

Labor	Standard-Arbeitsanweisung Blutgruppenbestimmung Antikörpersuchtest (AKS)	Dok.-Nr.	SOP ...
		Version	03
		Gültig ab	---
		Seite	1 von 7



Informationsexemplar — Unterliegt nicht dem Änderungsdienst

Standard-Arbeitsanweisung*

Inhalt.....	Seite
1 Indikation, Verantwortlichkeiten.....	2
2 Prinzip, theoretischer Hintergrund.....	2
3 Patientenbezogene und methodische Angaben	2
3.1 Untersuchungsmaterial	2
3.2 Mindestmenge	2
3.3 Störfaktoren	2
3.4 Stabilität.....	3
4 Reagenzien, Materialien, Geräte	3
4.1 Reagenzien	3
4.2 Hilfsmaterialien	3
4.3 Geräte	3
5 Qualitätskontrollen	4
5.1 Tägliche Qualitätskontrolle.....	4
5.2 Wöchentliche Kontrollen	4
6 Durchführung des Tests.....	4
6.1 Vorbereitung	4
6.2 Testansatz Antikörpersuchtest (AKS)	4
6.3 Ablesen der Reaktionen für den Antikörpersuchtest (AKS)	5
7 Ergebnisse, Befundung.....	5
7.1 Ergebnisse.....	5
7.2 Befundung	5
8 Referenzbereiche	6
9 Grenzen des Verfahrens	6
10 Literatur	6
11 Mitgeltende Unterlagen.....	6
12 Anlagen	7

* Arbeitsanweisung auf Anfrage (e-mail w.d.kuhlmann@gmx.de)

	erstellt	geprüft	freigegeben
Name	Prof. Dr. W. D. Kuhlmann		
Abteilung	QM-Stelle		
Datum			
Unterschrift			

Labor	Standard-Arbeitsanweisung	Dok.-Nr.	SOP ...
	Blutgruppenbestimmung Antikörpersuchtest (AKS)	Version	03
		Gültig ab	---
		Seite	2 von 7

1 Indikation, Verantwortlichkeiten

Immunhämatologische Untersuchungen sind ärztlich angeordnete Aufträge. Die Durchführung der Untersuchungsaufträge erfolgt nach der *Richtlinie Hämotherapie der Bundesärztekammer (2017)* und der *Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen (RiliBÄK 2019)*.

- Der Antikörpersuchtest (AKS) ist Bestandteil jeder Blutgruppenbestimmung, auch bei bereits bekannter Blutgruppe im Rahmen einer geplanten Hämotherapie
- Der AKS ist Bestandteil der serologischen Verträglichkeitsprobe (Kreuzprobe)
- AKS auf ärztliche Anordnung z.B. bei hämato-onkologischen Patienten
- Jeder positive AKS erfordert Folgeuntersuchungen (Antikörperidentifizierung, Titerbestimmung)
- Die Antikörperidentifizierung dient der Klärung der Antikörperspezifität

Die eindeutige Identitätssicherung ist bei allen immunhämatologischen Untersuchungen unerlässlich (Hämotherapie-Richtlinie). Der anfordernde Arzt ist für die korrekte Probenentnahme verantwortlich.

Die Durchführung der Untersuchungen erfolgt durch eingewiesenes, geschultes Personal (MTA-Gesetz).

Bei unklaren Untersuchungsergebnissen bzw. Problemfällen hat eine Unterrichtung des Dienstarztes zu erfolgen. Er ist verantwortlich für die Ergebnisbeurteilung, für die Klärung des weiteren Vorgehens und ggf. die Einholung von externem Sachverstand (z.B. durch den DRK-Blutspendedienst).

2 Prinzip, theoretischer Hintergrund

Beschreibungen s. Kurzanleitung BLUTGRUPPENBESTIMMUNG – BEGLEITENDE ANMERKUNGEN.

3 Patientenbezogene und methodische Angaben

3.1 Untersuchungsmaterial

Für blutgruppenserologische Untersuchungen ist eine nur für diesen Zweck bestimmte und geeignete Blutprobe erforderlich (Richtlinie Hämotherapie der Bundesärztekammer [Gesamtnovelle 2017]). Es muss immer auf eine eindeutige Identitätssicherung geachtet werden.

Nach Abschluss der Untersuchungen wird das Probengefäß (Originalröhrchen) mindestens 10 Tage gekühlt bei 2 bis 8° C aufbewahrt.

Folgende Untersuchungsproben sind prinzipiell geeignet:

- EDTA-Blut (bevorzugtes Probenmaterial)
- Vollblut, Serum

3.2 Mindestmenge

- 5 mL

3.3 Störfaktoren

- Hämolyse des Blutes

Labor	Standard-Arbeitsanweisung	Dok.-Nr.	SOP ...
	Blutgruppenbestimmung Antikörpersuchtest (AKS)	Version	03
		Gültig ab	---
		Seite	3 von 7

3.4 Stabilität

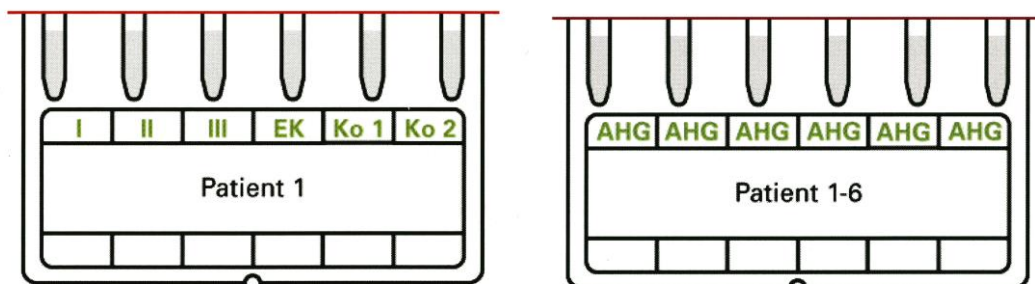
- 14 Tage bei 2-8° C

4 Reagenzien, Materialien, Geräte ¹

4.1 Reagenzien

Alle Reagenzien müssen CE zertifiziert sein. Reagenzien z.B. von DiaMed/BioRad. Hersteller und Chargenbezeichnung der Testreagenzien sind zu dokumentieren.

- ID-Karte LISS/Coombs mit polyspezifischem Antihumanglobulin (AHG)



- ID-DiaCell I-II-III Testerythrozyten
- Interne Qualitätskontrolle mit dem IH-QC-Modulsystem (Bio-Rad)
- ID-Diluent 2

4.2 Hilfsmaterialien

- Rundbodenröhrchen
- Suspensionsröhrchen
- ID-Tips (Pipetorspitzen)
- Pipettenspitzen

4.3 Geräte

- Eppendorf Pipette 10-100 µL
- ID-Dispenser
- ID-Pipetor
- ID-Zentrifuge
- Optional: z.B. Saxo ID-Reader und Maestro-Software (DiaMed) als teilautomatisiertes Gerätesystem für die Probenbearbeitung unter Verwendung der DiaMed ID-Karten. Die Ergebnisse müssen von der bearbeitenden MTA (Zweit-Ableser) bestätigt/protokolliert werden

¹ 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 ...
	Blutgruppenbestimmung Antikörpersuchtest (AKS)	Version	03
		Gültig ab	---
		Seite	4 von 7

5 Qualitätskontrollen

Interne und externe Qualitätskontrollen gemäß Richtlinien der Bundesärztekammer (RiliBÄK).

5.1 Tägliche Qualitätskontrolle

- Visuelle Kontrolle der Reagenzien/ID-Karten (Herstellerangaben beachten) sowie der sonstigen Materialien
- Qualitätskontrollen bei jedem Reagenzienwechsel (MPBetreibV, RiliBÄK 2019) Chargenänderungen werden dokumentiert. Jede Untersuchung muss eindeutig den verwendeten Reagenzien/Chargen zuzuordnen sein
- Verwendung von Seren mit bekannter Antikörperspezifität (aus Interne Qualitätskontrolle, IH-QC-Modulsystem, Bio-Rad) und von Testerythrozyten, die das korrespondierende Antigen tragen (positive Kontrolle) bzw. das Antigen nicht tragen (negative Kontrolle)
- ID-Karte LISS/Coombs mit polyspezifischem Antihumanglobulin (AHG)
- Autoagglutination: Bei jedem Antikörpersuchtest wird eine **Eigenkontrolle** (EK) durchgeführt, s. 6.2 Testansatz Antikörpersuchtest

5.2 Wöchentliche Kontrollen

- Chargenkontrollen: Alle Chargen werden einer wöchentlichen Funktionskontrolle unterzogen.

6 Durchführung des Tests

6.1 Vorbereitung

- Alle Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur (18-25°C) bringen; die Testerythrozyten ID-DiaCell sind gebrauchsfertig, vor Gebrauch resuspendieren
- Herstellung einer 0.8 bis 1%igen Erythrozytensuspension von Patientenerythrozyten (nicht gewaschen) für die Eigenkontrolle
 - 1 mL Diluent 2 in ein sauberes Röhrchen pipettieren
 - 10 µL Erythrozytenkonzentrat zugeben, leicht mischen

6.2 Testansatz Antikörpersuchtest (AKS)

- ID-Karte „LISS/Coombs“ mit dem Patientennamen (Nummer) eindeutig beschriften und zusätzliche Markierung für die verwendeten Testerythrozyten; **EK** (für die Eigenkontrolle, nicht gewaschene Patientenerythrozyten)
- Folie in aufrechter Kartenposition entfernen
- Je 50 µL Testerythrozyten in die vorgesehenen Reaktionskammern der ID-Karte pipettieren und 50 µL Patientenerythrozyten für die **Eigenkontrolle (EK)** in die entsprechende Reaktionskammer pipettieren. Die Eigenkontrolle muss negativ sein; s. Punkt 7.1
- 25 µL Patientenserum oder Plasma in jede Reaktionskammer pipettieren
- a) Manuelle Bearbeitung: ID-Karte im ID-Inkubator während 15 Minuten bei 37°C inkubieren, danach 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

Labor	Standard-Arbeitsanweisung	Dok.-Nr.	SOP ...
	Blutgruppenbestimmung Antikörpersuchtest (AKS)	Version	03
		Gültig ab	---
		Seite	5 von 7

Schritte werden von dem Gerät selbständig (Maestro-Software) gesteuert und durchgeführt

- Interne Qualitätskontrolle gemäß Kurzanleitung ²

6.3 Ablesen der Reaktionen für den Antikörpersuchtest (AKS)

- Auswertungsprinzip, s. Kurzanleitung BLUTGRUPPENBESTIMMUNG – BEGLEITENDE ANMERKUNGEN.

7 Ergebnisse, Befundung

7.1 Ergebnisse

Vollständige Protokollierung aller blutgruppenserologischen Untersuchungen (Patienten, Kontrollen) mit Angabe der Reaktionsstärken und des Namens der die Untersuchung durchführenden Person. Protokolle werden als Dokumente archiviert.

- 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 durchführende MTA gilt als *Zweitableser* (= *zweite ablesende Person*)
- Negative Reaktionen in den Mikroröhrchen mit den „DiaCell Testerythrozyten“ bedeutet, dass z. Zt. keine irregulären Antikörper vorliegen/nachweisbar sind
- Eigenkontrolle: Die Eigenkontrolle ist im Normalfall negativ (bevorzugt EDTA-Blut verwenden und kein Nativblut oder „angeronnene“ Proben, da hier häufig Probleme auftreten)
 - Schwach positive (1+) Reaktionen: Bei fehlender Transfusionsanamnese ist im Prinzip keine weitere Abklärung erforderlich. Bei unklarer Transfusionsanamnese ist eine Abklärung anzustreben. Bei vorangegangener Transfusion muss auch bei schwach positiven (1+) Reaktionen ein direkter Coombstest (DCT) angeschlossen werden; ggf. ist auch eine weitere Abklärung durch den Blutspendedienst des DRK erforderlich
 - Eindeutig positive Reaktionen (2+ und darüber): Immer einen direkten Coombstest durchführen und Rücksprache mit dem behandelnden Arzt bezüglich Patienten-Anamnese (vorausgegangene Transfusionen, Schwangerschaft, Medikamente?) zur Abschätzung weiterer Schritte
- Bei positivem AKS muss eine Spezifitätsbestimmung erfolgen (ggf. Patientenprobe an ein Referenzlabor weiterleiten, z.B. DRK-Blutspendedienst). Eine Transfusion kann im Regelfall erst nach der Abklärung eines positiven AKS erfolgen und unter Verwendung von geeigneten antigen-negativen EK
- Zweifelhafte Untersuchungsergebnisse müssen wiederholt werden. Bei weiterhin unklaren Untersuchungsergebnissen wird der diensthabende Arzt unterrichtet, um das weitere Vorgehen zu klären, ggf. muss externer Sachverstand eingeholt werden (z.B. DRK-Blutspendedienst)

7.2 Befundung

² Durchführung der Qualitätskontrolle s. Kurzanleitung QUALITÄTSSICHERUNG – SEROLOGISCHE BLUTGRUPPENBESTIMMUNG

Labor	Standard-Arbeitsanweisung	Dok.-Nr.	SOP ...
	Blutgruppenbestimmung Antikörpersuchtest (AKS)	Version	03
		Gültig ab	---
		Seite	6 von 7

- Ergebnisse von Blutgruppenuntersuchungen müssen nach Abschluss aller Untersuchungsgänge von der für die technische Untersuchung verantwortlichen Person geprüft und freigegeben werden.
- EDV-Eingaben werden von einer zweiten Person kontrolliert. Der Vorgang wird dokumentiert
- Bei klinisch relevanten Antikörpern ist ein ärztlicher Befund/Laborbericht mit Bewertung des Untersuchungsergebnisses erforderlich. Es wird auch ein Notfallausweis erstellt
- Ergebnisse einer „Fremdleistung“ müssen im **exakten Wortlaut** in den Blutgruppenbefund übernommen werden (mit Angabe der Untersuchungsverfahren, der Spezifität, des Titers und der klinischen Relevanz)
- Die Weitergabe von Blutgruppenbefunden über Telefon ist nicht zulässig. Der behandelnde Arzt muss aber im Fall einer dringenden Transfusion in geeigneter Form über das diagnostische Procedere und das Ergebnis in Kenntnis gesetzt werden

8 Referenzbereiche

Nicht belegt

9 Grenzen des Verfahrens

- Beipackzettel BioRad ID-System, Bio-Rad Laboratories GmbH

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 oder online abrufbar unter: <http://www.baek.de/haemotherapie>
- Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen (RiliBÄK). Die Richtlinie ist online abrufbar unter: <http://www.bundesaerztekammer.de/rilibaek2019>
- 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
-

Labor	Standard-Arbeitsanweisung	Dok.-Nr.	SOP ...
	Blutgruppenbestimmung Antikörpersuchtest (AKS)	Version	03
		Gültig ab	---
		Seite	7 von 7

- KA- ... Kurzanleitung Probenerfassung
- KA- ... Kurzanleitung Qualitätssicherung, serologische Blutgruppenbestimmung
- KA- ... Kurzanleitung Blutgruppenbestimmung – Begleitende Anmerkungen
- SA- ... Standardarbeitsanweisung Blutgruppenbestimmung AB0 und Rh-Faktor
- SA- ... Standardarbeitsanweisung Rh-Formel und Kell
- SA- ... Standardarbeitsanweisung ABD-Bestätigungstest
- SA- ... Standardarbeitsanweisung Direkter Coombstest
- SA- ... Standardarbeitsanweisung Serologische Verträglichkeit (Kreuzprobe)

12 Anlagen

- Beipackzettel BioRad ID-System, Bio-Rad Laboratories GmbH