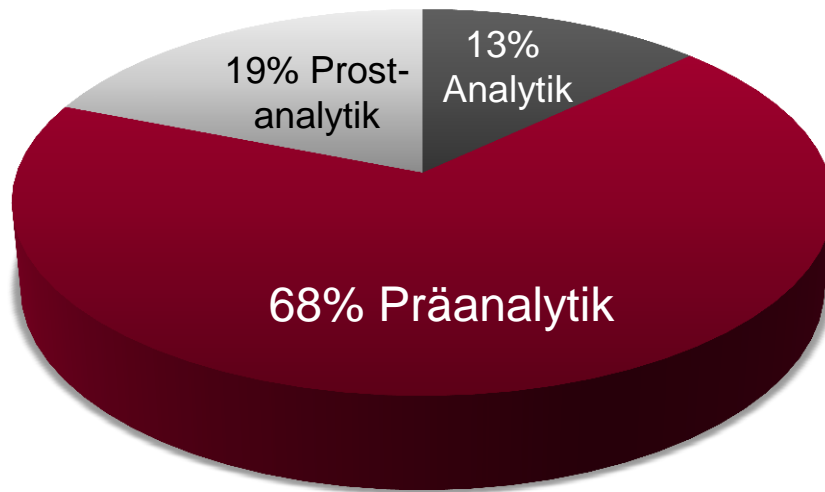


Die Auswirkung präanalytischer Variablen auf Blutproben

Dr. Kathrin Schlüter
Clinical Manager Central Europe
BD Life Sciences, Preanalytical Systems

Die meisten Fehler in der Labordiagnostik geschehen in der präanalytischen Phase



Präanalytische Herausforderungen bei Biobanken

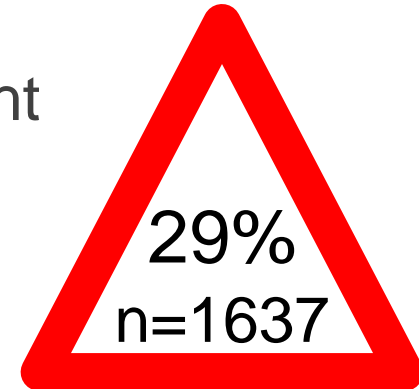


Plebani M, Carraro P. Mistakes in a stat laboratory: types and frequency. Clin Chem 1997;43:1348–51.

Paolo Carraro and Mario Plebani. Errors in a Stat Laboratory: Types and Frequencies 10 Years Later. Clinical Chemistry 53: 1338-1342, 2007.

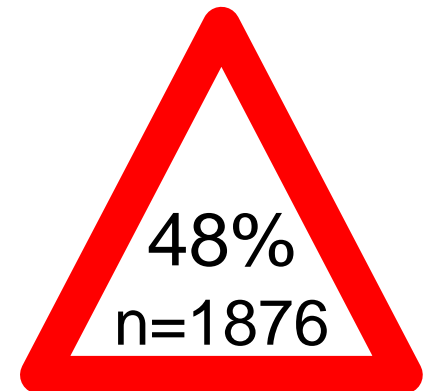
Desinfektion der Punktionsstelle

- Die Punktionsstelle sollte vor der Punktion steril sein (Einwirkzeit) und nicht mehr berührt werden
 - Infektionsrisiko für Probanden
 - Risiko kontaminierter Blutproben
- Das Desinfektionsmittel sollte vor der Punktion getrocknet sein
 - Hämolyse kann entstehen, wenn Desinfektionsmittel in das Röhrchen gelangt
 - Punktion kann schmerzhaft sein



Auswirkungen lang anhaltender Stauung

- Erhöhung von Proteinen, Zellzahlen, Lipiden und weiteren Analyten
- Verkürzung von aPTT (aktivierte partielle Thromboplastinzeit) und Thrombinzeit
- Erhöhung von Kalium um 1 mmol/L (Referenzbereich: 3,6 - 4,8 mmol/L)
- Hämolyse



Entnahmematerial



Sicherheitskanüle

- Nicht empfohlen für bestimmte Blutentnahmeröhrchen, z.B. PAXgene® RNA und BD™ P100



Sicherheitsflügelkanüle

- Empfohlen für bestimmte Blutentnahmeröhrchen
- Totvolumen des Schlauches berücksichtigen (Unterfüllung des ersten Röhrchens)
- Bei schlechten Venenverhältnissen bevorzugt



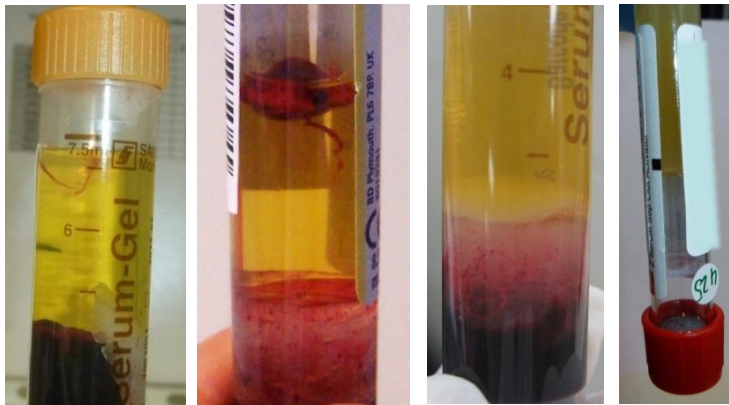
Venenverweilkanüle

- Im Allgemeinen Hauptursache für Hämolyse
- Gefahr der Kontamination mit Infusionsflüssigkeit (oder Blockierlösung)
- Nicht empfohlen für bestimmte Blutentnahmeröhrchen, z.B. PAXgene® RNA und BD™ P100
- Unterscheidung zu arteriellen Zugängen?



Mischen

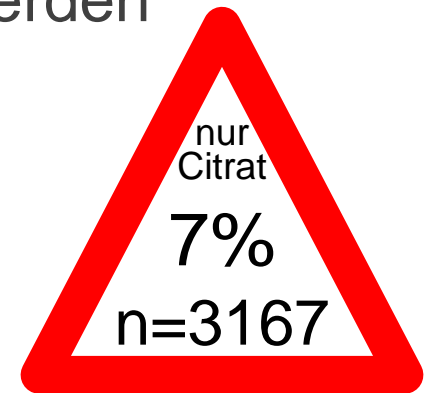
- Alle Blutentnahmeröhrchen aus Kunststoff enthalten Zusätze, die mit dem Blut gemischt werden müssen
- Ungenügendes Mischen führt zu
 - Fibringebilden und Nachgerinnungen in Serumröhrchen
 - Mikrogerinnsel in antikoagulierten Proben
 - Ungenügende Ausbeute an RNA in PAXgene® RNA Röhrchen
 - Schädigung der Instrumente und unzuverlässige Laborergebnisse



63%
n=1933

Unterfüllung

- Alle Blutentnahmeröhrchen aus Kunststoff enthalten Zusätze, die nur in einer optimalen Konzentration im Blut vorliegen, wenn sie korrekt gefüllt werden
- Unterfüllung führt zu
 - falsch verlängerten Gerinnungszeiten in Citratröhrchen
 - morphologischer Veränderung von Zellen im EDTA-Röhrchen
 - verringerter RNA-Ausbeute im PAXgene® Blut RNA Röhrchen



Routine-Blutentnahmeröhrchen für Studien / Biobanken

Serum:

- verschiedene Gerinnungsaktivatoren (z.B. Silikapartikel, Thrombin)
- Gerinnungsprozess verändert Probe (Zellen lysieren, proteolytischer Prozess)
- Gerinnungszeit ist einzuhalten
- Gefahr von Nachgerinnungen
- Gute Stabilität von Routine-Analyten

Heparinplasma:

- Gemisch anionischer Mucopolysaccharide, Li- oder Na-Salz
- bildet Komplex mit Antithrombin III und verstärkt dessen Wirkung
- Kälteaktivierung der Gerinnung möglich
- Keine Beeinträchtigung von Ca^{2+} -abhängigen Prozessen

EDTA-Plasma:

- K_2EDTA oder K_3EDTA
- Komplexierung von Ca^{2+}
- Keine Kälteaktivierung der Gerinnung möglich, Antikoagulation irreversibel
- Kalium nicht messbar

Citratplasma:

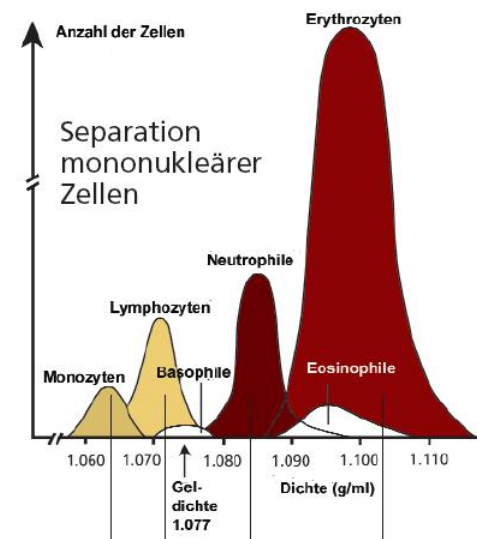
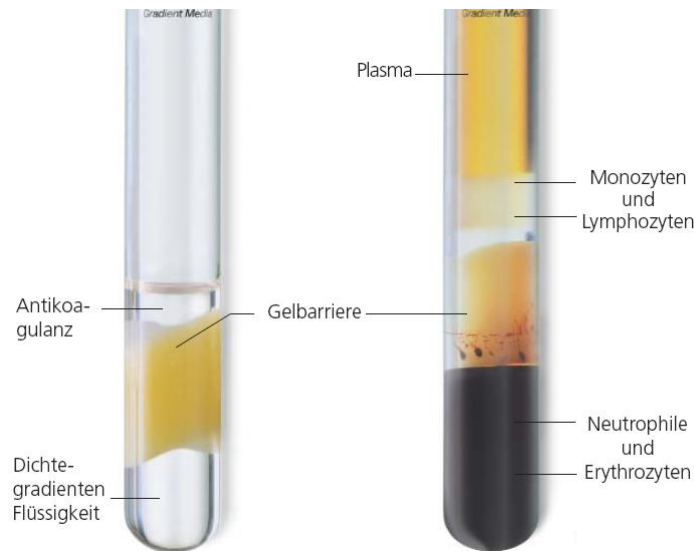
- 3,2% oder 3,8% Citrat (gepuffert), flüssiges Additiv
- Komplexierung von Ca^{2+}
- Verdünnungsfaktor 1:1,11
- Kälteaktivierung der Gerinnung möglich

Gelröhrchen: Gel bildet eine Diffusionsbarriere, die den Stoffaustausch der korpuskulären Anteile mit dem Serum/Plasma verhindert. Neben Adsorption von Analyten wurden verschiedene Einflüsse des Gels auf die Probe beschrieben (z.B. durch restliche Zellen, Störpeaks, etc.)

BD CPT™

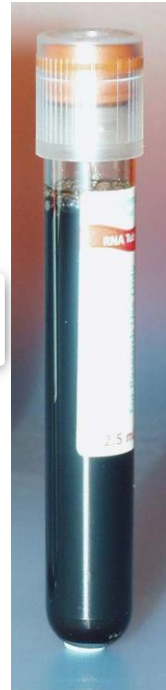
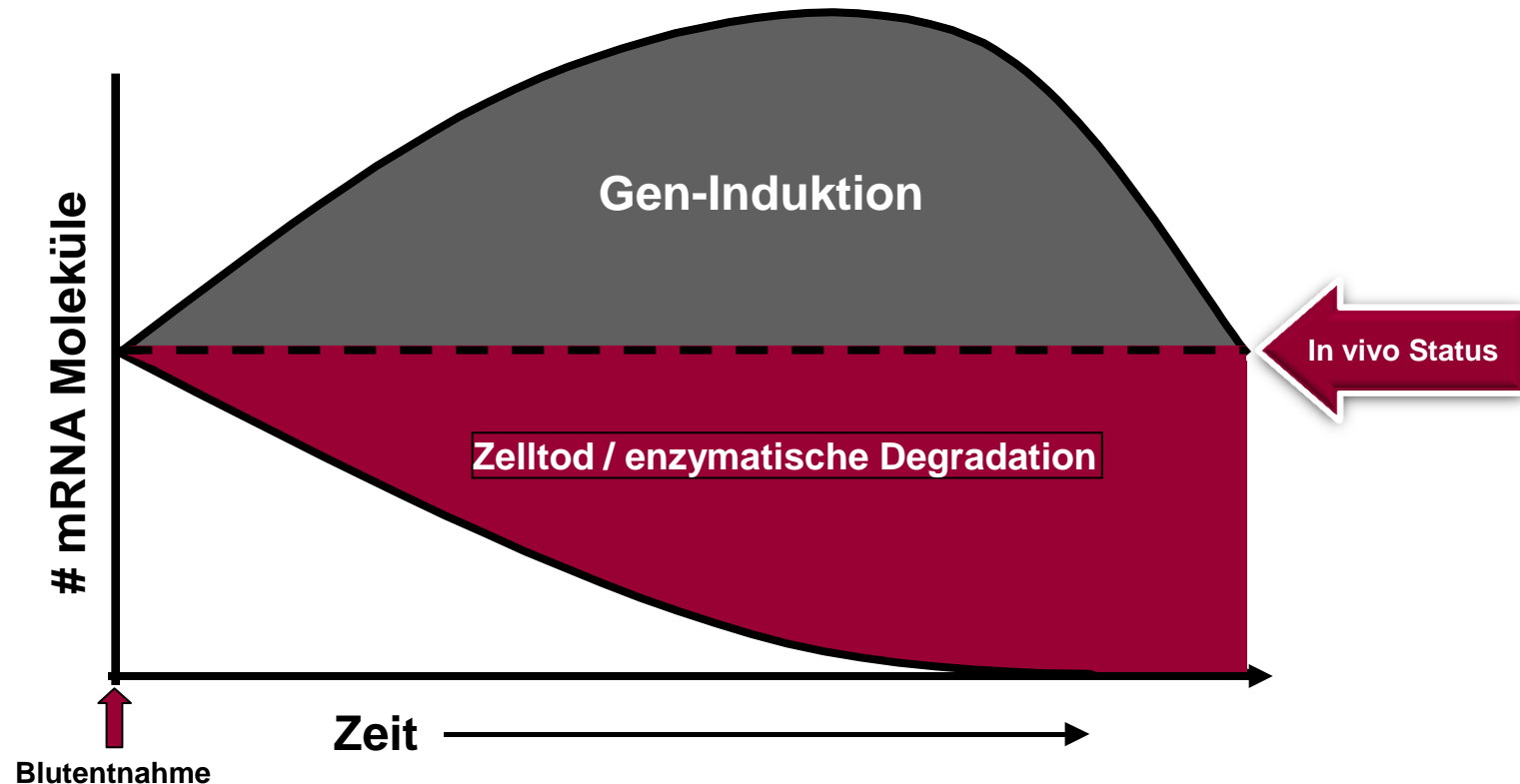
Isolation von Monozyten und Lymphozyten

- Gelröhrchen mit FICOLL® und Citrat oder Na-Heparin
- Ersetzt den manuellen FICOLL®-Gradienten:
 - Blut wird ins BD CPT™-Röhrchen abgenommen und zentrifugiert
 - die stabile Gelbarriere trennt die PBMCs von den restlichen Zellen
- Sehr gute Stabilität der Zellen
 - Die Zellen sind in ihrem natürlichen Medium, Plasma
 - **Stabilität für bis zu 24 Stunden, je nach Anwendung**



PAXgene® RNA

Stabilisierung von zellulärer RNA

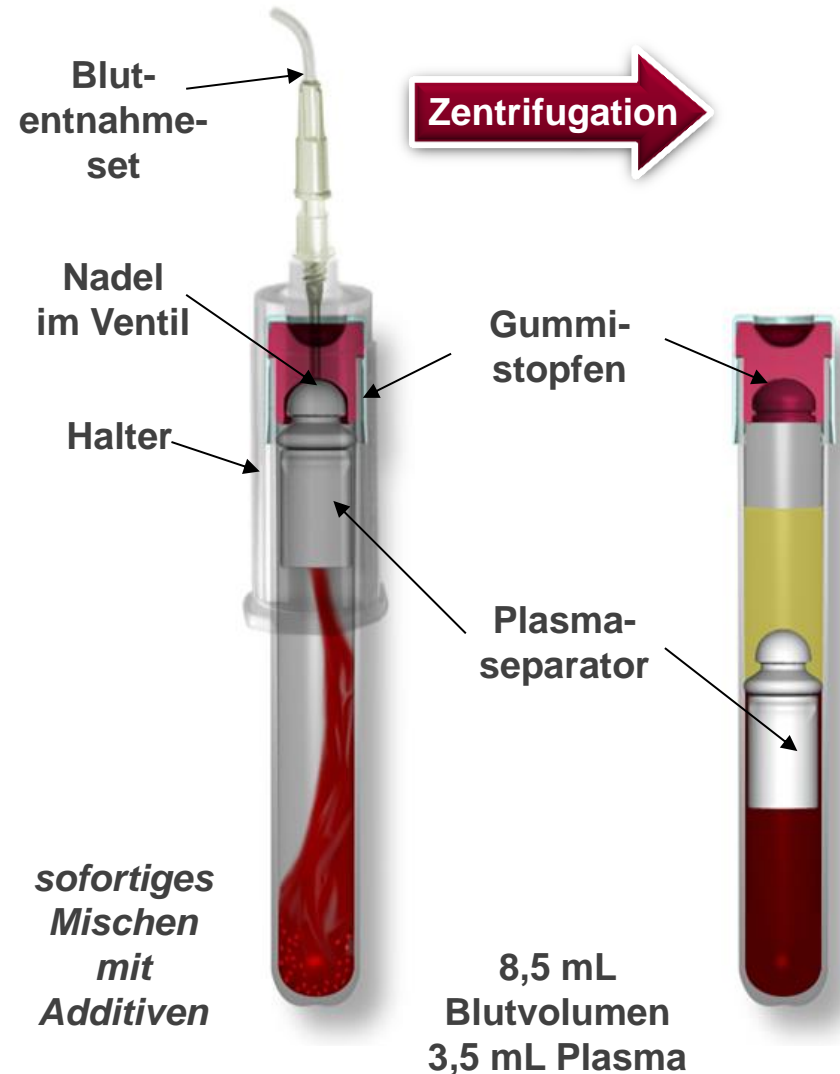


- Stabilität der RNA im PAXgene® Blut RNA Röhrchen:
 - 3 Tage Raumtemperatur
 - 5 Tage bei 2-8 °C
 - 96 Monate bei –20°C und -70°C validiert (Studie läuft)

BD™ P100 für Plasmaproteom-Studien

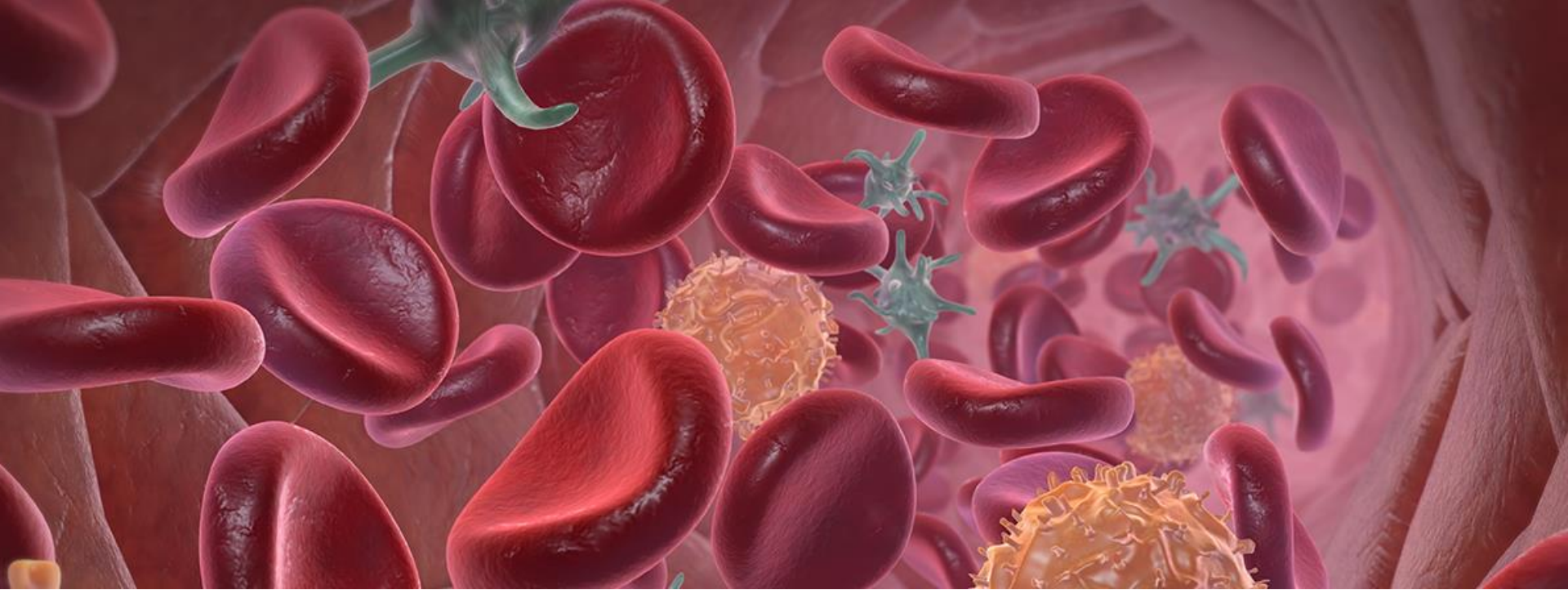


- Proteinstabilisierung im Blutentnahmeröhrchen
- Mechanischer Plasmaseparator, daher weniger zelluläre Kontamination
- Steril & “ready-to-use”
- Kein manuelles Ansetzen oder Rekonstituieren von Proteaseinhibitoren
- Hohe Reproduzierbarkeit
- Hohe Plasma-Qualität
- Neu: 2 mL Röhrchen ohne mechanischen Separator



Fazit - Präanalytik

- Optimales Vorgehen und Realität liegen in der präanalytischen Phase im Krankenhaus weit auseinander
- Präanalytische Fehler haben ein beträchtliches Potential, die Qualität von Biobankproben zu beeinträchtigen
- Das Entnahmematerial ist ein wichtiger Faktor der präanalytischen Phase
- Die Kenntnis und realistische Einschätzung von präanalytischen Einflussfaktoren ist wichtig für das Erstellen von SOPs und die kritische Betrachtung von Studienergebnissen



**Vielen Dank für
Ihre Aufmerksamkeit!**