

<b>Labor</b>	Standard-Arbeitsanweisung	<b>Dok.-Nr.</b>	SOP ...
	<b>Serologische Verträglichkeit (Kreuzprobe)</b>	<b>Version</b>	02
		<b>Gültig ab</b>	---
		<b>Seite</b>	1 von 12

**X** Informationsexemplar — Unterliegt nicht dem Änderungsdienst

Standard-Arbeitsanweisung\*

Inhalt.....	Seite
1 Indikation, Verantwortlichkeiten.....	2
2 Testprinzip, theoretischer Hintergrund .....	3
2.1 Hämagglutination.....	3
2.2 Coombstest.....	3
2.3 Hämolyse.....	4
2.4 AB0-System.....	4
2.5 Weitere Blutgruppen-Systeme.....	4
2.6 Arbeitstechnik .....	4
3 Patientenbezogene Angaben .....	4
3.1 Untersuchungsmaterial.....	4
3.2 Mindestmenge .....	5
3.3 Störfaktoren .....	5
3.4 Stabilität .....	5
4 Reagenzien, Materialien, Geräte.....	5
4.1 Reagenzien.....	5
4.2 Hilfsmaterialien .....	6
4.3 Geräte.....	6
5 Qualitätskontrolle .....	6
6 Durchführung des Tests .....	6
6.1 Vorbereitung .....	6
6.2 Testansatz Verträglichkeitsprüfung (Kreuzprobe).....	7
6.3 Ablesen der Agglutinationsreaktionen.....	7
7 Ergebnisse, Befundung .....	8
7.1 Ergebnisse.....	8
7.2 Befundung .....	9
7.3 Vorgehensweise bei positiver Kreuzprobe .....	9
7.4 Befundung von externen Ergebnissen .....	9
8 Referenzbereiche .....	10
9 Grenzen des Verfahrens .....	10
10 Literatur.....	10
11 Mitgeltende Unterlagen .....	10
12 Anlagen.....	11

\* © 2017 Wolf D. Kuhlmann, Standard-Arbeitsanweisung auf Anfrage (e-mail w.d.kuhlmann@gmx.de)

	erstellt	geprüft	freigegeben
<b>Name</b>	<b>Prof. Dr. Kuhlmann</b>		
<b>Abteilung</b>	<b>QM-Stelle</b>		
<b>Datum</b>			
<b>Unterschrift</b>			

Labor	Standard-Arbeitsanweisung	<b>Dok.-Nr.</b>	SOP ...
	<b>Serologische Verträglichkeit (Kreuzprobe)</b>	<b>Version</b>	02
		<b>Gültig ab</b>	---
		<b>Seite</b>	2 von 12

## 1 Indikation, Verantwortlichkeiten

Die Indikation zur Bestimmung von immunhämatologischen Parametern stellt der behandelnde Arzt. Immunhämatologische Untersuchungen sind immer ärztlich angeordnete Aufträge. Sie unterliegen der *Richtlinie Hämotherapie der Bundesärztekammer (2017)* sowie der *Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen (RiliBÄK, 2014)* und sind entsprechend durchzuführen.

Indikationen für eine serologische Verträglichkeitsprüfung von Patient und EK-Konserven sind z.B.

- Präoperative Patientenvorbereitung, planbare Hämotherapie
- Hämotherapie-Vorbereitung bei allen Krankheitsfällen mit kritischer Hb-Konzentration
- Untersuchungen im Rahmen einer Notfall-Hämotherapie
- Immer Rh-Formel und K (Kell-Antigen) ausgewählt „kreuzen“ bei
  - Patienten mit nachgewiesenen Autoantikörpern bzw. irregulären Alloantikörpern
  - Patienten mit vorhersehbar langzeitiger Transfusionsbehandlung
  - Kinder bis zum 18. Lebensjahr, Mädchen und Frauen bis zur Menopause (i.d.R. bis zum 45. Lebensjahr)

Die serologische Verträglichkeitsprüfung (Kreuzprobe) ist die Überprüfung der blutgruppenserologischen Verträglichkeit von Spender und Empfänger vor der Transfusion von erythrozytenhaltigen Blutpräparaten. Die Kreuzprobe ist die unerlässlich notwendige Sicherung der Verträglichkeit vor jeder Transfusion von EK-Präparaten.

Vorbereitung und Umfang der serologischen Verträglichkeitsprüfung

- Vollständig ausgefüllte Anforderung von „Kreuzproben“, u.a. wegen der Begrenzung der Gültigkeit der „Kreuzprobe“. Anforderungsscheine für Blutprodukte müssen immer vom Arzt unterschrieben sein (Rezept für verschreibungspflichtige Arzneimittel)
- Gleichzeitig Einsendung von „Kreuzprobenblut“ für Kreuzprobe/ABD-Bestätigung/AKS (Standardarbeitsanweisungen *ABD-Bestätigung* und *Antikörpersuchtest*)
- Die eindeutige Identitätssicherung ist unerlässlich (*Richtlinie Hämotherapie, 2014*). Der anfordernde Arzt ist hierfür verantwortlich
- Das Empfängerserum muss auf das Vorliegen von Antikörpern gegen Spendererythrozyten untersucht werden. Der indirekte Coombstest (AKS) ist Bestandteil der Kreuzprobe, um transfusionsrelevante Antikörper zu erfassen.
- Bei einem positiven AKS muss die Spezifität des/der Antikörper festgestellt werden. Ein transfusionsrelevanter Antikörper gegen Erythrozyten wird bei der Auswahl der Blutkomponenten berücksichtigt. Jeder bereits bekannte irreguläre Antikörper muss bei der Anforderung von Blutkomponenten angegeben werden. Anamnestische Angaben seitens des Therapeuten sind äusserst wichtig.

Die Gültigkeit der serologischen Verträglichkeit/Kreuzprobe beträgt 3 Tage ab Abnahmedatum der Probe (Ausnahmen analog Abschnitt 4.4.9 *Richtlinie Hämotherapie, 2017*). Danach werden die für einen Patienten schon verkreuzten EKs erneut mit einer frisch entnommenen Empfängerblutprobe getestet werden.

Hausinterne Regelung: Bei zwischenzeitlich erfolgter Gabe von zellulären Blutprodukten verkürzt sich diese Zeitfrist auf 24 Stunden.

<b>Labor</b>	<b>Standard-Arbeitsanweisung</b>	<b>Dok.-Nr.</b>	SOP ...
	<b>Serologische Verträglichkeit (Kreuzprobe)</b>	<b>Version</b>	02
		<b>Gültig ab</b>	---
		<b>Seite</b>	3 von 12

Die angewandten Untersuchungsverfahren, die einzelnen Untersuchungsgänge sowie die Auswertung der Untersuchungsergebnisse liegen in der Verantwortung der zuständigen Ärzte (QM-Handbuch). Die technische Durchführung der einzelnen Untersuchungsverfahren wird an eingewiesenes, geschultes Personal delegiert. Für die Überwachung und Kontrolle des immunhämatologischen Arbeitsplatzes werden mehrere Mitarbeiter namentlich benannt. Die Benennung von mehreren Mitarbeitern ermöglicht Flexibilität bei der Dienstplangestaltung und sorgt für eine wechselseitige Vertretung. Änderungen werden dienstlich angeordnet.

Alle Standardarbeitsanweisungen haben den Charakter einer Dienstanweisung und beschreiben umfassend das jeweilige Arbeitsgebiet. Die hohe Dichte an Informationen und Handlungsanweisungen ist der Verantwortung der Tätigkeit und der gesetzlichen Regelung geschuldet. Für die Routine des geschulten Personals wird auf entsprechende Kurzanleitungen verwiesen.

Bei unklaren Untersuchungsergebnissen bzw. Problemfällen hat eine Unterrichtung des Dienstarztes zu erfolgen zur Klärung des weiteren Vorgehens und der Ergebnisbeurteilung, ggf. muss externer Sachverstand eingeholt werden (DRK-Blutspendedienst).

## 2 Testprinzip, theoretischer Hintergrund

Blutgruppen der Erythrozytenmembran sind Antigene, die mit spezifischen Antikörpern nachgewiesen werden. Die für die Blutgruppenserologie wichtigen Antikörper gehören den Immunglobulinklassen IgG und IgM an (seltener IgA Klasse).

Je nach Immunglobulinklasse reagieren die Antikörper serologisch verschieden. Die hauptsächliche Methode zum Nachweis von erythrozytären Blutgruppenmerkmalen ist die Hämagglutination in ihren Modifikationen. In geringem Umfang ist auch noch die Beurteilung der Hämolyse beim Nachweis von Blutgruppenantigenen (bzw. Antikörpern) von Bedeutung.

### 2.1 Hämagglutination

Die Hämagglutination ist die sichtbare Verklumpung der Erythrozyten durch Antikörper. Erythrozyten tragen an ihrer Oberfläche einen Überschuss an negativer Ladung und stossen sich gegenseitig ab. Um eine für das Auge sichtbare Verklumpung zu erreichen, ist eine Reaktion des spezifischen Antikörpers mit zwei benachbarten Erythrozyten notwendig.

In der Regel sind nur IgM Moleküle aufgrund ihres grösseren Durchmessers (grösser als IgG Moleküle) in der Lage die durch die negative Ladung bedingte Distanz der benachbarten Erythrozyten zu überbrücken und somit ohne zusätzliche Hilfsmittel eine sichtbare Agglutination zu erzielen (komplette Antikörper). Man nennt sie auch NaCl wirksame Antikörper, da sie in physiologischer Kochsalzlösung reagieren. ihr Reaktionsoptimum liegt in der Regel bei Raumtemperatur oder darunter, im Extremfall bei 0°C.

Antikörpermoleküle der IgG Klasse reagieren zwar mit den individuellen Erythrozyten, sie können aber aufgrund der geringeren Molekülgrösse den Abstand zwischen benachbarten Erythrozyten nicht ohne weitere Hilfsmittel überbrücken. Durch Zugabe von Supplementen (Albumin, Dextran) oder Enzymen (Bromelin, Papain etc.) wird die Distanz reduziert, so dass ein IgG Molekül nun auch in der Lage ist, mit Antigenen von benachbarten Erythrozyten zu reagieren, um eine sichtbare Agglutination auszulösen (inkomplette Antikörper. Diese inkompletten Antikörper haben ihr Reaktionsoptimum bei einer Temperatur von 37°C.

### 2.2 Coombstest

Der Antihumanglobulin (AHG)- bzw. Coombs-Test ist eine weitere Form der Hämagglutination zum Nachweis von inkompletten Antikörpern. Abhängig von der Indikation wird der AHG-Test als indirekter Coombstest (ICT) oder als direkter Coombstest (DCT) durchgeführt.

- Indirekter Coombs-Test (in der Geltechnik, s.u.): der ICT dient der Sichtbarmachung einer Antigen-Antikörper-Reaktion. Er wird als Mehrstufentest durchgeführt. Serum wird mit Testerythrozyten versetzt, bei 37°C kommt es zur Bindung der Antikörper an das komplementäre Antigen. Anschliessend erfolgt die Zentrifugation. Die beladenen Erythrozyten agglutinieren mittels AHG (das sich in dem Gelröhrchen befindet). Je nach Antikörperstärke findet eine mehr oder weniger ausgeprägte Agglutinationsreaktion statt

<b>Labor</b>	<b>Standard-Arbeitsanweisung</b>	<b>Dok.-Nr.</b>	SOP ...
	<b>Serologische Verträglichkeit (Kreuzprobe)</b>	<b>Version</b>	02
		<b>Gültig ab</b>	---
		<b>Seite</b>	4 von 12

- Direkter Coombs-Test: der DCT dient dem Nachweis von Immunglobulinen/Antikörpern und/oder Komplementfaktoren, die sich in vivo an die Erythrozyten gebunden haben. Es entfällt die Inkubation bei 37°C. Die Erythrozyten werden einmal mit Waschlösung gewaschen. Der DCT kommt zur Anwendung:
  - a) bei Verdacht auf eine autoimmunhämolytische Anämie,
  - b) zum Nachweis einer Bindung von Alloantikörpern an transfundierte Erythrozyten,
  - c) bei Neugeborenen zur Diagnose eines M.h.n. durch mütterliche IgG Antikörper

## 2.3 Hämolyse

Abhängig von der Immunglobulinklasse des Antikörpers und der Antigendichte am Erythrozyten können Antigen-Antikörper-Komplexe das Komplementsystem (falls frische komplementaktive Sera verwendet werden) aktivieren und eine Zerstörung der Erythrozytenmembran mit Freisetzung von Hämoglobin bewirken.

## 2.4 AB0-System

Das AB0-System ist das wichtigste Blutgruppensystem für die Bluttransfusion und besteht aus den vier Blutgruppen A, B, AB und 0. Das Probanden-Serum enthält reguläre Antikörper gegen diejenigen AB0-Antigene, die nicht auf der Oberfläche der eigenen Erythrozyten vorhanden sind. Es handelt sich vorwiegend um komplette Antikörper (IgM Klasse), die erst im Verlauf der ersten Lebensmonate gebildet werden. Die Bestimmung der AB0-Blutgruppe wird als Doppelbestimmung durchgeführt. Für die Untersuchung der Erythrozytenmerkmale kommen monoklonale Testreagenzien Anti-A und Anti-B zur Anwendung. Zur Bestätigung werden die Serumeigenschaften (Anti-A und Anti-B) mit Testerythrozyten A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> und B nachgewiesen.

## 2.5 Weitere Blutgruppen-Systeme

Das Rhesus-System ist ein weiteres wichtiges und vom AB0-System unabhängiges Blutgruppensystem. Als Rh-positiv werden alle Personen bezeichnet, bei denen das Merkmal „D“ nachweisbar ist. Ein Antikörper gegen „d“ konnte bisher nicht nachgewiesen werden, deshalb wird jede Person als Rh-negativ (dd) bezeichnet, bei der das Merkmal „D“ nicht feststellbar ist. Etwa 85% der mitteleuropäischen Bevölkerung sind Rh-positiv. Im Fall einer Transfusion muss insbesondere das Merkmal D aufgrund seiner starken Immunogenität beachtet werden.

Ausserhalb des Rh-Systems besitzen die Hauptantigene des Kell-Systems eine starke Immunogenität. Bei Frauen im gebärfähigen Alter und bei Patienten mit einer voraussehbar langzeitigen Transfusionsbehandlung wird daher neben der Rh-Formel auch das Merkmal K (Kell) bei der Hämotherapie berücksichtigt.

Darüber hinaus gibt es ca. 300 weitere Antigene, die nicht routinemässig untersucht werden. Bei der Vielzahl der möglichen Kombinationen können im Fall einer Transfusion alle diese Antigene im Sinne einer identischen Übertragung keine Berücksichtigung finden. Sie werden aber beim Antikörpersuchtest über den Ausschluss irregulärer Antikörper und durch Kompatibilitätsprüfung bei der serologischen Verträglichkeitsprobe (Kreuzprobe) auffällig.

## 2.6 Arbeitstechnik\*

Für die Blutgruppenserologie kommt das Diamed-ID-System zur Anwendung. Bei diesem System findet die Agglutination in einem mit Gelkügelchen befüllten Röhrchen statt (Geltechnik).

Im Mittelpunkt der Geltechnik stehen mit Gelkügelchen (Dextran) befüllte Mikroröhrchen. Das Prinzip der Gelkartentechnik beruht auf der Kombination von Agglutinationsreaktion (Antigen-Antikörper-Reaktion) und Zentrifugation des Gelröhrchens. Prinzip und Funktion des Geltests sind in der Standardarbeitsanleitung (*Blutgruppenbestimmung AB0 Rh-Faktor*) ausführlich beschrieben.

# 3 Patientenbezogene Angaben

## 3.1 Untersuchungsmaterial

Blutproben für blutgruppenserologische Untersuchungen sind immer nur für diesen Zweck bestimmte, frisch abgenommene Blutproben. Die Identitätssicherung durch den abnehmenden Arzt ist unerlässlich.

---

\* Geschützte Warennamen (Warenzeichen) werden nicht besonders kenntlich gemacht. Aus dem Fehlen eines solchen Hinweises kann nicht geschlossen werden, dass es sich um einen freien Warennamen handelt.

---

Labor	Standard-Arbeitsanweisung	Dok.-Nr.	SOP ...
	<b>Serologische Verträglichkeit (Kreuzprobe)</b>	Version	02
		Gültig ab	---
		Seite	5 von 12

Folgende Proben werden benötigt

- Patient: Vollblut oder EDTA-Blut (vorzugsweise)
- EK-Konserve: Kompatible EK's in angeforderter bzw. zur Verfügung stehender Anzahl

Nach Abschluss der Untersuchungen wird die Patientenprobe für mindestens 10 Tage gekühlt bei 4 bis 8°C aufbewahrt.

### 3.2 Mindestmenge

- 5 mL

### 3.3 Störfaktoren

- Hämolyse des Blutes

### 3.4 Stabilität

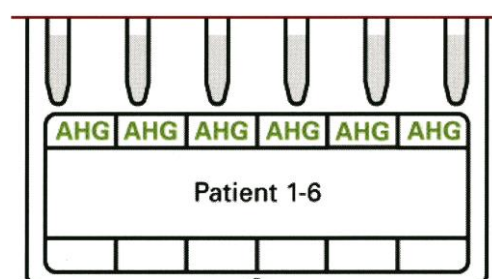
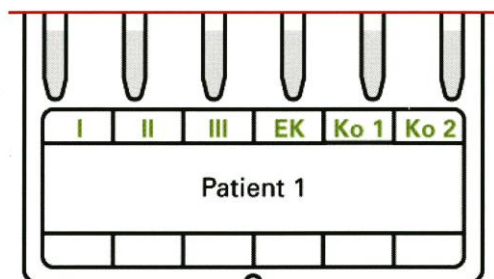
- 14 Tage bei 2-8°C  
(Die Dauer der Gültigkeit einer AKS- bzw. Kreuzprobenbestimmung ist zu beachten, s. Richtlinie Hämotherapie)

## 4 Reagenzien, Materialien, Geräte

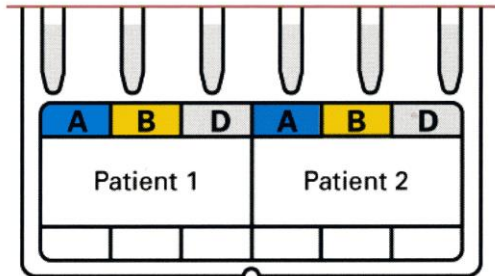
### 4.1 Reagenzien

Es werden ausschließlich CE zertifizierte Reagenzien verwendet. Hersteller und Chargenbezeichnung aller Testreagenzien werden dokumentiert.

- ID-Karte LISS/Coombs mit polyspezifischem Antihumanglobulin (AHG), Kaninchen Anti-IgG und monoklonales Anti-C3d
- ID-Diluent 2
- ID-DiaCell I-II-III
- ID-Karte DiaClon ABD-Bestätigungstest (A-B-D/A-B-D) mit monoklonalen Antikörpern Anti-A, Anti-B und Anti-D (falls Blutgruppe schon bekannt)
- 0.96% NaCl Lösung (sterile Waschlösung) B. Braun



Labor	Standard-Arbeitsanweisung	<b>Dok.-Nr.</b>	SOP ...
	<b>Serologische Verträglichkeit (Kreuzprobe)</b>	<b>Version</b>	02
		<b>Gültig ab</b>	---
		<b>Seite</b>	6 von 12



LISS/Coombskarte für Kreuzprobe mit Antikörpersuchtest

LISS/Coombskarte für indirekten und direkten Antiglobulintest

ID-Karte für ABD Blutgruppenbestätigungstest

## 4.2 Hilfsmaterialien

- Kleine Röhrchen (Kreuzprobenröhrchen) und grosse Rundbodenröhrchen
- ID-Tips (Pipetorspitzen)
- Pipettenspitzen
- Schlauchsegmentöffner

## 4.3 Geräte

- Eppendorf Pipette 10-100 µL
- ID-Dispenser
- ID-Pipetor
- ID-Inkubator
- ID-Zentrifuge
- **Saxo ID-Reader und Maestro-Software (DiaMed)**, teilautomatisiertes Gerätesystem für die Probenbearbeitung unter Verwendung der DiaMed ID-Karten: Probenerfassung, Arbeitslisten, Inkubation, Zentrifugation, Auswertung (= Ablesung der Reaktionen mit Vorschlag der Untersuchungsergebnisse als sog. erst-ablesende Person, die von einer zweiten Person immer bestätigt werden müssen), Dokumentation und Befunderstellung mit systematischer Überwachung aller Arbeitsschritte

## 5 Qualitätskontrolle

s. Standard-Arbeitsanweisung *Blutgruppenbestimmung ABO und Rh-Faktor*, Standard-Arbeitsanweisung *Antikörpersuchtest*, Standard-Arbeitsanweisung *Rhesus-Kontrolle*

## 6 Durchführung des Tests

### 6.1 Vorbereitung

- Alle Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur (18-25°C) bringen
- Etiketten mit der nächsten Kreuzproben-Protokollnummer, Serum, Ery-Sediment, Ery-Suspension etc. beschriften und Röhrchen bekleben/beschriften
- Die entsprechenden EK's aus dem Konservenkühlschrank nehmen, je ein Barcode-Etikett vom EK auf das entsprechende grosse Röhrchen kleben, dazu das entsprechende Schlauchsegment stecken

Labor	Standard-Arbeitsanweisung	Dok.-Nr.	SOP ...
	Serologische Verträglichkeit (Kreuzprobe)	Version	02
		Gültig ab	---
		Seite	7 von 12

- Schlauchsegmente mit Schlauchsegmentöffner in die zugehörigen kleinen Röhren ausleeren, anschliessend Schlauchsegmente in die vorbereiteten grossen Röhren zurückstecken
- Erythrozyten vom Patienten und den EK's einmal mit NaCl Lösung waschen und zentrifugieren
- Aus den Erythrozytensedimenten jeweils eine 1% Erythrozytensuspension in ID-Diluent 2 herstellen
  - 1.0 mL ID-Diluent in die sauberen Kreuzprobenröhren pipettieren
  - 10 µL Erythrozytensediment zugeben, leicht mischen, die Erythrozytensuspensionen sofort weiter bearbeiten

## 6.2 Testansatz Verträglichkeitsprüfung (Kreuzprobe)

- ID-Karte „LISS/Coombs“ mit dem Empfängernamen sowie den EK-Konservennummern eindeutig beschriften
- Aluminiumfolie in aufrechter Kartenposition entfernen
- Jeweils 50 µL der Erythrozytensuspensionen (vom Empfänger/**Eigenkontrolle** und den EK's) in die entsprechenden Mikroröhren der ID-Karte pipettieren
- 25 µL Serum des Empfängers in alle Mikroröhren pipettieren
- a) Manuelle Bearbeitung: ID-Karte 15 Minuten im ID-Inkubator bei 37°C inkubieren, dann ID-Karte 10 Minuten in der ID-Zentrifuge zentrifugieren, Reaktionen ablesen und protokollieren
- b) Teilautomatisierte Bearbeitung: ID-Karte in den Saxo ID-Reader stellen, die weiteren Schritte werden von dem Gerät selbständig (Maestro-Software) gesteuert und durchgeführt
- **Hinweis**: zu jedem Testansatz gehört auch ein Antikörpersuchtest (s. Standardarbeitsanweisung *Antikörpersuchtest (AKS)* und eine gleichzeitige Bestimmung der Blutgruppe, z.B. mit ID-Karte DiaClon ABD-Bestätigungstest (A-B-D/A-B-D) falls die Blutgruppe schon bekannt ist (s. Standardarbeitsanweisung *ABD-Bestätigungstest*)

## 6.3 Ablesen der Agglutinationsreaktionen

- Allgemeines Auswertungsprinzip der Diamed-ID-Gelkarten

Auswertung und Interpretation der Gelsäulen	
∅ <b>Reaktion</b>	Alle Erythrozyten sind durch die Gelsäule gewandert und bilden einen glatten Zellknopf
<b>1 + Reaktion</b>	Die meisten Erythrozyten sind in die untere Hälfte der Gelsäule gewandert. Ein Zellknopf ist am Boden zu sehen
<b>2 + Reaktion</b>	Agglutinierte Erythrozyten sind über die gesamte Gelsäule verteilt. Ein kleiner Zellknopf kann am Boden der Säule vorhanden sein
<b>3 + Reaktion</b>	Agglutinierte Erythrozyten sind in der oberen Hälfte der Gelsäule hängen geblieben

Labor	Standard-Arbeitsanweisung	Dok.-Nr.	SOP ...
	<b>Serologische Verträglichkeit (Kreuzprobe)</b>	Version	02
		Gültig ab	---
		Seite	8 von 12

<b>4 + Reaktion</b>	Agglutinierte Erythrozyten bilden eine Schicht auf der Gelsäule
---------------------	---

- Interpretation der Reaktionen in der DiaMed-ID-Karte „LISS/Coombs“ siehe Kapitel 7 Ergebnisse, Befundung

## 7 Ergebnisse, Befundung

### 7.1 Ergebnisse

- Alle Untersuchungsergebnisse werden durch eine **zweite Person** gegengelesen und dokumentiert; bei Verwendung des Saxo ID-Readers (mit der Maestro-Software) entspricht das Gerätesystem dem *Erstableser*. Die bearbeitende MTA ist dann die *zweite ablesende Person*
- Alle Untersuchungsergebnisse werden mit Angabe der Reaktionsstärke im Blutgruppenbuch dokumentiert
- Eine negative Reaktion zeigt Verträglichkeit des Spenderblutes mit dem des Empfängers
- Beachte: Kreuzprobe, Antikörpersuchtest, Eigenkontrolle und Blutgruppenbestimmung (ggf. ABD-Bestätigungstest) werden immer zusammen angesetzt und bewertet
- Die Eigenkontrolle ist im Normalfall negativ (am besten EDTA-Blut und kein Nativblut oder „angeronnene“ Probe nehmen, da hier häufig Probleme auftreten)
- **Positive Eigenkontrolle: schwach positive (1+) Reaktionen erfordern prinzipiell keine weitere Veranlassung .**

**Bei vorangegangener Transfusion muss dagegen auch schon bei schwach positiven (1+) Reaktionen ein direkter Coombstest (DCT) durchgeführt werden.**

**Bei eindeutig positiven Reaktionen (2+ und darüber) muss immer ein direkter Coombstest durchgeführt werden (z.B. Hinweis auf Autoantikörper); Rücksprache mit dem behandelnden Arzt erforderlich.**

**Eine darüber hinaus gehende Abklärung ist bei klinischem und laborchemischem Anhalt für eine hämolytische Anämie erforderlich (hier ist in der Regel der behandelnde Arzt gefragt, um weitere Schritte zu veranlassen).**

**Positiver DCT: s. Hinweise in der SOP Direkter Coombstest**

- Eine positive Reaktion in der Kreuzprobe zeigt Unverträglichkeit des Spenderblutes mit dem des Empfängers aufgrund vorhandener Antikörper, die gegen das Antigen(e) des Spenderblutes gerichtet sind. **Die positiven Ergebnisse müssen (ggf. in einem Referenzlabor, z.B. DRK Blutspendedienst) weiter abgeklärt werden, vgl. Standardarbeitsanweisung Antikörpersuchtest**
- Zweifelhafte Untersuchungsergebnisse müssen immer wiederholt werden. Bei unklaren Untersuchungsergebnissen muss ärztlicher Sachverstand hinzugezogen werden, ggf. auch externer Sachverstand z.B. beim DRK-Blutspendedienst in Bad Kreuznach. Bei Zweifeln muss die Patientenprobe immer in ein Referenzlabor (DRK-Blutspendedienst in Bad Kreuznach) zur Abklärung geschickt werden



Labor	Standard-Arbeitsanweisung	<b>Dok.-Nr.</b>	SOP ...
	<b>Serologische Verträglichkeit (Kreuzprobe)</b>	<b>Version</b>	02
		<b>Gültig ab</b>	---
		<b>Seite</b>	9 von 12

## 7.2 Befundung

- Prinzipiell: alle „BG-Befunde“ (AB0, AKS etc.) müssen durch den für die technische Untersuchung Verantwortlichen überprüft und durch seine Unterschrift bestätigt werden; dies betrifft auch jede Eintragung von Blutgruppen- und Antikörperbefunden in Ausweise
- Untersuchungsergebnisse werden (nach der Gegenlesung durch eine zweite Person) zur Befundung in das Befundformular eingetragen
- Alle immunhämatologischen Ergebnisse werden zusätzlich in das „Blutgruppenbuch/ Kreuzprobenbuch“ eingetragen; die Parameter-Bezeichnungen bilden dabei die jeweils benutzten DiaMed ID-Karten mit den Reagenz-Bezeichnungen ab
- Bei positivem AKS (und nach Antikörperdifferenzierung (auch durch ein Referenzlabor, z.B. DRK Bad Kreuznach): entsprechende Eintragungen in das Befundformular und im Blutgruppenausweis vornehmen
- Jede Befundausgabe (hier: Regelbefund) wird von dem bearbeitenden Mitarbeiter/MTLA unterschrieben
- Bei jeder immunhämatologischen Auffälligkeit (Alloantikörper, Autoantikörper etc.) ist ein ärztlicher Befund/Bericht erforderlich, der von einem Facharzt zu unterzeichnen ist
- Bei der Ausgabe von EK muss eine **verwechslungsfreie Zuordnung der „Kreuzprobe“ zum Präparat** bis zur Transfusion durch einen Begleitschein sichergestellt sein, der mindestens Name, Vorname, Geburtsdatum und Nummer des Blutproduktes enthält

## 7.3 Vorgehensweise bei positiver Kreuzprobe

- Bei einem positiven Kreuzprobenergebnis wird der behandelnde Arzt sofort informiert und in Kenntnis gesetzt, dass weitere Untersuchungen erforderlich sind. Vor Transfusion anderer Präparate müssen die Ursachen für die positive Verträglichkeitsprüfung/Kreuzprobe abgeklärt werden (Nachweis und Identifizierung von Alloantikörpern, ggf. Nachweis von Autoantikörpern, ggf. direkten Coombstest bei dem Patienten und den EK's durchführen)
- **Transfusionsrelevante irreguläre Antikörper gegen Erythrozyten müssen bei der Auswahl der Blutkomponenten berücksichtigt werden**

## 7.4 Befundung von externen Ergebnissen

- Die Untersuchungsergebnisse des externen Referenzlabors werden sofort nach Eingang zusammen mit dem Eingangsdatum in das Befundformular/Befundmaske eingetragen
  - Bei positivem Antikörpersuchtest und nachfolgender Antikörperdifferenzierung durch das Referenzlabor, z.B. DRK-Blutspendedienst in Bad Kreuznach Bad Kreuznach): entsprechende Eintragung in den Blutgruppenpass
  - Prinzipiell müssen alle Ergebnisse der „Fremdleistung“ im **exakten Wortlaut** in den Blutgruppenbefund übernommen werden
  - Überprüfung der Eintragungen von Blutgruppenbefunden in Ausweise von dem für die technische Untersuchung Verantwortlichen (bei Fremdbefunden ist dies der für den Arbeitsplatz zuständige Mitarbeiter) und Bestätigung durch seine Unterschrift
  - Der behandelnde Arzt wird sofort über das Ergebnis der Untersuchungen in Kenntnis gesetzt
-

Labor	Standard-Arbeitsanweisung	<b>Dok.-Nr.</b>	SOP ...
	<b>Serologische Verträglichkeit (Kreuzprobe)</b>	<b>Version</b>	02
		<b>Gültig ab</b>	---
		<b>Seite</b>	10 von 12

## 8 Referenzbereiche

Nicht belegt

## 9 Grenzen des Verfahrens

- Fehlermöglichkeiten und Gefahren bei der Gelkarten-Technik (Anlage)
- Beipackzettel Fa. DiaMed AG

## 10 Literatur

- Transfusionsgesetz (TFG). Transfusionsgesetz mit textlich nachgewiesenen Änderungen. Das Transfusionsgesetz ist online abrufbar unter:  
<http://bundesrecht.juris.de/bundesrecht/tfg/>
- Richtlinie zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Richtlinie Hämotherapie). Aufgestellt gemäß §§ 12a und 18 Transfusionsgesetz von der Bundesärztekammer im Einvernehmen mit dem Paul-Ehrlich-Institut, Gesamtnovelle 2017.  
Die Richtlinie ist online abrufbar unter:  
[http://www.bundesaerztekammer.de/fileadmin/user\\_upload/downloads/pdf-Ordner/MuE/Richtlinie\\_Haemotherapie\\_2017.pdf](http://www.bundesaerztekammer.de/fileadmin/user_upload/downloads/pdf-Ordner/MuE/Richtlinie_Haemotherapie_2017.pdf)  
oder online abrufbar unter:  
<http://www.baek.de/haemotherapie>
- Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen (RiliBÄK). Dtsch Ärztebl 111, Heft 38, A1583-A1618, 2014
- Kretschmer V und Sonneborn HH: Blutgruppenantigene und –Antikörper. In: *Labor und Diagnose. Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik* (Thomas L, Hrsg.), pp 1226-1290, 7. Auflage. TH-Books, Frankfurt 2008
- Singbartl G und Walther-Wenke G: *Transfusionspraxis*, 2. Auflage. Springer-Verlag, Berlin 2014

## 11 Mitgeltende Unterlagen

- Gesetze und Richtlinien (s. 10 Literatur)
  - VA- ... Probenannahme, Auftragsprüfung und Erfassung
  - KA- ... Kurzanleitung Probenerfassung
  - BA- ... Bedienungsanleitung DiaMed Saxo Modul
  - SA- ... Standardarbeitsanweisung AB0 und Rh-Faktor
  - SA- ... Standardarbeitsanweisung Rh-Formel und Kell
  - SA- ... Standardarbeitsanweisung Antikörpersuchtest (AKS)
  - SA- ... Standardarbeitsanweisung ABD-Bestätigungstest
  - SA- ... Standardarbeitsanweisung Direkter Coombstest
  - SA- ... Standardarbeitsanweisung AB0, Rh-Faktor, DCT (Neugeborene)
  - SA- ... Standardarbeitsanweisung Rhesus Kontrolle (Autoagglutination)
-

<b>Labor</b>	<b>Standard-Arbeitsanweisung</b>	<b>Dok.-Nr.</b> SOP ...
	<b>Serologische Verträglichkeit (Kreuzprobe)</b>	<b>Version</b> 02
		<b>Gültig ab</b> ---
		<b>Seite</b> 11 von 12

## 12 Anlagen

- Fehlermöglichkeiten und Gefahren bei der Gelkarten-Technik

<b>Problem</b>	<b>Mögliche Auswirkung</b>	<b>Ursachen</b>	<b>Lösungen</b>
Flüssigkeitsspiegel im Gelröhrchen niedrig (<1 mm über der Gelsäule)	Falsch positive Ergebnisse	Gelröhrchen verfallen	a) Test mit neuer Karte wiederholen b) Lagerungsvorschrift beachten
Kälteagglutinine	Alle Ansätze einschl. Eigenkontrolle sind positiv	AHG-Test ohne vorheriges Waschen der Erythrozyten	Wiederholung des Tests, Serum und Erythrozyten auf 37°C vorwärmen, kein LISS verwenden, 30 Min. inkubieren
Überlagerte Proben	a) Diffuse, unklare Reaktionen b) Falsch positive Ergebnisse (gesprenkeltes Reaktionsbild)	a) alte geronnene und antikoagulierte Proben neigen zur Absorption von IgG und Komplement b) Veränderung der Erythrozytenmembran bei Lagerung	Wiederholung des Tests mit frischem Probenmaterial
Falsche Zentrifugationsgeschwindigkeit	a) Falsch positive Ergebnisse b) Unklare Ergebnisse c) falsch negative Ergebnisse	a) Zentrifugation zu niedrig: Erythrozyten bleiben hängen (schwach pos. oder unklares Ergebnis) b) Zentrifugation zu hoch: schwache Agglutinate sinken auf den Boden (falsch negatives Ergebnis)	Wiederholung des Tests, Zentrifugation nach Vorschrift
Niedriger Flüssigkeitsstand in der Säule nach Testbeendigung	Falsch negative Ergebnisse	Fehlende Materialzugabe (Serum fehlt)	Wiederholung des Tests und sicherstellen, dass alle Reaktionspartner zugegeben wurden
Gemischte Zellpopulationen	Mischfeld-Agglutination (starke Reaktion oben in der Säule und Zellknopf am Boden)	Mischfeldagglutination a) bei Vortransfusion, b) bei Transplantation c) bei genetischem Chimärismus	Transfusionsanamnese beachten
Linien an der Oberfläche	Linien können als falsch positiv interpretiert werden, Erscheinungsbild wie bei Mischfeld-Agglutination	a) Fibrinpartikel im Plasma b) unvollständig gewaschene Erythrozyten	a) Fibrinpartikel durch Zentrifugation entfernen b) Erythrozyten einmal waschen, um Plasmareste und Thrombozyten zu entfernen

<b>Labor</b>	Standard-Arbeitsanweisung	<b>Dok.-Nr.</b>	SOP ...
	<b>Serologische Verträglichkeit (Kreuzprobe)</b>	<b>Version</b>	02
		<b>Gültig ab</b>	---
		<b>Seite</b>	12 von 12

		c) Patientenanamnese
--	--	----------------------

- Beipackzettel Diamed-ID Micro Typing System, Fa. DiaMed AG (nur im Arbeitsexemplar der Arbeitsanweisung)
  - ID-Karte LISS/Coombs
  - ID-Diluent 2
  - ID-DiaCell I-II-III
  - ID-Karte DiaClon ABD Bestätigungstest