	<b>Standardarbeitsvorschrift SAV</b>	Datei Version DL_AV_018_02
	<b>Handbuch Primärprobengewinnung</b>	Gültig ab: <b>21.10.2008</b> Seite: 1 von 7

## *Handbuch für die Primärprobengewinnung*


**Zielsetzung:** Anweisungen für die Gewinnung und Handhabung von Primärproben humanen Ursprungs zur Untersuchung im Diagnostischen Labor

**Anlagen:** keine

Versionen	Versions-Nr.	Datum	Seitenzahl
	1	01.11.07	7
	2	21.10.08	7

**REVISION  
16.02.2011**

	<b>erstellt:</b>	<b>geprüft:</b>	<b>freigegeben:</b>
Name	M.König	D.Chauvet	M.König
Funktion	TA	TÄ	QMB
Datum			
Unterschrift			

	<b>Standardarbeitsvorschrift SAV</b>	Datei Version	DL_AV_018_02
	<b>Handbuch Primärprobengewinnung</b>	Gültig ab:	<b>21.10.2008</b>
		Seite:	2 von 7

## Inhaltsverzeichnis

1	Änderungshinweise .....	2
2	Anwendungsgebiete .....	3
3	Geltungsbereich.....	3
3.1	Untersuchungsspektrum (Humanproben).....	3
4	Begriffsbestimmungen .....	3
5	Allgemeine Anforderungen .....	3
6	Angeschlossene Arbeitsvorschriften.....	3
7	Referenzen .....	3
8	Verfahrensvorschrift.....	4
8.1	Patientenvorbereitung.....	4
8.2	Probenentnahme .....	4
8.2.1	Blutentnahme.....	4
8.2.2	Liquorpunktion .....	4
8.3	Untersuchungsmaterial .....	4
8.3.1	Serum .....	4
8.3.2	Vollblut .....	5
8.3.3	Plasma .....	5
8.3.4	Liquor .....	5
8.4	Störfaktoren bei der Analyse .....	5
8.4.1	Toxizität (insbesondere Serumproben).....	5
8.5	Probenidentifikation .....	5
8.6	Probenversand .....	6
8.6.1	Probenasservierung im Labor.....	7
8.7	Dokumentation.....	7

## 1 Änderungshinweise

### Änderung:


Neuformatierung

Übernahme der Regelungen der ADR (2007)

Änderungen sind unterstrichen

### Abschnitt:

8.6

	<b>Standardarbeitsvorschrift SAV</b>	Datei Version	DL_AV_018_02
	<b>Handbuch Primärprobengewinnung</b>	Gültig ab:	<b>21.10.2008</b>
		Seite:	3 von 7

## 2 Anwendungsgebiete

Im Diagnostischen Labor werden Proben humanen Ursprungs untersucht. Die richtige Entnahme und Handhabung der Primärproben ist Gegenstand des Handbuchs Primärprobengewinnung. Das Handbuch bzw. Auszüge aus dem Handbuch werden Personen außerhalb des Laboratoriums, die für die Probengewinnung verantwortlich sind, zur Verfügung gestellt.

## 3 Geltungsbereich

Die AV gilt für alle Proben humanen Ursprungs (Serum, Plasma, Liquor cerebrospinalis), die zur Untersuchung an das DL gesandt werden.

### 3.1 Untersuchungsspektrum (Humanproben)

- Nachweis von Antikörpern gegen Tollwutvirus (Serum, Plasma; mindestens 0,5ml)
- Nachweis von Antikörpern gegen das Virus der Borna'schen Krankheit (Serum, Liquor; mindestens 0,5ml)

## 4 Begriffsbestimmungen

Serum	Nach Gerinnung von Fibrin und Abtrennung der zellulären Blutbestandteile entstehender flüssiger Anteil des Blutes (Plasma ohne Fibrin)
Plasma	Flüssiger, zellfreier Anteil des Blutes
Liquor	Liquor cerebrospinalis wird als Ultrafiltrat in den Plexus choroidaei der Hirnventrikel gebildet und fließt von dort in die basalen Zisternen und nachfolgend in den Lumbalsack (absteigend) bzw. entlang des Cortex (aufsteigend). Das mittlere Volumen beträgt beim Erwachsenen 140ml bei einer täglichen Produktion von etwa 500ml.

## 5 Allgemeine Anforderungen

Die Grundlage jeder guten Analytik ist die professionelle präanalytische Phase. Hierzu gehört, dass der Patient entsprechend vorbereitet ist, die Materialentnahme sachgerecht durchgeführt wird und die Proben danach für Lagerung und Transport stabilisiert sind.


Das Probenmaterial für die serologische Untersuchung sollte grundsätzlich steril entnommen und umgehend an das DL versandt werden.

## 6 Angeschlossene Arbeitsvorschriften

DL\_VA\_017 Auftragsprüfung und Handhabung von Proben

## 7 Referenzen

Rick. W. (1990). "Klinische Chemie und Mikroskopie" 6. Auflage, Springer, Berlin/Heidelberg.

 Diagnostisches Labor Institut für Virologie	<b>Standardarbeitsvorschrift SAV</b>	Datei Version DL_AV_018_02
	<b>Handbuch Primärprobengewinnung</b>	Gültig ab: <b>21.10.2008</b> Seite: 4 von 7

Europäisches Übereinkommen vom 30. September 1957 über die internationale Beförderung gefährlicher Güter auf der Straße (ADR); Anlagen A und B, in der Fassung der 18. ADR-Änderungsverordnung vom 8. September 2006 (BGBl II, Nr. 826).

## 8 Verfahrensvorschrift

### 8.1 Patientenvorbereitung

Die Vorbereitung des Patienten beeinflusst die Untersuchungsergebnisse. Es empfiehlt sich, dass Patienten 10 bis 12 Stunden vor einer Probennahme nüchtern bleiben. Daher ist eine Blutentnahme morgens zwischen 7 und 9 Uhr sinnvoll. Unmittelbar vor der Blutentnahme sollte der Patient keine körperlichen Anstrengungen vollbracht haben (mind. 10 Minuten ruhig sitzen oder liegen) und die Entnahme sollte in Ruhe und zügig durchgeführt werden.

### 8.2 Probenentnahme

#### 8.2.1 Blutentnahme

Zur Vermeidung einer Hämolyse darf die Vene vor der Punktion nur kurz gestaut werden (max. 30 Sek.). Um sterile Proben zu gewinnen, sollte ein geschlossenes Blutentnahmesystem eingesetzt werden. Ein starker Unterdruck in der Spritze ist zu vermeiden, um die Erythrozyten nicht zum Platzen zu bringen. Ebenfalls sollten keine zu feinen Kanülen verwendet werden (beim Erwachsenen > Nr. 12). Die zur Blutentnahme benutzten Kanülen müssen umgehend entsorgt werden (Verletzungs- und Infektionsgefahr). Aus dauerhaften venösen oder arteriellen Zugängen soll kein Blut entnommen werden. Bei der Entnahme aus der Armvene nicht Klopfen und nicht Pumpen (ballen bzw. öffnen und schließen der Faust). Für die Gewinnung von Plasma Röhrchen mit Gerinnungshemmer bis zur Markierung füllen und durch Schwenken vorsichtig durchmischen.

#### 8.2.2 Liquorpunktion


Liquorentnahme muss unter streng aseptischen Kautelen erfolgen. Arzt und Assistenzpersonal sollten zur Vermeidung einer Tröpfcheninfektion eine OP-Schutzmaske tragen. Die Punktionsstelle muss sorgfältig desinfiziert werden. Die Liquorpunktion erfolgt nach Lokalanästhesie an der lumbalen Einstichstelle, i.d.R. zwischen dem 4. und 5. Lendenwirbel. Nach Punktion mit einer Liquorkanüle wird die diagnostisch übliche Menge (> 10ml) an Liquor entnommen.

### 8.3 Untersuchungsmaterial

#### 8.3.1 Serum

Für Antikörperbestimmungen sollte möglichst Blutserum eingesandt werden. Für die entsprechende Untersuchung wird jeweils 0,5ml Serum benötigt.

Die Zeit bis zum Eintritt der Gerinnung kann von Patient zu Patient variieren (30-60 Min.) Zur Serumgewinnung sollte das Blut bis zur vollständigen Gerinnung in einem Gefäß ohne Gerinnungshemmer bei Raumtemperatur stehen bleiben. Durch Gerinnungshilfen (z.B. Röhrchen mit Kügelchen) kann der Vorgang beschleunigt werden. Anschließend soll die Probe ca. 10 - 15 Minuten bei etwa 1000 x g zentrifugiert und das Serum vorsichtig abpipettiert werden. Die Serumausbeute beträgt etwa ein Drittel des Vollblutvolumens. Serum zum Nachweis antiviraler Antikörper ist bei richtiger Lagerung relativ stabil. Es kann kurzfristig (1-3 Tage) bei 4-8°C und

	<b>Standardarbeitsvorschrift SAV</b>	Datei Version DL_AV_018_02
	<b>Handbuch Primärprobengewinnung</b>	Gültig ab: <b>21.10.2008</b> Seite: 5 von 7

längerfristig bei -20°C aufbewahrt werden. Wichtig sind die Sterilität der Probe sowie die vollständige Abtrennung der zellulären Blutbestandteile.

### 8.3.2 Vollblut

Vollblut ohne Gerinnungshemmer sollte nicht eingesandt werden, da es unweigerlich zur Hämolyse kommt. Stark hämolytische Serumproben zeigen beim Einsatz in Untersuchungsverfahren, die mit Indikatorzellen arbeiten, häufig Toxizität (s.u.).

### 8.3.3 Plasma

Plasma eignet sich in Ausnahmefällen zur Bestimmung des Antikörpertiters im Serumneutralisationstest, wenn keine Serumprobe zur Verfügung steht. Für die entsprechende Untersuchung wird jeweils 0,5ml Plasma benötigt.

Plasma wird aus gerinnungsgehemmtem Vollblut gewonnen. Als Gerinnungshemmer eignen sich Heparin oder EDTA. Das Plasma kann sofort nach der Entnahme durch Zentrifugieren gewonnen werden (ca. 10 Min. bei 1000 x g). Es kann kurzfristig (1-3 Tage) bei 4-8°C und längerfristig bei -20°C aufbewahrt werden. Wichtig sind die Sterilität der Probe sowie die vollständige Abtrennung der zellulären Blutbestandteile.

### 8.3.4 Liquor

Entsprechend dem Entstehungsort und der Richtung des Liquorflusses ist "Lumbal"-Liquor nicht für alle Hirnbereiche repräsentativ. Zu den mittels Liquor-Diagnostik zugänglichen Hirnarealen zählen insbesondere die Hemisphären, Stammganglien, subpontine Teile des ZNS, Kleinhirn und basale Rinde.

Bei der Liquorentnahme muss sichergestellt werden, dass sich keine Blutbeimengungen in der Probe befinden. Selbst geringe Mengen von Blut oder Blutbestandteilen können das Ergebnis der Liquoruntersuchung verfälschen.

Liquor muss in nativer Form grundsätzlich so schnell wie möglich in das Labor transportiert werden. Für die serologische Untersuchung sollte der Liquor bei 4 – 8°C transportiert bzw. gelagert werden. Liquorzellen können durch Zentrifugation bei 200g für 10Min (4-8°C) pelletiert werden. Der Überstand wird steril abgenommen und in ein frisches Röhrchen überführt.

## 8.4 Störfaktoren bei der Analyse


### 8.4.1 Toxizität (insbesondere Serumproben)

Bei Untersuchungsverfahren, die mit Indikatorzellen arbeiten (z.B. FAVN-Test u.a.), kann es als Folge toxischer Einflüsse des Probenmaterials zum Absterben der Zellen kommen. Solche Tests sind u.U. nicht auswertbar. Die Ursachen für die Toxizität können vielfältig sein. Mögliche Störfaktoren sind starke Hämolyse, Lipämie, Ikterus sowie Medikamente. Daher wird empfohlen, dass Patienten vor der Probenentnahme für 10 bis 12 Stunden nüchtern bleiben sollen. Sofern nicht krankheitsbedingt erforderlich sollte der Patient vor der Probennahme keine pharmakologisch wirksamen Substanzen einnehmen.

## 8.5 Probenidentifikation

Zu jeder Probe wird ein Untersuchungsantrag benötigt (Untersuchungsvordruck human, bereitgestellt u.a. auf der Homepage des DL), der folgende Angaben enthalten muss:

- Probennehmer bzw Einsender (Name, Anschrift)

	<b>Standardarbeitsvorschrift SAV</b>	Datei Version: DL_AV_018_02
	<b>Handbuch Primärprobengewinnung</b>	Gültig ab: <b>21.10.2008</b> Seite: 6 von 7

- Patient (ID-Nummer oder Name, Geschlecht, Geburtsdatum)
- Probenmaterial und -menge
- Probenentnahmedatum
- Vorbericht bzw. Grund der Einsendung
- die gewünschte(n) Untersuchung(en)

Das Probengefäß muss in der Art gekennzeichnet sein, dass eine Zuordnung der einzelnen Probe zum entsprechenden Patienten über den Untersuchungsantrag möglich ist (Bsp.: ID-Nummer oder Name). Nicht eindeutig gekennzeichnete Proben können vom Diagnostischen Labor erst nach Bestätigung der Probenidentität durch den Probennehmer bearbeitet werden.

## 8.6 Probenversand

Das Probenmaterial sollte möglichst umgehend an das Diagnostische Labor gesandt werden. Bis zum Versand sollte es gekühlt bei 4-8°C aufbewahrt werden (Serum 1-4 Tage) oder bei längerer Lagerung bei -20°C eingefroren werden. Eine Kühlung während des Transports (regulärer Postversand oder Kurierdienst innerhalb Deutschlands) ist nicht notwendig.

### Verpackung laut Gefahrgutverordnung:

Die Gefahrgutverordnung Straße und Eisenbahn (GGVSE) regelt die Beförderung von ansteckungsgefährlichen Stoffen (Stoffe, von denen bekannt oder anzunehmen ist, dass sie Krankheitserreger enthalten oder gefährlich für Menschen und Tiere sind) sowie klinischen Abfällen und **diagnostischen Proben**. Proben von denen bekannt ist (oder mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit anzunehmen ist), dass sie Krankheitserreger enthalten werden als Ansteckungsgefährliche (infektiöse) Stoffe der UN-Gefahrgutklasse 6.2 eingestuft. Krankheitserreger sind definiert als „Mikroorganismen (insbesondere Bakterien, Viren, Rickettsien, Parasiten und Pilze) sowie andere Erreger wie Prionen, die bei Menschen oder Tieren Krankheiten hervorrufen können“. Nach dem Gefährdungspotential der enthaltenen Mikroorganismen werden die Proben in zwei Transportkategorien eingeteilt:

- Kategorie A: Erreger von als „lebensbedrohend oder tödlich“ charakterisierten Infektionskrankheiten wie Pocken oder virale hämorrhagische Fieber
- Kategorie B: Alle übrigen von der Definition der Kategorie A nicht erfassten Krankheitserreger (d.h. im wesentlichen pathogene Mikroorganismen der Risikogruppen 2 und 3)


### Freigestellte medizinische Proben:

Patientenproben, bei denen nur „eine minimale Wahrscheinlichkeit besteht, dass sie Krankheitserreger enthalten“ fallen eigentlich gar nicht unter das Gefahrgutrecht. Dies ist von dem die Probe entnehmenden Arzt „auf der Grundlage der bekannten Anamnese, Symptome und individuellen Gegebenheiten des betreffenden Patienten“ einzuschätzen, wobei auch „lokale endemische Bedingungen“ zu berücksichtigen sind. Eine entsprechende Regelung gilt für „Freigestellte veterinärmedizinische Proben“ von Tieren nach Beurteilung durch den betreffenden Tierarzt. Infolge der Freistellung von den Gefahrgutbestimmungen werden die Proben auch keiner UN-Nummer zugeordnet.

### Verpackungsregeln:

(nach UN Nr. 3373 und Verpackungsanweisung P 650)

- genügend widerstandsfähig, dass Stöße / Belastungen bei einer normalen Beförderung zu keiner Beschädigung / keinem Austritt des Inhalts führen können

	<b>Standardarbeitsvorschrift SAV</b>	Datei Version: DL_AV_018_02
	<b>Handbuch Primärprobengewinnung</b>	Gültig ab: <b>21.10.2008</b> Seite: 7 von 7

- es ist ein Probengefäß und zusätzlich ein Versandgefäß erforderlich
- das Versandstück (Proben- plus Versandgefäß) muss einer Fallprüfung genügen
- Kennzeichnung des Umschlags: „Biologischer Stoff, Kategorie B“

#### **Flüssige Stoffe:**

- das Probengefäß muss dicht sein und darf eine maximale Füllmenge von 500 ml/mg aufweisen
- das Versandgefäß (Umverpackung) muss ebenfalls dicht sein und ein absorbierendes Material aufweisen, welches bei flüssigen Proben in der Lage ist die gesamte Probenmenge zu absorbieren
- Außenverpackung: max. 4 l

#### **Wer ist im Falle einer ausgelaufenen Probe verantwortlich?**

Der Absender ist für sein Transportgut verantwortlich (d.h. Regresspflicht für den Absender bei Schäden / Kosten durch nicht ordnungsgemäß verpackte Proben). Aus diesem Grund ist es empfehlenswert die Vorgaben der Gefahrgutverordnung einzuhalten, da die Probe auf diese Art sicher verpackt ist.

#### **8.6.1 Probenasservierung im Labor**

Rückhaltemuster von dem eingesandten Probenmaterial werden vom Diagnostischen Labor mindestens 6 Monate aufbewahrt. Innerhalb dieses Zeitraumes können jederzeit Untersuchungen aus dem vorliegenden Material schriftlich vom Einsender nachgefordert werden, wenn genug Probenmaterial für eine weitere Untersuchung vorhanden ist und das Material für die gewünschte Untersuchung geeignet ist.

#### **8.7 Dokumentation**

nicht belegt