

# Patientenproben für die medizinische Labordiagnostik

WOLF D. KUHLMANN

*MVZ für Laboratoriumsmedizin Koblenz-Mittelrhein, 56068 Koblenz*

*Laboratory Diagnostics & Cell Science, 56112 Lahnstein*

---

## 1. Patientenproben

Die Patientenvorbereitung hat auf die Richtigkeit der Untersuchungsergebnisse einen entscheidenden Einfluss. Präanalytische Fehler können zu erheblichen Abweichungen führen, ohne dass diese vom Labor erkennbar sind. Aus diesem Grund wird nachstehend auf die Patientenvorbereitung und die Gewinnung von Untersuchungsmaterial eingegangen, außerdem erfolgt beispielhaft eine Aufstellung der wichtigsten Einfluss- oder Störgrößen. Dies erfolgt nicht zuletzt vor dem Hintergrund, die von uns angegebenen Referenzbereiche (Normwerte) richtig zuzuordnen.

**Referenzbereiche** Referenzbereiche (Blut) werden in der Regel im morgendlichen Untersuchungsmaterial ermittelt. Daher wird eine Abnahme des Probenmaterials in der Zeit zwischen 07.00 und 9.00 Uhr empfohlen. Der Proband sollte zuvor 12 Stunden nüchtern sein, d.h. letzte Nahrungs- und Flüssigkeitsaufnahme am Vorabend zwischen ca. 18.00 und 19.00 Uhr (Alkoholkarenz ca. 24 Stunden); in den letzten 2-3 Tagen keine überdurchschnittlichen körperlichen Belastungen. Neben diesen allgemeinen Richtlinien sind bei bestimmten Untersuchungen darüberhinausgehende Maßnahmen zur Vorbereitung des Patienten erforderlich.

**Probenentnahme** Eine warme Umgebungstemperatur (ca. 18-30°C) ist einzuhalten. Die Blutentnahme soll am ruhenden Probanden erfolgen; Blutentnahme in der Regel aus einer peripheren Armvene, zum Einstechen der Kanüle max. 30 Sekunden stauen. Sobald Blut fließt, Stauung lösen und nicht zu stark aspirieren (Gefahr einer Hämolyse). Die Wahl des richtigen Entnahmeröhrchens ist wichtig für zuverlässige Analysenergebnisse.

## 2. Untersuchungsmaterial Blut

Blut besteht aus flüssigen und korpuskulären Bestandteilen. Im Gefäßsystem ist Blut das Transportmittel für lebenswichtige Stoffe wie Sauerstoff, Kohlendioxyd, Elektrolyte, Nährstoffe, Abwehrstoffe, Hormone, Stoffwechselprodukte und natürlich den Zellen selbst.

Die messbaren Laborparameter sind im Vollblut, antikoaguliertem Blut, Serum oder Plasma bei Raumtemperatur ohne wesentliche Einbuße an Konzentration oder Aktivität über einen gewissen Zeitraum stabil (s. Tabelle im Kapitel 9.). Stabilitätsangaben hängen allgemein von zahlreichen Bedingungen ab, zuweilen gibt es in der Literatur auch uneinheitliche Angaben. Es wird daher empfohlen, die Patientenproben unmittelbar nach deren Entnahme an das Labor

weiterzuleiten. Dort können die Proben fachgerecht asserviert und weiterbearbeitet werden.

Für labormedizinische Untersuchungen wird in der Regel das menschliche Blut in unterschiedlicher Form gewonnen und nach unterschiedlichen Vorbehandlungen der Analytik zugeführt.

### **Die hauptsächlichlichen Arten der Gewinnung von Blut für die Analytik**

<b>Vollblut</b>	Als Vollblut wird venös, arteriell oder kapillär entnommenes Blut bezeichnet, das sofort mit der Entnahme aus seinem physiologischen Blutgefäß-Milieu einen Gerinnungsprozess einleitet. Das Blutgerinnsel, bestehend aus Fibrin und zellulären Bestandteilen, wird durch Zentrifugation abgetrennt und der Überstand (als Serum bezeichnet) der Analytik zugeführt.
<b>Serum</b>	Bezeichnung des zellfreien Anteils des Vollblutes nach abgeschlossener Gerinnung.
<b>NaF-Blut</b>	Mit dem Glykolysehemmer Na-Fluorid versetztes, nicht gerinnbares, aus der Vene entnommenes Vollblut. Na-Fluorid hemmt den Glukoseabbau und die Laktatproduktion.
<b>Kapillarblut</b>	Durch Einstich in Kapillaren reiches Gewebe (Fingerbeere, Ohr läppchen) gewonnenes Blut (praktisch arterielles Blut).
<b>Antikoaguliertes Vollblut</b>	Durch den Zusatz von Gerinnungshemmern wird Blut nicht gerinnbar gemacht (s. unten). Nach dem Zentrifugieren erhält man einen zellfreien Überstand (Plasma genannt), der u.a. aktivierbare Gerinnungsfaktoren enthält: <ul style="list-style-type: none"><li>• Citrat-Blut,</li><li>• EDTA-Blut,</li><li>• Heparin-Blut.</li></ul>
<b>Plasma</b>	Zellfreier Anteil des mit Antikoagulantien versetzten Vollblutes. Plasma wird aus dem antikoagulierten Vollblut durch Zentrifugation gewonnen und als Citrat-, EDTA- oder Heparin-Plasma bezeichnet.

## **2.1 Serum**

Serum-Gewinnung mit Trenngel-Monovetten, z.B. Vollblut-Monovetten der Firma Becton Dickinson (Vacutainer®) oder der Firma Sarstedt (Monovette®).

Prinzip: das am Boden der Trenngel-Monovette sitzende Gel aus Polymethylacrylat oder Materialien auf Silikon-/Polyesterbasis besitzt eine geringere Dichte als die bei der Gerinnung entstehenden Gerinnsel, so dass sich das Gerinnsel bei der Zentrifugation unter das Gel schiebt. Das leichtere Gel bildet eine dichte Trennschicht über dem Blutkuchen und verhindert dadurch den Kontakt von Serum und Blutzellen.

**Blutentnahme** Vollblut-Monovette mit Trenngel und Gerinnungsaktivatoren.

**Monovette** Monovette der Fa. Sarstedt, Farbcode **braun**.

## Farbcode

- Aufarbeitung**
- 30-60 Min. bei Raumtemperatur gerinnen lassen, nicht kühlen,
  - 10 Min. bei 3.000 x g zentrifugieren,
  - Serum kann über dem Trenngel in der Monovette verbleiben, gekühlt gelagert und transportiert werden,
  - bei Bedarf kann das Serum von der Monovette in ein Sekundärgefäß überführt und tiefgekühlt werden.

## 2.2 Antikoaguliertes Blut

Zur Vermeidung der Gerinnung muss Vollblut bereits während der Blutentnahme mit Gerinnungshemmern (Antikoagulantien) versetzt und gemischt werden. In den entsprechenden Monovetten sind die Antikoagulantien vorgelegt, eine Vermischung findet schon während der Blutentnahme statt.

Antikoagulantien: Antikoagulantien verhindern die Blutgerinnung durch Bindung von Calcium-Ionen (EDTA, Citrat) oder durch Antithrombin-Aktivität (Heparin).

**EDTA** Ethylendiamintetraessigsäure, 1.2 bis 2.0 mg/mL Blut (entspricht 4.1 bis 6.8 mmol/L); Kationen sind Kalium (K<sup>+</sup>-EDTA) oder Natrium (Na<sup>+</sup>-EDTA).

**Citrat** Tri-Natriumcitrat, 0.1 bis 0.136 mol/L Zitronensäure; für Gerinnungsanalysen wird eine 3.2% (109 mmol/L) Citratlösung empfohlen.

**Heparin** Natrium, Lithium- oder Ammoniumheparinat mit einem Molekulargewicht von 3 bis 39 kDa, 10 bis 30 I.E./mL Blut.

**Auf richtiges Mischungsverhältnis von Blut und Antikoagulantien achten. Nach der Entnahme das Blut im Entnahmeröhrchen durch mehrmaliges Schwenken vorsichtig durchmischen (aber nicht schütteln).**

**Citrat-, EDTA- und Heparin-Blut nicht tiefrieren, da die Erythrozyten platzen und es zur Hämolyse kommt.**

## 2.3 EDTA-Blut und EDTA-Plasma

EDTA-Blut, EDTA-Plasma wird für bestimmte Untersuchungen eingesetzt (s. weiter unten).

**EDTA-Plasma ist für viele klinisch-chemische Untersuchungen nicht geeignet; K<sup>+</sup>-EDTA oder Na<sup>+</sup>-EDTA kontaminieren die Blutprobe mit Kationen (K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>), so dass eine Bestimmung dieser Elektrolyte nicht möglich ist.**

**EDTA stört die Bestimmung von Calcium und anderen Ionen durch deren Komplexbildung und hemmt dadurch auch die Aktivität von Enzymen wie z.B. der alkalischen Phosphatase, der sauren Phosphatase und der Alpha-Amylase.**

<b>Blutentnahme</b>	z.B. Sarstedt-Monovette.
<b>Monovette Farbcode</b>	EDTA-Monovette der Fa. Sarstedt, Farbcode <b><u>rot</u></b> .
<b>Verwendung</b>	EDTA-Blut: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Blutbild,</li> <li>• Blutgruppe,</li> <li>• Coombstest (DCT, ICT).</li> </ul> EDTA-Plasma: <ul style="list-style-type: none"> <li>• spezielle Hormone wie Renin und ACTH.</li> </ul>

## 2.4 Heparin-Blut und Heparin-Plasma

Heparin-Blut, Heparin-Plasma wird für bestimmte Untersuchungen eingesetzt (s. weiter unten).

<b>Blutentnahme</b>	z.B. Sarstedt-Monovette.
<b>Monovette Farbcode</b>	Heparin-Monovette der Fa. Sarstedt, Farbcode <b><u>orange</u></b> .
<b>Verwendung</b>	Heparin-Blut: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Untersuchungen, bei denen eine leichte Hämolyse stören kann.</li> </ul> EDTA-Plasma: <ul style="list-style-type: none"> <li>• klinisch-chemische Untersuchungen.</li> </ul>

## 2.5 Citrat-Blut und Citrat-Plasma

Für Gerinnungsuntersuchungen wird eine Mischung im Verhältnis 1 + 9 (ein Teil Natriumcitrat und neun Teile Vollblut) benötigt, für die Blutsenkungsreaktion ist eine Mischung im Verhältnis 1 + 4 (ein Teil Natriumcitrat und vier Teile Vollblut) erforderlich.

<b>Blutentnahme</b>	z.B. Sarstedt-Monovette.
<b>Monovette Farbcode</b>	Citrat-Monovette der Fa. Sarstedt: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Farbcode <b><u>grün</u></b> für Mischungsverhältnis 9:1 (Gerinnung),</li> <li>• Farbcode <b><u>malve</u></b> für Mischungsverhältnis 4:1 (BSG).</li> </ul>
<b>Verwendung</b>	Citrat-Blut: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Blutsenkungsreaktion (BSG, Mischungsverhältnis 1:4),</li> <li>• Thrombozytenzählung (Mischungsverhältnis 1:9).</li> </ul> Citrat-Plasma (Mischungsverhältnis 1:9):

- PTT,
- Quick-Wert (INR),
- Thrombinzeit,
- Fibrinogen,
- andere Gerinnungsfaktoren,
- D-Dimere (je nach verwendetem Analysensystem).

## 2.6 Na-Fluorid-Blut

Na-Fluorid ist ein Stoffwechselgift, das die Glykolyse hemmt und damit den Abbau von Glukose durch die vitalen Zellen des Blutes. Na-Fluorid beeinflusst zahlreiche Analyten und kann daher nur für bestimmte Untersuchungen verwendet werden.

**Blutentnahme** z.B. Sarstedt-Monovette.

**Monovette  
Farbcode** Na-Fluorid-Monovette der Fa. Sarstedt, Farbcode **gelb**.

**Verwendung** Na-Fluorid-Plasma:

- Glukose,
- Laktat.

## 2.7 Kapillarblut

Kapillarblut wird insbesondere für die Schnelldiagnostik mit Teststreifen (z.B. *Point of Care*) verwendet, z.B. für die Glukosebestimmung bei Diabetikern oder bei Blutgasanalysen.

Bezüglich der zu beachtenden Besonderheiten bei der Blutgas- und Glukoseanalytik im POCT-Bereich, s. Kapitel 3.1 Verantwortung für die Präanalytik.

In der Regel ist Kapillarblut in seiner Zusammensetzung wegen der unterschiedlichen Beimengung von Gewebeflüssigkeit weniger konstant als venöses Blut. Es ist aber zu beachten, dass man relevantere Ergebnisse als mit venösem Blut bei solchen Analysen erhält, die durch den Muskelstoffwechsel beeinflusst werden, z.B.

- Blutgase (vor allem Sauerstoff- und Kohlendioxidgehalt),
- Laktat,
- Glukose (Tagesprofil, Glukosetoleranztest).

Die Glukosekonzentration ist im Kapillarblut höher als im venösen Blut; Gesamteiweiß und Calcium liegen dagegen niedriger.

## Abnahme

Kapillarblut wird mit Hilfe von Lanzetten oder speziellen Stechhilfen durch den Einstich in die Haut gewonnen, in der Regel in das Ohrläppchen oder in die Außenseite der Fingerbeere des 3. bis 5. Fingers. Aufgrund der starken Vaskularisierung der Fingerspitzen lässt sich hier leicht eine ausreichende Blutmenge gewinnen. Die Entnahme kann grundsätzlich auch an anderen Körperstellen erfolgen, die Blutmenge ist hier jedoch meist geringer.

Bei der Verwendung von Stechhilfen wird die Lanzette automatisch mit der richtigen Geschwindigkeit und Eindringtiefe geführt. Sie sind deshalb optimal für die Kapillarblutgewinnung:

- Durchblutung der Einstichstelle durch leichte Massage anregen,
- mit Alkoholtupfer (oder einem anderen Desinfektionsmittel) desinfizieren,
- Lanzette mit Stechhilfe (oder manuell mit kurzem Ruck) ca. 2-3 mm tief einstechen,
- ersten Tropfen mit sterilem Tupfer abwischen,
- Blut auf den Teststreifen aufbringen oder mit der waagrecht gehaltenen Kapillare aufsaugen.

### 3. Probenentnahmesysteme für Blut

Probengefäße müssen die Identifizierung des Patienten ermöglichen. Dies wird durch die Verwendung und die korrekte Anbringung der Barcode-Etiketten gesichert. Nicht identifizierbare Proben können nicht bearbeitet werden.

Probenentnahmesysteme (z.B. Sarstedt S-Monovette®) zur einmaligen Verwendung für die venöse Blutentnahme haben eine Farbkennung zur Unterscheidung des Verwendungszwecks.

Für bestimmte Untersuchungen müssen immer die entsprechenden Probenentnahmesysteme mit den speziellen Zusätzen verwendet werden, die die Stabilität der Proben erhöhen, z.B.

- **Citrat:** Citrat-Zusatz verhindert die Gerinnung und dient der Gewinnung von Citrat-Plasma für Gerinnungsanalysen. Citrat-Blut (als Citrat-Vollblut) ist das Standardmaterial für die Bestimmung der Blutsenkung
- **EDTA:** Der EDTA-Zusatz wird z.B. für hämatologische Untersuchungen oder die Bestimmung von HbA1c eingesetzt. EDTA im Vollblut verhindert die Aktivierung von Calcium-/Magnesium-abhängigen Enzymen und die Oxidation bestimmter Komponenten
- **Heparin:** Heparin-Zusatz verhindert die Gerinnung des Blutes. Für bestimmte Analysen wird Heparin-Plasma benötigt
- **Na-Fluorid:** Der NaF/Oxalat-Zusatz hemmt den Abbau von Glukose und den Abbau von anderen Substraten

Die Zusätze in den Entnahmesystemen sind bezüglich Konzentration/Volumen für definierte Probenmengen kalkuliert. Bei der Probennahme ist darauf zu achten, dass immer das richtige Mischungsverhältnis (= vorgesehene Füllmenge) erreicht wird, d.h. die Röhren müssen bis zur angegebenen Markierung gefüllt sein. Kleine Abweichungen können bereits zu Mess-

fehlern führen. Dies betrifft insbesondere die „Gerinnungsröhrchen“ für die Gerinnungsanalytik.

EU-Code	US-Code
	
<p><b>Serum (Gerinnungsaktivator)</b></p>	
<p>Die S-Monovetten enthalten ein Granulat, das mit einem Gerinnungsaktivator (Silikat) beschichtet ist. Durch diesen gerinnungsfördernden Zusatz ist die Gerinnung des Blutes üblicherweise nach 20-30 Minuten abgeschlossen, und die Probe kann zentrifugiert werden. Das Granulat bildet während der Zentrifugation eine Schicht zwischen Blutkuchen und Serum.</p>	
	
<p><b>Serum-Gel (Gerinnungsaktivator)</b></p>	
<p>Neben dem beschichteten Granulat enthält die S-Monovette® ein Polyacrylester Gel, welches aufgrund der Dichte während der Zentrifugation eine stabile Trennschicht zwischen dem Blutkuchen und dem Serum ausbildet und als Barriere während Transport und Lagerung der Probe wirkt. Bei Einhaltung der empfohlenen Lagerungsbedingungen bleiben die meisten Parameter bis zu 48 Stunden stabil.</p>	
	
<p><b>Plasma / Plasma-Gel (Lithium-Heparin)</b></p>	
<p>Heparin mit einer Dosierung von durchschnittlich 16 I.E./ml Blut dient als Antikoagulans für die Gewinnung von Plasma. Das Heparin ist auf dem Granulat aufgebracht, welches während der Zentrifugation eine Schicht zwischen dem Plasma und den korpuskulären Bestandteilen bildet. Die Funktionsweise des Plasma-Gels entspricht dem des Serum-Gels.</p>	
	
<p><b>Hämatologie (Kalium-EDTA)</b></p>	
<p>EDTA <math>K_2</math> wird als Flüssigdosierung in einer Konzentration von durchschnittlich 1,6 mg EDTA/ml Blut vorgelegt. Der maximale Verdünnungseffekt durch die Flüssigdosierung liegt unter 1%. Ein lagerungsbedingtes Austrocknen des EDTA beeinträchtigt nicht die gerinnungshemmende Wirkung. Für die Verwendung in der molekularen Virusdiagnostik steht eine S-Monovette® mit EDTA <math>K_2</math> und Gel zur Verfügung.</p>	
	
<p><b>Glukosebestimmung (Fluorid)</b></p>	
<p>Die S-Monovette® für die Glukosebestimmung enthält Fluorid (1,0 mg/ml Blut) als Glykolyse-Inhibitor sowie EDTA (1,2 mg/ml Blut) als Antikoagulans in Flüssigdosierung. Die Glukosekonzentration wird über einen Zeitraum von 24 Stunden stabilisiert.</p>	
	
<p><b>Gerinnungsanalytik (Natrium-Citrat)</b></p>	
<p>Citrat wird als 0,106 molare Lösung (entspricht 3,2%igem Tri-Natrium-Citrat) für die Durchführung aller gerinnungsphysiologischen Untersuchungen vorgelegt (z.B. Quick, PTT, TZ, Fibrinogen). Das Mischungsverhältnis 1:10 (1 Teil Citrat + 9 Teile Blut) muss exakt eingehalten werden.</p>	
	
<p><b>Blutsenkung (Natrium-Citrat)</b></p>	
<p>Citrat wird als 0,106 molare Tri-Natrium-Citratlösung für die Durchführung der BSG-Bestimmung vorgelegt. Das Mischungsverhältnis 1:5 (1 Teil Citrat + 4 Teile Blut) muss exakt eingehalten werden. Für die BSG-Bestimmung kann zwischen dem Sediplus® System S-Monovette® (Westergren-Methode) und dem geschlossenen System S-Sedivette® (modifizierte Westergren-Methode) gewählt werden.</p>	

## 4. Untersuchungsmaterial Urin

Im Urin können Parameter nachgewiesen werden, die im Blut unterhalb der analytischen Erfassungsgrenze liegen, da sie entweder schnell abgebaut oder mit dem Harn ausgeschieden werden. Sie liegen im Urin in konzentrierter Form vor und sind dort leichter nachweisbar.

Als Nachteile der Urinanalytik sind Fehler aufgrund von Diurese-Effekten zu nennen. Salzgehalt, Ionenstärke, pH-Wert und Konzentrierungsgrad variieren beim Gesunden beträchtlich. In Abhängigkeit von zahlreichen Faktoren wie körperliche Belastung, Ernährung, Flüssigkeitszufuhr kann das in 24 Stunden ausgeschiedene Harnvolumen um den Faktor 2 bis 10 schwanken.

**Spontanurin** Spontanurin wird im Wesentlichen für qualitative Untersuchungen und für das Harnsediment verwendet (s. Kapitel 9.).

Gewinnung von Spontanurin:

- Reinigen der Hände,
- Sammelbecher öffnen, den Deckel mit der Innenseite nach oben legen,
- Urin im Urinbecher auffangen, Deckel auf den Sammelbecher setzen und zuschrauben. Die Innenseite des Deckels nicht mit den Fingern berühren,
- benötigte Urinmenge in ein spezielles Probenröhrchen (Urin-Monovette) abfüllen.

**Zweiter Morgenurin** Wenn ein 24-Stunden-Urin nicht zur Verfügung steht, dann ist für viele quantitative Untersuchungen auch der sog. zweite Morgenurin ausreichend. Es wird empfohlen, die Messergebnisse auf das Kreatinin zu beziehen.

- Vom nüchternen Patienten wird die zweite Tagesportion im Laufe des Vormittags erhalten; Urin im Urinbecher auffangen (s.o.),
- benötigte Urinmenge in Probenröhrchen (Urin-Monovette) abfüllen.

## **Sammelurin (24 Stunden)**

Wegen variierender Diurese ist oftmals die Bestimmung eines Analyten im 24-Stunden-Sammelurin einer Bestimmung im Spontanurin vorzuziehen. Wenn das Messergebnis auf eine konstant ausgeschiedene Bezugssubstanz (z.B. Kreatinin) bezogen wird, dann können die Abweichungen durch die Diurese toleriert werden.

Sofern dem Urin spezielle Konservierungsmittel zugegeben werden müssen, bitte die notwendigen Behälter anfordern. Zuerst das Konservierungsmittel in den Sammelbehälter geben (Vorsicht beim Umgang mit Salzsäure), dann Urin sammeln lassen wie nachfolgend beschrieben.

Vorbedingungen und Sammelperiode:

- vor dem Sammeln abklären, ob der Urin stabilisiert werden muss,
- Beginn der Sammelperiode morgens um 7.00 Uhr, zuvor Wasser lassen und diesen ersten Urin noch verwerfen,
- danach komplette Sammlung aller Urinportionen, d.h. alle darauffolgenden Urinportionen werden bis zum nächsten Morgen einschließlich des Morgenurins um 7.00 Uhr (= letzte Portion) gesammelt,
- bei den Miktionen immer auf Sterilität achten,
- Urin kühl und lichtgeschützt lagern,
- vor dem Abfüllen des Sammelurins in Probenröhrchen (Urin-Monovette) die Gesamtmenge gut durchmischen, die genaue Sammelzeit (i.d.R. 24 Stunden) sowie Sammelvolumen notieren,
- benötigte Teilmenge in Probenröhrchen (Urin-Monovette) abfüllen, Sammelmenge/Sammelzeit unbedingt auf dem Anforderungsschein vermerken (bei *Order-Entry* im entsprechenden Feld eintragen).

**Wichtig: kein Frühsport, wenn Messgrößen aus dem zweiten Morgenurin bestimmt werden sollen.**

**Bei längerem Stehen können im Urin schwer lösliche Substanzen ausfallen. Es besteht die Gefahr bakterieller Kontaminationen mit Zerstörung von Eiweißen und anderen Substanzen. Der Zusatz von Konservierungsmitteln kann diese Prozesse hemmen.**