



---

Kurs K 1

Mikrobiologie/Virologie/Immunologie/Transfusionsmedizin  
Teil: Transfusionsmedizin  
Sommersemester 2008

Praktikum für Humanmediziner  
Praktikum Gruppe A

Donnerstag, 10. Juli 2008, 13:00 Uhr (s.t.) bis 15:30 Uhr

Praktikum Gruppe B

Donnerstag, 10. Juli 2008, 16:00 Uhr (s.t.) bis 18:30 Uhr

Praktikum für Zahnmediziner

Dienstag, 8. Juli 2008, 10:00 Uhr (s.t.) bis 12:00 Uhr

Alle Praktika finden im Kurssaal Raum 218, N26 statt.

Das Skript zum Praktikum finden Sie online unter folgender URL:  
<http://www.uni-ulm.de/~wflegel/STUD/SKRIPT/TransfusionSkript.pdf>  
Bitte Ausdruck durcharbeiten und zum Praktikum mitbringen.

Praktikumsorganisation und Durchführung  
Prof. Dr. med. W. A. Flegel, Dr. rer. nat. I. von Zabern  
Fachärzte für Transfusionsmedizin  
Tel 0731-150-611, -601 oder -605; FAX 0731-150-602

2008



## Inhaltsverzeichnis

<b>Glossar</b> .....	<b>2</b>
<b>Blutgruppenserologie</b> .....	<b>6</b>
Blutgruppenantigene .....	6
AB0-Blutgruppensystem .....	6
Rhesus-Blutgruppensystem .....	7
Antikörper gegen Blutgruppen-Antigene.....	8
Prinzip von Antikörpersuche und -differenzierung .....	8
Serologische Techniken zum Nachweis von Allo-Antikörpern .....	8
Verträglichkeitsprobe („Kreuzprobe“) mit indirektem Antiglobulintest .....	9
Nachweis von Auto-Antikörpern mit dem direkten Antiglobulintest.....	9
<b>Immunhämatologie</b> .....	<b>10</b>
Differentialdiagnosen des positiven direkten Antiglobulintests .....	10
Morbus haemolyticus neonatorum (MHN) .....	10
<b>Transfusionstherapie</b> .....	<b>11</b>
Blutkomponenten.....	11
Blutgruppenkompatibilität .....	11
Vorbereitung einer Transfusion .....	11
Infektionsrisiko.....	12
Transfusionsreaktion (unerwünschte Arzneimittelwirkung = UAW) .....	12
Maßnahmen bei einer Transfusionsreaktion .....	13
Abklärung einer Transfusionsreaktion .....	13
<b>Praktikum der Blutgruppenserologie</b> .....	<b>14</b>
Übung 1: Bestimmung der AB0-Blutgruppe .....	15
Übung 2: Bestimmung des Antigen D .....	17
Übung 3: Direkter Antiglobulintest .....	18
Übung 4: Verträglichkeitsprobe in Geltechnik.....	19
<b>Fragen zum Verständnis</b> .....	<b>20</b>

1. Richtlinien zur Blutgruppenbestimmung und Bluttransfusion (Hämotherapie) 2005: [http://www.bundesaerztekammer.de/downloads/Rili\\_Haemotherapie\\_Gesamtnovelle\\_2008-1.pdf](http://www.bundesaerztekammer.de/downloads/Rili_Haemotherapie_Gesamtnovelle_2008-1.pdf)
2. Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten 2003: <http://www.bundesaerztekammer.de/downloads/Blutkomponentenpdf.pdf>
3. Flegel: Transfusion. In: Encyclopedia of Immunology (Eds: Delves, Roit). Academic Press London 1999 (deutsch in: [http://www.springer.com/cda/content/document/cda\\_downloadaddocument/9783540418160-c1.pdf?SGWID=0-0-45-113020-p2159890](http://www.springer.com/cda/content/document/cda_downloadaddocument/9783540418160-c1.pdf?SGWID=0-0-45-113020-p2159890))

Dieses Skript mit Glossar, Fragen und Multiple-Choice finden Sie im Internet:

<http://www.uni-ulm.de/~wflegel/STUD/>

Prof. Dr. med. Willy A. Flegel - Institut für Transfusionsmedizin, Universitätsklinikum Ulm - Institut für Klinische Transfusionsmedizin und Immunogenetik  
Ulm gemeinnützige GmbH - ☎ 0731/150-0 2008

## Glossar

<b>Absorption</b>	Entfernung von Antikörpern aus dem Serum durch Bindung an Erythrozyten, die das korrespondierende Antigen besitzen.
<b>Adsorption</b>	Anlagerung von Antikörpern an die korrespondierenden Blutgruppenantigene auf der Erythrozytenoberfläche (siehe Elution).
<b>Agglutination</b>	Verklumpen von Erythrozyten zu Aggregaten in Folge einer Antigen-Antikörper-Bindung (auch: Hämagglutination).
<b>Allo-Antikörper</b>	Antikörper gegen ein Blutgruppenantigen, das der Patient nicht besitzt. Unter der Voraussetzung, dass ein Allo-Antikörper obligat vorhanden ist, wird er gleichzeitig als Isoagglutinin bezeichnet.
<b>Allogene Transfusion</b>	Transfusion von Erythrozyten eines Blutspenders auf einen Patienten (= Fremdbluttransfusion). Eine veraltete Bezeichnung dafür ist „homologe“ Transfusion.
<b>Antikörpersuchtest</b>	Eine Reihe von <i>in vitro</i> -Tests, die Allo- und Auto-Antikörper im Serum eines Empfängers vor Transfusion nachweisen. Verwendung des indirekten Antiglobulintests vorgeschrieben.
<b>Auto-Antikörper</b>	Antikörper, der mit den Erythrozyten des Patienten reagiert, in dessen Serum der Antikörper gefunden wurde.
<b>Autoimmunhämolytische Anämie</b>	Anämie infolge der Bildung von Auto-Antikörpern (häufig Wärme-Auto-Antikörper), die den Abbau der Patientenerothrozyten verursachen.
<b>Autologe Transfusion</b>	Transfusion von patienteneigenen Erythrozyten, die beim Patienten (Transfusionsempfänger) im zeitlichen Abstand vor der Transfusion abgenommen wurden.
<b>„Bedside“-Test</b>	AB0-Identitätsbestimmung des Patienten <i>am Krankenbett</i> . Vorgeschrieben vor <i>jeder</i> Transfusionsserie von Erythrozyten (auch im Notfall).
<b>Antiglobulinserum</b>	Antiserum (früher: Antihumanglobulin = „Coombsserum“), das eine Agglutination von Erythrozyten bewirkt, die mit Antikörpern und/oder Komplement beladen sind.
<b>Antiglobulintest, direkt</b>	Nachweismethode für die <i>in vivo</i> -Beladung von Erythrozyten mit Immunglobulinen und/oder Komplementfaktoren (z. B. zum Nachweis von Auto-Antikörpern bei autoimmunhämolytischen Anämien).
<b>Antiglobulintest, indirekt</b>	Nachweismethode für Antikörper im Serum ( <i>in vitro</i> -Beladung von Erythrozyten mit Immunglobulin). Wird in der Verträglichkeitsprobe eingesetzt.

<b>Diaplazentare Übertragung</b>	Austausch von Gewebe zwischen Mutter und Fötus (z. B. IgG-Antikörper, jedoch nicht IgM-Antikörper).
<b>Elution</b>	Abspaltung von Antikörpern, die an Erythrozyten gebunden sind.
<b>Epitop</b>	Antigen-Determinante: Bindungsstelle eines Antikörpers auf einem Antigen.
<b>Hämolyse</b>	Antikörper, der in Gegenwart von Komplement eine Hämolyse von Erythrozyten bewirken kann.
<b>Homologe Transfusion</b>	veraltet; siehe: allogene Transfusion.
<b>Immunisierung, primär</b>	Initiale, langsame Immunantwort auf ein fremdes Antigen (zunächst Immunglobuline vom IgM-Typ).
<b>Immunisierung, sekundär</b>	Schnelle Immunantwort (= Sekundärantwort, „Boosterung“) mit Anstieg der Antikörper vom IgG-Typ als Reaktion auf eine zweite oder weitere Stimulierung durch ein fremdes Antigen.
<b>Isoagglutinin</b>	Obligat auftretende Allo-Antikörper wie Anti-A oder Anti-B (fast immer vom IgM-Typ).
<b>Kälteagglutinin</b>	Antikörper, dessen Reaktionsoptimum bei + 4°C liegt und der bei + 37°C keine Agglutination verursacht. Tritt oft als Auto-Antikörper auf. Kann eine Hämolyse verursachen.
<b>Kreuzprobe</b>	= „Verträglichkeitsprobe“ (siehe dort).
<b>Majorkreuzprobe</b>	Verträglichkeitsprobe zwischen Spendererythrozyten und Empfängerserum/-plasma zum Nachweis von Antikörpern des Empfängers (vor jeder Transfusion vorgeschrieben).
<b>Minorkreuzprobe</b>	Verträglichkeitsprobe von Spenderplasma mit Empfängererythrozyten zum Nachweis von Allo-Antikörpern des Spenders (fast nie notwendig).
<b>Morbus haemolyticus neonatorum (MHN) (= Erythroblastose)</b>	Erkrankung, bei der Erythrozyten von Fötus oder Neugeborenem durch mütterliche Allo-Antikörper hämolysiert werden.
<b>Plasma</b>	Blutflüssigkeit von ungeronnenem Blut (siehe Serum).
<b>Serum</b>	Blutflüssigkeit von geronnenem Blut (siehe Plasma).
<b>Verträglichkeitsprobe (= Kreuzprobe)</b>	Eine Reihe von <i>in vitro</i> -Tests, die eine serologische Blutgruppen-Verträglichkeit zwischen Spender und Empfänger belegen bzw. irreguläre Allo-Antikörper im Serum des Empfängers nachweisen können. Wird bei Erythrozyten als Majorkreuzprobe durchgeführt.

## Blutgruppenserologie

Im Jahr 1900 konnte durch die Anwendung der Agglutinationstechnik das AB0-Blutgruppensystem beschrieben werden. Erst 40 Jahre später wurde unter anderem durch Einführung der Antiglobulintechnik das Antigen D als erstes Antigen des Rhesus-Blutgruppensystems gefunden. In den 40er und 50er Jahren konnten so alle weiteren, wesentlichen Blutgruppensysteme (Kell, Duffy, Kidd, MNSs, Lewis, P, Lutheran usw.) charakterisiert werden.

### Blutgruppenantigene

Antigene sind lösliche oder partikulär gebundene Stoffe, die im Organismus eine Immunantwort hervorrufen. Sie werden serologisch durch spezifische Antikörper definiert. Blutgruppenantigene sind konstitutionelle oder (selten) adsorbierte Bestandteile (Proteine oder Oligosaccharide) der Erythrozytenoberfläche mit antigener Wirkung. Blutgruppenantigene lassen sich in zwei Klassen einteilen, je nach dem ob sie durch Kohlenhydrate oder Proteine determiniert werden.

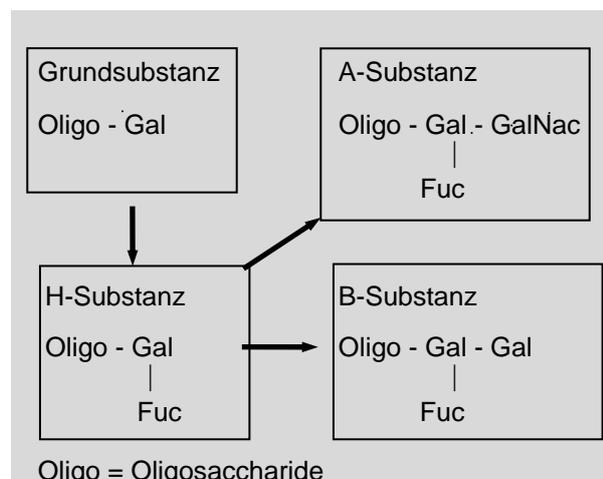
Die Kohlenhydrat-determinierten Antigene sind für den Strukturhalt der Erythrozyten entbehrlich. Sie finden sich häufig auch auf anderen Körperzellen und in Sekreten. Die Oligosaccharide sind sowohl an Proteine (über Serin oder Threonin) als auch an Lipide der Erythrozytenmembran kovalent gebunden. Einige der Protein-determinierten Antigene kommen nur auf Erythrozyten vor (z. B. Rhesus) und sind oft notwendig für deren Strukturhalt. Patienten mit sehr seltenen Mangelvarianten (z. B.  $Rh_{null}$ ) haben deswegen oft eine kompensierte Anämie. Für die meisten der Protein-basierten Blutgruppensysteme sind Funktion oder ein klinischer Zusammenhang (zum Beispiel Bindungsstelle für Krankheitserreger) bekannt. Für die meisten Proteine und Zucker der 29 definierten Blutgruppensysteme sind Funktion oder Zusammenhänge mit klinischen Situationen (z. B. Bindungsstelle für Krankheitserreger) bekannt.

#### Strukturdeterminanten von Blutgruppenantigenen

Kohlenhydrate	Proteine
AB0: A, B, H	Rhesus: CcDEe
Lewis: Le(a), Le(b)	Kell: K, k
P: P <sub>1</sub>	MNSs
	Duffy: Fy(a), Fy(b)
	Kidd: Jk(a), Jk(b)
	Lutheran: Lu(a), Lu(b)

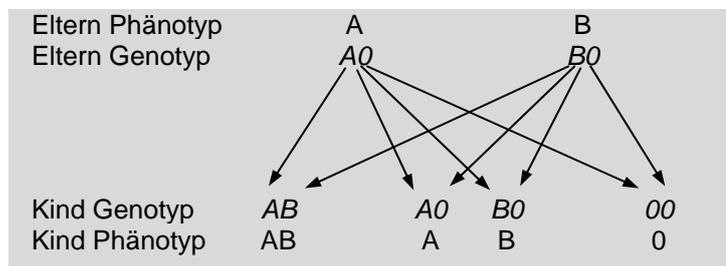
### AB0-Blutgruppensystem

Die Erythrozyten jedes Menschen besitzen eine sogenannte Kohlenhydrat-Grundsubstanz, die aus wenigen untereinander ähnlichen, zum Teil verzweigten Oligosaccharidketten mit jeweils endständiger  $\beta$ -Galactose bestehen. H-, A- und B-Substanz unterscheiden sich chemisch nur durch terminale Zucker. Durch kovalente Bindung einer Fucose an die Galactose der Grundsubstanz entsteht H-Substanz, die bei fast allen Menschen vorhanden ist. Durch kovalente Bindung von N-acetyl-Galactosamin oder einer weiteren Galactose an die H-Substanz entsteht A- bzw. B-Substanz. Deshalb benötigt die Synthese von A- und B-Substanz H-Substanz als Ausgangsmaterial. Wenn die H-Substanz fehlt (extrem seltene Bombay-Blutgruppe;  $O_h$  = Genotyp  $hh$ ) kann weder A- noch B-Substanz gebildet werden.



Gene können nicht direkt für Kohlenhydrate kodieren, sondern nur für Proteine. Die Genprodukte der *H*- und *ABO*-Gene sind Glycosyltransferasen (Enzyme). Die *H*-Transferase ist z. B. eine Fucosyltransferase; sie synthetisiert die kovalente Bindung der Fucose an die Galactose der Grundsubstanz. Entsprechend synthetisiert die *A*-Transferase die Bindung von N-acetyl-Galactosamin und die *B*-Transferase die Bindung von Galactose an die H-Substanz.

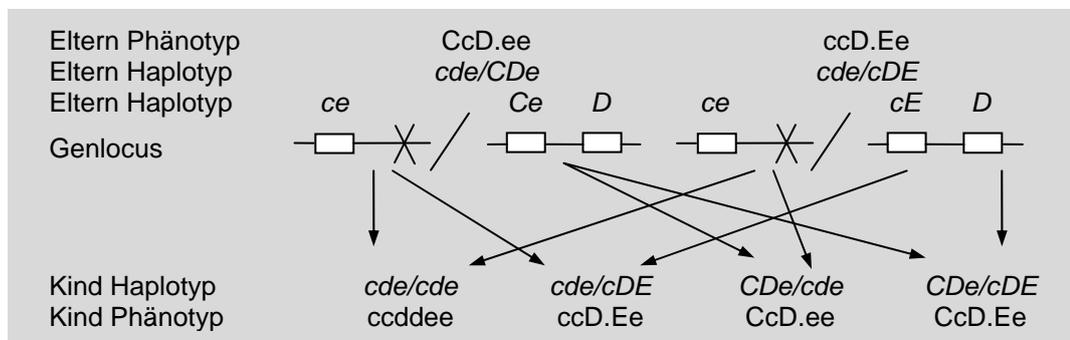
Die Vererbung der ABH-Antigene wird durch zwei Genloci bestimmt, den *H*-Locus mit den Allelen *H* und *h* sowie den *ABO*-Locus mit den Allelen *A*, *B* und *O*. Das *H*-Allel ist dominant über das *h*-Allel und die *A*- bzw. *B*-Allele sind kodominant über das *O*-Allel. Die Glycosyltransferasen bestehen aus ca. 350 Aminosäuren. Die *A*- und *B*-Allele unterscheiden sich nur durch den Austausch von vier Aminosäuren. Das häufigste *O*-Allel entspricht weitgehend dem *A*-Allel, weist jedoch die Deletion eines einzelnen Nukleotids auf. Dieser „Frameshift“ führt zu einem kurzen, nicht funktionellen Protein. Ein weiteres, selteneres *O*-Allel weist demgegenüber nur drei Aminosäureaustausche auf, die offensichtlich ausreichen, um die Funktion als N-acetyl-Galactosamin-Transferase aufzuheben. An dem Beispiel der Abbildung wird gezeigt, wie Phänotyp und Genotyp bei Eltern und Kindern zusammenhängen können.



In der Übung 1 werden Sie ABO-Blutgruppenbestimmungen durchführen.

### Rhesus-Blutgruppensystem

Das Rhesussystem umfasst die Antigene C, c, D, E und e. Diese Antigene werden determiniert durch zwei eng beieinander liegende Gene, die praktisch immer zusammen vererbt werden (daher: „Rhesus-Haplotyp“). Das eine Gen kodiert für das RhD-Protein, das andere für ein Protein, das die Antigene C/c und E/e determiniert. Die Gene *RHD* und *RHCE* sind homolog (> 80% Identität der Aminosäuren). Die verschiedenen Allele des *RHCE*-Gens unterscheiden sich lediglich durch fünf Aminosäuren. Es existiert kein „*d*-Allel“; wenn kein *RHD*-Allel vorliegt, ist dieser Genort „leer“, das *RHD*-Gen also vollständig deletiert. Das folgende Beispiel zeigt die Zusammenhänge zwischen Phänotyp, Haplotyp (= Genotyp mit zwei gekoppelten Genloci) und Genloci sowie deren Vererbung:



Die Bestimmung des Rhesusfaktors D führen Sie in der Übung 2 durch. Bitte beachten Sie die Angaben zu den Blutgruppenfrequenzen auf den Seiten 16 und 17.

## Antikörper gegen Blutgruppen-Antigene

Antikörper gegen Blutgruppen-Antigene, die ein Patient nicht selbst besitzt, werden als Allo-Antikörper bezeichnet. Solche Allo-Antikörper werden nach verschiedenen Kriterien eingeteilt. Hier einige Grundlagen und Begriffe:

1. Allo-Antikörper sind vom *IgG*- oder *IgM*-, selten vom *IgA*-Typ. Mit der wesentlichen Ausnahme des ABO-Systems treten Allo-Antikörper vom *IgM*-Typ nur vorübergehend während der Primärantwort auf; lebenslang nachweisbare Allo-Antikörper sind vom *IgG*-Typ. Die Immunglobulinklasse hat Einfluss auf die biologische Wirksamkeit, z. B. ist nur *IgG* plazentagängig, *IgM* jedoch nicht.
- 2.1 *Reguläre Allo-Antikörper* (= *Isoagglutinine, IgM-Typ*) treten nur beim ABO-Blutgruppen-System als Anti-A und/oder Anti-B auf. Sie sind komplementär zur Blutgruppe (0 hat Anti-A und -B; A hat Anti-B; B hat Anti-A; AB hat keine) und kommen so verlässlich vor, dass man sie zur Bestätigung der Blutgruppe heranzieht (siehe Tabelle 1 auf Seite 16).
- 2.2 *Irreguläre Allo-Antikörper* sind gegen Antigene der verschiedenen Blutgruppensysteme gerichtet und in der Regel vom *IgG*-Typ. Ausnahme: bei der *primären Immunisierung* anfangs und nur vorübergehend vom *IgM*-Typ.
3. Für die biologische Wirksamkeit ist auch wichtig, ob ein Allo-Antikörper *Komplement aktiviert* oder nicht. *IgM* (z. B. Anti-A) aktiviert besonders effektiv Komplement, *IgG* (z. B. Anti-D) ist in der Regel wenig komplementaktivierend.
4. Entsprechend dem Reaktionsmuster *in vitro* unterscheidet man *komplette* und *inkomplette* Allo-Antikörper. Komplette Allo-Antikörper (*IgM*, z. B. Anti-A und -B) agglutinieren Erythrozyten in der *NaCl-Technik*. Die inkompletten Allo-Antikörper (*IgG*, z. B. Rhesus-Allo-Antikörper) reagieren inkomplett, d. h. zum Nachweis werden „*Verstärkertechniken*“ benötigt (siehe Seite 9).

Allo-Antikörper können auf verschiedene Weise wirken. Die Bindung eines Allo-Antikörpers auf der Erythrozytenmembran verursacht allein keine Lyse des Erythrozyten. Die Bindung führt jedoch zu einer Konformationsänderung der Fc-Domäne, wodurch unspezifische Effektormechanismen ausgelöst werden (Komplementaktivierung und intravasale Hämolyse; zellvermittelte Hämolyse; Phagozytose, insbesondere in der Milz). Eine schnelle, intravasale komplementvermittelte Hämolyse ist klinisch gefährlicher als eine langsame, extravasale Phagozytose von Erythrozyten.

### Prinzip von Antikörpersuche und -differenzierung

Zum Nachweis von Allo-Antikörpern („Antikörpersuchtest“) verwendet man 2 oder 3 Erythrozytensuspensionen unterschiedlicher Spender, deren Antigene bekannt sind. Zur Bestimmung der Spezifität eines Allo-Antikörpers („Antikörperdifferenzierung“) untersucht man die Reaktivität des Patientenserums in mehreren Techniken mit z. B. 8 – 13 Erythrozytensuspensionen, deren Antigenmuster bekannt sind. Am Reaktionsverhalten des Allo-Antikörpers in den verschiedenen Techniken bzw. mit den bekannten Antigenen auf den Erythrozyten kann man die Antigen-spezifität identifizieren.

### **Serologische Techniken zum Nachweis von Allo-Antikörpern**

Allo-Antikörper werden in der Regel durch Agglutination nachgewiesen, selten auch durch in vitro Hämolyse. Die in vitro-Tests wurden bisher „im Röhrchen“ durchgeführt. Etwa seit 1990 sind mehrere neue Techniken verfügbar, die die Agglutination sensitiver und besser reproduzierbar nachweisen und inzwischen zum Standard wurden (Gelzentrifugationstests und Festphasentests).

### **Verstärkertechnik mit Antiglobulin = *indirekter Antiglobulintest***

Der indirekte Antiglobulintest ist in Kombination mit anderen „Verstärkermedien“ wie zum Beispiel LISS oder Albumin die Technik mit der höchsten Sensitivität für Allo-Antikörper. Deshalb ist der indirekte Antiglobulintest *für die Kreuzprobe in Deutschland vorgeschrieben*. Der eigentlichen Antiglobulinphase geht eine Antikörperbeladung von Testerythrozyten mit einem anderen Verstärkermedium voraus. Im Anschluss werden die Erythrozyten dreimal gewaschen. Dabei bleiben spezifische Allo-Antikörper an den Erythrozyten gebunden, freies Immunglobulin wird aber entfernt. Anschließend wird Antiglobulinserum zugegeben. Der Ansatz wird zentrifugiert und aufgeschüttelt. Das Antiglobulinserum vernetzt die an Erythrozyten gebundenen Allo-Antikörper untereinander und bewirkt dadurch eine Agglutination. Haben sich keine Antikörper an die Erythrozyten gebunden, bleibt die Reaktion negativ.

### **Verträglichkeitsprobe („Kreuzprobe“) mit dem *indirekten Antiglobulintest***

Zusätzlich zum Antikörpersuchtest ist vor jeder Transfusion eine sogenannte Verträglichkeitsprobe vorgeschrieben. Die Techniken sind vergleichbar mit denen im Antikörpersuchtest und -Identifizierung, jedoch wird die (in vitro) serologische Verträglichkeit zwischen Spender-Erythrozyten und Patienten-Serum bestimmt. Vorgeschrieben ist in Deutschland die Durchführung der Kreuzprobe im *indirekten Antiglobulintest*. In der Übung 4 stellen wir Ihnen eine Geltechnik vor, mit der heute eine sehr empfindliche Antikörpersuche als auch Verträglichkeitsprobe möglich ist.

### **Auto-Antikörper**

Auto-Antikörper reagieren immer mit den patienteneigenen und praktisch allen fremden (Spender-)Erythrozyten. Ihre Zielantigene sind bestimmte hochfrequente Blutgruppenantigene. Man unterscheidet Kälte- und Wärme-Auto-Antikörper. Die *Kälte-Auto-Antikörper* haben ihr Reaktionsoptimum bei +4°C und sind häufig ohne klinische Relevanz. *Wärme-Auto-Antikörper* haben ihr Reaktionsoptimum bei Körpertemperatur und binden deswegen im Körper des Patienten an die patienteneigenen Erythrozyten und können eine Komplement-vermittelte Hämolyse bewirken.

### **Nachweis von Auto-Antikörpern mit dem *direkten Antiglobulintest***

Wenn Auto-Antikörper gegen Antigene der eigenen Erythrozyten gebildet wurden, sind die Erythrozyten des Patienten mit Immunglobulin (IgG oder IgM, selten IgA) beladen. Bei Vortransfusionen und Neugeborenen können die Erythrozyten auch mit Allo-Antikörpern beladen sein. Mit einem Antiglobulin kann man diese in vivo-Beladung mit Immunglobulin und/oder Komplementfaktoren nachweisen. Dieser sogenannte *direkte Antiglobulintest* ist wichtig bei Verdacht auf autoimmunhämolytische Anämien oder Morbus haemolyticus neonatorum, die zu den Differentialdiagnosen des positiven direkten Antiglobulintest gehören (Seite 8 und Übung 3).

## Immunhämatologie

In den Bereich der Immunhämatologie gehören die klinischen Krankheitsbilder des blutbildenden Systems, die durch Antikörper gegen hämatopoetische Zellen verursacht werden. Als charakteristischen Laborparameter findet man bei immunhämatologischen Erkrankungen häufig einen positiven direkten Antiglobulintest, dessen Differentialdiagnosen in der Tabelle angegeben sind. Als Ursache kommen oft Auto-Antikörper vor. Allo-Antikörper können nur dann einen positiven direkten Antiglobulintest verursachen, wenn allogene Erythrozyten (bei Transfusionen) oder allogenes Plasma (bei Föten und Neugeborenen: Antikörper der Mutter) übertragen wurde.

### **Differentialdiagnosen des positiven direkten Antiglobulintests**

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

### **Morbus haemolyticus neonatorum (MHN)**

Ein MHN entsteht durch die diaplazentare Übertragung eines mütterlichen IgG-Allo-Antikörpers auf das Kind, welches das korrespondierende Antigen vom Vater geerbt hat. Grundsätzlich kann jeder Allo-Antikörper einen MHN erzeugen - vorausgesetzt er ist vom IgG-Typ (plazentagängig) und das Antigen wird beim Fötus und Neugeborenen exprimiert, was nicht bei allen Blutgruppen-Antigenen der Fall ist.

Die meisten der schweren MHN werden durch ein Anti-D verursacht. Oft findet die primäre Immunisierung der Mutter bei der ersten Geburt statt, da nur bei der Plazentaablösung für eine primäre Immunisierung wirksame Mengen kindlicher Erythrozyten in den mütterlichen Kreislauf gelangen. Werden diese fötalen Erythrozyten durch passive Immunisierung mit einem Anti-D Präparat sofort aus dem mütterlichen Kreislauf entfernt, kann eine primäre Immunisierung vermieden werden (Anti-D Prophylaxe: 28. - 30. Schwangerschaftswoche und innerhalb 72 Stunden nach Geburt eines Rh-positiven Kindes). Ist die Rhesus-negative Mutter bereits sensibilisiert (Nachweis eines Allo-Antikörpers Anti-D), ist eine Prophylaxe nicht mehr möglich. Bei weiteren Schwangerschaften kommt es dann frühzeitig zu einer Boosterung (sekundäre Immunantwort), für die kleinste Mengen fötomaternal übertragenen Blutes ausreichen.

Serologische Untersuchungen (Titeranstieg des Allo-Antikörpers) können Anhalt für die Gefährdung des Kindes geben. Ausschlaggebend für die Therapie ist jedoch die Bestimmung des Bilirubins im Fruchtwasser (Amniozentese) bzw. im Serum des Neugeborenen. Therapeutisch kommen intrauterine Transfusionen sowie nach Geburt Fototherapie und Blutaustausch in Betracht. Der direkte Antiglobulintest ist sowohl in Fötalblut als auch beim Neugeborenen meistens positiv. Ein Sonderfall stellt die AB0-Erythroblastose dar. Sie tritt nur auf, wenn die Mutter ausnahmsweise Isoagglutinin vom IgG-Typ (zusätzlich zu IgM) entwickelt. Bei der AB0-Erythroblastose kann der direkte Antiglobulintest negativ sein.

## Transfusionstherapie

Transfusionen von Blutkomponenten sind eine ärztliche Aufgabe. Die Indikation zur Transfusion ist stets streng zu stellen. Eine Transfusion sollte gezielt die Blutbestandteile substituieren, die ihre minimal tolerable Grenze unterschritten haben. Für die Wahl der erforderlichen Blutkomponenten und deren besondere Aufbereitungsformen sind Indikationen definiert, die sich an den klinischen Erfordernissen orientieren. Um eine Transfusion verantwortungsvoll durchführen zu können, müssen Ihnen die *vorbereitenden Kontrollen* insbesondere der *Bedside-Test* vertraut sein. Jede Transfusion muss überwacht werden, um Transfusionsreaktionen anhand der klinischen Beschwerden und Zeichen so früh wie möglich zu erfassen. Der/die „transfundierende Arzt/Ärztin“ muss mit der Akutversorgung einer schweren Transfusionsreaktion vertraut sein. Jede Transfusion muss in den Patientenunterlagen genau dokumentiert werden.

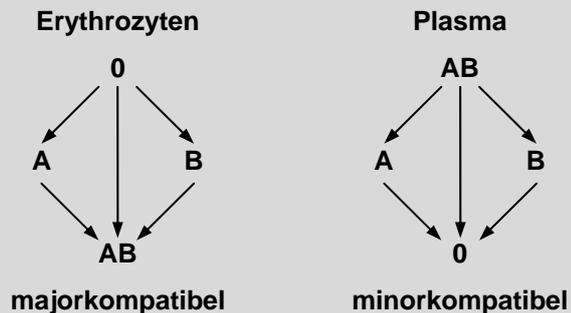
### Blutkomponenten

- Erythrozyten  
gefiltert (leukozytenarm, Standard)  
gewaschen (sehr selten indiziert)
- Plasma  
Quarantäne-gelagert (Standard)  
Virus-inaktiviert (SD-Verfahren)
- Thrombozyten  
gefiltert (leukozytenarm, Standard)  
Thrombozyt-Apherese  
HLA-kompatibel
- Sonderindikationen  
anti-CMV-Antikörper negativ  
bestrahlt

### Blutgruppenkompatibilität

Es sollte immer identisch für die ABO-Blutgruppe und den Rhesusfaktor D transfundiert werden. Bei der Blutkomponententherapie kann davon allerdings in Ausnahmefällen auch aus logistischen Gründen abgewichen werden (siehe Abbildung).

#### AB0-Kompatibilität von Blutkomponenten



### Vorbereitung einer Transfusion

Die vorbereitenden Maßnahmen einer Transfusion sind eine nicht delegierbare ärztliche Aufgabe und müssen streng eingehalten werden. Sie dienen vornehmlich der Identitätssicherung, um Verwechslungen zu vermeiden. Tödlich verlaufende ABO-inkompatible Verwechslungen sind nach wie vor häufiger als HIV-Infektionen. Die vorbe-

#### Vorbereitende Kontrollen

##### bevor man zum Patienten geht:

- Korrekte Zuordnung von Blutpräparaten und „Kreuzprobenbegleitschein“ zum Patienten (Name, Vorname und Geburtsdatum):

Übereinstimmung:

- a) Blutgruppe der Blutpräparate (Etikett) mit
- b) Blutgruppenbefund des Patienten

Übereinstimmung:

- a) Nummern der Blutpräparate mit
- b) Angaben auf dem „Kreuzprobenbegleitschein“

- Gültigkeit der Kreuzprobe (72 h)

- Unversehrtheit der Blutpräparate

- korrektes Transfusionsbesteck

##### anschließend am Krankenbett:

- Durchführung des „Bedside-Test“ (nächste Tabelle) durch den transfundierenden Arzt oder unter seiner direkten Aufsicht

reitenden Maßnahmen umfassen *vorbereitende Kontrollen*, die durchgeführt werden, bevor man zum Patienten geht, und den *Bedside-Test*, der am Krankenbett durchgeführt werden muss (siehe die nächsten beiden Tabellen).

**AB0-Identitätsbestimmung („Bedside-Test“)**

**am Krankenbett** (*nicht* im Stationszimmer!):

- Unmittelbar vor einer Transfusion(-serie) muss der „Bedside-Test“ vom transfundierenden Arzt oder unter seiner direkten Aufsicht durchgeführt werden.
- Anhand des „Bedside-Tests“ und der Beschriftung des Erythrozytenpräparats muss die AB0-Kompatibilität gesichert werden (siehe Abbildung auf Seite 9).
- Beim „Bedside-Test“ muss die AB0-Blutgruppe des Empfängers mit anti-A- und anti-B-Antikörpern bestimmt werden. Eine Bestimmung des Rhesusfaktors D ist nicht vorgeschrieben

**abweichende Regelung bei Eigenblut:**

- Nur bei Eigenblut muss immer die AB0-Identitätsbestimmung („Bedside-Test“) des Empfängers *und aller erythrozytären Eigenblutpräparate* („Inhaltskontrolle“) durchgeführt werden (zum Ausschluss von Vertauschungen, da bei Eigenblut in der Regel keine Kreuzprobe erfolgt).

**Infektionsrisiko**

Alle Blutspenden werden auf HBs-Antigen, Antikörper gegen HCV, HIV1/2 und Lues untersucht. Die eingesetzten Testsysteme mit weiter verbesserter Sensitivität (RNA- und DNA-Nachweis mittels PCR) haben die Infektionsrisiken durch Blutpräparate weiter reduziert. Die Gefahr einer transfusionsbedingten HIV-Infektion liegt in Deutschland bei weniger als 1:1.000.000 pro Erythrozyten-Präparat und noch niedriger bei Plasmapräparaten.

**Transfusionsreaktion (unerwünschte Arzneimittelwirkung = UAW)**

Nach der Transfusion muss der Beutel jedes Blutpräparats (Erythrozyten, Thrombozyten, Plasma) möglichst steril (!) mindestens 24 h im Kühlschrank aufbewahrt werden. Ein wesentliches Ziel der Abklärung von Transfusionsreaktionen ist die Differenzierung zwischen immunologisch und nicht immunologisch vermittelten Ursachen. Heute sind erythrozytär vermittelte Ursachen selten geworden. Wenn ein serologischer Befund erhoben wird, hat dies aber regelmäßig Konsequenzen für die weitere Transfusions-therapie (siehe Tabelle).

immunologisch vermittelte Ursache	indizierte Maßnahme
antileukozytäre (HLA-) und antithrombozytäre Antikörper	leukozyten- und thrombozytenarmes Erythrozytenkonzentrat; eventuell prophylaktisch Antipyretika; HLA-kompatible Thrombozyten oder (in etwa 10%) Thrombozyten-Antigenkompatible Thrombozyten
Allo-Antikörper gegen Erythrozyten	kompatible Erythrozyten
Kälte-Auto-Antikörper	Kälteexposition des Patienten vermeiden, langsame Tropftransfusion oder Erwärmen, nicht über 37°C, mit zugelassenen Bluterwärmungsgeräten
Wärme-Auto-Antikörper	strenge Transfusionsindikation, gegebenenfalls Kortisontherapie
medikamentenvermittelte antierythrozytäre Antikörper	Medikamentenkarenz; häufig Transfusion vermeidbar
Graft-versus-Host-Reaktion	prophylaktische Bestrahlung der Präparate (30 Gray)
Antikörper gegen IgA	gewaschene Erythrozytenkonzentrate; IgA-Mangelplasma

Nicht immunologisch bedingte Transfusionsreaktionen können in der Regel in der Klinik diagnostiziert und durch klinische Maßnahmen vermieden werden. Zu den nicht immunologisch vermittelten Reaktionen gehören: Kalium- und Citrat-Intoxikation, Azidose, Volumenüberlastung und mechanische Schäden (Herzlungenmaschine, maschinelle Autotransfusion).

### Maßnahmen bei einer Transfusionsreaktion

Bei jedem Verdacht auf eine Transfusionsreaktion ist die Transfusion sofort abzubrechen. Der venöse Zugang muss mit kristalloider Lösung (NaCl 0.9%) offen gehalten werden. Bei schweren Transfusionsreaktionen stehen die Kontrolle der vitalen Funktionen und die Schocktherapie im Vordergrund. Untersuchungen zur Klärung der Ursache müssen anschließend eingeleitet werden.

#### Schocktherapie bei schwerer Transfusionsreaktion

- Volumensubstitution
- Kortikosteroide (1 g Prednisolon)
- Alkalisierung
- Osmodiuretika (Mannit 20%)
- Sauerstoffzufuhr
- Verbesserung der Nierendurchblutung (Dopamin)
- bei anhaltender Anurie: Hämodialyse

#### Untersuchungen einleiten

- Blutdepot und Transfusionsmediziner verständigen
- alle Blutpräparate/Bestecke (steril!) asservieren
- EDTA- und Vollblut sicherstellen

### Abklärung einer Transfusionsreaktion

Bei Verdacht auf eine hämolytische Reaktion kann innerhalb von Minuten geklärt werden, ob eine ausgeprägte intravasale Hämolyse vorliegt, in dem das Blut zentrifugiert und das Plasma mit bloßem Auge inspiziert wird. Freies Hämoglobin in einer Konzentration von 0,02 g/dl ist bereits erkennbar, was einer hämolysierten Blutmenge von etwa 3 ml entspricht, und 0,1 g/dl färbt das Plasma deutlich sichtbar rot. Bestimmte Laboruntersuchungen sind zur Abklärung und Verlaufskontrolle wichtig (siehe Tabelle).

#### Laboruntersuchungen zur Abklärung und Verlaufskontrolle

serologische Untersuchungen:

- direkter Antiglobulintest, Antikörpersuchtest, Bestätigung der Blutgruppe
- Wiederholung der Verträglichkeitsprobe

klinisch-chemische Untersuchungen:

- LDH erhöht
- Bilirubin (indirekt, unkonjugiert, wasserunlöslich) erhöht
- Hämatokrit (ungenügender Anstieg unter Transfusion, Abfall trotz Transfusion)
- freies Hämoglobin im Urin (DD: Erythrozyten im Urinsediment)
- freies Hämoglobin im Plasma
- Haptoglobin erniedrigt

selten notwendig:

- Blutkulturen (bei Verdacht auf Sepsis)
- IgA-Plasmaspiegel (bei Verdacht auf sehr seltene Antikörper gegen IgA)

Verlaufskontrolle bei Verdacht auf hämolytische oder septische Reaktion:

- Gerinnungsstatus, einschließlich Thrombozyten und Fibrinospaltprodukte
- Kreatinin, Urinmenge, Elektrolyte

## Praktikum der Blutgruppenserologie

Alle Blut- und Serumproben sind **potentiell infektiös**, obwohl sie negativ getestet sind für HBsAg, Anti-HCV-, Anti-HIV1/2- und Anti-Syphilis-Antikörper.

*Nicht mit dem Mund pipettieren!*  
*Handschuhe tragen!*  
*Zentrifugen gleichmäßig beladen und austarieren!*

Bitte machen Sie sich mit Ihrem Arbeitsplatz, den Materialien und den Geräten vertraut, bevor Sie mit der Arbeit beginnen.

Für die Bestimmung der AB0-Blutgruppe (Übung 1) und des Rhesusfaktors D (Übung 2) finden Sie folgende Röhrchen auf Ihrem Arbeitsplatz:

- 4 x Röhrchen Nr. 1: 20% Erythrozytensuspension (4 Blutspender/Patienten)
  - 4 x Röhrchen Nr. 2: dazugehöriges Serum (dieselben Blutspender/Patienten)
- mit der unterschiedlichen Kennzeichnung: Rot, Grün, Blau, Schwarz

Für den direkten Antiglobulintest (Übung 3) verwenden Sie:

- Röhrchen Nr. 3: 3-5%ige Erythrozytensuspension eines Patienten
- Röhrchen Nr. 4: 3-5%ige Erythrozytensuspension einer Patientin

Weiterhin finden Sie für die Beurteilung von Verträglichkeitsproben (Kreuzproben) in der Übung 4 eine fertig präparierte Gelkarte mit 6 Erythrozytenpräparaten: Bitte Lesen Sie das Ergebnis dieser Gelkarte lediglich ab (nur zur Beurteilung); hier sind keine Pipettierschritte notwendig.

Weitere Reagenzien befinden sich in entsprechend beschrifteten Fläschchen und Röhrchen.

- Geräte:
- Objektträger
  - Pasteur-Pipetten (Plastik)
  - Zentrifuge
  - Holzstäbchen
  - Reagenzgläser

Die Bestimmung der Blutgruppen (AB0; Rhesusfaktor D) werden als Agglutinationsteste durchgeführt. Die Agglutinationsreaktion ist abhängig von der verwendeten Technik (Objektträger, Röhrchen oder Gelkarte).

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.

## Übung 1: Bestimmung der AB0-Blutgruppe

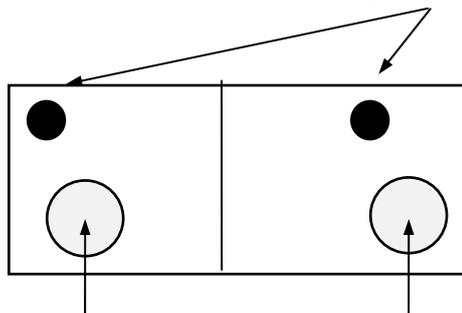
Merke: Die AB0-Blutgruppenbestimmung ist nur vollständig, wenn

1. die AB0-Antigene auf den Erythrozyten (Abbildung 1) und
2. die Serumeigenschaften Anti-A und Anti-B (Abbildung 2) getestet wurden und übereinstimmende Ergebnisse vorliegen (Tabelle 1).

Material	Geräte
4 x Erythrozytensuspension (Röhrchen Nr. 1 z. B. Herr Rot)	Objektträger
4 x Serum (Röhrchen Nr. 2 z. B. Herr Rot)	Holzstäbchen
2 x Testseren Anti-A und Anti-B	Pasteur-Pipetten (Plastik)
3 x Testerythrozyten A, B und 0	Reagenzgläser

### Abbildung 1: Bestimmung der AB0-Antigene auf den Erythrozyten eines Patienten

Erythrozyten des Patienten zugeben (kleine Menge)



Anti-A

Anti-B

Bekannte Testseren zugeben (größere Menge)

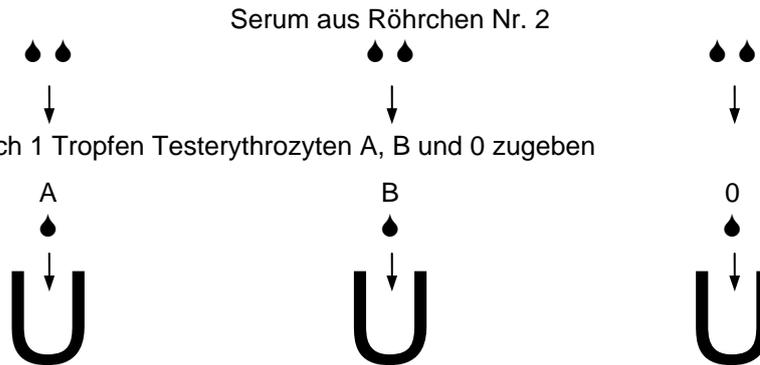
Alle Objektträger mit Patientennamen (Rot etc.) beschriften.

Arbeitsgang (Zuordnung der Reagenzien nach Abbildung 1):

1. 4 Objektträger mit Namen beschriften:  
Herr Rot, Frau Grün, Herr Blau, Frau Schwarz
2. Jeden Objektträger mit Filzstift in 2 Felder einteilen.
3. Je 1 Tropfen Testserum in die Mitte eines Feldes geben.
4. Je 1 *kleinen* Tropfen Erythrozytensuspension neben den Serumtropfen setzen.
5. Mit einem Holzstäbchen die Erythrozyten in den Serumtropfen einrühren. Für jeden Ansatz ein neues Holzstäbchen verwenden!
6. Den Objektträger über hellen Untergrund halten. Die Helligkeit von unten erleichtert die Beurteilung.
7. Mindestens 1 Minute lang hin- und herkippen (langsam!)
8. Die Reaktionen in Tabelle 1 auf der nächsten Seite protokollieren.

**Abbildung 2: Bestimmung der Serumeigenschaften Anti-A und Anti-B im Serum eines Patienten**

1. Zuerst 2 Tropfen Patientenserum aus Röhrchen Nr. 2 (z.B. Herr Rot) pipettieren,



3. und durch leichtes Schütteln mischen.

Arbeitsgang (Zuordnung der Reagenzien nach Abbildung 2):

1. Je 3 Reagenzgläser mit den Namen der Patienten beschriften: Herr Rot, Frau Grün, Herr Blau, Frau Schwarz
2. Davon je 1 Reagenzglas pro Patient mit A, B und 0 beschriften
3. In alle 3 Röhrchen jedes Patienten (z. B. Herr Rot) 2 Tropfen Serum aus dem Röhrchen Nr. 2 (z. B. Rot) geben
4. In das mit A beschriftete Röhrchen 1 Tropfen Testerythrozyten A geben
5. In das mit B beschriftete Röhrchen 1 Tropfen Testerythrozyten B geben
6. In das mit 0 beschriftete Röhrchen 1 Tropfen Testerythrozyten 0 geben
7. durch leichtes Schütteln mischen

**Achtung:** Zentrifugen gleichmäßig beladen und austarieren.

8. 1 min Stufe: „LOW“ zentrifugieren
9. ablesen: unter Sicht vorsichtig aufschütteln
10. Die Reaktionen in Tabelle 1 protokollieren:

**Tabelle 1: Ergebnis- und Befundschema für die AB0-Blutgruppenbestimmung**

Blutgruppe	Erythrozytenmerkmale		Serumeigenschaften			Frequenz in Baden-Württemberg
	Antigen A	Antigen B	Anti-A	Anti-B	0	
A	++++	-	-	++++	-	43 %
B	-	++++	++++	-	-	11 %
AB	++++	++++	-	-	-	5 %
0	-	-	++++	++++	-	41 %

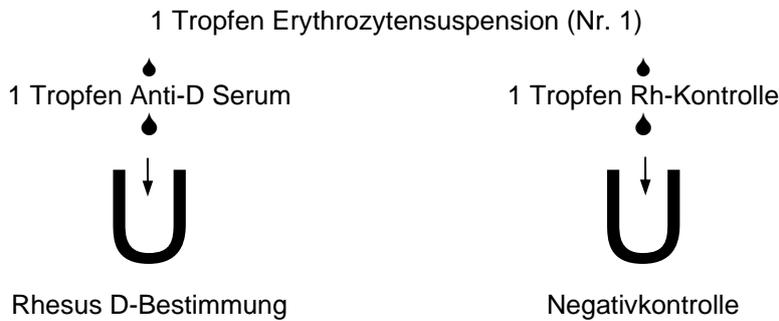
Patient	Ergebnis (Reaktionsmuster)	Befund (AB0)
Herr Rot		
Frau Grün		
Herr Blau		
Frau Schwarz		

Die AB0-Blutgruppenbestimmung ist nur vollständig und beurteilbar, wenn übereinstimmende Ergebnisse vorliegen. Der Testansatz mit Testerythrozyten der Blutgruppe 0 ist eine Negativkontrolle.

## Übung 2: Bestimmung des Antigen D

Material	Geräte
4 x Erythrozytensuspension (Röhrchen Nr. 1 z. B. Herr Rot)	Reagenzgläser
Testserum Anti-D (monoklonal IgM)	Pasteur-Pipetten (Plastik)
Rhesus-Kontrollserum („Rh-Kontrolle“)	Zentrifuge

**Abbildung 3: Bestimmung des Rhesusfaktors D**



Arbeitsgang (Zuordnung der Reagenzien nach Abbildung 3)

1. Je 2 Reagenzgläser mit den Namen der Patienten beschriften: Herr Rot, Frau Grün, Herr Blau, Frau Schwarz
2. Davon je 1 Reagenzglas pro Patient mit D und K (für Kontrolle) beschriften:
3. In die beiden Röhrchen jedes Patienten (z. B. Herr Rot) 1 Tropfen Erythrozytensuspension aus dem Röhrchen Nr. 1 geben
4. In jedes mit D beschriftete Reagenzglas 1 Tropfen anti-D geben
5. In jedes mit K beschriftete Reagenzglas 1 Tropfen „Rh-Kontrolle“ geben
6. Durch leichtes Schütteln mischen

**Achtung:** Zentrifugen gleichmäßig beladen und austarieren.

7. 1 min Stufe: „LOW“ zentrifugieren
8. ablesen: unter Sicht *vorsichtig* aufschütteln
9. Die Reaktionen in Tabelle 2 protokollieren:

**Tabelle 2: Ergebnis- und Befundschema für die Rhesus D-Bestimmung**

Rhesus D	Anti-D	Eigenkontrolle (Negativkontrolle)	Frequenz in Baden-Württemberg
positiv	++++	-	83 %
negativ	-	-	17 %

Blutspender	Ergebnis (Reaktionsmuster)	Befund (D pos./D neg.)
Herr Rot		
Frau Grün		
Herr Blau		
Frau Schwarz		

Bitte beantworten Sie die Fragen 1 bis 5 auf Seite 20.

### Übung 3: Direkter Antiglobulintest

Material	Geräte
Erythrozytensuspension Nr. 3 eines Patienten	Reagenzgläser
Erythrozytensuspension Nr. 4 einer Patientin	Pasteur-Pipetten (Plastik)
Antiglobulinserum („Antihumanglobulin“)	Zentrifuge
Antiglobulinkontrollzellen (Positivkontrolle)	

Arbeitsgang:

1. Je 1 Reagenzglas mit 3 und 4 beschriften
2. In beide Röhrchen je 1 Tropfen Antiglobulinserum zugeben
3. Je 1 Tropfen Erythrozytensuspension aus den Röhrchen 3 bzw. 4 in die entsprechend markierten Reagenzgläser zugeben
4. durch leichtes Schütteln mischen
5. 1 min bei Raumtemperatur inkubieren

**Achtung:** Zentrifugen gleichmäßig beladen und austarieren.

6. 1 min Stufe „LOW“ zentrifugieren
7. ablesen: unter Sicht *vorsichtig* aufschütteln
8. Reaktion in Tabelle 3 protokollieren
9. Bei negativem Ausfall des direkten Antiglobulintests:  
1 Tropfen Antiglobulinkontrollzellen zugeben
10. 30 sec Stufe „LOW“ zentrifugieren

**Achtung:** Zentrifugen gleichmäßig beladen und austarieren.

11. ablesen: unter Sicht *vorsichtig* aufschütteln
12. Reaktion in Tabelle 3 protokollieren

**Tabelle 3: Protokollierung des direkten Antiglobulintests**

Ergebnis	Patientenerythrozyten	
	Nr. 3	Nr. 4
direkter Antiglobulintest		
Antiglobulinkontrollzellen		

**Befund (bitte eintragen): Direkter Antiglobulintest**

Patient Nr. 3:

Patientin Nr. 4:

Bei positivem direktem Antiglobulintest muss vor einer Transfusion unbedingt die klinische Relevanz geklärt werden:

- siehe Differentialdiagnosen des positiven direkten Antiglobulintests (Seite 8)
- Ein positiver direkter Antiglobulintest kann auf eine verzögerte Transfusionsreaktion und Gefahr einer intravasalen Hämolyse hinweisen!

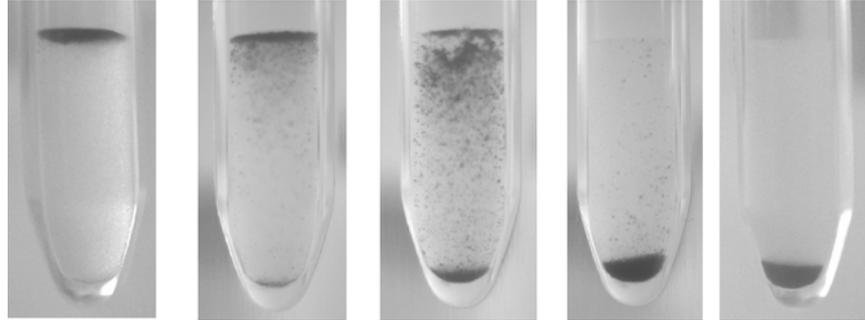
Erst nach Klärung der klinischen Bedeutung des positiven direkten Antiglobulintestes kann über das transfusionsmedizinische Vorgehen entschieden werden. Transfusion nur bei sehr strenger Indikationsstellung.

Bitte beantworten Sie die Frage 6 bis 9 auf Seite 20.

## 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 Antiglobulin.



Beurteilung der Reaktionsstärken:

++++      +++      ++      +      -

Verwendetes Material:

1. Serum oder Plasma eines Transfusionsempfängers
2. Erythrozyten aus Pilotschlauch des zu transfundierenden Erythrozytenpräparats
3. Gelkarte mit polyspezifischem Antiglobulin in der Gelmatrix

bereits abgeschlossener Arbeitsgang (wird im Praktikum nicht durchgeführt):

1. Gelkarte wurde beschriftet.
2. In jede Reaktionskammer wurden 50 µl Erythrozytensuspension aus dem Pilotschlauch des zu transfundierenden Erythrozytenpräparats pipettiert.
3. In alle Reaktionskammern wurden 25 µl Serum oder Plasma eines Empfängers gegeben.
4. 15 Minuten Inkubation bei 37 °C
5. Zentrifugation in einer speziellen Zentrifuge

Arbeitsgang (bitte im Praktikum durchführen):

6. Reaktionsmuster in den Gelkammern ablesen
7. Bitte protokollieren Sie in Tabelle 4 die Reaktionsstärken:

**Tabelle 4: Ergebnis- und Befundschema der Verträglichkeitsprobe in Geltechnik**

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

Bei positiver Kreuzprobe (d. h. Erythrozytenpräparat *nicht* verträglich) ist vor einer Transfusion unbedingt die Ursache abzuklären:

- Nachweis und Identifizierung von Allo-Antikörpern
- Nachweis von Auto-Antikörpern
- (selten) direkten Antiglobulintest beim Erythrozytenpräparat und/oder Patienten durchführen (siehe Übung 3)

Erst danach können neue Blutpräparate gekreuzt werden, die die korrespondierenden Antigene nicht besitzen und serologisch verträglich sind.

Bitte beantworten Sie die Fragen 12 bis 14 auf Seite 20.

## Fragen zum Verständnis

Sie sollten in der Vorlesung/Praktikum Transfusionsmedizin Kenntnisse zu folgenden Themenbereichen erworben haben:

- 1.) Welche *Blutgruppenantigene* werden durch *Zuckerepitope*, welche durch *Epitope auf Proteinen* der Erythrozytenmembran charakterisiert?
- 2.) Was bedeutet *AB0-identisch*, *AB0-majorkompatibel*, *AB0-minorkompatibel* und *Rhesus-kompatibel*?
- 3.) Müssen/sollen/dürfen *Blutkomponenten* (*Erythrozyten*, *Thrombozyten* und *Plasma*) *AB0-identisch*, *AB0-majorkompatibel*, *AB0-minorkompatibel* und/oder *Rhesus-kompatibel* transfundiert werden?
- 4.) Welche *immunhämatologischen Ursachen* gibt es für *Transfusionsreaktionen*? Welche Laboruntersuchungen führen Sie zur Abklärung durch? Welche therapeutischen Maßnahmen und welche Konsequenzen in der Transfusionstherapie können notwendig sein?
- 5.) Warum muss bei der Rhesus D-Bestimmung eine *Negativkontrolle* durchgeführt werden?
- 6.) Was weisen Sie bei einem positiven *direkten Antiglobulintest* auf der Oberfläche der Patientenerythrozyten nach? Nennen Sie die Differentialdiagnosen des positiven direkten Antiglobulintests.
- 7.) Was sind *Auto-Antikörper* und *Allo-Antikörper*? Was sind *Isoagglutinine*?
- 8.) Was bedeuten die Begriffe *Absorption*, *Adsorption*, *Elution*?
- 9.) Was ist der Unterschied zwischen *Agglutination* und *Koagulation*?
- 10.) Was ist der Unterschied zwischen einem *direkten* und einem *indirekten* Antiglobulintest?
- 11.) Welche Testmethode ist bei der *Verträglichkeitsprobe* in Deutschland vorgeschrieben? Was ist eine *Majorkreuzprobe*?
- 12.) Wann ist die Durchführung des „*Bedside*“-Tests in Deutschland vorgeschrieben? Welche Untersuchungen müssen beim „*Bedside*“-Test durchgeführt werden?
- 13.) Ein direkter Antiglobulintest wird nur selten vor einer Transfusion angefordert. Warum können sie trotzdem sicher sein, im Rahmen der Kreuzprobe einen Patienten mit *positivem direkten Antiglobulintest* nicht zu übersehen?
- 14.) Wie hoch ist das *Infektionsrisiko* bei *allogener Transfusion*? Welche Infektionen können auftreten?

Fragen und Antworten bzw. einen Multiple-Choice-Test finden Sie online im Internet:  
<http://www.uni-ulm.de/~wfliegel/STUD/>  
Stichwort „Frage und Antworten“ bzw. „Multiple Choice“

**Beantworten Sie folgende Fragen zur Wiederholung:****Frage 1**

Die Blutgruppen AB0, Rhesus und MNSs werden durch Zucker- oder Proteinkomponenten bestimmt. Welche Zuordnung ist korrekt?

Antwort	Blutgruppe		
	AB0	Rhesus	MNSs
A	Protein	Zucker	Protein
B	Zucker	Protein	Protein
C	Protein	Protein	Zucker
D	Zucker	Protein	Zucker
E	Zucker	Zucker	Protein

**Frage 2** Folgende Aussage zum direkten Antiglobulintest ist korrekt:

- A) Ein negativer direkter Antiglobulintest schließt eine Hämolyse aus.
- B) Der direkte Antiglobulintest ist immer positiv bei einem Morbus hämolyticus neonatorum durch AB0-Inkompatibilität (Mutter Blutgruppe 0, Kind Blutgruppe A).
- C) Der direkte Antiglobulintest weist die in vivo-Beladung der Patientenerythrozyten mit Antikörpern und/oder Komplementfaktoren nach.
- D) Beim direkten Antiglobulintest ist die Verwendung von „Verstärkertechniken“ (z. B. LISS-, Enzym- oder Geltechnik) in Deutschland vorgeschrieben.
- E) Mit dem direkten Antiglobulintest wird die Verträglichkeit der Spendererythrozyten mit dem Empfängerserum getestet.

**Frage 3**

Folgende Aussagen zur AB0-Identitätsbestimmung („Bedside-Test“) sind korrekt:

- 1) Unmittelbar vor jeder Transfusion(s-serie) muss der Bedside-Test von der transfundierenden ärztlichen Person oder unter deren direkten Aufsicht durchgeführt werden.
- 2) Nur bei einer Notfalltransfusion darf auf den Bedside-Test verzichtet werden.
- 3) Beim Bedside-Test müssen die AB0-Eigenschaften der Patientenerythrozyten bestimmt werden.
- 4) Beim Bedside-Test müssen die AB0-Eigenschaften des Erythrozytenpräparats („Inhaltskontrolle“) bestimmt werden.
- 5) Aus hygienischen Gründen soll der Bedside-Test in der Regel im Stationszimmer durchgeführt werden.

- Antwort
- A) Nur Aussagen 1 und 3 sind korrekt.
  - B) Nur Aussagen 1 und 4 sind korrekt.
  - C) Nur Aussagen 1, 2 und 3 sind korrekt.
  - D) Nur Aussagen 2, 3 und 5 sind korrekt.
  - E) Alle Aussagen sind korrekt.

**Frage 4** Bei schweren Transfusionsreaktionen muss die Transfusion sofort abgebrochen werden. Der venöse Zugang ist offen zu halten. Folgende Untersuchungen können zur Klärung der Ursache und des Verlaufs indiziert sein:

- |   |         |                        |
|---|---------|------------------------|
| 1) LDH                                  | Antwort | A) Nur 1 und 2         |
| 2) Thrombozyten und Fibrinspaltprodukte |         | B) Nur 3 und 5         |
| 3) Blutdruck                            |         | C) Nur 1, 3 und 5      |
| 4) IgM und IgA                          |         | D) Nur 1, 2, 3 und 5   |
| 5) Körpertemperatur                     |         | E) Alle Untersuchungen |

**Frage 5** Zur Vermeidung einer immunologisch vermittelten Transfusionsreaktion ist folgende Maßnahme sinnvoll.

Antwort	immunologisches Problem	indizierte therapeutische Maßnahme
A	Allo-Antikörper gegen Erythrozyten	gewaschene Erythrozyten
B	Wärme-Auto-Antikörper	kompatible Erythrozyten
C	Graft-versus-Host-Reaktion	tiefkühlgelagerte Erythrozyten
D	antileukozytäre (HLA-) Antikörper	leuko- und thrombozytenarme Erythrozyten
E	medikamenten-vermittelte antierythrozytäre Antikörper	prophylaktische Bestrahlung der Präparate

**Frage 6** Welche Zuordnung der Blutgruppenfrequenzen in Prozent für die deutsche Bevölkerung ist korrekt?

Antwort	Blutgruppe						
	AB0				Rhesus D		
	0	A	B	AB	positiv	negativ	
A	41	11	43	5	83	17	
B	43	11	41	5	38	62	
C	43	41	11	5	17	83	
D	41	43	11	5	83	17	
E	41	43	5	11	17	83	

**Frage 7** Im Rahmen der Blutkomponententherapie kann in begründeten Ausnahmen von der AB0-identischen Versorgung abgewichen werden. Welche Zuordnung von Spender- und Empfängerblutgruppe ist zulässig?

Antwort	Erythrozytenpräparate		Plasmapräparate	
	Spender	Empfänger	Spender	Empfänger
A	B	0	0	B
B	0	A	0	B
C	0	jede Blutgruppe	jede Blutgruppe	AB
D	B	AB	B	AB
E	A	AB	AB	0

**Frage 8** Wie häufig ist die Blutgruppe 0 Rh negativ (D neg.) in der deutschen Bevölkerung?

- A) 35,8 %
- B) 17,3 %
- C) 7,1 %
- D) 1,9 %
- E) Diese Blutgruppen-Konstellation ist sehr selten.

Fragen und Antworten bzw. einen Multiple-Choice-Test finden Sie online im Internet:  
<http://www.uni-ulm.de/~wflegel/STUD/>  
 Stichwort „Frage und Antworten“ bzw. „Multiple Choice“