PRÄANALYTIK-HANDBUCH

Präanalytik, Probenannahme, Probentransport

Immunologielabor

LEITER: PROF. DR. MED. ANSGAR SCHULZ

der

Klinik für Kinder- und Jugendmedizin
(Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. med. Debatin)

am

Universitätsklinikum Ulm

Erstellt	Formal geprüft	Freigegeben und in Kraft gesetzt
Datum: 19.12.2022	Datum: 29.12.2022	Datum: 30.12.2022
Unterschrift: Dr. E. Jacobsen	Unterschrift: PD Dr. M. Hönig	Unterschrift: Prof. Dr. A. Schulz

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten

Inhalt

1 ALLGEMEINE INFORMATIONEN 3

1.1.1 Kontakt ... 3
1.1.2 Erreichbarkeit des Labors/ Annahmezeiten ... 4
1.1.3 Tätigkeiten ... 4

2 LEISTUNGSVERZEICHNIS 5

3 PROBENENTNAHME UND ANFORDERUNG VON UNTERSUCHUNGEN 10

3.1 Indikationsstellung und Abnahmebedingungen 10
3.2 Vorbereitung des Patienten 10
3.3 Anforderung an das die Probe entnehmende Personal 10
3.4 Identifizierung und Prüfung 11
3.5 Annahmekriterien 11
3.6 Laboranforderungsbeleg und Probenidentifikation 11
3.6.1 Schriftliche Beantragung ... 11
3.7 Gründe für die Nichtbearbeitung von Analysen 12
3.8 Transport und Lagerung 12
3.8.1 Interne Proben ... 12
3.8.2 Externe Proben ... 13
3.9 Laborergebnisse und Bearbeitungszeiten 14
3.10 Beeinflussung der Untersuchungsergebnisse 15
3.11 Untersuchungen 15
3.12 Wiederholungsanalysen/ Nachforderungen/ Entsorgung des Probenmaterials/ 15

4 BERICHT/(BEFUND) 16

4.1 Befund in gedruckter Form 16
4.1.1 Inhalt des Befundberichtes ... 16
4.2 Datenschutz 16

5 QUALITÄTSSICHERUNG IM LABOR 17

5.1 Interne Qualitätssicherung 17
5.2 Externe Qualitätssicherung 17

6 VORGEHEN BEI ÄNDERUNGEN 17

7 BESCHWERDEMANAGEMENT 18

8 MITGELTENDE DOKUMENTE 18

Auf Aktualität geprüft/ überarbeitet am:	***Durch:***
Verteiler:	
ORIGINAL: **QMB**	
Kopien: **nach Verteilerschlüssel (s. FB-LD 1)**	

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten

1 ALLGEMEINE INFORMATIONEN

Das Immunologielabor der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin verfügt über langjährige Erfahrung im Bereich der Diagnostik primärer Immundefektserkrankungen und der diagnostischen Nachsorge von Patienten nach Stammzell-Transplantation.

Hier möchten wir sowohl externen als auch klinikumsinternen Einsendern wichtige Hinweise zum Probenmaterial und dem Versand der Proben geben.

Alle vom Immunologielabor angebotenen Untersuchungen sind mit den notwendigen Angaben zur Präanalytik, Indikation und Probenmenge im Leistungsverzeichnis aufgelistet. Das Leistungsverzeichnis wird elektronisch im Intranet (SAP - beleglose Anforderung) und im Internet auf der Homepage des Labors zur Verfügung gestellt (https://www.uniklinik-ulm.de/kinder-und-jugendmedizin/labore/diagnostische-laboratorien/immunologie-labor.html)

Für eine Untersuchung in unserem Labor ist eine vorhergehende Absprache und Beratung durch einen der unten genannten Ansprechpartner unbedingt notwendig:

Für klinische Fragen (z.B. Indikation, Auswahl Untersuchungen, Interpretation von Untersuchungsergebnissen) wenden Sie sich bitte an **Prof. Dr. Ansgar Schulz** oder **PD Dr. Manfred Hönig.**

Für technische Fragen (z.B. Probenmaterial und Menge) sowie Fragen zur Logistik und Terminvereinbarungen stehen **Dr. Eva Jacobsen** oder die technischen Mitarbeiterinnen zur Verfügung.

1.1.1 *Kontakt*

Ärztl. Leitung:

Prof. Dr. med. Ansgar Schulz
Tel.: 0731/500-57154 (Sekretariat)
E-Mail: ansgar.schulz@uniklinik-ulm.de

PD Dr. med. Manfred Hönig
Tel.: 0731/500-57154 (Sekretariat)
E-Mail: manfred.hoenig@uniklinik-ulm.de

Laborleitung:

Dr. rer. physiol. Eva Jacobsen
Tel.: 0731-500-57202
E-Mail: eva-maria.jacobsen@uniklinik-ulm.de

Technische Mitarbeiterinnen:

Andrea Hänsler	Tel. 0731-500-57163
Carmen Blum	Tel. 0731-500-57163
Ulrike Tengler	Tel. 0731-500-57163
Gudrun Kirsch	Tel. 0731-500-57163 (Ansprechpartnerin SCID-Register)
~~Sonja Landthaler~~	
Aloisia Tritschler	Tel. 0731-500-57163

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten

Name des Labors:	Immunologielabor
Adresse:	Eythstrasse 24 D-89075 Ulm Germany
Lieferadresse:	Eythstrasse 24 Haus 3, Raum 113 D-89075 Ulm Germany
Telefon:	+49 (0)731-500-57163
Telefax:	+49 (0)731-500-57247
e-Mail:	ansgar.schulz@uniklinik-ulm.de eva-maria.jacobsen@uniklinik-ulm.de

Homepage	https://www.uniklinik-ulm.de/kinder-und-jugendmedizin/labore/diagnostische-laboratorien/immunologie-labor.html
Busverbindung:	Linie 7 Richtung Jungingen/Lehrer Feld bzw. Kliniken Michelsberg

1.1.2 *Erreichbarkeit des Labors/ Annahmezeiten*

Montag-Donnerstag: 8:00 Uhr – 16:30 Uhr

Freitag: 8:00 Uhr – 15:00 Uhr / **Annahmezeit nur bis 13:00 Uhr**

1.1.3 *Tätigkeiten*

Der Tätigkeitsschwerpunkt des Immunologielabors liegt in der diagnostischen Abklärung von Immundefekten im Kindesalter. Für die erfolgreiche Behandlung angeborener Immundefekte ist eine frühe Diagnosestellung von großer Bedeutung. Ein weiterer Tätigkeitsschwerpunkt des Immunologielabors ist die Überwachung der Immunrekonstitution und die diagnostische Nachsorge nach erfolgter Stammzelltransplantation.

Die meisten der im Immunologielabor durchgeführten Untersuchungen basieren auf der durchflusszytometrischen Analyse von Zellen. Hierbei werden Zellen des Blutes unter Einsatz von floureszenzmarkierten Antikörpern, welche gegen spezifische Proteine (Antigene) bestimmter Zellpopulationen gerichtet sind, quantitativ charakterisiert und differenziert. Die Durchflusszytometrie ermöglicht hierbei in kürzester Zeit die Messung der Antigene auf einer Vielzahl von Blutzellen.

Neben den phänotypischen Untersuchungen werden T-Zellen, NK-Zellen und Granulozyten auch funktionell mit verschiedenen Methoden analysiert.

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten

2 LEISTUNGSVERZEICHNIS

Bitte vor dem Probenversand unbedingt Abnahmebedingungen (s. 3.1.) beachten!

Falls nicht anders beschrieben (Bemerkungen) muss das Probenmaterial innerhalb 24h (in Ausnahmefällen bis spätestens 48h s. 3.1.) nach Entnahme im Labor ankommen. Der Versand und die Lagerung vor dem Versand erfolgt bei Raumtemperatur (Material darf nicht gefrieren!).

1. phänotypische Untersuchungen (1)

Untersuchung	Benötigtes Material	Benötigte Menge	Bemerkungen
Lymphozytenphänotypisierung	Heparinblut	1 ml	Folgende Populationen werden untersucht: **Routine-Panel:** CD45+ (Leuko) CD19+ (B-Zellen) CD14+ (Mono) CD16 und 56+/(CD3-) (NK) CD3+/16 und 56+ (NK-like T cells) CD3+ (T-Zellen) CD3+/CD4+ (va. T-Helfer) CD3+/CD8+ (va. Zytotox. T-Zellen) CD3+/CD4+/CD8+ (dp T-Zellen) CD3+/CD4-/CD8- (dn T-Zellen) HLA-DR HLA-DR+ T-Zellen (aktivierte CD3+/CD4+/CD8+T-Zellen) naïve/memory CD4+ und CD8+ T-Zell Populationen:CD45RA+/ CCR7+ (naïve) CD45RA+CCR7- (effector) CD45RO+/CCR7+ (central memory) CD45RO+/CCR7- (effector memory) CD45RO+/CD4+ (memory CD4+ T-Z.) CD45RA/RO dp CD4+ Zellen TCR ab TCR gd TCR ab+/CD4-/CD8- (dn ab-T-Zellen) TCR gd+/CD4-/CD8- (dn gd-T-Zellen) **Zusätzlich bei Indikation:** MHC Klasse 1, LFA1 (s. Adhäsionsmoleküle), RTE (recent thymic emigrants) (CD4/CD31/CD45RA+)
HLA-Chimärismusanalyse (durchflusszytometrisch) Einschließlich Differenzierung der Lymphozyten-Subpopulationen: CD3, CD19, NK (CD56+CD16), CD14	Heparinblut	1 ml	Derzeit für folgende HLA-Typen möglich: A1, A2, A3, A11, A23, A24, A25, A26, A28, A29, A30, A31, A32 B7, B8, B13, B15, B27, B62 –
Leukozytenadhäsions-moleküle	Heparinblut	1 ml	Untersuchung von LFA-1 (CD11a) und CD18 auf Lymphozyten und Granulozyten
T-Zell-Rezeptor (TCR) –Panel	Heparinblut + Kontrolle	je 5 ml	Durchflusszytometrische Untersuchung der Vß – T-Zell- Rezeptoren, **gesunde Kontrolle erforderlich**

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten

Bitte vor dem Probenversand unbedingt Abnahmebedingungen (s. 3.1.) beachten!

Falls nicht anders beschrieben (Bemerkungen) muss das Probenmaterial innerhalb 24h (in Ausnahmefällen bis spätestens 48h s. 3.1.) nach Entnahme im Labor ankommen. Der Versand und die Lagerung vor dem Versand erfolgt bei Raumtemperatur (Material darf nicht gefrieren!).

1. phänotypische Untersuchungen (2)

Untersuchung	Benötigtes Material	Benötigte Menge	Bemerkungen
B- Lymphozytenphänotypisierung	Heparinblut	5-10 ml	Folgende Populationen werden untersucht: CD19+, CD20+, CD27+ Lympho CD21/38 low CD19+ (CD21 low B-Zellen) IgM++CD38++CD19+ (Transitionale B-Zellen) IgD+ CD27-CD19+ (naive B-Zellen) IgM+CD27+CD20+ CD19+ (IgM Memory) IgM+IgD-CD27+CD19+ (IgM only) IgM+IgD+CD27+CD19+ (Marginal-zone-like memory B) IgM-CD20+CD27+ CD19+(class-switched memory B) IgA+CD19+ IgG+CD19+ B-Zellen CD20-CD19+CD27+IgM+ (IgM Plasmablasten) CD20-CD19+CD27+IgM- (class-switched Plasmablasten) IgD only (IgM-IgD+CD19+)
WASP-Analyse (intrazellulär)	EDTA- od. Heparin-Blut + Kontrolle	je 1 ml	Blut darf nicht älter als 24h sein **gesunde Kontrolle erforderlich**
FoxP3-Analyse (intrazellulär)	Heparinblut + Kontrolle	je 5-10 ml	Blut darf nicht älter als 24h sein, **gesunde Kontrolle erforderlich**
Perforin-Expression (intrazellulär)	Heparinblut + Kontrolle	je 5 ml	Blut muss frisch sein, Externe Einsendungen nur eingeschränkt möglich (Expressversand, Eintreffen der Proben im Labor spätestens um 11:00 Uhr) **gesunde Kontrolle erforderlich**
XIAP und SAP Expression (intrazellulär)	Heparinblut + Kontrolle	je 5 ml	Blut darf nicht älter als 24h sein, **gesunde Kontrolle erforderlich**
NK-T Zellen (anti-TCR α24/β11)	Heparinblut + Kontrolle	2-5 ml	**gesunde Kontrolle erforderlich** **Untersuchung erfolgt i. d. R. parallel zu XIAP und SAP Analyse.**

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten

Bitte vor dem Probenversand unbedingt Abnahmebedingungen (s. 3.1.) beachten!

Falls nicht anders beschrieben (Bemerkungen) muss das Probenmaterial innerhalb 24h (in Ausnahmefällen bis spätestens 48h s. 3.1.) nach Entnahme im Labor ankommen. Der Versand und die Lagerung vor dem Versand erfolgt bei Raumtemperatur (Material darf nicht gefrieren!).

1. phänotypische Untersuchungen (3)

Untersuchung	Benötigtes Material	Benötigte Menge	Bemerkungen
Spender-Zell Analyse	Heparin-KM	1 ml	KM: CD34, CD3, CD19
DN-T-Zellen (TCRαβ+/CD4+8neg)			Werden im Rahmen der T-Lymphozyten Immunphänotypisierung untersucht
CD95 (Fas, Apo1)	Heparinblut	1 ml	**gesunde Kontrolle erforderlich**
CD40 Rezeptor	Heparinblut	1 ml	**gesunde Kontrolle erforderlich**
CD119 (IFNgR α-Kette)*	Heparinblut	1 ml	**gesunde Kontrolle erforderlich**
T-Zell-Aktivierungsmarker* Ex vivo Analyse zur Untersuchung bereits aktivierter T-Zellen und/ oder nach in vitro Stimulation (je nach Fragestellung unterschiedl. Methoden) zur Untersuchung der Aktivierbarkeit von T-Zellen	Heparinblut + Kontrolle	1 ml: ex vivo 5-10 ml: Aktivierungs marker nach Stimulation	CD25, CD69, (HLA-DR im Rahmen der Lymphozytenphänotypisierung) Blut darf nicht älter als 24h sein, **gesunde Kontrolle erforderlich**
Intrazelluläre Zytokine (TH1-, TH2-, TH17-Zellen)	Heparinblut + Kontrolle	je 10 ml	**IFNg**, , **IL4**, , **IL17** in T-Zell-Populationen nach Stimulation Blut darf nicht älter als 24h sein, **gesunde Kontrolle erforderlich**

grau unterlegt: Untersuchungen werden außerhalb der Routinediagnostik durchgeführt, Indikation mit Rücksprache dringend erforderlich

* nicht akkreditierte Methode

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten

Bitte vor dem Probenversand unbedingt Abnahmebedingungen (s. 3.1.) beachten!

Falls nicht anders beschrieben (Bemerkungen) muss das Probenmaterial innerhalb 24h (in Ausnahmefällen bis spätestens 48h s. 3.1.) nach Entnahme im Labor ankommen. Der Versand und die Lagerung vor dem Versand erfolgt bei Raumtemperatur (Material darf nicht gefrieren!).

2. Funktionelle Analysen

T-Zell-Funktionen: (Proliferationsassay mit 3H-Thymidin-Markierung)	Heparinblut	mind. 10 ml, bei Lymphopenie 15-20 ml	„Mitogene“ : PHA, OKT3/CD28, IL-2 „Antigene“ : Tetanustoxoid, Candidin, CMV, Adenovirus, Tuberkulin (PPD), MLC (allogen) **Blut darf nicht älter als 24h sein** wird ca. alle 2-3 Wochen aus zunächst kryokonservierten Zellen durchgeführt, Ergebnis nach 10-30 Tagen.
Granulozytenfunktionen (Burst: Dihydrorhodamin-Nachweis nach Stimulation und Phagozytose: Nachweis phagozytierter E. coli FITC)	**Lithium (!)** Heparinblut + Kontrolle	je 2 ml	Blut muss frisch und bis spätestens 9:00 im Labor sein! Externe Einsendungen nur eingeschränkt möglich (Expressversand, Eintreffen der Proben im Labor max. 4h nach Blutentnahme, spätestens um 11:00 Uhr) **gesunde Kontrolle erforderlich**
CD40-Ligand Expression (nach T-Zell Stimulation)	Heparinblut + Kontrolle	je 10-15 ml	Blut darf nicht älter als 24h sein, **gesunde Kontrolle erforderlich**
CD107a Freisetzung (Degranulations-Assay NK-Zellen und CD8+ T-Zellen)	Heparinblut + Kontrolle	je 10-15 ml	Blut darf nicht älter als 24h sein, **gesunde Kontrolle erforderlich**
NK-Zell-Funktionen* (Zytotox-Assay, durchflusszytometrisch)	Heparinblut + Kontrolle	je 10-15 ml	Blut muss frisch sein, Expressversand, Eintreffen der Proben im Labor max. 4h nach Blutentnahme, spätestens um 10:30 Uhr **gesunde Kontrolle erforderlich**
Apoptose-Assay*	Heparinblut	15 ml	Die Untersuchung wird von PD Dr. G. Strauß im Forschungslabor durchgeführt. Die Probenannahme und Lymphozytenisolierung erfolgt im Immunologielabor

* nicht akkreditierte Methode

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten

Bitte vor dem Probenversand unbedingt Abnahmebedingungen (s. 3.1.) beachten!

Falls nicht anders beschrieben (Bemerkungen) muss das Probenmaterial innerhalb 24h (in Ausnahmefällen bis spätestens 48h s. 3.1.) nach Entnahme im Labor ankommen. Der Versand und die Lagerung vor dem Versand erfolgt bei Raumtemperatur (Material darf nicht gefrieren!).

3. Zellseparation			
Aufreinigung von Zellpopulationen für externe Chimärismusanalysen (XY-FISH, STR-Analyse)**	Heparinblut bzw. Heparin-KM	10 ml	Blut darf nicht älter als 24h sein Folgende Populationen können separiert werden: MNC / CD3+ / CD3- / Granulozyten CD34+ ggf. Einverständniserklärungen für molekulargenetische Chimärismusanalysen in externen Laboratorien (Humangenetik, IKT Labor Schwarz, Chimärismuslabor Dr. Bader Frankfurt) nötig.
Aufreinigung von MNC**	Heparinblut bzw. Heparin-KM	10 ml	Blut darf nicht älter als 24h sein
4. Sonstiges			
Kryoasservierung von MNC**	Heparinblut bzw. Heparin-KM	10- 20 ml	Blut darf nicht älter als 24h sein
Kryokonservierung von Vollblut**	Heparinblut	3 ml	
Kryokonservierung von Serum**	Vollblut in Serumröhrchen	3 – 5 ml	Blut darf nicht älter als 24h sein
Fibroblastenkultivierung**	Hautbiopsie		Biopsie steril in NaCl 0,9% (Vanek-Becher) **ohne Kompresse** nicht älter als 24h

* nicht akkreditierte Methode

**nicht akkreditiert, da keine analytische Methode

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten

3 PROBENENTNAHME UND ANFORDERUNG VON UNTERSUCHUNGEN

3.1 Indikationsstellung und Abnahmebedingungen

Die Indikation zur diagnostischen Abklärung ist bei begründetem Verdacht auf einen Immundefekt bzw. zur Verlaufskontrolle gegeben.

Für eine Untersuchung in unserem Labor ist eine vorhergehende Absprache und Beratung durch einen der unter 1. genannten Ansprechpartner unbedingt notwendig

Für alle Untersuchungen wird zur Bestimmung der absoluten Zell-Werte ein aktuelles (gleichzeitige Blutentnahme) Differentialblutbild benötigt (Fax-Nr. s.o.)! Funktionelle Analysen bitte mindestens 5 Tage im Voraus anmelden!

Für alle Untersuchungen werden viable Lymphozyten / Granulozyten aus Heparinblut benötigt.

Für die Untersuchung von **Granulozytenfunktionen** wird zwingend **Lithium-** Heparinblut benötigt, für alle anderen Untersuchungen ist sowohl Natrium als auch Lithium-Heparin für die Antikoagulation geeignet.

Falls eine **gesunde Kontrolle** benötigt wird (s. 2. Leistungsverzeichnis), ist diese unter gleichen Bedingungen wie die Patientenprobe abzunehmen und zu versenden. Da die Abnahme einer altersentsprechenden Kontrolle nicht oder nur schwer praktikabel ist, wird Probenmaterial von gesunden, freiwilligen Spender*innen (i.d.R. vom Personal) verwendet.

Wenn im Leistungsverzeichnis nicht anders angegeben muss das Probenmaterial innerhalb 24h (Stabilität der Analyte gewährleistet) bis spätestens 48h (in Ausnahmefällen, Stabilität nicht immer gewährleistet) in unserem Labor eintreffen. Für einige funktionelle Untersuchungen wird frisch abgenommenes Probenmaterial benötigt, die Blutentnahme muss in Ulm am selben Tag erfolgen bzw. in der im Leistungsverzeichnis angegebenen Zeit ins Labor transportiert werden.

Das Probenmaterial wird bei **Raumtemperatur** (optimal: 15°C - 28°C, suboptimal: > 0°C - < 35°C) gelagert / versendet. **Bei kalten Außentemperaturen sind unbedingt Vorkehrungen zu treffen, die ein Gefrieren der Proben verhindern!** Ggf. muss auch für Untersuchungen, für die normalerweise keine gesunde Kontrolle erforderlich ist, in Fällen von Extremtemperaturen eine Transportkontrolle mit versendet werden (Absprache s.o.).

3.2 Vorbereitung des Patienten

Die Patienten müssen zur Blutentnahme in keiner besonderen Weise auf die Probenentnahme vorbereitet werden. Wird eine Knochenmarkpunktion in Narkose durchgeführt erfolgt die Vorbereitung gesetzeskonform nach den Regularien der Einsender (ggf. Aufklärung und schriftl. Zustimmung der Eltern zur Narkose bzw. Eingriff / Pat. nüchtern).

3.3 Anforderung an das die Probe entnehmende Personal

In der Probengewinnung aus einem venösen Katheter oder Venenpunktion ist die sofortige Vermischung des Blutes mit Antikoagulans essentiell. Bei der Ausbildung von Blutgerinnseln ist die Probe nicht mehr verwertbar.

Für die Entnahme (von benötigten Mengen bis zu 2 ml s.u.) können Lithium-Heparin Blutentnahmesysteme verwendet werden:

z.B. 2,7 ml Monovette (Sarstedt)

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten

Alternativ wird die Probe mit Natrium-Heparin (5000 i.E. unabhängig von der Probenmenge) gemischt, was vom Labor für größere Mengen an Probenmaterial (> 2 ml) bevorzugt wird: Die Bearbeitung im Labor wird durch die Zugabe von Natrium-Heparin im Vergleich zur Verwendung von Li-Heparin-Monovetten erleichtert, da das Heparin-beschichtete Granulat die Entnahme des Blutes aus den Primärprobenröhrchen mittels Pipetten erschwert. Ausnahme: Für die Analyse der Granulozytenfunktion ist Natrium-Heparinblut ungeeignet und Lithium-Heparin ein essentieller Zusatz!

In Ausnahmefällen kann je nach Analyse nach Rücksprache auch EDTA-Blut verwendet werden.

Zum Ablauf der Blutprobenentnahme gelten die Grundregeln: **Bekleben, Vergleichen** der **Röhrchen** und **Entnehmen** der **Probe!** ***Keine Blutentnahme in ein unbeschriftetes Behältnis!***

Die Identität der die Primärprobe entnehmenden Person, sowie das Entnahmedatum und falls notwendig der Entnahmezeitpunkt (z.B. mehrere Proben vom selben Tag) werden beim Einsender dokumentiert.

Die Entsorgung der Blutentnahmesysteme erfolgt in durchstichsicheren Behältnissen.

3.4 Identifizierung und Prüfung

Die im Labor eingehenden Aufträge werden auf Korrektheit bezüglich Etikettierung, Auftragserteilung, Material und Durchführbarkeit des Auftrages geprüft. Bei Unklarheiten wird Rücksprache mit dem Einsender gehalten und es erfolgt eine Abklärung mit der Laborleitung.

3.5 Annahmekriterien

Die Proben und Aufträge werden auf Vollständigkeit geprüft, ob zu jedem Auftrag das geeignete Material vorhanden ist und ob die Analysierbarkeit der Probe gewährleistet ist. Auf den Anforderungsbelegen müssen mindestens die unter 3.6.1 genannten Angaben vorhanden sein.

Proben, welche den Anforderungen an die Präanalytik nicht genügen (z.B. bei Posttransport gefroren, d.h. hämolysiert bzw. zu langer Transportweg oder geronnene Blut- / Knochenmarkprobe) werden nicht akzeptiert und der Auftrag wird entsprechend kommentiert. In diesen Fällen wird mit dem Einsender telefonisch Rücksprache gehalten.

Wenn Ungewissheit über die Identität der Primärprobe besteht und die Primärprobe unersetzbar oder kritisch ist, steht es dem Laboratorium frei, die Probe zu bearbeiten; die Ergebnisse dürfen aber nicht freigegeben werden, bevor der anfordernde Arzt oder die für die Entnahme der Primärprobe verantwortliche Person die Verantwortung für die Identifizierung und Annahme der Probe übernimmt und/oder die geeigneten Informationen liefert. In einem solchen Fall wird der Name der Person, die die Verantwortung für die Identifizierung der Primärprobe übernimmt, auf dem Anforderungsformular und im Befund eingetragen.
Unstimmigkeiten zwischen Auftrag und Material (fehlende Daten bzw. Material) werden bereits bei der Annahme der Proben oder telefonisch abgeklärt.

3.6 Laboranforderungsbeleg und Probenidentifikation

3.6.1 *Schriftliche Beantragung*

Die häufigste Kommunikationsform zwischen Arzt und Laboratorium ist die Anforderung von Laboruntersuchungen sowie die Berichtübermittlung. Auf den Anforderungsbelegen kann der einsendende Arzt die von ihm gewünschten Untersuchungen markieren bzw. in einem Freitext eingeben.

Die Laboranforderung wird hausintern über vereinheitlichte Laboranforderungsbelege (SAP) realisiert, Anleitung unter: http://www1.klinik.uni-ulm.de/struktur/klinikstruktur/kliniken/klinik-fuer-kinder-

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten

und-jugendmedizin/home/behandlungsstandards/immunologie-rheumatologie-und-stammzelltransplantation.html?no_cache=1

Externe Einsender können über die Homepage den Anforderungsschein herunterladen.

Die Anforderung von Laboruntersuchungen ist grundsätzlich eine ärztliche Handlung, die den Charakter einer ärztlichen Verordnung trägt. Sie bedarf deshalb der Schriftform (Laboranforderungsbeleg, Überweisungsschein o.ä.) und prinzipiell der (elektronischen) Unterschrift des Arztes. Mit der Unterschrift bestätigt der Arzt:

- ❑ Die Indikation bzw. die Fragestellung der Anforderung
- ❑ Die Repräsentanz des Untersuchungsmaterials
- ❑ Die Richtigkeit spezieller Daten, wie Diagnose, Alter, Abnahmedatum usw.
- ❑ Die Identität zwischen dem Namen auf dem Untersuchungsgefäß und dem Patienten, von dem das Untersuchungsmaterial gewonnen wurde

Für eine ordnungsgemäße Bearbeitung der Anforderung und die Befundübermittlung sind auf den Laboranforderungsbelegen unbedingt erforderlich:

- ❑ Patientenname und –vorname, Geschlecht bzw. eine eindeutige numerische Kennung (z.B. Patientenkenn-Nummer), postalische Anschrift
- ❑ Geburtsdatum
- ❑ Anforderer (Name, Code, postalische Anschrift), Empfänger für die Übersendung des Berichts mit Kontaktangaben
- ❑ Untersuchungsgut (ggf. Menge), Entnahmedatum und Entnahmezeit
- ❑ Angeforderte Untersuchungen
- ❑ wesentliche klinische Angaben (ggf. einschließlich Transplantationsdatum)

Falls es sich um eine dringende Untersuchung handelt, sollte dies auf dem Anforderungsschein ausdrücklich vermerkt werden. Proben zur Abklärung von auffälligen Befunden im SCID-Neugeborenen-Screening (bitte ebenfalls auf Anforderung angeben!) werden bevorzugt bearbeitet.

Im Labor erfolgt die Dokumentation des Probeneingangs auf dem Laboranforderungsbeleg mit Datum und Uhrzeit

3.7 Gründe für die Nichtbearbeitung von Analysen

Primärproben müssen, üblicherweise durch das Anforderungsformular, auf eine identifizierte Person rückverfolgbar sein. Primärproben, bei denen ein Nachweis der Identität fehlt, dürfen durch unser Labor nicht angenommen oder bearbeitet werden (s. 3.5. Annahmekriterien).

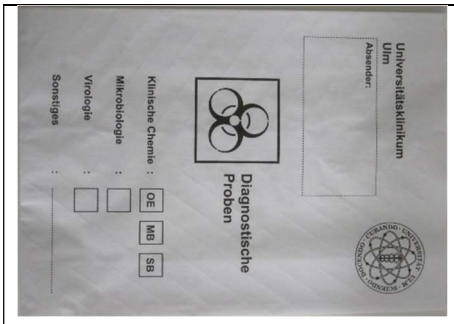
3.8 Transport und Lagerung

Das Probenmaterial sollte so schnell und sicher wie möglich unser Labor erreichen. Für den Versand per Post bitte die gesetzlich vorgeschriebenen Transportbedingungen beachten.

3.8.1 *Interne Proben*

Alle Laborproben sind grundsätzlich als infektiös zu betrachten. Für den Transport sollten die am Klinikum geltenden hygienischen Grundregeln beachtet werden:

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten

	Alle Proben müssen in die unter der SAP-Nummer 60098755 erhältlichen Transporttüten verpackt werden. Diese gilt auch für den Transport durch den Transportdienst innerhalb des Klinikums. Bitte markieren Sie auf den Tüten das Absender- und Empfängerfeld
	Für den Transport zwischen den Bereichen mit einem **Einzel-Taxi** müssen die Proben gemäß der [Gefahrgutverordnungen für den Transport von Labormaterial](#) im Straßenverkehr (GGSVE/ADR/BioStoffv) verpackt sein. Hierfür stellt das Klinikum Kartons unter der SAP-Nr.60098735 abgebildete Version bzw 60098754 (große Version) bereit. In diesem Transportkarton muss die Probe in einer zweiten Hülle mit Zellstoff verpackt sein. hierzu eignet sich ebenfalls der Transportbeutel, besser ist ein starres Gefäß. Der Zellstoff soll eventuell ausfließende Flüssigkeit aufsammeln. Bitte beachten Sie bei dem Transport mit einem Einzeltaxi auch den Datenschutz!

3.8.2 *Externe Proben*

Die externen Proben sollen unter UN 3373, Biologischer Stoff, Kategorie B versendet werden

	Die billigste Version zum Versand ist der baumustergeprüfte Maxibrief (T-Box - 901) als Pappkiste mit der Deutschen Post z.B. Sarstedt Mailing Box #95.900 oder 95.001
	Für den Versand mit anderen Transportdiensten (u. a. TNT) werden ähnliche kistenförmige Verpackungen aus Pappe (T-Box - Best. Nr. UKJ: 108571) für die meisten innerdeutschen Transporte als geeignet an Die Transportbedingungen müssen aber vor dem Versand abgeklärt werden

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten

	Bei TNT ist zusätzlich ein Frachtbrief auszufüllen und am Versandstück zu befestigen. Es darf auf keinem Fall die Raute mit UN 3373 (siehe linke obere Ecke der Abbildung) bzw. die Benennung überklebt werden!

Die Proben bitte ungekühlt bei Raumtemperatur verschicken. **Bei kalten Außentemperaturen ist unbedingt darauf zu achten, dass die Proben nicht gefrieren! s. auch 3.1.**

Auszug aus der P 650, die für UN 3373 gilt:

Die Verpackung muss aus mindestens 3 Bestandteilen bestehen:

a. einem Primärgefäß,
b. einer Sekundärverpackung und
c. einer Außenverpackung,

wobei entweder die Sekundärverpackung oder die Außenverpackung starr sein muss.

- *Mindestens eine der Oberflächen der Außenverpackung muss eine Mindestabmessung von 100 mm x 100 mm haben.*
- *Das vollständige Versandstück muss in der Lage sein, die Fallprüfung des Unterabschnitts 6.3.5.3 nach den Vorschriften des Unterabschnitts 6.3.5.2 bei einer Fallhöhe von 1,2 m erfolgreich zu bestehen. Nach der jeweiligen Fallversuchsreihe darf aus dem (den) Primärgefäß(en), das (die), sofern vorgeschrieben, durch das absorbierende Material geschützt bleiben muss (müssen), nichts in die Sekundärverpackung gelangen.*
- *Für flüssige Stoffe gilt:*
  - *a. Das (die) Primärgefäß(e) muss (müssen) flüssigkeitsdicht sein.*
  - *b. Die Sekundärverpackung muss flüssigkeitsdicht sein.*
  - *c. Wenn mehrere zerbrechliche Primärgefäße in eine einzige Sekundärverpackung eingesetzt werden, müssen diese entweder einzeln eingewickelt oder so voneinander getrennt werden, dass eine gegenseitige Berührung verhindert wird.*
  - *d. Zwischen dem (den) Primärgefäß(en) und der Sekundärverpackung muss absorbierendes Material eingesetzt werden. Das absorbierende Material muss ausreichend sein, um die gesamte im (in den) Primärgefäß(en) enthaltene Menge aufzunehmen, so dass ein Austreten des flüssigen Stoffes nicht zu einer Beeinträchtigung der Unversehrtheit des Polstermaterials oder der Außenverpackung führt.*
  - *e. Das Primärgefäß oder die Sekundärverpackung muss in der Lage sein, einem Innendruck von 95 kPa (0,95 bar) ohne Verlust von Füllgut standzuhalten.*

3.9 Laborergebnisse und Bearbeitungszeiten

Fertigstellung Befund bei
- phänotyp. Untersuchungen ~~(außer B-Phänotyp):~~ ca. 1- 2,5 Wochen
- ~~B-Zell Phänotypisierungen: ca. 1- 6 Wochen~~
- funktionellen Untersuchungen: ca. 1- 6 Wochen (s.u.)

Die Bearbeitungszeiten richten sich nach der Art der Untersuchung: Phänotypische Untersuchungen werden i.d.R. am Tag der Probenannahme durchgeführt, spätestens jedoch innerhalb 24h. Funktionelle Untersuchungen können sich dagegen über einen längeren Zeitraum erstrecken, spätestens nach ~~5~~ 2-3 Wochen liegt in der Regel das Ergebnis vor. Teilweise (für T-Zell Funktionen) wird ~~hierfür~~ das Probenmaterial zunächst kryokonserviert um wegen der Begrenzung des verfügbaren Kontrollmaterials und aus wirtschaftlichen Gründen die Proben mehrerer Patienten gleichzeitig zu analysieren. Die Dauer bis zur Befunderstellung ist daher hier auch von der Anzahl der Pat. abhängig, für die im gegebenen Zeitraum die Analytik angefordert wurde und kann bis zu 12 Wochen betragen, falls es sich um uns bekannte Patienten handelt, die im Routine-Follow-up untersucht werden.

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten

Bei Verdacht auf einen schweren kombinierten Immundefekt oder falls die Untersuchung zur Abklärung eines auffälligen Befundes im Neugeborenen-Screening auf SCID durchgeführt werden soll, wird die T-Zell Funktionstestung zum nächst möglichen Zeitpunkt durchgeführt. Wegen der nötigen Kultivierung der Zellen, kann jedoch der Befund erst frühestens 8-10 Tage nach Probeneingang erstellt werden.

Die technische Validation wird meist am gleichen Tag der Untersuchung durchgeführt, kann bei einer komplexen Analyse jedoch bis zu 72h (3 Werktage) dauern. Die Dauer der anschließenden medizinischen Validation ist ebenfalls abhängig von der Komplexität der Untersuchung (bis zu ~~2~~ 3 Wochen ~~/ B-Zell Phänotyp. bis zu 5 Wochen~~).

Die Untersuchungsergebnisse des Immunologielabores werden den Einsendern nach der medizinischen Validation per Hauspost (intern) oder auf dem Postweg (externe Einsender) zugesendet.

Pathologische Befunde, welche einen therapeutischen Einfluss haben können, werden dem Einsender ohne zeitliche Verzögerung (i.d.R. am Tag der Untersuchung, spätestens am nächsten Tag) vorab telefonisch mitgeteilt.

3.10 Beeinflussung der Untersuchungsergebnisse

Ursachen für Veränderungen in der Probe :

Zu altes Probenmaterial kann zu veränderten (pathologischen) phänotypischen und funktionellen Werten führen. Untersuchungen aus Material, das älter ist als 24h, werden daher nur in Ausnahmefällen durchgeführt (wertvoll, schwer wiederbringbar). Bei pathologischen Befunden muss in solchen Fällen eine Wiederholung der Analyse aus frischem Material durchgeführt werden.

Gefrorenes Primärprobenmaterial kann für die Untersuchungen des Immunologielabores nicht verwendet werden.

Gegenmaßnahmen :

- Bei externen Einsendungen einen Express-Transportdienst beauftragen, der sicherstellt, dass die Proben innerhalb 24h geliefert werden.
- Temperaturen unter 0°C während des Transportes müssen ausgeschlossen sein.

3.11 Untersuchungen

Alle Untersuchungen, die im Immunologielabor durchgeführt werden, sind dem Leistungsverzeichnis zu entnehmen. Dort wird auch auf die Präanalytik hingewiesen. Das Leistungsverzeichnis ist im Internet auf der Homepage des Klinikums auf der Seite des Labors http://www.uniklinik-ulm.de/struktur/kliniken/kinder-und-jugendmedizin/home/klinische-labore/immunologie.html abzurufen.

3.12 Wiederholungsanalysen/ Nachforderungen/ Entsorgung des Probenmaterials/

Das restliche Probenmaterial wird für 3-7 Tage (bis zum folgenden Montag) im Labor aufbewahrt und dient evtl. nötigen Wiederholungsanalysen (z.B. bei nicht plausiblen Ergebnissen). In dieser Zeit sind - unter Beachtung der Aufbewahrungsfristen für die unterschiedlichen Methoden - Nachforderungen von Untersuchungen möglich. Diese können zunächst telefonisch erfolgen, eine schriftliche Anforderung muss dem Labor aber am gleichen Tag nachgereicht werden.

Nach Ablauf der Aufbewahrungszeit erfolgt die sachgerechte Entsorgung nach den Richtlinien des Hauses.

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten

4 BERICHT/(BEFUND)

4.1 Befund in gedruckter Form

4.1.1 Inhalt des Befundberichtes

Auf dem Befund sind in jedem Fall mindestens folgende Angaben zu finden:

- Patientendaten
- Die Adresse des Immunologielabors
- Die klare und eindeutige Bezeichnung der Untersuchung und das Analyseverfahren
- Die eindeutige Identitätsbezeichnung den Namen oder eine andere eindeutige Identitätsbezeichnung des Anfordernden und dessen Anschrift
- Datum der Berichtsfreigabe
- Untersuchungsergebnisse
- Interpretation der Ergebnisse
- sonstige Kommentare (z. B. über Qualität oder Eignung der Primärprobe, die das Ergebnis beeinträchtigen haben können)
- Angabe der Person, die den Bericht freigibt

4.2 Datenschutz

Alle Mitarbeiter*innen, sind zu Beginn ihrer Tätigkeit schriftlich und mündlich nach § 6 Landesdatenschutzgesetz Baden-Württemberg ("Datengeheimnis") sowie in regelmäßig stattfindenden Belehrungen zur Wahrung der Vertraulichkeit und Verschwiegenheit verpflichtet.

Die Ergebnisse der Untersuchung dürfen nur dem Arzt, der die Untersuchung veranlasst hat oder dessen Vertretung und der untersuchten Person selbst bzw. den Erziehungsberechtigten (durch den Arzt, der die Untersuchung veranlasst hat oder dessen Vertretung) mitgeteilt werden. Eine Weitergabe an Dritte darf nur mit schriftlicher Einwilligung der Patienten erfolgen.

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten

5 QUALITÄTSSICHERUNG IM LABOR

Schritte zur Erhebung eines Untersuchungsbefundes

Die Durchführung der Analyse selbst ist nur einer von 4 Teilschritten im Ablauf des Gesamtvorgangs. Die vier Teilschritte sind:

- Untersuchungsentscheidung, Analysenvorbereitung der Probe (Präanalytischer Teilschritt)
- Durchführung der Analyse mit Analysenergebnis
- Analytische Freigabe
- Medizinische Freigabe

Die Prüfung der Zuverlässigkeit der Analysenergebnisse ist ein unerlässlicher Bestandteil jeder Untersuchung und Bestandteil der technischen und medizinischen Validation.

Die für die Durchführung der Analysen verwendeten Reagenzien und Geräte erfüllen definierte Qualitätskriterien.

Um diese Anforderungen sicherzustellen, ist ein Qualitätssicherungs-System im Labor etabliert.

Ziele der Qualitätssicherung im Laborbereich sind:

- Überwachung der Richtigkeit und Präzision der Analysen
- Kontrolle der Reagenzienqualität und Überprüfung der Funktion der für die Analytik verwendeten Reagenzien und Geräte

  Erkennung von Störreaktionen und Störeinflüssen auf die Analysen

5.1 Interne Qualitätssicherung

Für alle funktionelle und die meisten phänotypischen Untersuchungen erfolgt parallel zur Patientenprobe die Untersuchung einer gesunden, freiwilligen Kontrolle. Für phänotypische Untersuchungen, bei denen auf die Parallel-Untersuchung einer gesunden Kontrolle verzichtet werden kann, stehen andere, z.T. kommerzielle interne Qualitätskontrollen zur Verfügung.

5.2 Externe Qualitätssicherung

Die Lymphozytenphänotypisierung einschließlich aller untersuchten T-Zell Subpopulationen, RTE, B-Zell Phänotyp., Adhäsionsmoleküle, IZ-Zytokine, TCR-Panel, Spender-Zell Analyse (CD34+ Stammzellen), FoxP3-Analyse wird 1-2x pro Jahr im Ringversuch (RV 213, 618 und 651) der INSTAND Gesellschaft zur Förderung der Qualitätssicherung in medizinischen Laboratorien e.V. validiert.

Weitere Analyte, für die keine Ringversuche angeboten werden, werden im Austausch mit kooperierenden Laboratorien extern validiert und wo dies nicht möglich ist, Konsensus-Vergleiche durchgeführt.

6 VORGEHEN BEI ÄNDERUNGEN

Notwendige Änderungen bzw. Aktualisierungen werden umgehend in das vorliegende Handbuch zur Primärprobenentnahme eingefügt. Die geänderten Textpassagen werden farblich gekennzeichnet.

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten

7 BESCHWERDEMANAGEMENT

Die Zufriedenheit unserer Einsender und Patienten ist uns ein zentrales Anliegen. Durch die systematische Erfassung und Nachverfolgung von Beschwerden / Reklamationen wollen wir Probleme lösen und durch die Einleitung von Korrektur- oder Vorbeugungsmaßnahmen ein erneutes Auftreten des Problems verhindern.

Beschwerden und Reklamationen, die an das Labor herangetragen werden, werden von den Mitarbeiter*innen erfasst und an die Qualitätsmanagement-Beauftragte weitergeleitet. Sie dokumentiert ebenfalls, welche Maßnahmen eingeleitet worden sind.

Der Beschwerdeführer wird über die eingeleiteten Maßnahmen informiert

Bei Beschwerden richten Sie sich bitte an die unter 1.1.1 bzw. auf unserer Homepage: http://www.uniklinik-ulm.de/struktur/kliniken/kinder-und-jugendmedizin/home/klinische-labore/immunologie.html genannten Kontaktpersonen.

8 MITGELTENDE DOKUMENTE

- Anforderungsbogen
- Leistungsverzeichnis

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten