

Labor	Standard-Arbeitsanweisung Blutgruppenbestimmung Rh-Formel und Kell	Dok.-Nr.	SOP ...
		Version	03
		Gültig ab	---
		Seite	1 von 10

X Informationsexemplar — Unterliegt nicht dem Änderungsdienst

Standard-Arbeitsanweisung*

Inhalt	Seite
1 Indikation, Verantwortlichkeiten.....	2
2 Testprinzip, theoretischer Hintergrund	2
3 Patientenbezogene und methodische Angaben	2
3.1 Untersuchungsmaterial	2
3.2 Mindestmenge	2
3.3 Störfaktoren	3
3.4 Stabilität.....	3
4 Reagenzien, Hilfsmaterialien, 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 Qualitätskontrolle.....	4
6 Durchführung des Tests.....	4
6.1 Vorbereitung	4
6.2 Testansatz Rh-Formel und Kell.....	5
6.3 Ablesen der Reaktionen für Rh- und Kell-Merkmale	5
7 Ergebnisse, Befundung.....	5
7.1 Ergebnisse.....	5
7.2 Befundung	6
8 Referenzbereiche	7
9 Grenzen des Verfahrens	7
10 Literatur	7
11 Mitgeltende Unterlagen.....	7
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	Dok.-Nr.	SOP ...
	Blutgruppenbestimmung Rh-Formel und Kell	Version	03
		Gültig ab	---
		Seite	2 von 8

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)*.

Indikationsbeispiele:

- Präoperative Patientenvorbereitung, Vorbereitung im Rahmen einer geplanten Hämotherapie, auch im Rahmen einer Notfall-Hämotherapie
- Untersuchung auf ärztliche Anordnung
- Rhesus-Formel (C, c, D, E, e) und Hauptantigene des Kell-Systems (K, k) werden bei entsprechender Indikation (Richtlinie Hämotherapie) untersucht, insbesondere bei Kindern, Mädchen und Frauen im gebärfähigen Alter mit voraussehbarer Transfusion sowie bei polytransfundierten Patienten und bei Personen mit voraussichtlicher Langzeittransfusion

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 Testprinzip, 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). 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,

- Vollblut
- EDTA-Blut
- Nabelschnurblut/Neugeborenenblut (Nabelschnurblut wird als solches gekennzeichnet, s.a. Arbeitsanweisung AB0-RHD-DCT-NEUGEBORENE)

3.2 Mindestmenge

Labor	Standard-Arbeitsanweisung Blutgruppenbestimmung Rh-Formel und Kell	Dok.-Nr.	SOP ...
		Version	03
		Gültig ab	---
		Seite	3 von 8

- 5 mL

3.3 Störfaktoren

- Hämolyse des Blutes

3.4 Stabilität

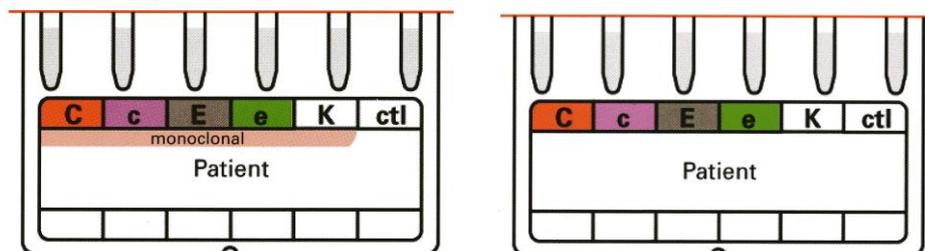
- 14 Tage bei 2-8°C

4 Reagenzien, Hilfsmaterialien, Geräte ¹

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

4.1 Reagenzien

- ID-Karte Rh-subgroups + K (C-c-E-e-K-ctl) mit **monoklonalen** Antikörpern Anti-C, Anti-c, Anti-E, Anti-e und Anti-K (**Karte 1**, DiaClon Rh-Untergruppen + K)
- ID-Karte Rh-subgroups + K (C-c-E-e-K-ctl) mit **monoklonalen** Antikörpern Anti-C, Anti-c, Anti-E, Anti-e und Anti-K (**Karte 2**, DiaClon Rh + K Phänotyp II)



- 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

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 Rh-Formel und Kell	Version	03
		Gültig ab	---
		Seite	4 von 8

- 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 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 Wechsel von Reagenzienchargen (MPBetreibV, RiliBÄK 2019)
- Kontrolle auf Autoagglutination: Eine aktuelle Kontrolle auf Autoagglutination der Patientenprobe muss vorliegen²

5.2 Wöchentliche Qualitätskontrolle

- Chargenkontrollen: Alle Chargen werden zusätzlich zur visuellen Kontrolle einer wöchentlichen Funktionskontrolle unterzogen; Überprüfung des Verfallsdatums, Chargenänderungen werden dokumentiert und alte Chargen werden verworfen. Jede Untersuchung muss eindeutig zu den verwendeten Reagenzien/Chargen zuzuordnen sein
- Rh-Untergruppen und K (Kell): siehe Anleitung, Beschreibung und Durchführung in der Kurzanleitung QUALITÄTSSICHERUNG SEROLOGISCHE BLUTGRUPPENBESTIMMUNG

6 Durchführung des Tests

6.1 Vorbereitung

- Herstellung einer 5%igen Erythrozytensuspension in ID-Diluent 2 für die ID-Karten „Rh-Untergruppen“ mit **monoklonalen Antikörpern (Karte 1 und Karte 2)**
 - ID-Diluent 2 vor Gebrauch auf Raumtemperatur bringen
 - 0.5 mL ID-Diluent 2 in ein sauberes Röhrchen pipettieren
 - 50 µL Vollblut oder 25 µL Erythrozytenkonzentrat zugeben, leicht mischen
 - Suspension (im Röhrchen oder direkt in der ID-Karte) 10 Minuten bei Raumtemperatur (18-25°C) inkubieren; Erythrozytensuspension innerhalb von 15 Minuten nach der Inkubation verwenden
- Interne Qualitätskontrolle gemäß Kurzanleitung³

² Eine Eigenkontrolle, die im Rahmen eines Antikörpersuchtests durchgeführt wird, gilt auch als Autoagglutinationskontrolle. Voraussetzung ist, dass die Untersuchungen zusammen angesetzt und beurteilt werden. Der Antikörpersuchtest ist Bestandteil jeder Blutgruppenbestimmung

³ Durchführung der Qualitätssicherung s. Kurzanleitung QUALITÄTSSICHERUNG – SEROLOGISCHE BLUTGRUPPENBESTIMMUNG

Labor	Standard-Arbeitsanweisung	Dok.-Nr.	SOP ...
	Blutgruppenbestimmung Rh-Formel und Kell	Version	03
		Gültig ab	---
		Seite	5 von 8

6.2 Testansatz Rh-Formel und Kell

- Die Bestimmung von Rh-Merkmalen und anderen Blutgruppenmerkmalen wird mit jeweils zwei verschiedenen Testreagenzien durchgeführt (Richtlinie Hämotherapie)
- ID-Karte „Rh-Untergruppen + K“ mit dem Patientennamen (Nummer) eindeutig beschriften (**Karte 1**)
- ID-Karte „Rh + K Phänotyp II“ mit dem Patientennamen (Nummer) eindeutig beschriften (**Karte 2**)
- Jeweils Folie in aufrechter Kartenposition entfernen
- 12.5 µL der Erythrozytensuspension in alle Mikroröhrchen der ID-Karten pipettieren
- a) Manuelle Bearbeitung: ID-Karten 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren (vgl. Arbeitsschritt 6.1 Vorbereitung), dann ID-Karten 10 Minuten in der ID-Zentrifuge zentrifugieren, Reaktionen ablesen und protokollieren
- b) Teilautomatisierte Bearbeitung: z.B. ID-Karten in den Saxo ID-Reader stellen, die weiteren Schritte werden von dem Gerät selbständig (Maestro-Software) gesteuert und durchgeführt

6.3 Ablesen der Reaktionen für Rh- und Kell-Merkmale

Auswertungsprinzip, s. Kurzanleitung BLUTGRUPPENBESTIMMUNG – BEGLEITENDE ANMERKUNGEN.

- Bei der Ablesung immer auf **Mischfeldagglutination** achten (entsteht z.B. durch Transfusion von Untergruppen ungleichen EK). Die Untergruppe kann dann nicht sicher bestimmt werden; entsprechende Eingabe in die Labor-EDV
- Interpretation der Reaktionen in der DiaMed-ID-Karte s. Kapitel 7 Ergebnisse, Befundung

7 Ergebnisse, Befundung

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

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 gilt als *Zweitableser* (= *zweite ablesende Person*)
- Eine positive Reaktion von +++ bis ++++ weist auf das Vorhandensein des entsprechenden Antigens hin
- Eine negative Reaktion bedeutet Abwesenheit des entsprechenden Antigens
- Eine Doppelpopulation (negative und positive Reaktionen) in dem gleichen Mikroröhrchen weist auf das Vorliegen von Antigen positiven und Antigen negativen Erythrozyten hin.
Vorkommen: z.B. nach Transfusion, wenn das Antigenmuster des transfundierten Blutes unterschiedlich zum Patienten war. Die Rh-Untergruppe kann nicht sicher bestimmt werden

Labor	Standard-Arbeitsanweisung	Dok.-Nr.	SOP ...
	Blutgruppenbestimmung Rh-Formel und Kell	Version	03
		Gültig ab	---
		Seite	6 von 8

- **Mikroröhrchen „ctl“ und Test auf Autoagglutination müssen immer negativ sein** (= keine Reaktion). Bei positiven Reaktionen werden die Bestimmungen als ungültig gewertet. In diesem Fall wird der Test mit einer (in Kochsalzlösung oder in ID-Diluent 2) gewaschenen Erythrozytensuspension wiederholt
- Zweifelhafte Untersuchungsergebnisse müssen wiederholt werden. Bei unklaren Untersuchungsergebnissen hat eine Unterrichtung des diensthabenden Arztes zu erfolgen: Klärung des weiteren Vorgehens und der Ergebnisbeurteilung, ggf. Einholung von externem Sachverstand (z.B. DRK-Blutspendedienst)

Bestimmung von Rh-Merkmalen				
Anti-C	Anti-c	Anti-E	Anti-e	Rh-Formel
positiv	positiv	negativ	positiv	Ccee
negativ	positiv	positiv	positiv	ccEe
negativ	positiv	negativ	positiv	ccee
positiv	negativ	negativ	positiv	CCee
negativ	positiv	positiv	negativ	ccEE
positiv	positiv	positiv	positiv	CcEe
positiv	negativ	positiv	positiv	CCEe
positiv	positiv	positiv	negativ	CcEE
positiv	negativ	positiv	negativ	CCEE
negativ	negativ	negativ	negativ	Rh-Null *

* Nur in Verbindung mit ebenfalls negativem Testansatz für beide Anti-D's

Bestimmung von K (Kell)	
Anti-K	Untersuchungsergebnis
4 + Reaktion	K positiv *
1 + bis 3 + Reaktion	Cave: ggf. Vortransfusion, Anamnese (?)
negativ	K negativ

* Bei EK-Bedarf: Cellano (k) bestimmen, insbesondere bei Kindern/Mädchen, Schwangeren und Frauen im gebärfähigen Alter, Patienten mit irregulären Antikörpern und bei Patienten mit hämatologischen/onkologischen Erkrankungen und chronischem Transfusionsbedarf

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. Schreibweise der Befunde, s. Kurzanleitung BLUTGRUPPENBESTIMMUNG – BEGLEITENDE ANMERKUNGEN

Labor	Standard-Arbeitsanweisung	Dok.-Nr.	SOP ...
	Blutgruppenbestimmung Rh-Formel und Kell	Version	03
		Gültig ab	---
		Seite	7 von 8

- Hinweis: Wenn eine Transfusion dringend erforderlich ist und bei der Rh-Bestimmung eine Rh-Untergruppe unklar reagiert (**Mischfeldagglutination**), dann jedenfalls keine EK mit den „Buchstaben“ transfundieren, die unklar reagieren. Den behandelnden Arzt informieren, den Patienten auf Vortransfusionen prüfen
- Ärztlicher Befund/Bericht: Untergruppe kann nicht sicher bestimmt werden, erneute Bestimmung in 4-6 Wochen, anamnestische Abklärung auf Vortransfusionen erforderlich (Aufgabe des einsendenden Arztes)
- Ergebnisse einer „Fremdleistung“ (z.B. Abklärung durch den Blutspendedienst des DRK) müssen im **exakten Wortlaut** in den Blutgruppenbefund übernommen werden, evtl. ist ein Notfallausweis auszustellen
- Die Weitergabe von Blutgruppenbefunden über Telefon ist nicht zulässig

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
 - KA- ... Kurzanleitung Probenerfassung
-

Labor	Standard-Arbeitsanweisung Blutgruppenbestimmung Rh-Formel und Kell	Dok.-Nr.	SOP ...
		Version	03
		Gültig ab	---
		Seite	8 von 8

- KA- ... Kurzanleitung Qualitätssicherung, serologische Blutgruppenbestimmung
- KA- ... Kurzanleitung Blutgruppenbestimmung – Begleitende Anmerkungen
- SA- ... Standardarbeitsanweisung Blutgruppenbestimmung AB0 und Rh-Faktor
- SA- ... Standardarbeitsanweisung Antikörpersuchtest (AKS)
- SA- ... Standardarbeitsanweisung ABD-Bestätigungstest
- SA- ... Standardarbeitsanweisung Direkter Coombstest
- SA- ... Standardarbeitsanweisung Serologische Verträglichkeit (Kreuzprobe)
- SA- ... Standardarbeitsanweisung AB0, Rh-Faktor, DCT (Neugeborene)

12 Anlagen

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