

# Leistungsspektrum – Labordiagnostik



**Institut für Transfusionsmedizin und Immunologie Mannheim  
DRK-Blutspendedienst Baden-Württemberg - Hessen  
gemeinnützige GmbH**



**Friedrich-Ebert-Straße 107  
68167 Mannheim**

**Tel.: (0621) 3706-0**

# INHALTSVERZEICHNIS

|   |       |
|---|-------|
| Institut Mannheim: Ansprechpartner und Telefonnummern                                   | 4-5   |
| <b>Präanalytik</b>  |       |
| Gewinnung von Untersuchungsmaterial   | 6     |
| Probenmaterial  | 7     |
| Verpackung von Proben   | 7     |
| Anforderungsscheine   | 7     |
| Ergebnisse, Befundmitteilung  | 8     |
| <b>Infektionsserologie/PCR</b>  |       |
| HTLV-1/2 Antikörper   | 9     |
| Mycoplasmen-PCR   | 9     |
| <b>Thrombozytendiagnostik</b>   |       |
| Abklärung Neonatale Alloimmunthrombozytopenie (NAIT)                                    | 10    |
| Abklärung thrombozytäre Autoantikörper  | 10    |
| Abklärung thrombozytäre Alloantikörper  | 10    |
| Heparin induzierte Thrombozytopenie (HIT Typ II)  | 11    |
| Thrombozyten-Crossmatch   | 11    |
| Medikamentenabhängige Thrombozytenantikörper #  | 11    |
| Thrombozytenantigene HPA-1, -2, -3, -5, -15   | 11    |
| Thrombasthenie Glanzmann #  | 12    |
| Bernhard-Soulier-Syndrom #  | 12    |
| <b>Granulozytendiagnostik</b>   |       |
| Freie Granulozytenantikörper  | 13    |
| Gebundene Granulozytenantikörper  | 13    |
| Abklärung neonatale Alloimmunneutropenie (NAIG/NIN)                                     | 13    |
| Granulozyten-Crossmatch   | 14    |
| Medikamentenabhängige Granulozytenantikörper #  | 14    |
| Granulozytenantigene (HNA, -SH)   | 14    |
| <b>HLA-Labor – Transplantationsimmunologie</b>  |       |
| HLA-Klasse I/II-Antikörperscreening   | 15    |
| HLA-Klasse I/II-Antikörperdifferenzierung   | 15    |
| Lymphozyten-Crossmatch (LCT)  | 15    |
| Molekularbiologische Bestimmung der HLA-Klasse I (A/B/C)-Merkmale                       | 16    |
| Molekularbiologische Bestimmung der HLA-Klasse II (DR/DQB/DQA/DPB/DPA)-Merkmale         | 16    |
| Molekularbiologische Untersuchung des CCR5- Rezeptors                                   | 16    |
| Chimärismus-Analyse   | 17    |
| Einleitung Fremdspendersuche ambulanter/ stationärer Patienten                          | 17-18 |
| B-Zell/ T-Zell Crossmatch   | 18-19 |
| Hochauflösende Retypisierung HLA Klasse I und II stationärer Patienten der Kinderklinik | 19-20 |
| <b>Referenz- und Kreuzprobenlabor – Immunhämatologie</b>                                |       |
| Blutgruppe  | 21    |
| Molekularbiologische Bestimmung von Blutgruppenmerkmalen                                | 21    |
| Fetales Rhesus D aus mütterlichem Blut  | 21    |
| Antikörpersuchtest  | 21    |
| Antikörperdifferenzierung   | 22    |
| Spezielle immunhämatologische Folgeuntersuchungen                                       | 23    |
| Direkter Coombstest   | 23    |
| Serologische Verträglichkeitsprobe (Kreuzprobe)   | 23    |
| Antigenaustestung   | 23    |

|   |    |
|---|----|
| Antikörper-Titration                                  | 24 |
| Isoagglutinin-Titer                                   | 24 |
| Kälteagglutinine #                                    | 24 |
| Kältehämolysine #, Donath-Landsteiner-Hämolysine #    | 24 |
| Kryoglobuline #, Kryofibrinogene #                    | 24 |
| Medikamentenabhängige Antikörper gegen Erythrozyten # | 25 |
| Abklärung einer Transfusionsreaktion                  | 25 |

## Abstammungsgutachten

|             |    |
|-------------|----|
| STR-Analyse | 26 |
|-------------|----|

## Stammzelldiagnostik

|  |    |
|--|----|
| Koloniebildende Zellen (CFU-Assay) #               | 27 |
| Immunologisches Differentialblutbild (quantitativ) | 27 |
| CD34+ -Zellen (quantitativ) #                      | 27 |

Nicht akkreditierte Untersuchungen sind mit # gekennzeichnet.

---

Unsere Labore sind nach der internationalen Norm DIN EN ISO 15189 bzw. DIN EN ISO/IEC 17025 durch die DAkkS (Deutsche Akkreditierungsstelle) akkreditiert.

Die Akkreditierungsnormen definieren die besonderen Anforderungen an die Qualität und Kompetenz der Labore. Alle Laboruntersuchungen werden durch umfangreiche Maßnahmen der internen und externen Qualitätskontrolle kontinuierlich überprüft. Die umfassende Beratung der Einsender steht im Mittelpunkt, sowohl in präanalytischen als auch medizinischen Fragen.

Unsere Laboruntersuchungen werden fortlaufend dem aktuellen Stand von Wissenschaft und Technik, sowie neuen Normvorgaben angepasst. Unser Labor ist aus diesem Grund flexibel akkreditiert. Daher können Untersuchungsverfahren und Materialien in der Anlage zur Akkreditierungsurkunde gelistet sein, welche inzwischen geändert, angepasst bzw. bisher nicht dort aufgeführt wurden. Vorgenommene Änderungen sind in der Hintergrundliste kenntlich gemacht und von der Akkreditierung erfasst. Nicht akkreditierte Untersuchungsverfahren sind im Leistungsverzeichnis und auf unseren Befunden als solche markiert (\*).

Die Zufriedenheit unserer Kunden wie auch der Patienten liegt uns besonders am Herzen. Zu diesem Zwecke werden alle eingehenden Reklamationen und Beschwerden nach einem festgelegten Verfahren bearbeitet und ausgewertet.

Falls Sie weitere Auskünfte benötigen, oder uns Anregungen und Kritik mitteilen möchten, kontaktieren Sie uns gerne.



**Akkreditiert durch die DAkkS nach DIN EN ISO 15189 sowie European Federation for Immunogenetics (EFI) Accreditation Programme und zertifiziert durch die DQS nach DIN EN ISO 9001**

**Institut für Transfusionsmedizin und Immunologie Mannheim:**  
**Ansprechpartner und Telefonnummern**

**Anschriften:**

**Friedrich-Ebert-Straße 107**  
**Theodor-Kutzer-Ufer 1 - 3**

---

**Ärztlicher Direktor:**

Herr Univ.-Prof. Dr. med. H. Klüter  
Tel.: (0621) 3706-817 (Sekretariat)

**Leiter der Qualitätskontrolle:**

Tel.: (0621) 3706-8214 (Sekretariat)

Frau Dr. N. Sitzmann  
Tel: (0621) 3703-9593

Frau Prof. Dr. K. Bieback  
Tel: (0621) 383-9720

**Leiter der Herstellung:**

Herr Prof. Dr. med. P. Wuchter  
Tel.: (0621) 3706-8214 (Sekretariat)  
Tel: (0621) 3703-9581

**Oberärzte**

Herr Prof. Dr. med. M. Müller-Steinhardt  
Tel.: (0621) 3706-8211 (Sekretariat)

Herr Prof. Dr. med. P. Wuchter  
Tel: (0621) 3703-9581

Frau Dr. med. N. Sitzmann  
Tel.: (0621) 3706-9593

Frau Prof. Dr. med. Kayser  
Tel.: (0621) 3706-8322

**Ärzte und wissenschaftliche Mitarbeiter:**

Hr. Prof. Dr. rer. nat. P. Bugert  
Tel.: (0621) 3706-8122

## **Fachärzte**

Fr. A. Kasprzik-Diehl      Tel.: (0621) 3706 -9589  
Hr. F. Stötzer              Tel.: (0621) 3706 -8121  
Herr .Dr. med. P. Blüm      Tel.: (0621) 3706 -8125  
Frau. K. Pavolva              Tel.: (0621) 3706 -8256

## **Assistenzärzte**

Frau M. Adrian              Tel.: (0621) 3706 - 8261  
Herr N. Kojic                Tel.: (0621) 3706 - 8260  
Fr. B. Masri                 Tel.: (0621) 3706 -8962  
Frau L. Silva-Bermudez      Tel.: (0621) 3706 -8285  
Hr. Dr. med. M. Steiner      Tel.: (0621) 3706 -8963  
Fr. Dr. med. A. Tschada      Tel.: (0621) 3706 -859  
Herr G. Vit                  Tel.: (0621) 3706 - 8288

## **Auskünfte:**

### Labor

Immunhämatologie:              3706-933, 383-2406  
Thrombozytendiagnostik:        3706-968  
Granulozytendiagnostik:        3706-844  
Transplantationsimmunologie:    3706-844

## Präanalytik

### 1. Gewinnung von Untersuchungsmaterial

- Verwendung von für die jeweilige Untersuchung geeigneten Blutentnahmegefäßen und Beschriftung der Röhrchen **vor** der Abnahme mit Namen, Vornamen und Geburtsdatum des Patienten.
- Venöse Blutentnahme.
- Möglichst keine Entnahme aus liegenden venösen oder arteriellen Zugängen. Falls keine andere Möglichkeit besteht sollte vor der Abnahme der Probe eine ausreichende Menge an Blut aus dem Totraumvolumen des Katheters entnommen und verworfen werden, um einen Verdünnungseffekt oder eine Kontamination der Probe z. B. mit Heparin zu vermeiden.
- Hautdesinfektion der Entnahmestelle mit einem zugelassenen Desinfektionsmittel
- Nach Stauung des venösen Blutflusses die Vene punktieren und sobald Blut fließt die Stauung wieder lösen und das Blut entnehmen.
- Bei der Entnahme verschiedener Probenröhrchen empfiehlt sich folgende Reihenfolge:

Nativblut -> Citratblut -> EDTA-, CPDA-, Heparinblut

Die Blutabnahme für Untersuchungen im Zusammenhang mit der Thrombozytendiagnostik sollte aufgrund der Möglichkeit einer vorzeitigen Zellaktivierung langsam und unter nur kurz andauernder Stauung erfolgen. Nativblutröhrchen sollten immer vor Röhrchen mit Zusätzen abgenommen werden. Sobald alle Röhrchen gefüllt sind, Tupfer oberhalb der Einstichstelle platzieren, Kanüle entfernen und den Tupfer auf die Punktionsstelle drücken.

- Blutröhrchen mit Antikoagulantien-Zusätzen müssen unmittelbar nach der Entnahme gemischt werden, durch mehrmaliges Schwenken. Nicht schütteln!
- Die Röhrchen müssen immer vollständig, bis zu der entsprechenden Markierung befüllt werden!

## 2. Probenmaterial

### Bitte beachten:

- Nur originalverschlossene Blutentnahmegefäße einsenden.
- Keine aufgetrennten Blutproben einsenden.
- Bekannte oder potentiell infektiöse Proben (z. B. Hepatitis- oder HIV-Infektion) müssen entsprechend gekennzeichnet sein.

### Farbkodierung der Blutentnahmesysteme

| Probenmaterial                     | Vacutainer®/ Vacuette® | Sarstedt Monovette® |
|------------------------------------|------------------------|---------------------|
| Serum                              | rot                    | Weiß                |
| EDTA-Blut                          | violett (gelb)         | Rot                 |
| Citrat-Blut<br>(1+9 für Gerinnung) | hellblau               | Grün                |
| CPDA-Blut                          | gelb                   | -                   |
| ACDA-Blut                          | gelb                   | -                   |
| Heparin-Blut Na-/NH4               | grün                   | Blau                |

## 3. Verpackung von Proben

Die Verpackung der Blutproben muss den geforderten gesetzlichen Vorschriften entsprechen und mit der Aufschrift „diagnostische Proben, UN3373“ versehen sein. Nach der Verpackungsanweisung P650 ADR muss das Probenröhrchen in einer Umverpackung transportiert werden. Als Auslaufschutz muss in der Umverpackung ein entsprechend großes Aufsaugvlies enthalten sein. Beides muss in einer geprüften Außenverpackung (Fallprüfung) fixiert werden. Die Außenverpackung wird außen wie oben beschrieben gekennzeichnet.

## 4. Anforderungsscheine

Anforderungsscheine können telefonisch im Sekretariat unter 0621/3706-8214 oder direkt in den Laboren angefordert werden.

## **5. Ergebnisse, Befundmitteilung**

Die Ergebnisse werden schriftlich mitgeteilt, in dringenden Fällen kann, abhängig von der Art der Untersuchung, eine telefonische Auskunft erfolgen bzw. ein Fax geschickt werden.

Änderungen des Probenmaterials und die Einführung neuer Analysen werden rechtzeitig bekannt gegeben.

Nicht akkreditierte Untersuchungen sind mit # gekennzeichnet.

## **Infektionsserologie**

### **\*HTLV-1/2-Antikörper**

*Methode:* Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay (ELISA)

*Material:* 1 ml Serum oder Plasma

*Indikation:* Screening auf HTLV-1/2-Infektion

*Lagerung und Transport:* Max. 7 Tage, zwischen 4 °C und Raumtemperatur

### **\*Mycoplasmen-PCR**

*Methode:* TaqMAN-PCR

*Material:* mind. 1 ml Zellkulturüberstand

*Indikation:* Nachweis von Mykoplasmen

*Lagerung und Transport:* Max. 7 Tage, zwischen 4 °C und Raumtemperatur bzw.  
tiefgefroren

\*Die Untersuchungen werden am Institut Frankfurt im Unterauftrag durchgeführt.

# Thrombozytendiagnostik

## **Benötigtes Material bei folgenden Abklärungen:**

### **Abklärung neonatale Alloimmunthrombozytopenie (NAIT):**

*Methode:* Plättchen-Immunfluoreszenztest (PIFT), Simultane Analyse spezifischer Plättchenantikörper (SASPA)

*Material:* Mutter: 20 ml EDTA-Blut, 10 ml Serum

Vater: 20 ml EDTA-Blut

Kind: 1 – 2 ml EDTA-Blut, wenn möglich

*Indikation:* Nachweis von freien und gebundenen thrombozytenspezifischen Antikörpern bei der Mutter mittels Spenderthrombozyten und väterliche Thrombozyten (Crossmatchuntersuchung). Nachweis von gebundenen thrombozytenspezifischen Antikörpern beim Kind

### **Abklärung thrombozytäre Autoantikörper**

*Methode:* Plättchen-Immunfluoreszenztest (indirekter PIFT), Simultane Analyse spezifischer Plättchenantikörper (Direkter und Indirekter SASPA)

*Material:* 20 ml EDTA-Blut und 10 ml Serum

*Indikation:* Nachweis von freien und gebundenen thrombozytenspezifischen Autoantikörpern (z. B. bei Immunthrombozytopenien (ITP))

*Lagerung und Transport:* Max. 2 Tage, bei Raumtemperatur

### **Abklärung thrombozytäre Alloantikörper**

*Methode:* Plättchen-Immunfluoreszenztest (indirekter PIFT), Simultane Analyse spezifischer Plättchenantikörper (indirekter SASPA); bei Vortransfusion mit Thrombozytenkonzentraten innerhalb von 10 Tagen auch Direkter SASPA.

*Material:* 10 ml Serum (bei Vortransfusion zusätzlich 20 ml EDTA-Blut)

*Indikation:* Nachweis von freien und ggfs. bei Vortransfusion auch gebundenen thrombozytenspezifischen Alloantikörpern (z. B. bei Refraktärität auf Transfusion mit Thrombozytenkonzentraten und bei posttransfusioneller Purpura (PTP))

*Lagerung und Transport:* Max. 2 Tage, bei Raumtemperatur

### **Heparin induzierte Thrombozytopenie (HIT Typ II)**

*Methode:* HIPA-Test (Heparin-induced Platelet Antibody) #  
HIT-ELISA

*Material:* 10 ml Serum

*Indikation:* Klinischer Verdacht auf HIT Typ II (Thrombozytenabfall > 50%,  
Thrombozytenzahl < 80.000/ $\mu$ l sowie Auffälligkeiten gem. 4-T-Score)

*Lagerung und Transport:* Max. 7 Tage, zwischen 4 °C und Raumtemperatur

### **Thrombozyten-Crossmatch**

*Methode:* PIFT oder SASPA

*Material:* 10 ml Serum

*Indikation:* Verträglichkeitsprüfung zur Bereitstellung ausgewählter  
Thrombozytenpräparate

*Lagerung und Transport:* Max. 7 Tage, zwischen 4 °C und Raumtemperatur

### **Medikamentenabhängige Thrombozytenantikörper #**

*Methode:* Plättchen-Immunfluoreszenztest (PIFT)

*Material:* 10 ml Serum, Urin, Medikament

*Indikation:* Klinischer Verdacht auf Medikamenten-induzierte Thrombozytopenie

*Lagerung und Transport:* Max. 7 Tage, zwischen 4 °C und Raumtemperatur

### **Typisierung der Thrombozytenantigene (HPA-1, -2, -3, -5, -15)**

*Methode:* PCR-SSP

*Material:* 5 ml EDTA-Blut

*Indikation:* HPA-Typisierung bei Abklärungen von thrombozytären Alloantikörpern  
und zur Spendertypisierung

*Lagerung und Transport:* Max. 7 Tage, zwischen 4 °C und Raumtemperatur

### **Thrombasthenie Glanzmann #**

*Methode:* Plättchen-Immunfluoreszenztest (PIFT), durchflusszytometrische  
Bestimmung der Expression von GP IIb/IIIa

*Material:* 7 ml Citrat-Blut

*Indikation:* Thrombozytenfunktionsstörung

*Lagerung und Transport:* Max. 2 Tage, Raumtemperatur

### **Bernhard-Soulier-Syndrom #**

*Methode:* Plättchen-Immunfluoreszenztest (PIFT), durchflusszytometrische  
Bestimmung der Expression von GP Ib/IX

*Material:* 7 ml Citrat-Blut

*Indikation:* Thrombozytenfunktionsstörung

*Lagerung und Transport:* Max. 2 Tage, Raumtemperatur

## **Granulozytendiagnostik**

### **Freie Granulozytenantikörper (bei Kindern Rücksprache empfohlen)**

*Methode:* Granulozyten-Immunfluoreszenztest (Flow-GIFT), indirekter SASGA

*Material:* 10 ml Serum

*Indikation:* Abklärung von Immuneutropenien und granulozytären Alloantikörpern

*Transport und Lagerung:* 5 Tage, zwischen 4°C bis Raumtemperatur

### **Gebundene Granulozytenantikörper**

*Methode:* direkter Granulozyten-Immunfluoreszenztest (Flow-GIFT), direkter SASGA

*Material:* 10 ml EDTA-Blut, (20 ml bei Neutropenie < 1.000/μl  
*Indikation:*  
Abklärung von Autoimmunneutropenien und granulozytären Autoantikörpern

*Lagerung und Transport:* 12 Stunden, Raumtemperatur - Rücksprache mit dem Labor empfohlen: 0621 3706 844

### **Abklärung neonatale Alloimmunneutropenie (NAIG/NIN):**

*Methode:* Granulozyten-Immunfluoreszenztest (Flow-GIFT), indirekter SASGA, Granulozyten-Crossmatch (Mutter/Vater), Genotypisierung der HNA-Merkmale

*Material:* Mutter: 10 ml EDTA-Blut, 10 ml Serum

Vater: 10 ml EDTA-Blut

Kind: 1 – 3 ml EDTA-Blut, wenn möglich

*Indikation:* Neonatale, frühkindliche Neutropenie unklarer Genese.

*Lagerung und Transport:* 12 Stunden, Raumtemperatur - Rücksprache mit dem Labor: 0621 3706 844

### **Granulozyten-Crossmatch**

*Methode:* Granulozyten-Immunfluoreszenztest (Flow-GIFT)

*Material:* 5 ml Serum Patient, 5 ml EDTA-Blut Spender

*Indikation:* Verträglichkeitsuntersuchung vor Granulozyten-Transfusionen

*Lagerung und Transport:* max. 12h bei Raumtemperatur

### **Medikamentenabhängige Granulozytenantikörper #**

*Methode:* Granulozyten-Immunfluoreszenztest (Flow-GIFT)

*Material:* 10 ml Serum, Medikament, Urin (als Metabolit)

*Indikation:* Abklärung von Medikamenten-induzierten Neutropenien

*Transport und Lagerung:* 2 Tage, zwischen 4 °C und Raumtemperatur -

Rücksprache mit dem Labor: 0621 3706 844

### **Typisierung von granulozytären Antigenen (HNA-1, 3, 4, 5)**

*Methode:* PCR-SSP

*Material:* 3 ml EDTA-Blut

*Indikation:* Verdacht auf granulozytäre Alloantikörper,  
Spendertypisierung

*Transport und Lagerung:* 7 Tage, zwischen 4 °C und Raumtemperatur

# HLA-Labor - Transplantationsimmunologie

## **HLA-Klasse I/II-Antikörperscreening**

*Methode:* Mikrolymphozytotoxizitätstest (nur Klasse I), Bead basierter  
Festphasentest (Luminex)

*Material:* 2ml Serum

*Indikation:* Nachweis von HLA-Antikörpern bei Organ- oder  
Knochenmarktransplantation oder Thrombozytentransfusion bei V.a.  
HLA-sensibilisierten Patienten bzw. nach fehlendem Inkrement nach  
TK-Gabe oder nach Transfusionszwischenfällen (febril, V.a. TRALI)

*Transport und Lagerung:* 2 Tage zwischen 4 °C bis Raumtemperatur;  
getrennte Seren 72 Stunden bei 4°C bis Raumtemperatur

## **HLA-Klasse I/II-Antikörperdifferenzierung**

*Methode:* Mikrolymphozytotoxizitätstest (nur Klasse I) Bead basierter  
Festphasentest (Luminex)

*Material:* 2ml Serum

*Indikation:* Nachweis von HLA-Antikörperspezifitäten vor/nach Organ- oder  
Knochenmarktransplantation oder vor Thrombozytentransfusion (bei  
V.a. HLA-sensibilisierten Patienten) bzw. nach fehlendem Inkrement  
nach TK-Gabe oder nach Transfusionszwischenfällen (TRALI)

*Transport und Lagerung:* 2 Tage zwischen 4 °C bis Raumtemperatur;  
getrennte Seren 72 Stunden bei 4°C bis Raumtemperatur

## **Lymphozyten-Crossmatch (LCT)**

*Methode:* Mikrolymphozytotoxizitätstest

*Material:* Empfänger: 5 ml Serum

Spender: 5 ml EDTA-Blut nicht älter als 2 Tage

*Indikation:* Verträglichkeitsuntersuchung hinsichtlich präformierter HLA-Antikörper  
vor Organ- oder Knochenmarktransplantation; HLA-ausgewählte  
Blutpräparate

*Transport und Lagerung:* Empfängerprobe: 2 Tage, bei 4°C bis RT;  
Getrennte Seren 72 Stunden bei 4°C bis Raumtemperatur  
Spenderprobe: bei Raumtemperatur max. 2 Tage alt

### **Molekularbiologische Bestimmung der HLA-Klasse I (A/B/C)-Merkmale**

*Methode:* Polymerase-Kettenreaktion (PCR); Amplifizierung von HLA-Zielsequenzen mittels Sequenz-spezifischer Primer (PCR-SSP) und Detektion in der Gel-Elektrophorese oder Detektion mittels DNA-Festphasen-Hybridisierung (SSO: Sequenz-spezifische Oligonukleotide), Sequenzierung

*Material:* 5 ml EDTA-Blut

*Indikation:* Molekularbiologische Bestimmung der HLA-Merkmale von Spender und Empfänger vor Organ- oder Blutstammzelltransplantation; Abklärung von Erkrankungen mit Autoimmunpathogenese, z.B. Morbus Bechterew, Zöliakie oder Medikamentenhypersensitivität, z.B. Abacavir

*Transport und Lagerung:* 7 Tage bei 4°C bis Raumtemperatur

### **Molekularbiologische Bestimmung der HLA-Klasse II (DR/DQB/DQA/DPB/DPA)-Merkmale**

*Methode:* Polymerase-Kettenreaktion (PCR); Amplifizierung von HLA-Zielsequenzen mittels Sequenz-spezifischer Primer (PCR-SSP) und Detektion in der Gel-Elektrophorese oder Detektion mittels DNA-Festphasen-Hybridisierung (SSO: Sequenz-spezifische Oligonukleotide), Sequenzierung

*Material:* 5 ml EDTA-Blut

*Indikation:* Molekularbiologische Bestimmung der HLA-Merkmale von Spender und Empfänger vor Organ- oder Blutstammzelltransplantation; Abklärung von Erkrankungen mit Autoimmunpathogenese, z.B. Zöliakie.

*Transport und Lagerung:* 7 Tage bei 4°C bis Raumtemperatur

### **Molekularbiologische Untersuchung des CCR5-Rezeptors**

*Methode:* PCR-SSP

*Material:* 2 ml EDTA-Vollblut

*Indikation:* Molekularbiologischer Nachweis des CCR5-Rezeptorgens bei Patienten oder Stammzellspendern

*Transport und Lagerung:* 7 Tage bei 4°C bis Raumtemperatur

### **\*Chimärismus-Analyse**

*Methode:* multiplex PCR-Amplifikation von polymorphen STR-Loci

*Material:* 2 ml EDTA-Blut des Knochenmark-/Stammzellspenders, 2 ml EDTA-Blut des Empfängers vor der Transplantation, 2 ml EDTA-Blut des Empfängers nach der Transplantation

*Indikation:* Analyse der Loci D3S1358, D5S818, D7S820, D13S317, D16S539, D18S51, D21S11, CSF1PO, FGA, PentaD, PentaE, TH01, TPOX nach Transplantation von Stammzellen

*Transport:* bei Raumtemperatur, nur nach telefonischer Voranmeldung

\*Die Untersuchungen werden vom Institut Ulm im Unterauftrag durchgeführt.

### **\*Einleitung Fremdspendersuche stationärer/ambulanter erwachsener Patienten**

#### \*Molekularbiologische Bestimmung der HLA-Klasse-I-Merkmale (A, B, C)

*Methode:* Sequenz spezifische Oligonukleotid-Sonden (PCR-SSO) (Luminex-Technologie), Amplifikation mit sequenzspezifischen Primern (PCR-SSP), Sequenzierung (SBT/NGS)

*Material:* 5 – 20 ml EDTA- oder ACD-Blut

*Indikation:* Bestimmung der HLA-Merkmale von Spender und Empfänger vor Organ- oder Blutstammzelltransplantation

*Lagerung und Transport:* 7 Tage bei 4°C bis Raumtemperatur

\*Die Untersuchungen werden vom Institut Ulm im Unterauftrag durchgeführt.

#### \*Molekularbiologische Bestimmung der HLA-Klasse-II-Merkmale (DRB1, DQB1, DPB1 + DQA)

*Methode:* Sequenz spezifische Oligonukleotid-Sonden (PCR-SSO) (Luminex-Technologie), Amplifikation mit sequenzspezifischen Primern (PCR-SSP), Sequenzierung (SBT/NGS)

*Material:* 5 – 20 ml EDTA- oder ACD Blut

*Indikation:* Bestimmung der HLA-Merkmale von Spender und Empfänger vor Organ oder Blutstammzelltransplantation

*Lagerung und Transport:* 7 Tage bei 4°C bis Raumtemperatur

\*Die Untersuchungen werden vom Institut Ulm im Unterauftrag durchgeführt.

**\*\*B-Zell Crossmatch:**

*Methode:* Komplementabhängiger Mikrolymphozytotoxizitätstest (LCT)

*Material:* Empfänger: 5 – 10 ml Nativblut / Serum

Spender: 5 x 10 ml Heparinblut oder ACD / CPDA Blut

bei Organspende ein 1,5 cm großes Milzstück oder mindestens 2

Lymphknoten in steriler physiologischer Kochsalzlösung

*Indikation:* Verträglichkeitsuntersuchung hinsichtlich präformierter B-Zell-reaktiver

HLA-Antikörper (insbesondere HLA-Klasse II) vor Organ- oder

Knochenmark/- Blutstammzelltransplantation

*Lagerung und Transport:* Transport bei Raumtemperatur, nur nach Voranmeldung

Heparinblut oder ACD / CPDA Blut wird bei

Raumtemperatur gelagert. Nativblut, Milz bzw.

Lymphknoten wird bei +2 °C bis +8 °C gelagert

\*\*Die Untersuchungen werden vom Institut Frankfurt im Unterauftrag durchgeführt.

## **T-Zell Crossmatch:**

*Methode:* Komplementabhängiger Mikrolymphozytotoxizitätstest (LCT)

*Material:* Empfänger: 5 – 10 ml Nativblut / Serum

Spender: 10 ml EDTA- Blut

\*\*bei Organspende ein 1,5 cm großes Milzstück oder mindestens 2

Lymphknoten in steriler physiologischer Kochsalzlösung

*Indikation:* Verträglichkeitsuntersuchung hinsichtlich T-Zell-reaktiver HLA-Antikörper (insbesondere HLA-Klasse I) vor Organ- oder Knochenmark-/Blutstammzelltransplantation

*Lagerung und Transport:* Transport bei Raumtemperatur, nur nach Voranmeldung  
EDTA-Blut wird bei Raumtemperatur gelagert. Nativblut, Milz bzw. Lymphknoten wird bei +2 °C bis +8 °C gelagert.

## **\*\*Hochauflösende Retypisierung stationärer Patienten der Kinderklinik:**

### **\*\*Molekularbiologische Bestimmung der HLA-Klasse-I-Merkmale (A, B, C)**

*Methode:* Sequenz spezifische Oligonukleotid-Sonden (PCR-SSO) (Luminex-Technologie), Amplifikation mit sequenzspezifischen Primern (PCR-SSP), Sequenzierung (SBT/NGS)

*Material:* 5 – 20 ml EDTA- oder ACD-Blut

*Indikation:* Bestimmung der HLA-Merkmale von Spender und Empfänger vor Organ- oder Blutstammzelltransplantation

*Lagerung und Transport:* 7 Tage bei 4°C bis Raumtemperatur

\*\*Die Untersuchungen werden vom Institut Frankfurt im Unterauftrag durchgeführt.

**\*\*Molekularbiologische Bestimmung der HLA-Klasse-II-Merkmale (DRB1, DQB1, DPB1 + DQA)**

**Method:** Sequenz spezifische Oligonukleotid-Sonden (PCR-SSO) (Luminex-Technologie), Amplifikation mit sequenzspezifischen Primern (PCR-SSP), Sequenzierung (SBT/NGS)

**Material:** 5 – 20 ml EDTA- oder ACD Blut

**Indikation:** Bestimmung der HLA-Merkmale von Spender und Empfänger vor Organ oder Blutstammzelltransplantation

**Lagerung und Transport:** 7 Tage bei 4°C bis Raumtemperatur

\*\*Die Untersuchungen werden vom Institut Frankfurt im Unterauftrag durchgeführt.

## **Referenz- und Kreuzprobenlabor – Immunhämatologie**

### **Blutgruppe**

- Methode:* Hämagglutinationstest (Antigenaustestung, Isoagglutinine und Antikörpersuchtest)
- Material:* 2 x 4,9 ml EDTA-Blut
- Indikation:* Serologische Bestimmung der Blutgruppenmerkmale im ABO- und Rhesus-System
- Transport:* bei Raumtemperatur, Material max. 24h alt

### **Molekularbiologische Bestimmung von Blutgruppen-Merkmalen**

- Methode:* PCR-SSP, Endpunktmessung
- Material:* 5 ml EDTA-Blut
- Indikation:* Molekularbiologische Bestimmung von Blutgruppen-Merkmalen bei V.a. Rhesus-D-Variante, Merkmalsbestimmung bei Vortransfusion, bei Vorliegen von Autoantikörpern oder bei Antikörpertherapie, z.B. Anti-CD38 (ABO- und Rhesus-System, A<sub>x</sub>, Rhesus-Untergruppen, D<sup>weak</sup> und D<sup>partial</sup>, Kell, Kidd, Duffy, MNS und weiterer Blutgruppenmerkmale nach Absprache).
- Transport:* bei Raumtemperatur

### **Fetales Rhesus D aus mütterlichem Blut**

- Methode:* Realtime-PCR
- Material:* 5 ml EDTA-Blut
- Indikation:* Molekularbiologische Untersuchung auf das Vorliegen des fetalen Rhesus-D-Merkmals bei Rhesus-D-negativer Mutter; weitere fetale Blutgruppenmerkmale nach Absprache
- Transport:* bei Raumtemperatur

### **Antikörpersuchtest**

- Methode:* Hämagglutinationstest
- Material:* 2 x 4,9 ml EDTA-Blut
- Indikation:* Nachweis irregulärer Antikörper
- Transport:* bei Raumtemperatur, Material max. 24h alt

## **Antikörperdifferenzierung**

*Methode:* Hämagglutinationstest

*Material:* 2 x 4,9 ml EDTA-Blut.

*Indikation:* Antikörperidentifizierung nach positivem Antikörpersuchtest oder nach positiver Kreuzprobe

*Transport:* bei Raumtemperatur, Material max. 24h alt

## **Spezielle immunhämatologische Folgeuntersuchungen**

*Methoden:* Hämagglutinationstest unter Verwendung von z. B.  
- Eluat nach verschiedenen Elutionsverfahren  
- Autoadsorbat

*Material:* 30 ml EDTA-Blut (nach Rücksprache)

*Indikation:* Ausschluss einer verzögerten Transfusionsreaktion, Ausschluss bzw. Nachweis und Charakterisierung von Autoantikörpern bei V.a. Autoimmunhämolyse, Nachweis bzw. Ausschluss von Alloantikörpern bei Vorliegen von Autoantikörpern

*Transport:* bei Raumtemperatur, Material max. 24h alt

## **Direkter Coombstest (DCT)**

*Methode:* Hämagglutinationstest

*Material:* 4,9 ml EDTA-Blut

*Indikation:* Spezifischer Nachweis von Komplement oder Immunglobulin G/A/M auf der Erythrozytenoberfläche, z. B. bei V. a. Autoimmunhämolyse, inkompatiblen Transfusionen

*Transport:* bei Raumtemperatur, Material max. 24h alt

## **Serologische Verträglichkeitsprobe („Kreuzprobe“)**

*Methode:* Hämagglutinationstest

*Material:* 2 x 4,9 ml EDTA-Blut

*Indikation:* Nachweis von Antikörpern im Empfänger- oder Spenderserum gegen erythrozytäre Antigene des Blutpräparates oder des Patienten

*Transport:* bei Raumtemperatur, Material max. 24h alt

## **Antigenaustestung**

*Methode:* Hämagglutinationstest

*Material:* 2 x 4,9 ml EDTA-Blut

*Indikation:* Verdacht auf Alloimmunisierung, Bereitstellung kompatibler Präparate bei Vorliegen von irregulären Antikörpern, Antigenaustestung vor geplanter Daratumumab-Therapie

*Transport:* bei Raumtemperatur, Material max. 24h alt

## **Antikörpertitration**

*Methode:* Hämagglutinationstest (indirekter Coombstest)

*Material:* 2 x 4,9 ml EDTA-Blut

*Indikation:* Verlaufskontrolle des Titers eines Antikörpers, z. B. bei Schwangerschaft

*Transport:* bei Raumtemperatur, Material max. 24h alt

## **Isoagglutinintiter**

*Methode:* Hämagglutinationstest

*Material:* 10 ml Nativ-Blut (ohne Trenngel) und 2 x 4,9 ml EDTA-Blut

*Indikation:* Isoagglutinintiter z.B. vor AB0-inkompatibler Lebendnierenspende, vor KMT oder PBSC

*Transport:* bei Raumtemperatur, Material max. 24h alt

## **Kälteagglutinine #**

*Methode:* Hämagglutination, Kälteexposition

*Material:* 2 x 4,9 ml EDTA-Blut (37 °C!)

*Indikationen:* V.a. Autoimmunhämolyse vom Kältetyp

*Transport:* Wichtig! Blut nach Entnahme bei 37 °C transportieren.

## **Kältehämolysine #, Donath-Landsteiner-Hämolysine #**

*Methode:* Hämolysintest in Kalt/Warmphase

*Material:* 10 ml Nativblut (ohne Trenngel!, 37 °C!)

*Indikation:* Hämolysenzeichen nach Kälteexposition, Hämolysenzeichen im Kindesalter

*Transport:* Wichtig! Blut nach Entnahme bei 37 °C transportieren.

## **Kryoglobuline # / Kryofibrinogene #**

*Methode:* Kryopräzipitation über 5 Tage und Quantifizierung des Präzipitats (Kryokrit), Qualifizierung des Kryopräzipitats (Mono-/Polyklonalität)

*Material:* 10 ml Nativblut (ohne Trenngel) und 2 x 4,9 ml EDTA-Blut

*Indikation:* V. a. SLE, Sarkoidose, rheumatoide Arthritis, Sjögren-Syndrom, Toxoplasmose, HCV, EBV- und CMV-Infektionen.

*Transport:* Wichtig! Blut nach Entnahme bei 37 °C transportieren.

## **Medikamentenabhängige Antikörper gegen Erythrozyten #**

*Methode:* Hämagglutinationstest

*Material:* 10 ml Nativblut (ohne Trenngel), 2 x 4,9 ml EDTA-Blut sowie Urin (als Metabolit), Medikamente in Reinform

*Indikation:* Nachweis und Charakterisierung von medikamentenabhängigen Autoantikörpern (genaue Medikamentenanamnese erforderlich)

*Transport:* bei Raumtemperatur, Material max. 24h alt

## **Abklärung von Transfusionsreaktionen**

*Methode:* Hämagglutinationstest, bakteriologische Kultur

*Material:* 10 ml Nativ-Blut (ohne Trenngel) und 2 x 4,9 ml EDTA-Blut vor und nach Transfusion, Restmaterial (Beutel) aller transfundierten Präparate (steril verschlossen)

*Indikation:* Verdacht auf eine Transfusionsreaktion, Ausschluss einer bakteriellen Kontamination

*Transport:* bei Raumtemperatur innerhalb von 24h

## **Abstammungsgutachten (Richtliniengutachten)**

### **Benötigtes Material:**

je 3 Wangenabstriche des Kindes, der Mutter und des Putativvaters  
oder je 2 Monovetten à 2,7 mL EDTA-Blut des Kindes, der Mutter und des  
Putativvaters

*Transport:* bei Raumtemperatur

### **STR-Analyse (molekulargenetische Bestimmung der Mikrosatelliten Polymorphismen an bis zu 23 unabhängigen autosomalen Loci und bis zu 12 gonosomalen Loci)**

*Methode:* multiplex PCR-Amplifikation von polymorphen STR-Loci

*Material:* Lysat aus einem Wangenabstrich oder 200 µL EDTA-Blut oder ca. 20 ng  
DNA

*Indikation:* Analyse der autosomalen Loci D1S1656, D2S441, D2S1338, D3S1358,  
D5S818, D7S820, D8S1179, D10S1248, D12S391, D13S317, D16S539, D18S51,  
D19S433, D21S11, D22S1045, CSF1PO, FGA, PentaD, PentaE, TH01, TPOX,  
VWA, SE33;

Analyse der gonosomalen Loci Amelogenin, DXS7132, DXS7423, DXS8378,  
HPRTB, DYS19, DYS385, DYS389, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393

### **Blutgruppensysteme AB0 und Rhesus (serologische Bestimmung der Erythrozytenantigene und Isoagglutinine)**

*Methode:* Hämagglutination

*Material:* 2 ml EDTA-Blut (siehe Blutgruppenbestimmung)

*Indikation:* Serologische Bestimmung der Blutgruppenmerkmale im AB0- und  
Rhesus-System

### **Molekularbiologische Bestimmung der AB0-Blutgruppe**

*Methode:* PCR-SSP

*Material:* 2 ml EDTA-Vollblut

*Indikation:* Molekulargenetische Bestimmung der Blutgruppen-Merkmale im AB0-  
System

## **Stammzelldiagnostik**

### **Koloniebildende Zellen (CFU-Assay) #**

*Methode:* Zellkultur mononukleärer Zellen und Differenzierung

*Material:* 0,5 ml der Stammzellpräparation

*Indikation:* Bestimmung des Gehalts an koloniebildenden Zellen in Stammzellpräparaten

*Transport:* im Flüssigstickstoff (Sicherheitsbehälter)

### **Immunologisches Differentialblutbild (quantitativ)**

*Methode:* Durchflusszytometrie

*Material:* 5 ml EDTA-Blut, 0,5 ml Präparat

*Indikation:* Bestimmung des Monozyten-, Leukozyten- und Granulozytenanteils in Stammzell- und Nabelschnurblutpräparaten

*Transport:* bei Raumtemperatur

### **CD34+ - Zellen (quantitativ) #**

*Methode:* Durchflusszytometrie

*Material:* 5 ml EDTA-Blut, 0,5 ml Präparat

*Indikation:* Kontrolle der CD34+-Mobilisation von Stammzellspender sowie Bestimmung des Gehalts an CD34+-Zellen in Stammzellpräparaten

*Transport:* bei Raumtemperatur