



# Präanalytische Variablen in der automatisierten Gerinnungs-Diagnostik: Die Weichenstellung für genaue Ergebnisse

Robert C. Gosselin<sup>1</sup> und Richard A. Marlar<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hemophilia Treatment Center, University of California, Davis Health System, Sacramento, CA, U.S.

<sup>2</sup>Department of Pathology, University of New Mexico Health Sciences Center Albuquerque, NM, U.S.

## Einleitung

*Die Ergebnisse automatisierter Gerinnungstests können durch viele präanalytische Variablen (PAVs) beeinflusst werden. Zur Verbesserung der Präzision und Genauigkeit von Laboruntersuchungen ist es wichtig, diese Variablen zu identifizieren und ihre möglichen Auswirkungen zu erkennen.<sup>1,2</sup> Darüber hinaus haben Fortschritte in der Labortechnik die Reproduzierbarkeit und Sensitivität der Analysephase verbessert, was die Abhängigkeit von der Probenintegrität verstärkt.<sup>1-5</sup>*

*Die Bestimmungen der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (APTT) und der Prothrombinzeit (PT) gehören zu den am häufigsten angeordneten Screeningtests im klinischen Labor. Diese Assays werden bei einer Vielzahl von klinischen Erkrankungen zur Befundung eingesetzt, entweder zu diagnostischen Zwecken oder zur Verlaufskontrolle. Diese Screening-Tests bilden auch die Grundlage für viele spezielle Gerinnungsuntersuchungen, wie beispielsweise Faktor-Assays und Protein-C- und -S-Aktivitätstests.*

Seit der Einführung automatisierter Gerinnungs-Assays wurden Anstrengungen unternommen, diese nicht nur zu automatisieren, sondern die Tests auch besser zu standardisieren, um so genauere Ergebnisse für die klinische Befundung zu erhalten.<sup>6-14</sup> PAVs für automatisierte Gerinnungstests können in drei Hauptkategorien eingeteilt werden:

1. Probengewinnung (einschließlich Patientenauswahl)
2. Transport und Stabilität der Proben
3. Verarbeitung und Lagerung der Proben

Innerhalb dieser Kategorien gibt es eine Reihe von Einzelvariablen, von denen jede einen großen Einfluss auf die Testung haben kann. Im Zusammenhang mit der Analyse der Proben gibt es ebenfalls eine Reihe von Variablen, von denen viele vom Reagenz/ den Reagenzien und der Geräteausstattung abhängen. Die mit der Analyse verbundenen Variablen würden allerdings den Rahmen dieses Dokuments sprengen.

Zur Verbesserung der Präzision und Genauigkeit wurden zahlreiche Normen für die Prüfung im allgemeinen klinischen Labor und insbesondere im Gerinnungslabor entwickelt.<sup>6-10</sup> Das Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ist die primäre Organisation für klinische Labornormen und Leitfäden in den USA, aber seine

Richtlinien werden auch international angewandt und anerkannt.<sup>6</sup> Das CLSI wurde 1968 von einer Gruppe von Vertretern aus Industrie, Regierung und Fachkreisen gegründet, die sich mit der Entwicklung von Normen und Leitfäden für klinische Laboruntersuchungen befassten. Trotz der Existenz des CLSI ist die Praxis in den klinischen Laboren hinsichtlich Probengewinnung, Lagerung und Verarbeitung für Gerinnungsuntersuchungen noch immer nicht standardisiert. Einige der heute in der Praxis eingesetzten Verfahren beruhen offenbar auf Tradition, während andere auf CLSI-Richtlinien basieren, mit und ohne signifikante veröffentlichte oder unterstützende Evidenz. Infolgedessen können aufgrund der präanalytischen Verarbeitung der Probe immer noch eine Reihe von Problemen, Uneinheitlichkeiten und fehlerhaften Ergebnissen auftreten, die mit verheerenden Folgen einhergehen können. Diese Arbeit befasst sich mit den präanalytischen sowie einigen analytischen Variablen der Gerinnungsdiagnostik. Point-of-Care (POC)-Geräte für natives oder antikoaguliertes Vollblut sind ebenfalls von PAVs betroffen, werden aber in diesem Dokument nur in begrenztem Umfang behandelt. Es werden Empfehlungen für die korrekte Vorgehensweise auf der Grundlage veröffentlichter und neuer Daten sowie für die Umstellung auf diese Methoden angesprochen.

**siemens-healthineers.de**

Medikamenten-klasse	Medikament	Test zum Monitoren/Messen	Optimaler oder gewünschter Zeitpunkt der Blutentnahme	Hinweise
Heparin	Unfraktioniert	APTT Anti-Xa	6 Stunden nach Behandlungsbeginn oder -anpassung	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Anti-Xa-Messungen auch akzeptabel.</li> <li>• Antikoagulation im extrakorporalen Kreislauf kann eine häufigere Kontrolle erfordern.</li> <li>• Antikoagulation im extrakorporalen Kreislauf kann eine höhere Dosierung erfordern, die nicht mittels APTT gemessen werden kann, so dass hier die ACT-Bestimmung der optimale Test sein kann.</li> </ul>
	Niedermolekular	Anti-Xa	4 Stunden nach der 3. Dosis	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hybrid- oder LMWH-kalibriertes Anti-Xa sind akzeptabel.</li> </ul>
	Pentasaccharid	Anti-Xa	3 Stunden nach Medikamentengabe	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pentasaccharid-kalibriertes Anti-Xa wird in mg/L oder mg/dL angegeben.</li> </ul>
Vitamin K Antagonisten	Antagonist – oral	PT/INR (Ausgangs-PT/INR sollte vor Therapiebeginn bestimmt werden)	Die erste INR-Bestimmung erfolgt 12–24 Stunden nach der ersten Dosis.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Falls der Zielwert nicht erreicht wird, muss eine VKORC-Mutation in Betracht gezogen werden.</li> <li>• Falls das Ziel der Therapie erreicht wird, scheint die Dosis angemessen</li> <li>• Falls unterhalb des Zielwertes, muss die Dosis wahrscheinlich erhöht werden.</li> </ul>
	(Therapieumkehr)	PT/INR	I.V.: 12 Stunden Oral: 12–24 Stunden	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Patient hat möglicherweise weitere Antagonisten erhalten.</li> <li>• Wenn der Patient blutet, kann eine häufigere Kontrolle erforderlich sein.</li> </ul>
Antithrombotika	Thrombozytenaggregationshemmer – oral	Thrombozytenfunktionstests	1 Woche nach Therapiebeginn	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kein Konsens hinsichtlich Messverfahren oder ob notwendig.</li> <li>• Zu den Verfahren zählen PFA-Systeme, ULTEGRA und die konventionelle Thrombozytenaggregation.</li> </ul>
	Thrombozytenaggregationshemmer – intravenös	Thrombozytenfunktionstests (bei Begleittherapie ACT)	Arzneimittelabhängig innerhalb von 0,5–2 Stunden	<ul style="list-style-type: none"> <li>• POC- oder Thrombozytenfunktionsverfahren, einschließlich ULTEGRA-, TEG- oder ROTEM-basierte Verfahren. Auch traditionelle Thrombozytenaggregationstests könnten hierfür geeignet sein.</li> </ul>
	Fibrinolytika	TZ, FBG, XDP, FDP	10–15 Minuten nach Infusionsende	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Es gibt keinen Konsens und keine Empfehlungen für das Monitoring. Thrombozytenfunktionstests (falls Begleittherapie, dann ACT)</li> <li>• 30 Minuten zur Überprüfung der Katheterfunktion.</li> </ul>
	Antifibrinolytika	PT/INR, APTT, ACT	Konzentrationsmaximum 2 Stunden nach Infusionsbeginn	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Es gibt keinen Konsens und keine Empfehlungen für das Monitoring.</li> </ul>
	DTI	APTT, Anti-II, ECA, ECT (erfordert bei hoher PCI-Dosis möglicherweise die ACT-Bestimmung), DTT (verdünnte Thrombinzeit).	HIT-Behandlung: 4–6 Stunden PCI-Infusion: 5 und 45 Minuten	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Die Arzneimittelkennzeichnung gibt APTT oder ACT an, jedoch können andere, spezifischere Tests hilfreich sein, insbesondere wenn das therapeutische Ziel nicht erreicht wird.</li> </ul>
DOAK	Ila	ECT, ECA, Ila, dTT	Talspiegelproben (5–30 Minuten vor der nächsten Dosis)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Blutentnahme kurz vor der nächsten Dosis.</li> <li>• Zur Bestimmung von Proben-Höchstwerten meist 2–3 Stunden nach Dosisgabe.</li> </ul>
	Xa	Medikamentenkalibriertes Anti-Xa	Talspiegelproben (5–30 Minuten vor der nächsten Dosis)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Blutentnahme kurz vor der nächsten Dosis.</li> <li>• Zur Bestimmung von Proben-Höchstwerten meist 2–3 Stunden nach Dosisgabe.</li> <li>• Spezifisch auf den Wirkstoff kalibriertes Anti-Xa.</li> </ul>
	Antagonisierung – Dabigatran	ECT, ECA, Anti-Ila	10–15 Minuten nach Infusionsende	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Es gibt keinen Konsens und keine Empfehlungen für das Monitoring.</li> </ul>
	Antagonisierung – Rivaroxaban/Apixaban	Anti-Xa	4 Stunden nach Infusion zur Neubewertung des Anti-Xa-Spiegels	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Es gibt keinen Konsens und keine Empfehlungen für das Monitoring.</li> <li>• Das Präparat wird als Dauerinfusion verabreicht. Nach Infusionsende kann der DOAK-Spiegel ansteigen.</li> <li>• Spezifisch auf DOAK-kalibriertes Anti-Xa.</li> </ul>
	Substitutionstherapie (Hämophilie A oder B)	Faktorspiegel	Ärztlich gesteuert. Möglicherweise werden PK-Untersuchungen benötigt. Betrachten Sie für die PK-Zeiträume Ausgangswert, 30 Minuten, 60 Minuten, 2, 4, 8, 12 und 24 Stunden.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bei neueren Substitutionstherapien für die Hämophilie unter Verwendung von modifiziertem (PEGyliertem, Albumin-kondensiertem usw.) Faktorerersatz sind möglicherweise spezielle Verfahren erforderlich.</li> <li>• Clotting-Test oder chromogener Test kann bevorzugt sein.</li> </ul>
Faktor Substitution	DDAVP/Vasopressin	VWF, FVIII	Ausgangswert, 30 Minuten, 2, 4 und 6 Stunden nach Wirkstoffgabe	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Die Wirkstoffgabe erfolgt entweder durch Nasenspray oder Infusion.</li> </ul>
	PKK oder APKK	PT/INR, APTT	Ausgangswert (vor der Behandlung) und 15–30 Minuten nach Ende der Verabreichung	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Es gibt keinen Konsens und keine Empfehlungen für das Monitoring.</li> <li>• Bei APKK kein Zusammenhang mit kürzeren Gerinnungszeiten und Blutungen.</li> </ul>
	rVIIa	PT/INR	10–15 Minuten nach Infusion	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Es gibt keinen Konsens und keine Empfehlungen für das Monitoring.</li> </ul>
	FFP, Kryopräzipitat oder andere plasmabasierte Produkte	PT/INR, APTT	Ausgangswert (vor Infusion) und 30 Minuten	<ul style="list-style-type: none"> <li>• FBG, FVIII, FXIII und andere Faktoren können untersucht werden, sofern sie zu diesem Zweck substituiert werden.</li> </ul>

**Tabelle 1:** Vorläufige Leitlinien zur Prüfung pharmakologischer Auswirkungen auf die Gerinnung.

Hinweis: Das Labor muss sich bei der Beurteilung dieser Medikamente mit dem Primärbetreuer kurzschließen oder Empfehlungen der Einrichtung einholen. Lesen Sie regelmäßig die Fachinformationen zu den Medikamenten, da sich die Empfehlungen (falls vorhanden) zur Beurteilung der Pharmakodynamik (Wirkung auf die Gerinnung) und der Pharmakokinetik (Vorliegen oder Menge) des Medikaments ändern können.

ACT: Aktivierte Clotting-Zeit (time)  
APKK: Aktiviertes Prothrombinkomplex-Konzentrat  
APTT: Aktivierte partielle Thromboplastinzeit  
DDAVP: 1-Desamino-8-D-Arginin Vasopressin  
dTT: verdünnte Thrombinzeit  
DOAK: Direkte orale Antikoagulanzen  
DTI: direkte Thrombin-Inhibitoren  
ECT: Ecarin-Clotting-Zeit (time)  
ECA: Ecarin- Chromogener Test  
FBG: Fibrinogen

FDP: Fibrin(ogen)spaltprodukte  
FFP: Gefrorenes Frischplasma  
IIa: aktivierter Faktor II (Thrombin)  
HIT: Heparin-induzierte Thrombozytopenie  
INR: International Normalized Ratio  
IV: intravenös  
PKK: Prothrombinkomplex-Konzentrat  
PCI: Perkutane Koronarintervention  
PEG: Polyethylenglykol  
PK: Pharmakokinetik

POC: Point-of-Care  
PT: Prothrombinzeit  
ROTEM: rotierende Thrombelastometrie  
rVIIa: aktivierter Faktor VII  
TEG: Thrombelastographie  
TZ: Thrombinzeit  
VKORC: Vitamin K-Epoxid-Reduktase Komplex 1  
VWF: von-Willebrand-Faktor  
Xa: aktivierter Faktor X  
XDP: D-Dimer

## Präanalytische Variablen und Patientenauswahl

In Gerinnungsuntersuchungen fließen die PAVs Alter, Geschlecht, Ethnie, Blutgruppe und Gesundheitszustand ein, wobei, wie wir später sehen werden, sie sich am stärksten auf die Interpretation der Testergebnisse auswirken. Daher muss jedes Labor in der Lage sein, diese Variablen zu berücksichtigen, die je nach Prüfung und Prüfverfahren unterschiedliche Referenzintervalle (RI) erfordern können. Für eine korrekte Interpretation der Ergebnisse und die Vermeidung von Fehldiagnosen ist dies zwingend erforderlich.

Zahlreiche gesundheitliche Probleme beeinflussen die genaue Messung der Blutgerinnung. Entzündungen können die Spiegel von Fibrinogen (FBG), Faktor VIII (FVIII), von-Willebrand-Faktor (VWF) und Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-1 (PAI-1) erhöhen, wobei die Aktivität von Protein S (PS) abnimmt.<sup>15</sup> Psychische und körperliche Belastungen, einschließlich Sport, können die Blutgerinnung ebenfalls verändern, und u. a. künstlich VWF und FVIII ansteigen und die Thrombozytenfunktion verschlechtern lassen.<sup>15,16</sup> Daher sollten sich die Patienten vor der Blutentnahme 30 Minuten lang entspannen können. Andere Bedingungen (z. B. biologische Unterschiede, zirkadiane Schwankungen usw.), welche die Gerinnungsergebnisse beeinflussen können, werden später behandelt, da diese Bedingungen eher in die Interpretation der Testergebnisse einfließen. Medikamente, Lebensmittel und pflanzliche Nahrungsergänzungsmittel können die Funktion der Blutplättchen verändern, weshalb zur optimalen Beurteilung die Proben beim nüchternen Patienten ohne Medikamenteneinnahme entnommen werden sollten.

Abschließend werden zur Überwachung einige Gerinnungstests durchgeführt. Hierzu können auch Antikoagulanzen oder eine Faktor-Substitutionstherapie gehören. Bei Proben, die zu Monitoringzwecken entnommen werden, ist die Einhaltung der ärztlich festgelegten Zeitrahmen entscheidend für die korrekte Beurteilung, um eine unkorrekte Anpassung der Wirkstoffdosis bzw. eine Überdosierung zu vermeiden. Tabelle 1 enthält vorläufige Empfehlungen für die Zeitpunkte der Blutentnahme bei gerinnungsbedingter Arzneimitteltherapie, doch müssen die Labore die entsprechenden Entnahmeweiten mit dem überweisenden Arzt abstimmen.

## Empfehlungen zur Patientenauswahl

- Jedes Labor muss über ein geeignetes Referenzintervall für die zu bewertenden Populationen verfügen.
- Die Patienten sollten vor der Blutentnahme entspannt sein, um körperlichen und psychischen Stress zu vermeiden, der die Gerinnungstests künstlich verändern kann, insbesondere bei VWF- und Thrombozytenfunktionsuntersuchungen.<sup>15,16</sup>
- Die Bewertung von Thrombozytenfunktionsuntersuchungen sollte anhand von Proben durchgeführt werden, die nüchternen Patienten ohne Medikamenteneinnahme entnommen wurden.
- Bei Patienten, die überwacht werden (z.B. unter Antikoagulationstherapie), muss der Zeitpunkt der Blutentnahme zwingend eingehalten werden (Tabelle 1).

## PAVs der Probengewinnung

Nachdem die Patientenauswahl definiert und die entsprechenden Untersuchungen und Entnahmезeiten festgelegt wurden, erfolgt im nächsten Schritt die Entnahme der Blutprobe. Entscheidend für diesen Ablauf sind die entsprechenden Bezeichnungen, die eine korrekte Patientenidentifizierung und Anordnung der Blutentnahme sicherstellen. Nach Überprüfung der Patienten-ID und Anforderung erfolgt die eigentliche Blutabnahme. Um eine ordnungsgemäße Blutentnahme zu gewährleisten, müssen die Mitarbeiter in der Blutentnahmetechnik unter Beachtung allgemeiner Schutzmaßnahmen angemessen geschult sein. In einer veröffentlichten Studie zeigten die Autoren, dass geschultes Personal qualitativ bessere Blutproben für die Gerinnungsuntersuchungen liefert als ungeschultes Personal. Blutproben, die von ungeübten Mitarbeitern entnommen wurden, enthielten erhöhte Konzentrationen von Faktoren der Gerinnungsaktivierung (serumvernetztes Fibrin [XDP], Prothrombinfragment 1+2 [F1+2] und Thrombin-Antithrombin-Komplexe [TAT]), was für einen aktivierten Gerinnungsprozess durch schlechte Qualität der Probenentnahme spricht.<sup>17</sup>

**Blutentnahme: Vollblut- versus Röhrchenentnahme**  
Vollblut eignet sich für Point-of-Care(POC)-Geräte wie INR-Monitore und APTT-Geräte am Patientenbett. Je nach gewünschter Untersuchung kann natives Vollblut oder eine antikoagulierte Probe mit den nachstehend beschriebenen Blutentnahmeröhrchen verwendet werden. Labore sollten die Packungsbeilage des Herstellers der POC-Reagenzien und -Geräte heranziehen, um Probenart und Entnahmeverfahren zu überprüfen.

**Blutentnahme: Systeme und Blutentnahme**  
Es gibt mehrere Hersteller von Blutentnahmeröhrchen. Trotz der Ähnlichkeiten hinsichtlich der Citratkonzentration, die von diesen Herstellern verwendet wird, gibt es signifikante Unterschiede zwischen ihren Röhrchen, die die Ergebnisse der Gerinnungsuntersuchung möglicherweise beeinflussen können. So wurden beispielsweise bei Röhrchen mit der gleichen Citratkonzentration, die aber von verschiedenen Herstellern stammen, unterschiedliche PT- und APTT-Ergebnisse festgestellt.<sup>18</sup> Aufgrund dieser Schwankungen bei den Blutentnahmesystemen sollten Labore diese Systeme vor der Implementierung validieren.<sup>19</sup> Labore, die Dienstleistungen außerhalb ihrer eigenen Region erbringen (z. B. als Referenzlabore), sollten den Kunden die bevorzugte Röhrchen- und Citratkonzentration für die Blutentnahme mitteilen, um diesen präanalytischen Fehler zu vermeiden.

Das Blut kann in einzelnen Vakuumröhrchen oder mittels Sprizentechnik entnommen werden. Bei der Sprizentechnik wird eine Probe zunächst in eine leere oder koagulanzenhaltige Spritze aufgezogen und anschließend entweder in einzelne Vakuumröhrchen oder direkt in ein Labor-Analysesystem überführt. Die Sprizentechnik weist eine Reihe von Einschränkungen auf und sollte auf bestimmte Situationen beschränkt bleiben, die ihren Einsatz erfordern, z. B. wenn der Phlebotomist es vorzieht, bei einem Patienten mit schwierigen Venen die Saugkraft selbst zu dosieren.<sup>20</sup>

Wenn die Sprizentechnik notwendig ist, sollte man eine Spritze mit weniger als 25 ml (vorzugsweise 10 ml) mit der passenden Konzentration und dem entsprechenden Volumen an Antikoagulans verwenden. Alle Blutentnahmen mittels Spritze sollten mit einer „Butterfly“-Kanüle durchgeführt werden. Damit es nicht hämolysiert, gerinnt bzw. die Thrombozyten aktiviert werden, sollte das Blut langsam entnommen werden. Wenn mehrere Röhrchen mit unterschiedlichen Gerinnungshemmern benötigt werden, wird erst die Spritze gefüllt und die Probe dann rasch in das entsprechende Röhrchen überführt. Laut Empfehlung des ICSH sollte das Citratröhrchen manuell gemischt werden (dazu das Röhrchen fünf- bis sechsmal sanft auf den Kopf drehen),<sup>21</sup> obwohl es Hinweise gibt, dass dies bei einigen Blutentnahmesystemen nicht zwingend erforderlich ist,<sup>22</sup> und auch nicht bei Patienten, die mit oralen Vitamin-K-Antagonisten (VKA) behandelt werden.<sup>23</sup> Es ist jedoch zu beachten, dass diese beiden veröffentlichten Studien eine begrenzte Anzahl von Proben und Probenröhrchen verwendeten. Sofern nicht durch strenge Studien vor Ort anders festgelegt, kann es daher ratsam sein, bei Vollblut-Gerinnungsproben, die in Citrat, Heparin, EDTA oder anderen Antikoagulanzen gewonnen wurden, sowie bei pädiatrischen oder volumenreduzierten Blutproben weiterhin auf die beste Praxis der schonenden Durchmischung zu setzen. Auf keinen Fall sollte das Röhrchen kräftig geschüttelt oder gerüttelt werden.

Da das abgenommene Blut anschließend in einen Probenbehälter überführt werden muss, erhöht die Sprizentechnik von Natur aus das Risiko einer Nadelstichverletzung bei der Blutentnahme, da das Probenröhrchen in einer Hand gehalten werden muss, während die Spritzenkanüle mit der anderen Hand in das Röhrchen eingebracht wird.<sup>24</sup> Die Sprizentechnik erhöht auch das Hämolysierisiko, wenn das Blut zu schnell durch die Kanüle oder gegen die Seite des Probenröhrchens gedrückt wird.<sup>24</sup> Wenn der Spritze kein Antikoagulans zugesetzt wird, gerinnt die Probe, wenn sie nicht sofort (meist innerhalb von 60 Sekunden) transferiert wird. Mit größeren Spritzen steigt diese Gefahr.<sup>24</sup>

Trotz dieser Nachteile liegen nur wenige Daten vor, mit denen sich diese These untermauern lässt. Tatsächlich unterstützten die ersten Studien über Probenentnahmesysteme für Gerinnungsuntersuchungen den Einsatz der Sprizentechnik gegenüber dem Vakuumröhrchen.<sup>25</sup>

Unter den kontrollierten Bedingungen einer Studie ist eine falsche Sprizentechnik oder das Gerinnen von Spritzenproben wohl unwahrscheinlicher und spiegelt nicht die tatsächliche Praxis in einem hektischen Krankenhaus wider.

### Blutentnahme: Kanüलगröße

Kanülen sind ein integraler Bestandteil der Blutentnahme und in einer Vielzahl von Größen (Kanülenstärke) erhältlich, wobei eine steigende Größennummer einem kleineren Kanüledurchmesser entspricht. Die CLSI-Richtlinien empfehlen für Gerinnungsuntersuchungen den Einsatz von Kanüledurchmessern im Bereich von 22 bis 19 Gauge.<sup>24</sup> Diese Empfehlung beruht auf keiner Referenz, sondern wird traditionell in vielen Standard-Lehrbüchern zur Blutabnahme unterstützt. Bei pädiatrischen Patienten können höhere Gauge-Werte (die einem kleineren Kanüledurchmesser entsprechen) im Bereich von 23–25 Gauge erforderlich sein.<sup>24,26</sup> Sollen mehr als 30 ml mittels Sprizentechnik entnommen werden, wird eine 18-Gauge-Kanüle empfohlen, um einen ausreichenden Blutfluss zu gewährleisten und das Hämolysierisiko zu verringern.

**Blutentnahme: Probennahme aus Venenkathetern**  
Blutentnahmen aus dem Venenkatheter sind gestattet, wenn mit zwei Spritzen gearbeitet wird, wobei die ersten 10 ml aus dem Katheter verworfen werden und die zweite Spritze zur eigentlichen Blutentnahme verwendet wird.<sup>24,27</sup> Bei kleineren Patienten können die ersten sachgemäß und steril entnommenen 10 ml, die ansonsten entsorgt würden, dem Patienten wieder zurückgegeben werden, sofern das Krankenhaus ein Verfahren zur Rücktransfusion festgelegt hat.<sup>27</sup> Bei der Blutentnahme aus intravenösen (IV) Dauerkathetern wird der IV-Zugang idealerweise für 5 Minuten ausgeschaltet und dann das Blut wie oben beschrieben mittels Zwei-Spritzen-Technik entnommen.<sup>24,26</sup> Bei Patienten mit schwierigem venösen oder arteriellem Zugang sollten Point-of-Care-Verfahren in Betracht gezogen werden.

### Blutentnahme: Stauverfahren

Längere Blutstauzeiten führen zu erhöhtem Gefäßdruck, Hypoxie und einem niedrigeren pH-Wert unter dem Stauschlauch, wodurch leicht erniedrigte Spiegel von VWF, FVIII, gewebespezifischem Plasminogenaktivator (tPA) und anderen endothelial assoziierten Gerinnungsproteinen möglicherweise verschleiert werden.<sup>24,28</sup> Viele Lehrbücher und Artikel über die Blutentnahmetechnik betonen die Notwendigkeit sowohl einer sauberen, atraumatischen Punktion als auch der Vermeidung einer längeren Blutsperre, aber abgesehen von der offensichtlichen Logik und dem Wunsch nach einer guten Technik gibt es eigentlich nur wenige Daten, die belegen, dass Gerinnungsuntersuchungen dadurch nachteilig beeinflusst werden.

Die Venenpunktionstechnik ist eine wichtige präanalytische Variable in der Gerinnungsuntersuchung. Zu den Problembereichen gehören zu lange andauernde Stauung und bei mehreren fehlgeschlagenen Versuchen der Blutentnahme (Punktionen) die Freisetzung von gerinnungsfördernden Substanzen. Das Anlegen der Blutsperre für mehr als 1 Minute kann zur Hämokonzentration und Freisetzung von Proteinen aus den Endothelzellen führen. Die resultierende venöse Stase fördert die anaerobe Glykolyse mit Laktatanstieg im Plasma und Abfall des pH-Wertes im Blut. Der niedrigere pH-Wert im Blut kann die Proteinbindung beeinflussen und im

Falle von Kalzium zu einem scheinbar erhöhten Spiegel führen. Das längere Anlegen der Blutsperre erhöht auch den Spiegel der Gerinnungsfaktoren FVIII, VWF und tPA und beeinträchtigt somit die Genauigkeit der Diagnose. Das längere Anlegen der Blutsperre kann auch eine saure Mikroumgebung schaffen, was bei Clotting-Tests zu verlängerten Zeiten führen kann.

**Blutentnahme: Röhrchengröße und Antikoagulans**  
Vakuumröhrchen sind in einer Vielzahl von Größen erhältlich, um der Patientengröße gerecht zu werden und den Blutverlust sowie die iatrogen induzierte Anämie bei Krankenhauspatienten zu minimieren. Als Röhrchengröße sollte das kleinste Röhrchen verwendet werden, das zum Patienten passt und gleichzeitig genügend Plasma für alle angeordneten Untersuchungen liefern kann, während etwa 50% des Plasmas für Zusatzuntersuchungen eingelagert wird. Es ist darauf zu achten, dass in einigen Röhrchen das Blut bei richtigem Füllstand das Röhrchen nur zur Hälfte füllt. Dies stellt manchmal ein Problem dar, wenn ungeübte Mitarbeiter Blut entnehmen, da sie meist angewiesen wurden, das Röhrchen vollständig zu befüllen. Übermäßig oder unzureichend befüllte Röhrchen sind für die Untersuchung ungeeignet und sollten abgelehnt werden (siehe unten).<sup>29</sup> Die für die Röhrchenannahme verantwortlichen Mitarbeiter müssen sich über die Befüllungsbedingungen der einzelnen vom Labor verwendeten Röhrchen im Klaren sein. In einigen Krankenhäusern wurden kleine Mikroröhrchen entwickelt, um bei Neugeborenen sehr kleine Blutmengen zu entnehmen. Diese Röhrchen müssen für die Verwendung durch das Labor validiert sein.<sup>30</sup>

Die meisten Gerinnungsuntersuchungen werden mit Natriumcitrat als Antikoagulans durchgeführt und validiert. 3,2% Natriumcitrat ist die bevorzugte Citratkonzentration,<sup>21,24,31</sup> da diese Konzentration gerinnungsbasierter Assays gegenüber als verträglicher gilt. In der Vergangenheit wurde 3,8%iges Natriumcitrat verwendet, das jedoch nicht mehr empfohlen wird, da das überschüssige Natriumcitrat möglicherweise Kalziumionen bindet, die im Reagenz enthalten sind, was die Gerinnungsergebnisse beeinträchtigt. Obwohl 3,2% Natriumcitrat die empfohlene Konzentration ist, beträgt die Natriumcitratkonzentration in den Röhrchen mehrerer Hersteller nur in etwa 3,2%, wobei die Abweichungen auf dem Herstellungsprotokoll basieren. Anzumerken ist, dass Blutentnahmeröhrchen mit 3,2% und 3,8% Citrat im selben Labor nicht untereinander austauschbar sind, da sie unterschiedliche RI- und Patientenergebnisse liefern können.

Für einige Gerinnungs- und Thrombozytenuntersuchungen werden andere Antikoagulanzen oder keine Antikoagulanzen (Entwicklung von Serum) verwendet.<sup>24</sup> Röhrchen, die CAD (Citrat, Adenosin und Dipyridamol) und CTAD (Citrat, Theophyllin, Adenosin und Dipyridamol) enthalten, verhindern die Aktivierung der Thrombozyten. Röhrchen mit PPAK oder Aprotinin verhindern die Aktivierung der Gerinnung bzw. des fibrinolytischen Systems.<sup>32</sup> Lithium-Heparin, EDTA oder kein Antikoagulans (Serum) werden für Immunassay-Untersuchungen eingesetzt (z. B. HIT-Tests und Antikörpertests beim

Antiphospholipid-Syndrom). Für spezielle Tests wie die Untersuchung auf Fibrinabbauprodukte (FDP)<sup>33</sup> (hohe Thrombinkonzentration) und den tPA -Assay<sup>34</sup> (saures Citrat) wurden spezielle Röhrchen entwickelt, die für genaue Ergebnisse bei diesen Tests auch verwendet werden müssen. Wird ein nicht genormtes Röhrchen verwendet oder ein Röhrchen, das nicht im Beipackzettel des Herstellers aufgeführt ist, muss das Röhrchen vom Labor validiert werden.

#### Blutentnahme: Reihenfolge der Blutentnahme

Die aktuellen CLSI-Richtlinien empfehlen für die Entnahme mehrerer Proben eine bestimmte Reihenfolge, die zum Standard geworden ist (Tabelle 2).<sup>21,24</sup> Proben, die für Gerinnungsuntersuchungen in anderer Reihenfolge entnommen werden, können möglicherweise Störungen im Gerinnungstest verursachen und zu einem falschen Ergebnis führen. Beispielsweise war in einer unveröffentlichten Studie etwa 1 von 30–40 Natriumcitratröhrchen kontaminiert, wenn ein Röhrchen mit grüner Kappe und flüssigem Heparin vor dem Natriumcitratröhrchen befüllt wurde; etwa 1 von 75–80 Röhrchen war kontaminiert, wenn die Blutabnahme für ein Röhrchen mit grüner Kappe und getrocknetem Heparin vor der Blutabnahme für ein Röhrchen mit blauer Kappe und Natriumcitrat erfolgte. Das Heparin im Röhrchen kontaminiert das Blut, das seinerseits die Innen- und Außenseite der Nadel kontaminiert, die dann in das Natriumcitratröhrchen eingeführt wird, wodurch der Patient letztendlich mit Heparin kontaminiert wird.

Wenn Blut nur zu Gerinnungsuntersuchungen benötigt wird, ist kein Röhrchen zum Verwerfen erforderlich.<sup>35</sup> Diese Empfehlung stützt sich auf die Ergebnisse mehrerer Studien, die belegen, dass Gerinnungsuntersuchungen mit dem ersten Röhrchen durchgeführt werden können, ohne dass ein Röhrchen zum Verwerfen benötigt wird.<sup>35</sup> Die Einführung dieser Erfolgsmethode vermeidet biologische Abfälle und kann bei den meisten Laboren zu Kosteneinsparungen führen.<sup>35</sup>

#### Blutentnahme: Füllvolumen und Hämatokriteinstellung

Natriumcitrat (3,2%) ist das am häufigsten verwendete Antikoagulans für Gerinnungsuntersuchungen (clotting-basiert). Überschüssiges Citrat in der Plasmaprobe könnte beim Gerinnungstest durchaus die Gerinnungselbstbildung hemmen, indem es möglicherweise eine signifikante Menge des zugesetzten Kalziums im Gerinnungstest bindet, was die Gerinnungszeit künstlich verfälschen würde.<sup>21,24,29,31</sup> Die aktuellen Richtlinien sehen für das Volumenverhältnis von Blut zu Antikoagulans einen Wert von 9:1 vor.<sup>21,24</sup> Die Literatur zeigt jedoch, dass eine gewisse Unterfüllung toleriert werden kann, wenn das Röhrchen für die PT auf 60% des erforderlichen Volumens und für die PTT auf 70% gefüllt wird, ohne dass sich dies klinisch signifikant auswirkt.<sup>21,24,29</sup> Daher ist eine Unterfüllung von Röhrchen bei Patienten mit geringem Hämatokrit klinisch nicht unbedingt relevant, sofern keine gerinnungshemmende Wirkung (Heparin, direkte orale Antikoagulantien [DOAK] und direkte Thrombinhemmer [DTI]) bestimmt werden soll, da die Wirkung des Antikoagulans aufgrund der Verdünnung durch den geringen Hämatokrit- und übermäßigen

Natriumcitratanteil künstlich vermindert sein kann.<sup>36</sup> Es sind die Empfehlungen des Herstellers hinsichtlich der angemessenen Zulässigkeit sowohl bei niedrigem Hämatokrit als auch bei Unterfüllung der Röhrchen zu beachten.

Bei Proben mit hohem Hämatokritgehalt (>55%, wie sie bei Neugeborenen, schwerer Dehydratation, Verbrennungspatienten, Polycythemia vera und Besuchern oder Bewohnern größerer Höhenlagen vorkommen) können die Gerinnungszeiten fälschlich verlängert sein, da die Probe zu viel Citrat enthält, welches das dem Kalzium-Testreagenz des Gerinnungstests zugegebene Kalzium bindet.<sup>21,24,37</sup> Um dieses durch einen zu hohen Hämatokritwert bedingte Problem ungenauer Gerinnungsergebnisse zu vermeiden, kann das Labor Vakuumröhrchen mit einem geringeren Volumen an Antikoagulans bereitstellen. Mit Hilfe einer sehr dünnen Nadel können 20% des Antikoagulansvolumens entnommen und verworfen werden. So können Labore natriumcitrat-adjustierte Röhrchen für Hämatokritwerte von mehr als 55% bereitstellen.<sup>37</sup>

Diese Röhrchen können im Labor bevorratet und bei Bedarf an den für die Blutabnahme verantwortlichen Mitarbeiter weitergeleitet werden. Vor der Verwendung dieser angepassten Röhrchen muss das Labor ihre Funktionsfähigkeit validieren. Alternativ kann die Kappe entfernt, das entsprechende Citratvolumen verworfen und das Röhrchen wieder verschlossen werden. Ohne Vakuum müssen diese Röhrchen jedoch manuell mit der zuvor beschriebenen Sprizentechnik befüllt werden.

#### Empfehlungen zur Probenentnahme

- **Zwischen den Probenröhrchen mit gleicher Citratkonzentration, jedoch von verschiedenen Herstellern, wurden signifikante Unterschiede zwischen den berichteten PT- und APTT-Ergebnissen festgestellt.<sup>18</sup> Labore müssen diese Systeme vor der Implementierung validieren.<sup>19</sup>**
- **Muss mit der Sprizentechnik gearbeitet werden, ist eine Spritze mit weniger als 25 ml (vorzugsweise 10 ml) zu empfehlen, die an eine „Butterfly“-Kanüle angeschlossen werden sollte.**
- **Die für Gerinnungsuntersuchungen eingesetzte Kanülenstärke sollte 22–19 Gauge betragen, wobei dünnere Kanülenstärken (23–25) für pädiatrische Patienten oder schwer zugängliche Venen empfohlen werden.<sup>24,26</sup>**
- **Für Entnahmen von mehr als 30 ml Blut wird eine 18-Gauge-Kanüle empfohlen.**
- **Die Blutstauung sollte nicht länger als 1 Minute andauern.**
- **Bei der Sprizentechnik sollte das Blut innerhalb von 1 Minute nach der Entnahme vorsichtig in geeignete Blutabnahmeröhrchen eingebracht werden.**
- **Für die Blutentnahme aus Arterienverweilkathetern werden zwei Spritzen benötigt, mit der ersten Spritze werden 10 ml Blut entnommen und verworfen, und die zweite Spritze wird zur eigentlichen Blutentnahme verwendet.<sup>24,27</sup>**

- **Bei Blutentnahmen aus Venenkathetern müssen mögliche angeschlossene Infusionen 5 Minuten vorher abgestellt werden. Unter Verwendung zweier Spritzen werden mit der ersten Spritze 10 ml Blut entnommen und verworfen, und mit der zweiten Spritze erfolgt die eigentliche Blutentnahme.<sup>24,26</sup>**
- **Es sind die Herstellerempfehlungen für die Unter- und Überfüllung der Blutentnahmeröhrchen zu beachten. Generell sollte beides vermieden werden, es sei denn, das Labor kann (mit unterstützenden Daten nachgewiesen) seine eigenen Kriterien für die Zulässigkeit festlegen.**
- **Die Hauptursache für fälschlich erhöhte PT-, INR- und APTT-Ergebnisse ist die zu geringe Befüllung der Blutentnahmeröhrchen.**
- **Es wird empfohlen, das Natriumcitratröhrchen ca. 5- bis 6-mal behutsam auf den Kopf zu drehen (Durchmischung).<sup>21</sup> Kräftiges Schütteln oder Rütteln vermeiden.**
- **Die empfohlene Citratkonzentration beträgt 3,2% Natriumcitrat.<sup>21,24,31</sup>**
- **Bei Patienten, bei denen mehrere Röhrchen entnommen werden müssen, ist die vorgeschriebene Reihenfolge der Entnahme einzuhalten (Tabelle 2).<sup>21,24</sup>**
- **Werden nur Citratröhrchen verwendet, muss kein Röhrchen verworfen werden (sofern das Probenröhrchen nicht direkt mittels Sprizentechnik und Butterfly-Kanüle befüllt wird).<sup>35</sup>**
- **Patienten mit erhöhtem Hämatokritwert (> 55%) benötigen Röhrchen mit einem geringeren Citratvolumen.<sup>21,24,37</sup>**

## PAVs bei Transport und Stabilität der Proben

Der Transport und die Verarbeitung der Blutproben umfasst eine Reihe kritischer PAVs für die Gerinnungsuntersuchung. Diese Variablen können sich gravierend auf die Ergebnisse auswirken, was wiederum schwerwiegende Folgen für die Patientenversorgung haben kann. Die aktuellen CLSI-Richtlinien unterscheiden je nach Assay wie lange die Probe stabil bleibt, bei welcher Temperatur und in welchem Zustand.<sup>21,24</sup> Diese Kriterien ändern sich auch, je nachdem, ob der Patient Antikoagulantien erhält und um welche Art von Antikoagulantien es sich handelt. Gemäß den Richtlinien sind Proben für PT-Assays unabhängig von der Verarbeitungsmethodik (zentrifugiert oder nicht), Lagertemperatur (Kühlung oder Raumtemperatur) und Patientengruppe bis zu 24 Stunden lang bemerkenswert stabil.<sup>21,24</sup> Die Integrität von PTT-Proben hängt im Gegensatz zu PT-Proben sowohl von den Verarbeitungsbedingungen als auch vom Vorliegen von Antikoagulantien, insbesondere unfraktioniertem Heparin, ab. Proben für PTT-Assays und Anti-Faktor-Xa (Anti-FXa) zur Überwachung von unfraktioniertem Heparin oder DOAKs reagieren empfindlich auf Zeit und Verarbeitungsmethode.<sup>21,24,36</sup> Proben, bei denen der Verdacht besteht, dass sie unfraktioniertes Heparin enthalten, müssen innerhalb von 1 Stunde entnommen und verarbeitet werden, da Proben mit unfraktioniertem Heparin und Lagerung bei Raumtemperatur sowie ohne Zentrifugation eine klinisch signifikante Verkürzung der PTT aufweisen.<sup>38</sup> Diese kritische Verkürzung der PTT scheint auf die Neutralisierung von Heparin durch den Thrombozytenfaktor 4 (PF4) zurückzuführen zu sein, einem hochaffinen Heparin-neutralisierenden Protein, das zusammen mit anderen Heparinbindungsproteinen von stimulierten Thrombozyten ausgeschüttet wird.<sup>38</sup>

Reihenfolge der Blutentnahme	Art des Vakuumröhrchens	Farbe des Deckels	Testart
1	Röhrchen für Blutkulturen	Farben variieren	Blutkultur
2	Natriumcitrat (3,2%)	Hellblau	Gerinnung
3	Glas (kein Aktivator)	Rot	Klinische Chemie, Immunoassays
4	SST	Gold oder Rot/Schwarz	Klinische Chemie, Serologie
5	Spurenelemente (kein Konservierungsstoff)	Royalblau	Spurenelemente Toxikologie
6	Natrium- oder Lithium-Heparin	Grün	Klinische Chemie
7	EDTA	Lavendel oder Rosa	Hämatologie, Blutbank
8	Natriumfluorid	Grau	Glukose
9	ACD	Gelb	Blutbank HLA-Testung
10	QUANTIFERON-TB	Gold	Tuberkulose-Testung

Tabelle 2: Reihenfolge der Blutentnahme und die entsprechenden Arten von Vakuumröhrchen.

Die aktuellen Richtlinien sehen vor, dass Proben für PTT-Assays bei nichtheparinisierten Patienten innerhalb von 4 Stunden nach der Probennahme untersucht werden müssen, unabhängig davon, ob sie zentrifugiert oder als Vollblut bei 2–4 °C oder Raumtemperatur gelagert werden.<sup>21,24,38</sup> Die Zentrifugation verbessert die Probenstabilität, und nach der Zentrifugation hat die Temperatur keinen wesentlichen Einfluss mehr auf die Stabilität.<sup>38</sup> Die aktuellen Richtlinien sehen vor, dass antikoagulierte Proben innerhalb von 1 Stunde nach der Entnahme zu zentrifugieren sind und alle anderen Proben innerhalb von 4 Stunden nach der Entnahme zu testen sind.<sup>21,24</sup> Weiterhin wird empfohlen, Proben, die für andere Assays (Faktor-Assays, Protein C, VWF-Untersuchungen) eingeliefert werden, innerhalb der 4-Stunden-Frist zu verarbeiten und zu lagern.<sup>21,24</sup> DTI-Proben, einschließlich Dabigatran, müssen innerhalb von 2 Stunden getestet werden, wenn die Thrombinzeit oder ein direkter chromogener Anti-FIIa-Test zum Einsatz kommt.<sup>39,40</sup> Diese Leitlinien sollten eingehalten werden, sofern sie nicht durch Angaben auf der Packungsbeilage des Herstellers oder Anwendungshinweise ersetzt werden. Es ist anzumerken, dass die Stabilität von Vollblutproben eingehend untersucht wurde, mit Ergebnissen, die robuster zu sein scheinen als die CLSI-Empfehlungen beschreiben.<sup>3</sup> Jedes Labor muss seine Gründe für die Umsetzung alternativer Stabilitätsgrenzen für Proben, die über die CLSI- oder Herstellerempfehlungen hinausgehen, abklären und dokumentieren.

Bei Hausbesuchen müssen die medizinischen Fachkräfte sicherstellen, dass die von ihnen entnommenen Gerinnungsproben unter den empfohlenen Bedingungen gelagert werden: Innerhalb des vorgegebenen Raumtemperaturbereichs, im Sommer nicht in einem heißen Auto bzw. im Winter nicht in der Kälte, und beim Transport kein Rütteln der Proben. Für Vollblutproben, die über weite Strecken transportiert werden (z. B. mit dem Auto), wurde nachgewiesen, dass die Lagerung der Röhrchen in senkrechter Stellung die Probenbewegung verringert und die Genauigkeit des PT/INR-Ergebnisses sicherstellt.<sup>41</sup>

Antikoagulierte Vollblutproben für Gerinnungsuntersuchungen können mittels Rohrpostsystemen von den Stationen des Krankenhauses zum Labor befördert werden, jedoch gilt dies nicht für die Thrombozytenfunktionsdiagnostik, einschließlich der POC- sowie der Thrombozytenaggregationstestung.<sup>42-44</sup>

Vollblutröhrchen mit Citrat, die für Thrombozytenfunktionstests (Thrombozytenaggregation) vorgesehen sind, sollten wie vorstehend beschrieben entnommen werden, müssen jedoch 30 Minuten bei Raumtemperatur ruhen, um ein erneutes Gleichgewicht und eine Rückkehr der Thrombozytenfunktion zu ermöglichen, jedoch nicht länger als 4 Stunden, denn danach verschlechtert sich die Thrombozytenfunktion.<sup>45</sup>

#### **Empfehlungen für den Transport und die Stabilität von Vollblutproben**

- **Blutproben für Gerinnungsuntersuchungen sollten nicht auf Eis transportiert oder gelagert werden.**<sup>24</sup>
- **Gerinnungsproben für Untersuchungen der Thrombozytenfunktion müssen bei Raumtemperatur gelagert werden.**<sup>45</sup>
- **Vollblutproben für Prothrombinzeit-Assays sind bei Raumtemperatur 24 Stunden stabil.**<sup>24</sup>
- **Vollblutproben für APTT-Assays sind bei Raumtemperatur 4 Stunden stabil, sofern sie nicht zur Untersuchung von unfraktioniertem Heparin (UFH) verwendet werden; in diesem Fall beträgt die Raumtemperaturstabilität von Vollblut 1 Stunde.**<sup>24</sup>
- **Sofern vom Hersteller nicht anders angegeben, beträgt die Vollblutstabilität für andere Untersuchungen 4 Stunden.**<sup>24</sup>
- **Proben zur Untersuchung der Thrombozytenfunktion sollten nicht mittels Rohrpostsystemen befördert werden.**<sup>42-44</sup>
- **Blutproben, die außerhalb des Krankenhauses (z. B. während häuslicher Krankenpflege) entnommen werden, sollten in Behältern (z. B. aus dämmendem STYROPOR) transportiert werden, denn dies gewährleistet eine gleichbleibende Umgebungstemperatur und minimiert das Durchrütteln der Probe.**
- **Für Vollblutproben, die über weite Strecken (z. B. mit dem Auto) transportiert werden, sollten die Röhrchen senkrecht in Ständern stehend befördert werden.**<sup>41</sup>

### **PAVs der Probenverarbeitung**

#### **Zentrifugation der Proben**

Sämtliche Blutproben für Gerinnungsuntersuchungen (mit Ausnahme von Vollblut-POC-Verfahren und Thrombozytenfunktionstests) müssen zentrifugiert werden, um plättchenarmes Plasma (PAP) zu erhalten. PAP ist definiert als Plasma, das < 10.000 Thrombozyten/μl (10 x 10<sup>9</sup>/l) enthält.<sup>21,24,46</sup> PAP wird benötigt, da Thrombozyten, die als letzte Zellkomponente aus dem Plasma entfernt werden, die Gerinnungstests stören können, wenn die Plättchen aufplatzen. Dies gilt insbesondere für den Fall, wenn die Plasmaprobe anschließend eingefroren wird. Die Zentrifuge muss während des Betriebs die Raumtemperatur (15–25 °C) halten können. Die Zentrifugationsparameter umfassen die Geschwindigkeit der Zentrifuge, den Radius des Zentrifugenarms (sowohl Geschwindigkeit als auch Radius bestimmen die g-Kraft) und die Dauer der Zentrifugation.<sup>21,24</sup> Um das gewünschte PAP zu erhalten, variiert die Zentrifugationsdauer je nach Zentrifuge, da diese verschiedene g-Kräfte erzeugen. Für gewöhnlich beträgt die g-Kraft in großen Standardzentrifugen typischerweise 1.500 g (ca. 4.500 U/min) bei einer Zentrifugationsdauer von 10 Minuten. Es stehen aber auch kleinere Zentrifugen mit höheren g-Kräften und kürzerer Zentrifugationsdauer (meist ca. 3 Minuten) zur Verfügung.<sup>21,24,47</sup> Jedes Labor muss die Zentrifugalkraft (empfohlen 1.500 g

und die Dauer bestimmen, die benötigt werden, um das gewünschte plättchenarme Plasma zu erhalten, welches als Plasma, das < 10.000 Thrombozyten/μl enthält, definiert ist.<sup>21,24,48</sup> Jedes Labor muss seine Zentrifugationsparameter (sowohl g-Kraft als auch Dauer) regelmäßig evaluieren, um sicherzustellen, dass die Proben weiterhin als plättchenarm gelten. Akkreditierungsorganisationen verlangen eine regelmäßige Evaluation, die in der Regel ein- bis zwölfmal jährlich durchzuführen ist. Einige Leitlinien besagen, dass eine Thrombozytenkonzentration von 200.000/μl (200 x 10<sup>9</sup>/l) für Routineuntersuchungen ausreicht. Diese Proben dürfen jedoch nicht für weitere oder spezielle Untersuchungen verwendet oder eingefroren werden.<sup>21,24</sup> Proben, die für spezielle Untersuchungen vorgesehen sind, müssen normalerweise eingefroren werden; in diesem Fall sollten sie nach der üblichen Laborpraxis zentrifugiert, das Plasma entnommen und einem mehrfach gelabelten Sekundärröhrchen zugegeben und das Plasma erneut zentrifugiert werden, um alle verbliebenen Thrombozyten zu beseitigen.<sup>21,24</sup> Das plättchenfreie Plasma wird dann aus dem Sekundärröhrchen entnommen und in ein mehrfach gelabeltes Lagerröhrchen eingebracht und die Probe sofort zur Lagerung eingefroren. Die Doppelzentrifugation erfordert regelmäßige Kontrollen der fertigen Plasmaprobe, um sicherzustellen, dass die Probe plättchenarm ist.<sup>21,24</sup>

Die Bestimmung der Thrombozytenaggregation mittels Lichttransmission erfordert nicht nur plättchenarmes, sondern auch plättchenreiches Plasma (PRP, Plasma angereichert mit einer hohen Anzahl von Thrombozyten).<sup>45</sup> Für diese Untersuchung wird PAP wie oben beschrieben hergestellt, und PRP durch eine langsamere Zentrifugation, um die Erythrozyten und die meisten Leukozyten zu entfernen, während die kleineren Blutplättchen weiter im Plasma verbleiben. Die erforderliche g-Kraft und Dauer hängen von der Zentrifuge ab; die zur Entfernung der Erythrozyten und Leukozyten benötigte Kraft beträgt ca. 200 g.

#### **Vorbereitung und Poolen der Proben**

Die meisten Routineuntersuchungen werden nach der Zentrifugation im Primärröhrchen durchgeführt. Einige Akkreditierungsorganisationen und Krankenhaus-/Laborleitlinien verlangen möglicherweise, dass die Proben nach den Erstuntersuchungen für einen bestimmten Zeitraum aufbewahrt werden. In solchen Fällen wird eine Lagerung des Primärröhrchens bei 4 °C für bis zu 24 Stunden empfohlen (es ist jedoch zu beachten, dass Proben mit unfraktioniertem Heparin keine validen Ergebnisse liefern).

Wenn das Röhrchen klein ist und nicht auf das Gerät passt oder die Probe für Spezial- oder Zusatzuntersuchungen vorbereitet wird, muss die Probe aus dem Primärröhrchen entnommen und ein zweites Mal zentrifugiert werden, um die Probe plättchenfrei zu machen; sie wird dann einem Sekundärröhrchen zugesetzt, das mit Mehrfachkennung und der Uhrzeit sowie dem Datum der Entnahme gekennzeichnet ist. Wenn mehr als ein Primärröhrchen entnommen wurde und die Plasmaproben aliquotiert und eingefroren werden sollen, muss jedes Primärröhrchen eigenständig doppelt zentrifugiert

und einzeln in sein eigenes Sekundärröhrchen aliquotiert werden. Plasmaproben aus unterschiedlichen Röhrchen sollten nicht gepoolt und dann aliquotiert werden. Wenn eines der Röhrchen Probleme aufweist (geronnen, hämolytisch usw.), gilt die gesamte Probe als nicht verwertbar und muss entsorgt werden.

#### **Empfehlungen zur Probenverarbeitung**

- **Mit Ausnahme von Vollbluttests und Untersuchungen zur Thrombozytenfunktion wird plättchenarmes Plasma (PAP) verwendet.**<sup>21,24</sup>
- **PAP ist definiert als < 10.000 Thrombozyten/μl.**<sup>24</sup>
- **Die Innentemperatur der Zentrifugen, die PAP verarbeiten, muss bei Raumtemperatur (15–25 °C) liegen.**
- **Obwohl die empfohlene Zentrifugalkraft zur Gewinnung von PAP 1.500 g über 10 Minuten beträgt, muss jedes Labor seine Zentrifugalgeschwindigkeit (U/min) oder -kraft (g) verifizieren, um die Herstellung des PAP sicherzustellen.**<sup>48</sup>
- **Alle Gerinnungsproben müssen vor dem Einfrieren doppelt zentrifugiert werden.**
- **Die Thrombozytenzahl aus der PAP-Verarbeitung muss mindestens einmal jährlich überprüft werden.**
- **Mehrere Blutproben von ein und demselben Patienten sollten vor der Lagerung oder Untersuchung nicht gepoolt werden.**

#### **PAVs für das Lagern und Auftauen von Proben**

Für alle Untersuchungen, die für PT nicht innerhalb von 24 Stunden und für PTT und andere Assays nicht innerhalb von 4 Stunden abgeschlossen sind, muss das Plasma von Zellen getrennt und in entsprechend gekennzeichneten sekundären Kunststofföhrchen eingefroren gelagert werden.<sup>21,24</sup> Die Proben können bei –20 °C für bis zu 2 Wochen bzw. bei –70 °C für bis zu 6 Monate gelagert werden.<sup>21,24,49,50</sup> Die Proben sollten bei 37 °C schnell aufgetaut werden, bis alle Komponenten wieder in Lösung gehen (kürzestmögliche Dauer).<sup>38,39</sup>

Korrekt vorbereitete und gekennzeichnete Plasmaproben sollten in speziellen Röhrchen (Kryoröhrchen oder andere Polypropylenbehälter, die weder brechen noch auslaufen) gelagert werden, deren Kappe auch bei sehr niedrigen Temperaturen an ihrem Platz bleibt.<sup>21,24,49,50</sup> Für optimale Ergebnisse der Spezialuntersuchungen müssen die Plasmaproben in Aliquots von entweder 0,5 ml oder 1,0 ml aufgeteilt werden. Nach der Vorbereitung sollten die Probengefäße in dem Gefrierschrank eingefroren werden, in dem sie auch gelagert werden. Der optimale Gefrierschrank ist ein No-Frost Ultra-Tiefkühlschrank mit einer Temperatur von –70 °C oder –80 °C, in dem die Proben 6 Monate lang gelagert werden können.<sup>49,50</sup> Wenn das Labor über keinen Tiefkühlschrank verfügt, können die meisten Plasmaproben 2 Wochen lang bei –20 °C gelagert werden,<sup>49,50</sup> aber siehe Beipackzettel des Herstellers oder andere Prüfangelegenheiten, um die Assaystabilität bei dieser Temperatur zu gewährleisten. Für Labore, die wöchentlich zahlreiche Proben zur Untersuchung oder zum Versand erhalten, wird ein Lagerhaltungssystem empfohlen.

Das Einfrieren von Probengefäßen in Trockeneis wird nicht empfohlen, da die Plasmaprobe eine pH-Veränderung erfahren kann, die möglicherweise die Ergebnisse von Gerinnungstests beeinflusst.<sup>51</sup>

Probengefäße (mit verschlossenen Deckeln) sollten in einem Wasserbad bei 37 °C aufgetaut und für die benötigte Mindestdauer bis zur vollständigen Auflösung der Plasmaprobe schonend durchgemischt werden (invertieren, kein langes Vortexen). Während die Probe auftaut, geht als letzte Komponente das Kryopräzipitat in Lösung. Dieser Vorgang dauert normalerweise bis zu 5–7 Minuten. Die Probe sollte nicht über einen längeren Zeitraum im Wasserbad bei 37 °C verbleiben, da einige instabile Faktoren (FVIII, FV, usw.) zu zerfallen beginnen und fälschlicherweise niedrige Werte ergeben.<sup>21,24,49,50</sup>

#### **Empfehlungen zu Lagerung und Auftauen der Proben**

- **PAP-Proben, die nicht innerhalb der empfohlenen Grenzen der Raumtemperaturstabilität getestet werden, sollten als Aliquote von 0,5–1,0 ml in entsprechend gekennzeichneten Polypropylengefäßen eingefroren gelagert werden.**
- **Optimales Einfrieren gelingt für PAP-Proben mit einem No-Frost-Gefrierschrank mit einer Temperatur von mindestens –70 °C, was eine Probenstabilität von 6 Monaten sicherstellt.**<sup>21,24,49,50</sup>
- **PAP-Proben können bei –20 °C für 2 Wochen gelagert werden.**<sup>49,50</sup>
- **Probengefäße (mit verschlossenen Deckeln) sollten in einem Wasserbad bei 37 °C rasch aufgetaut werden.**
- **Aufgetaute PAP-Aliquote müssen vor der Untersuchung durchgemischt werden.**

#### **PAVs des Probenzustands: Hämolyse, Lipämie und Ikterus**

Hämolyse, Lipämie und Ikterus können die genaue Messung eines Gerinnungsassays beeinträchtigen, insbesondere wenn optische Verfahren zum Einsatz kommen. Plausible Gründe für Probleme mit optischen Instrumenten durch verstärkte Hämolyse und erhöhten Bilirubinspiegel sind die mit Lipidpartikeln einhergehende spektrale Überlappung und Lichtstreuung. Analyser, die mit sekundären Wellenlängen (> 650 nm) arbeiten, können Hyperbilirubinämie-Proben genau messen und möglicherweise die Messwerte lipämischer Proben verbessern.<sup>52</sup> Es wurde auch die mechanische Lipidabscheidung (z. B. Ultrazentrifugation oder Lösungsmittel) beschrieben,<sup>52</sup> doch die Labore sollten nichtlipämische Proben parallel verarbeiten und laufen lassen, um sicherzustellen, dass es keinen durch die beiden Lipidabscheidungsverfahren bedingten Abweichungen gibt.

Ikterus kann chromogene Assays stören (z. B. Antithrombinaktivität), und die Ergebnisse müssen mit Vorsicht interpretiert werden. Weitere Informationen zum Bilirubinspiegel und seine Wirkung auf chromogene Assays finden Sie in den Beipackzetteln der Reagenzien.

Eine Hämolyse kann auf eine fehlerhafte Blutentnahme hinweisen, doch müssen die Labore auch eine In-vitro-Hämolyse (z. B. Alkoholtoxizität, Sepsis)

ausschließen. Die ex-vivo-Hämolyse geht mit einem deutlich erhöhten Kaliumspiegel und einem normalen Laktatdehydrogenasespiegel (LDH) einher. Umgekehrt geht die in vivo auftretende Hämolyse mit einem normalen Kaliumspiegel und einem deutlich erhöhten LDH-Spiegel einher. Zur Beurteilung der Probenintegrität und der nachfolgenden Kalium- und LDH-Ergebnisse sollten Sie sich an die Abteilung für klinische Chemie wenden. PT kann bei Einsatz eines optischen Messgerätes bereits durch moderate Hämolyse beeinflusst werden, aber selbst eine ausgeprägte Hämolyse wirkt sich bei Einsatz eines mechanischen Messgerätes nur minimal auf PT und APTT aus.<sup>53</sup> Die Hämolyse verringert auch FBG und AT, während die D-Dimere künstlich erhöht werden.<sup>53</sup> In einer Studie mit artifizieller Lyse verlängerte die Hämolyse künstlich die PT, verringerte APTT sowie FBG und erzeugte ein „dimerisiertes Plasmin-D-Fragment“ (D-Dimere aus der Thrombolyse).<sup>54</sup> Sofern die in-vivo-Hämolyse nicht bestätigt wird, sollten die Labore von einer eher wahrscheinlichen In-vitro-Hämolyse ausgehen und die erneute Blutabnahme empfehlen. Die Anforderung nach erneuter Blutabnahme bei hämolysierten Proben kann bei neonatalen oder pädiatrischen Patienten oder wenn die Probe aus einer zeitabhängigen Anordnung stammt problematisch sein (z. B. UFH-Überwachung), aber die Gefahr irreführender Testergebnisse kann zu Fehldiagnosen, Dosisanpassungen und anderen Fehlentscheidungen bei der Patientenversorgung führen.

Sauerstoffträger auf Hämoglobinbasis (HBOC) haben kein Stroma und können bei Patienten mit schwerer, lebensbedrohlicher Anämie eingesetzt werden, bei denen die herkömmliche Erythrozytensubstitution kontraindiziert ist (z. B. wegen religiöser Überzeugungen). Bei der Transfusion reagiert das Plasma des Patienten wie bei einer Hämolyse, allerdings ohne erhöhten LDH- oder Kaliumspiegel. Es wurde nachgewiesen, dass dieses Erscheinungsbild der Pseudohämolyse die Fähigkeit von optisch messenden Gerinnungsanalyssystemen beeinträchtigt, wodurch Clotting Assays nicht mehr korrekt bewertet werden können, ebenfalls betroffen können chromogene Assays sein.<sup>55,56</sup>

#### **Empfehlungen bei Hämolyse, Ikterus und Lipämie**

- **HIL kann die Fähigkeit optischer Analysegeräte PAP-Proben genau zu messen beeinträchtigen.**<sup>52</sup>
- **PAP-Proben mit Verdacht auf ex-vivo (in-vitro)-Hämolyse sollten abgelehnt werden.**<sup>21,24,53,54</sup>
- **Lipämische Proben können mittels Ultrazentrifugation verarbeitet werden,<sup>52</sup> doch sollte eine nichtlipämische Probe parallel mitlaufen, um sicherzustellen, dass dieses Verarbeitungsverfahren korrekt funktioniert.**
- **Ikterische Proben können bei chromogenen Messverfahren die genaue Messung beeinträchtigen.**
- **Die Infusion von HBOC-Produkten erzeugt das Erscheinungsbild der Pseudohämolyse im Plasma und kann die thrombus- und chromogenbasierten Assays stören.**<sup>55,56</sup>

## **PAVs und die Interpretation der Gerinnungstestergebnisse**

Wie bereits erwähnt, tragen die Parameter Alter, Geschlecht, Ethnie, Blutgruppe und Gesundheitszustand zur Ergebnisinterpretation der Gerinnungsuntersuchungen bei. Da die Leber sich als letztes Organ vollständig entwickelt und das primäre Organ ist, in dem Gerinnungsfaktoren gebildet werden, haben Neugeborene (insbesondere Frühgeborene) andere „Normalwerte“. Bei den meisten Gerinnungsfaktoren erreichen Säuglinge den Erwachsenenspiegel im Alter von 6 Monaten.<sup>57,58</sup> Zunehmendes Alter geht mit einem Anstieg der D-Dimere (XDP),<sup>59,60</sup> des VWF sowie der Faktoren V, VII, VIII, IX und XI (fortan FV, FV, FVII, usw.) einher.<sup>61,62</sup>

Es gibt eine Reihe von Unterschieden zwischen Männern und Frauen bei der Gerinnungsuntersuchung. Bei Frauen sind die Spiegel der Faktoren FII, FVII, FX, FIX, FXI und FXII höher als bei Männern.<sup>62</sup> Darüber hinaus haben Frauen niedrigere Spiegel des Proteins S (PS) und eine verstärkte Antithrombinaktivität (AT).<sup>63</sup> Bei Männern sind die Verschlusszeiten für die PFA-100® System\* Collagen-ADP (CADP)-Kartusche, einem Screeningtest für Störungen der Thrombozytenfunktion, länger.<sup>64</sup> Weitere Variablen bei Frauen sind Veränderungen der Hämostaseparameter als Folge des Menstruationszyklus, der Einnahme oraler Kontrazeptiva (OK) oder einer Hormonersatztherapie (HET). Die mit OK einhergehenden Veränderungen hängen von der Hormonkonzentration ab. Ethinylestradiol erhöht den Spiegel von Faktor VII-Antigen, die Faktor VIII-Aktivität und den Beta-Thromboglobulinspiegel.<sup>65</sup> Für die Blutentnahme bei Patientinnen mit kombinierter Einnahme von OK und HET wird empfohlen, die Therapie 2 Monate vor der Untersuchung auszusetzen, insbesondere für Messungen von PS und aktivierter Protein-C-Resistenz (APCR).<sup>16</sup> Die meisten Studien zeigten keine zyklusabhängige Schwankung von FBG, FXI, FXIII, tPA, PAI-1, XDP oder Alpha-2-Antiplasmin (A2AP). Allerdings haben einige Studien gezeigt, dass VWF, FVIII und Thrombozytenfunktion während der Menstruations- und frühen follikulären Phase ihren niedrigsten Spiegel aufweisen, was nahelegt, dass dieses Zeitfenster für die Befundung weiblicher Patienten optimal sein könnten.<sup>66</sup> Während der follikulären Phase steigt der Faktor X an.<sup>67</sup> Bei menstruierenden Patientinnen mit Verdacht auf von-Willebrand-Syndrom (vWD) wird empfohlen, Blut am Zyklustag 1–4 abzunehmen.<sup>16</sup>

Ebenfalls haben schwangere Frauen andere Spiegel an Gerinnungsfaktoren als nicht schwangere Frauen. Während einer Schwangerschaft verkürzen sich APTT und PT, XDP und lösliche Fibrin-Monomerkomplexe (SFMC) steigen an, während AT unverändert bleibt.<sup>68</sup> Eine Schwangerschaft geht auch mit einem erhöhten Spiegel an FBG, TAT, F1+2, XDP, VWF, FVII, FVIII, FIX, FX, FXII, Plasminogen (PLG), PAI-1, tPA-Antigen und erhöhter Thrombozytenfunktion einher. Außerdem kommt es zu einem Abfall des Spiegels von FXIII, APCR, freien PS-Antigens und der PS-Aktivität.<sup>16,69,70</sup> Angesichts der Anzahl der mit einer Schwangerschaft zusammenhängenden Veränderungen lautet die aktuelle Empfehlung

zur Abklärung einer Gerinnungsstörung, nach der Geburt 2 Monate zu warten, insbesondere bei abzuklärender von-Willebrand-Erkrankung und PS-Mängeln.<sup>16</sup> Zusätzlich zur Schwangerschaft, die die Gerinnungsspiegel der Schwangeren verändert, erhöhen die Wehen die neonatalen Werte von FVIII, VWF, FIX, FXI, FXII und PLG bei vaginaler Entbindung im Vergleich zu Neugeborenen mit elektiver Sectio. Bei Neugeborenen hat das Vorliegen von Mekonium die Spiegel von FII, FV, FVII und FX verringert.<sup>71</sup>

Es gibt einige erwähnenswerte Aspekte bezüglich Ethnie und Gerinnungsparametern, insbesondere genetische Mutationen, die mit dem Risiko einer Thromboembolie oder Blutung einhergehen.<sup>72-74</sup> Die Mehrzahl dieser Risikofaktoren übersteigt den Rahmen dieses Artikels, aber der Leser sollte sich bei der Interpretation der Ergebnisse der möglichen Auswirkungen bewusst sein. Der Einzel-Nukleotid-Polymorphismus des VWF tritt relativ häufig bei Afroamerikanern auf,<sup>75</sup> Faktor-XI-Mangel bei aschkenasischen Juden,<sup>76</sup> und APCR bei Kaukasiern.<sup>77</sup> Die Sichelzellanämie tritt vor allem bei Afroamerikanern und Menschen mediterraner Herkunft auf und geht mit einem Anstieg des FVIII-, VWF- und XDP-Spiegels einher. Zusammen mit dem beobachteten Anstieg des Spiegels der Prothrombinfragmente 1 und 2 (F1+2) und Thrombin-Antithrombin-Komplexe (TAT) sowie des p-Selektin (ein Marker der Thrombozytenaktivierung) mit vermindertem ADAMTS-13 sprechen diese Daten für eine Aktivierung der Gerinnung und der Thrombozyten.<sup>78</sup>

Die ABO-Blutgruppen unterscheiden sich deutlich hinsichtlich der Gerinnungsparameter, insbesondere bei FVIII und VWF. In der Blutgruppe O sind die Spiegel von FVIII, FIX, FXII und VWF niedriger als in den anderen Blutgruppen.<sup>61-63</sup> Es besteht kein Zusammenhang zwischen dem Rh-Faktor und einem der Gerinnungsparameter. Auch zwischen PS, Protein C (PC) oder AT und dem ABO-System ist kein Zusammenhang bekannt.<sup>63</sup>

Bewegung steigert den VWF- sowie FVIII-Spiegel und verlängert die Euglobulin-Lysezeit (ELT), hat aber keinen Einfluss auf FXII, FV, FVII, FII oder FBG.<sup>16</sup> Stress-Aktivität steigert den Spiegel von VWF, CRP und die Thrombozytenaktivierung,<sup>15</sup> wobei mentaler Stress den Spiegel von VWF, FBG, tPA und FVIII ansteigen lässt.<sup>16</sup> Phobische Angst vor der Blutentnahme korreliert mit einem hyperkoagulablen Zustand,<sup>79</sup> der unter Antidepressivagabe wieder verschwindet.<sup>80</sup> Anhaltender psychischer Stress lässt den Spiegel von FV, FVIII und FIX sinken.<sup>15,16</sup>

Erhöhte Schilddrüsenhormonspiegel (Hyperthyreose) gehen mit einem erhöhten Spiegel an VWF, FBG, Faktor VIII und PAI-1 einher, verkürzen aber die CEPI- und CADP- Verschlusszeiten auf dem PFA-100-System.<sup>\*81</sup> Durch einen behandlungsbedingten Anstieg des Levothyroxinspiegels erhöht sich auch die Serumkonzentration von VWF, FVIII, FIX, FX, PAI-1 und ELT, während gleichzeitig die APTT zurückgeht.<sup>82</sup> Primärer Hyperparathyreoidismus geht mit erhöhten FVII-, FX- und XDP-Spiegeln einher.<sup>83</sup> Eine Azidose und in geringerem Maße auch die Hypothermie führen zu veränderten PT- und APTT-Ergebnissen.<sup>84</sup>

\*System außerhalb der USA nicht im Handel erhältlich. Die Produktverfügbarkeit kann von Land zu Land unterschiedlich sein und unterliegt den unterschiedlichen regulatorischen Anforderungen. Wenden Sie sich bei Fragen zur Verfügbarkeit bitte an Ihren zuständigen Außendienstmitarbeiter.

Die Beurteilung der bei gerinnungsbezogenen Untersuchungen beobachteten biologischen bzw. zirkadianen Abweichung ist sehr wichtig. Unter der biologischen Schwankung versteht man die Abweichung zwischen den Messwerten einer bestimmten Untersuchung über einen bestimmten Zeitraum bei einer einzelnen Person bzw. einer ganzen Population. Die Gerinnungsuntersuchung mit der geringsten Abweichung ist die Prothrombinzeit (PT), und einer der größten Unterschiede findet sich bei der VWF-Bestimmung.<sup>85</sup> Bei FBG wurden saisonale Schwankungen festgestellt, nicht aber bei der PT und Thrombozytenaggregation.<sup>86</sup> Zirkadiane Schwankungen wurden festgestellt unter Heparintherapie,<sup>87</sup> bei Untersuchungen der Thrombozytenfunktion,<sup>88</sup> und bei Messungen der fibrinolytischen Kaskade.<sup>89</sup> Die Thrombozytenfunktion kann durch den zirkadianen Rhythmus, physiologischen Stress (Bewegung, Kaffee, koffeinhaltige Produkte), Ernährungsprobleme einschließlich Flavonoide, Phytoöstrogene und Polyphenole sowie durch Rauchen beeinflusst werden.<sup>90-92</sup> Fettsäuren können die Funktion der Blutplättchen beeinträchtigen, den PAI-1-Spiegel erhöhen und die Aktivierung von FVII fördern.<sup>93</sup> Bedingt durch diese bioanalytischen und jahreszeitlichen Variablen sind möglicherweise mehrere Blutentnahmen über verschiedene Zyklen hinweg erforderlich, um pathologische Befunde zu bestätigen.

Neben angeborenen Defekten, die mit Blutungen oder thrombotischen Risiken einhergehen, gibt es mehrere Krankheitszustände mit begleitender Koagulopathie, darunter Trauma, Schock, Sepsis, Krebs, Niereninsuffizienz, Leberinsuffizienz, systemischer Lupus erythematoses (SLE) und andere Autoimmunerkrankungen, Operationen und Amyloidose. Mechanische und unterstützende Maßnahmen wie die extrakorporale Membranoxygenierung (ECMO, auch bekannt als extrakorporale Lebenserhaltung [ECLS]), Hämodialyse, kontinuierliche venovenöse/arteriovenöse Hämodialyse (CVVH/CAVH), Blutoxygenatoren und Aortenballonpumpen können bei Erwachsenen eine leichte Form der Verbrauchskoagulopathie auslösen, die bei Neugeborenen und pädiatrischen Patienten (gewichtbezogen) ausgeprägter sein kann.<sup>94,95</sup> Diese mechanischen Eingriffe erfordern eine Antikoagulation, die teilweise innerhalb des Kreislaufs, systemisch (UFH) oder lokal an dem Gerät erfolgt (geräteintern Citrat und geräteextern Kalziumglukonat). Bei diesen akuten und schwerkranken Patienten werden häufig POC-Verfahren eingesetzt (z.B. aktivierte Gerinnungszeit [ACT]) und die POC-Befunde im Labor bestätigt.<sup>95</sup> Andere mechanische Assistenzgeräte, wie z. B. linksventrikuläre Pumpen, erzeugen eine turbulente Strömungsumgebung, die durch die mechanische Abscherung des VWF-Proteins sofort zu einer erworbenen von-Willebrand-Erkrankung Typ 2 führt.<sup>96</sup>

Zahlreiche pharmazeutische Interventionen, die darauf abzielen Gerinnungsfaktoren zu beeinflussen oder zu ersetzen, haben möglicherweise einen Einfluss auf die Gerinnungsuntersuchungen. Gängige Antikoagulantien wie Vitamin-K-Antagonisten, Heparine, DTIs und DOAKs können einen gewissen Einfluss auf Routine- oder Spezialuntersuchungen der Gerinnung haben.

Einige dieser Therapien müssen überwacht werden, andere jedoch nicht. Zu den weiteren pharmazeutischen Interventionen, die die Gerinnungskaskade verändern, zählen fibrinolytische Therapien (z. B. tPA), defibrinierende Medikamente, Antifibrinolytika (z. B. Tranexamsäure [TXA]) und Antithrombotika (normalerweise bezieht sich dieser Begriff auf Thrombozytenaggregationshemmer wie Clopidogrel, Aspirin, Prasugrel usw.). Die Antagonisierung kann in Form von Humanprodukten (z. B. Fresh-Frozen-Plasma, Kryopräzipitat, Flüssigplasma usw.), unspezifisch (aktivierbare 3- und 4-Faktor-Prothrombin-komplexkonzentrate) oder medikamentenspezifisch (z. B. Idarucizumab) erfolgen. Pharmazeutische Interventionen bei einem blutenden Patienten können die Stimulation einer in-vivo-Reaktion (z. B. nasale Gabe oder Infusion von Desmopressin zur Erhöhung des zirkulierenden VWF) oder die Infusion eines aktivierten Faktors (z. B. NovoSeven, einem rekombinanten Faktor VIIa) beinhalten. Substitutionstherapien beinhalten spezifische Faktoren (z. B. FVIII oder FIX), die menschlichen, rekombinanten, porcinen oder anderen Ursprungs sein können (z. B. Emicizumab-kxwh, Handelsname Helimbra). Labore sollten die Auswirkungen dieser medikamentösen Maßnahmen auf ihre Assays kennen. Die Labore sollten auch Empfehlungen geben können, welche Assays sich für die Bestimmung der Medikamentenkonzentration (Pharmakokinetik) oder der -wirkung (Pharmakodynamik) eignen. Bei gängigen Antikoagulantien wie Warfarin oder UFH werden historisch bedingt traditionelle Screening-Tests wie PT bzw. APTT eingesetzt. Allerdings müssen auch diese jahrzehntealten Behandlungsstrategien ausreichend überwacht werden, wobei die Blutentnahme zum richtigen Zeitpunkt erfolgen muss, um eine Überdosierung des Medikaments oder unangemessene Dosisänderungen zu vermeiden (Tabelle 1).

Neuere Therapien (z. B. DOAKs oder Helimbra) und die Abklärung der Wirksamkeit von weniger etablierten Therapieformen (z. B. Fibrinolytika) erfordern möglicherweise eine weiterführende Literaturrecherche. Tabelle 1 enthält einige vorläufige Orientierungshilfen. Bei Patienten mit bekanntem angeborenem Mangel (z. B. Hämophilie A oder B und VWD) sind möglicherweise pharmakokinetische (PK) Untersuchungen notwendig, um die Substitutionstherapie und eine mögliche Inhibitorwirkung festzulegen. Empfehlungen für PK-Untersuchungen sollten durch die Fachinformation des Medikaments oder einen Arzt erfolgen, aber einige vorläufige Orientierungshilfen sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Es ist auch zu beachten, dass einige medikamentöse Maßnahmen, bei denen das Hauptziel der Therapie nicht mit der Gerinnung zusammenhängt, einen unbeabsichtigten Einfluss auf die Gerinnungsuntersuchungen haben können. Am häufigsten kommt es durch den Einsatz von Antibiotika zu einer Veränderung der Darmflora, was sich auf die Verwertung von Vitamin K auswirken und einen Mangel an Vitamin K auslösen (ähnlich wie bei der Warfarinbehandlung, die den Spiegel von FII, FVII, FIX und FX senkt) oder die Warfarintherapie verschärfen kann. Darüber hinaus können einige Lipoglykopeptide (z. B. Telavancin) aufgrund ihrer

Bindung an die Phospholipidquellen des Reagenzes die Gerinnungsassays stören.<sup>97,98</sup> Scheinbar pathologische Ergebnisse, insbesondere, wenn sie mit der Einnahme neuer Medikamente einhergehen, sollten vor Maßnahmen einhergehend gründlich abgeklärt werden. Angesichts eines Anstiegs der Fälle in den USA warnten die Centers for Disease Control (CDC) die Kliniker vor dem Anstieg an synthetischem Cannabis, das mit Rodentiziden (Brodifacoum) behandelt wurde, was PT und APTT deutlich verlängert.<sup>99</sup> Brodifacoum ist ein Vitamin-K-Antagonist mit einer gegenüber Warfarin extrem langen Halbwertszeit.<sup>100</sup>

Schließlich müssen sich die Labore über Proben im Klaren sein, die möglicherweise nicht menschlichen Ursprungs sind oder kein „natives“ menschliches Plasma enthalten. Im Rahmen von episodischen Maßnahmen zur Qualitätssicherung (QS) müssen Einrichtungen, die Kryopräzipitate sammeln und verarbeiten, möglicherweise FVIII und FBG bestimmen. Diese Proben enthalten (im Vergleich zu nativem Plasma) konzentrierte Mengen an FVIII, FBG und VWF, so dass vor Untersuchungsbeginn der Assay (Verdünnungen) bzw. die Probe (Verdünnung mit FVIII-Mangelplasma) möglicherweise modifiziert werden müssen. Einrichtungen mit Blutrückgewinnungssystemen im Operationsaal benötigen möglicherweise eine Anti-Xa-Bestimmung, und das Labor muss über ein System verfügen, das eine angemessene, für diesen QS-Prozess geeignete, niedrigere Nachweisgrenze bietet.

Kategorie	APTT	Prothrombinzeit
Patientenauswahl	Antikoagulantien	Antikoagulantien (einschließlich Vitamin-K-Antagonisten)
	Lebererkrankung	Lebererkrankung
	Gerinnungsstörungen (erworben oder angeboren)	Gerinnungsstörungen (erworben oder angeboren)
Proben-gewinnung	Schlechte Blutabnahme	Schlechte Blutabnahme
	Zu wenig Antikoagulans	Zu wenig Antikoagulans
	Blutentnahme in falschem Röhrchen	Blutentnahme in falschem Röhrchen
Proben-transport	Unzureichendes Füllvolumen	Unzureichendes Füllvolumen
	Probe zu alt	Probe zu alt
	Falsche Transporttemperatur	Falsche Transporttemperatur
Verarbeitung und Lagerung der Probe	Ungeeigneter Umgang mit der Probe	Ungeeigneter Umgang mit der Probe
	Falsche Geschwindigkeit und Dauer der Zentrifugation	Falsche Geschwindigkeit und Dauer der Zentrifugation
	Lagerung bei höherer Temperatur als empfohlen	Lagerung bei höherer Temperatur als empfohlen
	Länger gelagert als empfohlen	Länger gelagert als empfohlen

**Tabelle 3:** Mögliche Ursachen der artifiziell verlängerten APTT oder PT.

Tierisches Blut weist zwar ähnliche Gerinnungsproteine auf, zeigt aber oft deutlich andere Werte als menschliches Blut.<sup>101</sup> Daher können nicht alle humanbasierten Testverfahren auf tierische Systeme übertragen werden, insbesondere hinsichtlich Faktoren- sowie D-Dimer-Spiegeln und Thrombozytenfunktionstests. Dies gilt insbesondere dann, wenn ein Immunassay mit tierischen Antikörpern durchgeführt wird. Reagenzienhersteller können möglicherweise Auskunft darüber geben, ob ihr Reagenz bzw. ihr Verfahren für Tierversuche geeignet ist.

Wie bereits beschrieben, gibt es zahlreiche präanalytische Variablen im Zusammenhang mit Gerinnungsuntersuchungen, die die diagnostische Genauigkeit eines Untersuchungsergebnisses beeinflussen können. Jeder Laborant und jeder Arzt muss die Auswirkungen dieser Variablen bei der Ergebnisinterpretation von Gerinnungsuntersuchungen einschätzen und berücksichtigen. Zu den Einschränkungen der meisten veröffentlichten Studien zu diesen Variablen zählen kleine Stichproben, vor allem aber begrenzte Reagenzien- und Systemkombinationen. Zu beachten sind die plausiblen Ursachen für eine verlängerte PT und APTT (Tabelle 3) sowie für verkürzte PT- und APTT-Gerinnungszeiten (Tabelle 4).

Kategorie	APTT	Prothrombinzeit
Patientenauswahl	Erworbene, gerade ablaufende Gerinnung	Erworbene, gerade ablaufende Gerinnung
	Schlechte Blutabnahme	Schlechte Blutabnahme
	Röhrchen unvollständig durchgemischt	Röhrchen unvollständig durchgemischt
Proben-gewinnung	Zu wenig Antikoagulans	Zu wenig Antikoagulans
	Blutentnahme in falschem Röhrchen	Blutentnahme in falschem Röhrchen
	Probe zu alt	Probe zu alt
Proben-transport	Falsche Transporttemperatur	Falsche Transporttemperatur
	Ungeeigneter Umgang mit der Probe	Ungeeigneter Umgang mit der Probe
	Falsche Geschwindigkeit und Dauer der Zentrifugation	Falsche Geschwindigkeit und Dauer der Zentrifugation
Verarbeitung und Lagerung der Probe	Länger gelagert als empfohlen	Länger gelagert als empfohlen
	Zu viele verbliebene Thrombozyten nach dem Einfrieren	

**Tabelle 4:** Mögliche Ursachen der artifiziell verkürzten APTT oder PT.

## Fazit

Präanalytische Variablen, die mit Patienten, Entnahme, Transport, Verarbeitung und Lagerung der Proben verbunden sind, können bei den aus Routine- und Spezialuntersuchungen der Gerinnung erhaltenen Werten signifikante Abweichungen verursachen. Wenn diese präanalytischen Variablen nicht erkannt oder angesprochen werden, können falsche Untersuchungswerte entstehen, die zu Fehlern bei der Patientenversorgung, einschließlich Fehldiagnosen und falsche Dosierung und Behandlung, führen. Wie in diesem Dokument zusammengefasst, können Verfahrensfehler, abgekürzte Verfahren und Versäumnisse zu fehlerhaften Ergebnisberichten führen. Für optimale Assay-Ergebnisse müssen die Laborverfahren immer den strengsten Empfehlungen und Richtlinien für die Probenentnahme und -vorbereitung entsprechen, einschließlich jener der Reagenzien- und Gerätehersteller. Die Einhaltung etablierter Richtlinien und Laborverfahren, die sich speziell mit präanalytischen Variablen befassen, kann eine Umschulung von Mitarbeitern erfordern, die Gerinnungsproben entnehmen, verarbeiten, lagern und untersuchen. Die strikte Umsetzung dieser Verfahren führt zu genaueren und besser reproduzierbaren Ergebnissen.

### Literatur:

- Plebani M, Favaloro EJ, Lippi G. Patient safety and quality in laboratory and hemostasis testing: a renewed loop? *Semin Thromb Hemost.* 2012;38:553-8.
- Preston FE, Lippi G, Favaloro EJ, Jayandharan GR, Edison ES, Srivastava A. Quality issues in laboratory hemostasis. *Haemophilia.* 2010;16(Suppl 5):93-9.
- Adcock Funk DM, Lippi G, Favaloro EJ. Quality standards for sample processing, transportation, and storage in hemostasis testing. *Semin Thromb Hemost.* 2012;38:576-85.
- Favaloro EJ, Lippi G, Adcock DM. Preanalytical and postanalytical variables: the leading causes of diagnostic error in hemostasis? *Semin Thromb Hemost.* 2008;34:612-34.
- Bonar R, Favaloro EJ, Adcock DM. Quality in coagulation and haemostasis testing. *Biochem Med.* 2010;20:184-99.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Documents H21, H30, H47, H48, H54, H57-H60. Wayne, PA: CLSI.
- International Organization for Standardization. ISO 15189:2013 Medical laboratories—particular requirements for quality and competence.
- U.S. Food and Drug Administration. Guidance for industry: bioanalytical method validation. 2001, revised 2013. Available from: <http://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/default.htm>
- International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. Validation of analytical procedures: Text and methodology Q2(R1). ICH harmonised tripartite guideline. 2005. Available from: <http://www.ich.org>
- U.S. Food and Drug Administration. Guidance for Industry Q2B validation of analytical procedures: methodology. 1996. Available from: <http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>
- U.S. Department of Health and Human Services. Clinical laboratory improvement amendments of 1988: final rule. *Fed Regist.* 1992;57(40):7001-7186. Codified at 42 CFR §1405-494.
- Thompson M, Ellison WLR, Wood R. Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC technical report). *Pure and Appl Chem.* 2002;74:835-55.
- Magnussen B, Ornemark U, editors. Eurachem guide: the fitness for purpose of analytical methods—a laboratory guide to method validation and related topics. 2nd ed. 2014.
- Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). Guideline on bioanalytical method validation. European Medicines Society. EMEA/CHMP/EWP/192217/2009 Rev. 1 Corr. 2.
- Hamer M, Gibson EL, Vuononvirta R, Williams E, Steptoe A. Inflammatory and hemostatic responses to repeated mental stress: individual stability and habituation over time. *Brain Behav Immun.* 2006;20:456-9.
- Blombäck M, Konkle BA, Manco-Johnson MJ, Bremme K, Hellgren M, Kaaja R: ISTH SSC Subcommittee on Women's Health Issues. Preanalytical conditions that affect coagulation testing, including hormonal status and therapy. *J Thromb Haemost.* 2007;5:855-8.
- Stegnar M, Cuderman TV, Bozic M. Evaluation of pre-analytical, demographic, behavioural and metabolic variables on fibrinolysis and haemostasis activation markers utilised to assess hypercoagulability. *Clin Chem Lab Med.* 2007;45:40-6.
- Lima-Oliveira G, Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Picheth G, Guidi GC. Sodium citrate vacuum tubes validation: preventing preanalytical variability in routine coagulation testing. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2013;3:252-5.
- Bowen RA, Adcock DM. Blood collection tubes as medical devices: the potential to affect assays and proposed verification and validation process for the clinical laboratory. *Clin Biochem.* 2016;49:1321-30.
- Giavarina D, Lippi G. Blood venous sample collection: recommendations overview and a checklist to improve quality. *Clin Biochem.* 2017;50:568-73.
- Mackie I, Cooper P, Lawrie A, Kitchen S, Gray E, Laffan M: British Committee for Standards in Haematology. Guidelines on the laboratory aspects of assays used in haemostasis and thrombosis. *Int J Lab Hematol.* 2013;35:1-13.
- Lima-Oliveira G, Lippi G, Salvagno GL, Brocco G, Gaino S, Dima F, Volaski W, Rego FG, Picheth G, Guidi GC. Processing of diagnostic blood specimens: is it really necessary to mix primary blood tubes after collection with evacuated tube system? *Biopreserv Biobank.* 2014;12:53-9.
- Chuang J, Sadler MA, Witt DM. Impact of evacuated collection tube fill volume and mixing on routine coagulation testing using 2.5-mL (pediatric) tubes. *Chest.* 2004;126:1262-6.
- Clinical Laboratory Standards Institute. GP41-Collection of diagnostic venous blood specimens. 7th ed. Wayne (PA): CLSI; 2017.
- Ong ME, Chan YH, Lim CS. Observational study to determine factors associated with blood sample haemolysis in the emergency department. *Ann Acad Med Singapore.* 2008;37(9):745-8.
- Uman LS, Birnie KA, Noel M, et al. Psychological interventions for needle-related procedural pain and distress in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013 Oct 10;(10):CD005179. doi: 10.1002/14651858.CD005179.pub3.
- World Health Organization. WHO guidelines on drawing blood: best practices in phlebotomy. Available from: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK138650/pdf/Bookshelf\\_NBK138650.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK138650/pdf/Bookshelf_NBK138650.pdf)
- Kang HJ, Han CD, Jahng JS, Ko SO. Blood gas and electrolyte changes after tourniquet application in total knee replacement surgery. *Yonsei Med J.* 1992;33(2):153-8.
- Adcock DM, Kressin DC, Marlar RA. Minimum specimen volume requirements for routine coagulation testing and is it dependent on citrate concentration. *Am J Clin Pathol.* 1998;109:595-9.
- Phelan MP, Reineks EZ, Berriochoa JP, Schold JD, Hustey FM, Chamberlin J, Kovach A. Impact of use of smaller volume, smaller vacuum blood collection tubes on hemolysis in emergency department blood samples. *Am J Clin Pathol.* 2017;148(4):330-5.
- Adcock DM, Kressin DC, Marlar RA. Effect of 3.2% vs. 3.8% sodium citrate concentration on routine coagulation testing. *Am J Clin Path.* 1999;107:105-10.
- Bovill EG, Terrin ML, Stump DC, et al. Hemorrhagic events during therapy with recombinant tissue-type plasminogen activator, heparin, and aspirin for acute myocardial infarction: results of the Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) Phase II Trial. *Ann Int Med.* 1999;130:62-66.
- Kadani M, Satish BNVS, Maharudrappa B, Prashant KM, Hugar D, Allad U, Prabhu P. Evaluation of plasma fibrinogen degradation products and total serum protein concentration in oral submucous fibrosis. *J Clin Diagn Res.* 2014;8:ZC54-ZC57.
- Chapman SN, Mehndiratta P, Johansen MC, McMurry TL, Johnston KC, Andrew M, Southerland AM. Current perspectives on the use of intravenous recombinant tissue plasminogen activator (tPA) for treatment of acute ischemic stroke. *Vasc Health Risk Manag.* 2014;10:75-87.
- Adcock DM, Kressin DC, Marlar RA. Are discard tubes necessary in coagulation studies? *Lab Med.* 1997;28(8):530-3.
- Douxhils J, Ageno W, Samama CM, Lessire S, Ten Cate H, Verhamme P, Dogné JM, Mullier F. Laboratory testing in patients treated with direct oral anticoagulants: a practical guide for clinicians. *J Thromb Haemost.* 2018;16:209-19.
- Marlar RA, Potts RM, Marlar AA. Effect on routine and special coagulation testing values of citrate anticoagulant adjustment in patients with high hematocrit values. *Am J Clin Path.* 2006;126:400-5.
- Salvagno GL, Lippi G, Montagnana M, Franchini M, Poli G, Guidi GC. Influence of temperature and time before centrifugation of specimens for coagulation testing. *Int J Lab Hematol.* 2009;31:462-7.
- Zürcher M, Sulzer I, Barizzi G, Lammle B, Alberio L. Stability of coagulation assays performed in plasma from citrated whole blood transported at ambient temperature. *Thromb Haemost.* 2008;99:416-26.
- Gosselin RC, Adcock DM, Bates SM, Douxfils J, Favaloro EJ, Gouin-Thibault I, Guillermo C, Kawai Y, Lindhoff-Last E, Kitchen S. International Council for Standardization in Haematology (ICSH) recommendations for laboratory measurement of direct oral anticoagulants. *Thromb Haemost.* 2018;118:437-50.
- van Geest-Daalderop JH, Mulder AB, Boonman-de Winter LJ, Hoekstra MM, van den Besselaar AM. Preanalytical variables and off-site blood collection: influences on the results of the prothrombin time/international normalized ratio test and implications for monitoring of oral anticoagulant therapy. *Clin Chem.* 2005;51:561-8.
- Glas M, Mauer D, Kassas H, Volk T, Kreuer S. Sample transport by pneumatic tube system alters results of multiple electrode aggregometry but not rotational thromboelastometry. *Platelets.* 2013;24:454-61.
- Hübner U, Böckel-Frohnhöfer N, Hummel B, Geisel J. The effect of a pneumatic tube transport system on platelet aggregation using optical aggregometry and the PFA-100. *Clin Lab.* 2010;56:59-64.
- Wallin O, Söderberg J, Grankvist K, Jonsson PA, Hutdin J. Preanalytical effects of pneumatic tube transport on routine hematology, coagulation parameters, platelet function and global coagulation. *Clin Chem Lab Med.* 2008;46:1443-9.
- Clinical Laboratory Standards Institute. H58A-Platelet function testing by aggregometry. 1st ed. Wayne (PA): CLSI; 2008.
- Lippi G, Rossi R, Ippolito L, Zoppi V, Azzi D, Pipitone S, Favaloro EJ, Funk DM. Influence of residual platelet count on routine coagulation, factor VIII, and factor IX testing in post freeze-thaw samples. *Semin Thromb Hemost.* 2013;39(7):834-9.
- Magnette A, Chatelain M, Chatelain B, Ten Cate H, Mullier F. Pre-analytical issues in the haemostasis laboratory: guidance for the clinical laboratories. *Thromb J.* 2016;14:49-53.
- Nelson S, Pritt A, Marlar RA. Rapid preparation of plasma for 'stat' coagulation testing. *Arch Pathol Lab Med.* 1994;118:175-6.
- Foshat M, Bates S, Russo W, Huerta A, Albright K, Giddings K, Indrikovs A, Qian YW. Effect of freezing plasma at -20°C for 2 weeks on prothrombin time, activated partial thromboplastin time, dilute Russell viper venom time, activated protein C resistance and D-dimer levels. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2015;21:41-7.
- Gosselin RC, Dwyre DM. Determining the effect of freezing on coagulation testing: comparison of results between fresh and once frozen-thawed plasma. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2015;26:69-74.
- Odsæter IH, Lian IA, Bratberg K, Mikkelsen G. Dry ice exposure of plasma samples influences pH and lupus anticoagulant analysis. *Clin Chem Lab Med.* 2015;53:809-13.
- Lippi G, Plebani M, Favaloro EJ. Interference in coagulation testing: focus on spurious hemolysis, icterus, and lipemia. *Semin Thromb Hemost.* 2013;39:258-66.
- D'Angelo G, Villa C, Tamborini A, Villa S. Evaluation of the main coagulation tests in the presence of hemolysis in healthy subjects and patients on oral anticoagulant therapy. *Int J Lab Hematol.* 2015;37:819-33.
- Lippi G, Montagnana M, Salvagno GL, Guidi GC. Interference of blood cell lysis on routine coagulation testing. *Arch Pathol Lab Med.* 2006;130:181-4.
- Jahr JS, Lurie F, Gosselin R, Lin JS, Wong L, Larkin E. Effects of a hemoglobin-based oxygen carrier (HBOC-201) on coagulation testing. *Clin Lab Sci.* 2000;13(4):210-14.
- Jahr JS, Liu H, Albert OK, Gull A, Moallempour M, Lim JC, Gosselin R. Does HBOC-201 (HEMOPURE) affect platelet function in orthopedic surgery: a single site analysis from a multicenter study. *Am J Ther.* 2010;17:140-7. Epub May 2009.
- Toulon P. Developmental hemostasis: laboratory and clinical implications. *Int J Lab Hematol.* 2016;38(Suppl 1):66-77.
- Nowak-Göttl U, Limperger V, Kenet G, Degenhardt F, Arlt R, Domschikowski J, Clausnizer H, Liebsch J, Junker R, Steppat D. Developmental hemostasis: a lifespan from neonates and pregnancy to the young and elderly adult in a European white population. *Blood Cells Mol Dis.* 2017;67:2-13.
- Righini M, Nendaz M, Le Gal G, Bounameaux H, Perrier A. Influence of age on the cost-effectiveness of diagnostic strategies for suspected pulmonary embolism. *J Thromb Haemost.* 2007;5:1869-77.
- Giansante C, Fiotti N, Cattin L, Da Col PG, Calabrese S. Fibrinogen, D-dimer and thrombin-antithrombin complexes in a random population sample: relationships with other cardiovascular risk factors. *Thromb Haemost.* 1994;71:581-6.
- Favaloro EJ, Soltani S, McDonald J, Grezchnik E, Easton L, Favaloro JW. Reassessment of ABO blood group, sex, and age on laboratory parameters used to diagnose von Willebrand disorder: potential influence on the diagnosis vs the potential association with risk of thrombosis. *Am J Clin Pathol.* 2005 Dec;124(6):910-7. Erratum in: *Am J Clin Pathol.* 2006 May;125(5):796.
- Favaloro EJ, Soltani S, McDonald J, Grezchnik E, Easton L. Cross-laboratory audit of normal reference ranges and assessment of ABO blood group, gender and age on detected levels of plasma coagulation factors. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2005;16:597-605.
- Favaloro EJ, Soltani S, McDonald J, Grezchnik E, Easton L. Laboratory identification of familial thrombophilia: do the pitfalls exceed the benefits? A reassessment of ABO-blood group, gender, age, and other laboratory parameters on the potential influence on a diagnosis of protein C, protein S, and antithrombin deficiency and the potential high risk of a false positive diagnosis. *Lab Hematol.* 2005;11(3):174-84.
- Haubelt H, Anders C, Vogt A, Hoerdet P, Seyffert UT, Hellstern P. Variables influencing Platelet Function Analyzer-100 closure times in healthy individuals. *Br J Haematol.* 2005;130:759-67.
- Lindberg UB, Crona N, Stigendal L, Teger-Nilsson AC, Silfverstolpe G. A comparison between effects of estradiol valerate and low dose ethinyl estradiol on haemostasis parameters. *Thromb Haemost.* 1989;61:65-9.
- Knol HM, Kemperman RF, Kluin-Nelemans HC, Mulder AB, Meijer K. *Thromb Haemost.* 2012;107:22-9.
- Chaireti R, Gustafsson KM, Byström B, Bremme K, Lindahl TL. Endogenous thrombin potential is higher during the luteal phase than during the follicular phase of a normal menstrual cycle. *Hum Reprod.* 2013;28(7):1846-52.
- Karlsson O, Sporrang T, Hillarp A, Jeppsson A, Hellgren M. Prospective longitudinal study of thromboelastography and standard hemostatic laboratory tests in healthy women during normal pregnancy. *Anesth Analg.* 2012;115:890-8.
- Ataullakhanov FI, Koltsova EM, Balandina AN, Serebriyskiy II, Vuimo TA, Pantelev MA. Classic and global hemostasis testing in pregnancy and during pregnancy complications. *Semin Thromb Hemost.* 2016;42:696-716.
- Fredrik BLR, Strandell AM, Baghaei F, Hellgren E. Platelet aggregation in healthy women during normal pregnancy - a longitudinal study. *Platelets.* 2018;16:1-7.
- Kulkarni AA, Osmond M, Bapir M, Riddell A, Smith C, Lee CA, Kadir RA. The effect of labour on the coagulation system in the term neonate. *Haemophilia.* 2013;19:533-8.
- Tang L, Hu Y. Ethnic diversity in the genetics of venous thromboembolism. *Thromb Haemost.* 2015;114:901-9.
- Bryant A, Mhyre JM, Leffert LR, Hoban RA, Yakoob MY, Bateman BT. The association of maternal race and ethnicity and the risk of postpartum hemorrhage. *Anesth Analg.* 2012;115:1127-36.
- Ho P, Ng C, Rigano J, Tacey M, Smith C, Donnan G, Nandurkar H. Significant age, race and gender differences in global coagulation assays parameters in the normal population. *Thromb Res.* 2017;154:80-83.
- Flood VH, Gill JC, Morateck PA, Christopherson PA, Friedman KD, Haberichter SL, Branchford BR, Hoffmann RG, Abshire TC, Di Paola JA, Hoots WK, Leissinger C, Lusher JM, Ragni MV, Shapiro AD, Montgomery RR. Common VWF exon 28 polymorphisms in African Americans affecting the VWF activity assay by ristocetin cofactor. *Blood.* 2010;116:280-6.
- Duga S, Salomon O. Congenital factor XI deficiency: an update. *Semin Thromb Hemost.* 2013;39:621-31.
- van Mens TE, Levi M, Middeldorp S. Evolution of factor V Leiden. *Thromb Haemost.* 2013;110:23-30.
- Colombatti R, De Bon E, Bertomoro A, Casonato A, Pontara E, Ometto E, Saggiolato G, Steffan A, Damian T, Cella G, Teso S, Manara R, Rampazzo P, Meneghetti G, Basso G, Sartori MT, Sainati L. Coagulation activation in children with sickle cell disease is associated with cerebral small vessel vasculopathy. *PLoS One.* 2013;8(10):e78801.
- Geiser F, Meier C, Wegener I, Imbierowicz K, Conrad R, Liedtke R, Oldenburg J, Harbrecht U. Association between anxiety and factors of coagulation and fibrinolysis. *Psychother Psychosom.* 2008;77(6):377-83.
- Geiser F, Conrad R, Imbierowicz K, Meier C, Liedtke R, Klingmüller D, Oldenburg J, Harbrecht U. Coagulation activation and fibrinolysis impairment are reduced in patients with anxiety and depression when medicated with serotonergic antidepressants. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2011;65:518-25.

81. Horacek J, Maly J, Svilias I, Smolej L, Cepkova J, Vizda J, Sadilek P, Fatorova I, Zak P. Prothrombotic changes due to an increase in thyroid hormone levels. *Eur J Endocrinol.* 2015;172:537-42.
82. Van Zaane B, Squizzato A, Debeij J, Dekkers OM, Meijers JC, Van Zanten AP, Büller HR, Gerdes VE, Cannegieter SC, Brandjes DP. Alterations in coagulation and fibrinolysis after levothyroxine exposure in healthy volunteers: a controlled randomized crossover study. *J Thromb Haemost.* 2011;9:1816-24.
83. Erem C, Kocak M, Hacıhasanoglu A, Yılmaz M, Sağlam F, Ersoz HO. Blood coagulation, fibrinolysis and lipid profile in patients with primary hyperparathyroidism: increased plasma factor VII and X activities and D-Dimer levels. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2008;116:619-24.
84. Ramaker AJ, Meyer P, van der Meer J, Struys MM, Lisma T, van Oeveren W, Hendriks HG. Effects of acidosis, alkalosis, hyperthermia and hypothermia on haemostasis: results of point-of-care testing with thromboelastography analyser. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2009;20:436-9.
85. de Maat MP, van Schie M, Klufft C, Leebeek FW, Meijer P. Biological variation of hemostasis variables in thrombosis and bleeding: consequences for performance specifications. *Clin Chem.* 2016;62:1639-46.
86. Rudez G, Meijer P, Spronk HM, Leebeek FW, ten Cate H, Klufft C, de Maat MP. Biological variation in inflammatory and hemostatic markers. *J Thromb Haemost.* 2009;7:1247-55.
87. Vandiver JW, Vondracek TG. Antifactor Xa levels versus activated partial thromboplastin time for monitoring unfractionated heparin. *Pharmacotherapy.* 2012;32:546-58.
88. Haubelt H, Anders C, Vogt A, Hoerd P, Seyfert UT, Hellstern P. Variables influencing Platelet Function Analyzer-100 closure times in healthy individuals. *Br J Haematol.* 2005;130:759-67.
89. Talens S, Malfliet JJ, Rudež G, Spronk HM, Janssen NA, Meijer P, Klufft C, de Maat MP, Rijken DC. Biological variation in tPA-induced plasma clot lysis time. *Thromb Haemost.* 2012;108:640-6.
90. Lordkipanidzé M. Platelet function tests. *Semin Thromb Hemost.* 2016;42:258-67.
91. Paglieroni TG, Janatpour K, Gosselin R, Crocker V, Dwyre DM, MacKenzie MR, Holland PV, Larkin EC. Platelet function abnormalities in qualified whole-blood donors: effects of medication and recent food intake. *Vox Sang.* 2004;86:48-53.
92. Pearson DA, Paglieroni TG, Rein D, Wun T, Schramm DD, Wang JF, Holt RR, Gosselin R, Schmitz HH, Keen CL. The effects of flavanol-rich cocoa and aspirin on ex vivo platelet function. *Thromb Res.* 2002;106:191-7.
93. Miller GJ. Dietary fatty acids and the haemostatic system. *Atherosclerosis.* 2005;179:213-27.
94. Sy E, Sklar MC, Lequier L, Fan E, Kanji HD. Anticoagulation practices and the prevalence of major bleeding, thromboembolic events, and mortality in venoarterial extracorporeal membrane oxygenation: a systematic review and meta-analysis. *J Crit Care.* 2017;39:87-96.
95. Winkler AM. Managing the precarious hemostatic balance during extracorporeal life support: implications for coagulation laboratories. *Semin Thromb Hemost.* 2017;43:291-9.
96. Bartoli CR, Kang J, Zhang D, Howard J, Acker M, Atluri P, Motomura T. Left ventricular assist device design reduces von Willebrand factor degradation: a comparative study between the HeartMate II and the EVAHEART Left Ventricular Assist System. *Ann Thorac Surg.* 2017;103:1239-44.
97. Gosselin R, Dager W, Roberts A, Freeman L, Gandy L, Gregg J, Dwyre D. Effect of telavancin (VIBATIV) on routine coagulation test results. *Am J Clin Pathol.* 2011;136:848-54.
98. Webster PS, Oleson FB Jr, Paterson DL, Arkin CF, Mangili A, Craven DE, Adcock DM, Lindfield KC, Knapp AG, Martone WJ. Interaction of daptomycin with two recombinant thromboplastin reagents leads to falsely prolonged patient prothrombin time/International Normalized Ratio results. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2008;19:32-8.
99. <https://content.govdelivery.com/accounts/USCDC/bulletins/1eb9503>
100. King N, Tran MH. Long-acting anticoagulant rodenticide (superwarfarin) poisoning: a review of its historical development, epidemiology, and clinical management. *Transfus Med Rev.* 2015;29:250-8.
101. Karges HE, Funk KA, Ronneberger H. Activity of coagulation and fibrinolysis parameters in animals. *Arzneimittelforschung.* 1994;44:793-7.

Wir leisten Pionierarbeit im Gesundheitswesen. Für jeden Menschen. Überall. Nachhaltig. Die innovativen Lösungen von Siemens Healthineers fördern den Zugang zu qualitativ hochwertiger Gesundheitsversorgung für alle und unterstützen maßgeblich die klinische Entscheidungsfindung und die Gestaltung von Behandlungspfaden. Wir sind ein Team aus mehr als 71.000 hoch engagierten Healthineers in über 70 Ländern. Mit Leidenschaft verschieben wir die Grenzen des Möglichen im Gesundheitswesen, um das Leben von Menschen auf der ganzen Welt zu verbessern.

Alle verbundenen Marken sind Marken der Siemens Healthcare Diagnostics Inc. oder deren verbundener Unternehmen. Alle anderen Marken sind Eigentum der jeweiligen Inhaber.

Die Produktverfügbarkeit variiert von Land zu Land und ist von unterschiedlichen zulassungsrechtlichen Anforderungen abhängig. Wenn Sie Fragen zur Erhältlichkeit haben, wenden Sie sich bitte an Ihren Ansprechpartner vor Ort.

Die Ausführungen und Informationen in diesem Dokument basieren auf einer von Siemens Healthineers in Auftrag gegebenen Forschungsumfrage und den Kompetenzen unserer Mitarbeiter auf diesem Gebiet. Diese Aussagen stellen keine Zusicherung einer künftigen Leistungsfähigkeit dar. Die in Zitaten wiedergegebenen Meinungen von Personen sind deren persönliche Meinungen.

#### Siemens Healthineers Headquarter

Siemens Healthineers AG  
Siemensstraße 3  
91301 Forchheim, Germany  
Tel.: +49 9191 18-0  
siemens-healthineers.com

#### Lokaler Kontakt

Siemens Healthineers AG  
Frankfurter Straße 110  
65760 Eschborn, Deutschland  
Tel.: +49 6196 7713-1111  
siemens-healthineers.de/laboratory-diagnostics