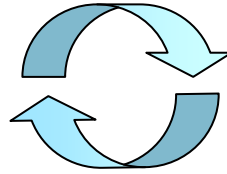


Betrieb[Ausbildungsrahmenplan
Nr. 11.1](#)**Berufsschule**[Rahmenlehrplan
Lernfeld 8](#)

Standardarbeitsanweisung (SOP) Bestimmung des Hämatokritwertes im Blut	„Firmenlogo“
Seite: 1 von 5 Verfasser: „ Name “, Ausbilder/in	Dok.-Nr.: TBG/06/0008.1/03 Gültig ab: 01.12.2003

1 Change Control

Grund der Erstellung dieser Fassung:

- Überarbeitung des Layouts

Ersetzt SOP TB/05/0008/01

2 Gegenstand, Zweck, Ziel

Die Standard-Arbeitsanweisung beschreibt das Prinzip und die Vorgehensweise der Bestimmung des Hämatokritwertes im Blut (Zellpackvolumen) mittels Hämatokritkapillare und Zentrifuge.

Das Zellpackvolumen stellt den Volumenanteil der Blutkörperchen im Vergleich zum Gesamtvolumen des Vollblutes dar. Bei dem dafür am häufigsten angewendeten Hämatokritwert werden die Blutkörperchen mittels Zentrifugalkraft abgetrennt. Das auf diesem Weg ermittelte Zellpackungsvolumen für Erythrocyten ist der Hämatokritwert. Er ist normalerweise identisch mit dem Zellpackungsvolumen aller Zellarten. Nur bei erhöhten Leucocyten- (Leukämien) und Thrombocytenzahlen kommt es zu einer fehlerhaften Beeinflussung dieses Wertes, wenn man den als weiße Schicht erkennbaren Leucocytenkritwert bzw. den Plättchenkritwert nicht gesondert betrachtet.

Man führt die Untersuchung heute vorwiegend im Mikromaßstab aus. Ungerinnbar gemachtes Blut wird in Mikro-Hämatokrit-Kapillaren aufgenommen und in hochtourigen Zentrifugen für eine kurze, vorgeschriebene Zeitdauer zentrifugiert. Der Hämatokritwert wird dann mit Hilfe von Ablesegeräten (Ableseharfen, Ablesetellern) bestimmt.

3 Geltungsbereich

Die SOP findet bei „**Firma**“ Anwendung. Sie dient ausschließlich didaktischen Zwecken.

4 Verantwortlichkeiten

Der/die betreuende Ausbilder/in ist für die korrekte Durchführung des Versuchs verantwortlich. Er/sie kann jedoch die Durchführung, Dokumentation als Auftrag an Auszubildende delegieren. Er/sie muss sich jedoch von der korrekten Durchführung und Dokumentation (Protokolle) überzeugen.

5 Arbeitssicherheit / Umweltschutz / Tierschutz

- Die R- und S-Sätze der verwendeten Gefahrstoffe sind zu beachten und im Protokoll zu dokumentieren
- Blut kann infektiös sein (Schutzbrillentragepflicht)
- Bei Arbeiten mit Versuchstieren Einmalhandschuhe und Schutzbrille tragen
- Kontaminiertes Material wird gemäß Abfallentsorgungsrichtlinie „Firma“ entsorgt
- Hände desinfizieren, anschließend mit Seife waschen und eincremen
- Materialien und Tische desinfizieren
- Tierschutzbestimmungen beachten
- Tierversuche sind unter Aufsicht eines Ausbilders durchzuführen
- Empfehlungen der TVT beachten
- Zentrifuge nur in Anwesenheit eines Ausbilders bedienen

6 Material

Zentrifuge mit Mikro-Hämatokritteller, Mikro-Hämatokrit-Kapillaren heparinisiert, Impflanzette, Zellstofftupfer, Kittmasse zum Verschließen der Kapillaren

7 Durchführung

Blutabnahme und Füllen der Hämatokritkapillaren

Der Tierart entsprechend wird Blut abgenommen. Man füllt die Hämatokritkapillare, indem die *nicht* farbig markierte Seite der Kapillare etwas in den austretenden Blutropfen eingetaucht wird. Durch leichtes Neigen der Kapillare zur Waagerechten wird diese bis zu etwa $\frac{4}{5}$ ihres Volumens gefüllt. Dabei ist auf einwandfreie Füllung der Kapillare zu achten. Es dürfen keine Luftblasen in der Blutsäule entstehen. Anschließend das Blut sofort mit dem in der Hämatokritkapillare befindlichen Heparin durchmischen (Rollen der Kapillare zwischen Daumen und Zeigefinger).

Verschließen der Hämatokritkapillare

Es ist wichtig, dass

1. der Verschluss dicht ist und kein Blut während des Zentrifugierens aus dem Hämatokrit-Röhrchen austreten kann.
2. beim Verschließen ein flacher Boden in der Kapillare entsteht.
3. nur die farbcodierte Seite verschlossen wird, die zuvor nicht mit Blut in Berührung gekommen sein darf, da sonst Undichtigkeiten beim Zentrifugieren auftreten können.

Nach der Probeentnahme verschließt man die Kapillare, reinigt sie außen von Blutresten und steckt sie waagrecht mit der farbcodierten Seite unter leichtem Drehen in die senkrecht gehaltene Platte mit Kittmasse.

Unter ebenfalls leichtem Drehen zieht man das verschlossene Hämatokrit-Röhrchen aus der Kittmasse heraus und legt es mit dem verschlossenen Ende nach außen auf den Hämatokrit-Probenteller der Zentrifuge.

Zentrifugieren der Hämatokrit-Kapillare

Die Kapillare wird bei 12.000 U/min gemäß "Nomogramm zur Bestimmung der Zentrifugierzeit bei der normgerechten Hämatokritbestimmung" 10 Minuten lang zentrifugiert.

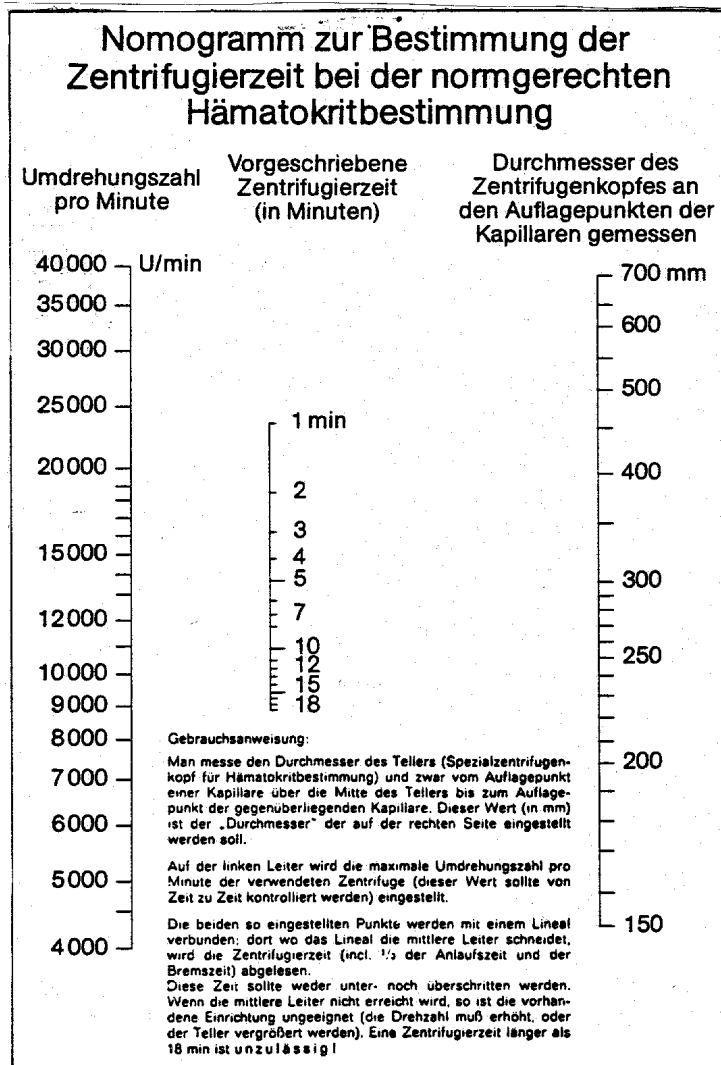


Abb.1. Nomogramm

Beispiel zur Bestimmung der Zentrifugierzeit:

Durchmesser des Hämatokrittellers (Zentrifugenkopf) = 165 mm.
 Umdrehungszahl pro Minute = 12.000 U/min

Man liest die Zentrifugierzeit von 15 Minuten ab. Da aber in dieser Zeit die Anlauf- und Bremszeit der Zentrifuge zu 1/3 (entspricht 5 Minuten) enthalten sind und bei der Hettich-Mikro-Rapid-Zentrifuge diese Zeiten vernachlässigbar gering sind, zieht man die 5 Minuten Anlauf- und Bremszeit von den 15 Minuten Zentrifugierzeit ab und erhält die für die Hettich-Mikro-Rapid-Zentrifuge gültige Zeit von 10 Minuten.

Ablese des Hämatokritwertes

Empfohlen wird, die Ableseung unmittelbar im Anschluss an das Zentrifugieren vorzunehmen. Andernfalls können die Kapillaren senkrecht in Kittmasse gesteckt (Zellsediment nach unten) bis zu einer Höchstzeit von 12 Stunden aufbewahrt werden.

Die Ableseung nimmt man an Hand von untenstehender Ableseharfe vor.

Grundsätzlich geht man so vor:

Die Kapillare wird so auf die Ableseharfe gelegt, dass das untere Ende der Blutkörperchensäule sich mit dessen Nulllinie deckt und das obere Ende der Plasmasäule auf der 1,0 bzw. 100%-Linie liegt. Der Hämatokritwert wird am oberen Rand der Erythrocytensäule abgelesen.

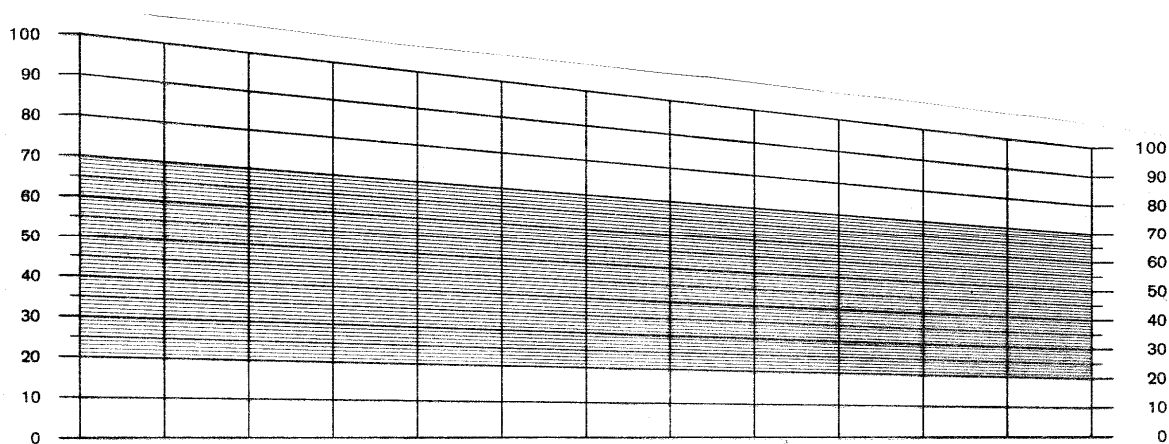


Abb.2. Ableseharfe

Fehlererkennung

Ursache:	Folge:
Blut und/oder Verdünnungslösung nicht luftblasenfrei in Erythrocytenmischpipette aufgezogen	Falsche Ergebnisse
Vor dem Nachziehen von der Verdünnungslösung Pipettenspitze außen nicht sauber von Blutresten gereinigt	Zu hohe Ergebnisse
Nasse oder beschädigte Leucocytenmisch-pipette (z.B. abgestoßene Spitze) verwendet	Falsche Ergebnisse
Vor Befüllen der Zählkammer Blutverdünnung in der Leucocytenmischpipette nicht gründlich genug durchgemischt	Zu tiefe Ergebnisse, da die in der Pipettenkugel sedimentierten Zelle nicht genügend resuspendiert worden sind
Verdünnungsflüssigkeit in der Kapillare der Leucocytenmischpipette nicht verworfen	Zu niedrige Ergebnisse: Für die Zählung in der Kammer nur Blutverdünnung aus der Pipettenkugel verwenden
Deckglas sitzt nicht fest auf der Kammer auf	Falsche Kammerhöhe von mehr als 0,1 mm führt zu erhöhten Werten
Zählkammer nicht luftblasenfrei beschickt	Falsche Ergebnisse
Auszählung zu früh begonnen, bevor alle Zellen in der Kammer sedimentiert sind	Falsche Ergebnisse
Ungleichmäßige Verteilung der Leucocyten über das Zählnetz	Falsche Ergebnisse: Kammer erneut beschicken

Einheiten

Die bisher übliche Angabe des Hämatokritwertes in % wird als SI - Einheit durch

Liter Blutkörperchen
Liter Vollblut

ersetzt.

Man schreibt L/L. Der Umrechnungsfaktor von konventioneller Einheit in SI - Einheit beträgt 0,01.

Ein bisher beispielsweise mit 42% angegebener Hämatokritwert wird mit 0,42 L/L angegeben.

8 Verwaltung der vorliegenden SOP

Diese SOP wird von „**Abteilung und Firma**“ aufbewahrt und aktualisiert. Sie ist Bestandteil des QS-Handbuches. Das Original wird an dem in der Kopfleiste erwähnten Standortes aufbewahrt. Kopien werden an die jeweiligen Laboratorien des Bereiches der „**Abteilung**“ ausgegeben. Nur Kopien mit blauem Aufdruck „Biologie“ sind auf Übereinstimmung mit dem Original überprüft.

Überprüft und genehmigt:

.....
Datum „**Name**“
(Ausbilderin)

.....
Datum „**Name**“
(Ausbilder)