

Klinische Chemie & Laboratoriumsmedizin

Vorlesung: Präanalytik und Qualitätskontrolle



Dr. rer. nat. Manfred Fobker
 Centrum für Laboratoriumsmedizin
 – Zentrallaboratorium –
 Universitätsklinikum Münster
 Albert-Schweitzer-Strasse 33
 D-48149 Münster
 Tel.: 0251 83-48701
 Fax: 0251 83-47225
 zlab-lehre.uni-muenster.de
 fobker@uni-muenster.de

Sommersemester 2012

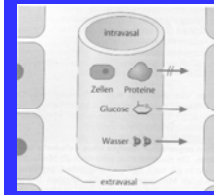
- 1 -

Einflußgrößen/Störfaktoren

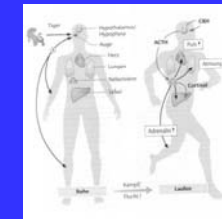
Einflußgrößen ("in vivo")	Störfaktoren ("in vitro")
Körperlage/Stau-Dauer	Nadellumen/Einstechtiefe
Ernährung/Alkohol/Rauchen	Arzneimittel/Infusionen
Zirkadiane Rhythmik	Hämolyse
Körperliche Belastung	Lipämie
Schwangerschaft	Hyperbilirubinämie
Medikamente	
Rasse	Antikoagulantien
Alter	
Geschlecht	
Erbfaktoren	

- 2 -

Körperlage/Stauung



↑ großmolekulare Analyten (Proteine)



↑ Adrenalin, Noradrenalin, Renin, Cortisol

- 3 -

Nahrungsaufnahme



↑ γ-GT, MCV (mittleres Zellvolumen), CDT (Kohlenhydrat- defizientes Transferrin)



↑ Triglyceride, Glucose

- 4 -

Rauchen, Medikamente



↑ CEA (Carcino-embryonales Antigen), CO-Hb, Schwermetalle

↑ Lipobay, i.m. Inj. (CK), γ-GT (Narkose), Harnsäure, Thrombopenie (Zytostatika)

- 5 -

Biorhythmen



Parameter	Maximum	Max. Abweichung
Cortisol	Morgens	50-100 %
Eisen	Variabel	100 %
Somatotropin	Abends	400 %

- 6 -

Alters-/geschlechtsabhängige Einflüsse

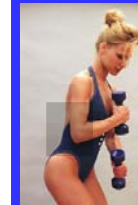


• Bilirubin
 • Alkal. Phosphatase (AP)
 • Immunglobuline

• Hb
 • Hormone

- 7 -

Körperliche Aktivität, Muskelmasse, Körpergewicht



↑ Makromoleküle, Creatinkinase, HDL, LDH

↑ CK, Creatinin, LDH

↑ Cholesterin, TG, Protein, Glucose

- 8 -

Schwangerschaft



↑ • Hormone (HCG, Estriol, AFP)
 • AP (Plazenta-AP)
 • Cholesterin, Triglyceride

↓ • Hämatokrit
 • Eisen, Magnesium
 • Protein

Vergroßerung des Plasmavolumens

- 9 -

Blutentnahme



- Staudruck (ca. 30 mm Hg), < 2 min, kein Pumpen
- gleiche Lageposition in Ruhe (10 min)
- Gleicher Zeitpunkt (ca. 7-9 Uhr)
- 12 Std. Nahrungskarenz
- Vor diagnostischen und therapeutischen Maßnahmen

- 10 -

Störfaktoren



Urin

Serum

- Hämolyse ⇒ Entnahmefehler
- Lipämie ⇒ nicht nüchterner Patient
- Bilirubinämie ⇒ krankheitsbedingt

- 11 -

Fehlbestimmungen bei Hämolyse

Parameter	Vielfaches im Erythrozyten
Kalium	25!
GOT	40
LDH	160
Eisen	550

- Eigenextinktion des Hb
- Störung der chem. Analysenreaktion (Pseudoperoxidase-Aktivität des freien Hämoglobins interferiert mit Bilirubin-Bestimmung, freigesetzte Proteasen beeinträchtigen die Aktivität von Gerinnungsfaktoren, freigesetzte Adenylatkinasen beeinflussen CK und CK-MB-Bestimmung; falsch hohe Werte)

- 12 -

Hämolyse-Ursachen I



- lange Stauung
- starkes Aspirieren
- langes Stehen des Vollblutes
- starkes Abkühlen oder Erwärmen
- starkes Zentrifugieren
- kleines Nadellumen

- 13 -

Hämolyse-Ursachen II

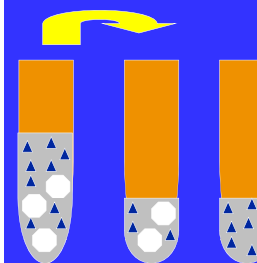
Wie kann man eine in-vivo-Hämolyse von einer in-vitro-Hämolyse unterscheiden ?

In-vivo-Hämolyse: Abfall von Haptoglobin/Hämopexin
 Anstieg des indirekten Bilirubins
 Erhöhung der Retikulozytenzahl

In-vitro-Hämolyse: falsch-pathologische Erhöhung von Kalium, LDH, freiem Hb

- 14 -

„Pseudothrombocytose“ bei Lipämie



Das durch Lipide/Lipoproteine eingenommene Volumen wird bei der Berechnung der Analytkonzentration mit berücksichtigt:

Verminderung von Analytkonzentrationen bei massiver Lipämie (z.B. Pseudothrombocytose)

- 15 -

Warum kann es bei ikterischen Proben zu fehlerhaften Laborbefunden kommen?

Bilirubin hat eine starke Absorptionsfähigkeit für Licht, photometrische Bestimmungsverfahren können dadurch beeinträchtigt werden (z.B. Gerinnungsanalysen).

Enzymatische Tests, die auf Oxidase/Peroxidase-Reaktionen basieren, liefern bei Ikterus (Bilirubin > 25 µmol/l) falsch niedrige Ergebnisse

Betroffen sind u.a. Methoden zur Bestimmung von Glucose, Cholesterin, Triglyceriden, Harnstoff und Kreatinin

- 16 -

Centrum für Laboratoriumsmedizin
- Zentrallaboratorium -
Leiter: Dr. med. B. Schlüter

Handhabung S-Monovette® Serum/Serum-Gel
Die S-Monovette Serum und Serum-Gel werden während der Gerinnungsphase (bis ca. 30 min. nach der Blutentnahme) schief gehalten, sodass die in einem nach Zentrifugation nicht zu einem sauberen Trennschnitt, sondern zu einer „Abwärtsschiebung“ kommt.

Barcode-Etikettierung

SARSTEDT-Blutentnahmesystem - S-Monovette®

EDTA K

Citrat F 100

Plasma

UKM

Hämostaseologie I

Was passiert bei ...

- zu langer Venenstauung
- zu intensiver Venenstauung
- Verwendung kleinlumiger Kanülen?

Frühzeitige Aktivierung von Gerinnungsfaktoren mit Teilgerinnung des Probenmaterials

In-vitro-Verbrauch von Fibrinogen, Gerinnungsfaktoren und Thrombozyten

Laborbefund täuscht das Bild einer Verbrauchskoagulopathie vor!

- 18 -

Hämostaseologie II

Welchen Einfluss hat ein Hämatokrit von > 60% auf die Gerinnungszeiten?

Bei einem Hämatokrit von > 60% verlängern sich die Gerinnungszeiten!

Warum?

Hohe Zellzahl → Verminderung des Plasmakompartiments

→ **Überschuss an Zitrat im Probenröhrchen!**

- 19 -

Serumeiweißelektrophorese

Warum darf für die Serumeiweißelektrophorese kein Plasma genommen werden?

Plasma

Serum bei monoklonaler Gammopathie

- 20 -

EDTA-Plasma vs. Serum

	EDTA-Plasma	Serum
Kalium	15 mmol/L	4 mmol/L
Calcium	< 0.02 mmol/L	2 mmol/L
Alk. Phosphat.	3 U/L	140 U/L

- 21 -

Gefahrgutverordnung

00993693

bioscientia - SAFETY - BAG

Gefahrgutverordnung Straße und Eisenbahn (GGVSE) seit 1.6.2001

- 22 -

Lagerung

- Klinische Chemie 1 Woche
- Hämatologie 24 Stunden
- Gerinnung 8 Stunden

Serum zu alt!

- ↑ Kalium, GOT, LDH
- ↑ Lactat, Ammoniak
- ↓ Glucose

- 23 -

Fehlertyp	zufällige Fehler	systematische Fehler	grobe Fehler
Präzision	optimal	schlecht	gut
Richtigkeit	optimal	gut	schlecht

interne Qualitätskontrolle: Kontrolle der Präzision (zufällige Fehler, Reproduzierbarkeit, Drift)

externe QK: Ringversuche (Richtigkeitskontrollen)

Kontrolle der Richtigkeit (systematische Fehler, Übereinstimmung mit Zielwert)

Akkreditierung (Prozessbeurteilung im Labor)

Splittingkontrolle

- 24 -

BUNDESÄRZTEKAMMER

Bekanntmachungen

Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen

Veröffentlicht im Deutschen Ärzteblatt 15. Februar 2008

TABELLE B 1 a (Fortsetzung)

1. Nr.	2. Analyt	3. Zulassene relative Abweichung des Einzelwertes bzw. des relativen quadratischen Mittelwertes	4. Gültigkeitsbereich der Spalten 3 und 5	5. Zulassene relative Abweichung beim Ringversuch	6. Verfahren
50	Progesteron	17,0 %	> 5,0 > 16	35 111	µg/l nmol/l
		22,0 %	0,2 0,6	≤ 5,0 ≤ 16	µg/l nmol/l
51	Prozentspezifisches Antigen (PSA)	15,5 %	0,2	50	µg/l

- 25 -

Rili-BÄK Teil A

Grundlegende Anforderungen an die Qualitätssicherung

- Erstellung eines Qualitätsmanagementhandbuchs
- Beschreibung des Labors, Rechtsstatus, Aufgaben
- Leitung, Verantwortlichkeiten, Qualifikation, Gesundheitsschutz
- Mitarbeiter
- Ablauf im Labor: Beschwerdemanagement

Feststellung von Fehler, Korrekturmaßnahmen vorbeugende Maßnahmen (Schulungen)

Wartungen, Standardarbeitsanweisungen (SOP)

interne Audits ...

- 26 -

Externe Qualitätskontrolle (Ringversuche)

Instand e.V. Ringversuche

Ringversuch Mai/Juni 1998

Ergebnisausdruck

5303. Prof. Dr. med. G. Assmann Inst. f. Klin. Chemie

Einzelaktionen (144)	Probe	Ubr	Zielwert	Beurteilung	Abw. (µ)
Gesamt Protein g/dl	IRM	21 5,50	5,77	5,25 - 6,29	2 +
Albumin (g/dl) Prozent	2OL	21 61,4	64,4	59,0 - 70,8	-2 +
A2-Globulin - Prozent	2OL	22 94,8	95,4	88,4 - 100,0	-1
A3-Globulin - Prozent	2OL	21 3,20	3,10	1,98 - 4,22	1 +
B-Globulin - Prozent	2OL	21 9,30	8,97	6,27 - 11,7	4 +
Gamma-Globulin - Prozent	2OL	22 8,40	8,48	5,87 - 11,0	0
B-Globulin - Prozent	2OL	21 13,3	13,1	1,77 - 18,5	2 +
Gamma-Globulin - Prozent	2OL	22 10,9	10,6	7,43 - 13,8	1
		21 12,3	12,8	9,72 - 15,9	-0 +
		22 12,4	12,7	9,65 - 15,8	-2

Kontrollproben (2 Konzentrationen) werden nach Anmeldung von der Ringversuchsleitung verschickt. Teilnahme einmal pro Quartal ist Pflicht. Wird kein Zertifikat erteilt, muß die Ursache geklärt, beseitigt und dokumentiert werden.

- 27 -

Hämatologie I

Warum führen Aggregatbildungen zu falschen Laborergebnissen?

Automatische Blutbildgeräte erkennen Aggregate nicht

→ **Falsch-niedrige Thrombozytenzahlen**

→ **Falsch-hohe Leukozytenzahlen (bei Aggregaten in entsprechender Größe)**

- 28 -

Hämatologie II

Wie kommt es zu einer EDTA-induzierten Thrombozytopenie?

Ursache meist IgG-Antikörper, die Epitope auf der Thrombozytenmembran erkennen, die nach Kalziumbindung durch EDTA exponiert werden.

Wie kann man sich die Entstehung eines Satelliten-Phänomens erklären?

Auto-Antikörper, die Epitope auf der Thrombozyten- und Neutrophilenmembran erkennen.

- 29 -

Hämatologie III

Wie lassen sich Aggregationsphänomene erkennen?

Aggregatbildung ist zeit- und temperaturabhängig; Patienten zeigen bei wiederholter Messung große Variabilität in der Thrombozytenanzahl.

Aggregatbildung ist im gefärbten Blutaussstrich zu erkennen.

Verbesserung der Problematik ggfs. Durch Verwendung alternativer Antikoagulantien (Citrat, Oxalat, Heparin; wirkt nicht in allen Fällen!)

- 30 -

Hämatologie IV

Was passiert, wenn in einer Probe hochtitrig Kälteautoantikörper enthalten sind?

Nach Probennahme und Abkühlung: Agglutination der Erythrozyten in der Probe

Woran erkennt man eine solche Situation im Blutbildautomaten?

- Falsch-niedrige Erythrozyten bei normalem Hämoglobin!
- Stark erhöhte MCV-Werte
- Zu niedrige Hämatokrit-Werte
- Nicht plausibel hohe MCH- und MCHC-Werte
- Leukozyten- und Thrombozytenmessungen ggfs. falsch hoch

Abhilfe: Warmtransport oder Abnahme im Labor

- 31 -

Klinische Chemie

Wie kann man sich erklären, dass Serumenzyme konstant erhöht gefunden werden ohne ein klinisches Korrelat?

Mögliche Erklärung: Auftreten von Makroenzymen

Was sind Makroenzyme?

Zwei Sorten Makroenzyme bekannt: Makroenzyme Typ 1 und Typ 2

Makroenzyme Typ 1: Großmolekulare Enzym-Immunglobulin-Komplexe Stabilisierung der Enzymaktivität und verzögerte Elimination aus dem Blut

Makroenzyme Typ 2: Makroenzyme infolge von Selbstpolymerisation oder Anlagerung an Membran- bzw. Serumkomponenten

- 32 -