

Instand-VR-Hämostaseologie

Autor(en): csm

Institution(en): IBDG

Karte 1: Antikoagulanzenkunde

Info Text

In Ihrem Labor arbeitet seit kurzem eine Praktikantin. Seit heute ist sie Ihnen am Gerinnungsplatz zugeteilt. In einem ruhigen Moment am Nachmittag machen Sie mit ihr eine kleine "Antikoagulanzenkunde" und gehen mit ihr die Wirkungsweisen der verschiedenen Antikoagulanzen in den Blutabnahmeröhrchen durch.

Frage

Bitte ordnen Sie den Antikoagulanzen die richtige Wirkung zu.

Zuordnungsantwort:

Bildet einen Komplex mit Thrombin

Hemmt indirekt aktivierte Gerinnungsfaktoren

Bildet Komplexe mit Calcium

EDTA

Hirudin

Li-Heparin

Kommentar:

EDTA bildet durch Bindung von Kalzium stabile Komplexe (Chelat-Komplexe), die eine Gerinnung des Blutes verhindern. EDTA inaktiviert die Gerinnungsfaktoren V und VIII und ist daher für koagulometrische Gerinnungsanalysen nicht geeignet.

Li-Heparin hemmt die Blutgerinnung durch Aktivierung des im Plasma vorhandenen Inhibitors Antithrombin.

Hirudin hemmt Thrombin, indem ein Hirudinmolekül mit einem Thrombinmolekül einen Thrombin-Hirudin-Komplex bildet. In der Folge kann Fibrinogen nicht mehr in unlösliches Fibrin umgewandelt werden.

Karte 2: Antikoagulanzen

Info Text

Nachdem Sie mit der Praktikantin die Wirkungsweisen der verschiedenen Antikoagulanzen durchgegangen sind, kommen Sie zu der Frage, welche Antikoagulanzen bei den verschiedenen Analysen zum Einsatz kommen.

Frage

Bitte ordnen Sie den Analyten die richtigen Röhrchen zu!

Zuordnungsantwort:

Hirudin-Röhrchen
Zitratröhrchen
EDTA-Röhrchen
Heparinröhrchen
Gerinnungsstatus
DNA-Untersuchungen
Thrombozytenfunktionstests
FACS-Analyse

Kommentar:

Zitrat wird für Gerinnungstests eingesetzt. Es verhindert durch Komplexierung von Calcium die Gerinnung. Durch Zugabe von Calcium (Rekalzifizierung) lassen sich dann gerinnungsphysiologische Tests durchführen. Die Blutsenkungsgeschwindigkeit wird ebenfalls in Zitratblut gemessen.

EDTA wird für Untersuchungen eingesetzt, die ungeronnenes Blut erfordern. Es bildet stabile Calciumchelate-Komplexe, die eine dauerhafte Ungerinnbarkeit des Blutes bewirken und wird deshalb für DNA Untersuchungen, z.B. Prothombinvariante eingesetzt.

Hirudin wird für Thrombozytenfunktionstests eingesetzt. Es hemmt Thrombin.

Heparin wird in erster Linie für die zelluläre Diagnostik, insbesondere in der Zytoimmunologie eingesetzt, aber (in besonders gereinigten Röhrchen) auch zum Nachweis von Spurenelementen und Metallen.

Karte 3: Antikoagulanzen als Störfaktoren 1

Info Text

Sie erkundigen sich bei Ihrer Praktikantin, welche Substanzen sie kennt, die Gerinnungsglobalteste beeinflussen können.

Frage

Bitte markieren Sie die möglichen Störfaktoren!

Multiple Choice-Antwort:

- A: Niedrigmolekulares Heparin
 - B: Folsäureantagonisten (Methotrexat)
 - C: Lupus Antikoagulanzen
 - D: Orale Antikoagulanzen
-

Kommentar:

Niedrigmolekulares Heparin beeinflusst die Gerinnungsglobalteste praktisch nicht oder nur selten (verfälschte Bestimmung von PTT und TZ bei sehr hoher Dosierung).

Folsäure und Folsäureantagonisten haben keinen Einfluss auf die Blutgerinnung.

Lupus-Antikoagulanzen und Vitamin-K Antagonisten können zu "fälschlich" verlängerten Gerinnungszeiten führen.

Davon abzugrenzen ist die gezielte Messung der Wirkung **von Vitamin-K Antagonisten** auf Gerinnungstests, z.B. INR, Lupus-Antikoagulanzen.

Karte 4: Neue Antikoagulanzen

Info Text

In der letzten Zeit finden neue Antikoagulanzen Verwendung, die zum Teil auch oral eingenommen werden können. Diese neuen Substanzen interferieren aber mit den Gerinnungsanalysen im Labor.

Frage

Sie fragen Ihre Praktikantin, ob sie weiß wie die neuen Substanzen heißen.

Multiple Choice-Antwort:

- A: Lepirudin (Refludan®)
 - B: Bivalirudin (Angiomax®, Angiox®)
 - C: Dabigatran (Pradaxa®)
 - D: Argatroban (Argatra®)
 - E: Rivaroxaban (Xarelto®)
-

Kommentar:

Bisher waren direkte Inhibitoren nur parenteral und nur für Thrombin verfügbar (z. B. Lepirudin, Argatroban, Bivalirudin). Das ist bei den neuen Antikoagulanzen Dabigatran (Pradaxa®) und (Rivaroxaban (Xarelto®) anders - sie können oral verabreicht werden und finden deshalb breitere Anwendung.

Karte 5: Neue Antikoagulanzen, Wirkungsweise

Info Text

Ihre Praktikantin hat schon einmal etwas von diesen neuen Antikoagulanzen gehört, weiß aber nicht genau, wie sie wirken.

Frage

Was erklären Sie ihr? Bitte markieren Sie die richtigen Aussagen!

Multiple Choice-Antwort:

- A: Dabigatran wirkt als direkter Inhibitor von Protein C.
 - B: Dabigatran wirkt als direkter Inhibitor von Fibrinogen.
 - C: Dabigatran wirkt als direkter Inhibitor von Thrombin.
 - D: Rivaroxaban wirkt als direkter Inhibitor von Faktor VIII.
 - E: Rivaroxaban als direkter Inhibitor von Faktor Xa.
-

Kommentar:

Dabigatran wirkt als direkter Inhibitor von Thrombin, Rivaroxaban als direkter Inhibitor von Faktor Xa. Klinisch relevante Vorteile dieser beiden Substanzen sind die lediglich reversible Bindung an die Gerinnungsfaktoren und damit eine bessere Steuerbarkeit und niedrigere Blutungsgefahr.

Karte 6: Neue Antikoagulanzen - Störfaktoren 2

Info Text

Die neuen Antikoagulanzen bieten Vorteile für den klinischen Gebrauch. Allerdings stören sie die Gerinnungsanalytik.

Frage

Bitte markieren Sie, welche Messungen durch die neuen Antikoagulanzen gestört werden.

Multiple Choice-Antwort:

- A: O Prothrombin G20210 Mutation
 - B: O Faktor VIII
 - C: X PTT
 - D: X Quick
 - E: X Antithrombin - Aktivitätsmessung
-

Kommentar:

Dabigatran wirkt als direkter Inhibitor von Thrombin, **Rivaroxaban** als direkter Inhibitor von Faktor Xa, beide Antikoagulanzen beeinflussen dadurch den Quick-Wert, die PTT sowie davon abhängige Gerinnungstests.

Karte 7: Thrombozytenarmes Plasma - Zentrifugation

Info Text

Nachdem Sie sich mit Ihrer Praktikantin auf das Ausgangsmaterial zur Herstellung von thrombozytenarmem Plasma geeinigt haben, befragen Sie sie nun, wie die Probe zentrifugiert werden muss, um die Thrombozyten weitestgehend zu eliminieren.

Frage

Bitte markieren Sie die richtige

- Zentrifugationsgeschwindigkeit/kraft
 - Zentrifugationszeit.
-

Multiple Choice-Antwort:

A: 1500-2000 g (ca. 3000 U/Min.)

B: 3000g (ca. 5000 U/Min.)

C: 5000g (ca. 10000 U/Min.)

D: 10 Minuten

E: 20 Minuten

F: 30 Minuten

Kommentar:

Um thrombozytenarmes Plasma zu erhalten, sollte antikoaguliertes Blut (EDTA-/Zitrat-/Heparinblut) mindestens 10 Minuten bei 1500-2000g zentrifugiert werden. Eine längere Zentrifugation (20 Min.) verbessert die Reduktion der Thrombozyten

Karte 8: Thrombozytenarmes Plasma Zentrifugation Temperatur

Info Text

Nach Zeit und Geschwindigkeit bei der Zentrifugation geht es nun um die richtige Temperatur.

Frage

Bitte markieren Sie geeignete Zentrifugationstemperaturen.

Multiple Choice-Antwort:

A: 10°C

B: 15°C

C: 20°C

D: 25°C

E: 27°C

Kommentar:

Bei der Herstellung von thrombozytenarmem Plasma sollte die Temperatur möglichst nicht unter 15 °C und nicht über 24 °C liegen.

Karte 9: Temperaturabhängige Stabilität

Frage

Sie haben in der Blutprobe (Zitratplasma) eines Patienten die PTT bestimmt und die Probe anschließend im Kühlschrank aufbewahrt. Am nächsten Tag ruft die Assistentin der zuweisenden Praxis an: Die Analyse des Quick-Wertes wurde versehentlich nicht angefordert - ob Sie diese bitte noch nachträglich bestimmen können?

Multiple Choice-Antwort:

- A: Die Globaltests (PTT, TPZ) können nach Abnahme nur 4 Stunden lang durchgeführt werden.
 - B: Die Globaltests (PTT, TPZ) können nach Abnahme nur 8 Stunden lang durchgeführt werden.
 - C: Die Globaltests (PTT, TPZ) können nach Abnahme nur 12 Stunden lang durchgeführt werden.
 - D: Die Globaltests (PTT, TPZ) können nach Abnahme aus tiefgefrorenem Plasma über ein Jahr bestimmt werden.
-

Während sich Gerinnungsglobaltests in ungefrorenem Probenmaterial nicht länger als 4 Stunden zuverlässig durchführen lassen, können sie aus tiefgefrorenem Plasma auch noch über ein Jahr nach der Abnahme durchgeführt werden.

Karte 10: Plasma auftauen

Info Text

Nachdem Sie mehrere Proben abgearbeitet haben, bitten Sie die Praktikantin, einige Plasmaproben aus dem Tiefkühler zu entnehmen und aufzutauen, damit Sie noch einige nachgeforderte Analysen daran durchführen können.

Frage

Was muss die Praktikantin beim Auftauen tiefgefrorener Plasmaproben, in denen Gerinnungsfaktoren gemessen werden sollen, beachten?

Multiple Choice-Antwort:

- A: Tiefgefrorene Plasmaproben sollten bei Raumtemperatur aufgetaut werden.
 - B: Tiefgefrorene Plasmaproben sollten bei 37 °C in einem Wasserbad aufgetaut werden.
 - C: Tiefgefrorene Plasmaproben sollten bei 4 °C in einem Wasserbad aufgetaut werden.
 - D: Plasmaproben sollten nach dem Auftauen möglichst wenig bewegt werden.
 - E: Plasmaproben sollten nach dem Auftauen vorsichtig geschwenkt werden.
-

Tiefgefrorene Plasmaproben sollen in einem Wasserbad bei 37 °C schnell und vollständig aufgetaut werden. Eisreste oder eine Überhitzung sind zu vermeiden, denn dadurch können Koagulationsfaktoren degradieren und zu falschen Ergebnissen führen.

Nach dem Auftauen sollten die Röhrchen zur Durchmischung vorsichtig geschwenkt werden.

Karte 11: Plättchenarmes Plasma

Info Text

Die meisten Gerinnungsparameter werden in plättchenarmem Plasma gemessen. Aber es gibt Ausnahmen - welche?

Frage

Bitte markieren Sie in der folgenden Liste die Parameter, die **nicht** in zellarmem Plasma gemessen werden!

Multiple Choice-Antwort:

- A: Faktor XIII
 - B: Partielle Thromboplastinzeit (PTT)
 - C: Prothrombinvariante G20210A
 - D: Thrombozytenaggregation
 - E: Prothrombin
-

Größere Mengen zellulärer Bestandteile können die Gerinnung aktivieren und dadurch die Messung von Gerinnungsfaktoren beeinflussen. Daher werden Gerinnungsfaktoren wie **Faktor XIII, die PTT oder Prothrombin** in plättchenarmem Zitratplasma gemessen, das durch Zentrifugation gewonnen wird.

Bei der Untersuchung **der Prothrombinvariante G20210A** handelt es sich um eine DNA-Untersuchung, für die kernhaltige Zellen (Leukozyten) benötigt werden.

Die **Plättchenaggregationsfähigkeit** wird in plättchenreichem Plasma oder im Vollblut (Impedanzaggregometrie) getestet.

Karte 12: Die häufigsten Fehler

Info Text

Sie beeindrucken Ihre Praktikantin mit der Mitteilung, dass die Mehrzahl diagnostischer und therapeutischer Entscheidungen in der klinischen Medizin auf labormedizinischen Ergebnissen beruht. Das ist der Ausgangspunkt für Ihre Frage, wo denn dabei die häufigsten Fehlermöglichkeiten liegen.

Frage

Wo entstehen bei labormedizinischen Untersuchungen die häufigsten Fehler?

Multiple Choice-Antwort:

- A: Präanalytik
 - B: Analytik
 - C: Postanalytik
-

Während die Qualität der Analytik durch eine Richtlinie der Bundesärztekammer (RiLiBÄK) und durch einen allgemeinen ISO QM Standard definiert ist, fehlen bisher solche Vorgaben für die prä- und postanalytische Phase. Allerdings geht die neue Version der RiLiBÄK, die seit 01.04.2010 gilt, im allgemeinen Teil auf die Wichtigkeit von Prä- und Postanalytik ein.

Karte 13: Füllungszustand der Röhren

Info Text

Die Praktikantin ergänzt Ihre Ausführungen zur Farbe des Plasmas von sich aus durch Bemerkungen zum Füllungszustand der Röhren. Aber nicht alles, was sie Ihnen aufzählt, ist richtig.

Frage

Bitte markieren Sie die richtigen Aussagen!

Multiple Choice-Antwort:

- A: Überfüllte Röhren sind kein Problem.
 - B: Röhren sollten bis zum Eichstrich gefüllt sein.
 - C: Eine Unterfüllung darf höchstens 20% betragen.
 - D: Eine Unterfüllung darf höchstens 10% betragen.
-

Bei unterfüllten Röhren stimmt das Mischungsverhältnis Zitrat/Blut nicht. Dies trifft ebenso auf überfüllte Röhren zu, außerdem fehlt in ihnen die Luftblase, die zum Mischen notwendig ist.

Karte 14: Problem des halbvollen Gerinnungsröhrchens

Info Text

Sie bleiben mit der Praktikantin noch ein wenig beim Thema: "Röhrchen". Schon die erste Inspektion einer Blutprobe kann Auskunft darüber geben, ob sie analysiert werden kann oder nicht.

Frage

Welche der beschriebenen Röhrchen sollten Sie für Gerinnungsanalysen **nicht** akzeptieren oder auf eine mögliche Verfälschung der Werte hinweisen?

Multiple Choice-Antwort:

- A: Bis knapp unterhalb des Eichstrichs gefülltes Zitratröhrchen
 - B: Halbvolles Zitratröhrchen
 - C: Bis knapp oberhalb des Eichstrichs gefülltes Zitratröhrchen
 - D: Zitratröhrchen mit Schaum
 - E: Zitratröhrchen mit sichtbarem Gerinnsel
-

- Bei zu geringer Füllung kommt es zu einem relativen Zitratüberschuss im Plasma und dadurch bei Testverfahren, die kalziumabhängige Reaktionsschritte umfassen, zu fälschlich als verlängert gemessene Gerinnungszeiten.
 - Röhrchen mit Schaumbildung weisen darauf hin, dass sie geschüttelt oder heftig bewegt wurden, was zu Aktivierung von Gerinnungsvorgängen führen kann.
 - Wenn ein Gerinnsel sichtbar wird, ist die Probe für Gerinnungsanalysen unbrauchbar, da die Gerinnung, zumindest teilweise, bereits abgelaufen ist.
 - Eine geringe (weniger als 10%) Über- oder Unterfüllung beeinträchtigen die Messgenauigkeit bei Gerinnungsanalysen nicht.
-

Karte 15: Ergebnisverfälschung

Info Text

Als Ihre Praktikantin vom Mittagessen zurück kommt, halten Sie gerade das Ergebnis einer Bestimmung der Prothombinvariante G20210A in den Händen und nutzen dies, um die Praktikantin zu molekularbiologischen Untersuchungen zu befragen.

Frage

Welche der nachstehenden Faktoren können den Befund aus einer Bestimmung der Prothombinvariante G20210A beeinflussen?

Multiple Choice-Antwort:

- A: Einnahme von Vitamin K
 - B: Einnahme von Cumarinen
 - C: Einnahme von ASS
 - D: Lagerung der Probe länger als 24 Stunden
 - E: Verwechslung der Probe
-

Die Vertauschung von Proben ist eine der häufigsten Ursachen für falsche Ergebnisse. Die Einnahme von Antikoagulanzen oder das Alter der Proben von beeinflussen das Messergebnis nicht.

Karte 16: Qualitätskontrolle

Info Text

Gerinnungsanalysen sind störanfällige Untersuchungen. Deshalb sind laut der RiLiBÄK, wie bei anderen Analyten auch, interne und externe Qualitätskontrollen erforderlich.

Frage

Sie erkundigen sich bei Ihrer Praktikantin, was sie unter einer externen Qualitätskontrolle versteht.

Bitte markieren Sie die richtige Lösung!

Multiple Choice-Antwort:

- A: Bestätigung der im eigenen Labor gemessenen Werte durch ein anderes (externes) Labor.
 - B: Messung von im Rahmen eines Ringversuchs versandten Proben im eigenen Labor.
 - C: Messung im Rahmen eines Austauschs von Proben eines anderen Labors (extern) im eigenen Labor.
 - D: Wiederholte Messungen einer Probe zur Ermittlung von abweichenden Ergebnissen.
-

Eine externe Qualitätskontrolle erfolgt durch ein unabhängiges Institut, z.B. Instand. Dieses versendet im Rahmen von Ringversuchen Proben mit einem definierten Inhalt an die teilnehmenden Labors. Diese messen in dem Material definierte Analyte. Das unabhängige Institut beurteilt die Richtigkeit der Messungen bzw. die Abweichung von Zielwert.

Karte 17: Referenzwerte

Info Text

Während Ihres Gesprächs über den Zusatz von Antikoagulanzen und Gewinnung von Prüfmaterial haben sich in der Annahme einige Blutproben angesammelt und warten auf eine Gerinnungsanalyse.

Sie benutzen diese "Routineanalyse", um das Wissen der Praktikantin über die Maßeinheiten von Gerinnungsanalyten zu testen.

Frage

Bitte ordnen Sie die Einheiten den Analyten zu!

Zuordnungsantwort:

Quick
D-Dimere
PTT
APC
Sekunden
Prozent der Norm
Ratio
abhängig vom verwendeten Testverfahren

Die Bestimmung der APC-Resistenz erfolgt in der Regel im Plasma, dem Faktor V Mangelplasma zugemischt wurde. In diesem Mischplasma wird die aktivierte Partielle Thromboplastinzeit (aPTT) einmal mit und einmal ohne Zugabe von APC gemessen. Aus beiden Werten wird ein Quotient, die so genannte APC-Ratio errechnet und ohne Benennung von Einheiten angegeben.

Karte 18: Referenzbereiche

Info Text

Außer den Maßeinheiten sollten auch die Referenzbereiche bekannt sein.

Frage

Während Ihre Proben zentrifugieren, gehen Sie mit der Praktikantin dieses Kapitel durch.

Bitte ordnen Sie den Analyten die Referenzbereiche zu.

Zuordnungsantwort:

~50.000-300.000 / μ l

50-150%

abhängig vom verwendeten Testverfahren

26-36 Sek.

16-24 Sek.

% der Norm

PTT

Quick

Thrombozyten

D-Dimere

Thrombinzeit

Von-Willebrand-Faktor

Für die D-Dimer-Bestimmung kann kein Referenzbereich angegeben werden, da dieser zwischen den verschiedenen Bestimmungsmethoden sehr stark schwankt.

Karte 19: Probenmaterial für molekulare Diagnostik

Info Text

Nachdem Sie mit den Gerinnungsanalysen fertig sind, ist der Arbeitstag auch fast zu Ende. Da trifft noch eine Blutprobe mit der Anforderung für die Bestimmung einer Faktor-V-Leiden-Mutation ein. Damit werden Sie sich morgen beschäftigen. Vorher schauen Sie sich die Probe aber noch genauer an.

Frage

Welches Probenmaterial ist für molekulargenetische Untersuchungen in der Routine geeignet?

Multiple Choice-Antwort:

- A: Heparinblut
 - B: Nativblut
 - C: Zitratblut
 - D: Getrockneter Blutstropfen auf Filterpapier
 - E: Wangenabstrich mit Watteträger
 - F: EDTA-Blut
-

Für die molekulare Diagnostik von Blutproben eignen sich bevorzugt EDTA- oder Zitratblut. Auch getrocknete Blutstropfen auf Filterpapierkarten können verwendet werden oder Abstriche der Wangenschleimhaut. Heparin ist als Antikoagulanz nicht geeignet, da es die PCR stört.

Karte 20: Indikationen

Info Text

Am nächsten Morgen warten bereits eine ganze Reihe von Blutproben auf Sie, u.a. die einer 51-jährigen Patientin. Der Auftrag lautet: Thrombophilie?

Frage

Welche Untersuchungen sollten Sie durchführen?

Multiple Choice-Antwort:

- A: Bestimmung von Antithrombin
 - B: Bestimmung der Faktor XIII-Konzentration
 - C: Nachweis von Faktor V Leiden
 - D: Nachweis der Prothrombinvariante G20210A
 - E: Bestimmung von Protein S und C
-

Faktor XIII vernetzt in seiner aktivierten Form das bei den Gerinnungsprozessen gebildete Fibrin zu einem stabilen, mechanisch belastbaren Netzwerk. Bei Faktor- XIII-Mangel kommt dieses Netz nicht im ausreichenden Maß zu Stande und es kommt zu den typischen Blutungen (postoperative Nachblutung).

Faktor V Leiden, die Prothrombinvariante G20210A sowie ein Protein S- oder Protein C- Mangel und Mangel an Antithrombin fördern die Gerinnungsbereitschaft des Blutes (Thrombophilie).

Karte 21: Geeignete Methoden

Info Text

Die Aufgabe in der nächsten Anforderung ist schon viel deutlicher. Der Auftrag lautet: Prothrombinanomalie?

Frage

Welche Labormethoden eignen sich zur Bearbeitung dieses Auftrages?

Multiple Choice-Antwort:

- A: Phänotypischer Nachweis einer APC-Resistenz
 - B: Gerinnungsphysiologische Bestimmung von Faktor II
 - C: Nachweis der Mutation G20210A im Faktor II Gen
 - D: Thrombozytenfunktionstest mit mehreren Agonisten
 - E: Gerinnungsphysiologische Bestimmung von Faktor VIII
-

TrägerInnen der Prothombinvariante G20210A weisen zwar im Mittel etwa 30% höhere Plasma-Prothrombinspiegel auf als NichtträgerInnen, aber dieser Unterschied besitzt wegen der Überlappung der Verteilungen keine diagnostische Aussagekraft über das Vorliegen einer Prothrombinmutation. Die anderen genannten Parameter stehen in keinem Zusammenhang mit Prothrombin.