

Anweisung für die fachgerechte Entnahme und Behandlung von EDTA-Blut für die molekulargenetische Untersuchung

1. Zweck

Diese Arbeitsanweisung beschreibt die fachgerechte Entnahme, die sichere Identifizierung und den Versand von EDTA-Blutproben für die molekulargenetische Diagnostik. Sie gilt für Personen, die Blutentnahmen am Patienten vornehmen. Dies sind das ärztliche Personal sowie eingewiesene MTAs oder Arzthelferinnen.

2. Blutentnahme

2.1 Patient:

Der/die Patient/in meldet sich an zur Blutentnahme. **Der Patient ist zu befragen,**

- **ob er bei Blutentnahmen schnell kollabiert und ob die Blutentnahme lieber im Liegen vorgenommen werden sollte;**
- **ob er zur Risikogruppe der Patienten mit gefährdenden Infektionen zählt (HIV, Hepatitis C oder -B oder ähnliches). In diesen Fällen muss eine TRBA 250-konforme Sicherheitsnadel benutzt werden.**

2.2 Zusammenstellen der Entnahmematerialien:

Entsprechend dem Untersuchungsauftrag wird ein mit Trikalium- oder Dikalium-EDTA gefülltes 2- oder 10 ml-Entnahmeröhrchen mit dem ***Namen, Vornamen*** und dem ***Geburtsdatum*** versehen (z. B. in Form eines Barcode-Etiketts).

2.3 Hautdesinfektion:

Schutzhandschuhe anziehen!

Vor der Venenpunktion muss die Punktionsstelle mit Hautdesinfektionsmittel desinfiziert werden. Einwirkzeit von mindestens 15 Sekunden beachten! Anschließend wird überschüssiges Desinfektionsmittel abgewischt.

2.4 Venenstau

- Der Venenstau muß grundsätzlich zum besseren Auffinden der Vene und zur Punktion angelegt werden. Bei normal konstituierten Venen kann der Stau während der Blutentnahme geöffnet werden.

Folgende Besonderheiten gilt es zu beachten.

- Die Staubinde immer eine Handbreit proximal von der Punktionsstelle anlegen.

- Der arterielle Zufluss in das Gefäßsystem des Armes darf durch den Stau nicht unterbrochen werden. Der venöse Rückfluss sollte dabei vollkommen gestaut sein. Der Puls muss fühlbar bleiben.
- Bei zu starkem Stau kann der arterielle Blutzufuhr unterbrochen werden und damit auch der Blutfluss aus den Venen in das Entnahmeröhrchen.
- Eine zu starke Stauung ist durch eine beginnende Blaufärbung des Armes zu erkennen. Der Stau muss dann sofort gelöst werden.
- War der Stau zum Auffinden der besten Punktionsstelle bereits längere Zeit angelegt, so sollte er vor der Punktion für ein bis zwei Minuten gelöst werden.

2.5 Wahl der Punktionsstelle

Zur Blutprobengewinnung können grundsätzlich alle oberflächlich liegenden Venen der Ellenbeuge, des Unterarms und des Handrückens punktiert werden:

- ***Ellenbeuge***
Venae medianae - Vena basilica - Vena cephalica
- ***Unterarm***
Vena cephalica
- ***Handrücken***
Handrückenvene

Zunächst wird dem Patienten die Staubinde angelegt. Er ballt die Faust, damit die Venen gut hervortreten. Sein Arm bleibt durchgestreckt und nach unten gerichtet.

Durch visuelle Begutachtung und durch Abtasten der Venen werden folgende patientenindividuelle Merkmale geprüft:

- *Lage der Vene*
- *Verlauf der Vene*
- *Beschaffenheit der Vene*

Sorgfältiges Abtasten der Venen erleichtert das Auffinden von tiefer liegenden, aber gut punktierbaren Gefäßen. Venen lassen sich leicht ertasten; sie sind prall, elastisch und von Sehnen und Muskeln gut zu unterscheiden.

Vorsicht: Bei pulsierenden Blutgefäßen an der Ellenbeuge wird die Arterie getastet.

2.6 Spezielle Hinweise für die Wahl der Punktionsstelle

Sind Venen weder sichtbar noch tastbar, wird folgendes Vorgehen empfohlen:

- Mehrmaliges Öffnen und Schließen der Faust bei angelegter Staubinde
- Arm nach unten hängen lassen
- Arm von Handgelenk zur Ellenbeuge massieren
- Punktionsgebiet mit Zeige- und Mittelfinger fest abklopfen.

Diese Maßnahmen sind geeignet, um die Venen zu erweitern und für eine bessere Durchblutung zu sorgen.

2.7 Venenpunktion

Allgemeine Vorkehrungen

- Nachdem die richtige Punktionsstelle ausgewählt ist, sorgfältig die umgebende Haut desinfizieren.
- Die Punktionsstelle nachher nicht mehr abtasten.
- Den Stau angelegt lassen (hat die Suche nach der Vene längere Zeit in Anspruch genommen, Stau lösen, etwas warten und dann neu anlegen).

Die Punktion an der Ellenbeuge und am Unterarm

- Den Arm des Patienten durchgestreckt lassen. Eine entsprechende Unterlage stützt das Ellenbogengelenk ab, damit beim Einstich keine spontane Bewegung des Patienten erfolgen kann. Beim Abknicken des Ellenbogengelenks verschwindet die Vene im Gewebe; die Punktion wird erschwert und manchmal unmöglich.
- Besonders wichtig ist das richtige Straffen der Haut. Dies erleichtert das Eindringen der Kanüle unter die Haut und fixiert die Vene. Die Straffung der Haut muss solange erfolgen, bis die Kanüle sicher platziert ist.
- Für die Punktion sollten Kanülen der Größen 20G (deutsche Nr. 1, gelb) oder 21G (Nr. 2, grün) verwendet werden.
- Die Nadel sollte während der Punktion ungefähr in einem 15°-Winkel zum Arm des Patienten gehalten werden. Ein leichtes Abbiegen der Stahl-Kanüle mit der Schutzhülle ist möglich, um einen kleineren Anstichwinkel zu erreichen.
- Die Kanüle in Verlaufsrichtung der Vene einführen, bis die gesamte Kanülenöffnung in der Vene liegt. Dies ist bei ca. 1 cm Kanülevorschub unter die Haut gewährleistet. Weiterer Vorschub ist nicht vorteilhaft, da dadurch nur das Perforationsrisiko erhöht wird.
- Bei der Punktion bitte scharf geschliffene und gut gleitende Kanülen verwenden. Ein schmerzhafter Einstich kann zu Gewebe- und Gefäßkontraktionen führen und somit zu Problemen bei der anschließenden Blutentnahme.

Spezielle Hinweise für die Punktion an Ellenbeuge und Unterarm

- Bei Rollvenen ist das exakte Fixieren der Vene besonders notwendig. Dabei wird der Patientenarm von hinten gefasst. Daumen und Mittelfinger straffen die Haut nach den Seiten.
- Bei sehr feinen Venen sollte der Kanülendurchmesser den Venenverhältnissen angepasst werden. Eine 21G- oder 22G-Kanüle ist angebracht.
- Ist bei sehr schwachen und feinen Venen bei niedrigem Blutdruck mit mehrmaligem Kollabieren der Vene und vollkommenem Stopp des Blutflusses zu rechnen, sollte ein Butterfly bevorzugt werden. Ein Übergang zur Abtropfmethode ist dann immer möglich.
- Blindpunktionen an der Ellenbeuge, wenn die Vene weder sichtbar noch tastbar ist, sollten wegen der Gefahr einer versehentlichen Arterien-Punktion nicht vorgenommen werden.

Die Punktion am Handrücken

- Bei der Punktion am Handrücken ist das Fixieren der Handrückenvene durch Straffen der Haut über die Mittelhandknöchel besonders wichtig.
- Die Punktion am Handrücken sollte mit einer 21G-Kanüle oder einer noch dünneren Kanüle durchgeführt werden.
- Als vorbeugende Maßnahme ggf. eine Adapter-Kanülen-Kombination verwenden, um bei extremen Fällen auf die Abtropfmethode übergehen zu können.
- Um das Wegrollen der Handrückenvene zu vermeiden, ist die Punktion direkt in die Gabelung einer der Handrückenvenen sinnvoll.
- Bei sehr dünnen Handrückenvenen empfiehlt sich die Anwendung von Butterfly-Kanülen.

Beim Sarstedt-Blutentnahmesystem:

- Das Röhrchen wird mit einer leichten Dreh- und Druckbewegung in den Bajonettverschluss der Nadel gesteckt.
- Beim Wechsel der Röhrchen gilt es die Nadel zwischen Zeigefinger und Daumen festzuhalten und mit allen restlichen Fingern auf der Haut zu fixieren, damit ein Verrutschen unmöglich wird.
- Beim Abnehmen von EDTA-, Heparin- und Citratblut sollte zuerst nur die Nadel in der Vene platziert werden, bevor das Röhrchen aufgesteckt wird (kein Rückfluss von Antikoagulans, kein Ziehen von Luft).

2.8 Spezielle Hinweise zur Blutentnahme

Erscheint nach dem Einstich kein Blut im Röhrchen, so ist zunächst zu vermuten, dass die Vene nicht getroffen ist.

- Die Kanülenspitze liegt nicht vollständig in der Vene: Blutentnahmebesteck weiter in die Vene einführen.
- Die Kanüle wurde zu weit eingeführt und liegt bereits hinter der Vene: Blutentnahmebesteck leicht zurückziehen.
- Die Kanüle liegt neben der Vene: Mit der freien Hand die Vene ertasten und die Lage des Entnahmebestecks korrigieren.
- Bei sehr dünnen, feinen Venen, die regelmäßig bei Verwendung des Vakuumsystems kollabieren, ist auch bei Verwendung von manuellen Aspirationsmethoden das Kollabieren nicht immer auszuschließen.
- Die Kanülenöffnung liegt an der Veneninnenwand an: Durch vorsichtiges Drehen des Blutentnahmebestecks löst sich die Venenwand von der Kanülenspitze.
- Fließt trotzdem kein Blut in das Röhrchen ein, kann die gesamte Vene kollabiert sein: Beim Vacutainer-System das Röhrchen aus dem Halter nehmen. Damit wird das Vakuum von der Vene genommen, die Vene erholt sich, und die Blutentnahme kann mit dem gleichen, nicht vollständig gefüllten Röhrchen weitergeführt werden.
- Bei mehrmaligem Kollabieren sollte zusätzlich der Stau gelöst und wieder angelegt werden, damit arterielles Blut ungehindert nachfließt und die Vene wieder gefüllt wird.

- In seltenen Fällen kann das Röhrchen durch Alterung oder Schädigung das Vakuum verlieren.

Kann bei äußerst schwierigen Venenverhältnissen am Arm weder an Ellenbeuge, Unterarm oder Handrücken Blut gewonnen werden, ist eine Punktion der Vena femoralis durch den Arzt möglich.

2.9 Versorgung des Untersuchungsmaterials:

Das EDTA-Probenröhrchen wird auf dem Weg zur Ablage mindestens 3-mal über Kopf gemischt. Eine erneute Mischung erfolgt nach Versorgung der Punktionsstelle. Anschließend wird die Probe bis zum Versand bei Raumtemperatur gelagert.

2.10 Nachsorge der Punktionsstelle

Nach Beendigung der Blutentnahme das letzte Röhrchen abnehmen. Erst dann die Nadel ziehen und gleichzeitig mit der einen Hand mittels Tupfer die Punktionsstelle komprimieren.

Hämatome, die nach einer Venenpunktion auftreten, haben primär nichts mit dem angewandten Punktionssystem zu tun. Die effektivste Art, Hämatome zu verhindern, ist eine gute manuelle Kompression, die bei normaler Gerinnung zwischen 2 bis 4 Minuten dauern sollte. Dazu den Arm hochheben und gleichzeitig die Kompression durchführen. Die Punktionsstelle wird anschließend mit einem Pflaster versorgt.

2.11 Entsorgung der Punktionsnadeln

Bei TRBA 250-konformen Sicherheitsnadeln wird der Sicherungsmechanismus unmittelbar nach Entfernen der Nadel aus der Punktionsstelle – einhändig – ausgelöst und anschließend die Nadel in die nächststehende Entsorgungsbox geworfen. Konventionelle Nadeln werden auf die gleiche Art einhändig in die nächste Entsorgungsbox abgeworfen.

Es ist verboten:

- **Nadeln mit dem Sterilschutz wieder zu verschließen.**
- **Durch Nachdrücken das Fassungsvermögen der Entsorgungsboxen zu erhöhen.**

2.12 Was tun im Fall einer Stichverletzung ?

- Punktionsstelle ausspülen und bluten lassen.
- Desinfizieren.
- Jede Stichverletzung ist im Verbandsbuch sofort zu dokumentieren.
- Der Unfallhergang ist zu beschreiben.
- Vom punktierten Patienten ist eine Einwilligung zur Untersuchung auf HIV, anti-HCV und HBSAG einzuholen. Das Ergebnis ist zu dokumentieren und gegebenenfalls eine Infektionsprophylaxe zu betreiben (s.u.).
- Beim Verletzten Untersuchung auf anti-HBs-Titer (auch bei Geimpften), anti HCV-IgG, HIV-Test (Erstbestimmung möglichst umgehend nach dem Unfall, dann Verlaufskontrolle des Verletzten nach 6, 12 und 26 Wochen).
- **Hepatitis B:**
Bei sicher geschütztem Verletzten (anti-HBs >100 U/l) sind keine weiteren Maßnahmen bzw. Kontrollen erforderlich. Bei nicht sicher geschütztem Verletzten (anti-HBs <100 U/l) wird die aktive Impfung spätestens 48 h nach dem Unfall empfohlen (auch bei nicht-infektiösem Spender). Bei infektiösem Spender und ungeschütztem Verletzten sollte eine aktiv/passive Simultan-impfung erfolgen (bis zu 7 Tagen nach Inokulation). Bei anti-HBs-Titern des Verletzten zwischen 10 und 100 U/l reicht die aktive Impfung.

- **HIV:**
Eine antivirale HIV-Postexpositionsprophylaxe wird bei positivem Spender im Zeitraum von 2 bis höchstens 24 (-72) h nach der Verletzung empfohlen, bei hohem Risiko und unbekanntem Spenderstatus ggf. auch "auf Verdacht".
- **Hepatitis C:**
Eine antivirale Postexpositionsprophylaxe (z.B. mit Interferon und Ribavarin) wird gegenwärtig (auch bei infektiösem Spender) nicht primär, sondern nur nach Serokonversion (oder bei Virusnachweis) des Verletzten empfohlen.
- Durchgangsarzt aufsuchen.

3. Auftragsdaten vervollständigen

3.1. *Untersuchungsantrag* ausfüllen:

- Name, Vorname, Geburtsdatum, Geschlecht und ethnische Herkunft des Patienten, molekulargenetische Voruntersuchungen, Indexpatient vorhanden (wenn ja, Angabe von molekulargenetischen Vorbefunden), Art der Untersuchung (diagnostisch, prädiktiv oder vorgeburtlich), Art des Untersuchungsmaterials, Entnahmedatum, klinische und anamnestische Angaben zur Prüfung des Antrags, gewünschte Untersuchung(en);
- Kostenträger (bei Privatpatienten und Selbstzahlern Adresse des Patienten);
- Name, Adresse, Telefon- und Fax-Nummer des Einsenders.

3.2 Bei ambulanten Kassenpatienten *Überweisungsschein Muster 10* mit (Verdachts-) Diagnose und gewünschten Untersuchungen beifügen.

3.3 *Einverständniserklärung* für die humangenetische Untersuchung bzw. Bestätigung gemäß GenDG über die Aufklärung und Einwilligung des Patienten beifügen.

4. Probenversand

Für den Probenversand sind die Vorgaben der Biostoffverordnung und der EU-Norm für den Transport diagnostischer Proben (P 650) relevant.

Durch eine vom Gesetzgeber geänderte Gefährdungseinstufung für den Transport medizinisch diagnostischer Proben im Straßenverkehr und auch beim Postversand muß ein erheblicher Aufwand für die Verpackung auf dem Transportweg betrieben werden. Es ist eine 3 -fach Verpackung der Proben notwendig, die zusätzlich einem amtlichen Prüftest standhalten muß.

Wir empfehlen die Kombination von:

- geschlossenem Blutentnahmesystem (z. B. Monovette der Fa. Sarstedt)
- flüssigkeitsdichter und schlagfester Umverpackung (Kunststoff-Container mit Deckel) und
- zugelassener Versandtasche/Versandkarton.

Der Probenversand erfolgt bei Raumtemperatur auf dem normalen Postwege. Nur bei Analysen, für die eine Präparation der RNA notwendig ist (z. B. zum Nachweis bzw. Ausschluß der t(9;22)-Translokation (BCR/ABL-Fusionsprodukt, Philadelphia-Chromosom) oder bei einer Untersuchung auf eine somatische KIT-Mutation z. B. im Rahmen der Abklärung einer Mastozytose), ist ein Eilversand angezeigt, da das Material möglichst innerhalb von 24 Stunden nach der Abnahme im Labor eintreffen sollte.