

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Institut für Transfusionsmedizin
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Leiter: Dr. med. S. Peine

Immunisierungsfrequenz nach Rhesus-(D)-inkompatibler Transfusion von leukozytendepletierten Erythrozytenkonzentraten

Dissertation

Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von:

Karin Regine Pethke, geb. Mayer
aus Esslingen am Neckar

Hamburg 2014

**Angenommen von der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 30.04.2014**

**Veröffentlicht mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.**

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. T. Eiermann

Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: Prof. Dr. N. Kröger

Prüfungsausschuss, dritte/r Gutachter/in: PD Dr. M. Binder

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	IV
Abbildungsverzeichnis	V
Tabellenverzeichnis.....	VI
1 Arbeitshypothese und Fragestellung	1
2 Einleitung	2
2.1 Blutversorgung in Deutschland	2
2.2 Aufgabe der Transfusionsmedizin.....	3
2.3 Erythrozytäre Antigene.....	5
2.3.1 Funktion erythrozytärer Antigene	6
2.3.2 Die Antigene des Rhesussystems	7
2.3.3 Bedeutung erythrozytärer Antigene in der Transfusionsmedizin.....	8
2.4 Antikörper.....	9
2.4.1 Bildung irregulärer Antikörper.....	9
2.5 Rhesusantikörper	11
2.5.1 Bedeutung der Rhesusantikörper.....	12
2.5.1.1 Akute hämolytische Transfusionsreaktionen.....	12
2.5.1.2 Verzögerte hämolytische Transfusionsreaktionen.....	12
2.5.1.3 Bedeutung bei Schwangerschaft und Geburt.....	13
2.5.2 Detektion der Rhesusantikörper	15
2.5.2.1 Prinzip des Antihumanglobulintestes (AHG-Test).....	16
2.5.2.2 Durchführung des AHG-Testes mittels Geltest.....	18
2.5.2.3 Differenzierung der Antikörper	19
2.5.3.4 Bestimmung des Antikörpertiters.....	19
2.6 Einflussfaktoren auf die Bildung und Detektion der Rhesusantikörper	20
2.6.1 Patientenbezogene Faktoren	20
2.6.2 Iatrogen bedingte Faktoren	21
2.6.3 Mess- und labortechnische Faktoren	22
3 Material und Methoden	24
3.1 Patientenkollektiv	24
3.2 Weitere Kriterien	25
3.2.1 Berechnung der Menge des transfundierten Hämoglobins.....	25
3.2.1.1 Beispielhafte Berechnung des Hämoglobingehalts	26
3.3 Gewinnung der Blutproben	27
3.4 Durchführung des Antikörpersuchtests (AKS).....	27
3.4.1 Materialien.....	28
3.4.2 Vorbereitungen	29
3.4.3 Testansatz Antikörpersuchtest	29
3.4.4 Beurteilung der Reaktion.....	30
3.4.5 Auswertung und Befundung.....	31
3.5 Durchführung der Antikörperdifferenzierung	32
3.5.1 Materialien.....	32
3.5.2 Vorbereitungen	33
3.5.3 Testansatz Antikörperdifferenzierung	33

3.5.4 Beurteilung der Reaktion.....	34
3.5.5 Auswertung und Befundung.....	34
3.6 Durchführung der Titerbestimmung.....	34
3.6.1 Materialien.....	34
3.6.2 Herstellung der Verdünnungsreihe.....	35
3.6.3 Auswertung und Befundung.....	35
3.7 Statistische Auswertung	36
4 Ergebnisse	37
4.1 Übersicht über alle mit Rh-(D)-positiven Erythrozytenkonzentraten (EK) versorgten Patienten	37
4.2 Übersicht über die untersuchten Patienten	40
4.3 Berechnung der Rh-(D)-Immunisierungsfrequenz.....	41
4.3.1 Berechnung der geschlechtsspezifischen Rh-(D)-Immunisierungsfrequenz.....	41
4.3.2 Gebildete Antikörper	42
4.4 Weitere Kriterien	43
4.4.1 Patientenalter	45
4.4.2 Diagnose	45
4.4.3 Anzahl der transfundierten Rh-(D)-positiven EK	46
4.4.4 Transfundiertes Hämoglobin im Verhältnis zum patienteneigenen Hämoglobin	47
4.4.5 Expositionszeitraum	48
4.4.6 Zeitraum zwischen Exposition und AKS	49
4.4.7 Anzahl der transfundierten Rh-(D)-negativen EK.....	50
4.4.8 Anzahl Rh-(D)-positiver Thrombozytenkonzentrate (TK) 8 – 16 Wochen vor AKS	51
4.4.9 Anzahl TK 7 Tage vor Exposition bis zum AKS	51
4.4.10 Anzahl gefrorenes Frischplasma (GFP) zwischen der Exposition bis zum AKS	51
5 Diskussion	52
5.1 Studienkonzeption	52
5.1.1 Untersuchungszeitraum	53
5.1.2 Patientenkollektiv	54
5.1.3 Methode zur Detektion der Antikörper	55
5.2 Rh-(D)-Immunisierungsfrequenz	56
5.3 Mögliche Einflussfaktoren auf die Rh-(D)-Immunisierungsfrequenz	57
5.3.1 Geschlecht	58
5.3.2 Patientenalter	58
5.3.3 Diagnose und Therapie.....	59
5.3.4 Anzahl transfundierter Rh-(D)-positiver EK.....	60
5.3.5 Expositionszeitraum und Reexposition	61
5.3.6 Weitere transfundierte Blutkomponenten.....	62
6 Zusammenfassung.....	64
7 Literaturverzeichnis.....	66
8 Anhang	73

9 Danksagung.....	79
10 Lebenslauf.....	80
11 Eidesstattliche Versicherung.....	81

Abkürzungsverzeichnis

AKS	Antikörpersuchtest
DHTR	delayed hemolytic transfusion reaction
EiKo	Eigenkontrolle
EK	Erythrozytenkonzentrat
GFP	Gefrorenes Frischplasma
Hb	Hämoglobin
ICT	indirekter Coombs-Test
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
ISBT	International Society of Blood Transfusion
Ko1	Kontrolle 1
Ko2	Kontrolle 2
LC-RT	Liss/Coombs-Röhrchen-Test
LISS	low ionic strength solution
MHC	major histocompatibility complex
Mhn	Morbus haemolyticus neonatorum
NaCl	Natriumchlorid
SD	Standardabweichung
TK	Thrombozytenkonzentrat
UKE	Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Antikörper der Klasse IgM	11
Abb. 2: Antikörper der Klasse IgG.....	11
Abb. 3: Prinzip der Agglutination	15
Abb. 4: Darstellung kompletter Antikörper der Klasse IgM.....	15
Abb. 5: Darstellung inkompletter Antikörper der Klasse IgG.....	16
Abb. 6: Bindung inkompletter Antikörper	17
Abb. 7: Zugabe des Coombs-Serum.....	17
Abb. 8: Agglutination.....	17
Abb. 9: Funktionsprinzip des Geltests.....	18
Abb. 10: Beschriftung der ScanGel Karte bzw. ID-Karte für den AKS	30
Abb. 11: Ablesprinzip der Reaktion in der Geltechnik	31
Abb. 12: Beschriftung der ScanGel Karten für die Antikörperdifferenzierung	33
Abb. 13: Verteilung des Geschlechts unter den immunisierten Patienten in % (n=9) ...	41
Abb. 14: Immunisierungsfrequenz der männlichen Patienten in % (n=29)	42
Abb. 15: Immunisierungsfrequenz der weiblichen Patienten in % (n=17)	42
Abb. 16: Häufigkeiten der gebildeten Antikörper in % (n=9).....	43
Abb. 17: Diagnosebezogene Zuordnung der immunisierten Patienten in % (n=9).....	46
Abb. 18: Diagnosebezogene Zuordnung der nichtimmunisierten Patienten in % (n=37)	46
Abb. 19: Anteil der immunisierten Patienten in Abhängigkeit von der Anzahl der transfundierte Rh-(D)-positiven EK in % (n=46).....	47
Abb. 20: Durchschnittlicher Anteil des transfundierten Hämoglobins der Rh-(D)- positiven EK in % des patienteneigenen Hämoglobins (n=31).....	48
Abb. 21: Immunisierungsfrequenz der reexponierten Patienten in % (n=8).....	49
Abb. 22: Immunisierungsfrequenz der nicht	49
Abb. 23: Durchschnittlicher Zeitraum zwischen Exposition und Durchführung des AKS in Tagen (n=46)	50

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Blutgruppenkompatible Erythrozyten-Transfusion.....	2
Tab. 2: Blutgruppenerhäufigkeiten (ABO- und Rhesus-System).....	3
Tab. 3: Einteilung der erythrozytären Antigene nach der International Society of Blood Transfusion (ISBT) in Blutgruppensysteme.....	5
Tab. 4: Funktion der erythrozytären Antigene	6
Tab. 5: Die Rhesusphänotypen und ihre Frequenz in der mitteleuropäischen Bevölkerung	8
Tab. 6: Vergleich der Antikörperklassen IgG und IgM.....	11
Tab. 7: Auswertung und Interpretation der Gelsäulen	31
Tab. 8: Übersicht über das Patientenkollektiv (n=76).....	37
Tab. 9: Auflistung der Patienten (n=76).....	38
Tab. 10: Häufigkeitsverteilung der Antikörperbildung im gesamten Patientenkollektiv (n=46)	40
Tab. 11: Übersicht über die gebildeten Antikörper, den Titer sowie den Zeitpunkt der Detektion (n=9)	42
Tab. 12: Übersicht über die untersuchten Patienten (n=46)	43
Tab. 13: Einteilung der Patienten nach der Anzahl der transfundierten Rh-(D)-positiven EK (n=46).....	46
Tab. 14: Übersicht über alle reexponierten Patienten (n=8).....	49

1 Arbeitshypothese und Fragestellung

Ziel dieser Arbeit ist es, die Immunisierungsfrequenz nach Rh-(D)-inkompatibler Erythrozytentransfusion am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf zu ermitteln. In der Literatur wird sie auch heute noch vielfach mit bis zu 85 % angegeben. Aktuelle Studien zeigen jedoch, dass diese mit 10 % – 30 % bedeutend niedriger sein könnte. Unterschiede im Aufbau der einzelnen Studien (z.B. Patientenkollektiv, Untersuchungszeitraum, Vorgehensweise bei der Antikörperdetektion) sowie die Verwendung unterschiedlicher Blutzubereitungen (z.B. Vollblutkonserven, leukozytendepletierte Erythrozytenkonzentrate, sonstige transfundierte Blutkomponenten) sollen verglichen und hinsichtlich eines möglichen Einflusses auf die Immunisierungsrate bewertet werden. Anhand der zu erhebenden Patientendaten soll festgestellt werden, ob sich prädisponierende Faktoren (z.B. Alter, Geschlecht, Art der Erkrankung) ermitteln lassen. Dies könnte gegebenenfalls dazu beitragen, die knappen Ressourcen Rh-(D)-negativer Erythrozytenkonzentrate so zu handhaben, dass für die Patienten, die immer Rh-(D)-negativ transfundiert werden sollen (z.B. Mädchen und Frauen im gebärfähigen Alter) bzw. ggf. für solche, die "leichter Antikörper bilden" stets geeignete Erythrozytenkonzentrate verfügbar sind.

2 Einleitung

2.1 Blutversorgung in Deutschland

In Deutschland werden jährlich ca. 4,5 Millionen (Henseler et al. 2010) Erythrozytenkonzentrate (EK) benötigt. Grundlage für die patientengerechte Versorgung mit EK ist das 1901 von Karl Landsteiner entdeckte AB0-System. Er fand heraus, dass im Organismus nur Antikörper (Agglutinine) gegen fremde Erythrozytenmerkmale (Antigene) vorhanden sind, nicht jedoch gegen körpereigene (Benedum 2010). EK dürfen nur AB0-gleich bzw. AB0-kompatibel transfundiert werden, d.h. der Landsteiner Regel folgend (Bundesärztekammer 2010).

Tab. 1 gibt Auskunft über die Blutgruppen und mögliche kompatible EK.

Tab. 1: Blutgruppenkompatible Erythrozyten-Transfusion
(Quelle: Bundesärztekammer 2010)

Patientenblutgruppe	Kompatible EK
A	A oder 0
B	B oder 0
AB	AB, A, B oder 0
0	0

Das nach dem AB0-System klinisch relevanteste System ist das Rhesus-System. In der deutschen Bevölkerung tragen 83 % das Rhesus-D-Antigen und werden entsprechend als "Rhesus positiv" bezeichnet. Bei den verbleibenden 17 % fehlt das Rh-(D)-Antigen auf der Erythrozytenmembran. Die Betroffenen werden folglich als Rh-(D)-negativ bezeichnet (Flegel und Wagner 2010). Nach den Richtlinien der Deutschen Bundesärztekammer sollte eine Transfusion auch Rhesus-kompatibel erfolgen (Bundesärztekammer 2010). Da die Verteilung der Blutgruppen innerhalb eines Kollektivs bei Spendern und Empfängern gleich ist, könnte man annehmen, dass eine Versorgung mit Rh-(D)-negativem Blut für Rh-(D)-negative Empfänger kein Problem darstellen sollte. Tab. 2 zeigt die Verteilung des klinisch bedeutsamsten Rhesus-Antigens D im AB0-System.

Tab. 2: Blutgruppenhäufigkeiten (AB0- und Rhesus-System)
(Quelle: nach Flegel und Wagner 2010)

Blutgruppenverteilung AB0 mit Rhesus	Häufigkeit
A+	36 %
O+	34 %
B+	9 %
AB+	4 %
O-	7 %
A-	7 %
B-	2 %
AB-	1 %

0 Rh-(D)-negative EK finden jedoch auch in Fällen Anwendung, in denen keine Blutgruppenbestimmung erfolgen kann, beispielsweise bei Notfällen oder wenn der Versuch einer Bestimmung scheitert, etwa bei Vortransfusionen. Durch diese Möglichkeit des universellen Einsatzes 0 Rh-(D)-negativer EK, die erstmals bereits vor ca. 100 Jahren von Ottenberg (Ottenberg 1911) beschrieben wurde, herrscht ein Mangel an Rhesus-negativem Blut. Aufgrund dieses Mangels kann eine Rh-(D)-kompatible Transfusion nicht immer gewährleistet werden. Eine Übertragung Rh-(D)-positiven Blutes auf Rhesus-negative Patienten sollte laut Bundesärztekammer jedoch nur erfolgen, „wenn die Transfusion lebenswichtig ist (z.B. bei Notfall- und Massivtransfusionen) und Rh negative (D negativ) Erythrozytenpräparate nicht zeitgerecht beschafft werden können und wenn es sich um nicht gebärfähige Frauen oder um Mädchen handelt“ (zitiert aus Bundesärztekammer 2010). In diesen Fällen kann ggf. eine Rh-(D)-inkompatible Transfusion erfolgen, wenn eine Unverträglichkeit aufgrund eines Anti-D-Antikörpers mittels Antikörpersuchtest ausgeschlossen wurde.

2.2 Aufgabe der Transfusionsmedizin

Aufgabe der Transfusionsmedizin ist es u.a. sicher zu stellen, dass Patienten mit geeigneten Blutkomponenten versorgt werden können. Am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (UKE), einem Haus der Maximalversorgung, werden jährlich etwa 4500 Patienten mit Blutkomponenten versorgt, was einem Anteil von etwa 10 % aller stationären Patienten entspricht.

EK sind unter den Blutkomponenten die am häufigsten transfundierten. Etwa die Hälfte der jährlich hergestellten EK wird von konservativen wie operativen Disziplinen verbraucht (Erhard 2011). Kaum eine andere Fachdisziplin kommt jedoch, wenn auch in geringerem Umfang, völlig ohne den Einsatz von EK aus. Um diesen Bedarf immer gewährleisten zu können, ist es Aufgabe der Transfusionsmedizin, die immer knapper zur Verfügung stehenden EK so einzusetzen, dass eine Versorgung jederzeit möglich ist. In Deutschland ist die Versorgung mit EK vergleichsweise zwar als gut anzusehen, standen doch im Jahr 2006 durchschnittlich 55 EK pro 1000 Einwohner zur Verfügung. Im europäischen Vergleich waren lediglich 36 EK pro 1000 Einwohner verfügbar (Henseler 2010). Und doch ist der Bedarf zunehmend schwieriger zu decken. Hierfür werden u.a. aufwendige Operations- und Behandlungstechniken in der Tumorbehandlung verantwortlich gemacht. Auch aufgrund des demografischen Wandels und der damit einhergehenden steigenden Anzahl älterer, eher transfusionspflichtiger Patienten und der geringer werdenden Spendetauglichkeit der Bevölkerung (Greinacher et al. 2007), kommt es zu Engpässen in der Versorgung. Das Sinken der Spendetauglichkeit der Bevölkerung liegt einerseits wie oben erwähnt am Älterwerden der Bevölkerung. Andererseits bedingen auch sich verändernde soziokulturelle Faktoren wie Tätowierungen, Piercings und Reisen ins außereuropäische Ausland häufiger kurz- und längerfristige Spendeausschlüsse (Custer et al. 2004). Limitierend auf die Spenderzahl wirken sich ebenfalls die immer restriktiver werdenden Spenderauswahlkriterien aus (Riley et al. 2007). Durch die oben genannten Umstände kommt es immer wieder zu Engpässen in der Versorgung mit EK. Vor allem der Bestand an 0 Rh-(D)-negativen EK ist während der Urlaubs- und Reisezeit begrenzt. Diesem Problem kann begegnet werden, indem das zulässige Höchstalter für Spender heraufgesetzt wird. Im Januar 2010 wurde die obere Altersgrenze für Blutspender geändert. Mehrfachspender dürfen nun auch noch über das 68. Lebensjahr hinaus spenden. Für Erstspender wurde die Altersgrenze von 60 Jahren auf 68 Jahre erhöht (DRK 2010). Zum anderen muss über den Einsatz der EK, vor allem der ohnehin im Bestand begrenzten 0 Rh-(D)-negativen EK, stets kritisch entschieden werden.

Um Rh-(D)-negative EK bevorzugt für oben genanntes Patientenkollektiv für den Fall eines Engpasses vorrätig halten zu können, sind genauere Kenntnisse sowohl über die Immunisierungsrate als auch die Faktoren, die eine Immunisierung beeinflussen, nötig. Insbesondere für die in Deutschland seit 2001 vorgeschriebenen leukozytendepletierten EK (Paul-Ehrlich-Institut 2000) liegen nur wenige Daten vor.

Die in der Literatur (Gunson et al. 1970, Urbaniak und Robertsen 1981) häufig noch aufgeführten Zahlen wurden nämlich nach der Transfusion leukozytenreicher Blutzubereitungen (z.B. Vollblut oder nur “buffy coat removed“) ermittelt.

2.3 Erythrozytäre Antigene

Als Erythrozytenantigene werden jene Strukturen bezeichnet, die auf Erythrozytenmembranen exprimiert werden und eine Immunantwort des Immunsystems hervorrufen können. Diese Eigenschaft des Antigens (=antibody generating), eine Antikörperbildung hervorzurufen, wird als Immunogenität bezeichnet.

Heute ist eine Vielzahl erythrozytärer Antigene bekannt. Man unterscheidet Antigene mit Kohlenhydratstruktur wie z.B. die des ABO-Systems von Antigenen mit Proteinstruktur (Reid und Mohandas 2004). Klinisch bedeutsamstes Beispiel hierfür sind die Antigene aus dem Rhesussystem. Die heute ca. 300 bekannten erythrozytären Antigene werden in 30 Blutgruppensysteme und 3 Blutgruppensammlungen eingeteilt (ISBT 2011). In Tab. 3 sind die Blutgruppensysteme und die dazugehörigen Antigene aufgeführt.

Tab. 3: Einteilung der erythrozytären Antigene nach der International Society of Blood Transfusion (ISBT) in Blutgruppensysteme (Quelle: ISBT 2011)

ISBT-Nr.	System	ISBT-Symbol	Anzahl der Antigene
001	ABO	ABO	4
002	MNS	MNS	46
003	P	P	1
004	Rhesus	Rh	50
005	Lutheran	Lu	19
006	Kell	Kel	31
007	Lewis	Le	6
008	Duffy	Fy	6
009	Kidd	Jk	3
010	Diego	Di	21
011	Cartwright	Yt	2
012	Xg	Xg	2
013	Scianna	Sc	7
014	Dombrock	Do	6
015	Colton	Co	3
016	Landst./ Wiener	Lw	3
017	Chido/ Rodgers	Ch/Rg	9

ISBT-Nr.	System	ISBT-Symbol	Anzahl der Antigene
018	Hh	H	1
019	Kx	Xk	1
020	Gerbich	Ge	8
021	Cromer	Crom	15
022	Knops	Knops	9
023	Indian	In	4
024	Ok	Ok	1
025	Raph	Raph	1
026	John Milton Hagen	Jmh	5
027	I	I	1
028	Globoside	Glob	1
029	Gill	Gil	1
030	Rh-associated glycoprotein	<i>RHAG</i>	3

2.3.1 Funktion erythrozytärer Antigene

Die als Antigene wirksam werdenden Strukturen dienen unterschiedlichen Funktionen, wie z.B. dem Transport von Wasser, Zuckern u.a. durch die Zellmembranen hindurch, fungieren als Rezeptoren bzw. als Adhäsionsmoleküle, Enzyme oder Strukturproteine (Flegel und Wagner 2010). Tab. 4 bietet eine Übersicht über die einzelnen Antigene und deren Funktion.

Tab. 4: Funktion der erythrozytären Antigene
(Quelle: Flegel und Wagner 2010)

Proteintyp	ISBT-Nr.	System	Ligand / Substrat
Glykosyltransferase	001	AB0	N-Acetylgalaktosamin Galaktose
	007	Lewis	Fukose
	018	Hh	Fukose
	027	I	N-Acetylglucosamin
	028	Globoside	Galaktose
Glykophorin	002	MNS	Nicht bekannt
	020	Gerbich	Nicht bekannt
Membrantransporter	004	Rhesus	NH ₃ ? CO ₂ ?
	009	Kidd	Harnstoff
	010	Diego	Anionen, NO
	015	Colton	Wasser
	029	Gill	Wasser, Glycerin
Membrantransporter ?	019	Kx	Nicht bekannt
Adhäsionsmolekül	005	Lutheran	Laminin 10, Laminin 11
	013	Scianna	Nicht bekannt
	016	Landst./ Wiener	Diverse Integrine

Proteintyp	ISBT-Nr.	System	Ligand / Substrat
	023	Indian	Hyaluronsäure, diverse Proteine
Adhäsionsmolekül ?	012	Xg	Nicht bekannt
	024	Ok	Nicht bekannt
	026	John Milton Ha- gen	Nicht bekannt
Ektoenzym	006	Kell	„big endothelin 3“
	011	Cartwright	Acetylcholin
	014	Dombrock	ADP-Ribose
Bindungsprotein	008	Duffy	IL8, Rantes, MGSA, MCP-1
Komplement	0017	Chido/ Rodgers	C4
Komplementregulator	021	Cromer	„decay-accelerating Factor“
	022	Knops	Komplementrezeptor 1
Nicht bekannt	003	P	
	025	Raph	

2.3.2 Die Antigene des Rhesussystems

Das Rhesussystem und das AB0-System sind die klinisch bedeutsamsten Blutgruppensysteme. Das Rhesussystem wurde von Levine und Stetson erstmals beschrieben (Levine und Stetson 1939). Auch Wiener und Landsteiner untersuchten das Rhesussystem (Landsteiner und Wiener 1940). In der Literatur werden sie als Entdecker geführt. Im Vergleich zum AB0-System hat es wesentlich mehr Antigene (s. Tab.3). Klinisch bedeutsame Rhesusantigene sind u.a. C, c, E, und e, das wichtigste Antigen aber ist das Antigen D. Diese Gene des Rhesussystems liegen verteilt auf 2 eng benachbarten Genloci auf dem kurzen Arm des Chromosoms 1. Auf dem Locus 1 findet sich, sofern vorhanden, das Rhesus-D-Gen, auf dem Locus 2 ist das Rhesus-CE-Gen zu finden (Eckstein und Zimmermann 2010). Zum Rhesusantigen D existiert kein gegensätzliches (antithetisches) Antigen „d“, es wird lediglich beim Schreiben der Rh-Formel benutzt, um das Fehlen des D-Antigens zu kennzeichnen (Flegel und Wagner 2010). Das Rhesusantigen D ist klinisch deshalb so relevant, weil es als stark immunogen eingeschätzt wird. Bislang wurde von Immunisierungsfrequenzen von bis zu 85 % ausgegangen (Mollison et al. 1997). Die Rhesusantigene C und E sind deutlich weniger immunogen. Da nicht einmal 5 % der ce-Individuen nach Transfusion von C- oder E-positiven EK Antikörper bilden, ist eine prophylaktische Berücksichtigung dieser Merkmale allenfalls bei der Versorgung von Frauen im gebärfähigen Alter bzw. bei Patienten mit langfristige Transfusionsbedarf angezeigt (Müller et al. 2001).

Ursprünglich wurde zur Kennzeichnung der Rhesustypen die Wienersche Nomenklatur (nach Alexander S. Wiener) verwendet. Sie beruht auf der Theorie, wonach für die Rhesusantigene nur ein einzelnes Gen kodiert. Abgelöst wurde diese Nomenklatur durch die Einführung der CDE-Nomenklatur von Fischer und Race. Sie basiert auf der Annahme, dass 3 Paare gekoppelter alleler Gene, darunter das Gen "d", an 3 benachbarten Loci homologer Chromosomen lägen. Die CDE-Nomenklatur hat sich durchgesetzt, die Wienersche Nomenklatur wird jedoch trotzdem häufig noch angegeben (Eckstein und Zimmermann 2010).

Tab. 5 zeigt die Rhesusphänotypen und ihre Frequenz innerhalb der mitteleuropäischen Bevölkerung sowohl nach CDE- als auch nach Wienerscher Nomenklatur.

Tab. 5: Die Rhesusphänotypen und ihre Frequenz in der mitteleuropäischen Bevölkerung (Quelle: Flegel und Wagner 2010)

CDE-Nomenklatur	Wienersche Nomenklatur	Häufigkeit
CcD.ee	R1r	35,6 %
CCD.ee	R1R1	19,5 %
ccddee	rr	15,8 %
CcD.Ee	R1R2	12,5 %
ccD.Ee	R2r	11,3 %
ccD.EE	R2R2	2,0 %
ccD.ee	R0r	1,7 %
Ccddee	r'r	0,8 %
ccddEe	r''r	0,4 %
Seltenerer Rhesusformeln zusammen		< 0,4 %

2.3.3 Bedeutung erythrozytärer Antigene in der Transfusionsmedizin

Die Relevanz der Antigene ergibt sich aus der Agglutination durch die gegen sie gerichteten Antikörper. Bei diesen Antigen-Antikörperreaktionen können lebensbedrohliche Komplikationen entstehen.

Der Rhesusfaktor ist das bislang als stärkstes Immunogen bekannte erythrozytäre Antigen. Seither wurde eine Immunisierungsfrequenz Rh-(D)-negativer Patienten nach Exposition mit Rh-(D)-positiven EK von 80 % - 85 % angenommen (Eckstein und Zimmermann 2010, Flegel und Wagner 2010, Mollison et al. 1997). Studien, die so hohe Immunisierungsfrequenzen ergeben, basieren oftmals auf Untersuchungen mit Blutzubereitungen, die den heutigen Standards (z.B. Komponenten-Therapie, Leukozyten-Depletion, Additiv-Lösung) nicht mehr entsprechen. So geben Pollack et al. (1971) Fre-

quenzen von 81,8 % an, Cook und Rush (1974) detektierten Rh-Antikörper sogar bei 95 % der Patienten. In anderen Studien wurde anstelle eines repräsentativen Patientenkollektivs eine Gruppe freiwilliger, gesunder Männer immunisiert und es wurden Immunisierungsfrequenzen von 80 % bzw. 93 % gefunden (Gunson et al. 1970, Urbaniak und Robertsen 1981). Neuere Studien gehen von bedeutend geringerer Immunisierungswahrscheinlichkeit (10 % - 30 %) nach Rh-(D)-inkompatibler Transfusion aus (Dutton et al. 2005, Flommersfeld et al. 2008, Frohn et al. 2003, Ramsey et al. 1989, Yazer und Triulzi 2007).

2.4 Antikörper

Die Antikörper lassen sich in 2 große Gruppen einteilen, die der regulären Antikörper (Isoantikörper) und die der irregulären Antikörper (Alloantikörper).

Die Isoantikörper des AB0-Systems, auch Isoagglutinine genannt, kommen regelhaft bei fast jedem Menschen vor. Diese Antikörper sind antigenkonträr, also gegen Antigene gerichtet, die körperfremd sind, folglich im betreffenden Menschen selbst nicht vorkommen. Viele in der Natur vorkommende Strukturen ähneln den erythrozytären Antigenen A und B (Silberstein 1995). So stehen Substanzen auf bestimmten gramnegativen Bakterien wie z.B. *Escherichia coli* und Proteine der Influenza-Viren in Zusammenhang mit der Bildung von Anti-A- bzw. Anti-B-Antikörpern (van OSS 2004). Durch Kontakt mit diesen Oberflächenstrukturen kommt es im Laufe des ersten Lebensjahres zur Sensibilisierung und somit zur Antikörperbildung (Flegel und Wagner 2010).

2.4.1 Bildung irregulärer Antikörper

Anders als die regulären Antikörper des AB0-Systems werden die gegen die Rhesus-Antigene gerichteten Antikörper erst nach Exposition mit dem Antigen gebildet. Eine Ausnahme bilden hier lediglich in seltenen Fällen natürlich gebildete Antikörper gegen Anti-E und Anti-C^w (Issit und Anstee 1999).

Irreguläre Antikörper können so beispielsweise nach einer Schwangerschaft oder inkompatibler Transfusion nachgewiesen werden (Avent und Reid 2000). Sie werden daher auch als Immunantikörper bezeichnet (Klein und Anstee 2005). Man geht davon

aus, dass die Antikörperbildung nach den Prinzipien der adaptiven Immunantwort abläuft (Jakobowicz et al. 1972).

Bei der Übertragung von Erythrozyten eines anderen Menschen kommt es zunächst zur Präsentation von deren allogenen, membrangebundenen Antigenen. Im Falle des Rhessystems sind dies Peptide. Die Antigen-Präsentation geschieht in der Folge des physiologischen Abbaus der Erythrozyten in den Zellen des retikulo-endothelialen Systems. Dendritische Zellen, B-Lymphozyten und Makrophagen wirken als Antigen-präsentierende Zellen und nehmen die Antigenmoleküle bei Erstkontakt auf. Im Inneren dieser immunkompetenten Zellen erfolgt durch Proteolyse die Fragmentierung der Antigenmoleküle. Die Antigenbruchstücke werden mit Hilfe von Haupthistokompatibilitätskomplexen (MHC, von engl. "major histocompatibility complex") auf den Membranoberflächen der T-Zellen präsentiert. Durch ein Zusammenspiel von T-Helferzellen, Veränderungen des Zytokinmilieus und letztlich durch Aktivierung von Antigen-spezifischen B-Lymphozyten kommt es in deren Zellinneren zur Bildung von Antikörpern, die gegen die als fremd erkannten erythrozytären Antigene gerichtet sind.

Findet diese Antigenpräsentation und die oben beschriebene Wirkungskaskade erstmals im Empfängerorganismus statt, so spricht man von primärer Immunisierung. Dieser auf den Erstkontakt folgende Wirkungsablauf ist die primäre Immunantwort. Bei dieser werden zunächst überwiegend Antikörper der Klasse IgM gebildet. Nach 2-4 Wochen differenzieren sich die antigenspezifischen B-Zellen teilweise zu B-Gedächtniszellen und bilden durch T-Zell-vermittelte Änderung des Zytokinmilieus IgG-Antikörper. Dieser Wechsel der Antikörperklasse wird als "Klassenswitch" bezeichnet. Die Antikörper der Rhesusantigene sind also letztlich Antikörper der Klasse IgG (Neumann 2008, Issitt und Anstee 1999). Untersucht man die Unterklassen dieser IgG-Antikörper genauer, so lässt sich feststellen, dass es sich bei ihnen um solche der Klassen IgG1 und IgG3 handelt (Issitt und Anstee 1999).

Auf die Sekundärimmunisierung, den Booster-Effekt, wird in Kapitel 2.5.1.2 Verzögerte hämolytische Transfusionsreaktionen eingegangen.

2.5 Rhesusantikörper

Antikörper der Klasse IgG, wie die des Rhesussystems, unterscheiden sich hinsichtlich einiger ihrer Eigenschaften von denen anderer Antikörperklassen. Während Antikörper der Klasse IgM, wie die des AB0-Systems, meist “Kälteantikörper“ sind, also bei 4 °C am stärksten reagieren, sind die IgG-Antikörper des Rhesussystems “Wärmeantikörper“. Ihr Temperaturoptimum liegt bei 37 °C. Die Antikörper der Klasse IgG haben 2 Antigenbindungsstellen, während die Antikörper der Klasse IgM 10 Bindungsstellen aufweisen. In Abb. 1 und Abb. 2 sind die Antikörper mit ihren Antigenbindungsstellen dargestellt.

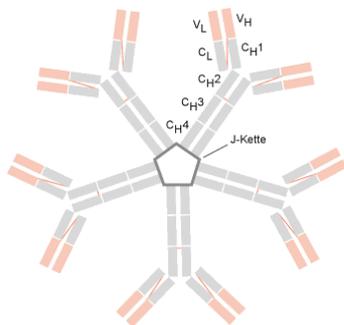


Abb. 1: Antikörper der Klasse IgM
(Quelle: Schütt und Bröker (2011))

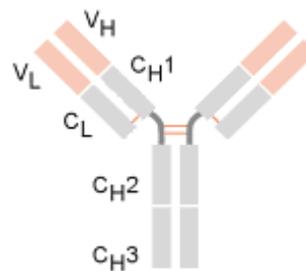


Abb. 2: Antikörper der Klasse IgG
(Quelle: Schütt und Bröker (2011))

Sie unterscheiden sich auch in ihren Molekulargewichten und anderen Eigenschaften. Tab. 6 stellt diese Unterschiede der Antikörperklassen IgG und IgM gegenüber, die u.a. mit der sehr verschiedenen Molekülgröße (bzw. Molmasse) zusammenhängen.

Tab. 6: Vergleich der Antikörperklassen IgG und IgM
(Quelle: nach Georg-August-Universität Göttingen (2008))

	IgM-Antikörper	IgG-Antikörper
Molmasse	900.000 g/mol	150.000 g/mol
Antigen-Bindungsstellen	10	2
Überbrückungsstrecke	30nm	14 nm
Komplementaktivierung	ausgeprägt	mäßig (IgG1 und IgG3)
Plazenta-Passage	Nein	Ja
Biologische Halbwertszeit	5 Tage	20-30 Tage
Reaktionsoptimum	Kälte (4 °C)	Wärme (37 °C)

2.5.1 Bedeutung der Rhesusantikörper

Die erythrozytären Antikörper unterscheiden sich hinsichtlich ihrer klinischen Relevanz u.a. durch Art und Ort der von ihnen ausgelösten Transfusionsreaktionen. Unterschieden werden u.a. akute und verzögerte hämolytische Transfusionsreaktionen, wobei es zur intravasalen bzw. extravasalen Hämolyse kommen kann.

2.5.1.1 Akute hämolytische Transfusionsreaktionen

Wie in Tab. 6 zu sehen ist, lösen die Rhesus-Antikörper im Gegensatz zu den Antikörpern des AB0-Systems (Antikörper der Klasse IgM) keine Komplementaktivierung und daher auch keine intravasale Hämolyse aus. Somit können Antikörper des Rhesussystems auch keinen Auslöser für akute hämolytische Transfusionsreaktionen darstellen. Sie können jedoch, sofern in ausreichender Menge vorhanden, eine extravasale Hämolyse und somit verzögerte hämolytische Transfusionsreaktionen (DHTR von engl. delayed hemolytic transfusion reaction) bewirken (Murphy und Pamphilon 2001).

2.5.1.2 Verzögerte hämolytische Transfusionsreaktionen

Sind Antikörper nach einer Primärimmunisierung im Laufe der Zeit unter die Nachweisgrenze gesunken, so können sie u.U. bei einem vor der Transfusion stattfindendem Antikörpersuchtest (AKS) übersehen werden. Findet dann eine erneute Exposition mit dem Antigen statt, kommt es zur Sekundärimmunisierung. Bei dieser Immunantwort kommt es zum Booster-Effekt. Die bei der Primärimmunisierung gebildeten B-Gedächtniszellen bilden bei wiederholtem Kontakt zu dem bekannten Antigen sehr schnell viele IgG-Antikörper. Im Rhesussystem sind diese innerhalb einiger Tage gebildeten Anti-(D)-Antikörper der Klasse IgG für die hämolytische Transfusionsreaktion verantwortlich.

Durch die entstehenden Antigen-Antikörper-Komplexe kommt es zur extravasalen Hämolyse mit folgenden Symptomen:

- Fieber
- Hämolyse
- Hb-Abfall
- Hämoglobinurie
- Ikterus
- in seltenen Fällen Hypotonus und Nierenversagen (6 %)
- letale Verläufe möglich (im Zusammenhang mit der Grunderkrankung)

Treten diese Symptome auf, dann zumeist in einem Zeitraum von 5-10 Tagen nach der erneuten Exposition. Bekannt sind allerdings auch Fälle, in denen bereits nach 24 h Symptome auftraten. Auch bis zu 3 Wochen nach Transfusion konnten noch Reaktionen beobachtet werden. (Knowles 2001).

Wenn ein Antikörper vor der Transfusion im AKS aufgrund des niedrigen Titers nicht mehr nachweisbar ist, so können darauf beruhende Transfusionsreaktionen nicht vorhergesehen werden. Daher ist die Kontrolle auf eventuell gebildete Rh-Antikörper nach erstmaliger inkompatibler Transfusion von Rh-(D)-positiven EK, wie in den Leitlinien der Bundesärztekammer vorgeschrieben, nach 2 – 4 Monaten durchzuführen. Wird ein Antikörper detektiert, so haben eine Aufklärung darüber und eine Dokumentation in einem Notfallpass zu erfolgen. Man tut gut daran, nicht nur bei Mädchen und Frauen im gebärfähigen Alter, sondern auch bei Patienten mit vorhersehbarem erneutem Transfusionsbedarf, also beispielsweise Patienten mit chronischer Anämie, stets darauf zu achten, “Rh-Formel kompatibel“ zu transfundieren. Ein gebildeter Antikörper könnte die Versorgung dieser Patienten erheblich erschweren, seine Bildung ist daher zu vermeiden.

2.5.1.3 Bedeutung bei Schwangerschaft und Geburt

Antikörper der Klasse IgG sind aufgrund ihrer geringen Molekülgröße in der Lage, die Plazentaschranke zu passieren, dadurch tragen sie zum Infektionsschutz des Neugeborenen bei (Fleischer und Hörauf 1999).

Die Plazentagängigkeit der IgG-Antikörper ist auch für das Auftreten des Morbus haemolyticus neonatorum (Mhn) verantwortlich. Ist eine Rh-(D)-negative Mutter in einer ersten Schwangerschaft durch ein Rh-(D)-positives Kind oder zuvor durch Rhesus-inkompatible Bluttransfusionen immunisiert worden, so kann es bei einer Schwangerschaft mit einem weiteren Rh-(D)-positiven Feten zum Übertritt der mütterlichen Rh-Antikörper in den fetalen Kreislauf kommen. Die Zahl der in der ersten Schwangerschaft bzw. bei der inkompatiblen Transfusion gebildeten Antikörper ist meist zu gering, um intrauterin Auswirkungen auf den ersten Fetus zu haben. Erst bei erneuter Exposition kommt es durch den Booster-Effekt zur Bildung und zum Übertritt einer relevanten Anzahl von IgG-Antikörpern in den kindlichen Blutkreislauf. Dort binden die Antikörper an die erythrozytären Antigene und bilden Antigen-Antikörper-Komplexe, was zur Agglutination führt. Die Folge der Antigen-Antikörper-Bindung ist ein vermehrter und vorzeitiger Abbau der fetalen Erythrozyten. Aufgrund der fetalen Anämie kommt es zur gesteigerten extramedullären Blutbildung in Leber und Milz des Feten und unreife Erythrozyten treten in die Blutbahn des Kindes ein. Bedingt durch diese extramedulläre Blutbildung weisen die betroffenen Kinder oft eine Hepatosplenomegalie auf. Im peripheren Blut sind Erythroblasten und Retikulozyten als Zeichen der gesteigerten Hämatopoese in erhöhter Zahl vorhanden. Je nach Ausprägung der Erkrankung besteht eine unterschiedlich schwere Anämie, ein Icterus præcox oder ein Icterus gravis. In besonders ausgeprägten Fällen kommt es zum hydrops fetalis. Seit Einführung der Rhesus-Prophylaxe wurde die schwangerschaftsinduzierte Rhesus-Immunisierung um 90 % reduziert, so dass inzwischen auf 100 000 Geburten nur noch 50 Anti-D-Erythroblastosen auftreten. Seitdem sind Antikörper gegen andere erythrozytäre Antigene (Duffy, Kell, AB0 u.a.) für die meisten Fälle von Mhn verantwortlich (Eckstein und Zimmermann 2010).

2.5.2 Detektion der Rhesusantikörper

Der Antikörpersuchtest beruht auf einer Agglutinationsreaktion (Antigen-Antikörper-Reaktion).

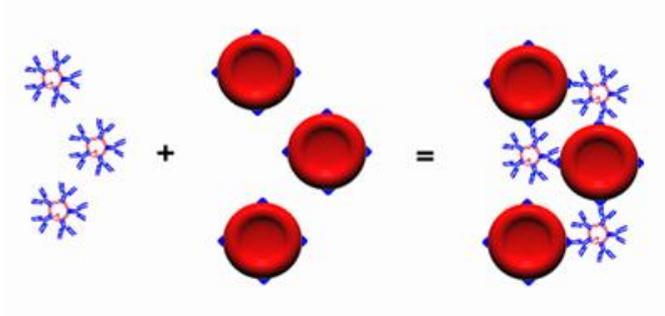


Abb. 3: Prinzip der Agglutination
(Quelle: UK Würzburg (2011a))

Wie in Abb. 3 zu sehen ist, kommt es beim Aufeinandertreffen von mit Antigen beladenen Erythrozyten und korrespondierenden Antikörpern (im Beispiel in Abb. 3 sind Antikörper der Klasse IgM symbolisiert) zur “Verklumpung“ (=Agglutination) der Erythrozyten mit den Antikörpern. Die entstandenen Agglutinate sind größer als einzelne Erythrozyten und können u.a. mittels der in dieser Arbeit angewandten Geltechnik (s. Kapitel 2.5.2.1 Prinzip des Antihumanglobulintestes (AHG-Test)) nachgewiesen werden.

IgM Antikörper (s. Abb. 4: “Darstellung kompletter Antikörper der Klasse IgM“) sind aufgrund ihrer Größe auch in physiologischer Kochsalzlösung zur Agglutination in der Lage, daher werden sie “komplette Antikörper“ genannt. Die IgG-Antikörpermoleküle (s. Abb. 5: Darstellung inkompletter Antikörper der Klasse IgG“) des Rhesus-Systems sind kleiner. Aufgrund ihrer geringen Molekülgröße wirken sie in Kochsalzlösung nicht agglutinierend und werden deshalb als “inkomplette Antikörper“ bezeichnet.

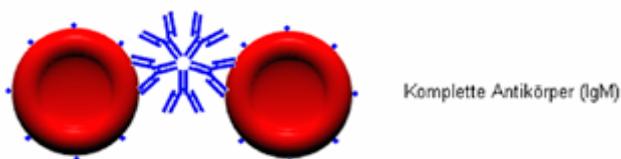


Abb. 4: Darstellung kompletter Antikörper der Klasse IgM
(Quelle: UK Würzburg (2011b))

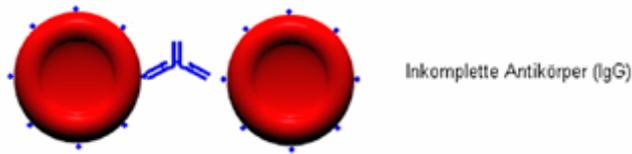


Abb. 5: Darstellung inkompletter Antikörper der Klasse IgG
(Quelle: UK Würzburg (2011b))

Um eine sichtbare Agglutination zu ermöglichen, bedarf es bei Antikörpern der Klasse IgG der Zugabe von weiteren Hilfsmitteln. Hierzu stehen so genannte Supplemente („Verstärkermedien“) zur Verfügung (Salama und Heymann 2010).

Als solche dienen:

- Albumin oder Dextran: Sie reduzieren die negative Aufladung der Erythrozytenmembran, durch die dann resultierende verminderte elektrostatische Abstoßung wird die Agglutination erleichtert.
- Bestimmte Enzymmilieus (z.B. Bromelin, Papain): Die Erythrozytenmembran wird „angedaut“, es kommt so zur verstärkten Freilegung der Antigene.
- LISS (=low ionic strength solution): Auch diese vermindert die negative Ladung der Erythrozytenmembran.
- Coombs-Milieu: Quervernetzung der mit Antikörper beladenen Erythrozyten durch Antihumanglobulin.

2.5.2.1 Prinzip des Antihumanglobulintestes (AHG-Test)

Der AHG-Test (=indirekte Coombs-Test (ICT)) ist eine Form der Agglutination und wird verwendet, um im Plasma zirkulierende inkomplette Antikörper nachzuweisen bzw. auszuschließen.

Mithilfe des Coombs-Serums kann die Agglutination sichtbar gemacht werden. Das Coombs-Serum (Antihumanglobulin) dient zur Überbrückung der Distanz zwischen den mit inkompletten Antikörpern beladenen Erythrozyten mittels Antihumanglobulin.

In den Abbildungen 6-8 ist das Funktionsprinzip des ICT gezeigt.

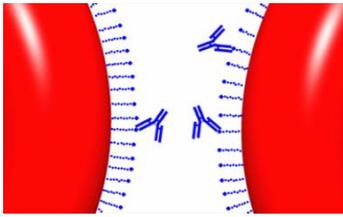


Abb. 6: Bindung inkompletter Antikörper
(Quelle: UK Würzburg (2011b))

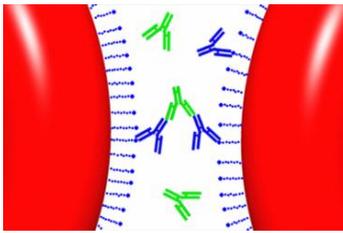


Abb. 7: Zugabe des Coombs-Serum
(Quelle: UK Würzburg (2011b))

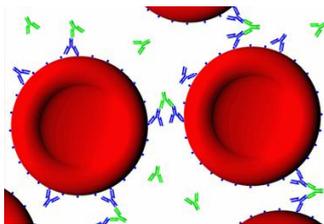


Abb. 8: Agglutination
(Quelle: UK Würzburg (2011b))

Das Prinzip des Coombs-Tests beruht also auf der Agglutination von auf den Testerythrozyten vorhandenen Antigenen mit den im Patientenplasma korrespondierenden Antikörpern (Salama und Heymann 2010).

Wie oben beschrieben kommt es durch die vorherige Papainisierung der Erythrozyten zur verstärkten Freilegung der Antigene. Dadurch wird die Agglutination erleichtert.

In der vorliegenden Arbeit erfolgte der Antikörpersuchtest mit dem indirekten Coombs-Tests im ScanGel Kartensystem der Firma BioRad. Bei einigen Proben wurde zur Kontrolle der AKS zusätzlich im Papain-Milieu durchgeführt. Nachstehend wird der Nachweis der Agglutination mit Hilfe dieses Gel-Tests beschrieben.

2.5.2.2 Durchführung des AHG-Testes mittels Geltest

Bei diesem Test werden die entstandenen Agglutinine in mit speziellen Gel-Kügelchen gefüllten Säulen nachgewiesen. Die Gelmatrix enthält Antihumanglobulin (= Coombs-Serum).

Die Testerythrozyten (zur Antikörperdetektion werden üblicherweise 2-3 verschiedene verwendet, welche die wesentlichen Erythrozytenantigene in bekannter Verteilung tragen) und das Patientenplasma werden in den oberen Teil der dafür vorgesehenen Röhrchen gefüllt und bei 37 °C inkubiert. Anschließend wird der Ansatz zentrifugiert. Kam es während der Inkubationszeit zu einer Agglutinationsreaktion, so werden die entstandenen großvolumigen Agglutinate während der Zentrifugation durch die Gel-Kügelchen am Herabsinken gehindert und bilden einen sichtbaren roten Belag auf der Oberfläche des Gels. Sind keine Antikörper im Patientenplasma und eine Agglutinationsreaktion bleibt dementsprechend aus, so werden die nicht agglutinierten Erythrozyten bei der Zentrifugation durch die feinen Poren des Gels gedrückt und sammeln sich am Boden der Säulen. Dort sind sie am Ende der Zentrifugation als roter "Knopf" zu sehen. Das Funktionsprinzip der Gelkarten ist in Abb. 9 dargestellt.

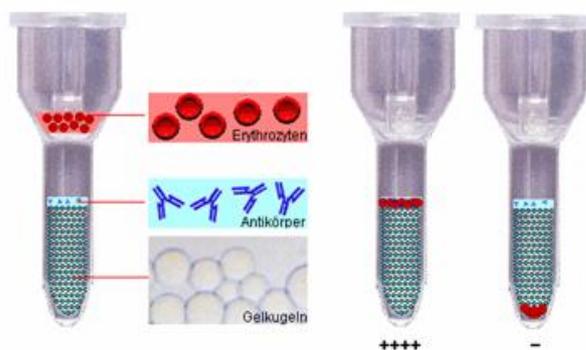


Abb. 9: Funktionsprinzip des Geltests
(Quelle: UK Würzburg (2011a))

Kommt es lediglich zu einer schwachen Agglutinationsreaktion, bilden sich kleinere Agglutinate, die teilweise durch das Gel gedrückt werden; die Erythrozyten sedimentieren je nach Agglutinationsgrad auf verschiedener Höhe des Gels. (Salama und Heymann 2010). Bei der Antikörperdetektion im Papain-Milieu werden bereits papainisierte Suchzellen verwendet. Die patienteneigenen Erythrozyten für die Eigenkontrolle werden zuvor papainisiert. Der AKS mit diesen Erythrozyten erfolgt dann in

NaCl-Karten in einem neutralen Gel. Die Durchführung des AKS ist identisch mit der oben beschriebenen Durchführung des AKS mit Coombs-Serum.

Fällt eine Reaktion bei dieser sensitiven Technik negativ aus, so wird der Antikörpersuchtest als negativ ohne Hinweise auf das Vorliegen eines erythrozytären Antikörpers zum Zeitpunkt der Untersuchung gewertet. Kommt es jedoch zur Agglutination, so gelten irreguläre Antikörper als nachgewiesen. In diesem Fall ist eine Antikörperdifferenzierung durchzuführen.

2.5.2.3 Differenzierung der Antikörper

Fällt der Antikörpersuchtest positiv aus, dann sind ein oder mehrere Antikörper im Patientenplasma vorhanden. Die Differenzierung der Antikörper erfolgt nach dem gleichen Prinzip wie der Antikörpersuchtest, doch werden hier anstelle der 2-3 Testerythrozyten 8-12 unterschiedliche Zellen verwendet (sog. Test-Panels).

Bei genauer Kenntnis der Antigene auf den Testerythrozyten kann aus dem Agglutinationsmuster auf die Art des/der Antikörper(s) geschlossen werden.

2.5.3.4 Bestimmung des Antikörpertiters

Wurde ein Antikörper im Antikörpersuchtest detektiert und in der Differenzierung bestimmt, so folgt die Titerbestimmung, um die Konzentration des Antikörpers im Patientenplasma zu messen. Dazu wird vom Patientenplasma mit dem zuvor bestimmten Antikörper eine Verdünnungsreihe mit physiologischer Kochsalzlösung im Röhrchen angefertigt. Anschließend werden die abgestuft konzentrierten Plasma- oder Serumproben mit standardisierten Mengen der Testerythrozyten, die das korrespondierende Antigen aufweisen, vermischt. Durch Augenschein lässt sich nun feststellen, bis zu welcher Verdünnungsstufe es zu einer Agglutinationsreaktion kommt. Die Stufe mit einer gerade noch erkennbaren Agglutination ist ein Maß für den Antikörpergehalt.

2.6 Einflussfaktoren auf die Bildung und Detektion der Rhesusantikörper

Wie in Kapitel 2.3.3 Bedeutung erythrozytärer Antigene in der Transfusionsmedizin bereits erwähnt, schwankt der Anteil der angegebenen Rh-(D)-Immunisierungsfrequenzen in der Literatur zwischen 10 % und 85 %. Zum Teil lässt sich diese große Spanne durch verschiedene Studiendesigns erklären. Studien, in denen nur gesunde Männer immunisiert wurden, wie die von Gunson et al. (1970), ergaben Frequenzen von 80 % und mehr. In neueren Studien hingegen, die an repräsentativen Patientenkollektiven durchgeführt und in denen Blutzubereitungen verwendet wurden, die heutigen Standards entsprechen, ergaben sich bedeutend geringere Immunisierungsfrequenzen. So wird in der aktuellen Literatur von Immunisierungswahrscheinlichkeiten von 10 % - 30 % nach Rh-(D)-inkompatibler Transfusion ausgegangen (Dutton et al. 2005, Flommersfeld et al. 2008, Frohn et al. 2003, Ramsey et al. 1989, Yazer und Triulzi 2007).

2.6.1 Patientenbezogene Faktoren

Das Alter der Patienten wird in vielen Studien als Einflussfaktor auf die Immunisierungsrate diskutiert. In einer Studie ermitteln Gonzales-Porras et al. eine Rh-(D)-Immunisierungsrate von 22 %. Dort wird dem Alter der Patienten, sofern dies unter 77 Jahren läge, der wichtigste Einfluss auf die Immunisierungsrate zugeschrieben (Gonzales-Porras et al. 2008).

Neben dem Alter wird auch das Geschlecht als wesentlicher Einflussfaktor diskutiert. Yazer und Triulzi fanden in einer 2007 durchgeführten Studie heraus, dass mehr Frauen als Männer immunisiert wurden (Yazer und Triulzi 2007).

Außerdem wurde untersucht, ob sich die Krankheit, bzw. die damit einhergehende Schwere der Beeinträchtigung des Immunsystems ausschlaggebend auf die Immunisierungsrate auswirkt. Casanueva et al. (1994) berichten beispielsweise von einer Immunisierungsrate von 0 % bei lebertransplantierten und immunsupprimierten Patienten. In anderen Studien wurde untersucht, ob die Immunisierungsrate durch maligne Prozesse bzw. Chemotherapie sinkt (Holohan et al. 1981, Huh und Lichtiger 1987, Dutcher et al. 1981).

2.6.2 Iatrogen bedingte Faktoren

Neben den vom Patienten selbst ausgehenden Einflussfaktoren auf die Antikörperbildung wurde auch der Einfluss der transfundierten Blutkomponenten untersucht. So wurde der Zusammenhang zwischen der Anzahl der Gabe der Antigen-positiven Blutkomponenten und der Immunisierungsfrequenz geprüft (Flommersfeld et al. 2008, Frohn et al. 2003).

Neben der Anzahl und der Zubereitung der antigeninkompatiblen Erythrozytenkonzentrate selbst wurde auch der Einfluss weiterer transfundierter Blutkomponenten untersucht. So wurde u.a. auch eine immunmodulatorische Wirkung von Erythrozyten, Leukozyten, Plasma und Thrombozyten diskutiert (Heiss und Delanoff 1997). Ein immunmodulatorischer Einfluss der antigenkompatiblen Erythrozytentransfusion wird seit Einführung der Leukozytendepletion (Paul-Ehrlich-Institut 2000) als nicht mehr relevant beschrieben (Blumberg et al. 2003). In Deutschland erfolgte die Einführung der Leukozytendepletion am 1.10.2001. Da aktuelle Studien jedoch nicht zu einem einheitlichen Ergebnis gelangen (Bein 2010), wurde in vorliegender Arbeit zusätzlich zur Menge der transfundierten Rh-(D)-positiven EK, dem Plasma und den Thrombozyten auch der Umfang der Rh-(D)-negativen EK erfasst. Es soll die Überlebenszeit transfundierter Erythrozyten durchschnittlich bei ca. 60 Tagen liegen, die mittlere Lebensdauer selbst gebildeter hingegen beträgt 120 Tage (Eckstein und Zimmermann 2010, Salama und Welte 2010). Um einen eventuellen immunmodulatorischen Effekt der antigenkompatiblen EK sicher zu berücksichtigen, wurden alle transfundierten antigenkompatiblen EK bis 120 Tage vor der Exposition ebenfalls erfasst.

Thrombozyten tragen zwar keine Rhesus-Antigene (Dunstan et al. 1984), aufgrund einer Verunreinigung mit Erythrozyten könnten aber auch die transfundierten Thrombozytenkonzentrate (TK) neben immunmodulatorischen Effekten auch einen direkten Einfluss auf die Antikörperbildung haben. Aufgrund dieser zwar geringen, aber nicht auszuschließenden Möglichkeit einer Immunisierung werden die den Patienten transfundierten TK Rh-(D)-positiver Spender in der vorliegenden Arbeit ebenfalls aufgelistet. Unter der Annahme, dass sich aufgrund der Gabe Rh-(D)-positiver TK Antikörper gebildet haben könnten, wird auch hier vom optimalen Nachweiszeitraum von 8-16 Wochen ausgegangen. Daher sind alle Rh-(D)-positiven TK aufgelistet, die die Patienten 8-16 Wochen vor dem AKS erhielten. Aufgrund der zwar geringen, aber

eventuell immunmodulatorischen Wirkung der Rh-(D)-negativen TK wurden diese ebenfalls aufgeführt. Da die mittlere Überlebenszeit von Thrombozyten 7 Tagen beträgt, wurden alle die TK berücksichtigt, die 7 Tage vor der Exposition mit Rh-(D)-positiven EK bis zum AKS transfundiert wurden.

Des Weiteren wurde auch das transfundierte Plasma nach der Exposition mit aufgeführt, um eine plasmabedingte Immunmodulation berücksichtigen zu können.

Zwei weitere wichtige Faktoren finden sich in der aktuellen Literatur: Zum Einen die Bedeutung des Expositionszeitraumes und zum Anderen der Einfluss einer eventuellen Reexposition (Schonewille et al. 2006), denn deren Wirkung auf die Immunisierung ist noch nicht abschließend geklärt. Patienten, die eine Anti-(D)-Antigen Reexposition erfahren, sind daher in der vorliegenden Arbeit extra gekennzeichnet.

2.6.3 Mess- und labortechnische Faktoren

Wesentlich für die Detektion von Antikörpern ist der Zeitpunkt des Antikörpersuchtests. Wie bereits erwähnt empfiehlt die Bundesärztekammer einen AKS 2 bis 4 Monate nach Rh-(D)-inkompatibler Transfusion durchzuführen. Die Wahl dieses Zeitraums ergibt sich nach einer durch die Verfasserin eingeholten Auskunft bei der Bundesärztekammer u.a. aus einer Studie von Redman et al. (1996). In ihr wurde bei den Patienten in Zeiträumen von 2 bis 24 Wochen nach der Transfusion erstmals ein Antikörper detektiert, im Durchschnitt ließen sich die Antikörper nach 8,3 Wochen nachweisen. Außerdem macht es keinen Sinn, die Antikörper zu einem Zeitpunkt detektieren zu wollen, zu dem ihre Konzentration bereits wieder unter die Nachweisgrenze gesunken ist. Etwa 40 % aller Antikörper lassen sich nach der erstmaligen Detektion in einem zu einem späteren Zeitpunkt durchgeführten AKS nicht mehr nachweisen (Schonewille et al. 1999).

Zur Detektion der Antikörper wird auch am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf der Indirekte-Coombs-Test (ICT) mittels Gel-Methode durchgeführt. Nach Einführung der Gel-Methode vor ca. 20 Jahren wurden die Messergebnisse mit denen des bis dahin gängigen Liss/Coombs-Röhrchen-Test (LC-RT) verglichen und für gleichwertig bzw. überlegen befunden (Lynen et al. 1992, Strunk 1991). Lynen et al. fanden außerdem heraus, dass die Gel-Methode bei der Detektion von Rhesus-Antikörpern in der Sensitivität der von Enzymtests mit Bromelin entspricht.

Um sicherzustellen, dass alle gebildeten Antikörper detektiert werden, wurden in der vorliegenden Arbeit die Mehrzahl der Proben verblindet auch im Papain-Milieu auf Antikörper untersucht.

3 Material und Methoden

3.1 Patientenkollektiv

In die Untersuchung wurden konsekutiv alle Rh-(D)-negativen Patienten eingeschlossen, denen zwischen März 2010 und April 2011 mindestens ein Rh-(D)-positives Erythrozytenkonzentrat transfundiert worden war. Bei allen Patienten war vor der Transfusion ein Antikörpersuchtest durchgeführt worden. Dieser, in der Geltechnik durchgeführte AHG-Test, war bei allen negativ ausgefallen, in keinem Fall fanden sich vorab Antikörper. Bei keinem Patienten fand ein AKS vor Transfusion im Papain-Milieu statt.

Innerhalb von 14 Monaten wurden 76 Patienten in die Untersuchung eingeschlossen, wovon 23 verstarben. Bei 17 war dies noch vor Ablauf der 2 Monate bis zum erstmals möglichen Untersuchungszeitpunkt der Fall. 4 weitere Patienten verstarben, bevor die Probenentnahme durchgeführt werden konnte, bei 2 Patienten konnte der Todeszeitpunkt nicht ermittelt werden. Bei 5 der 76 Patienten wurde auf eine Blutentnahme verzichtet (Entfernung zum Wohnsitz >60 km). Bei 2 Patienten wurde das Einverständnis in die Untersuchung nicht erhalten.

Die verbleibenden 46 Patienten wurden innerhalb des vorgeschriebenen Zeitraumes nach der Rh-(D)-inkompatiblen Transfusion auf Antikörper getestet. 15 der Patienten wurden für die Blutprobenentnahme zuhause aufgesucht. Bei den anderen Patienten konnte die Entnahme im Rahmen einer Nachuntersuchung oder eines erneuten bzw. noch andauernden Aufenthaltes im UKE erfolgen. Die Auswahl des Untersuchungszeitraums erfolgte richtlinienkonform: „Bei einer Transfusion von Rh positiven (D positiv) Präparaten auf Rh-negative (D negativ) Patienten hat der weiterbehandelnde Arzt eine serologische Untersuchung 2–4 Monate nach Transfusion zur Feststellung eventuell gebildeter Antikörper zu veranlassen“ (zitiert aus Bundesärztekammer 2010).

3.2 Weitere Kriterien

Es wurde eine Datenbank erstellt, die folgende Kriterien einschließt:

- Geschlecht
- Alter
- Aktuelle Diagnose
- Dauerdiagnosen
- Transfusionsindikation (Blutung, Anämie etc.)
- Transfusionszeitpunkt (intraoperativ, perioperativ, postoperativ)
- Zeitraum von der Exposition bis zum durchgeführten AKS
- Anzahl transfundierter Rh-(D)-positiver EK
- Anteil des transfundierten Hämoglobins (Hb) der Rh-(D)-positiven EK in % des patienteneigenen Hämoglobins (s. Kapitel 3.2.1 Berechnung der Menge des transfundierten Hämoglobins)
- Anzahl Rh-negativer EK 120 Tage vor Exposition bis AKS
- Anzahl Rh-positiver TK 8 - 16 Wochen vor AKS
- Anzahl TK gesamt 7 Tage vor Exposition bis AKS
- Anzahl gefrorenes Frischplasma (GFP) von der Exposition bis zum AKS
- Sonstige Angaben (z.B. ob eine erneute Gabe Rh-(D)-positiven Blutes stattfand)

3.2.1 Berechnung der Menge des transfundierten Hämoglobins

Aus dem Körpergewicht des Patienten lässt sich das Blutvolumen berechnen. Aus diesem Volumen und der durchschnittlichen Hämoglobinkonzentration kann anschließend die Gesamthämoglobinmenge im Empfängerblut ermittelt werden. Als Berechnungsgrundlage wurde ein Blutvolumen von 70 ml/kg für Männer bzw. 65 ml/kg für Frauen angenommen (Scheeren et al. 2010). Die durchschnittliche Hb-Konzentration beträgt für Männern 15,75 g/100ml, für Frauen 13,8 g/100ml (Dengler und Dreger 2010).

Der Hämoglobingehalt eines EK muss nach den derzeit gültigen Richtlinien der Bundesärztekammer ein Hämoglobingehalt von ≥ 40 g/EK haben (Bundesärztekammer 2010). Die am UKE hergestellten EK weisen durchschnittlich einen Hb-Gehalt von 54 ± 5 g/EK auf (die Patienten erhielten überwiegend am UKE hergestellte Konserven).

Teilweise war der Bedarf mit UKE-eigenen Konserven nicht zu decken, so dass manche Patienten auch mit EK anderer Institutionen versorgt wurden. Aber auch bei diesen Konserven kann von einem ähnlichen Gehalt an Hämoglobin ausgegangen werden, so dass der Anteil an Hämoglobin mit 54 g/EK für alle Berechnungen zu Grunde gelegt wurde.

3.2.1.1 Beispielhafte Berechnung des Hämoglobingehalts

Patient X: männlich, 80 kg, 5 transfundierte Rh-(D)-positive EK.

Empirische Blutparameter:

1. Durchschnittliches Blutvolumen beim Mann: 70 ml/kg (Scheeren et al. 2010)
2. Durchschnittlicher Hb-Gehalt beim Mann: 157,5 g/l (Dengler und Dreger 2010)
3. Durchschnittlicher Hb-Gehalt eines am UKE hergestellten EK: 54 g/EK

Berechnung des Blutvolumens

$$80 \text{ kg} \times 0,07 \text{ l/kg} = 5,6 \text{ l Blutvolumen}$$

Berechnung des eigenen Hämoglobins

$$5,6 \text{ l} \times 157,5 \text{ g/l} = 883 \text{ g}$$

Berechnung des transfundierten Hämoglobins in % des eigenen Hämoglobins

$$5 \text{ EK} \times 54 \text{ g/EK} = 270 \text{ g}$$

$$(270 \text{ g} / 883 \text{ g}) \times 100 = 31 \%$$

Patient X sind nach dieser Berechnung 270g Hb transfundiert worden. Dies entspricht 31 % seines körpereigenen Hb.

3.3 Gewinnung der Blutproben

Sofern sich Patienten im jeweiligen Untersuchungszeitraum noch in stationärer Behandlung befanden, bzw. sich aufgrund von Nachuntersuchungen oder erneuter stationärer Aufnahme am UKE aufhielten, wurde die Blutentnahme bei dieser Gelegenheit durchgeführt. Die anderen Patienten, die der Entnahme zustimmten, wurden zur Blutentnahme zu Hause aufgesucht. Für die Entnahme der Proben wurden EDTA-Monovetten (Sarstedt, „S-Monovette 2,7 ml K3E“, 1,6 mg EDTA/ml Blut) verwendet.

Die Untersuchung der gewonnenen Blutproben auf irreguläre Antikörper fand innerhalb von 24 h statt. Bis zum Zeitpunkt des Antikörpersuchtests wurden die Proben stets gekühlt gelagert (Solltemperatur $+ 4\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$).

Bei 4 Patienten war zum Zeitpunkt der ersten Kontaktaufnahme zur Probengewinnung bereits ein AKS durchgeführt worden. Dies geschah entweder im Rahmen der hausärztlichen Nachsorge oder im Rahmen einer Anschlussbehandlung in einem anderen Krankenhaus. Bei diesen 4 Patienten wurde von einer erneuten Probenentnahme abgesehen. Die Ergebnisse der extern durchgeführten AKS wurden schriftlich übermittelt. Über die Methode zur Antikörperdetektion in den externen Laboren kann daher keine Aussage gemacht werden, es ist aber davon auszugehen, dass sie den Erfordernissen genügten, da die erfolgreiche Teilnahme an Ringversuchen verpflichtend vorgeschrieben ist.

3.4 Durchführung des Antikörpersuchtests (AKS)

Der indirekte Coombs-Test (ICT) zur Antikörpersuche wurde unter Verwendung der „ScanGel Cards for Antibody Screening and Crossmatch“ der ScanGel Line der Firma Bio-Rad Laboratories GmbH München durchgeführt.

33 Patientenproben wurden zu Kontrollzwecken zusätzlich im Papain-Milieu untersucht, dies fand zu einem späteren Zeitpunkt statt. Hierzu wurden die ID-Cards des ID-Systems der Firma Bio-Rad Laboratories GmbH München verwendet. Bis zur Untersuchung wurden die Proben bei -45 °C tiefgefroren gelagert.

Es wurden ausschließlich CE-zertifizierte Reagenzien verwendet. Es kamen 3 verschiedene Testerythrozytenpräparationen zur Anwendung. Es wurde eine Eigenkontrolle mit Patientenerythrozyten mitgeführt sowie eine Positiv- und eine Negativkontrolle.

3.4.1 Materialien

Untersuchungsmaterial

- EDTA-Blut (Mindestmenge 5 ml)

Reagenzien zur Durchführung des AKS im Coombs-Milieu

- Gelkarte (Fa. Bio-Rad Laboratories GmbH München, ScanGel Card for Anti-body Screening and Crossmatch; Coombs Anti-IgG, -C₃d, Art.-Nr.: 86432)
- Testerythrozyten I, II, III (Fa. Bio-Rad Laboratories GmbH München, ScanCell I-II-III Red Blood Cell Panel, 3 × 10 mL, Art.-Nr.: 86595)

Reagenzien zur Durchführung des AKS im Papain-Milieu

- ID-Karte (Fa. Bio-Rad Laboratories GmbH München, ID-Karte NaCl, Enzymtest und Kälte-Antikörper; mit neutraler Gelsuspension, Art.-Nr.: 50520)
- Papainisierte Testerythrozyten IP, IIP, IIIP (Fa. Bio-Rad Laboratories GmbH München, ID-DiaCell IP-IIP-IIIP 3-Zellen Suchtest für Patienten (papainisiert), 3 × 10 mL, Id-n^o: 45194)
- ID-Papain (Fa. Bio-Rad Laboratories GmbH München, Papain-Lösung zur Papainisierung der Erythrozyten, Art.-Nr.: 06311)

Weitere benötigte Reagenzien

- Diluent 2 (Fa. Bio-Rad Laboratories GmbH München, ScanLiss Diluent 500 mL, Art.-Nr.: 86442)

Hilfsmaterialien

- Rundbodenröhrchen (Fa. Brand GmbH + Co. KG, Wertheim, Probenröhrchen PS 100 × 16 mm, Art.-Nr.: 114715)
- Suspensionsröhrchen (Fa. Brand GmbH + Co. KG, Wertheim, Probenröhrchen PS 75 × 12 mm, Art.-Nr.: 114760)
- ID-Tips (Fa. Sudmann, Leopoldshöhe, Pipettenspitzen für Diamed, Art.-Nr.: 4210)
- Pipettenspitzen (Fa. Eppendorf AG, Hamburg, ep.T.I.P.S, Art.-Nr.: 01001013)

Geräte

- Eppendorf-Pipette 10-100 µL (Fa. Eppendorf AG, Hamburg, Eppendorf Research, Art.-Nr. 484484Z)
- Dispenser (Fa. Vitlab GmbH, Großostheim, VITLAB piccolo, Art.-Nr.: 161142.50501)
- Pipetor (Fa. MTC med. Produkte GmbH, Bensheim, MP1 manueller Pipetor, Art.-Nr.: 009611-NP)
- Zentrifuge für die EDTA-Röhrchen (Fa. Hettich Zentrifugen, Rotina 35 Typ 1705)
- Zentrifuge für die ScanGel Karten bzw. die ID-Karten (Fa. Bio-Rad Laboratories GmbH München, ScanGel Centrifuge for 24 Cards, Art.-Nr.: 87780)
- Inkubator (Fa. Bio-Rad Laboratories GmbH München, ScanGel Incubator, Art.-Nr.: 87773)

3.4.2 Vorbereitungen

Alle Reagenzien wurden vor Gebrauch auf Raumtemperatur (18-25 °C) gebracht. Die Testerythrozyten ScanCell I-II-III bzw. ID-DiaCell IP-IIP-IIIP sind gebrauchsfertig, jedoch unmittelbar vor Gebrauch zu resuspendieren.

Herstellung einer 1 %-igen Erythrozytensuspension von Patientenerythrozyten für die Eigenkontrolle:

- 1 ml Diluent in ein sauberes Röhrchen pipettieren.
- 10 µl des patienteneigenen Erythrozytenkonzentrats zugeben (hierzu EDTA-Röhrchen 10 min bei 4000 Umdrehungen zentrifugieren), leicht mischen.

3.4.3 Testansatz Antikörpersuchtest

- ScanGel Karte bzw ID-Karte mit dem Patientennamen beschriften und zusätzlich markieren mit 1, 2 und 3 für die Testerythrozyten, mit EiKo für die Eigen-

kontrolle und Ko1 bzw. Ko2 für die Positiv- bzw. Negativkontrolle (s. Abb. 10: "Beschriftung der ScanGel Karte bzw. ID-Karte für den AKS").

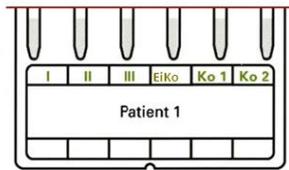


Abb. 10: Beschriftung der ScanGel Karte bzw. ID-Karte für den AKS
(Quelle: nach Diamed Arbeitsanleitung Blutgruppenserologie 2006)

- Aluminiumfolie in aufrechter Kartenposition entfernen.
- Je 50 µl Testerythrozyten I, II, III (bzw. IP, IIP, IIIP für die Durchführung des AKS im Papain-Milieu) in die vorgesehenen Reaktionskammern der Karte pipettieren sowie 50 µl der Erythrozytensuspension des Patienten für die Eigenkontrolle (EiKo) in die entsprechende Reaktionskammer pipettieren. Bei der Durchführung des AKS im Papain-Milieu zusätzlich 25 µl ID-Papain in die Kammer der Eigenkontrolle pipettieren, um so auch die patienteneigenen Erythrozyten zu papainisieren. 50 µl Testerythrozyten mit bzw. ohne zum verwendeten Testreagenz korrespondierendem Antigen in die Reaktionskammern Ko1 bzw. Ko2 pipettieren.
- 25 µL Patientenplasma in die Reaktionskammern I, II, III und EiKo pipettieren. 25 µL Testreagenz in die Kammern Ko1 und Ko2 zugeben.
- ScanGel Karte bzw. ID-Karte 15 min bei 37 °C inkubieren, danach 10 min zentrifugieren, Reaktion beurteilen und protokollieren.

3.4.4 Beurteilung der Reaktion

Nach Inkubieren und Zentrifugieren wird das Reaktionsergebnis auf der Karte beurteilt. Dies geschieht nach dem in Abb. 11 dargestelltem Ableseprinzip bzw. mit Hilfe der in Tab. 7 beschriebenen Reaktionen zur Auswertung und Interpretation der Gelsäulen.

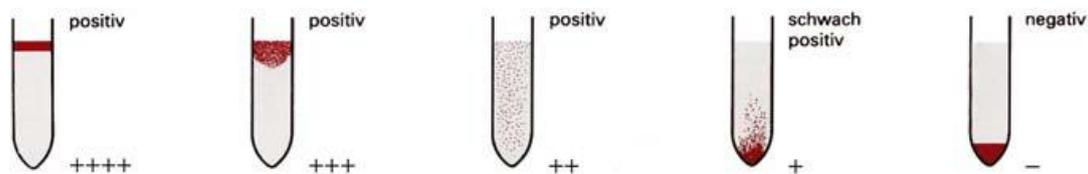


Abb. 11: Ableseprinzip der Reaktion in der Geltechnik
 (Quelle: Diamed Arbeitsanleitung Blutgruppenserologie 2006)

Die in Abb. 7 abgelesene Reaktion wird anhand des in Tab. 7 dargestellten Bewertungsschemas interpretiert.

Tab. 7: Auswertung und Interpretation der Gelsäulen
 (Quelle: Institut für Transfusionsmedizin, UKE)

4+ Reaktion	Agglutinierte Erythrozyten bilden eine Schicht auf der Gelsäule.
3+ Reaktion	Agglutinierte Erythrozyten sind in der oberen Hälfte der Gelsäule hängen geblieben.
2+ Reaktion	Agglutinierte Erythrozyten sind über die gesamte Gelsäule verteilt. Ein kleiner Zellknopf kann am Boden vorhanden sein.
1+ Reaktion	Die meisten Erythrozyten sind in die untere Hälfte der Gelsäule gewandert. Ein Zellknopf ist am Boden zu sehen.
keine Reaktion	Alle Erythrozyten sind durch die Gelsäule gewandert und bilden einen glatten Zellknopf.

3.4.5 Auswertung und Befundung

- Eine negative Reaktion in den Mikroröhrchen mit den Testerythrozyten bedeutet, dass keine irregulären Antikörper gegen die getesteten Erythrozytenantigene vorliegen.
- Kommt es zu einer Reaktion, so werden sowohl eine Antikörperdifferenzierung als auch eine Titerbestimmung durchgeführt.

3.5 Durchführung der Antikörperdifferenzierung

3.5.1 Materialien

Untersuchungsmaterial

- Patientenplasma

Reagenzien

- 2 Gelkarten (Fa. Bio-Rad Laboratories GmbH München, ScanGel Card for Antibody Screening and Crossmatch; Coombs Anti-IgG, -C₃d, Art.-Nr.: 86432)
- Testerythrozyten I - X (Fa. Bio-Rad Laboratories GmbH München, ScanPanel Red Blood Cell Panel, 10×3mL, Art.-Nr.: 86593)
- Diluent 2 (Fa. Bio-Rad Laboratories GmbH München, ScanLiss Diluent 500 ml, Art.-Nr.: 86442)

Hilfsmaterialien

- Rundbodenröhrchen (Fa. Brand GmbH + Co. KG, Wertheim, Probenröhrchen PS 100×16mm, Art.-Nr.: 114715)
- Suspensionsröhrchen (Fa. Brand GmbH + Co. KG, Wertheim, Probenröhrchen PS 75×12 mm, Art.-Nr.: 114760)
- ID-Tips (Fa. Sudmann, Leopoldshöhe, Pipettenspitzen für Diamed, Art.-Nr.: 4210)
- Pipettenspitzen (Fa. Eppendorf AG, Hamburg, ep.T.I.P.S, Art.-Nr.: 01001013)

Geräte

- Eppendorf-Pipette 10-100 µl (Fa. Eppendorf AG, Hamburg, Eppendorf Research, Art.-Nr.: 484484Z)
- Dispenser (Fa. Vitlab GmbH, Großostheim, VITLAB piccolo, Art.-Nr.: 161142.50501)
- Pipetor (Fa. MTC med. Produkte GmbH, Bensheim, MP1 manueller Pipetor, Art. Nr.: 009611-NP)
- Zentrifuge für die EDTA-Röhrchen (Fa. Hettich Zentrifugen, Rotina 35 Typ 1705)

- Zentrifuge für die ScanGel Karten (Fa. Bio-Rad Laboratories GmbH München, ScanGel Centrifuge for 24 Cards, Art.-Nr.: 87780)
- Inkubator (Fa. Bio-Rad Laboratories GmbH München, ScanGel Incubator, Art.-Nr.: 87773)

3.5.2 Vorbereitungen

Alle Reagenzien wurden vor Gebrauch auf Raumtemperatur gebracht. Die gebrauchsfertigen Testerythrozyten ID-DiaCell 1-10 sind vor Gebrauch resuspendiert worden.

3.5.3 Testansatz Antikörperdifferenzierung

- 2 ScanGel Karten mit dem Patientennamen beschriftet und zusätzlich markieren mit 1-10 für die Testerythrozyten und EiKo für Eigenkontrolle (s. Abb. 12: "Beschriftung der ScanGel Karten für die Antikörperdifferenzierung").



Abb. 12: Beschriftung der ScanGel Karten für die Antikörperdifferenzierung (Quelle: nach DiaMed Arbeitsanleitung Blutgruppenserologie 2006)

- Aluminiumfolie in aufrechter Kartenposition entfernen.
- Jeweils 50 µl der Testerythrozyten 1-10 und der für den AKS bereits hergestellten patienteneigenen Erythrozytensuspension für die Eigenkontrolle in die vorgesehenen Reaktionskammern 1-10 bzw. EiKo der Karte pipettieren.
- Jeweils 25 µl Patientenplasma in die Reaktionskammern pipettieren.
- ScanGel Karten 15 min bei 37 °C inkubieren, danach Karten 10 min zentrifugieren, Reaktion ablesen und protokollieren.

3.5.4 Beurteilung der Reaktion

Beurteilt wird wie beim Antikörpersuchtest (s. Kapitel 3.4.4 Beurteilung der Reaktion).

3.5.5 Auswertung und Befundung

Anhand der bekannten Antigenbeladung der Testerythrozyten kann aus dem jeweiligen Agglutinationsmuster auf die Antikörper im Patientenplasma geschlossen werden.

3.6 Durchführung der Titerbestimmung

3.6.1 Materialien

Untersuchungsmaterial

- Patientenplasma

Reagenzien

- Mit Antigen beladene Testerythrozyten (Fa. Grifols GmbH Langen, Screen-Cyte 0.8 % 3×10 ml (I, II, III), Reference-No.: 213590)

Hilfsmaterialien

- Rundbodenröhrchen (Fa. Brand GmbH + Co. KG, Wertheim, Probenröhrchen PS 100×16mm, Art.-Nr. 114715)
- Pipettenspitzen (Fa. Eppendorf AG, Hamburg, ep.T.I.P.S, Art.-Nr. 01001013)

Geräte

- Eppendorf-Pipette 10-100 μ L (Fa. Eppendorf AG, Hamburg, Eppendorf Research, Art.-Nr. 484484Z)

3.6.2 Herstellung der Verdünnungsreihe

Die Verdünnungsreihe wird nach folgendem Tropfschema angefertigt:

1. Rundbodenröhrchen (Stufe 1:1)

- 100 µl Patientenplasma

2. Rundbodenröhrchen (Stufe 1:2)

- 100 µl physiologische Kochsalzlösung
- 100 µl Patientenplasma

3.-10. Rundbodenröhrchen (Stufe 1:4 – Stufe 1:512)

- 100 µl physiologische Kochsalzlösung
- 100 µl aus dem vorangegangenen Röhrchen (bei jedem Verdünnungsschritt die Pipettenspitze wechseln)
- Proben gut durchmischen
- Aus dem letzten Röhrchen 100 µl verwerfen

Zufügen der Testerythrozyten

- In jedes Röhrchen 50 µl Testerythrozyten mit dem entsprechenden Antigen.

3.6.3 Auswertung und Befundung

Es lässt sich anhand der Verdünnungsreihe ablesen, bis zu welcher Verdünnungsstufe es zu einer Agglutinationsreaktion kommt. Die Stufe mit gerade noch erkennbarer Agglutination ist der Antikörpertiter.

3.7 Statistische Auswertung

Für die Korrelationsuntersuchungen wurde der Exakte Fisher-Test verwendet. Dieser entspricht im Anwendungsgebiet wie der Chi-Quadrat-Test normalverteilten Werten. Der Exakte Fisher-Test liefert im Gegensatz zum Chi-Quadrat-Test, der erst ab einer bestimmten Stichprobengröße (min. 5 Beobachtungen pro Feld der Kontingenztafel) bereits ab 2 Beobachtungen zuverlässige Ergebnisse. In vorliegender Arbeit wurden die Signifikanzen daher mit dem Exakten Fischer Test berechnet, es wurde ein Signifikanzniveau von 5 % gewählt (Sachs und Hedderich 2006).

4 Ergebnisse

4.1 Übersicht über alle mit Rh-(D)-positiven Erythrozytenkonzentraten (EK) versorgten Patienten

Über einen Zeitraum von 14 Monaten wurde allen 76 Rh-(D)-negativen Patienten jeweils mindestens ein Rh-(D)-positives EK transfundiert. Da ein Teil der Patienten vor Durchführung des AKS bereits verstorben war bzw. eine Durchführung des AKS aus anderen Gründen nicht möglich war, konnte nur bei 46 Patienten eine Untersuchung stattfinden. In Tab. 8 sind alle in diesem Zeitraum betroffenen Patienten aufgeführt und nach Geschlecht eingeteilt.

Tab. 8: Übersicht über das Patientenkollektiv (n=76)

	Gesamtes Patientenkollektiv	Untersuchte Patienten	Durchführung des AKS nicht möglich	Verstorben vor AKS
Anzahl Patienten	76	46	7	23
Geschlecht m/w (n)	48 / 28	29 / 17	5 / 2	14 / 9
Anteil Männer (in %)	63	63	71	61

23 Patienten konnten nicht untersucht werden, da sie noch vor Ablauf der 2 Monate bis zum erstmals möglichen Zeitpunkt einer Blutentnahme verstorben waren (17 Patienten) bzw. bis zur Durchführung verstarben (4 Patienten). Bei 2 Patienten liegen keine genauen Informationen zum Todeszeitpunkt vor. Bei 7 der 76 Patienten war eine Blutentnahme aufgrund zu großer räumlicher Distanz (> 60 km zum Wohnort, 5 Patienten) oder fehlendem Einverständnis zur Untersuchung (2 Patienten) nicht möglich.

In Tab. 9 sind alle 76 Patienten unter Angabe ihres Geschlechts, Alters und dem Zeitraum zwischen der Exposition und dem AKS bzw. dem Zeitraum zwischen Exposition und dem Tag des Todes nach Zeitpunkt der Rh-(D)-positiven Transfusion aufgelistet.

Tab. 9: Auflistung der Patienten (n=76)

Pat.-Nr.	Geschlecht	Alter	Datum der Exposition	Zeitraum Exposition bis AKS in Tagen	Ergebnis AKS ¹
1	w	71	01.03.2010	1 Tag nach Transfusion verstorben	--
2	m	46	04.04.2010	71	pos ²
3	m	68	08.04.2010	63	neg
4	w	70	13.04.2010	78	neg ³
5	m	72	13.04.2010	71	neg
6	m	85	21.04.2010	97	neg ³
7	m	76	22.04.2010	63 Tage nach Transfusion verstorben	--
8	m	66	22.04.2010	112	neg
9	m	63	11.05.2010	56	neg ³
10	m	75	11.05.2010	110	neg
11	m	75	14.05.2010	64 Tage nach Transfusion verstorben	--
12	m	69	01.06.2010	Kein AKS durchgeführt ⁴	--
13	m	56	01.06.2010	76	neg
14	m	54	01.06.2010	9 Tage nach Transfusion verstorben	--
15	m	58	14.06.2010	37 Tage nach Transfusion verstorben	--
16	w	42	01.07.2010	83	neg
17	m	59	12.07.2010	Kein AKS durchgeführt ⁴	--
18	m	78	14.07.2010	98	neg
19	m	70	15.07.2010	62	neg
20	w	66	15.07.2010	33 Tage nach Transfusion verstorben	--
21	m	69	18.07.2010	65	neg ³
22	m	71	19.07.2010	14 Tage nach Transfusion verstorben	--
23	m	73	20.07.2010	83	neg ²
24	w	83	21.07.2010	Kein AKS durchgeführt ⁵	--
25	w	89	22.07.2010	85	neg ²
26	w	82	25.07.2010	16 Tage nach Transfusion verstorben	--
27	w	87	25.07.2010	81	neg
28	w	88	25.07.2010	93	neg ²
29	m	75	26.07.2010	2 Tage nach Transfusion verstorben	--
30	w	72	26.07.2010	111	neg ²
31	w	59	02.08.2010	105	neg ²
32	w	43	03.08.2010	1 Tag nach Transfusion verstorben	--
33	m	71	06.08.2010	63	neg ²
34	m	45	07.08.2010	104	pos ²
35	w	59	17.08.2010	91	neg ²

Pat.-Nr.	Geschlecht	Alter	Datum der Exposition	Zeitraum Exposition bis AKS in Tagen	Ergebnis AKS ¹
36	w	65	24.08.2010	36 Tage nach Transfusion verstorben	--
37	w	66	27.08.2010	am Transfusionstag verstorben	--
38	m	46	02.09.2010	k.A. über genauen Todeszeitpunkt	--
39	m	51	10.09.2010	60	neg ²
40	w	82	15.09.2010	57	neg ²
41	m	40	22.09.2010	Kein AKS durchgeführt ⁴	--
42	m	47	24.09.2010	36 Tage nach Transfusion verstorben	--
43	m	44	05.10.2010	6 Tage nach Transfusion verstorben	--
44	m	78	05.10.2010	104 Tage nach Transfusion verstorben	--
45	m	65	13.10.2010	90	pos ²
46	m	44	15.10.2010	69	neg ²
47	m	86	28.10.2010	85	neg ²
48	w	60	13.11.2010	111	pos ²
49	m	40	26.11.2010	103	neg ²
50	m	62	10.12.2010	60	neg ²
51	w	63	28.12.2010	78	neg ²
52	m	62	02.01.2011	5 Tage nach Transfusion verstorben	--
53	w	71	25.01.2011	Kein AKS durchgeführt ⁵	--
54	m	83	25.01.2011	83	neg ²
55	m	63	26.01.2011	97	pos ²
56	m	52	20.01.2011	13 Tage nach Transfusion verstorben	--
57	m	74	02.02.2011	63	neg ²
58	w	80	02.02.2011	k.A. über genauen Todeszeitpunkt	--
59	m	79	03.02.2011	64 Tage nach Transfusion verstorben	--
60	m	62	02.03.2011	62	neg ²
61	m	44	08.03.2011	57	neg ²
62	w	65	21.03.2011	95	pos ²
63	w	84	22.03.2011	am Transfusionstag verstorben	--
64	m	59	01.04.2011	88	pos ²
65	m	51	01.04.2011	91	pos ²
66	m	67	06.04.2011	Kein AKS durchgeführt ⁴	--
67	m	83	06.04.2011	92	neg ²
68	w	87	06.04.2011	10 Tage nach Transfusion verstorben	--
69	m	71	08.04.2011	Kein AKS durchgeführt ⁴	--
70	w	63	09.04.2011	61	neg ²

Pat.-Nr.	Geschlecht	Alter	Datum der Exposition	Zeitraum Exposition bis AKS in Tagen	Ergebnis AKS ¹
71	w	67	19.04.2011	79	pos ²
72	m	88	20.04.2011	82	neg ²
73	m	52	20.04.2011	15 Tage nach Transfusion verstorben	--
74	w	63	21.04.2011	64	neg ²
75	w	63	26.04.2011	64	neg ²
76	w	33	27.04.2011	61	neg ²

¹ pos: Antikörper im AKS entdeckt, neg: keine Antikörper im AKS entdeckt, --:AKS nicht durchgeführt.

² AKS zusätzlich im Papain-Milieu durchgeführt. Pat.-Nr. 45 nur im Papain-Milieu positiv.

³ AKS nicht am UKE durchgeführt.

⁴ AKS aufgrund zu großer räumlicher Distanz (> 60 km zum Wohnort) nicht durchgeführt.

⁵ AKS aufgrund fehlenden Einverständnisses des Patienten nicht durchgeführt.

4.2 Übersicht über die untersuchten Patienten

Bei 9 der 46 Patienten wurden ein oder mehrere Antikörper (s. Kapitel 4.3.2 Gebildete Antikörper) im AKS detektiert. Bei den übrigen 37 Patienten fiel der AKS dementsprechend negativ aus. In Tab.10 sind die Daten der untersuchten Patienten nach Antikörperbildung, Ort der Probenentnahme und Geschlecht eingeteilt dargestellt.

Tab. 10: Häufigkeitsverteilung der Antikörperbildung im gesamten Patientenkollektiv (n=46)

Antikörperbildung	Ja	Nein
Anzahl Patienten	9	37
Geschlecht m/w	6/3	23/14
Anteil Männer (in %)	67	62
Anteil Frauen (in %)	33	38
Anteil der häuslichen Probenentnahmen (in %)	22	30

Der Anteil der mit Rh-(D)-positivem Blut versorgten männlichen Patienten war mit 63 % deutlich höher als der der weiblichen Patienten (m:w = 48:28, s. Tab. 8). Diese Verteilung der Geschlechter trifft in gleicher bzw. ähnlicher Größenordnung auch auf die Patientengruppe der untersuchten Patienten bzw. die Patienten, die nicht untersucht werden konnten, zu (s. Tab. 8). Der deutlich niedrigere Anteil der Frauen ist dadurch zu erklären, dass Rh-(D)-negative weibliche Patienten im gebärfähigen Alter nur Rh-(D)-kompatibel transfundiert werden. 22 % bzw. 30 % der Patienten (s. Tab. 10) wurden zur Probenentnahme zu Hause aufgesucht.

4.3 Berechnung der Rh-(D)-Immunisierungsfrequenz

Aus Tab. 10 geht hervor, dass bei 9 von insgesamt 46 untersuchten Patienten im AKS ein Antikörper detektiert wurde.

Wie im Kapitel 3.4 Durchführung des Antikörpersuchtests (AKS) beschrieben, wurden alle 46 Patientenproben im Coombs-Milieu auf Antikörper untersucht. Bei Anwendung dieser Methode wurde bei 8 Patienten ein Antikörper entdeckt (8 von 46 entspricht 17%). Bei den Proben, die zur Kontrolle zusätzlich im Papain-Milieu untersucht wurden, fiel der AKS bei einem weiteren Patienten positiv aus. Insgesamt wurden bei 9 von 46 Patienten ein bzw. mehrere Antikörper gefunden, dies entspricht einer Immunisierungsfrequenz von 20 %.

4.3.1 Berechnung der geschlechtsspezifischen Rh-(D)-Immunisierungsfrequenz

Unter den immunisierten Patienten sind 6 Männer und 3 Frauen. Das Verhältnis des Geschlechts unter denen Patienten, die einen Antikörper gebildet haben, ist in Abb. 13 dargestellt.

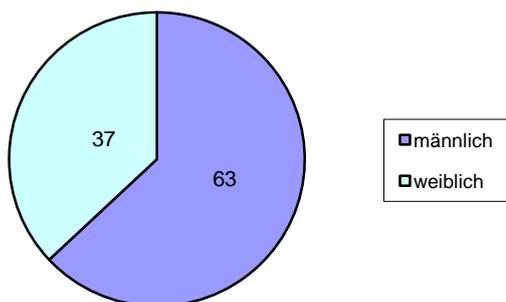


Abb. 13: Verteilung des Geschlechts unter den immunisierten Patienten in % (n=9)

Insgesamt wurden die Blutproben von 29 Männern untersucht, in 6 Fällen wurde ein Antikörper detektiert. Das bedeutet, dass 21 % der untersuchten männlichen Patienten einen Antikörper gebildet haben. Unter den insgesamt 17 untersuchten Frauen wurde bei 3 ein Antikörper nachgewiesen. Dies entspricht einer Immunisierungsfrequenz von 18 %. Dieser Unterschied ist statistisch nicht signifikant ($p=1$).

Die Immunisierungsfrequenzen sind in Abb. 14 und 15 dargestellt.

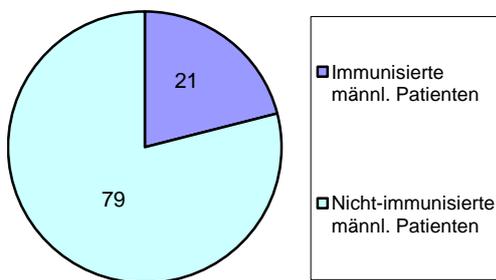


Abb. 14: Immunisierungsfrequenz der männlichen Patienten in % (n=29)

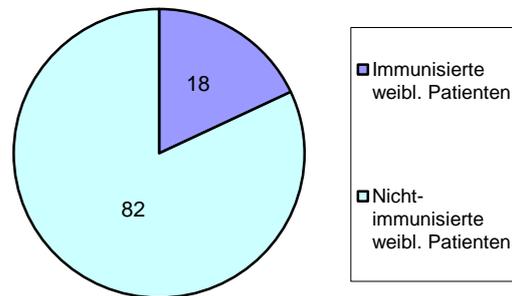


Abb. 15: Immunisierungsfrequenz der weiblichen Patienten in % (n=17)

4.3.2 Gebildete Antikörper

Alle 9 immunisierten Patienten haben einen Anti-D-Antikörper gebildet. Bei 2 der Patienten wurde zusätzlich ein Anti-C-Antikörper detektiert. In Tab. 11 sind die Patienten und die von Ihnen gebildeten Antikörper unter Angabe des Zeitraums zwischen der Exposition und dem AKS sowie dem gefundenen Antikörpertiter dargestellt.

Tab. 11: Übersicht über die gebildeten Antikörper, den Titer sowie den Zeitpunkt der Detektion (n=9)

Pat.-Nr.	Zeitraum Exposition bis AKS (in Tagen)	detektierte(r) Antikörper (und Titer)
2	71	Anti-D (1:1024), Anti-C (1:2)
34	104	Anti-D (1:4096), Anti-C (1:128)
43	111	Anti-D (1:32)
45	90	Anti-D (1:2)
55	97	Anti-D (1:2)
62	95	Anti-D (1:16)
64	88	Anti-D (1:16)
65	91	Anti-D (1:128)
71	79	Anti-D (1:16)

In Abb. 16 sind die Frequenzen der Antikörperbildung dargestellt.

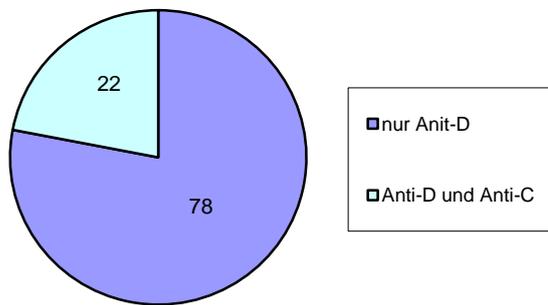


Abb. 16: Häufigkeiten der gebildeten Antikörper in % (n=9)

4.4 Weitere Kriterien

Neben dem Geschlecht der Patienten, wurde deren Alter, Diagnose(n), Anzahl der transfundierten EK sowie der Zeitraum zwischen Exposition und AKS und weitere transfundierter Blutbestandteile (z.B. eine eventuelle Gabe von gefrorenem Frischplasma (GFP)) erfasst. Diese Daten wurden von allen untersuchten Patienten in Tab. 12 erfasst.

Tab. 12: Übersicht über die untersuchten Patienten (n=46)

s. Kapitel	Antikörper-Bildung	Ja	Nein
4.2	<u>Anzahl Patienten</u>	9	37
4.3.1	<u>Geschlecht</u>		
	m	6	23
	w	3	14
4.4.1	<u>Alter</u>		
	Mittelwert	58	67
	Median	60	69
	Bereich	45-67	33-89
4.4.2	<u>Diagnose</u> ¹		
	Abdominalchirurgie	3	10
	Kardiologie	0	7
	Onkologie	3	10
	Trauma	3	7
	Sonstiges	0	3
4.4.3	<u>Anzahl transfundierter Rh+ EK</u>		
	Mittelwert	10,3	4,9
	Median	12,0	2,0
	Bereich	2-21	1-30

s. Kapitel	Antikörper-Bildung	Ja	Nein
4.4.4	<u>Transfundiertes Hämoglobin</u> ² (der Rh+ Konserven in % des körpereigenen Hämoglobins) Mittelwert Median Bereich Standardabweichung (SD)	83 67 16-188 65	45 20 6-240 59
4.4.5	<u>Expositionszeitraum</u> (in Tagen) ³ Mittelwert Median Bereich	3 1 1-14	1 1 1-8
4.4.6	<u>Zeitraum zw. Exposition und AKS</u> (in Tagen) Mittelwert Median Bereich	92 91 71-111	78 78 56-112
4.4.7	<u>Anzahl transfundierter Rh- EK</u> ⁴ (120 Tage vor Exposition bis AKS) Mittelwert Median Bereich	10,9 6,0 0-28	9,0 5,0 0-43
4.4.8	<u>Anzahl Rh+ TK</u> ⁵ (8 - 16 Wochen vor AKS) Mittelwert Median Bereich	2,6 3 0-3	3,2 3 0-7
4.4.9	<u>Anzahl TK gesamt</u> ⁶ (7 Tage vor Exposition bis AKS) Mittelwert Median Bereich	2,8 3 0-4	3,2 4 0-8
4.4.10	<u>Anzahl GFP</u> ⁷ (von Exposition bis AKS) Mittelwert Median Bereich	18,9 20 0-38	17,3 12 0-56

¹ Detaillierte Angabe der Diagnose in Tab. A.1: "Diagnosen und Transfusionsindikation / Zeitpunkt der immunisierten Patienten (n=9)" bzw. Tab.A.2: "Diagnosen und Transfusionsindikation / Zeitpunkt der nichtimmunisierten Patienten (n=37)" im Anhang.

² Zur Berechnung s. Kapitel 3.2.1 Berechnung der Menge des transfundierten Hämoglobins

³ Anzahl der reexponierten Patienten unter den Immunisierten: 3 (33%), unter den Nichtimmunisierten: 5 (14%), s. Tab. 4.

⁴ Anzahl der Patienten, die RH- EK erhielten: 7 (78%), der immunisierten Patienten, 31 (84%) der nichtimmunisierten.

⁵ Anzahl der Patienten, die RH+ TK erhielten: 5 (56%) der immunisierten Patienten, 13 (35%) der nichtimmunisierten.

⁶ Anzahl der Patienten, die 7 Tage vor Exposition bis AKS TK erhielten: 5 (56%) der immunisierten Patienten, 13 (35%) der nichtimmunisierten.

⁷ Anzahl der Patienten, die GFP erhielten: 7 (78%) der immunisierten Patienten, 18 (49%) der nichtimmunisierten.

Im Anhang in Tab. A.3 “Detaillierte Betrachtung der immunisierten Patienten (n=9)“ bzw. Tab. A.4 “Detaillierte Betrachtung der nichtimmunisierten Patienten (n=37)“ sind die in Tab. 12 gemachten Angaben für jeden Patienten individuell aufgelistet zu finden.

4.4.1 Patientenalter

Die untersuchten Patienten waren im Alter von 33-89 Jahren. Aus Tab. 12 ist zu entnehmen, dass Patienten mit erfolgter Rh-(D)-gerichteter Immunisierung durchschnittlich ca. 9 Jahre jünger waren (Ø 58 Jahre), als jene Patienten, bei denen die Immunisierung ausblieb (Ø 67 Jahre). Das Durchschnittsalter aller Patienten betrug 66 Jahre. Patienten, die jünger waren als 66 Jahre, hatten ein statisch signifikant höheres Risiko, Antikörper zu bilden als ältere Patienten (p=0,023).

4.4.2 Diagnose

Anhand ihrer Diagnose wurden die untersuchten Patienten 5 Kategorien zugeordnet (s. Tab. 12). Diese sind:

- Abdominalchirurgie
- Kardiologie
- Onkologie
- Trauma
- Sonstige

Unter den 9 immunisierten Patienten waren je 3 abdominalchirurgisch behandelte Patienten, 3 onkologische Patienten und 3 Traumapatienten. Jeweils 10 der nichtimmunisierten Patienten gehörten zu den abdominalchirurgischen Patienten bzw. zu den onkologischen Patienten und jeweils 7 zu den Traumapatienten und herzchirurgischen Patienten. Drei der nichtimmunisierten Patienten konnten keiner der angegebenen Kategorien zugeordnet werden und fielen daher in die Kategorie „Sonstige“.

In Abb. 17 und 18 ist die Verteilung der Patienten zu den jeweiligen Kategorien dargestellt.

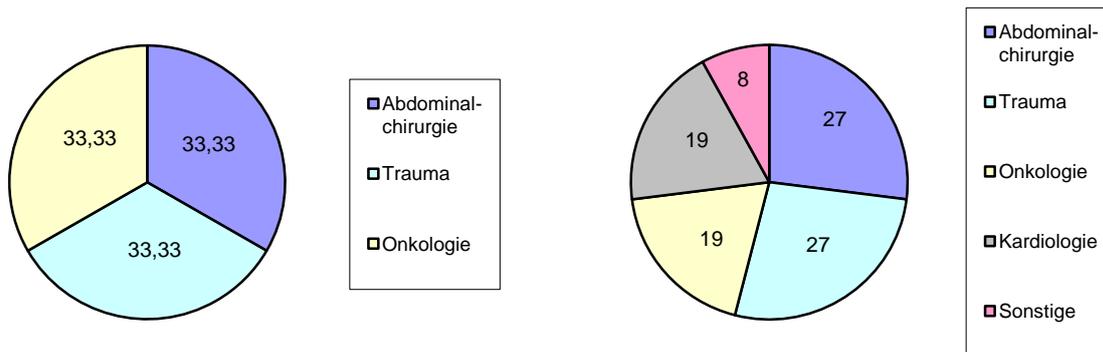


Abb. 17: Diagnosebezogene Zuordnung der immunisierten Patienten in % (n=9)

Abb. 18: Diagnosebezogene Zuordnung der nichtimmunisierten Patienten in % (n=37)

Zur besseren Vergleichbarkeit der Immunisierungsfrequenzen bei den onkologischen Patienten und dem restlichen Patientenkollektiv wurden alle nicht-onkologischen Patienten zusammengefasst. Für das gemischte Patientenkollektiv ergab sich eine Immunisierungsfrequenz von 18 % (6 von 33). Bei den onkologischen Patienten lag die Immunisierungsfrequenz bei 23 % (3 von 13). Dieser Unterschied ist statistisch nicht signifikant (p=0,698).

Detaillierte Angaben zu den Diagnosen immunisierter und nichtimmunisierter Patienten sind in Tab. A.1: “Diagnose und Transfusionsindikation und -zeitpunkt der immunisierten Patienten (n=9)“ bzw. in Tab. A.2: “Diagnose und Transfusionsindikation und -zeitpunkt der nichtimmunisierten Patienten (n=37)“ im Anhang enthalten.

4.4.3 Anzahl der transfundierten Rh-(D)-positiven EK

Die Anzahl der EK, die die Patienten erhielten, lag zwischen 1 und 30. Im Durchschnitt erhielten die Patienten, bei denen ein Antikörper detektiert wurde, 10,3 EK (Median 12). Die nicht immunisierten Patienten erhielten mit durchschnittlich 4,9 EK (Median 2) deutlich weniger Rh-(D)-positive EK (s. Tab. 12).

In Tab. 13 werden die Patienten nach Anzahl der transfundierten Rh-(D)-positiven EK unterteilt.

Tab. 13: Einteilung der Patienten nach der Anzahl der transfundierten Rh-(D)-positiven EK (n=46)

Anzahl Rh-(D)-positiver Konserven	1-3	4-6	7-10	11-15	16-20	>20
Immunisierte Patienten	2	2	0	3	1	1
Nichtimmunisierte Patienten	22	8	2	3	1	1
Anteil immunisierter Patienten in %	8	20	0	50	50	50

Prozentual nimmt der Anteil der immunisierten Patienten unter denen Patienten, die mehr als 10 Rh-(D)-positive EK erhalten haben, zu.

Die Erhöhung des Anteils der immunisierten Patienten in Abhängigkeit von der Anzahl der transfundierten Rh-(D)-positiven EK ist in Abb. 19 dargestellt.

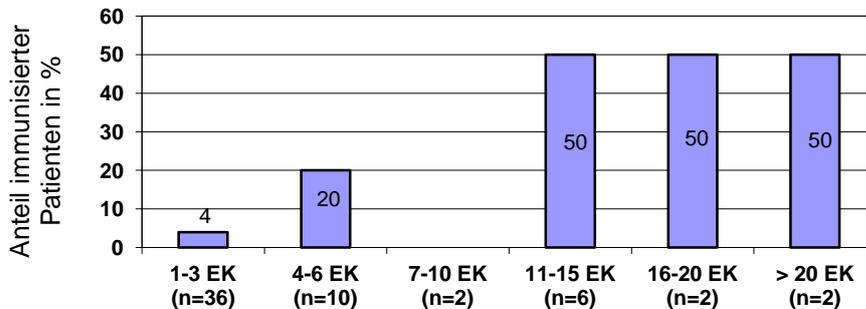


Abb. 19: Anteil der immunisierten Patienten in Abhängigkeit von der Anzahl der transfundierten Rh-(D)-positiven EK in % (n=46)

Patienten, die mehr als 10 EK erhalten haben, hatten ein statistisch signifikant höheres Risiko, Antikörper zu bilden (p=0,015).

4.4.4 Transfundiertes Hämoglobin im Verhältnis zum patienteneigenen Hämoglobin

An dieser Stelle wurde das Hb als stellvertretender Parameter für die Antigenexposition herangezogen (mehr als 90 % der Trockenmasse eines Erythrozyten besteht aus Hämoglobin, dies entspricht 2/3 der Gesamtmasse eines wasserhaltigen Erythrozyten (Geigy 1984)). Zur besseren Vergleichbarkeit wurde aus den transfundierten EK die Gesamtmenge des transfundierten Hb ermittelt und der Anteil des Patienteneigenen Hb berechnet. Wie in Kapitel 3.2.1 Berechnung der Menge des transfundierten Hämoglobins beschrieben, wurde zur Berechnung des patienteneigenen Hb das Patientengewicht zum Transfusionszeitpunkt herangezogen. Da dies nicht für alle Patienten dokumentiert war, konnte das ersetzte Hb nur für 5 der immunisierten und für 26 der nichtimmunisierten Patienten berechnet werden. Wie Tab. 12 zu entnehmen ist, haben die immunisierten Patienten größere Mengen an Hämoglobin aus Rh-(D)-positiven EK erhalten als die nichtimmunisierten Patienten. Hier waren durchschnittlich 83 % (Median 67 %) des

eigenen Hb waren transfundiert worden, während es bei den Nichtimmunisierten 45 % (Median 20 %) waren. Die Menge des transfundierten Hb ist in Abb. 20 dargestellt.

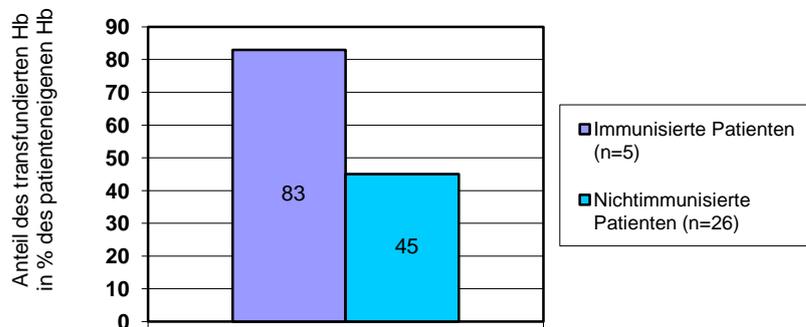


Abb. 20: Durchschnittlicher Anteil des transfundierten Hämoglobins der Rh-(D)-positiven EK in % des patienteneigenen Hämoglobins (n=31)

Die durchschnittliche Menge des transfundierten Hämoglobins aller Patienten in % des patienteneigenen Hb beträgt 51% (Median 28%). 4 von 5 (80%) der immunisierten Patienten bekamen mehr Hb als der Durchschnitt transfundiert. Bei den nichtimmunisierten Patienten bekamen 8 von 26 (31%) mehr als der Durchschnitt transfundiert. Dieses Ergebnis ist statistisch knapp nicht signifikant ($p=0,06$).

4.4.5 Expositionszeitraum

Die Mehrheit der Patienten (63 %) erhielt die Rh-(D)-inkompatiblen Konserven an einem Tag (Tag 1). Die übrigen (37 %) wurden über 2 oder mehr Tage mit Rh-(D)-positiven EK versorgt. Bei 3 der 8 reexponierten Patienten kam es zu einer Immunisierung. Die Immunisierungsrate unter den reexponierten Patienten beträgt demnach 37,5 %. Unter den nicht reexponierten Patienten beträgt sie 13 % (5 von 38). Dieser Unterschied ist allerdings statistisch nicht signifikant ($p=0,176$). Die Immunisierungshäufigkeiten unter den reexponierten bzw. den nichtreexponierten Patienten sind in Abb. 21 und Abb. 22 dargestellt.

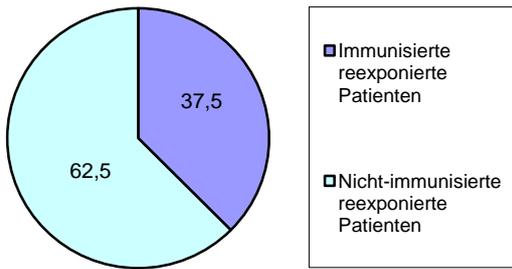


Abb. 21: Immunisierungsfrequenz der reexponierten Patienten in % (n=8)

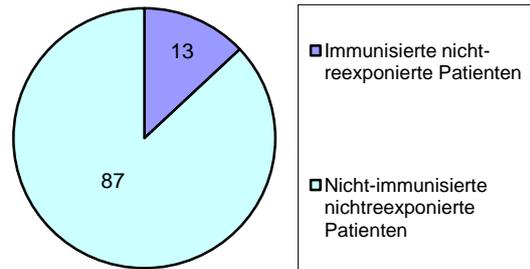


Abb. 22: Immunisierungsfrequenz der nicht reexponierten Patienten in % (n=38)

Einer der immunisierten Patienten erhielt eine 2. Transfusion Rh-(D)-positiver Konserven an Tag 2, ein Patient erhielt an Tag 2 und 3, ein 3. immunisierter Patient erhielt an Tag 7, 8, 10 und 14 weitere Gaben Rh-(D)-positive EK. Unter den nichtimmunisierten Patienten waren wie oben genannt 5 Patienten, die nicht ausschließlich an einem Tag exponiert waren. Ein Patient erhielt an Tag 2, ein Patient an Tag 3, 2 Patienten an Tag 2 und 3 erneut Rh-(D)-positive EK. Ein weiterer Patient erhielt an Tag 8 eine weitere Gabe Rh-(D)-positive EK.

Die Patienten, denen erneut Rh-(D)-positive Konserven transfundiert wurden, sind in Tab. 14 dargestellt.

Tab. 14: Übersicht über alle reexponierten Patienten (n=8)

Pat.-Nr.	Immunisiert	Rh-(D)-positive Transfusion an Tag (Anzahl der EK am jeweiligen Tag)
4	Nein	1 (26), 3 (4)
19	Nein	1 (6), 8 (3)
34	Ja	1 (14), 2 (7)
39	Nein	1 (10), 2 (2), 3 (3)
51	Nein	1 (8), 2 (3)
57	Nein	1 (2), 2 (1), 3 (2)
62	Ja	1 (9), 2 (5), 3 (1)
64	Ja	1(2), 7 (5), 8 (4), 10 (8), 14 (1)

4.4.6 Zeitraum zwischen Exposition und AKS

Alle Patienten wurden nach den Richtlinien der Bundesärztekammer in einem Zeitraum von 8 bis 16 Wochen (56 bis 112 Tage) nach der Transfusion auf Antikörper untersucht.

Bei den immunisierten Patienten wurde der AKS durchschnittlich 92 Tage nach Exposition durchgeführt, bei den anderen Patienten vergingen durchschnittlich 78 Tage (s. Tab. 12). Der Unterschied ist statistisch nicht signifikant ($p=0,135$). Der Zeitraum zwischen Exposition und AKS ist in Abb. 23 dargestellt.

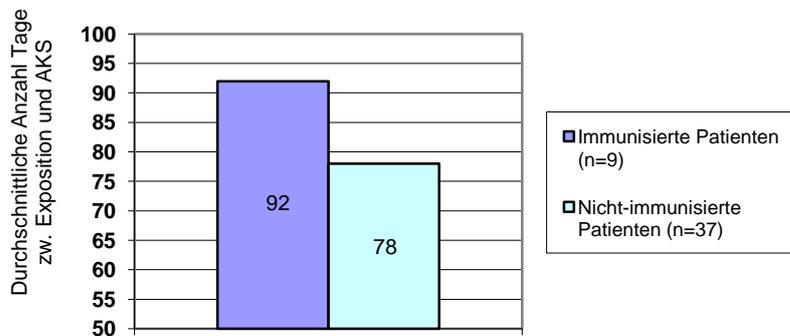


Abb. 23: Durchschnittlicher Zeitraum zwischen Exposition und Durchführung des AKS in Tagen (n=46)

4.4.7 Anzahl der transfundierten Rh-(D)-negativen EK

Es erhielten 7 der 9 immunisierten Patienten auch Rh-(D)-negative EK. Dies waren durchschnittlich 10,9 (Median 6) Rh-(D)-negative EK. Nur einer dieser 7 Patienten erhielt die Rh-(D)-negativen EK ausschließlich vor der Exposition mit dem D-Antigen. Die 6 anderen Patienten (86 %) erhielten die kompatiblen EK auch nach der Transfusion Rh-(D)-positiver EK. Insgesamt wurden ihnen 83 % der kompatiblen EK nach der Rh-(D)-Exposition transfundiert. Von den 37 nichtimmunisierten Patienten erhielten 31 Rh-(D)-negative EK, durchschnittlich erhielten sie 9,0 (Median 5) Konserven (s. Tab. 12). Unter ihnen erhielten 8 Patienten die antigenkompatiblen EK ausschließlich vor Antigenexposition. Die 23 anderen (72 %) erhielten die EK auch nach Transfusion von Rh-(D)-positiven EK. Ihnen wurden 58 % der EK nach Antigenexposition transfundiert. Der Unterschied der Patienten in der Gruppe der immunisierten bzw. der nichtimmunisierten bezüglich der Gabe antigenkompatibler EK ist statistisch nicht signifikant (7 der 9 immunisierten erhielten Rh-(D)-negative EK, unter den 37 Nichtimmunisierten waren es 31, $p=0,645$). Ebenfalls statistisch nicht signifikant ist, dass bei 86 % der immunisierten und bei 72 % der nichtimmunisierten Patienten die Gabe von Rh-(D)-kompatiblen EK auch nach Antigenexposition stattfand ($p=1$).

4.4.8 Anzahl Rh-(D)-positiver Thrombozytenkonzentrate (TK) 8 – 16 Wochen vor AKS

Aus Tab. 12 ist ersichtlich, dass 5 der 9 immunisierten Patienten (56 %) auch Rh-(D)-positive TK erhielten. Sie bekamen durchschnittlich 2,6 (Median 3) TK. Unter den nichtimmunisierten Patienten haben 13 von 37 (35 %) Rh-(D)-positive TK erhalten. Ihnen wurden durchschnittlich 3,2 (Median 3) TK transfundiert. Dieses Ergebnis ist statistisch nicht signifikant ($p=0,284$).

4.4.9 Anzahl TK 7 Tage vor Exposition bis zum AKS

Im Zeitraum von 7 Tagen vor der Exposition bis zum AKS erhielten 5 der immunisierten Patienten TK, durchschnittlich 2,8 TK (Median 3). 13 der nichtimmunisierten Patienten erhielten TK, durchschnittlich bekamen sie 3,2 (Median 4) TK (s. Tab. 12). Dieses Ergebnis ist statistisch nicht signifikant ($p=0,284$).

4.4.10 Anzahl gefrorenes Frischplasma (GFP) zwischen der Exposition bis zum AKS

Bei 7 der immunisierten Patienten war die Gabe von GFP erfolgt. Sie erhielten durchschnittlich 18,9 (Median 20) Konserven GFP. Achtzehn der nichtimmunisierten erhielten ebenfalls GFP, sie erhielten durchschnittlich 17,3 (Median 12) Konserven Plasma (s. Tab. 12). Die Tatsache, dass 78 % der Immunisierten und 49 % der Nichtimmunisierten GFP erhielten, ist statistisch nicht signifikant ($p=0,150$).

5 Diskussion

Im europäischen Vergleich ist die Versorgung mit Erythrozytenkonzentraten in Deutschland zwar als gut zu betrachten (Henseler 2010), dennoch herrscht gerade an Rh-(D)-negativen EK ein Mangel. Mädchen und Frauen im gebärfähigen Alter sollten immer Rh-(D)-kompatibel transfundiert werden (Bundesärztekammer 2010). Aufgrund des Mangels an Rh-(D)-negativen EK lässt sich aber eine Rh-(D)-inkompatible Transfusion nicht immer vermeiden. Bisher wurde von Immunisierungsfrequenzen von 80 % – 85 % nach Rh-(D)-inkompatibler Transfusion ausgegangen (Eckstein und Zimmermann 2010, Flegel und Wagner 2010, Mollison et al. 1997). In der aktuellen Literatur finden sich Daten, dass diese bedeutend niedriger liegen könnten (Dutton et al. 2005, Flommersfeld et al. 2008, Frohn et al. 2003, Ramsey et al. 1989, Yazer und Triulzi 2007).

Ziel dieser Arbeit war es daher, die in der neueren Literatur angegebenen Immunisierungsfrequenzen von 10 % – 30 % anhand des Patientengutes in einem universitären Haus der Maximalversorgung zu erheben. Die Kenntnis über die genaue Immunisierungsfrequenz und Faktoren, die eine Immunisierung möglicherweise beeinflussen, könnten zukünftig dazu beitragen, dass die knappen Rh-(D)-negativen EK gezielt vor allem dort eingesetzt werden, wo mit einer hohen Immunisierungswahrscheinlichkeit zu rechnen ist.

5.1 Studienkonzeption

Den bisher vorliegenden Studien zu Immunisierungsfrequenzen nach inkompatibler Erythrozytentransfusion liegen unterschiedliche Studienbedingungen zugrunde. Sie unterscheiden sich sowohl bezüglich des Untersuchungszeitraums, der Zusammensetzung des Patientenkollektivs, der transfundierten Blutkomponenten als auch weiterer Faktoren.

5.1.1 Untersuchungszeitraum

In dieser Studie wurde angestrebt, alle betroffenen Patienten prospektiv im in den Richtlinien zur Hämotherapie empfohlenen Zeitraum von 2 bis 4 Monaten nach Rh-(D)-inkompatibler Transfusion auf Antikörper hin zu untersuchen. Die in der neueren Literatur angegebenen niedrigen Immunisierungsfrequenzen von 10 % - 30 % basieren nicht auf Untersuchungen innerhalb eines immunologisch begründeten Zeitraums. Vielmehr wurden retrospektiv Untersuchungen ausgewertet, die teilweise bereits 2 Wochen nach der Transfusion oder aufgrund erneuten Transfusionsbedarfs zu nicht standardisierten Zeitpunkten stattfanden. Die berichteten Untersuchungszeiträume liegen zwischen 2 und 712 Tagen nach rhesusinkompatibler Transfusion (Gonzales-Porras 2008, Yazer und Triulzi 2007). Ein zu kurzer Zeitraum nach der Transfusion, birgt die Gefahr, dass die Antikörperbildung noch nicht erfolgte und so auf zu niedrige Immunisierungsfrequenzen geschlossen wird. Einer Studie von Redman et al. (1996) zufolge bildeten sich die detektierten Antikörper aller Spezifitäten im Zeitraum zwischen 2 und 24 Wochen (durchschnittlich 8,3 Wochen) nach der Transfusion. Nach Auskunft der Bundesärztekammer wurde der in den Richtlinien empfohlene Zeitraum von 8 – 16 Wochen nach Transfusion u.a. auf der Grundlage dieser Studie gewählt. In vorliegender Arbeit wurde der Antikörpersuchtest (AKS) frühesten 8 Wochen (56 Tage) nach der Transfusion durchgeführt. Es ergab sich, dass die Untersuchung auf Antikörper bei den immunisierten Patienten 14 Tage später (nach 92 Tagen) stattgefunden hatte, als bei jenen Patienten, bei denen keine Antikörper detektiert wurden (nach 78 Tagen). Da die immunisierten Patienten also durchschnittlich 2 Wochen später untersucht wurden, kann darüber spekuliert werden, ob die Zahl immunisierter Patienten durch die Wahl eines noch späteren Untersuchungszeitraumes, beispielsweise nach frühestens 10 Wochen, höher ausgefallen wäre. Diese Hypothese könnte durch eine erneute Studie zur Immunisierungsfrequenz durch Wiederholen des Suchtests bzw. erstmaliges Durchführen des AKS zu diesem noch späteren Zeitpunkt überprüft werden. Aufgrund der Studie von Redman et al. ist jedoch davon auszugehen, dass im Falle einer Antikörperbildung diese zum in dieser Arbeit gewählten Untersuchungszeitraum diese bereits detektierbar war. Zudem ist der gefundene Unterschied des Untersuchungszeitraums in dieser Studie statistisch nicht signifikant ($p=0,135$).

Eine zu späte Durchführung des AKS könnte ebenfalls zu einer zu niedrigen Immunisierungsfrequenz führen, da zwischenzeitlich durch unter die Nachweisgrenze gesunke-

ne Antikörpertiter mögliche Immunisierungen unentdeckt blieben. So lassen sich etwa 45 % aller Antikörper nach der erstmaligen Detektion in einem zu späterer Zeit (> 6 Monaten nach Transfusion) durchgeführten AKS nicht mehr nachweisen lassen (Schonewille et al. 1999). Daher wurde der AKS in der vorliegenden Studie spätestens 16 Wochen nach der Transfusion durchgeführt.

5.1.2 Patientenkollektiv

Am Universitätsklinikum Eppendorf (UKE) wurden in einem Zeitraum von 14 Monaten 76 Rh-(D)-negative Patienten mit je mindestens einem Rh-(D)-positiven Erythrozytenkonzentrat (EK) transfundiert. Sechszwanzig dieser Patienten wurden auf Antikörper untersucht. Bei 30 der Patienten war eine Untersuchung aufgrund zu großer räumlicher Distanz (5 Patienten) bzw. fehlendem Einverständnis zur Untersuchung (2 Patienten) nicht möglich. Dreiundzwanzig der Patienten verstarben vor der Durchführung des AKS.

Die Untersuchung der mehr als 60 Kilometer entfernt wohnenden Patienten hätte nur unter erheblichem zeitlichem Aufwand stattfinden können. Indessen ist eine Beeinflussung der Ergebnisse durch ihr Ausscheiden aus der Untersuchung nicht zu erwarten, da die Patienten lediglich aufgrund des entfernten Wohnorts und nicht aufgrund von Faktoren, die die Immunisierungswahrscheinlichkeit beeinflussen könnten, ausgeschlossen wurden. Gleiches gilt für die beiden Patienten, die eine Nachuntersuchung verweigerten.

Unter den 23 verstorbenen Patienten starben 17 Patienten innerhalb von 8 Wochen nach der Transfusion, eine Untersuchung auf Antikörper innerhalb des festgelegten Zeitraums war also nicht möglich. Unter der Annahme, dass gebildete Antikörper erst nach etwa 8 Wochen nachzuweisen sind (Redman et al. 1996), wäre dies zu einem früheren Zeitpunkt auch nicht sinnvoll gewesen. Vier Patienten verstarben zwar erst nach Ablauf der 8 Wochen, die Durchführung des AKS war bei ihnen aus organisatorischen Gründen aber vor dem Todeszeitpunkt nicht möglich. Auch bei diesen 4 Fällen kann ausgeschlossen werden, dass sie die Immunisierungsrate systematisch in die eine oder andere Richtung verändert hätten. Bei 2 weiteren Patienten konnten trotz Nachforschungen keine genauen Informationen über den Todeszeitpunkt erhalten werden.

Befanden sich die Patienten im festgelegten Untersuchungszeitraum noch immer oder erneut in stationärer Behandlung oder hielten sie sich für Nachuntersuchungen am UKE auf (n=33), so fand die Blutentnahme hier statt. Alle anderen Patienten (n=13) wurden zuhause aufgesucht, was in den bisher vorgelegten Studien nicht der Fall gewesen war. Die Annahme, dass diese daheim aufgesuchten Patienten tendenziell in einem besseren gesundheitlichen Zustand waren, lässt die Vermutung zu, dass sie vielleicht „gesünder“ und auch immunkompetenter als das bisher untersuchte Patientenkollektiv waren. Diese Spekulation kann durch die vorliegende Arbeit jedoch nicht bestätigt werden. Unter den immunisierten Patienten lag der Anteil der für die Probenentnahme zu Hause aufgesuchten Patienten bei 22 % und bei denen, die in der Klinik nachuntersucht wurden, bei 30 %. In vorliegender Arbeit wurde aber nicht berücksichtigt, ob sich die zuhause aufgesuchten, hypothetisch immunkompetenteren Patienten, außerhalb des UKE einer Nachbehandlung unterziehen mussten bzw. wie schwerwiegend die gesundheitliche Einschränkung, aufgrund derer die Nachuntersuchung am UKE stattfand, war. Insgesamt ist es daher nicht zielführend, aus dem Entnahmeort der Blutprobe auf Immunkompetenz rückzuschließen.

5.1.3 Methode zur Detektion der Antikörper

Zur Untersuchung wurde stets einheitliches Probenmaterial (EDTA-Blut) verwendet und die Durchführung des AKS fand bei allen untersuchten Proben innerhalb von 24 Stunden nach der Blutentnahme statt. Bis zur Untersuchung wurden alle Proben gekühlt gelagert (Solltemperatur $+ 4\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$). Zur Detektion der Antikörper wurde der indirekte Coombs-Test (ICT) im Gelkartensystem ScanGel (Coombs, Anti-IgG, -C₃d) der Firma Bio-Rad eingesetzt. Diese als sensitiv geltende Methode ist zur Detektion von Rhesusantikörpern geeignet und wurde nach Einführung im Vergleich zum Liss/Coombs-Röhrchen-Test (LC-RT) für gleichwertig bzw. überlegen befunden (Lynen et al. 1992, Strunk 1991). Lynen et al. fanden außerdem heraus, dass die Gel-Methode in der LISS/Coombs-Version bei der Detektion von Rhesus-Antikörpern in der Sensitivität der von Enzymtests mit Bromelin entspricht. Einer Studie von Redman et al. (1996) zufolge wurden unter Verwendung des Enzymmilieus mehr Antikörper detektiert als unter Anwendung des ICT. Da in der aktuellen Literatur kein einheitliches Urteil über die Zuverlässigkeit der zur Verfügung stehenden Tests herrscht, musste erwo-

gen werden, ob durch zusätzliche Durchführung des AKS in einem Enzym-Milieu (z.B. Papain) eventuell mehr Antikörper detektiert werden können. Zu diesem Zweck wurden 33 der untersuchten Patientenproben zusätzlich im Papain-Milieu auf Antikörper untersucht, ohne dass der Untersucherin die Ergebnisse des Suchtests im Coombs-Milieu bekannt waren. Im Coombs-Milieu und im Papain-Milieu wurden bei 8 der 46 Patienten Antikörper detektiert (6 Patienten entwickelten einen Rh-(D)-Antikörper, bei 2 Patienten wurde zusätzlich zum Rhesus-(D)-Antikörper ein Rhesus-(C)-Antikörper detektiert). Allerdings konnte bei einem im Coombs-Milieu nicht als positiv getesteten Patienten noch ein Rh-(D)-Antikörper detektiert werden. Die Immunisierungsfrequenz bei alleiniger Testung im Coombs-Milieu lag bei 17 %, bei Einbeziehung der Ergebnisse im Papain-Milieu erhöhte sie sich somit auf 20 %.

5.2 Rh-(D)-Immunisierungsfrequenz

In der Transfusionsmedizin wurde über viele Jahrzehnte hin die Ansicht vertreten, dass eine rhesusinkompatible Transfusion mit dem stark immunogenen D-Antigen in über 80 % der Fälle zur Antikörperbildung führe. Diese Zahlen, die sich auch heute noch in der Literatur finden (Eckstein und Zimmermann 2010, Flegel und Wagner 2010, Mollison et al. 1997), basieren auf Untersuchungen mit Blutzubereitungen, die heutigen Standards (z. B. Komponenten-Therapie, Leukozyten-Depletion, Additiv-Lösung) nicht mehr entsprechen. So geben Pollack et al. (1971) Frequenzen von 81,8 % an, Cook und Rush (1974) detektierten Rh-Antikörper sogar bei 95 % der Patienten.

Zur Zeit der oben zitierten älteren Studien, wurden z.T. noch Vollblutkonserven verwendet. So wurden in der von Pollack et al. durchgeführten Studie, Rh-(D)-negativen Probanden ca. 500 ml Rh-(D)-positives Vollblut transfundiert (Pollack et al. 1971). Cook und Rush untersuchten Rh-(D)-negative herzchirurgische Patienten, die intraoperativen einen massiven Transfusionsbedarf hatten. Auch diesen Patienten wurde Rh-(D)-positives Vollblut transfundiert. (Cook and Rush 1974). Die seit Mitte der 70er Jahre zunehmend etablierte Komponenten-Therapie, die die Verwendung von Vollblutkonserven inzwischen völlig abgelöst hat, könnte sich nämlich günstig auf die in der neuen Literatur beschriebenen Immunisierungsraten ausgewirkt haben (s. Kapitel 5.3.6 Weitere transfundierte Blutkomponenten).

Blumberg et al. wiesen in einer 2003 durchgeführten Studie nach, dass sich die Immunisierungsfrequenz bei Patienten durch die Gabe von leukozytendepletierten EK von 8,2 % auf 2,8 % deutlich senken ließ. Somit könnte die Verwendung leukozytendepletierter EK, wie sie auch in vorliegender Studie verwendet wurden und in Deutschland seit dem 01.10.2001 vorgeschrieben sind, auch eine Erklärung für die in dieser Arbeit gefundene, relativ niedrige Immunisierungsrate bieten.

In alten Untersuchungen wurde anstelle eines repräsentativen Patientenkollektivs eine Gruppe gesunder Männer immunisiert. Dabei wurden Immunisierungsfrequenzen von 80 % bzw. 93 % ermittelt (Gunson et al. 1970, Urbaniak und Robertsen 1981). Diese hohen Immunisierungsfrequenzen erklären sich vermutlich zum einen damit, dass das Immunsystem gesunder Probanden uneingeschränkt funktionstüchtig ist. Im Gegensatz hierzu könnte das der Patienten aufgrund der Grund- und Akuterkrankungen möglicherweise eingeschränkt sein. Zum anderen fand in diesen alten Untersuchungen auch keine weitere Immunmodulation statt (z.B. durch die Gabe weiterer Blutkomponenten, medikamentöse oder operative Therapie).

In dieser Studie, die in einem Haus der Maximalversorgung an einem fachübergreifenden Patientenkollektiv durchgeführt wurde, ergab sich eine Rh-(D)-Immunisierungsfrequenz von 20 %. Diese stimmt mit den in der aktuellen Literatur (Dutton et al. 2005, Flommersfeld et al. 2008, Frohn et al. 2003, Ramsey et al. 1989, Yazer und Triulzi 2007) zu findenden Angaben von 10 % - 30 % gut überein.

5.3 Mögliche Einflussfaktoren auf die Rh-(D)-Immunisierungsfrequenz

Die Funktion des Immunsystems weist eine hohe interindividuelle Variation auf. Nicht veränderliche Faktoren, wie beispielsweise das Geschlecht oder genetische Dispositionen, können ebenso Einfluss auf die Immunantwort haben wie temporär veränderliche Einflüsse. Hierzu zählen Krankheit oder Immunmodulation infolge therapeutischer Interventionen (z.B. Medikamente, Strahlentherapie). Im Folgenden werden daher die Faktoren diskutiert, die die Immunisierungsrate beeinflussen könnten.

5.3.1 Geschlecht

Ob das Immunsystem eines Menschen durch sein Geschlecht beeinflusst wird, wird in der Immunologie vielfach diskutiert. Geschlechtsbedingte Einwirkungen auf die Rhesus-Immunisierung wurden bereits mehrfach untersucht. Eine Studie von Yazer und Triulzi aus 2007 legt die Vermutung nahe, dass Frauen eher Antikörper bilden, da sie unter den immunisierten Patienten prozentual mehr Frauen als Männer fanden. Diese Hypothese konnte jedoch in der vorliegenden Arbeit nicht bestätigt werden. Auch in anderen Studien hat sich gezeigt, dass sich unter den immunisierten Patienten zu gleichen Anteilen Männer und Frauen befanden (Frohn et al. 2003, Gonzalez-Porrás et al. 2008). In vorliegender Studie wurde für die männlichen Patienten eine Immunisierungsfrequenz von 21 % ermittelt, Frauen bildeten mit 18 % nahezu ebenso häufig Antikörper ($p=1$). Es ist den vorliegenden Ergebnissen nach also nicht mit einem erhöhten Immunisierungsrisiko bei weiblichen Patienten zu rechnen. Demnach ergibt sich auch kein Anlass, das Geschlecht als Entscheidungskriterium bei einer Rhesusumstellung zu berücksichtigen, wie in einem von Flommersfeld entworfenen "Rhesus-Umstellungsscore" (Flommersfeld et al. 2008) vorgeschlagen. Frauen im gebärfähigen Alter und Mädchen sollten aber vollkommen unabhängig von diesen Ergebnissen, in Hinblick auf künftige Schwangerschaften stets Rh-(D)-kompatibel transfundiert werden.

5.3.2 Patientenalter

Ob das Patientenalter ein Einfluss auf die Immunisierungsfrequenz hat, ist in der Literatur nicht einstimmig geklärt. Teilweise wird das Patientenalter als nicht relevante Einflussgröße bei der Antikörperbildung betrachtet (Schonewille et al. 2006). In der vorliegenden Arbeit konnte jedoch gezeigt werden, dass die Patienten, die jünger als 66 Jahre waren, ein signifikant höheres Risiko hatten, einen Antikörper zu bilden ($p=0,023$). Das bestätigt die Ergebnisse einer Studie von Gonzales-Porrás et al. (2008), die das Patientenalter als signifikante Einflussgröße auf die Antikörperbildung beschreibt. Demnach könnte das Alter also als Entscheidungskriterium herangezogen werden. Hierbei gilt es jedoch zu beachten, dass die Patienten, denen zum Zeitpunkt der Transfusion mehr als 10 Rh-(D)-negative EK transfundiert wurden, durchschnittlich 56,2 Jahre alt waren. Das

Durchschnittsalter aller Patienten, ungeachtet der Anzahl der transfundierten EK, betrug 66 Jahre. Demnach lässt sich an dieser Stelle nicht bestimmen, ob die erhöhte Immunisierungsrate der jüngeren Patienten nur aufgrund des Alters zu erklären ist oder ob diese auch bzw. eventuell sogar nur im Zusammenhang mit der in diesem Kollektiv höheren Antigenexposition steht.

5.3.3 Diagnose und Therapie

In welchem Zusammenhang eine Beeinträchtigung des Immunsystems, z.B. in Form einer onkologischen Erkrankung oder durch eine medikamentöse Therapie, mit der Bildung von Antikörpern steht, wird in der Literatur ausgiebig diskutiert. Eine medikamentös bedingte Immunsuppression kann die Antikörperbildung unterdrücken, dies wurde u.a. in einer von Casanueva durchgeführten Studie festgestellt. Sie zeigt, dass sich bei immunsupprimierten (Cyclosporin A), Rh-(D)-negativen Patienten, die im Rahmen einer Lebertransplantation Rh-(D)-positives Blut erhielten, keine Antikörper bildeten (Casanueva et al. 1994 (n=10)). Die Einflüsse maligner Prozesse, bzw. einer sich daraus ergebenden Chemotherapie wurden auch durch andere Studien untersucht und bestätigt (Holohan et al. 1981 (n=100), Huh und Lichtiger 1987 (n=25744), Dutcher et al. 1981 (n=114)).

Nach diesen Studien wäre für vorliegende Arbeit zu erwarten gewesen, dass unter den onkologischen Patienten die Häufigkeit der Antikörperbildung geringer sein sollte als bei den übrigen. Es zeigte sich jedoch, dass sowohl bei den onkologischen (n=13) wie auch den abdominalchirurgischen (n=13) Patienten 30 % ein Anti-D bildeten. Bei den Traumapatienten (n=10) bildete sich in 42 % der Fälle ein Antikörper. Die etwas höhere Immunisierungsfrequenz der Traumapatienten könnte als intaktere Immunkompetenz nicht-onkologischer Patienten gewertet werden. Dies ist jedoch eher als zufällig zu betrachten, da ansonsten auch für die abdominalchirurgischen und die kardiologischen Patienten höhere Immunisierungsfrequenzen hätten gefunden werden müssen. Von den kardiologischen Patienten (n=7) und den Patienten, die keinem Fachgebiet zugeordnet wurden (n=3), wurde kein Patient immunisiert. Anhand der eigenen Untersuchungen ergibt sich somit kein Anlass für niedrigere Immunisierungsfrequenzen infolge maligner Prozesse bzw. daraus folgender Chemotherapie/Irradiation. Vermuten kann man aber, dass krankheitsbedingt eine Funktionsbeeinträchtigung des Immunsystems aller Patien-

tenkollektive vorlag, also nicht ausschließlich einzelne Patientengruppen betreffend. Eine stressinduzierte Immunsuppression z.B. bei Traumapatienten oder nach chirurgischen Eingriffen wurde bereits mehrfach beobachtet (Puyana et al. 1998, Hensler et al. 1997). Festzuhalten ist, dass eine Prognose bezüglich der Immunisierungswahrscheinlichkeit anhand der Diagnose aufgrund der in dieser Arbeit erhobenen Daten nicht gemacht werden kann.

5.3.4 Anzahl transfundierter Rh-(D)-positiver EK

Ein Einfluss auf die Immunisierungsrate könnte auch die Menge des Fremdartigens sein, dem der Empfängerorganismus ausgesetzt war. Flommersfeld et al. zufolge korreliert die Anzahl der transfundierten Rh-(D)-positiven EK nicht mit der Immunisierungswahrscheinlichkeit. Vielmehr wird davon ausgegangen, dass es sich bei vielen der immunisierten Patienten um sogenannte "high responder" handelt, also Patienten, die leichter Antikörper bilden als andere nach der gleichen Exposition. Diese Auffassung stützt sich darauf, dass die immunisierten Patienten weitere Alloantikörper (auch solche außerhalb des Rhesussystems) bildeten (Flommersfeld et al. 2008). Die Autoren empfehlen daher, bei einem zu erwartenden hohen Bedarf an Rh-(D)-negativen EK bereits frühzeitig mit der Versorgung mit Rh-(D)-positiven EK zu beginnen. Unter der Annahme, dass die "high responder" unabhängig von der Antigenmenge ohnehin Antikörper bilden, wäre dadurch eine Einsparung Rh-(D)-negativer EK möglich. Diese Ergebnisse werden durch weitere Studien, die der Anzahl der transfundierten EK ebenfalls keine Bedeutung für die Immunisierungsfrequenz beimessen, gestützt (Frohn et al. 2003, Yazer und Triulzi 2007).

Im Gegensatz dazu beschreibt eine Studie von Gonzalez-Porras et al. aus dem Jahr 2008 einen positiv korrelierenden Zusammenhang zwischen der Anzahl der transfundierten Rh-(D)-positiven EK und der Immunisierungsrate. Es zeigte sich jedoch auch in dieser Studie, dass es bei über der Hälfte der Patienten (64 %) bereits nach Gabe der ersten 2 EK zur Antikörperbildung kam. Bei 88 % der Patienten fiel der AKS nach Gabe von 4 EK positiv aus. Fand die Immunisierung nicht bereits durch die ersten 4 EK statt, wurde auch dort die Wahrscheinlichkeit der Antikörperbildung bei einem höheren Transfusionsbedarf als nicht wesentlich erhöht eingeschätzt.

In der vorliegenden eigenen Arbeit zeigten sich hingegen Ergebnisse, die darauf schließen lassen, dass ein vermehrter Einsatz Rh-(D)-positiver EK mit einer signifikant erhöhten Wahrscheinlichkeit der Antikörperbildung einherging ($p=0,015$). Die Patienten hatten zwischen 1 und 30 EK erhalten. Im Durchschnitt erhielten die Patienten, bei denen ein Anti-D detektiert wurde, 10,3 EK (Median 12). Die nichtimmunisierten Patienten hatten mit durchschnittlich 4,9 EK (Median 2) weniger Rh-(D)-positive EK erhalten. Es kann hier jedoch keine genaue Aussage darüber getroffen werden, ob die Immunisierung tatsächlich nur aufgrund der höheren Antigenexposition stattfand, da die mit mehr als 10 EK transfundierten Patienten zum Transfusionszeitpunkt durchschnittlich auch ca. 10 Jahre jünger waren. In Kapitel 5.3.2 "Patientenalter" wurde der an dieser Stelle nicht abschließend zu klärende Zusammenhang zwischen der erhöhten Antigenexposition bzw. dem geringeren Patientenalter und der erhöhten Immunisierungswahrscheinlichkeit bereits erwähnt.

Auch darüber, ob es sich bei den immunisierten Patienten um sogenannte "high responder" handelt, die möglicherweise auch bei geringeren Mengen Antikörper gebildet hätten, kann an dieser Stelle nur spekuliert werden. Dagegen spricht, dass lediglich bei 2 der 9 Patienten mehr als ein Antikörper detektiert wurde. Diese Ergebnisse der eigenen Arbeit legen also eher nahe, eine Gabe Rh-(D)-positiver EK gerade bei einem hohen Bedarf zu vermeiden, was den in der Praxis erforderlichen Gegebenheiten jedoch eher nicht entspricht. Die benötigte Anzahl Rh-(D)-negativer EK sollte demnach in jedem Fall individuell und unter Berücksichtigung der aktuell vorrätigen Anzahl Rh-(D)-negativer EK und des zu erwartenden Bedarfs erfolgen.

5.3.5 Expositionszeitraum und Reexposition

Einige der Patienten erhielten die Rh-(D)-positiven EK an nur einem einzigen Tag. Bei anderen erstreckte sich die Gabe über mehrere Tage. In diesen Fällen wird in dieser Arbeit der Terminus "Reexposition" verwendet. Unter den 8 Reexponierten kam es bei 3 zu einer Immunisierung. Dies entspricht einer Frequenz von 37,5 %. Bei den nicht reexponierten Patienten betrug die Frequenz lediglich 13 % (bei 5 der 38 nicht Reexponierten fiel der AKS positiv aus). Somit könnte es sein, dass eine erneute Transfusion Rh-(D)-positiver EK als Risikofaktor für eine Immunisierung gewertet werden kann. Dieses Ergebnis ist jedoch statistisch nicht signifikant, $p=0,176$. In der aktuellen

Literatur wird die Reexposition bisher nicht für eine erhöhte Immunisierungswahrscheinlichkeit verantwortlich gemacht (Schonewille et al. 2006). Der tatsächliche Einfluss der wiederholten Antigenpräsentation auf die Immunisierungswahrscheinlichkeit könnte in einer neuen Studie näher betrachtet werden, die dann aber deutlich umfangreicherer Fallzahlen bedürfte.

5.3.6 Weitere transfundierte Blutkomponenten

Die Transfusion Rh-(D)-negativer EK ist aufgrund verschiedener Mechanismen von Interesse. Zum einen wird in der Literatur ein „Auswaschungs-Effekt“ beschrieben (Frohn et al. 2003). Danach könnte die Transfusion von antigenkompatiblen EK nach inkompatibler Transfusion die antigentragenden Erythrozyten auswaschen und somit eine Immunisierung unwahrscheinlicher machen. In der oben genannten Studie wird dieser „Auswaschungseffekt“ als nicht relevant beschrieben, da die Patienten die Rh-(D)-negativen EK größtenteils vor den Rh-(D)-positiven EK erhalten haben. In der vorliegenden Untersuchung war dies aber nicht der Fall. Mehr als die Hälfte der insgesamt transfundierten antigenkompatiblen EK wurde erst nach der Antigenexposition transfundiert. Eine Auswaschung der D-Antigen tragenden Erythrozyten wäre, sofern dieser Effekt eine Rolle spielt, also möglich gewesen. Dagegen spricht jedoch, dass prozentual mehr immunisierte (86 %) als nichtimmunisierte Patienten (72 %) die kompatiblen EK erst nach der Rh-(D)-Exposition erhalten haben. Es zeigt sich sogar, dass die immunisierten Patienten 83 % der kompatiblen EK nach Anti-D-Exposition erhalten haben, bei den nichtimmunisierten waren dies nur 57 % der kompatiblen EK. Zum anderen könnten auch die antigenkompatiblen EK einen immunmodulatorischen Effekt aufweisen. Dieser wird auch für die weiteren Blutkomponenten wie TK und GFP postuliert (Heiss und Delanoff 1997).

Fremdbluttransfusionen mit nicht leukozytendepletierten Präparaten können einen klinisch relevanten immunsuppressiven Effekt haben, dies wurde im Zusammenhang mit Nierentransplantationen bereits vor 40 Jahren beschrieben (Opelz et al. 1973, Proud et al. 1979). Demnach würde für die nichtimmunisierten Patienten größere Mengen transfundierter, antigenkompatibler EK erwartet, die deren Immunsystem drosselten und so einer Antikörperbildung entgegenwirkten. 7 der 9 immunisierten Patienten erhielten durchschnittlich 10,9 (Median 6) Rh-(D)-negative EK zusätzlich zu den Rh-(D)-

positiven. Bei den nichtimmunisierten Patienten erhielten 31 der 37 ebenfalls antigenkompatible EK; hier waren es durchschnittlich 9,0 (Median 5) Konserven. Einen relevanten Einfluss auf die Immunisierungswahrscheinlichkeit hat die Gabe zusätzlicher antigenkompatibler EK demnach nicht ($p=0,645$). Bezüglich der transfundierten Thrombozyten und dem GFP zeigten sich ähnliche Ergebnisse. In beiden Patientengruppen wurden in ähnlichem Umfang TK bzw. GFP verabreicht. Auch hier lässt sich demnach ein immunmodulatorischer Effekt nicht nachweisen ($p=0,284$ bzw. $p=0,150$). Thrombozyten tragen zwar keine Rhesus-Antigene (Dunstan et al. 1984), aufgrund von Verunreinigungen mit Erythrozyten könnten die transfundierten TK jedoch neben den immunmodulatorischen Effekten auch selbst die Antikörperbildung ausgelöst haben. Bereits die Übertragung von 0,1 ml Rh-(D)-positiven Blutes kann eine feststellbare Immunisierung zur Folge haben (Woodrow und Donahue 1968). Im Falle von Rh-(D)-positiven TK könnte eine Kontamination mit D-Antigen tragenden Erythrozyten also zur Antikörperbildung führen. Daher wird in den Richtlinien der Bundesärztekammer eine Rhesus-kompatible Transfusion der TK empfohlen bzw. eine Rhesusprophylaxe bei jungen Frauen nach inkompatibler Transfusion zur Vermeidung der Antikörperbildung empfohlen (Bundesärztekammer 2010). Die Immunisierung aufgrund eines solchen erythrozytär verunreinigten TK ist zwar sehr unwahrscheinlich, da sie jedoch nicht völlig auszuschließen ist, wurde diese Möglichkeit auch überprüft. 5 der 9 immunisierten Patienten bekamen durchschnittlich 2,6 (Median 3) TK. Unter den nichtimmunisierten Patienten haben 13 Rh-(D)-positive TK erhalten. Ihnen wurden durchschnittlich 3,2 (Median 3) TK transfundiert ($p=0,284$). Es ergibt sich hier also kein Hinweis darauf, dass Patienten durch erythrozytär verunreinigte TK immunisiert wurden.

6 Zusammenfassung

Aufgrund des steigenden Bedarfs an Erythrozytenkonzentraten (EK) und eines aus demografischen Gründen (Greinacher et al. 2007) in der Zukunft möglicherweise rückläufigen Spendeaufkommens könnte der Mangel an nahezu universell einsetzbaren Rh-(D)-negativen EK ein immer größeres Problem werden.

In älteren Studien mit im Vergleich zu heute stark leukozytenhaltigen Präparaten wurden Anti-(D)-Immunisierungsfrequenzen von 80 % - 95 % nach Transfusion Rh-(D)-inkompatibler Blutkonserven ermittelt (z.B. Cook und Rush 1974, Pollack et al. 1971). Diese werden z.T. auch noch in der jüngeren Fachliteratur zitiert (Eckstein und Zimmermann 2010, Flegel und Wagner 2010, Mollison et al. 1997). Es existieren aber auch aktuellere Studien, in denen Antikörper bei nur 10 % - 30 % der Fälle detektiert wurden (Dutton et al. 2005, Flommersfeld et al. 2008, Frohn et al. 2003, Ramsey et al. 1989, Yazer und Triulzi 2007). Die Kenntnis über die genaue Immunisierungsfrequenz und die Faktoren, die eine Immunisierung möglicherweise beeinflussen, könnten dazu beitragen, die knappen Rh-(D)-negativen EK gezielt vor allem dort einzusetzen, wo mit einer hohen Immunisierungswahrscheinlichkeit zu rechnen ist. Ziel dieser Arbeit war es daher, die Immunisierungsfrequenz am Universitätsklinikum Eppendorf, einem Haus der Maximalversorgung, zu bestimmen und durch Auswertung der Patientendaten eventuelle Einflussfaktoren (z.B. Geschlecht, Alter, Transfusionsumfang) zu bestimmen.

Im Untersuchungszeitraum (14 Monate) mussten 76 Rh-(D)-negative Patienten mit jeweils mindestens 1 Rh-(D)-positiven EK versorgt werden. Das Patientenkollektiv war fächerübergreifend und schloss onkologische, kardiologische, abdominal-chirurgische sowie Trauma-Patienten mit ein. Den Richtlinien der Bundesärztekammer entsprechend wurde der Antikörpersuchtest (AKS) 8-16 Wochen nach der Transfusion durchgeführt. Von den 76 eingeschlossenen Patienten konnten 46 untersucht werden, 30 Patienten waren entweder bereits verstorben (23), wohnten weiter als 60 km vom Untersuchungs-ort entfernt (5) oder stimmten der Untersuchung nicht zu (2). Im Gegensatz zu anderen retrospektiv angelegten Studien war diese Untersuchung nämlich so angelegt, dass prospektiv alle erreichbaren Patienten in einem einheitlich gewähltem Untersuchungszeitraum auf Antikörper getestet wurden. So sollte vermieden werden, durch zu frühe Untersuchung eventuell noch unter der Nachweisgrenze liegende Antikörpertiter bzw. bei zu späten Untersuchungszeitpunkten bereits wieder unter die Nachweisgrenze gesunkene Titer nicht zu erfassen. Der AKS wurde bei allen Proben mittels

Antihumanglobulintestes (AHG-Test) in einem Gelkarten-System im Coombs-Milieu durchgeführt, ein Teil der Proben (71%) wurden zur Kontrolle zusätzlich im Papain-Milieu untersucht. Insgesamt ergab sich hierbei eine Immunisierungsfrequenz von 20 % (s. Kapitel 4.3, S.41). Diese bestätigt die in der aktuellen Literatur beschriebenen niedrigen Frequenzen von 10 % - 30 % (z.B. Frohn et al. 2003, Ramsey et al. 1989, Yazer und Triulzi 2007). Die gefundene Immunisierungsfrequenz lag bei Frauen mit 17 % nahezu gleich hoch wie bei Männern (21 %) und es fand sich demnach kein Hinweis darauf, dass Frauen eher zur Bildung von Antikörpern neigten (s. Kapitel 4.3.1, S.41). Die in der aktuellen Literatur diskutierte Hypothese über sog. "high responder" (Flommersfeld et al. 2008) erfuhr keine Bestätigung, lediglich 2 von 9 Patienten bildeten neben Anti-D-Antikörpern noch einen weiteren Antikörper. Es stellte sich in dieser Arbeit aber heraus, dass es mit einer Zunahme der Antigenexposition zu einem signifikanten Anstieg der Antikörperbildung kam (s. Kapitel 4.4.3, S.46) und die Antigenmenge einen Einfluss auf die Immunisierung hatte. Ein ebenfalls bereits in der aktuellen Literatur (Gonzales-Porras et al. 2008) diskutierter Zusammenhang zwischen dem Patientenalter und der Immunisierungswahrscheinlichkeit wurde auch in dieser Arbeit gefunden. Zum Zeitpunkt der Transfusion waren die Patienten, denen mehr als 10 Rh-(D)-negative EK transfundiert wurden, durchschnittlich 56 Jahre alt. Das durchschnittliche Alter aller Patienten, ungeachtet der Anzahl der transfundierten EK betrug 66 Jahre. Wie in Kapitel "Patientenalter" (s. Kapitel 4.4.1, S.45) aufgeführt, hatten die Patienten, die zum Transfusionszeitpunkt jünger als 66 Jahre waren, ein signifikant höheres Risiko Antikörper zu bilden, als ältere Patienten. Demnach lässt sich an dieser Stelle nicht sicher bestimmen, ob die erhöhte Immunisierungswahrscheinlichkeit bei Patienten, die mehr als 10 EK erhielten, ausschließlich auf der stärkeren Antigenexposition beruht oder im Zusammenhang mit dem niedrigeren Patientenalter steht. Es zeigte sich außerdem, dass die Gefahr einer Immunisierung stieg, wenn Patienten mehrfach hintereinander Rh-(D)-positive EK erhalten hatten (s. Kapitel 4.4.5, S.48). Die Gabe weiterer Blutkomponenten (TK, GFP) zeigte sich in den vorliegenden Ergebnissen als nicht signifikant bezüglich der Immunisierungswahrscheinlichkeit. Insgesamt ist aber festzuhalten, dass es bei den Fragestellungen, bei denen mit dem hier angewendeten Exakten Test nach Fisher keine Signifikanz gefunden wurde, auch am quantitativ nicht ausreichenden bzw. zu heterogenen Patientenkollektiv gelegen haben könnte, was nur durch die Untersuchung eines größeren Patientenkollektivs aufgelöst werden kann.

7 Literaturverzeichnis

Avent ND, Reid ME (2000)

The Rh blood group system: a review.
Blood 95: 375-87.

Bein G (2010)

Immunmodulatorische Wirkung von Bluttransfusionen.
In: Transfusionsmedizin und Immunhämatologie: Grundlagen - Therapie – Methodik.
Kiefel V (Hrsg.), Springer, Berlin. 479-484.

Benedum J (2010)

Geschichte der Bluttransfusion
In: Transfusionsmedizin und Immunhämatologie: Grundlagen - Therapie – Methodik.
Kiefel V (Hrsg.) Springer, Berlin. 3-15.

Blumberg N, Heal JM, Gettings KF (2003)

WBC reduction of RBC transfusions is associated with a decreased incidence of RBC
alloimmunization.
Transfusion 43: 945-952.

Bundesärztekammer (2010)

Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von
Blutprodukten (Hämotherapie).
Deutscher Ärzte-Verlag, Köln.

Casanueva M, Valdes MD, Ribera MC (1994)

Lack of alloimmunization to D antigen in D-negative immunosuppressed liver trans-
plant recipients.
Transfusion 34 (7): 570-572.

Cook K, Rush B (1974)

Rh (D) immunization after massive transfusion of Rh (D)-positive blood.
Med J Aust 1: 166-168.

Custer B, Johnson ES, Sullivan SD, Hazlet TK, Ramsey SD, Hirschler NV, Murphy EL,
Busch MP (2004)

Quantifying losses to the donated blood supply due to donor deferral and miscollection.
Transfusion 44: 1417-1426.

Dengler J, Dreger P (2010)

Bildung, Aufbau, Funktion und Kinetik hämatopoetischer Zellen
In: Transfusionsmedizin und Immunhämatologie: Grundlagen - Therapie – Methodik.
Kiefel V (Hrsg.) Springer, Berlin. 17-34.

DiaMed Arbeitsanleitung Blutgruppenserologie (2006)

Arbeitsanleitung Blutgruppenserologie.
DiaMed Deutschland GmbH, Ottobrunn.

- DRK (2010)
Deutsches Rotes Kreuz, Infoblatt vom März 2010
Änderung der oberen Altersgrenze für Blutspender [Online im Internet]
<http://www.ov-velbert.drk.de/10-bluts/blutalte.htm> [Stand: 25.09.2012, 10.31 Uhr].
- Dunstan RA, Simpson MB, Rosse WF (1984)
Erythrocyte antigens on human platelets. Absence of the Rh, Duffy, Kell, Kidd and Lutheran antigens.
Transfusion 24: 243-246.
- Dutcher JP, Schiffer CA, Aisner J, Wiernik PH (1981)
Long-term follow-up patients with leukemia receiving platelet transfusions: identification of a large group of patients who do not become alloimmunized.
Blood 58: 1007-1011.
- Dutton RP, Shih D, Edelmann BB, Hess J, Scalea TM (2005)
Safety of uncrossmatched type-0 red cells for resuscitation from hemorrhagic shock.
J Trauma 59: 1445-1449.
- Eckstein R, Zimmermann R (2010)
Immunhämatologie und klinische Transfusionsmedizin.
Urban & Fischer, München.
- Erhard J (2011)
Individuelle Hämotherapie – die interdisziplinäre Regelung.
Anästh Intensivmed 1: 29-36.
- Flegel WA, Wagner FF (2010)
Blutgruppen: Alloantigene auf Erythrozyten.
In: Transfusionsmedizin und Immunhämatologie: Grundlagen - Therapie – Methodik.
Kiefel V (Hrsg.) Springer, Berlin. 133-168.
- Fleischer B, Hörauf A (1999)
Spezifische Mechanismen der immunologischen Infektabwehr.
In: Handbuch der Molekularen Medizin. Immunsystem und Infektiologie.
Ganten D, Ruckpaul K (Hrsg.) Springer, Berlin. 341-366.
- Flommersfeld S, Forrest EJ, Oldenburg J, Hoch J (2008)
Shortage of Rhesus-D-negative RBC: frequency of Rhesus-D-immunization.
Transfus Med and Hemother 35: 66.
- Frohn C, Dümbgen L, Brand JM, Görg S, Luhm J, Kirchner H (2003)
Probability of anti-D development in D-patients receiving D+ RBCs.
Transfusion 43: 893-898.
- Geigy (1984)
Geigy Scientific Tables, Physical chemistry composition of blood hematology, somatometric data.
Lenter C (Hrsg.) CIBA-Geigy, Basel. 205-213.

- Georg-August-Universität Göttingen (2008))
Zentrum Hygiene und Humangenetik, Abteilung Transfusionsmedizin, Vorlesungsbe-
gleitendes Skript. [Online im Internet]
http://www.transfusionsmedizin.med.uni-goettingen.de/pdf/skript_tfm.pdf [Stand:
10.07.2013, 13.56 Uhr].
- Gonzales-Porras JR, Graciani IF, Perez-Simon JA, Martin-Sanchez J, Encinas C, Conde
MP, Nieto MJ, Corral M (2008)
Prospective evaluation of a transfusion policy of red blood cells into D- patients.
Transfusion 48: 1318-1324.
- Greinacher A, Fendrich K, Alpen U, Hoffmann W (2007)
Impact of demographic changes on the blood supply: Mecklenburg-West Pomerania as
a model region for Europe.
Transfusion 47: 395-401.
- Gunson HH, Stratton F, Cooper DG, Rawlinson VI (1970)
Primary immunization of Rh-negativ volunteers.
Br Med J 1: 593-595.
- Henseler O, Heiden M, Haschberger B, Hesse J, Seitz R (2010)
Bericht zur Meldung nach § 21 TFG für die Jahre 2008 und 2009.
Bundesgesundheitsblatt 53: 1089–1103.
- Hensler T, Hecker H, Heeg K, Heidecke CD, Bartels H, Barthlen W, Wagner H,
Siewert JR, Holzmann B (1997)
Distinct mechanisms of immunosuppression as a consequence of major surgery.
Infect Immun 65: 2283-2291.
- Heiss MM, Delanoff C (1997)
Immunmodulatorische Wirkung der Bluttransfusion und Einfluß auf Infektionsrate und
Tumorrezidiv.
Infusionsther Transfusionsmed 24: 20-31.
- Holohan TV, Terasaki PI, Deisseroth AB (1981)
Suppression of transfusion-related alloimmunization in intensively treated cancer pa-
tients.
Blood 58: 122-128.
- Huh YO, Lichtiger B (1987)
Transfusion reactions in patients with cancer.
Am J Clin Pathol 87: 253-257.
- ISBT (International Society for Blood Transfusion) (2011)
Table of blood group systems. [Online im Internet]
<http://ibgrrl.blood.co.uk/ISBT%20Pages/ISBT%20Terminology%20Pages/Terminology%20Home%20Page.htm> [Stand: 10.07.2013, 11.23 Uhr].
- Issitt PD, Anstee DJ (1999)
Applied blood group serology.
Montgomery Scientific Publications, Durham. 15-41, 338.

Jakobowicz R, Williams L, Silberman F (1972)
Immunization of Rh-Negative Volunteers by Repeated Injections of Very Small Amounts of Rh-Positive Blood.
In: Applied blood group serology.
Issitt PD, Anstee DJ (Hrsg.) Fourth Edition, Montgomery Scientific Publications, Durham. 337.

Klein HG, Anstee DJ (2005)
Mollison's blood transfusion in clinical medicine.
Blackwell Publishing, Oxford. 179.

Knowles S (2001)
Haemolytic transfusion reactions.
In: Practical Transfusion Medicine.
Murphy MF, Pamphilon DH (Hrsg.) First Edition, Blackwell Science, Oxford.

Landsteiner K, Wiener AS (1940)
An agglutinable factor in human blood recognized by immune sera for rhesus blood.
Proc Soc Exp Biol Med 43: 223-224.

Levine P, Stetson RE (1939)
An unusual case of intra-group agglutination.
JAMA 113: 126-127.

Lynen R, Sadlowski S, Neumeyer H (1992)
Nachweis der Überlegenheit des Gel-Zentrifugations-Tests im Vergleich zum LISS/Coombs-Röhrchen-Test bei der Untersuchung von Erythrozyten-Antikörpern der IgG-Klasse.
Laboratoriumsmedizin 16 (7-8): 255-261.

Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M (1997)
Blood transfusion in clinical medicine
Blackwell Science, Oxford.

Müller TH, Hallensleben M, Schunter F, Blasczyk R. (2001)
Molekulargenetische Blutgruppendiagnostik. Grundlagen und klinische Anwendung.
Deutsches Ärzteblatt 98: 317-322.

Murphy MF, Pamphilon DH (2001)
Practical Transfusion Medicine
Blackwell Science, Oxford

Neumann J (2008)
Immunbiologie
Springer, Berlin 119-125.

Opelz G, Sengar DPS, Mickey MR, Terasaki PI (1973)
Effect of blood transfusions on subsequent kidney transplants.
Transplant Proc 5: 253-259.

- Ottenberg R (1911)
Studies in isoagglutination. Transfusion and question of intravascular agglutination.
J Exp Med 13: 425-438.
- Paul-Ehrlich-Institut (2000)
Bekanntmachung des Paul-Ehrlich-Instituts über die Ergebnisse des Stufenplanverfahrens zur Einführung der Leukozytendepletion von zellulären Blutprodukten zur Transfusion.
Bundesanzeiger 174: 18396
- Pollack W, Ascari WQ, Crispen JF, O'Connor RR, Ho TY (1971)
Studies on Rh prophylaxis. II. Rh immune prophylaxis after transfusion with Rh-positive blood.
Transfusion 11: 340-344.
- Proud G, Shenton BK, Smith BM (1979)
Blood transfusion and renal transplantation.
Br J Surg 66: 678-682
- Puyana JC, De Pellegrini JDAK, Kodys K, Silva WE, Miller CL (1998)
Both T-helper-1- and T-helper-2-type lymphokines are depressed in posttrauma anergy.
J Trauma 44: 1037-1045.
- Ramsey G, Hahn LF, Cornell FW, Boczkowski DJ, Staschak S, Clark R., Hardesty RL, Griffith BP, Starzl TE (1989)
Low rate of rhesus immunization from rh-incompatible blood transfusions during liver and heart transplant surgery.
Transplantation 47: 993-995.
- Redman M, Regan F, Contreras M (1996)
A prospective study of the incidence of red cell allo-immunisation following transfusion.
Vox Sang 71: 216-220.
- Reid ME, Mohandas N (2004)
Red blood cell blood group antigens: structure and function.
Semin Hematol 41: 93-117.
- Riley W, Schwei M, McCullough J (2007)
The United States' potential blood donor pool: estimating the prevalence of donor-exclusion factors on the pool of potential donors.
Transfusion 47: 1180-1188.
- Sachs L, Hedderich J (2006)
Angewandte Statistik. Methodensammlung mit R.
Springer, Berlin. 305-326.

- Salama A, Heymann G (2010)
Nachweis von erythrozytären Antigenen und Antikörpern.
In: Transfusionsmedizin und Immunhämatologie: Grundlagen - Therapie – Methodik.
Kiefel V (Hrsg.) Springer, Berlin. 577-588.
- Salama A, Welte M (2010)
Therapie mit Erythrozyten.
In: Transfusionsmedizin und Immunhämatologie: Grundlagen - Therapie – Methodik.
Kiefel V (Hrsg.) Springer, Berlin. 312-318.
- Scheeren T, Hergert SM, Nöldge-Schomburg G (2010)
Kreislaufphysiologische Grundlagen.
In: Transfusionsmedizin und Immunhämatologie: Grundlagen - Therapie – Methodik.
Kiefel V (Hrsg.) Springer. 36.
- Schonewille H, Haak HL, Zijl van AM (1999)
Alloimmunization after blood transfusion in patients with hematologic and oncologic diseases.
Transfusion 39: 763-771.
- Schonewille H, Watering van de LMG, Brand A (2006)
Additional red blood cell alloantibodies after blood transfusion in a nonhematologic alloimmunized patient cohort: is it time to take precautionary measures?
Transfusion 46: 630-635.
- Schütt S, Bröker B (2011)
Grundwissen Immunologie.
Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg. 10.
- Silberstein LE (1995)
Molecular and Functional Aspects of Blood Group Antigens.
American Association of Blood Banks, Bethesda, Maryland.
- Strunk J (1991)
Untersuchungen mit einer neuen standardisierten Methode <ID-Micro Typing System>
zur Bestimmung der ABO-, Rh- und Kell-Blutgruppen : Vergleich der Gelmethode mit
den bisher gebräuchlichen Arbeitstechniken unter Verwendung von Nativ-, EDTA- und
Citratblutproben.
Med. Dissertation, Johannes Gutenberg Universität Mainz.
- UK Würzburg (2011a)
Instituts für Klinische Transfusionsmedizin und Hämotherapie, Immunhämatologische
Laboranalytik, Testprinzipien. [Online im Internet]
<http://transfusionsmedizin.uk-wuerzburg.de/studenten/hauptvorlesung/immunhaematologische-laboranalytik/testprinzipien.html> [Stand: 10.07.2013, 21.52 Uhr].

UK Würzburg (2011b)
Instituts für Klinische Transfusionsmedizin und Hämotherapie, Immunhämatologische
Laboranalytik, Coombs-Test. [Online im Internet]
[http://transfusionsmedizin.uk-
wuerzburg.de/studenten/hauptvorlesung/immunhaematologische-
laboranalytik/coombstest.html](http://transfusionsmedizin.uk-wuerzburg.de/studenten/hauptvorlesung/immunhaematologische-laboranalytik/coombstest.html) [Stand: 10.07.2013, 21.40 Uhr].

Urbaniak SJ, Robertsen AE (1981)
A successful program of immunizing Rh-negative male volunteers for anti-D produc-
tion using frozen/thawed blood.
Transfusion 21: 64-69.

van Oss CJ (2004)
Letter to the Editor: "Natural" versus regular antibodies.
Protein J 23: 357.

Woodrow JC, Donahue WT (1968)
Rh immunization by pregnancy: results of a survey and their relevance to prophylactic
therapy.
Br Med J 4: 139-144.

Yazer M., Triulzi D. (2007)
Detection of anti-D in D- recipients transfused with D+ red blood cells.
Transfusion 47: 2197-2201.

8 Anhang

Tab. A.1: Diagnose, Transfusionsindikation und -zeitpunkt der immunisierten Patienten (n=9)

Pat.-Nr.	Diagnose	Fachgebiet	Transfusionsindikation / Zeitpunkt ¹
2	Endoskopische Blutstillung (Gastrointestinale Blutung bei Duodenal-ulkus)	Abdominal-Chirurgie	Blutung
34	Fraktur des os sacrum	Trauma	Anämie post-OP
45	Humerusfraktur bei metastasiertem Nierenzell-Ca.	Onkologie	intra-OP
48	Plattenosteosynthese + Zugschraube bei Z.n. Weber-Fraktur	Trauma	intra-OP
55	dekompensierte Kyphoskoliose mit Anderson Läsion L2-3 bei M. Bechterew	Trauma	Blutung peri-OP
62	Whipple-Op bei Adeno-Ca. des Pankreas	Onkologie	intra-OP
64	GI-Blutung (Arteriobiläre Fistel)	Abdominal-Chirurgie	Blutung
65	Intraluminale Blutung der Anastomose (Colo-Jejunostomie) bei Z.n. Coloninterpnat bei Ösophagus-Ca.	Onkologie	post-OP
71	Anastomoseninsuffizienz Upside-Down-Magen mit Refluxsymptomatik intraoperative langstreckinge Verletzung dist. Ösophagus	Abdominal-Chirurgie	intra-OP

¹ post-OP: Transfusionszeitpunkt ≥ 3 Tage nach Operation; peri-OP: Transfusionszeitpunkt ≤ 2 Tage vor / nach Operation

Tab. A.2: Diagnose, Transfusionsindikation und -zeitpunkt der nichtimmunisierten Patienten (n=37)

Pat.-Nr.	Diagnose	Fachdisziplin ¹	Transfusionsindikation / Zeitpunkt ²
3	Pankreaskopf-Ca (Re-Laparotomie, Adhäsiolyse, Magenresektion, Jejunumkonglomeratresektion)	Onkologie	intra-OP
4	Plasmozytom (Ösophagusresektion mit Magenhochzug, zervicale Anastomose, Trachealkanüle eingelegt, Splenektomie, Perikardresektion)	Onkologie	intra-OP
5	Aortenklappenstenose	Kardiologie	intra-OP
6	Pro-B-ALL; Einleitung einer Prednisolon- und Antibiotika-Therapie eines Erysipels	Onkologie	Anämie
8	Oropharynx-Ca Adjuvante Radiochemotherapie	Onkologie	Anämie
9	BWK-Fraktur bei metastasiertem Rektum-Ca	Onkologie	Anämie peri-OP
10	Aneurysma der A. ascendens, Aortenklappeninsuffizienz	Kardiologie	intra-OP
13	Aortenklappenstenose	Kardiologie	intra-OP
16	LTX bei akutem Leberversagen bei Z.n. Medikamentenintoxikation	Abdominal- Chirurgie	intra-OP
18	Basalzellkarzinom Ohr -Teilresektion, Parotidektomie	Onkologie	intra-OP
19	Großzelliges B-NHL Rektumresektion, Sigmaresektion	Onkologie	intra-OP
21	Kombiniertes Aortenklappenitium	Kardiologie	Anämie peri-OP
23	Leberresektion bei Lebermetastasen bei Coecum-Ca	Onkologie	intra-OP
25	Mediale Schenkelhalsfraktur	Trauma	intra-OP
27	LWK2-Fraktur Marcumarüberdosierung mit Blutungsanämie	Trauma	Anämie peri-OP
28	Humerusfraktur	Trauma	intra-OP
30	Acetabulum- und Schenkelhals-fraktur	Trauma	intra-OP
31	V.mesenterica sup. und Pfortaderthrombose	Abdominal- Chirurgie	intra-OP
33	Dünndarmfistel in Nephrektomielege bei Z.n.Nierenlebenspende 04/2010)	Sonstige	Anämie
35	Myasthenia gravis	Sonstige	Anämie
39	LTX bei Z.n C2 und Hep B	Abdominal- Chirurgie	intra-OP
40	Ausräumung Rektusscheiden- und Retroperitoneales Hämatom	Abdominal- Chirurgie	intra-OP
46	ECMO-Anlage bei Verdacht auf Defi- Ausösung	Kardiologie	intra-OP

Pat.-Nr.	Diagnose	Fachdisziplin ¹	Transfusionsindikation / Zeitpunkt ²
47	HWK-Fraktur bei M.Bechterew	Trauma	Anämie post-OP
49	Berstungsfraktur mit Durazerreißung	Trauma	Blutung
50	Pankreaskopf-Resektion im Rahmen einer bekannten Ethyltoxischen Pankreatitis	Abdominal-Chirurgie	Blutung post-OP
51	LTX bei Hep C	Abdominal-Chirurgie	intra-, u. post-OP
54	ACB Bypass bei KHK	Kardiologie	Anämie peri-OP
57	Pleuraempyem nach Hämatothorax bei Z.n. Rippenserienfraktur	Trauma	Anämie peri-OP
60	Duodenopankreatomie bei ischämischer Nekrose bei Z.n. Abgangsstenose des Truncus coeliacus	Abdominal-Chirurgie	intra-OP
61	STEMI	Kardiologie	intra-OP
67	Untere GI-Blutung bei Sigmadivertikulose	Abdominal-Chirurgie	Blutung post-OP
70	LTX bei Hep C	Abdominal-Chirurgie	intra-OP
72	Akutes postrenales Nierenversagen der Einzel-niere bei Z.n. Nephrektomie bei Nierenzellkarzinom 2002)	Sonstige	Renale Anämie
74	Platzbauch bei Z.n. Debulking OP und subtotaler Kolektomie mit Anlage eines Ileostomas	Onkologie	Blutung peri-OP
75	Rezidiv eines Plattenepithel-Ca der Vulva	Onkologie	intra-OP
76	LTX bei Autoimmunhepatitis und Hep B	Abdominal-Chirurgie	intra-OP

¹ post-OP: Transfusionszeitpunkt ≥ 3 Tage nach Operation; peri-OP: Transfusionszeitpunkt ≤ 2 Tage vor / nach Operation

Tab. A.3: Detaillierte Betrachtung der immunisierten Patienten (n=9)

Pat.-Nr.	Geschlecht	Alter	Zeitraum Exposition bis AKS (in Tagen)	Anzahl Rh-pos. EK	Ersetztes Hämoglobin in %	Anzahl Rh-negativer EK 120 Tage vor Exposition bis AKS	Anzahl Rh-negativer EK ab Exposition bis AKS	Anzahl Rh-pos. TK 8 - 16 Wochen vor AKS	Anzahl TK gesamt 7 Tage vor Exposition bis AKS	Anzahl GFP von Exposition bis AKS	Antikörper (Titer)
2	m	46	71	4	-- ¹	0	0	0	0	0	Anti-D (1:1024) Anti-C (1:2)
34	m	45	104	21	-- ¹	21	21	3	3	38	Anti-D (1:4096) Anti-C ² (1:128)
45	m	65	90	2	-- ¹	0	0	0	0	0	Anti-D (1:2)
48	w	60	111	4	-- ¹	5	5	1	1	13	Anti-D ³ (1:32)
55	m	63	97	12	53	8	8	0	0	21	Anti-D (1:2)
62	w	65	95	15	188	6	6	3	3	22	Anti-D (1:16)
64	m	59	88	20	93	28	19	3	3	20	Anti-D (1:16)
65	m	51	91	13	67	4	0	3	4	14	Anti-D (1:128)
71	w	67	79	2	16	4	4	0	0	4	Anti-D (1:16)

¹ Nicht berechnet (Angabe über das Patientengewicht zum Transfusionszeitpunkt nicht dokumentiert).

² Weitere Titer aufgrund erneuten Transfusionsbedarfs nach 11 Tagen (Anti-D 1:2), 37 Tagen (Anti-D 1:256) und 55 Tagen (zusätzlich Anti-C detektiert, keine Titerbestimmung erfolgt) bestimmt.

³ Titerbestimmung erfolgte nach 69 Tagen (Anti-D 1:1) aufgrund labortechnischer Einschränkungen erst > 24 h nach Blutentnahme erfolgt, daher erneute Blutentnahme und Titerbestimmung nach 111 Tagen.

Tab. A.4: Detaillierte Betrachtung der nichtimmunisierten Patienten (n=37)

Pat.-Nr.	Geschlecht	Alter	Zeitraum Exposition bis AKS (in Tagen)	Anzahl Rh-pos. EK	Ersetztes Hämoglobin in %	Anzahl Rh-negativer EK 120 Tage vor Exposition bis AKS	Anzahl Rh-negativer EK ab Exposition bis AKS	Anzahl Rh-pos. TK 8 - 16 Wochen vor AKS	Anzahl TK gesamt 7 Tage vor Exposition bis AKS	Anzahl GFP von Exposition bis AKS
3	m	68	63	5	29	24	20	1	1	27
4	w	70	78	30	240	33	23	5	5	46
5	m	72	71	2	-- ¹	0	0	0	0	4
6	m	85	97	2	11	0	0	0	0	0
8	m	66	112	2	14	2	2	0	0	0
9	m	63	56	4	-- ¹	6	6	0	0	0
10	m	75	110	2	8	2	2	0	0	0
13	m	56	76	1	6	0	0	0	0	0
16	w	42	87	6	52	3	3	1	1	12
18	m	78	98	2	12	12	2	0	0	6
19	m	70	62	9	62	5	5	0	0	18
21	m	69	65	2	12	6	0	1	1	0
23	m	73	83	1	7	0	0	0	0	0
25	w	89	85	2	-- ¹	2	2	0	0	0
27	w	87	81	2	-- ¹	2	0	0	0	0
28	w	88	93	1	-- ¹	2	0	0	0	0
30	w	72	111	2	-- ¹	4	0	0	0	0
31	w	59	105	2	20	6	2	0	0	0
33	m	71	63	1	7	12	12	0	0	0
35	w	59	91	7	-- ¹	0	0	0	0	6
39	m	51	60	15	117	0	0	7	5	30
40	w	82	57	1	10	9	6	0	0	1
46	m	44	69	6	37	20	1	4	5	12
47	m	86	85	1	9	5	0	0	0	0
49	m	40	103	1	-- ¹	1	1	1	1	10
50	m	62	60	15	-- ¹	43	34	7	8	36
51	w	63	78	11	116	1	1	3	4	5
54	m	83	83	2	11	6	0	1	1	0

Pat.-Nr.	Geschlecht	Alter	Zeitraum Exposition bis AKS (in Tagen)	Anzahl Rh-pos. EK	Ersetztes Hämoglobin in %	Anzahl Rh-negativer EK 120 Tage vor Exposition bis AKS	Anzahl Rh-negativer EK ab Exposition bis AKS	Anzahl Rh-pos. TK 8 - 16 Wochen vor AKS	Anzahl TK gesamt 7 Tage vor Exposition bis AKS	Anzahl GFP von Exposition bis AKS
57	m	74	63	5	28	4	0	6	5	12
60	m	62	62	6	59	12	8	1	1	15
61	m	44	57	1	-- ¹	5	2	0	0	0
67	m	83	92	6	32	6	6	0	0	0
70	w	63	61	5	56	4	4	0	0	12
72	m	88	82	2	-- ¹	25	8	0	0	0
74	w	63	64	2	25	.	0	0	0	0
75	w	63	64	2	9	7	7	0	0	4
76	w	33	61	17	186	4	4	3	4	56

¹ Nicht berechnet, da Angabe über das Patientengewicht zum Transfusionszeitpunkt nicht dokumentiert

9 Danksagung

Zum Schluss meiner Arbeit möchte ich mich bei allen bedanken, die mich bei der Verwirklichung dieser Dissertation unterstützt haben.

Bei Herrn Prof. Dr. med. Eiermann, der mir durch die Überlassung des Themas diese Arbeit ermöglicht hat.

Besonderer Dank gilt Herrn Dr. med. Sputtek für die hervorragende Betreuung während der Erstellung dieser Arbeit. Er stand mir immer wieder geduldig mit hilfreichen Ratschlägen zur Seite.

Des Weiteren danke ich Herrn Dr. med. Hiller, der mir bei der Patientenrecherche behilflich war.

Ich möchte ferner allen Mitarbeiterinnen des Institutes für Transfusionsmedizin für die Unterstützung bei der praktischen Durchführung danken.

Mein Dank gilt außerdem meinen Eltern und meinem Ehemann, die mir mein Studium ermöglicht und mich beim Schreiben dieser Arbeit immer unterstützt haben.

10 Lebenslauf

Der Lebenslauf entfällt in der Online-Version aus datenschutzrechtlichen Gründen.

11 Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Karin Pethke