

Praktikum Transfusionsmedizin

Lehrveranstaltung der Medizinischen Mikrobiologie,
Immunologie, Virologie und Transfusionsmedizin
für Mediziner im Sommersemester 2,5std.

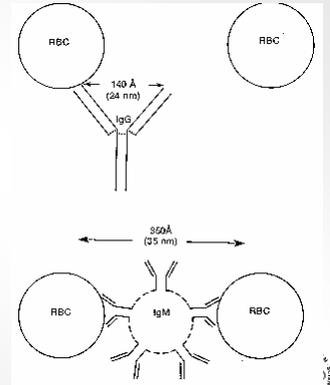


Willy A. Flegel
Prof. Dr. med.

Institut für Klinische Transfusionsmedizin und Immungenetik Ulm
Institut für Transfusionsmedizin, Universitätsklinikum Ulm

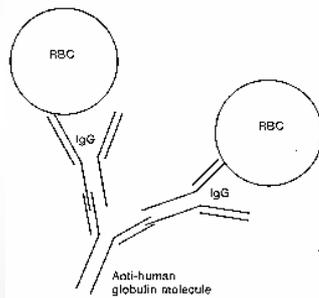
IgG und IgM

- Abstand zwischen Erythrozyten
- durch positiv geladene Hydrat-Hülle
- aufgrund negativ geladener Zucker auf der Erythrozyten-Oberfläche



Anti-human-Globulin (AHG) „Coombsserum“

- IgG kann Abstand allein nicht überbrücken
- Antikörper gegen Fc-Anteil von IgG
 - Ziege, Schaf
 - monoklonal



Blutgruppenserologische Routine

Maßnahme	Zweck
Transfusionsmedizinische Anamnese	Bekannte Alloantikörper Vortransfusionen
Blutgruppenbestimmung und Antikörpersuchtest	Erkennen von Antikörpern gegen häufige Antigene Auswahl blutgruppenidentischer Blutpräparate
Serologische Verträglichkeitsprobe (Kreuzprobe)	Erkennen von Antikörpern gegen seltene Antigene ABO-Verwechslungskontrolle
ABO-Identitätstest (Bedside-Test)	ABO-Verwechslungskontrolle

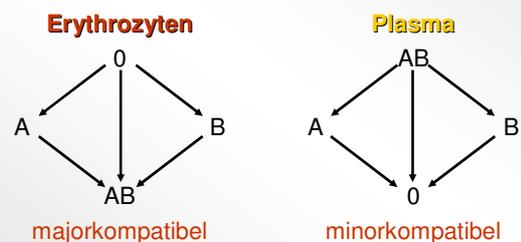
Isoagglutinine*

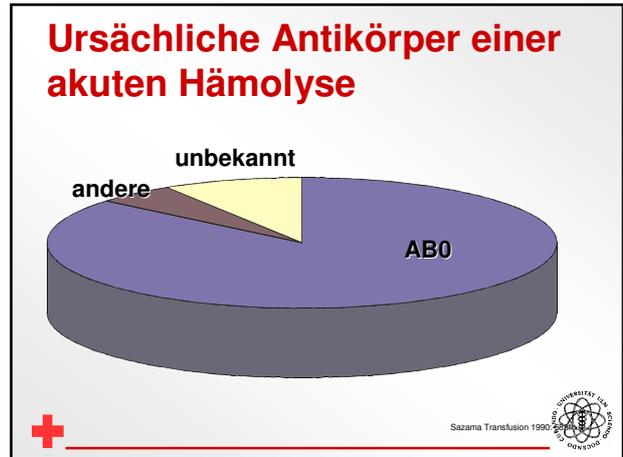
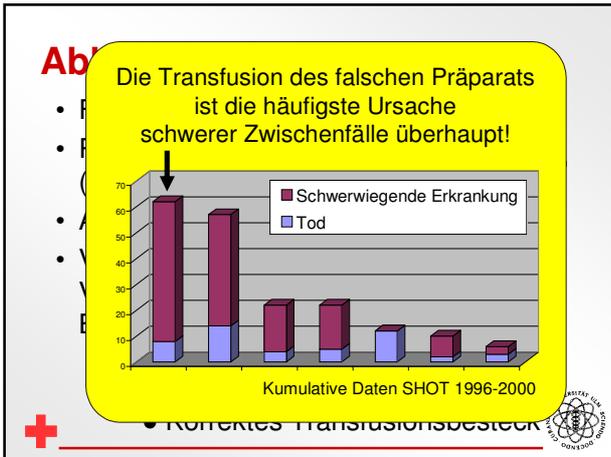
Jede ABO-Blutgruppenbestimmung erfordert
Antigene und dazu passende Isoagglutinine

Blutgruppe	Antigene auf Erythrozyten	Antikörper im Serum
0	keine	anti-A + anti-B
A	A	anti-B
B	B	anti-A
AB	AB	keine

* Reguläre (immer vorhandene) Allo-Antikörper

ABO-Kompatibilität von Blutkomponenten





Übung 1: Bestimmung der AB0-Antigene auf Erythrozyten

Erythrozyten des Patienten zugeben (kleinere Menge)

Bedside-Test

Anti-A Bekannte Testseren Erythrozyten unbekannt ①

Anti-B0

Übung 1: Bestimmung von Anti-A und Anti-B im Serum

- Zuerst 2 Tropfen Patientenserum aus Röhrchen Nr. 2 (z.B. Herr Rot) pipettieren, Serum aus Röhrchen Nr. 2
- danach 1 Tropfen Testerythrozyten A, B und 0 zugeben
- und durch leichtes Schütteln mischen.

Übung 1: Protokollierung und

Bitte protokollieren Sie in allen Übungen das Ergebnis der Reaktionen mit „++++“ oder „-“ bzw. entsprechenden Zwischenstufen (+++, ++, +).

Hierbei bedeutet:
 ++++ : vollständige Agglutination oder Hämolyse
 - : keine Agglutination

Wenden Sie sich bitte an die Betreuer, wenn Sie Ihre Ergebnisse nicht einordnen können.

Blutprobe	Ergebnis (Reaktionsmuster)	Befund (AB0)
rot	- +++++	B
grün	- +++++	
blau	- +++++	
schwarz	- +++++	

Unterschiedliche Reaktionsstärken:

Übung 2: Bestimmung des Antigen D

Rhesus D-Bestimmung

Eigenkontrolle (Negativkontrolle)

Übung 2: Protokollierung und Auswertung

Ergebnis- und Befundschema für die Rhesus D-Bestimmung

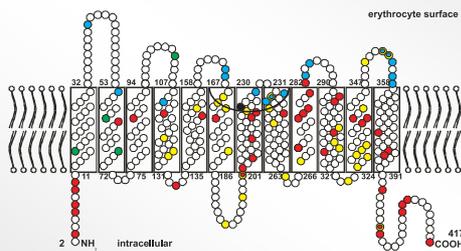
Rhesus D	Anti-D	Eigenkontrolle (Negativkontrolle)	Frequenz in Baden-Württemberg
positiv	++++	-	82,7 %
negativ	-	-	17,3 %

Blutprobe	Ergebnis (Reaktionsmuster)	Befund (D pos./D neg.)
rot		
grün		
blau		
schwarz		



bitte Übungen 1 und 2 durchführen

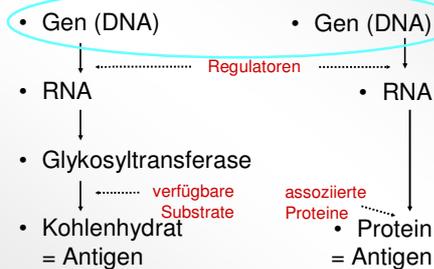
RH Blutgruppen-System RhD und RhCE Proteine



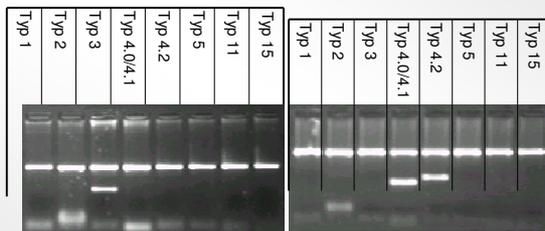
- RhD vs. RhCE (gelb)
 - C/c (grün)
 - E/e (schwarz)
- weak D (rot)
- partial D (blau)



Gen und Antigen



weak D-Genotypisierung



weak D Typ 3 weak D Typ 4.2



Gesundheits- & Kostenvorteile Anti-D entfällt, wenn ...

- ... Mutter bestimmte weak D Typen trägt
- ... Föt D neg. aus mütterlichem Plasma
- kann 3% – 5% aller Anti-D einsparen
- kann 40% pränatale Anti-D einsparen
- 1 Test im Leben
- 1 oder mehr Teste pro Schwangerschaft
- Test zahlt sich selbst – Vorteil für Mutter ohne Zusatzkosten
- Test kann für sich selbst zahlen



Häufigkeit klinisch relevanter Alloantikörper

Patientengruppe Frequenz

Neu aufgenommene Patienten	bis 1 %
Alle hospitalisierten Patienten	bis 5 %
Polytransfundierte Patienten	bis 10 %



Mögliche klinische Relevanz antierythrozytärer Antikörper

- Transfusionsreaktionen
 - akut hämolytisch
 - verzögert hämolytisch
 - verzögert serologisch
- Morbus haemolyticus neonatorum (MHN)



Antikörpersuchtest

- Vorgeschriebene Untersuchungszeitpunkte
 - bei jeder Blutgruppenbestimmung
 - bei einer Verträglichkeitsprobe
- Verfahren
 - indirekter Antiglobulintest (Coombstest)



Antikörpersuchtest (AKS)

Erythrozyten-Suspension	Rhesus-Phänotyp	Rhesus				Reaktivität
		C	c	D	E	
1	CCD.ee	+	0	+	0	++++
2	ccD.EE	0	+	+	0	++++
3	ccddee	0	+	0	+	-

Hämotherapie-Richtlinien seit 2000:
 AKS: mit 3 unterschiedlichen Erythrozyten-Suspensionen
 Testzellen sollen folgende Merkmale aufweisen: C, Cw, c, D, E, e, K, k, Fy (a), Fy (b), Jk (a), Jk (b), S, s, M, N, P (1), Le (a), Le (b) mit hoher Antigendichte (homozygote Erbanlage für das Allel): D, c, Fy (a), Fy (b), Jk (a), Jk (b), S, s



Antikörperidentifizierung

Erythrozyten-Suspension	Rhesus-Phänotyp	Rhesus				Kidd		Duffy		Reaktivität
		C	c	D	E	Jk(a)	Jk(b)	Fy(a)	Fy(b)	
1	CCD.ee	+	0	+	0	+	0	+	+	++++
2	ccD.EE	0	+	+	0	+	0	+	+	++++
3	ccddee	0	+	0	+	+	0	+	0	-
4	ccD.ee	0	+	+	0	+	0	0	0	-
5	Ccddee	+	+	0	0	+	0	+	0	-
6	ccddEe	0	+	0	+	+	+	+	0	++
7	ccddEe	0	+	0	+	+	+	0	+	++
8	ccddee	0	+	0	+	+	0	+	+	++++

auch als Antikörperdifferenzierung bezeichnet mit 8 – 13 unterschiedlichen Test-Erythrozyten



direkter Coombstest indirekter Coombstest

- Nachweismethode für die *in vivo*-Beladung von Erythrozyten
 - mit Immunglobulinen und/oder
 - Komplementfaktoren
- z. B. zum Nachweis von Auto-Antikörpern bei autoimmunhämolytischen Anämien



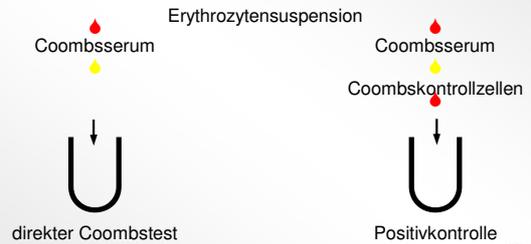
direkter Coombstest

indirekter Coombstest

- Nachweismethode für die *in vitro*-Beladung von Erythrozyten
 - mit Immunglobulinen und/oder
 - Komplementfaktoren
- z. B. Nachweis von Alloantikörpern im Serum
- für die Verträglichkeitsprobe („Kreuzprobe“) in Deutschland vorgeschrieben



Übung 3: Direkter Coombstest



Übung 3: Protokollierung und Auswertung

Protokollierung des direkten Coombstests:

Ergebnis	Patientenerythrozyten	
	Nr. 3	Nr. 4
direkter Coombstest		
Coombsskontrollzellen		

Befund (bitte eintragen): Direkter Coombstest

Patient Nr. 3:

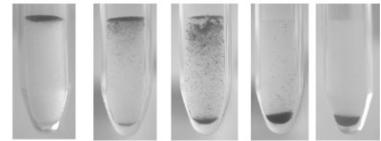
Patientin Nr. 4:



Übung 4: Verträglichkeitsprobe in Geltechnik

Prinzip des Geltests:

Erythrozyten werden in der oberen Reaktionskammer mit dem Antikörper-haltigen Serum oder Plasma eines Patienten inkubiert. Im Gel (untere Säule) befindet sich Antihumoglobulin.



Beurteilung der Reaktionsstärken:

++++ +++ ++ + -



Übung 4: Verträglichkeitsprobe in Geltechnik

Tabelle 4: Ergebnis- und Befundschema der Verträglichkeitsprobe in Geltechnik

Erythrozytenpräparate	Nr. 1	Nr. 2	Nr. 3	Nr. 4	Nr. 5	Nr. 6
Ergebnis (Reaktionsstärke)						
Befund der Kreuzprobe (verträglich/nicht verträglich)						



bitte Übungen 3 und 4 durchführen

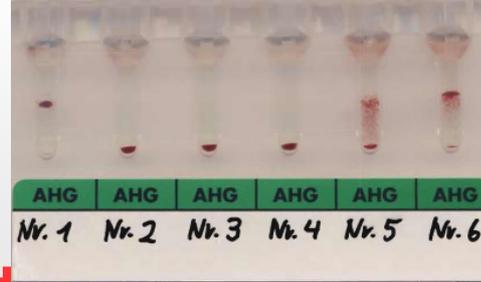
Differentialdiagnosen eines positiven direkten Coombstests

- ohne Transfusion
- Autoimmunhämolytische Anämie
- Lymphom (selten andere Malignome)
- Systemischer Lupus erythematosus (SLE)
- Medikamente
- Infektionen (bei Kälte-Auto-Antikörpern)
- idiopathisch (unter Umständen langfristig bestehend, ohne klinische Relevanz)
- nach Transfusion
- verzögerte Transfusionsreaktion
- serologisch inkompatible Transfusion
- bei Fötalblut und Neugeborenen
- Morbus haemolyticus neonatorum (MHN)



Übung 4: Verträglichkeitsprobe in Geltechnik

- Ergebnis (Reaktionsstärke)

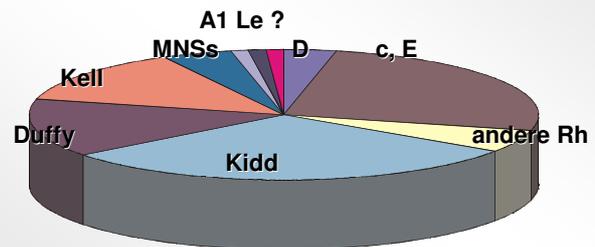


Was tun bei positiver Kreuzprobe?

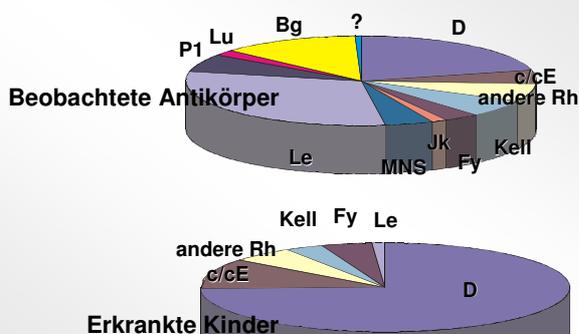
- Falls ein Erythrozyten-Präparat nicht verträglich ist, vor Transfusion (anderer) Präparate unbedingt Ursache klären:
- Nachweis und Identifizierung von Allo-Antikörpern
- Nachweis von Auto-Antikörpern
- ggf. auch direkten Coombstest bei Erythrozyten-Präparat und/oder Patient durchführen



Ursächliche Antikörper einer verzögerten Hämolyse



Morbus haemolyticus neonatorum (MHN)



Filey et al. Acta Obstet Gynecol Scand 1984; 63: 11-15

Transfusionspezifische Anamnese *

- Frühere Transfusionen
insbesondere in den letzten 6 Monaten
- Schwangerschaftsanamnese
- Blutgruppenausweise
– Blutspenderausweis, Mutterpass
– Impfpass, Bundeswehrausweis
insbesondere alle Einträge von Alloantikörpern
- Ggf. Knochenmark- oder Blutstammzelltransplantation

* Immer erforderlich, falls Transfusionsbedarf auftreten kann. Information an das Labor weiterleiten.



Ablauf einer Transfusion

- Frühzeitig Antikörpersuchtest
- Rechtzeitig Präparate bestellen (Zuordnung Patient/Präparat im Labor!)
- Abruf erst direkt vor Transfusion
- Vor Transfusion:
 - Vorbereitende Kontrollen
 - Bedside-Test



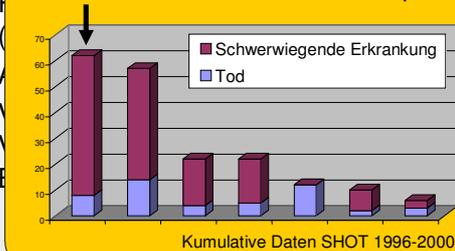
Ablauf Vorbereitung

- Frühzeitig Antikörpersuchtest
- Rechtzeitig Präparate bestellen (Zuordnung Patient/Präparat im Labor!)
- Abruf erst direkt vor Transfusion
- Vor Transfusion:
 - Vorbereitende Kontrollen
 - Korrekte Zuordnung von Patient-Begleitschein-Präparate (Name, Vorname, Geburtsdatum, Nummern)
 - Passende Blutgruppe
 - Richtiger Präparatetyp
 - Gültigkeit der Kreuzprobe
 - Laufzeit des Präparats
 - Unversehrtheit des Präparats
 - Korrektes Transfusionsbesteck



Ablauf

Die Transfusion des falschen Präparats ist die häufigste Ursache schwerer Zwischenfälle überhaupt!



Ablauf Bedside-Test

- Frühzeitig Antikörpersuchtest
- Rechtzeitig Präparate bestellen (Zuordnung Patient/Präparat im Labor!)
- Abruf erst direkt vor Transfusion
- Vor Transfusion:
 - Vorbereitende Kontrollen
 - Bedside-Test
 - Vor jeder Transfusion (auch im Notfall)
 - Patient vorgeschrieben
 - Allogenes Präparat möglich
 - Autologes Präparat vorgeschrieben
 - Ergebnis dokumentieren!



Ablauf Bedside-Test

- Frühzeitig Antikörpersuchtest
- Rechtzeitig Präparate bestellen (Zuordnung Patient/Präparat im Labor!)
- Abruf erst direkt vor Transfusion
- Vor Transfusion:
 - Vorbereitende Kontrollen
 - Bedside-Test



Dokumentation

- Aufklärung/Einwilligung
- Ergebnis von Blutgruppe und AKS
- Anforderungsformular
- Produktbezeichnung/Präparatenummer, Hersteller, Blutgruppe, Ergebnis von Kreuzprobe und Bedside-Test
- Datum und Uhrzeit der Transfusion
- Anstieg des Hämatokrits
- Unerwünschte Wirkungen

