

Die Präanalytik – warum sie so wichtig für Ihren Diagnostikerfolg ist

Wo wären wir diagnostisch ohne Labortests? Ob Blutbild, Erregernachweis oder Pathologie – erfolgreiche Diagnostik ohne Laboruntersuchungen ist kaum denkbar.

Oft wird dabei nicht beachtet, wie wichtig es ist, was mit der Probe passiert, bevor sie im Labor ankommt. Wir möchten das Bestmögliche aus Ihren Proben machen. Helfen Sie uns dabei!

GRUNDSÄTZLICHES

Ein Vorbericht hilft uns, Ihnen zu helfen.

Insbesondere bei Blutausstrich, Zytologie, Histo-pathologie und kulturellem Erregernachweis kommt es sehr auf die Fragestellung an. Je mehr wir über den Patienten und das Problem wissen, desto gezielter können wir nach konkreten Veränderungen suchen und die Befunde für Sie interpretieren.



Falsch aufgeklebte Barcodes



Richtig aufgeklebter Barcode

Bildquelle: Laboklin

Korrekte Laborwerte erhält man aus dem korrekten Material.

Wird ein Parameter aus dem falschen Material bestimmt, kann er für die Diagnostik unbrauchbar werden. Auf dem Untersuchungsauftrag ist vermerkt, welches Material Sie benötigen. Geben Sie uns einen Hinweis, was für eine Probe Sie geschickt haben. Plasma kann aus Citrat-, EDTA- und Heparin-Blut gewonnen werden. Urin, Plasma/Serum und Liquor sehen sich sehr ähnlich. Eine exakte Beschriftung hilft, Fehler zu vermeiden.

In einem modernen Labor erfolgt vieles automatisiert.

Falsch oder gar nicht geklebte Barcodes auf Probenröhrchen führen zu zeitlichem Mehraufwand. Das kostet wertvolle Diagnostikzeit.

Die Art der Probenverpackung kann essentiell für die Analyse sein und Folgen für die Kollegen im Labor haben.

Folgendes sollten Sie **vermeiden**: Verschluss von Spritzen mit Kanülen statt mit dafür vorgesehenen Pfropfen, Pathoproben in Glasgefäßen und Kotproben in Handschuhen. Es drohen Verletzungsgefahr, Probenkontamination und Probenverlust.

Kurier-Transport ist nur für korrekt verpackte und gekennzeichnete Proben erlaubt.

Nutzen Sie die bereitgestellten Verpackungsmaterialien (bestehend aus Primärgefäß, Sekundärgefäß, Sekundärverpackung). Bei flüssigen Proben muss sich zwischen Primär- und Sekundärgefäß aufsaugendes Material befinden, Röhrchen müssen gegen Bruch geschützt sein.

Eine Kennzeichnung entweder als „**Freigestellte veterinärmedizinische Probe**“ (für nicht ansteckungsgefährliche Proben) **oder** mit dem **Aufkleber UN3373** (Biologisches Material der Kategorie B; für ansteckungsgefährliche Proben) ist unbedingt für den Versand innerhalb Deutschlands erforderlich. Es ist sonst möglich, dass der Kurier die Proben aus gesetzlichen Gründen nicht befördert. Näheres können Sie im Laboklin-Kompendium (ehemals Leistungsverzeichnis) oder auf unserem Merkblatt „Merkblatt zur Einstufung von medizinischen Proben“ nachlesen.

BLUTUNTERSUCHUNGEN

Der Füllungsgrad der Röhrchen beeinflusst die gemessenen Parameter wesentlich!

Ist zu wenig Blut in einem Röhrchen, entsteht ein Überschuss an Gerinnungshemmer. Dies führt u.a. zur Beeinflussung der Zellmorphologie und zu falsch verlängerten Gerinnungswerten. Eine Überfüllung macht ebenfalls Probleme (z.B. Gerinnung von Plasmaproben).



Die optimale Füllmenge variiert zwischen den Röhrchen (Marke der einzuhaltenden Füllhöhen der beiden rechten Röhrchen siehe Pfeile). *Bildquelle: Laboklin*

Die Reihenfolge der Röhrchen bei der Blutentnahme kann enorme Konsequenzen haben.

EDTA-Röhrchen sollten zum Schluss befüllt werden. Schon durch minimale Kontamination der Kanüle mit EDTA kann es zu massiven Fehlmessungen von Kalzium und Kalium kommen. Wird eine Blutgerinnung benötigt, sollten entweder die ersten paar Blutstropfen verworfen oder zunächst ein anderes Röhrchen befüllt werden.

Die Art des Röhrchens beeinflusst den Ablauf im Labor.

Die kleinen Röhrchen mit Klappdeckel sind beliebt. Aber sie bringen Probleme mit sich. Zum einen schließen die Deckel oft nicht vollständig, sodass Probenvolumen verlorengeht. Zum anderen können

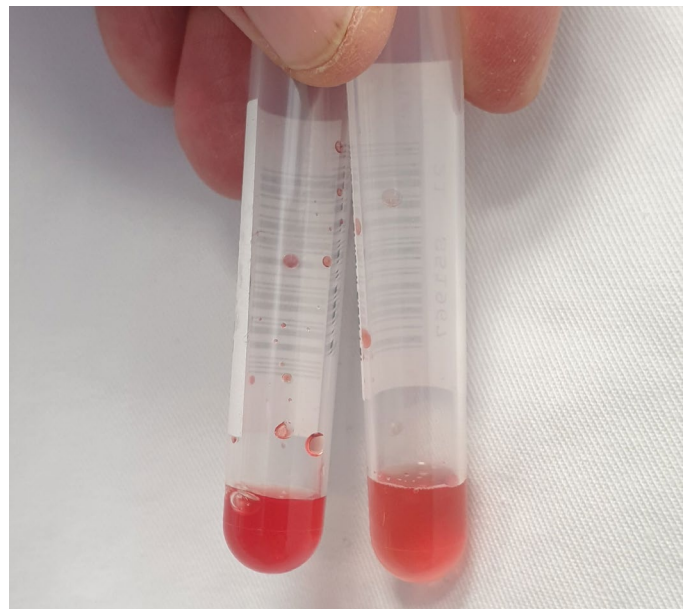
sie von den Nadeln der Analysegeräte nicht durchstoßen werden. Die Proben müssen per Hand pipettiert werden. Eine Verzögerung im Ablauf ist die Folge.

Der Zustand der Probe entscheidet über den Nutzen für die Diagnostik.

Im optimalen Fall wird die Probe gekühlt und lichtgeschützt, bis sie in den Versand geht. Bereits in der Praxis sollte auf die korrekte Lagerung des Probenmaterials geachtet werden. Eine Blutprobe, die den ganzen Tag bei Raumtemperatur im Tageslicht gelegen hat, wird für bestimmte Untersuchungen (z.B. Bilirubin) falsche Ergebnisse liefern. Fehler lauern im Detail!

Abzentrifugieren und Abpipettieren sind mühsam, aber notwendig!

Beim Versand von Vollblut kommt es zu Hämolyse und zellulärem Stoffwechsel. Dies führt zu Fehlmessungen mit möglicherweise weitreichenden Folgen für klinische Entscheidungen. Stellen Sie die Probe aufrecht hin (nicht liegend transportieren!) und trennen Sie Serum/Plasma möglichst bald nach der Entnahme (Serum bei Raumtemperatur vorher durchgerinnen lassen). Pipettieren Sie den Überstand für den Versand unbedingt auch ab. Reines Abzentrifugieren, ohne den Überstand zu überführen, ist nicht hilfreich!



Eine nicht abzentrifugierte Probe wird fast immer hämolytisch. *Bildquelle: Laboklin*

Zu einem Blutbild gehört auch ein Blutaussstrich.

Schon die kurze Zeit des Transportes führt zu wesentlichen Zellveränderungen. Indem Sie bereits in der Praxis einen Ausstrich anfertigen, fixieren Sie die intakten Zellen auf dem Objektträger und ermöglichen uns eine gute Beurteilung.

MOLEKULARBIOLOGIE – Erreger-PCR

Mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) wird Erreger-DNA vervielfältigt und durch optische Methoden nachgewiesen. Diese Methodik stellt einen direkten Erregernachweis dar. Allerdings wird auch DNA toter Erreger nachgewiesen. Andererseits schließt ein negatives Ergebnis eine Infektion nicht aus.

Der Zeitpunkt der Probenentnahme kann entscheidend sein.

Die höchste Wahrscheinlichkeit, den Erreger im Blut nachzuweisen, besteht während Virämie, Bakteriämie und Parasitämie beziehungsweise in der Fieberphase. Bei intermittierend ausgeschiedenen Erregern im Kot (z.B. *Trichostrongylus axei*) ist eine 3-Tage-Sammelkotprobe einzusenden.

Das Probenmaterial und das Proben-Handling sind zu bedenken.

Als Probenmaterial für den Erregernachweis aus dem Blut eignet sich für die PCR **EDTA-Blut**.

Lithium-Heparin ist ein PCR-Inhibitor und daher nur bedingt geeignet. Bei Erregern, die über die Schleimhäute ausgeschieden werden (z.B. bei Atemwegserkrankungen), nutzen Sie bitte sterile **Abstrichtupfer ohne Transportmedium**. Transportmedium kann die PCR stören.

Vom **Kot** benötigen wir eine ca. haselnussgroße Probe. Der Nachweis von equinem Coronavirus ist nur aus Kot sinnvoll (Schleimhautabstrich ist nicht geeignet). Im Kot sind natürliche PCR-Inhibitoren (z.B. Gallensäuren) enthalten. Kommt es zu einer Inhibition, wiederholen wir den Test mit einer verdünnten Probe. Dadurch wird auch der Erreger verdünnt, die Wahrscheinlichkeit falsch negativer Ergebnisse steigt leider auch.

Je nach Fragestellung und Symptomatik können auch **andere Probenmaterialien** (z.B. Hautbiopsien, Lymphknoten, Urin) genutzt werden. Diese Proben werden in sterilen, unbeschichteten Probengefäßen eingeschickt. Fixierungslösungen können DNA zerstören und falsch negative Ergebnisse verursachen. Ein gekühlter Versand ist nicht notwendig, bis zum Versenden sollten die Proben aber im Kühlschrank gelagert werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen ist zu vermeiden.

Bitte denken Sie daran, dass im Anschluss an eine PCR kein Antibiotogramm erstellt werden kann!

MIKROBIOLOGIE – Erreger-Kultur

Die Probe entnehmen – das ist zu beachten:

Bitte vor der Probenentnahme die veränderte Lokalisation nicht desinfizieren; nur oberflächliche Sekrete und Beläge – sofern vorhanden – vorher mit einem sterilen Tupfer entfernen und werfen. Es ist darauf zu achten, möglichst viel Material zu entnehmen und Kontamination mit der physiologischen Flora der gesunden Umgebung zu vermeiden.

Der richtige Zeitpunkt

Für den Nachweis vermehrungsfähiger Erreger ist die Probe so früh wie möglich nach dem Einsetzen klinischer Symptome und unbedingt vor Beginn der Antibiose zu nehmen. Sollte eine Vorbehandlung erfolgt sein, empfiehlt sich die Probenentnahme frühestens 1 Woche nach Absetzen des Antibiotikums. Bei ausbleibendem Therapieerfolg oder bei Verschlechterung unter Therapie kann die Diagnostik auch während der Antibiose eingeleitet werden. Die Wirkung der Antibiose könnte jedoch die Erregeranzucht *in vitro* verhindern, wenn auch *in vivo* noch lebensfähige Bakterien vorhanden sind.

Die richtige Lokalisation

Für die Auswahl der Lokalisation ist entscheidend, wo der Erreger erwartet wird. So sind z.B. folgende Lokalisationen je nach Verdachtsdiagnose zu bevorzugen: bei der **Druse** des Pferdes (*Sc. equi equi*) ein tiefer Nasentupfer oder eine Luftsackspülprobe; bei **Pneumonie** besser eine bronchoalveoläre Lavage als ein Nasentupfer; bei der **Schlechtwetterdermatitis** (*Dermatophilus congolensis*) des Pferdes Hautkrusten oder ein Abklatsch mit Objektträger von frischen Läsionen mit seröser Flüssigkeit, nicht aber abgeschnittene Haare; bei **Pyodermie** ein Tupfer von der Hautläsion oder ausgezupfte Haare; beim **Abszess** besser ein Abstrich von der Abszesskapsel-Innenseite als direkt vom Eiter; bei einer **Zystitis** Katheter- oder Zystozenteseharn für eine höhere Aussagekraft gegenüber Spontanharn, der bakterielle Kontamination enthalten kann.

Warum muss das Labor die Lokalisation der Probenentnahme kennen?

Je nach Ursprung der Probe werden wir spezielle Nährböden nutzen oder die Anzuchtbedingungen (Temperatur, Sauerstoff, Bebrütungsdauer) anpassen, um typische Erreger nachzuweisen. Eine Anzucht ohne Hintergrundinformation kann dazu führen, dass wichtige Infektionen nicht erkannt werden.

Ganz wichtig: Die Antibiogramm-Auswertung nach internationalen Richtlinien (CLSI) kann nur korrekt vorgenommen werden, wenn bekannt ist, woher der jeweilige Keim isoliert wurde. Ohne Angabe der Lokalisation können wir kein nach modernen Standards nutzbares Antibiogramm erstellen!

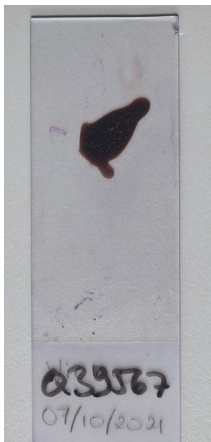
ZYTOLOGIE

Wie die zytologischen Präparate hergestellt werden:

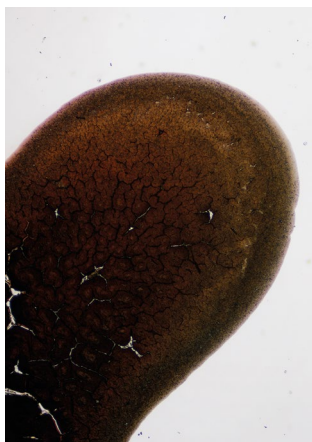
Flüssigkeiten werden wie ein Blutausstrich ausgestrichen, während Tupfer/Zytobrush auf dem Objektträger abgerollt werden. Zellarme (klare) Flüssigkeiten am besten abzentrifugieren und das Sediment ausstreichen (bitte den Hinweis „Sediment“ angeben).

Was unbedingt beachtet werden sollte, damit die Präparate gut auswertbar sind:

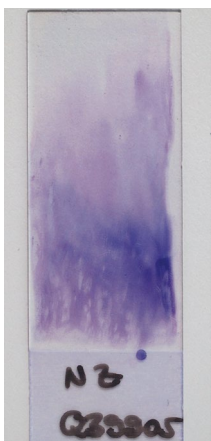
Zur Vermeidung von Autolyse die zytologischen Präparate bereits in der Praxis anfertigen. Artefakte werden reduziert, indem nicht zu dick und mit wenig Druck ausgestrichen wird. Ausstriche bitte immer nur lufttrocknen und nicht (Hitze-)fixieren



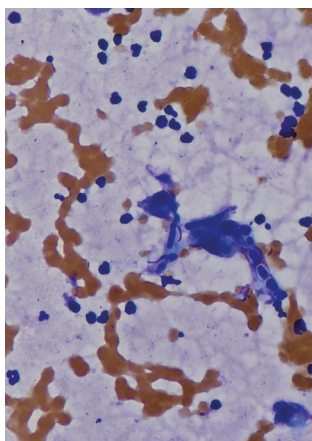
Präparat zu dick



→ keine Zellen differenzierbar



Guter Ausstrich



→ eine Beurteilung ist möglich (Pilzhyphen); Bildquelle: Laboklin

oder eindecken. Ausgestrichene, trockene Objektträger unbedingt in Objektträgerversandhüllen verschicken, damit die Zellen nicht beschädigt werden. Formalindämpfe machen die Präparate unbrauchbar, deshalb histologisches, Formalinfixiertes Probenmaterial in separatem Versandbeutel einschicken. Zytologische Präparate sollten aufgrund möglicher Wasserkondensation nicht im Kühlschrank lagern. Nicht zuletzt ist ein Vorbericht sehr wichtig, um eine korrekte und hilfreiche Interpretation liefern zu können.

HISTOPATHOLOGIE

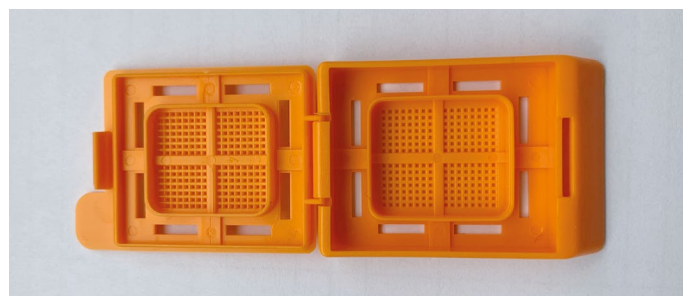
Wie die histologischen Präparate hergestellt werden:

Für eine repräsentative Probe verschiedene Lokalisationen entnehmen. Nekrotisches Gewebe dabei vermeiden. Tumoren sollten zur Beurteilung der Ränder möglichst vollständig reseziert werden. Die ideale Probengröße liegt im Bereich von 0,4 – 1,0 cm Durchmesser. Insbesondere bei kleinen Proben ist auf eine ausreichende Anzahl von Proben zu achten. Vermeiden Sie Artefakte bei der Entnahme, die z.B. durch Elektrokoagulation, Zerreißungen und Quetschungen entstehen. Für eine Formalinfixierung ist 10%iges Formalin (= 4%iges Formaldehyd) im Verhältnis Gewebe zu Formalinmenge 1:10, besser 1:20 zu verwenden; keine anderen Fixantien (wie z.B. Alkohol) benutzen, ansonsten die Probe besser unfixiert schicken – letzteres ist bei Eingang am nächsten Tag in der Regel unproblematisch. Bei Minustemperaturen verhindert ein geringer Alkoholzusatz das Einfrieren.

Was unbedingt beachtet werden sollte, damit die Präparate gut auswertbar sind:

Denken Sie an die Einsendung in auslauf- und bruchsaufrechterem Gefäß. Bei sehr kleinen Biopaten kann der Versand in Einbettkassetten einen Zerfall der Probe verhindern. Der Vorbericht ermöglicht es dem Pathologen, sein Augenmerk auf relevante Veränderungen zu legen. Das ist unabdingbar für eine gute Beurteilung!

Dr. Jennifer von Luckner



Einbettkassette

Bildquelle: Laboklin