Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis 1

1. Allgemeines 3

1.1 Dienstzeiten, Annahmezeiten, Telefonnummern des Labors 3

1.1.1 Dienstzeiten 3

1.1.2 Annahmezeiten 3

1.1.3 Telefonnummern 3

1.2 Gründe für Nichtbearbeitung von Untersuchungsaufträgen 3

1.3 Aufbewahrung untersuchter Proben 4

1.4. Nachforderungen 4

1.5 Unterauftragsvergabe 4

1.6. Definition der Messunsicherheit 4

2. Anforderung von Laboruntersuchungen 4

2.1 Anforderungsbögen 4

2.2 Ausfüllen des Anforderungsformulars 4

2.2.1 Ausfüllen der Patientenstammdaten 4

2.2.2 Angaben zum Probenmaterial 4

2.2.3 Markierung der gewünschten Untersuchungen 4

2.3 Gewinnung von Untersuchungsmaterial 4

2.3.1 Präanalytische Einflüsse auf die Untersuchungsergebnisse 4

2.3.2 Sicherheitsmaßnahmen 5

2.3.3 Venöse Blutentnahme 5

2.4 Transport der Proben 6

3. Befundübermittlung 6

3.1. FB-CT-A-010 Induzierte Thrombozytenaggregation 6

3.2. HIPA-Heparininduzierter Plättchenagglutinationstest 6

3.3. Befunde aus dem Bereich Qualitätskontrolle und Zulassung von Blutprodukten 6

4. Parameter 6

4.1 Induzierte Thrombozytenaggregation 6

4.1.1 HIPA- Heparininduzierter Plättchenagglutinationstest 7

4.2 Qualitätskontrollen von Blutprodukten 7

4.2.1 Resterythrozyten 7

4.2.2 Restleukozyten 7

4.2.3 freies Hämoglobin 8

4.2.4 pH Messung 9

4.3 Zulassung von Blutprodukten 9

4.3.1 Citronensäure, Citratgehalt 9

4.3.2 ATP Messung 9

4.3.3 CD 62, CD 63 10

1. Allgemeines

1.1 Dienstzeiten, Annahmezeiten, Telefonnummer des Labors

1.1.1 Dienstzeiten
Qualitätskontrolllabor Gebäude 1

Dienstzeiten	
Mo – Fr	von 8.00 – 14.00

1.1.2 Annahmezeiten

Für die Bereiche Blutspende und Ambulanz wird während der Dienstzeiten Material angenommen. Proben, die nicht am gleichen Tag analysiert werden können, werden bis zur Abarbeitung entsprechend ihrer Testbedingungen im Labor zwischengelagert.

1.1.3 Telefonnummern

Über die Telefonnummern 22536 ist ein Ansprechpartner des Qualitätskontrolllabors zu erreichen.

1.2 Gründe für Nichtbearbeitung von Untersuchungsaufträgen

Der Untersuchungsauftrag kann aus folgenden Gründen nicht im Qualitätskontrolllabor bearbeitet werden:

Wenn die Identifikation des Patienten, der Probe oder des Einsenders nicht gesichert ist:

- Anforderungsformular ohne Probe
- Proben ohne Anforderungsformular
- Patientendaten im Stammdatenbereich des Anforderungsformulars unleserlich oder nicht vorhanden
- Einsenderdaten im Einsenderbereich unleserlich oder nicht enthalten
- Markierungen der Analysen im Markierungsfeld fehlend oder offensichtlich falsch

Wenn zu wenig Material eingesandt wird:

- die gewünschte Analytik kann nicht mit der eingeschickten Probenmenge durchgeführt werden.

Wenn falsches Material eingesandt wird:

- die erforderliche, auf dem Anforderungsformular bzw. in der Verfahrensliste angegebene Probengutart wird nicht eingeschickt.

Wenn das eingesandte Probenmaterial für die Analytik:

- zu alt ist
- stark hämolytisch ist
- die Blutprobe geronnen ist

Der Einsender wird telefonisch oder schriftlich über die Probleme informiert und auf eine entsprechende Beseitigung hingewiesen. In der Regel führt dies zu einer Neueinsendung des Untersuchungsauftrags.

1.3 Aufbewahrung untersuchter Proben

Es erfolgt in der Regel keine Aufbewahrung von untersuchten Proben nach Erstellung des Befundes.

1.4. Nachforderungen

Nachforderungen von Laboranalysen sind nicht möglich.

1.5 Unterauftragsvergabe

Trifft derzeit nicht zu.

1.6. Definition der Messunsicherheit

Als Messunsicherheit einer Methode wird die Präzision zwischen den Serien definiert, welche als Variationskoeffizient (VK) angegeben wird. Die Messunsicherheit der einzelnen Methoden kann auf Anfrage zur Verfügung gestellt werden.

2. Anforderung von Laboruntersuchungen

2.1 Anforderungsbögen

Für die Anforderung von Laboruntersuchungen stehen zwei Anforderungsbögen zur Verfügung.

Bogennummer	Formularname
FB-CT-A-010	Induzierte Aggregation
Elisa-Form-057	HIPA Anforderung über Zentrallabor

2.2 Ausfüllen des Anforderungsformulars

2.2.1 Ausfüllen der Patientenstammdaten

Bei der ambulanten oder stationären Patientenaufnahme werden für jeden Patienten entsprechende Klebe-Etikettensätze angefertigt. In das Feld Patientenstammdaten wird das Patientenetikett aufgeklebt.

2.2.2 Angaben zum Probenmaterial

Das Datum und die Uhrzeit der Probennahme sowie das Kürzel des Operators müssen in den Anforderungsbogen eingetragen werden.

2.2.3 Markierung der gewünschten Untersuchungen

Die Beauftragung einer Untersuchung erfolgt durch Markieren der gewünschten Untersuchung in dem dafür vorgesehenen, umrandeten Markierungsfeld, das sich unmittelbar vor dem Analysennamen befindet.

2.3 Gewinnung von Untersuchungsmaterial

2.3.1 Präanalytische Einflüsse auf die Untersuchungsergebnisse

Die präanalytische Phase umfasst folgende Teilschritte:

1. Vorbereitung des Patienten
2. Entnahme
3. Transport
4. Aufbereitung des Untersuchungsmaterials

5. Lagerung

Die Punkte 1. – 3. liegen in der Verantwortung des Einsenders. Die Nichtbeachtung der erforderlichen Vorschriften hat teilweise erheblichen Einfluss auf die Validität der Untersuchungsergebnisse. In vielen Fällen hat das Labor keine Möglichkeit, evtl. aufgetretene Unzulänglichkeiten zu erkennen und damit Fehlermöglichkeiten der Analysenergebnisse aufzudecken. Es ist davon auszugehen, dass die größte Ursache von Streuungen in Messergebnissen auf eine fehlerhafte Präanalytik zurückzuführen ist. Es wird daher nachdrücklich empfohlen, die auf den Einsender entfallenden Arbeitsschritte der Präanalytik sorgfältig zu kontrollieren und durchzuführen. Um eine Vergleichbarkeit der Analysenergebnisse zu erreichen, sollte die Patientenvorbereitung und Probennahme unbedingt standardisiert werden.

Die Beurteilung von Messergebnissen muss immer unter der Kenntnis von Einflussfaktoren und Störfaktoren für die entsprechenden Parameter erfolgen.

Einflussfaktoren verursachen in vivo Veränderungen. Man unterscheidet unveränderliche (z. B. Alter, Geschlecht, Rasse) und veränderliche Einflussfaktoren (Ernährung, körperliche Aktivität, Muskelmasse, Körperlage, Tagesrhythmen).

Störfaktoren führen in vitro, also nach Probengewinnung, zu einem Messergebnis, das nicht der in vivo Konzentration des Parameters entspricht. Man unterscheidet körpereigene (z. B. Störung der photometrischen Messung durch HB, Triglyzeride, Bilirubin) und körperfremde Störfaktoren (z.B. falsches Abnahmeröhrchen, Kontamination von Probenmaterial mit Bakterien, falsche Lagerung und Transport sowie Überalterung der Probe, ect).

2.3.2 Sicherheitsmaßnahmen

Während der Abnahme von Patientenproben müssen Einmalhandschuhe getragen werden. Die Patientenproben müssen mit einem sterilen Abnahmebesteck entnommen werden. Das Abnahmebesteck muss sofort nach Abnahme in geeigneten Sammelgefäßen entsorgt werden, die sicherstellen, dass andere Personen sich an dem Abnahmebesteck nicht verletzen können. Die Sammelbehälter dürfen nicht überfüllt werden und dürfen nur geschlossen transportiert werden. Die Kanülen nach der Probenabnahme niemals in die Schutzhülle zurückstecken (Verletzungsgefahr), sondern direkt in den Sammelbehälter entsorgen.

2.3.3 Venöse Blutentnahme

Patientenvorbereitung

Vor der Blutentnahme ist im Allgemeinen das großzügige Einsprühen des betreffenden Hautareals mit Hautdesinfektionsmittel ausreichend. Wenn die Haut gereinigt bzw. entfettet werden muss, soll das Desinfektionsmittel aufgesprüht, mit einem sterilisierten Tupfer abgewischt und dann nochmals aufgesprüht werden. Die Einwirkzeit beträgt mindestens 30 Sekunden. Danach darf der desinfizierte Hautbereich nicht mehr berührt werden.

Venöse Blutentnahme

Der Stauschlauch wird am Oberarm des Patienten angelegt. Die Cubitalvene sollte vor der Blutentnahme nur kurzfristig (bis ca. 1 min) gestaut werden. Längeres Stauen erhöht die Gefahr einer intravasalen Hämolyse sowie einer Gerinnungsaktivierung und führt zu einem Anstieg aller nicht ultrafiltrierbaren Bestandteile. Die Haut wird gegen die Einstichstelle gespannt und die Vene mit einer Kanüle, deren Schliffseite nach oben zeigt, punktiert. Sobald Blut durch die Kanüle fließt wird die Stauung gelöst. Kräftiges Aspirieren ist zu vermeiden. Bei der Abnahme von Blut mit gerinnungshemmenden Zusätzen (z. B. EDTA, Citrat, Heparin) muss die gewonnene Blutprobe sofort durch vorsichtiges, mehrmaliges „über Kopf-Kippen“

ausreichend mit dem Antikoagulans vermischt werden. Bei der Verwendung von Monovetten mit gerinnungshemmenden Zusätzen ist darauf zu achten, dass die Abnahmegefäße wie angegeben gefüllt sind, damit das Verhältnis von Gerinnungshemmern zu entnommener Blutprobe korrekt ist (z. B. Citrat-Blut: 1 Teil Citratlösung + 9 Teile Blut).
Wenn die Blutentnahme aus einem Venenverweilkatheter erfolgt, muss unmittelbar vor der Probennahme mindestens das doppelte Katheter-Totvolumen verworfen werden, um zu vermeiden, dass Rückstände aus dem Katheter die Ergebnisse verfälschen.

Blutmenge

Das Probengefäß für Citratblut muss bis zur angegebenen Marke gefüllt sein.

2.4 Transport der Proben

Die Proben müssen unverzüglich nach der Gewinnung in das Qualitätskontrolllabor transportiert werden. Für Proben aus dem Bereich Blutbank steht die Rohrpost zur Verfügung.

3. Befundübermittlung

3.1. FB-CT-A-010 Induzierte Thrombozytenaggregation

Befunde werden sofort nach Fertigstellung an die Ambulanz weitergeleitet.

3.2 HIPA-Heparininduzierter Plättchenagglutinationstest

Befund wird nach medizinischer Validierung (für ambulante Patienten Arzt des MVZ, für stationäre Patienten Arzt des Zentrallabors) schriftlich per Ausdruck auf Station oder Ambulanz übermittelt.

3.3 Befunde aus dem Bereich Qualitätskontrolle und Zulassung von Blutprodukten

Ergebnisse aus dem Bereich Qualitätskontrolle von Blutprodukten werden vom Leiter der Qualitätskontrolle freigegeben. Ergebnisse zur Zulassung von Blutprodukten werden an den Leiter der Qualitätskontrolle und den Institutsleiter weitergeleitet.

4. Parameter

Die Ausführungen zu den im Qualitätskontrolllabor durchgeführten Untersuchungen erfolgen unter strenger Berücksichtigung der Anforderungsscheine.

4.1 Induzierte Thrombozytenaggregation

Citrat Blut

(Citratblut 1:10 Monovette, 5 ml, grün)

Indikation:	Klärung von Thrombozytenfunktionsstörungen Medikamenten-Monitoring
Bestimmungsmethode:	Plättchenreiches Plasma (PRP) wird bei 37° C mit Hilfe eines Magneten bei 700 – 1000 U/min. im Strahlengang eines Photometers gerührt. Die Änderung der optischen Dichte (Extinktion) unter Einfluss der die Aggregation auslösenden Substanzen wird photooptisch registriert und als Kurve aufgezeichnet.

Referenzbereich:	Ristocetin	1500 µg/ml:	> 85 %
% der max. Aggregation	Ristocetin	500 µg/ml:	< 10 %
	Collagen	1 µg/ml:	> 75 %
	ADP	5 µmol/l:	> 60 %
	Arachidonic Acid	500 µg/ml	> 80%

Spezielle Hinweise: Methode besonders störanfällig für Fehler in der Präanalytik.

Verfügbarkeit Ergebnis: In der Regel am gleichen Tag

4.1.1 HIPA- Heparininduzierter Plättchenagglutinationstest

Serum

Indikation: Verdacht auf heparininduzierte Thrombozytopenie
Unklare Thrombosen an atypischen Stellen

Bestimmungsmethode: Im Patientenserum eventuell vorhandene heparininduzierte Antikörper reagieren mit Spenderthrombozyten in Gegenwart mit dem entsprechenden Heparin. Dieser Heparin-Plättchenfaktor-4-AK-Komplex auf Thrombozyten wird durch eine Agglutination der Thrombozyten sichtbar.

Referenzbereich: entfällt

Spezielle Hinweise: Probenentnahme bei heparinisierten Patienten kann zu unzuverlässigen Ergebnissen führen

Verfügbarkeit Ergebnis: In der Regel innerhalb von max. 4 Wochen

4.2 Qualitätskontrollen von Blutprodukten

4.2.1 Resterythrozyten

GFP und Thrombozytenkonzentrate:

Indikation: Qualitätskontrolle von Blutprodukten
Bestimmungsmethode: Manuelles Auszählen am Mikroskop

Referenzbereich: Frischplasma: < 6 x 10^9 / l
Thrombozytenkonzentrat: < 3 x 10^9 / Einheit

Spezielle Hinweise: entfällt

4.2.2 Restleukozyten

Erythrozyten, Thrombozyten und GFP

Indikation: Qualitätskontrolle bei Blutprodukten

Bestimmungsmethode: Das Leucocount-Reagenz von BD Biosciences enthält Propidiumjodid (PI). PI ist ein Nukleinsäure-Farbstoff, der bei Verwendung zusammen mit RNAse selektiv zelluläre DNA färbt. Leukozyten sind kernhaltige Zellen, die DNA enthalten und daher vom Farbstoff gefärbt werden. Nicht kernhaltige Partikel (einschließlich Thrombozyten und Erythrozyten) werden durch dieses Reagenz nicht gefärbt. BD Trucount™*-Röhrchen enthalten Beads (Partikel), die als interne Referenz für die genaue Bestimmung der absoluten Anzahl der Restleukozyten verwendet werden. Die betreffenden Proben werden vor der Färbung zu dem lyophilisierten Pellet in den BD Trucount™*-Röhrchen gegeben. Nach dem Färben der Restleukozyten werden die Proben mittels eines Durchflusszytometers erfasst. Die absolute Restleukozytenzahl wird durch eine einfache Berechnung aus der Anzahl der Beads und dem Probenvolumen ermittelt.

Referenzbereich: EK+TK+GFP Apherese: $<1*10^6$/Einheit, GFP Vollblut $<0,1*10^9$/l

Spezielle Hinweise: Frische und bis zu 24 Std. alte Proben können bis zu 24 Stunden nach dem Färben gemessen werden. Proben die 48 Stunden lang gelagert und dann gefärbt wurden, sind noch 60 Minuten lang stabil.

4.2.3 freies Hämoglobin

Erythrozytenkonzentrate

Indikation: Qualitätskontrolle von Blutprodukten
Bestimmungsmethode: photometrisch

Referenzbereich Qualitätskontrolle: Hämolyserate < 0,8 %

Spezielle Hinweise: Berechnung Hämolyserate siehe AA-CT-L-006

Referenzbereich Patienten: ≤ 69 mg/dl

Verfügbarkeit Ergebnis: In der Regel innerhalb von max. 1 Woche

4.2.4 pH Messung

Indikation: Überprüfung des Säure-Basen-Haushaltes

Bestimmungsmethode: Eine mit Kaliumchloridlösung gefüllte Glasmembrankugel wird in die zu messende Flüssigkeit eingetaucht. Durch die Tendenz der Wasserstoffionen, sich in dünner Schicht an der Glasoberfläche anzulagern, baut sich eine galvanische Spannung im Inneren der Kugel auf. Es entsteht eine galvanische Zelle, deren elektromotorische Kraft relativ zu einer von den Wasserstoffionen unabhängigen Bezugselektrode gemessen wird.

Referenzbereich: 6,4 – 7,5

Spezielle Hinweise: Befindet sich zu wenig KCL Lösung in der Elektrode können falsche Werte ermittelt werden. Verklebung der Glasmembrane durch Eiweißablagerungen.

Verfügbarkeit Ergebnis: In der Regel am gleichen Tag

4.3 Zulassung von Blutprodukten

4.3.1 Citronensäure, Citratgehalt

Thrombozytenkonzentrate im Rahmen der Zulassung

Indikation: Überprüfung der Citratmenge im Thrombozytenkonzentrat

Bestimmungsmethode: Citronensäure (Citrat) wird in der durch das Enzym Citrat-Lyase (CL) katalysierten Reaktion in Oxalacetat und Acetat überführt.

(1) Citrat $\xrightarrow{CL}$ Oxalacetat + Acetat

In Gegenwart der Enzyme L-Malat-Dehydrogenase (L-MDH)und L-Lactat-Dehydrogenases (L-LDH) werden Oxalacetat und dessen Decarboxylierungs-Produkt Pyruvat durch reduziertes Nicotinamid-adenin-dinucleotid(NADH) zu L-Malat bzw. L-Lactat reduziert. (2,3)

(2) Oxalacetat + NADH + H^+ $\xrightarrow{L\text{-}MDH}$ L-Malat + NAD^+

(3) Pyruvat + NADH + H^+ $\xrightarrow{L\text{-}LDH}$ L-Lactat + NAD^+

Die Summe der während der Reaktionen (2) und (3) verbrauchten NADH -Mengen ist der Citrat-Menge äquivalent. NADH ist Messgrösse und wird aufgrund seiner Absorption bei 334, 340 oder 365nm bestimmt.

Referenzbereich: entfällt

Spezielle Hinweise: Ist die Extinktionsdifferenz der Probe(ΔE_{Probe}) größer als 1,000 (gemessen bei 340, bzw. Hg 334nm) bzw. 0,500 (gemessen bei Hg 365nm), so ist die Konzentration der Citronensäure in der Probenlösung zu hoch. Die Probelösung ist dann gemäß einer Verdünnungstabelle zu verdünnen.

4.3.2 ATP Messung

Erythrozytenkonzentrat im Rahmen der Zulassung

Indikation: Der ATP Gehalt in Blut und Erythrozytenkonzentrat gibt Auskunft über die Lebensfähigkeit der Erythrozyten.

Bestimmungsmethode: Glucose + ATP $\xrightarrow{HK}$ Glucose-6-phosphat + ADP

Glucose-6-phosphat + NAD^+ $\xrightarrow{G6P\text{-}DH}$ Gluconat-6-P + NADH + H^+

Referenzbereich: entfällt

Spezielle Hinweise: ATP in Proben ist instabil. Der ATP-Gehalt in Heparin- oder EDTA-Blut verringert sich innerhalb von 24h bei 2-8°C um bis zu 80%. Die Lagerung der mit Trichloressigsäure versetzten Probe bei -20°C führt ebenfalls zu falschen Ergebnissen. Mit Trichloressigsäure gefällte Erythrozytenkonzentrate sollen möglichst rasch zum Test eingesetzt werden.

4.3.3 CD 62, CD 63

Thrombozytenkonzentrate im Rahmen der Zulassung

Indikation: Überprüfung der Thrombozyten Aktivierung

Bestimmungsmethode: **CD 62:** Messung der Oberflächendichte von Granulainhaltsstoffen (α-Granula) bei Thrombozyten mittels Antigen-Antikörper-Reaktion am Durchflußzytometer.

CD 63:

Messung der Oberflächendichte von Granulainhaltsstoffen bei Thrombozyten (lysosmale Granula) mittels Antigen- Antikörper-Reaktion am Durchflußzytometer.

Nach Thrombozytenaktivierung und Granula-Ausscheidung erfolgt nach Zugabe eines mit Fluoreszenz beladenen CD 62- bzw. CD63-Antikörpers eine Bindung mit dem

CD 62- bzw. CD63-Antigen. Dieser Komplex wird am Durchflußzytometer gemessen.

Stimulierung mit PMA: Thrombozyten werden durch Zugabe von Phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) zur Aggregation stimuliert. Die Veränderung der aktivierten Plättchenoberfläche kann durchflußzytometrisch auf Expression des Degranulationsmarkers CD 62 P (P-Selektin) charakterisiert werden, sofern eine Degranulaion der α-Granula stattgefunden hat. Eine erhöhte Bindung des monoklonalen Antikörpers gegen CD 62P weist auf eine irreversible Degranulation der Thrombozyten hin.

Referenzbereich: Entfällt

Spezielle Hinweise: Bei Lagerung der Probe steigt der CD 62- und CD 63-Aktivierungsmarker

Probenentnahme soll möglichst schonend geschehen.