentrifuge mit der richtigen Umdrehungszahl betrieben werden.

Zu niedrige Umdrehungszahlen führen zu einer unzureichenden Trennung von festen und flüssigen Blutbestandteilen.

Zu hohe Umdrehungszahlen können zur Schädigung der Blutzellen und damit zur Hämolyse führen.

Wichtig ist daher die Bestimmung der korrekten Umdrehungszahl.

Mit der Zentrifuge wird eine Vielfache der Erdbeschleunigung (g) erzeugt, die relative Zentrifugalbeschleunigung (RZB). Die Zentrifugalwirkung (G) kann aus der Umdrehungszahl der Zentrifuge (U/min) sowie dem Abstand des Zentrifugenröhrchenbodens von der Zentrifugenachse (r) über folgende Formel berechnet werden:<sup>2</sup>

$$G = r * (U/min / 1000)^2 \times 11,18 \text{ m/s}^2$$

Um nicht für jede Zentrifuge diese komplizierte Formel anwenden zu müssen, kann man auf Tabellen zurückgreifen, die die optimale Einstellung der Zentrifuge erleichtern.

Grundsätzlich gilt, dass

**Serum** nach Abschluss der Gerinnung **mindestens 10 min bei mindestens 1500 g** zentrifugiert werden sollte

**Plasma** **mindestens 15 min bei 2000 bis 3000 g** zentrifugiert werden sollte.

Für beide Materialien sollte die Temperatur zwischen 15 und 24 Grad Celsius liegen<sup>3</sup>.

Wird Serum oder Plasma in der Praxis gewonnen und in Sekundärproben überführt, bitte immer auch vermerken um welches Material es sich im Sekundärröhrchen handelt!

<sup>2</sup> Thomas (Hrsg): Labor und Diagnose. Frankfurt/Main 1998

<sup>3</sup> Die Qualität diagnostischer Proben; Empfehlung der Arbeitsgruppe Präanalytik der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie und der Deutschen Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin 2000



## Probe richtig aufbewahren (Lichtschutz, Kühlschrank)

Generell sollten die Blutproben nicht dem direkten Sonnenlicht ausgesetzt werden. Als besonders lichtempfindlich gelten vor allem folgende Parameter (Lichtschutz!):

- Bilirubin
- Porphyrine
- Beta-Carotin
- Vitamin A, B (alle), E und K
- Pyridinoline
- Neopterin

Am besten sind die gewonnenen Proben gekühlt aufzubewahren.

Nicht gekühlt werden sollten Proben für die Bestimmung von:

- Blutbild
- HLA B27
- Lymphozytendifferenzierung
- LDH-Isoenzyme
- Cyclosporin
- Proben für Zytogenetik, Chromosomenanalyse
- Blutkulturen



Verschiedenen Proben können nur stabil gehalten werden, wenn sie tiefgefroren werden. Dazu gehören:

Parameter	Material
ACTH	EDTA-Plasma
ADH	EDTA-Plasma + Serum (nicht gefroren)
Adrenalin, Noradrenalin	EDTA-Plasma
Aminosäuren (u.a. Taurin)	Serum, Urin
Ammoniak	EDTA-Plasma
Angiotensin II	EDTA-Plasma
APC-Resistenz	Citrat-Plasma
Biotin H	Serum
Calcitonin	Serum
CH-50	Serum
Chromogranin A	EDTA-Plasma
C-Peptid	Serum
Cystin	Urin
Dopamin	EDTA-Plasma
Fruktose	Ejakulat
Gastrin	Serum
Gerinnungsfaktoren	Citrat-Plasma
Glukagon	EDTA-Plasma + Trasylol
Histamin	EDTA-Plasma
IGF-1/Somatomedin C	Serum
IGF-BP 3	Serum
Insulin	Serum
Interleukin-2-Rezeptor-AK/Interleukin 6	Serum
Katecholamine	EDTA-Plasma
Lupus-Antikoagulanz	Citrat-Plasma
Malondialdehyd	EDTA-Plasma
Parathormon intakt	Serum, EDTA-Plasma
Proinsulin	Serum
Protein C/S- Aktivität	Citrat-Plasma
Protein S-100	Serum
Serotonin	Serum, EDTA-Plasma, Urin
VIP (Vasoaktives intestinales Polypeptid)	EDTA-Plasma + Trasylol
Vitamin C	Lithium-Heparin-Plasma
von Willebrand-Faktor	Citrat-Plasma



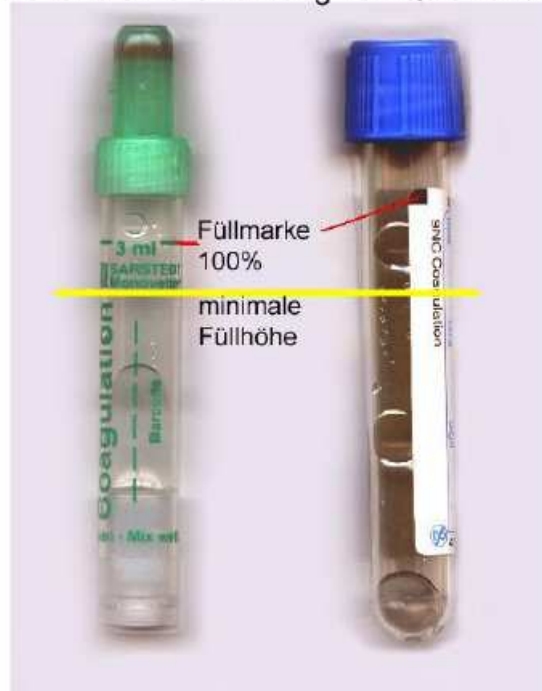
## Gerinnungsproben

Um ein korrektes Analyseergebnis zu erhalten, ist es wichtig, die Gerinnungsproben optimal aufzubereiten.

Voraussetzung ist eine korrekte Füllung des Röhrchens bis zum Eichstrich des Gerinnungsgefäßes (siehe Bild):

### Beispiel für die minimale Füllhöhe bei den verwendeten Gerinnungsröhrchen:

Die markierte minimale Füllhöhe ist die unterste Grenze für die Durchführung von Quick und PTT



Zur weiteren Aufbereitung der Citratprobe ist wie folgt vorzugehen:

- Citratblut zentrifugieren
- Citratplasma ohne buffy coat (leukozytenreiche Plasmaschicht zwischen Blutkuchen und Plasma) abheben
- Abgehobenes Plasma erneut im Sekundärgefäß zentrifugieren
- Überstand erneut abheben

Gerinnungsproben sollten zügig analysiert werden (Probenstabilität bei Raumtemperatur ca. 4h). Ist dies nicht möglich, muss das überstehende Plasma (ohne Blutkuchen) tiefgefroren werden (mindestens -18 Grad Celsius)



## Medikamentenspiegel

Medikamentenspiegel werden im Regelfall als „**Talspiegel**“ bestimmt, das heißt die Blutentnahme erfolgt kurz vor der nächsten Medikamenteneinnahme.

Bei einigen Medikamenten ist auch eine „**Spitzenspiegel**“-Bestimmung erforderlich.

Hier erfolgt die Blutentnahme kurz nach der Medikamenteneinnahme (im allgemeinen 30 min. nach Gabe des Medikaments)

## Molekularbiologische Untersuchungen

Für PCR-Untersuchungen (Polymerasekettenreaktion) benötigen wir original verschlossene Blutentnahmegefäße (Vermeiden von Kontaminationen).

Bitte generell EDTA-Blut einsenden („Blutbild-Röhrchen“), kein Heparinblut, da dies die PCR möglicherweise hemmen kann.

## Spezielles: Hämolyse<sup>4</sup>

Hämolyse beschreibt die Freisetzung intrazellulärer Komponenten von Blutzellen (zumeist Erythrozyten) in den extrazellulären Raum des Blutes.

Man unterscheidet eine **Hämolyse in vivo** von einer **Hämolyse in vitro**.

Die **Hämolyse in vivo** findet „im Körper“ statt, also z.B. bei Transfusionszwischenfällen oder bei Malaria durch Zerfall der infizierten Erythrozyten.

Die **Hämolyse in vitro** betrifft alle Phasen der Präanalytik also die Probengewinnung (zu langes Stauen, starkes Aspirieren), den Probentransport und die Probenlagerung (extreme Temperaturschwankungen, zu lange Lagerungszeiten).

Die Hämolyse kann mit dem bloßem Auge erkannt werden, wenn die Hämoglobinkonzentration 200mg/l überschreitet.

Durch eine Hämolyse von 2,5g Hb/l ändern sich z.B. folgende Analyte<sup>5</sup>:

Alkalische Phosphatase	- 18 %
AST (GOT)	+ 35 %
Bilirubin	- 12 %
Creatinkinase	+ 15 %
gGT	- 22 %
Kalium	+ 14 %
LDH	+ 149 %
Saure Phosphatase	+ 13 %

<sup>4</sup> Renz (Hrsg): Integrative Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin. Pathophysiologie, Pathobiochemie, Hämatologie. Berlin, New York 2003

<sup>5</sup> Thomas (Hrsg): Labor und Diagnose. Frankfurt/Main 1998



## Spezielles: Niedrige Thrombozytenzahlen (bei EDTA-bedingter Pseudothrombozytopenie)

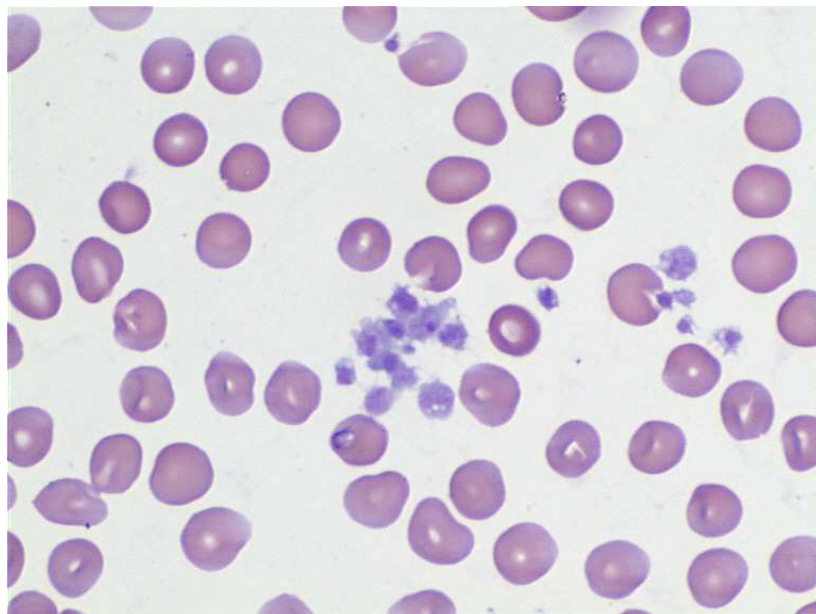
In einigen Fällen kommt es zu einer unerwartet niedrigen Thrombozytenzahl, die dem vorliegenden klinischen Bild nicht entspricht. Ursachen für eine Thrombozytopenie können vielfältig sein.

Eine präanalytische Ursache ist die sogenannte EDTA-bedingte Pseudothrombozytopenie. Die Thrombozyten aggregieren hier durch das EDTA und werden von den Zählgeräten nicht als Thrombozyten erfasst (siehe Photo).

Bei unklar erniedrigten Thrombozytenzahlen mit Verdacht auf eine EDTA-bedingte Pseudothrombozytopenie empfiehlt sich daher eine **Kontrolluntersuchung mit EDTA und Citrat- oder Heparinblut**, da die Aggregation der Thrombozyten bei Citrat und Heparin nicht auftritt.<sup>6</sup>

Dabei immer EDTA-Röhrchen und Citrat-Röhrchen gemeinsam abnehmen und ins Labor schicken.

Eine Aussage zur eventuellen EDTA-bedingten Pseudothrombopenie ist aus der unterschiedlichen Thrombozytenzahl aus beiden Materialien möglich (**Citratröhrchen** immer mit Beschriftung versehen, dass es **für Blutbildbestimmung** verwendet werden soll).



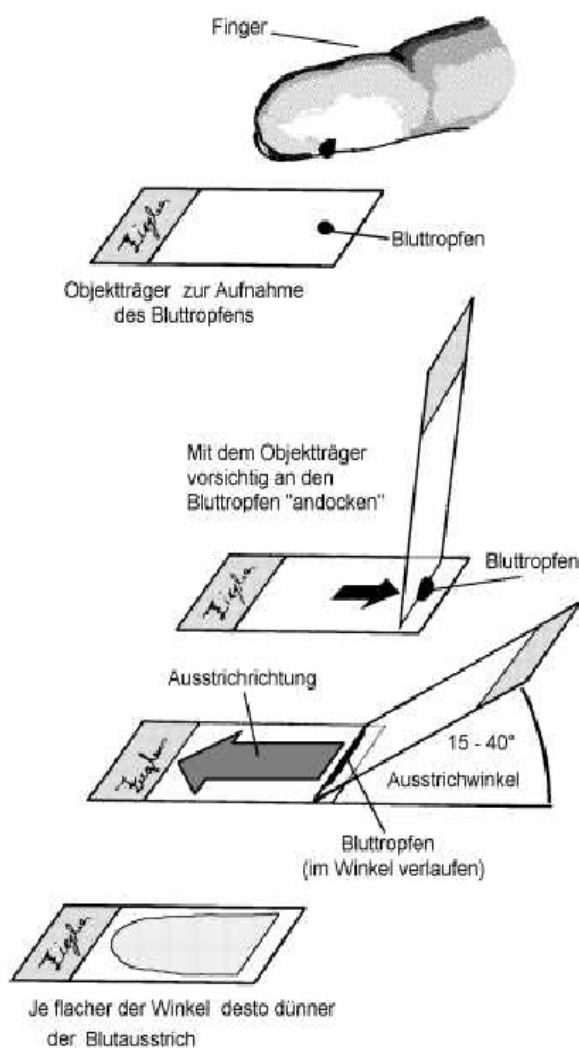
<sup>6</sup> Thöml et al.: Taschenatlas der Hämatologie. Stuttgart, New York 2002  
Seite 12 von 14



Blutausstrich – so funktioniert es richtig

## Herstellung eines Blutausstriches

### Blutausstrich anfertigen:



Ein kleiner Tropfen Kapillarblut (aus Fingerbeere/ Ohr läppchen) oder ca. 5µl **EDTA- Blut** wird mittels einer Glaskapillare auf einen sauberen, fettfreien Objektträger getropft.

Das Ausstrichgläschen (üblicherweise ein zweiter Objektträger) wird in einem Winkel von 15- 40° links vor den Blut tropfen gesetzt und nach rechts geführt bis es den Tropfen berührt.

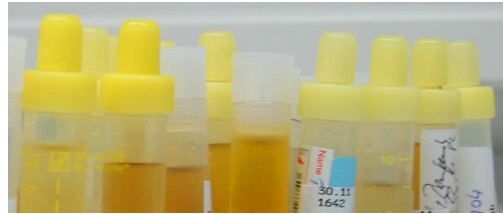
Sobald sich das Blut gleichmäßig im Winkel der Objektträger verteilt hat, wird es in einem Zug und ohne abzusetzen ausgestrichen.

Der **Anstellwinkel** des Objektträgers entscheidet über die Dicke des Präparates. Je **kleiner** der Winkel, umso **dünner** die Ausstriche. Das Präparat ist gelungen, wenn das Blut nicht das Ende des Objektträgers erreicht und ein büstenförmiger Saum, die sogenannte „Fahne“ entsteht.

Die Beschriftung der Objektträger erfolgt, nach dem **Lufttrocknen**, ganz am Rand!



## Urinproben – richtig sammeln



Bei der Urinsammlung müssen auch einige Dinge beachtet werden, die im Folgenden aufgelistet sind:

- Beginn der Sammelperiode 07:00 Uhr morgens
- Der erste Morgenurin wird verworfen
- Danach komplette (!) Sammlung aller Urinportionen bis zum nächsten Morgen 07:00 Uhr (inklusive Morgenurin)
- Wichtig: vor dem Abfüllen des Sammelurins in Probenröhrchen Gesamturinmenge gut durchmischen
- Sammelzeit (meist 24h) sowie Sammelmenge unbedingt auf dem Anforderungsschein vermerken

## Ansäuern des Urins ( nur für spezielle Urinuntersuchungsmethoden)

Sofern dem Urin spezielle Konservierungsmittel zugegeben werden müssen (Salzsäure, Essigsäure), bitte die notwendigen Gefäße im Labor anfordern. Diese werden Ihnen dann über unseren Kurierdienst zugestellt.

- Zuerst 25%ige Salzsäure (ca. 10 ml) in den Sammelbehälter geben  
(Achtung: Vorsicht beim Umgang mit Salzsäure)
- Urinsammeln wie oben vorgegeben
- Gesamturinmenge gut durchmischen
- Teilmenge entsprechend den jeweiligen Vorschriften des Testparameters lagern
- Sammelzeit (meist 24h) sowie Sammelmenge unbedingt auf dem Anforderungsschein vermerken

Bitte die Patienten immer darauf aufmerksam machen, dass der Sammelurinbehälter nicht ausgespült werden darf (keine Salzsäure mehr im Behälter zur Konservierung) und der Behälter kühl und dunkel stehen soll.