

Methodenumstellung des Komplement-abhängigen Crossmatches; Konventioneller CDC Crossmatch vs. Automatisierter Flow CDC Crossmatch auf dem Flowzytometer

Sophie Obuz, BMA23-36

Dipl. Biomedizinische Analytikerin HF

1. Zusammenfassung

Der komplementabhängige Crossmatch (CDC XM) stellt ein zentrales diagnostisches Verfahren im Labor dar, das der Reduktion des Risikos hyperakuter Abstoßungsreaktionen durch spenderspezifische HLA-Antikörper dient[1]. Der automatisierte Flow CDC XM am BD FACSLyric wurde als objektive Alternative zum konventionellen CDC XM evaluiert. Die Nutzung eines Flowzytometers steigert die Standardisierung der Auswertung durch quantitative Ergebnisse und genau definierte Cut-offs. Die Ergebnisse der Validierung bestätigen eine zuverlässige technische Durchführung des Assays. Um den Prozess zu optimieren, waren lediglich Mengenanpassungen bei einzelnen Reagenzien erforderlich. Ein kritischer Aspekt zeigte sich in der Signalminderung der Positivkontrolle nach wiederholten Auftauzyklen, was eine strikte Handhabung erfordert. In der statistischen Auswertung überzeugt die flowzytometrische Methode insbesondere bei den T-Zellen durch hohe Sensitivität und Spezifität, vor allem bei hoher Antikörperlast. Bei B-Zellen fiel die Sensitivität hingegen geringfügig niedriger aus.

2. Einleitung

Der komplement-abhängige Crossmatch kann dazu beitragen, eine durch HLA-Antikörper verursachte hyperakute Abstoßungsreaktion in vitro zu erkennen. HLA (Human Leukocyte Antigen) sind Proteine auf der Oberfläche unserer Zellen. Stimmen die HLA-Merkmale der Spenderin / des Spenders nicht mit denen der Empfängerin / des Empfängers überein, besteht ein erhöhtes Risiko für eine Abstoßungsreaktion. Da eine Vielzahl unterschiedlicher HLA-Merkmale auf verschiedenen Zellen vorkommt, ist es schwierig, eine vollständig passende Kombination zwischen Spender und Empfänger zu finden. Der CDC XM dient daher dazu, das Risiko einer durch HLA-Antikörper verursachten hyperakuten Abstoßungsreaktion zu beurteilen und zu minimieren[2].

Die momentan im Labor eingesetzte CDC-XM-Methode weist jedoch einige Nachteile auf. Die Auswertung erfolgt manuell unter dem Mikroskop, wobei anhand der Anzahl der toten bzw. lysierten Zellen beurteilt wird, ob eine Reaktion vorliegt[3]. Da hierbei der Anteil der lysierten Zellen abgeschätzt wird, kann die Beurteilung zwischen verschiedenen Personen unterschiedlich ausfallen. Die Auswertung des CDC XM ist dadurch subjektiv und semiquantitativ. Der neu im Labor einzuführende Flow CDC XM wird hingegen am Flowzytometer gemessen und ermöglicht dadurch eine objektivere Auswertung. Durch das Gating kann zudem ein quantitatives Ergebnis in Form eines prozentualen Anteils der lysierten Zellen bestimmt werden.

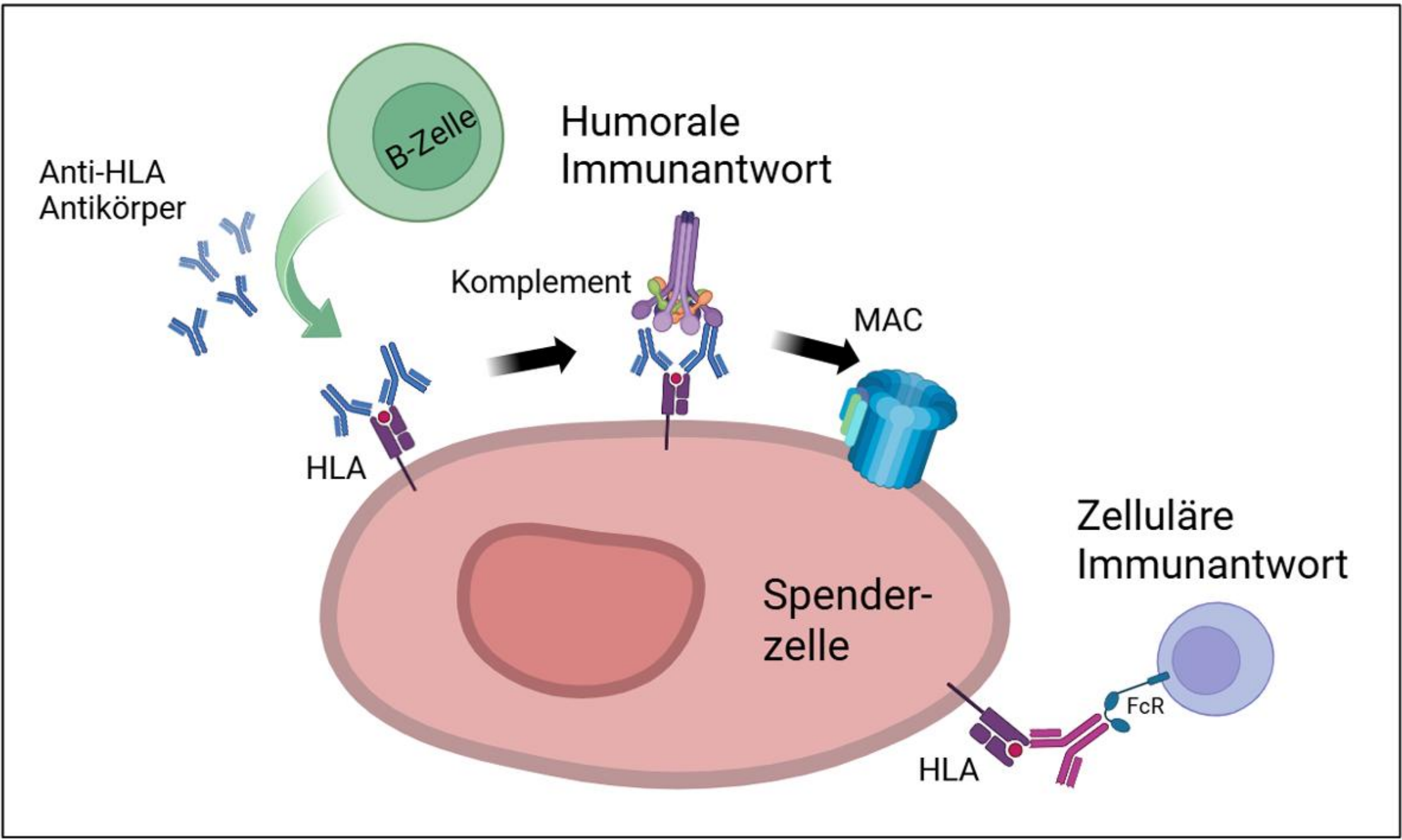


Abb. 1: Schematische Darstellung der humoralen sowie zellulären Immunantwort

3. Ziele und Fragestellungen

Evaluierung und Gegenüberstellung der beiden Crossmatch-Methoden CDC XM und Flow CDC XM.

Inwiefern unterscheiden sich die beiden Methoden in Bezug auf die analytische Aussagekraft? Im Vergleich des semiquantitativen CDC XM zum quantitativen Flow CDC XM?

4. Material, Methodik, Vorgehen

Der grundlegende Ansatz beider Methoden ist vergleichbar, da jeweils der Anteil lebender sowie toter bzw. lysierter Zellen bestimmt wird. Beim konventionellen CDC XM erfolgt diese Beurteilung jedoch manuell am Mikroskop: Der Anteil lysierter Zellen wird anhand eines Scores von 1 bis 8 semiquantitativ geschätzt, wobei die Scores 1 und 2 als negativ und die Scores 4 bis 8 als positiv gelten. Diese Auswertung ist somit subjektiv. Im Gegensatz dazu misst der Flow CDC XM die Proben am Durchflusszytometer, was eine objektive, quantitative Bestimmung des genauen prozentualen Anteils lysierter Zellen erlaubt.

	Well - A	Well - B	Well - C
Rater 1	1	1	1
Rater 2	2	2	1
Rater 3	6	6	6
Rater 4	6	6	4
Rater 5	8	8	6
Rater 6	4	2	1

Abb. 2: Heatmap zur Darstellung der subjektiven Auswertung

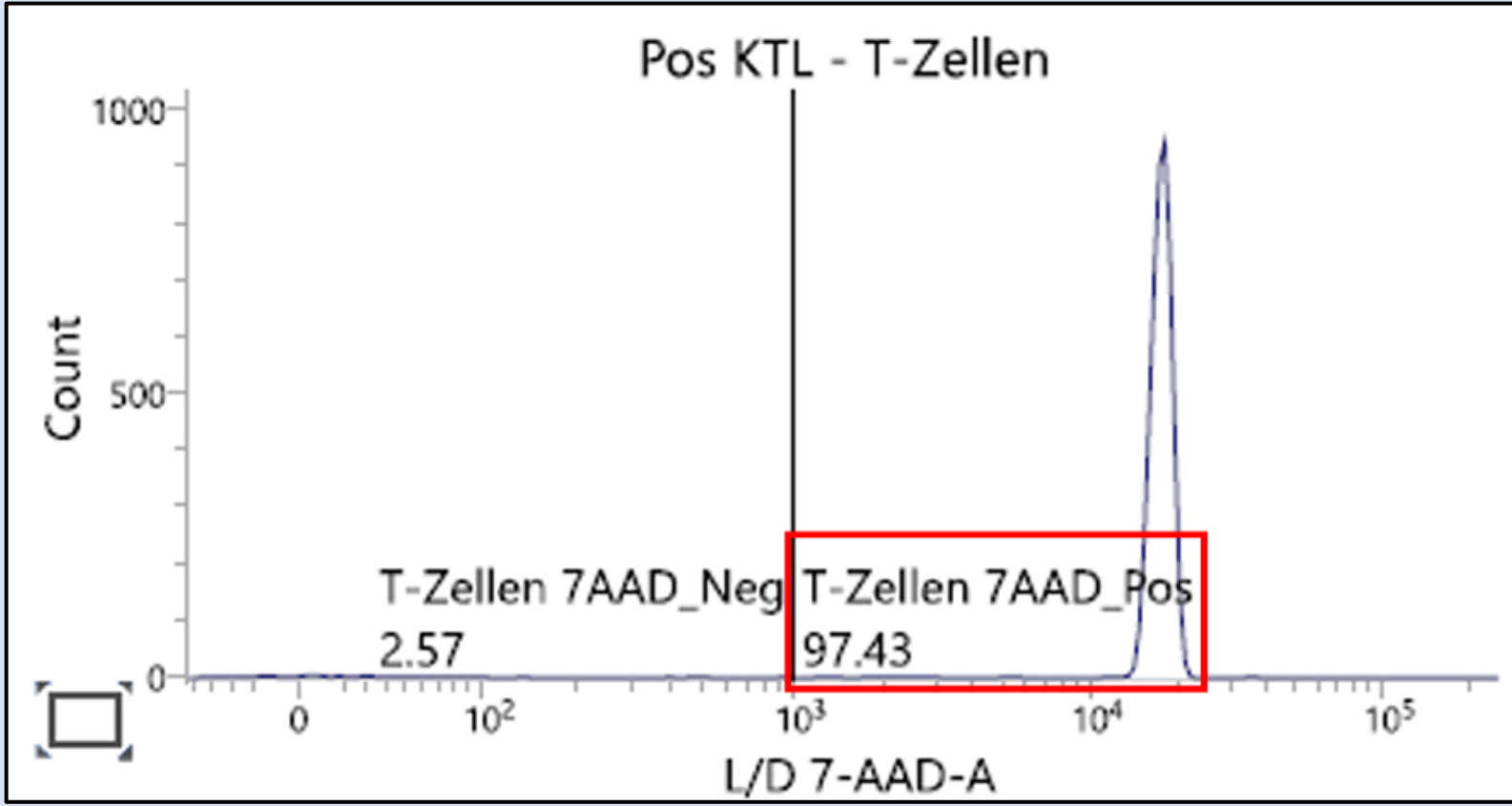


Abb. 3: Flow CDC XM Gating-Strategie der Postivkontrolle

5. Ergebnisse/ Resultate

Statistisch gesehen korrelieren die beiden Methoden signifikant miteinander, wobei der Korrelationskoeffizient für die T-Zellen bei $r_{sp} = 0,52$ und für die B-Zellen bei $r_{sp} = 0,67$ liegt. In der grafischen Darstellung zeigt sich dabei, dass die negativen Scores (1 und 2) eine deutlich geringere Streuung aufweisen als die positiven Scores (4, 6 und 8). Während der CDC XM beispielsweise allen Werten in einer Gruppe den Score 6 zu ordnet, gibt es für dieselben Proben im Flow CDC XM Werte von 8 bis 63%. Es gibt eine extreme Streuung.

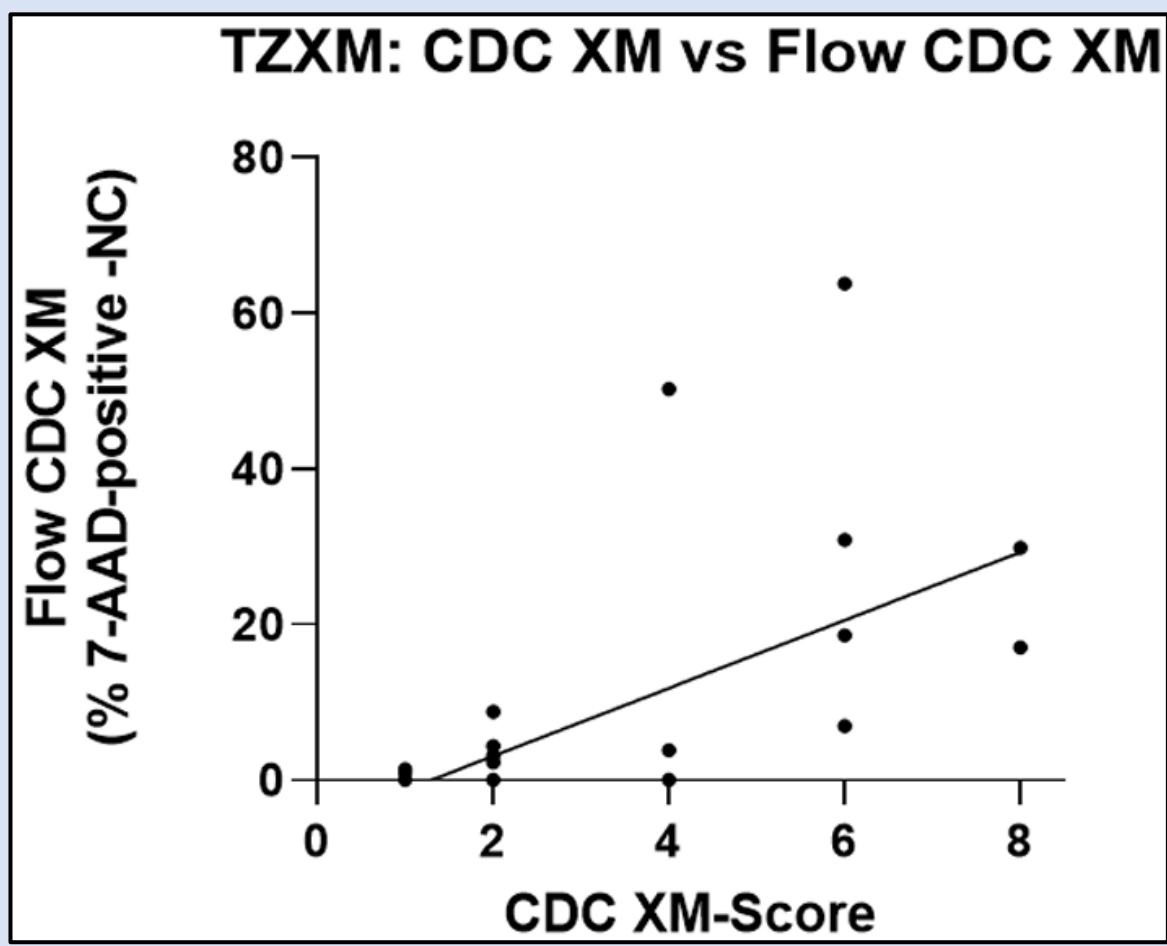


Abb. 4: Methodenvergleich T-Zell CDC XM, Korrelation der beiden Methoden

Score	1	2	4	6	8
Streuung %	1.390	8.770	50.23	56.81	12.82
Standardabweichung	0.3906	2.876	18.79	24.50	9.065

Tabelle 1: Streuung und Standardabweichung der T-Zellen

6. Diskussion

Obwohl ein positiver linearer Zusammenhang zwischen beiden Methoden besteht, gibt es deutliche Limitationen des konventionellen CDC XM. Das Hauptproblem liegt in den sehr breiten Kategorien: So steht Score 4 für 21–50 % und Score 6 für 51–80 % lysierte Zellen. In der Praxis ist es mit bloßem Auge unter dem Mikroskop kaum möglich, feine Unterschiede exakt zu erfassen. Z.B. zu entscheiden, ob eine Probe bei 50 % (Score 4) oder 51 % (Score 6) liegt. Noch kritischer ist diese Ungenauigkeit an der Grenze zwischen negativ und positiv, bsp. beim Übergang von Score 2 zu Score 4. Ob eine Probe knapp unter oder über 20% liegt, lässt sich visuell schwer festlegen. Genau hier bietet der Flow CDC XM einen entscheidenden Vorteil: Durch klare Cut-off-Werte (1,8 % bei T-Zellen und 3,3 % bei B-Zellen) ermöglicht er eine objektive, prozentuale Auswertung und sorgt im Vergleich zum blossen Abschätzen beim CDC XM für deutlich mehr diagnostische Sicherheit.

Referenzen (mit oder ohne Fussnote, je nach Bildungsgang)

- [1] Wassmuth, R. (2005). Einführung in das HLA-System (2. Aufl.). ecomed MEDIZIN.
- [2] Paul, A., Dileep, R. C. A., Gracious, N., Paul, A., Dileep, R. C. A., & Gracious, N. (2024). Crossmatch and Histocompatibility. In Bridging the Gap and Saving Lives—A Comprehensive Guide to Organ Donation. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.1006348>
- [3] inno-trian Diagnostik GmbH, (o. J.). HLA-Serologie. Abgerufen am 13. April 2026 von <https://www.inno-trian.de/home-serologie/hla-serologie/>

Abbildungen

- Abbildung 1: Obuz, S. (2026a). Schematische Darstellung der humoralen sowie zellulären Immunantwort. medi.
- Abbildung 2: Obuz, S. (2026). Heatmap zur Darstellung der subjektiven Auswertung. medi.
- Abbildung 3: Eigene Darstellung basierend auf den Rohdaten der Messung vom 11.05.2026.
- Abbildung 4: Obuz, S. (2026j). Methodenvergleich T-Zell CDC XM. medi.

Tabellen

- Tabelle 1: Eigene Darstellung