

# Arbeitsanweisung Erythrozytenisolation

**AW**

## Arbeitsanweisung für Erythrozytenisolation als Anhang zum Auftragsformular Stoffwechselfeldiagnostik.

Erythrozyten werden für die Analyse der Galactose-1-phosphat Konzentration (+ Galactose im Plasma) und der Glucose-6-phosphatdehydrogenase Aktivität verwendet.

### 1. Blutabnahme

- 2.6 ml EDTA-Blut (Monovette rot; falls möglich 2 Monovetten rot) nehmen. Alternativ geht auch 4.9 ml Heparin-Blut (Monovette orange ohne Gel).
- Die Erythrozyten aus EDTA- oder Heparin-Blut müssen sofort nach der Blutentnahme gemäss Punkt 2 isoliert werden werden.
  - **Intern:** Blut unmittelbar nach der Blutentnahme ins Labor bringen, nicht zentrifugieren, nicht einfrieren.
  - **Extern:** Erythrozyten Isolation nach untenstehendem Protokoll ausführen. Isolierte Erythrozyten gefroren ins ZLM schicken.

### 2. Erythrozyten Isolation

- Blut 10 Minuten bei 2750 rcf zentrifugieren (Zentrifuge gekühlt bei 4°C)
- Plasma mit Pipette abnehmen und in ein etikettiertes 1.5 ml Röhrchen überführen
- Erythrozyten **2x** mit ungefähr gleichem Volumen kalter physiologischer 0.9% NaCl-Lösung waschen:
  - NaCl-Lösung beifügen, Röhrchen verschliessen und mehrmals vorsichtig kippen
  - Wiederum 10 Min bei 2750 rcf zentrifugieren
  - NaCl-Lösung mit Pasteurpipette absaugen und werfen
  - Die ganze Prozedur das 2. Mal wiederholen
- danach das Erythrozyten-Pellet mit Pipette mischen und in 1 bis 2 etikettierte 1.5 ml Röhrchen überführen (Erythrozyten gleichmässig auf 2 Röhrchen verteilen, wenn genug Material)
- Nun die 2 Röhrchen 5 Minuten bei 16000 rcf zentrifugieren. Den letzten überstehenden Rest NaCl (inkl. Leukozyten und kleinem Anteil an Erythrozyten) mit Pasteurpipette absaugen und werfen
- Die Erythrozyten bei -20°C während mindestens 4 Stunden einfrieren und danach auf Trockeneis zu uns schicken.

Bemerkung: stehen keine 1.5 ml Röhrchen zur Verfügung können die Erythrozyten auch im Original Entnahmeröhrchen ausgewaschen und gelagert werden. Für das Plasma sollte dann ein natives Röhrchen ohne Zusätze verwendet werden.