

<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 8

**X** Informationsexemplar — Unterliegt nicht dem Änderungsdienst

Standard-Arbeitsanweisung\*

Inhalt.....	Seite
1 Indikation, Verantwortlichkeiten.....	2
2 Testprinzip, theoretischer Hintergrund .....	3
3 Patientenbezogene Angaben.....	3
3.1 Untersuchungsmaterial .....	3
3.2 Mindestmenge .....	3
3.3 Störfaktoren .....	3
3.4 Stabilität.....	3
4 Reagenzien, Materialien, Geräte.....	3
4.1 Reagenzien .....	3
4.2 Hilfsmaterialien .....	4
4.3 Geräte .....	4
5 Qualitätskontrolle .....	4
6 Durchführung des Tests.....	5
6.1 Vorbereitung .....	5
6.2 Testansatz Verträglichkeitsprüfung (Kreuzprobe) .....	5
6.3 Ablesen der Agglutinationsreaktionen.....	6
7 Ergebnisse, Befundung.....	6
7.1 Ergebnisse.....	6
7.2 Befundung .....	7
7.3 Externe Ergebnisse .....	7
8 Referenzbereiche .....	7
9 Grenzen des Verfahrens .....	7
10 Literatur .....	7
11 Mitgeltende Unterlagen.....	8
12 Anlagen .....	8

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

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

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 8

## 1 Indikation, Verantwortlichkeiten

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

Indikationen sind z.B.

- Patientenvorbereitung bei geplanter/möglicher Hämotherapie
- Hämotherapie-Vorbereitung in Krankheitsfällen mit kritischer Hb-Konzentration, Kreuzprobe auch im Rahmen einer Notfall-Hämotherapie
- Rh-Formel und K (Kell) ausgewählt „kreuzen“ z.B. bei
  - Patienten mit nachgewiesenen Alloantikörpern, Autoantikörpern
  - Patienten mit vorhersehbar langzeitiger Transfusionsbehandlung
  - Kinder bis zum 18. Lebensjahr, Mädchen und Frauen im gebärfähigen Alter

Die Verträglichkeitsprüfung (Kreuzprobe) ist die Überprüfung der blutgruppenserologischen Verträglichkeit von Spender und Empfänger vor einer Transfusion von zellulären Blutprodukten. Sie ist die notwendige Sicherung der Verträglichkeit vor jeder Transfusion von EK-Präparaten.

Umfang der serologischen Verträglichkeitsprüfung

- Anfordernder Arzt: Vollständig ausgefülltes Anforderungsformular für „Kreuzproben“. Jeder bekannte irreguläre Antikörper muss bei der Anforderung von Blutkomponenten angegeben werden. Genaue anamnestische Angaben seitens des Therapeuten sind äußerst wichtig. Anforderungsscheine für Blutprodukte müssen vom Arzt unterschrieben sein (verschreibungspflichtige Arzneimittel)
- Probenmaterial für
  - Kreuzprobe,
  - ABD-Bestätigung (s. Arbeitsanweisung ABD-BESTÄTIGUNG) und
  - AKS (s. Arbeitsanweisung ANTIKÖRPERSUCHTEST)
- Bei positivem AKS muss die Spezifität des/der Antikörper festgestellt werden. Ein transfusionsrelevanter Antikörper gegen Erythrozyten wird bei der Auswahl der Blutkomponenten berücksichtigt.

Zur Beachtung: Die eindeutige Identitätssicherung ist unerlässlich (Hämotherapie-Richtlinie, 2017). Der anfordernde Arzt ist hierfür verantwortlich.

Die Gültigkeit der serologischen Verträglichkeit/Kreuzprobe beträgt **3 Tage** (Tag der Blutentnahme plus 3 Kalendertage, Ausnahmen s. Abschnitt 4.4.9 Richtlinie Hämotherapie). Danach werden die für einen Patienten schon geprüften EKs erneut mit einer frisch entnommenen Empfängerblutprobe getestet. Je nach hausinterner Regelung kann bei zwischenzeitlich erfolgter Gabe von zellulären Blutprodukten diese Zeitfrist auch auf 24 Stunden befristet werden.

Die Durchführung der Untersuchungsverfahren 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

Labor	Standard-Arbeitsanweisung	<b>Dok.-Nr.</b>	SOP ...
	<b>Serologische Verträglichkeit (Kreuzprobe)</b>	<b>Version</b>	02
		<b>Gültig ab</b>	---
		<b>Seite</b>	3 von 8

des weiteren Vorgehens und ggf. für die Einholung von externem Sachverstand (z.B. durch den DRK-Blutspendedienst).

## 2 Testprinzip, theoretischer Hintergrund

Beschreibungen s. Kurzanleitung BLUTGRUPPENBESTIMMUNG – BEGLEITENDE ANMERKUNGEN.

## 3 Patientenbezogene 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 die Patientenprobe (Originalröhrchen) mindestens 10 Tage gekühlt bei 4 bis 8°C aufbewahrt

Folgende Proben werden benötigt

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

### 3.2 Mindestmenge

- 5 mL

### 3.3 Störfaktoren

- Hämolyse des Blutes

### 3.4 Stabilität

- 14 Tage bei 2-8°C

Achtung: Die Gültigkeitsdauer einer AKS-/Kreuzprobenbestimmung richtet sich nach der aktuellen Richtlinie Hämotherapie und hängt nicht von der Probenstabilität ab

## 4 Reagenzien, Materialien, Geräte

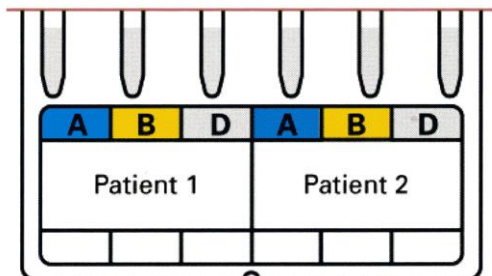
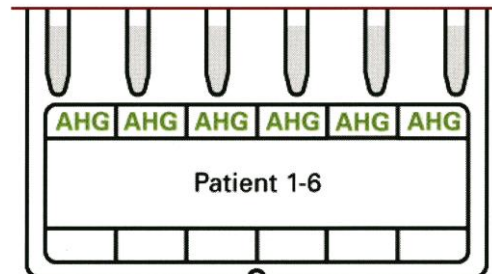
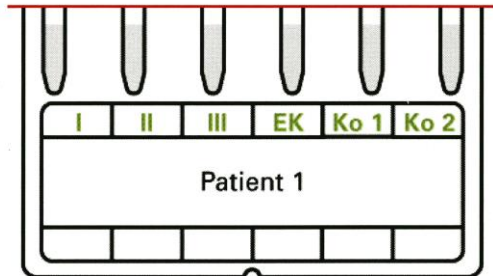
### 4.1 Reagenzien

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

- Kreuzprobe mit Antikörpersuchtest: ID-Karte LISS/Coombs mit polyspezifischem Antihämanglobulin (AHG)  
Beispiel: ID-Karte mit 3 Röhrchen für den AKS (Suchzellen I-II-III), ein Röhrchen für die Eigenkontrolle (EK) und zwei Röhrchen für die Kreuzprobe mit Erythrozyten aus Konserve 1 und Konserve 2 (Ko1 und Ko 2)
- ABD-Bestätigung: ID-Karte DiaClon ABD-Bestätigungstest (A-B-D/A-B-D) mit monoklonalen Antikörpern Anti-A, Anti-B und Anti-D (ABD-Bestätigungstest bei bereits bekannter Blutgruppe, in anderen Fällen vollständige Blutgruppenbestimmung)
- ID-Diluent 2

Labor	Standard-Arbeitsanweisung	Dok.-Nr.	SOP ...
	<b>Serologische Verträglichkeit (Kreuzprobe)</b>	Version	02
		Gültig ab	---
		Seite	4 von 8

- ID-DiaCell I-II-III
- 0.96% NaCl Lösung (sterile Waschlösung) B. Braun



LISS/Coombskarte für Kreuzprobe mit Antikörpersuchtest  
 LISS/Coombskarte (allgemein)  
 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
- 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.

## 5 Qualitätskontrolle

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

Labor	Standard-Arbeitsanweisung	<b>Dok.-Nr.</b>	SOP ...
	<b>Serologische Verträglichkeit (Kreuzprobe)</b>	<b>Version</b>	02
		<b>Gültig ab</b>	---
		<b>Seite</b>	5 von 8

Qualitätskontrollen siehe Arbeitsanweisung BLUTGRUPPENBESTIMMUNG AB0/RHD, Arbeitsanweisung ABD BESTÄTIGUNGSTEST und Arbeitsanweisung ANTIKÖRPERSUCHTEST.

Anleitung, Beschreibung und Durchführung siehe Kurzanleitung QUALITÄTSSICHERUNG SEROLOGISCHE BLUTGRUPPENBESTIMMUNG.

## 6 Durchführung des Tests

### 6.1 Vorbereitung

- Alle Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur (18-25°C) bringen
- Etiketten mit der Kreuzproben-Protokollnummer: Serum, Ery-Sediment, Ery-Suspension etc. beschriften, Röhrchen bekleben/beschriften
- Die entsprechenden EK's aus dem Konservenkühlschrank nehmen, je ein Barcode-Etikett vom EK auf ein großes Röhrchen kleben und dazu das entsprechende Schlauchsegment stecken
- Schlauchsegment (mit Schlauchsegmentöffner) öffnen und in das zugehörige kleine Röhrchen ausleeren; restliche Schlauchsegmente in das große Röhrchen zurückstecken
- Aus den Erythrozytensedimenten jeweils eine Erythrozytensuspension in ID-Diluent 2 herstellen
- Kreuzprobe:
  - 1.0 mL ID-Diluent in sauberes Kreuzprobenröhrchen pipettieren
  - 20 µL Erythrozytensediment zugeben, leicht mischen und sofort weiterbearbeiten
- Eigenkontrolle:
  - 1.0 mL ID-Diluent in sauberes Kreuzprobenröhrchen pipettieren
  - 10 µL Erythrozytensediment zugeben, leicht mischen und sofort weiterbearbeiten

### 6.2 Testansatz Verträglichkeitsprüfung (Kreuzprobe)

- ID-Karte „LISS/Coombs“ mit dem Empfängernamen sowie den EK-Konservenummern eindeutig beschriften
- Folie in aufrechter Kartenposition entfernen
- Jeweils 50 µL der Erythrozytensuspensionen (vom Empfänger als **Eigenkontrolle**<sup>1</sup>) und den EK's) in die entsprechenden Mikroröhrchen der ID-Karte pipettieren
- AKS: jeweils 50 µL Testerythrozyten (I, II und II) in die entsprechenden Mikroröhrchen pipettieren
- 25 µL Serum des Empfängers in alle Mikroröhrchen 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-Karten in den Saxo ID-Reader stellen, die weiteren Schritte werden von dem Gerät selbständig (Maestro-Software) gesteuert und durchgeführt

---

<sup>1</sup> Kontrolle auf Autoagglutination

Labor	Standard-Arbeitsanweisung	Dok.-Nr.	SOP ...
	<b>Serologische Verträglichkeit (Kreuzprobe)</b>	Version	02
		Gültig ab	---
		Seite	6 von 8

- Hinweis: Kontrollbestimmung der Blutgruppe mit ID-Karte DiaClon ABD-Bestätigungstest (A-B-D/A-B-D) bei bekannter Blutgruppe (Arbeitsanweisung ABD-BESTÄTIGUNGSTEST)

### 6.3 Ablesen der Agglutinationsreaktionen

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 bearbeitende MTA ist dann die *zweite ablesende Person*
- Eine negative Reaktion zeigt Verträglichkeit des Spenderblutes mit dem des Empfängers
- Beachte: Kreuzprobe, Antikörpersuchtest, Eigenkontrolle und Blutgruppenbestimmung (z.B. ABD-Bestätigungstest) zusammen ansetzen und bewerten
- Die Eigenkontrolle ist im Normalfall negativ (am besten EDTA-Blut und kein Nativblut oder „angeronnene“ Probe nehmen, da hier häufig Probleme auftreten)
- **Eigenkontrolle: schwach positive (1+) Reaktionen erfordern zunächst keine weitere Veranlassung. Bei vorangegangener Transfusion muss dagegen auch schon bei schwach positiven (1+) Reaktionen ein direkter Coombstest (DCT) durchgeführt werden.**
- **Eigenkontrolle: bei eindeutig positiven Reaktionen (2+ und darüber) muss immer ein direkter Coombstest durchgeführt werden (z.B. Autoantikörper); Rücksprache mit dem behandelnden Arzt erforderlich.**  
Eine darüber hinaus gehende Abklärung ist bei klinischem und laborchemischem Anhalt für eine hämolytische Anämie erforderlich (in der Regel muss der behandelnde Arzt weitere Schritte veranlassen)
- Eine positive Reaktion in der Kreuzprobe zeigt Unverträglichkeit des Spenderblutes mit dem des Empfängers aufgrund vorhandener Antikörper, die gegen Antigen(e) des Spenderblutes gerichtet sind. **Die positiven Ergebnisse müssen (ggf. in einem Referenzlabor, z.B. DRK Blutspendedienst) weiter abgeklärt werden**
- Bei einem positiven Kreuzprobenergebnis wird der behandelnde Arzt informiert, dass weitere Untersuchungen erforderlich sind. Vor Transfusion von Präparaten müssen mögliche Ursachen für die positive Verträglichkeitsprüfung/Kreuzprobe abgeklärt werden (Nachweis/Identifizierung von Alloantikörpern, Nachweis von Autoantikörpern, DCT mit Patienten Erythrozyten und EK)
- Transfusionsrelevante irreguläre Antikörper gegen Erythrozyten müssen bei der Auswahl der Blutkomponenten berücksichtigt werden
- Zweifelhafte Untersuchungsergebnisse werden wiederholt. Bei weiterhin unklaren Untersuchungsergebnissen wird der diensthabende Arzt unterrichtet, um das weitere Vorge-

Labor	Standard-Arbeitsanweisung	<b>Dok.-Nr.</b>	SOP ...
	<b>Serologische Verträglichkeit (Kreuzprobe)</b>	<b>Version</b>	02
		<b>Gültig ab</b>	---
		<b>Seite</b>	7 von 8

hen zu klären, ggf. muss externer Sachverstand eingeholt werden (z.B. beim DRK-Blutspendedienst)

## 7.2 Befundung

- 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 positivem AKS (und nach Antikörperdifferenzierung, ggf. durch ein Referenzlabor) sind entsprechende Eintragungen im LIS und im Blutgruppenausweis vorzunehmen. Es ist ein ärztlicher Befund/Bericht erforderlich. Bei einer „Fremdleistung“ muss der Bericht im exakten Wortlaut in den Befund übernommen werden
- 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 des Empfängers und die Nummer des Blutproduktes enthält

## 7.3 Externe Ergebnisse

- Ergebnisse eines externen Referenzlabors werden mit Eingangsdatum im LIS erfasst
- Ergebnisse der „Fremdleistung“ werden im **exakten Wortlaut** in den Blutgruppenbefund übernommen
- Umgehende Information des behandelnden Arztes

## 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](http://www.bundesaerztekammer.de/fileadmin/user_upload/downloads/pdf-Ordner/MuE/Richtlinie_Haemotherapie_2017.pdf)  
oder online abrufbar unter:  
<http://www.baek.de/haemotherapie>

<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>	8 von 8

- 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
- KA- ... Kurzanleitung Probenerfassung
- KA- ... Kurzanleitung Qualitätssicherung, serologische Blutgruppenbestimmung
- KA- ... Kurzanleitung Blutgruppenbestimmung – Begleitende Anmerkungen
- 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)

## 12 Anlagen

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