

Diese SOP ist im Zusammenhang mit folgenden SOPs zu lesen:
Änderungen gegenüber der letzten Fassung: keine

farbiger Stempel der QSE

1 Zweck und Ziel

Beschreibung des Verfahrens zur Gewinnung von Blut, Serum und Plasma für die Analytik bei klinischen Prüfungen. Für die Analytik wird Serum oder Plasma, nur in seltenen Ausnahmefällen Vollblutproben benötigt. Beschrieben werden die Blutentnahme mit Punktionskanüle und aus der Verweilkanüle sowie das Verfahren zur Gewinnung von Serum oder Plasma aus Vollblut im Prüfzentrum. Voraussetzung für die weitere Verarbeitung des Materials sind die Vermeidung einer Hämolyse und die zeitgerechte Abnahme.

2 Anwendungsbereich

Probandenstation
Prüfzentrum

3 Begriffe

Dekantieren: den Serum- oder Plasmatüberstand vom Blutkuchen abgießen.

4 Zuständigkeit, Qualifikation

Blutentnahmen mit Punktionskanüle können unter Verantwortung und Anleitung eines Arztes von Forschungsassistenten ausgeführt werden.

Verweilkanülen werden vom Arzt gelegt, das Ziehen kann von Forschungsassistenten übernommen werden.

Beim Umschütten des Überstandes in die Probengefäße müssen immer zwei Personen anwesend sein. Bei Unsicherheiten ist der Vorgang sofort zu unterbrechen und der Leiter der klinischen Prüfung oder ein Prüfarzt zu verständigen. Der Beginn und das Ende der Unsicherheit sind zu protokollieren. Es darf erst fortgefahren werden, wenn der Ablauf wieder gesichert ist.

5 Beschreibung

5.1 Material

- sterile Einmalkanülen, Verweilkatheter (z.B. B. Braun, Melsungen, Abbocath)
- Spritzen (2 ml, 5 ml, 10 ml, 20 ml; z.B. B. Braun, Melsungen) oder unbeschichtete Monovetten mit Zentrifugierhilfe (z.B. Sarstedt) für die **Serum-Gewinnung**
- Monovetten (z.B. Sarstedt) mit der im Prüfplan vorgesehenen Innenbeschichtung (EDTA oder Ammonium-Nitrat) für die **Plasma-Gewinnung**
- Staubbinde
- Hautdesinfektionsmittel
- Tupfer
- Pflaster

Vor der Punktion müssen die Blutröhrchen, in die die Spritzen entleert werden und in denen das Blut zentrifugiert wird (bzw. die Monovetten), mit einer unverwechselbaren Codierung versehen worden sein. Die Kennzeichnung der Probengefäße (Serumröhrchen mit Verschlussstopfen), die das Serum bzw. Plasma nach dem Abzentrifugieren aufnehmen, ist identisch mit der Kennzeichnung auf den Entnahmegefäßen (siehe SOP Codierung von Blutproben). Die Proben werden in auf dem Kartondeckel entsprechend gekennzeichneten Transportkartons nach Blutentnahmezeitpunkten zusammengefaßt und im Tiefkühlschrank vorgekühlt.

Für Blutproben für das klinische Labor siehe SOP MET/12.

Spritzen und Punktionsnadeln werden erst kurz vor der Punktion der sterilen Verpackung entnommen. Die Punktionsnadeln werden nach der Punktion in einem Sammelcontainer für Punktionskanülen gesammelt. Der Plastikcontainer wird verschlossen mit dem Hausmüll entsorgt. Die benutzten Spritzen und Tupfer werden in gelben Müllbeuteln gesammelt und in einem verschlossenen Behälter mit dem Hausmüll entsorgt.

5.2 Gewinnung der Vollblutprobe

Das Vollblut wird durch Punktion einer Vene oder über eine Verweilkanüle aus einer gut sichtbaren und/oder tastbaren Vene gewonnen. Am besten eignet sich eine Armvene im Bereich der Ellenbeuge, am Unterarm über der Speiche oder am Handrücken. Die Punktion erfolgt im Sitzen, bei unsicheren Probanden ist im Liegen zu punktieren.

Der Bereich über der ausgewählten Vene wird großzügig durch Besprühen mit Hautdesinfektionsmittel desinfiziert. Bis zur Punktion sind mindestens 30 sec. Einwirkzeit einzuhalten.

Nach der Blutentnahme wird der Stau der Vene durch Lösen der Kompression am Oberarm aufgehoben. Die Kanüle wird zurückgezogen und die Punktionsstelle mit einem Tupfer für ca. 3 Minuten komprimiert. Man kann die Kompression dem Probanden überlassen mit dem Hinweis, kräftig zu drücken, weil sonst eine Unterblutung mit Hämatom entsteht.

Auf die Punktionsstelle wird ein kleines Pflasterstück geklebt, um die Verschmutzung der Wäsche zu verhindern.

5.2.1 Blutentnahme mit Punktionskanüle

Der Venenabfluß wird etwa handbreit oberhalb der für die Punktion ausgewählten Stelle mit einer Staubbinde blockiert. Die Venenfüllung kann durch Schließen und Öffnen der Faust unterstützt werden. Wenn die Vene gut sichtbar oder im Verlauf tastbar ist, wird in leicht schrägem Winkel im Verlauf der Vene durch die Haut punktiert. Das Eintreten von Blut in die Punktionskanüle bestätigt die korrekte Lage im Gefäß. Durch langsames Ziehen am Spritzenstempel wird die Spritze gefüllt. Es ist darauf zu achten, daß die Gefäßwand nicht durch zu starken Unterdruck in der Spritze an die Punktionskanüle gesaugt wird.

Sobald die Spritze mit Blut gefüllt ist, wird die Venenblockade durch Lösen der Staubbinde aufgehoben. Die Kanüle wird herausgezogen und die Punktionsstelle mit zwei Zellstoffupfern komprimiert. Der Proband wird gebeten, die Kompression für 3 Minuten fortzusetzen mit dem Hinweis, daß sonst ein Bluterguß entstände.

Die Punktionsstelle wird zum Schutz der Kleidung mit einem schmalen Pflasterstreifen (Hansapor o.ä.) abgedeckt. Die Spritze mit dem Blut wird nicht aus der Hand gelegt, sondern sofort in das bereitgestellte Röhrchen entleert.

5.2.2 Blutentnahme aus Verweilkanüle (Braunüle)

Für wiederholte Blutentnahmen wird eine Verweilkanüle gelegt. Der Ablauf ist derselbe wie in 4.1.1 beschrieben. Auf folgende Besonderheiten ist zu achten:

Die zu punktierende Vene sollte geräumig genug sein, um die Verweilkanüle aufzunehmen und über eine längere Strecke nicht ohne zufließende Vene sein, weil die punktierte Vene durch die Braunüle verschlossen wird und von zentral gefüllt werden muß. Ideal ist ein Zusammenfluß zweier Venen, wobei in die eine Vene so punktiert wird, daß die Spitze der Verweilkanüle in der anderen Vene liegt.

Nach erfolgreicher Punktion wird die scharfe Nadel für 1 cm gezogen und die Kanüle unter leichtem Drehen bis 2 mm vor dem Spritzenkonus vorgeschoben. Die Verweilkanüle wird mit einem K-Pflasterverband fixiert. Erst danach wird die scharfe Nadel vollständig herausgezogen.



Grundsätzlich darf eine scharfe Punktionsnadel nicht wieder in die Verweilkanüle eingeschoben werden: der dünne Plastikschlauch kann abgeschnitten werden und in dem Gefäß verloren gehen!

Um das Austreten von Blut aus dem Kanülenkonus zu verhindern, wird die Haut über der Spitze der Kanüle komprimiert. Danach wird die Spritze auf den Konus gesetzt.

Bei schnell aufeinander folgenden Blutentnahmen setzt man einen Dreiwegehahn (3WH) auf den Konus der Braunüle. Die Braunüle wird mit isotonischer Kochsalzlösung gefüllt und der 3WH verschlossen. Zum Zeitpunkt der Blutentnahme werden zwei Spritzen auf den 3WH gesetzt. Die 1. Spritze nimmt die Kochsalzlösung auf, nach Umlegen des Hahnes wird die Blutprobe gezogen. Nach Verschließen wird die Braunüle wieder mit Kochsalzlösung gefüllt und verschlossen durch drehen des 3WHs

Nach der Blutentnahme und dem Lösen des Staus wird die Vene in Höhe der Kanülenspitze mit dem Finger komprimiert, so daß kein Blut mehr in die Kanüle eintreten kann. Die Verweilkanüle wird mit einem Mandrin verschlossen.

Bei der wiederholten Blutentnahme wird zunächst der Mandrin entfernt (evtl. unter Kompression der Kanülenspitze), eine Spritze aufgesetzt und dann der Venenabfluß gestaut. Für den erneuten Verschluß der Verweilkanüle wird ein neuer Mandrin benutzt.

Wenn die kurzfristigen Blutentnahmen beendet sind oder die Braunüle verstopft ist, muß sie gezogen werden. Die Verweilkanüle wird ohne gleichzeitige Kompression aus der Vene gezogen. Unmittelbar nach der Entfernung muß die Punktionsstelle mit zwei Tupfern und kräftigem Druck für 3 Minuten komprimiert werden. Wenn die Punktionsstelle in der Armbeuge liegt, wird mit nach oben gestrecktem Arm komprimiert. Anschließend wird ein Pflaster aufgelegt.

5.3 Gewinnung von Serum

Wenn das Blut in eine Spritze abgenommen wurde, wird diese in das vorbereitete gekennzeichnete Serumröhrchen (mit Zentrifugierhilfe) langsam an der Wand des Röhrchens herunterfließend entleert und das Serumröhrchen mit einem Stopfen verschlossen. Monovetten werden nach Abbrechen des Stempelgriffes in das Reagenzglasgestell gestellt.

5.3.1 Zentrifugation

Die Proben bleiben, wenn im Prüfplan nicht anders vermerkt, für ca. 30 Minuten bei Raumtemperatur im Zentrifugenraum stehen, damit das Blut gerinnen kann. Anschließend werden die Proben in die Zentrifuge gestellt (dabei auf die Gewichtsverteilung achten!) und bei 4000 rpm für 10 Minuten zentrifugiert.

Danach werden die Röhrchen in einem Reagenzglasständer der Reihenfolge der Probengefäße entsprechend abgestellt. Auf die Validierung der Zentrifugation wird verwiesen.

5.3.2 Dekantieren

Die Probengefäße werden dem Tiefkühlschrank entnommen. Jeweils ein Probengefäß und das mit dem gleichen Zahlencode beschriftete Röhrchen mit dem Serumüberstand werden in die Hand genommen. Vor dem Umschütten werden die Etiketten verglichen. Das Serum darf nur in das Probengefäß dekantiert werden, wenn die Etiketten identisch sind!



Bei Unsicherheiten ist der Vorgang sofort zu unterbrechen und der Leiter der klinischen Prüfung oder ein Prüfarzt zu verständigen. Der Beginn und das Ende der Unsicherheit sind zu protokollieren. Es darf erst fortgefahren werden, wenn der Ablauf wieder gesichert ist.

Beim Umschütten ist sorgfältig darauf zu achten, daß der Blutkuchen nicht aufgewirbelt wird und keine Blutkörperchen mit in das Probengefäß gelangen. Ist dies trotz aller Sorgfalt geschehen, muß der

Zentrifugationsvorgang wiederholt werden. In diesem Fall wird das Probengefäß in den Transportbehälter zurückgestellt und, wenn die Zeitspanne nicht zu lang ist, mit den Probengefäßen einer späteren Serie wieder zentrifugiert und tiefgefroren. Wann werden die Proben abtransportiert oder verschickt?

5.3.3 Eisbad

Muß das Blut laut Prüfplan sofort nach Blutentnahme bei 4° C gekühlt werden, wird das Serumröhrchen oder die Monovette in ein Eisbad gestellt. Es bleibt bis zur Zentrifugation für 60 Minuten darin stehen. Wenn der Gerinnungsprozeß vor der Zentrifugation nicht abgeschlossen war, ist das Serum geliert. Dann muß die Vernetzung vorsichtig mit einem Stäbchen gelöst werden.

Ist die sofortige Kühlung des Blutes erforderlich, muß meistens aus dem genannten Grund Plasma gewählt werden. Die Röhrchen selbst können vorgekühlt werden und bis zur Befüllung im eisbad vorgehalten werden.

5.4 Gewinnung von Plasma

Die Monovetten werden sofort in ein Eisbad gestellt und nach ca. 30 Minuten zentrifugiert. Der weitere Ablauf entspricht der Beschreibung in 5.3.

Bei Plasmaproben ist die Trennung zwischen Blutkuchen und Überstand ist nicht so scharf wie bei Serumproben. Deshalb muß auf das Dekantieren von Plasmaproben besondere Sorgfalt verwandt werden. Um die Ausbeute zu erhöhen, wird das Plasma mit einer EPPENDORF-Pipette abpipettiert.

6 Zeitbedarf

30 Direktpunktionen à 10 ml / Stunden, wenn eine Person assistiert und die Venen leicht zu finden sind
Aus Verweilkanülen eine Blutentnahme à 10 ml / Minute

7 Mitgeltende Unterlagen

Prüfplan

BG-Richtlinie zum Umgang mit Körperflüssigkeiten

Literatur zur Entnahme von Blutproben und Verarbeitung zu Serum oder Plasma, Zentrifugation

8 Anmerkungen

Beim Umgang mit Körperflüssigkeiten sind grundsätzlich Einmalhandschuhe zu tragen, also auch beim Dekantieren von Serum oder Plasma.

9 Dokumentation

Meßprotokoll der Kühlschrantemperatur

Protokoll über Unsicherheiten beim Dekantieren (wenn zutreffend)

Aufzeichnungen aus Bereichen, die mit dem Material arbeiten, z.B. aus der Analytik: Hämolyse, zu wenig Material (wenn zutreffend)

10 Anlagen

keine

Das Original der SOP ist bei der QSE archiviert unter dem Dateinamen f:\qmh\sops\klifo\cro\met14.doc. Die SOP wird im 2-Jahres-Intervall - vorbehaltlich einer Ausnahmeregelung - überprüft. Eingezogene Versionen der SOP sind für 5 Jahre zu archivieren. Änderungsvorschläge sind schriftlich an den Autor oder an die QSE zu richten.

Diese SOP wurde heute in das Verzeichnis der Standard-Arbeitsanweisungen aufgenommen und ist damit gültig.

Freigabevermerk: Ort, Datum

(Autor)

(Geschäftsführer)

(QSE)

Verteiler

Original: QSE

Kopie: GF, weitere Abteilungen: