



Institut für Transfusionsmedizin  
Universitätsklinikum Schleswig-Holstein

# **Transfusionsmedizin**

**Erweitertes Vorlesungsskript**

## Vorwort

Die Transfusionsmedizin, die Lehre von der Übertragung von Blut oder Blutbestandteilen zu therapeutischen Zwecken, stellt innerhalb der Medizin zwar nur ein eher kleines, aufgrund der notwendigen praktischen Anwendung in vielen medizinischen Disziplinen jedoch nicht zu vernachlässigendes Gebiet dar. Die Erkenntnisse über immunhämatologische Zusammenhänge, Struktur und Funktion von Blutgruppen, sowie die gesetzlichen Bestimmungen zur Herstellung und Anwendung von Blutpräparaten haben innerhalb der letzten Jahre stark an Bedeutung gewonnen. Dem gegenüber steht eine fehlende Verankerung des Fachs Transfusionsmedizin innerhalb der Ärztlichen Approbationsordnung. Um Studenten und auch Ärzten zumindest grundlegende Informationen zur Transfusionsmedizin an die Hand geben zu können, wurde das vorliegende Skript verfasst. Es soll die innerhalb des Praktikums "Klinische Chemie und Hämatologie – Part Transfusionsmedizin" gewonnenen Erkenntnisse vertiefen und erweitern und Interesse für ein Wahlfach Transfusionsmedizin wecken. Das Skript erhebt nicht den Anspruch, transfusionsmedizinische Themen umfassend zu behandeln. Interessierte seien deshalb auf weiterführende Literaturstellen verwiesen, die im Anhang dieses Skripts zu finden sind.

Die Autorin hat die Daten zu diesem Skript sorgfältig anhand aktueller Literaturstellen und gesetzlicher Bestimmungen zusammen getragen. Das Skript wird laufend überarbeitet. Dennoch kann keine Gewähr für die Richtigkeit der in diesem Skript gemachten Informationen gemacht werden. Insbesondere gesetzliche Bestimmungen zur Herstellung und Anwendung von Blutprodukten unterliegen einem laufenden Wandel, sodass der Leser gehalten ist, sich selbst insbesondere über die konkrete Anwendung von Blutprodukten selbst zu informieren. Für die Mitteilung von Fehlern oder Ungenauigkeiten ist die Autorin dankbar.

Kiel, im Februar 2009

Brigitte Flesch

Adresse der Autorin:

PD Dr. rer. nat. Brigitte Flesch

Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel

Institut für Transfusionsmedizin

Michaelisstr. 5; 24105 Kiel

[www.uni-kiel.de/transfusion](http://www.uni-kiel.de/transfusion); [brigitte.flesch@uksh-kiel.de](mailto:brigitte.flesch@uksh-kiel.de)

# Inhaltsverzeichnis

	Seite	
<b>1</b>	<b>Blutgruppen der Erythrozyten</b>	<b>1</b>
1.1	Die ABO-Blutgruppen	2
1.2	Das Rhesus-System	5
1.3	Das Kell-System	8
1.4	Das Duffy-System	9
1.5	Das Kidd-System	9
1.6	Das MNSs-System	10
<b>1</b>	<b>HLA-Antigene</b>	<b>10</b>
<b>3</b>	<b>Antigene auf Thrombozyten</b>	<b>11</b>
<b>4</b>	<b>Antigene auf Granulozyten</b>	<b>13</b>
<b>5</b>	<b>Unerwünschte Wirkungen von Bluttransfusionen</b>	<b>14</b>
5.1	Immunologische Transfusionsreaktionen	14
5.1.1	Hämolytische Transfusionsreaktionen	15
5.1.1.1	Akute hämolytische Transfusionsreaktionen	15
5.1.1.2	Verzögerte hämolytische Transfusionsreaktionen	16
5.1.2	Febrile nicht hämolytische Transfusionsreaktionen	17
5.1.3	Posttransfusionelle Purpura (PTP)	17
5.1.4	Graft versus Host Disease (GvHD)	18
5.1.5	Transfusionsassoziierte akute Lungeninsuffizienz (TRALI)	18
5.1.6	Allergische Transfusionsreaktionen	19
5.2	Nicht immunologisch bedingte Transfusionsreaktionen	19
5.3	Durch Transfusion übertragene Infektionen	20
5.3.1	Virale Infektionen	20
5.3.1.1	Hepatitisviren	20
5.3.1.2	Retroviren	21
5.3.1.3	Cytomegalievirus	21
5.3.2	Bakterielle Infektionen	22
5.3.3	Infektionen durch Parasiten	23
<b>6</b>	<b>Immunhämatologische Diagnostik</b>	<b>24</b>
6.1	Blutgruppenserologische Untersuchungen	25
6.1.1	Direkter Coombstest (DCT)	26
6.1.2	Indirekter Coombstest (ICT)	27
6.2	Blutgruppenbestimmung	27
6.3	Antikörperscreening	29
6.4	Serologische Verträglichkeitsprobe	29
6.5	Bedside-Test	31
6.6	Nachweis thrombozytärer und leukozytärer Blutgruppen	32

<b>7</b>	<b>Durch Blutgruppenantikörper verursachte Erkrankungen</b>	<b>34</b>
7.1	Autoimmunologische Erkrankungen	34
7.1.1	Autoimmunhämolytische Anämien	34
7.1.2	Autoimmunthrombozytopenie	34
7.1.3	Autoimmunneutropenie	35
7.2	Medikamenten-abhängige Antikörper	35
7.3	Mutter-Kind-Unverträglichkeiten	36
7.3.1	Morbus haemolyticus neonatorum	36
7.3.2	Neonatale Alloimmunthrombozytopenie	37
7.3.3	Neonatale Alloimmunneutropenie	38
<b>8</b>	<b>Transfusion</b>	<b>38</b>
<b>9</b>	<b>Blutkomponenten</b>	<b>39</b>
<b>10</b>	<b>Weiterführende Literatur</b>	<b>42</b>

Letzte Änderung: 12.02.2009, Fleisch

# 1 Blutgruppen der Erythrozyten

**Bluttransfusionen** wurden in mehreren europäischen Ländern bereits in der 2. Hälfte des 17. Jahrhundert von Tier zu Tier bzw. von Tier zu Mensch vorgenommen. Dies zunächst jedoch mit sehr fragwürdigem Erfolg, da die Grundzüge der Gerinnung und der Blutgruppenserologie noch nicht bekannt waren. Der Engländer J. Blundell wandte die **direkte Transfusion von Mensch zu Mensch 1828** erstmals erfolgreich an Frauen an, die unter der Geburt hohe Blutverluste erlitten hatten. Etwa der Hälfte der Frauen konnte durch Verabreichen relativ geringer Blutvolumina geholfen werden. Blundell fand Nachahmer auch in anderen Ländern, jedoch sollte es noch einige Jahrzehnte dauern bis die Ursache für den wechselnden Erfolg der therapeutischen Menschenbluttransfusion gefunden wurde. **Karl Landsteiner** publizierte 1901 in Wien Forschungen über die Erythrozytenagglutination durch "Serum gesunder Menschen".

Er beobachtete, dass es im Serum gesunder Menschen mit der Blutgruppeneigenschaft "A" sogenannte **"Isoagglutinine"** gab, welche die roten Blutkörperchen anderer Menschen mit der Blutgruppeneigenschaft "B" zu agglutinieren vermochten, während die eigenen Erythrozyten, bzw. die der eigenen "Blutgruppe", nicht agglutinierten. Umgekehrt führte das Serum von "B" zu einer Agglutination der Erythrozyten von "A". Landsteiner vermutete, dass die Agglutination auf einer individuellen Eigenschaft des Blutes beruht. Zusammen mit den Beobachtungen von A. von Decastello und A. Sturli (beide Wien) ergab sich dann die Beschreibung der **Blutgruppeneigenschaften A, B, AB und 0**. Weitere Meilensteine der Blutgruppenserologie setzte Landsteiner mit der Beschreibung der Blutgruppensysteme MNSs und P<sub>1</sub> zusammen mit P. Levine (1927) und der **Rhesusfaktoren** zusammen mit A.S. Wiener (1940). In den folgenden Jahrzehnten sollte das Wissen über Blutgruppenmerkmale explosionsartig anwachsen und gerade innerhalb der letzten Jahrzehnte konnten mit Hilfe moderner DNA-Methoden die molekularen Grundlagen der meisten bekannten Blutgruppen aufgeklärt werden. Heute sind etwa 600 verschiedene Blutgruppenmerkmale bekannt, die z. Zt. 29 Blutgruppensystemen zugeordnet werden. Die meisten dieser Blutgruppenmerkmale finden in der täglichen Routine keine Berücksichtigung. Nur die klinisch wichtigsten Blutgruppen sollen im Folgenden vorgestellt werden.

Als **erythrozytäre Blutgruppenantigene** werden Moleküle bezeichnet, die auf der Erythrozytenoberfläche exprimiert werden, durch Antikörper definiert sind und vererbt werden. Fehlt eine dieser Bedingungen, ist das Kriterium eines Blutgruppenantigens nicht erfüllt.

Blutgruppen kann man aufgrund ihrer Funktion, ihres Aufbaus oder anderer Charakteristika einteilen. Als Membranbestandteile, die entweder in die Bilipidschicht integriert oder über spezielle Membranmoleküle mit der Bilipidschicht verbunden sind, üben die Blutgruppenmo-

leküle eine Reihe verschiedener Funktionen aus. Dazu gehören Membrantransport verschiedener Moleküle oder Ionen, Rezeptorfunktionen für Zytokine oder Mikroorganismen, Strukturhalt der Zelle und Enzymfunktionen. Basierend auf ihrer chemischen Zusammensetzung werden die Blutgruppenmerkmale in Kohlenhydrat-Blutgruppen und Proteinblutgruppen eingeteilt. Wichtigster Vertreter der Kohlenhydrat-Blutgruppen sind die von Landsteiner zuerst beschriebenen ABO-Blutgruppen.

### 1.1 Die ABO-Blutgruppen

Die **ABO-Blutgruppen-Antigene** haben eine weite Verbreitung nicht nur auf Erythrozyten, sondern auf den meisten Zellen des menschlichen Körpers, weshalb sie auch als „**Histo-Blood-Groups**“ bezeichnet werden. Auf menschlichen Erythrozyten werden die ABO-Antigene in einer hohen Dichte von etwa  $1 \times 10^6$  exprimiert. Auch im Tier- und Pflanzenreich wie auch bei Bakterien sind entsprechende Antigene als Zelloberflächenmoleküle bekannt. So lässt es sich erklären, dass im menschlichen Darmtrakt lebende Bakterien (insbesondere *E. coli*) innerhalb des ersten Lebensjahres zu einer natürlichen Immunisierung gegen die Blutgruppenantigene A und B führen, jedoch nur gegen diejenigen ABO-Blutgruppeneigenschaften, die das Individuum selbst nicht besitzt (Landsteinersche Regel). Diese obligat vorkommenden Antikörper werden auch als **Isoagglutinine** bezeichnet. Zusätzlich wird auch der Begriff **reguläre Antikörper** verwendet, da zur Immunisierung kein Antigen von außen zugeführt werden muss. Wegen des obligaten Vorkommens der Isoagglutinine müssen diese bei Transfusionen unbedingt berücksichtigt werden. **Blutgruppenspezifischen Antikörpern wird** stets die Bezeichnung "**Anti-**" vorweg gesetzt, sodass die Terminologie eine klare Unterscheidung zwischen dem Blutgruppenmerkmal und dem korrespondierenden Antikörper ermöglicht. Die Isoagglutinine Anti-A und Anti-B sind IgM- oder IgG-Antikörper.

Grundlage der ABO-Blutgruppen (im deutschen Sprachgebrauch ist die Bezeichnung AB0 geläufiger, jedoch wurde zumindest die offizielle Nomenklatur der zugrunde liegenden Gene dem angloamerikanischen Sprachgebrauch ABO angeglichen) sind **Kohlenhydratstrukturen**, die an die Membranlipide gebunden sind und in den extrazellulären Raum hinein reichen. Diese Strukturen entstehen durch die endständige Übertragung eines Kohlenhydratrestes auf ein membranständiges Glykolipid oder Glykoprotein mit Hilfe spezieller Enzyme. Genetisch determiniert werden Fucosyl- bzw. Glucosyltransferasen, Enzyme, welche für eine Übertragung und Verknüpfung unterschiedlicher Kohlenhydratreste sorgen. Diese "angehängten" Kohlenhydratreste enthalten das serologisch entscheidende Epitop. Zu den Koh-

lenhydratblutgruppen gehören neben den ABO-Blutgruppen u.a. auch die Lewis-Blutgruppen.

Für die Synthese der **ABO-Blutgruppen-Antigene** ist das Zusammenwirken mehrerer Genprodukte erforderlich. Auf dem humanen Chromosom 19 sind alternativ die **Gene H oder h** lokalisiert. Das *H*-Gen kodiert für eine  $\alpha$ 1,2-Fucosyltransferase, welche L- Fucose auf ein membranständiges Glykoprotein oder Glykolipid überträgt. Das daraus resultierende Kohlenhydrat wird als **H-Substanz** bezeichnet. Die H-Substanz ist das Ausgangsprodukt für die weitere Synthese der ABO-Blutgruppen. Auf Chromosom 9 q34.1-q34.2 sind alternativ die **Gene A, B oder O** lokalisiert, die für die Synthese von  $\alpha$ 1,3-Glykosyltransferasen kodieren. Die Gene weisen verteilt über 7 Exons einen hohen Grad an Polymorphismus auf. Die resultierenden Enzyme übertragen N-Acetylgalactosamin (GAINAc) bzw. Galaktose (D-Gal) auf die H-Substanz, sodass daraus die **Blutgruppenmerkmale A bzw. B** entstehen. Das *O*-Gen führt zu keinem funktionsfähigen Enzym, so dass in diesem Fall die H-Substanz gleichzusetzen ist mit der Blutgruppe O.

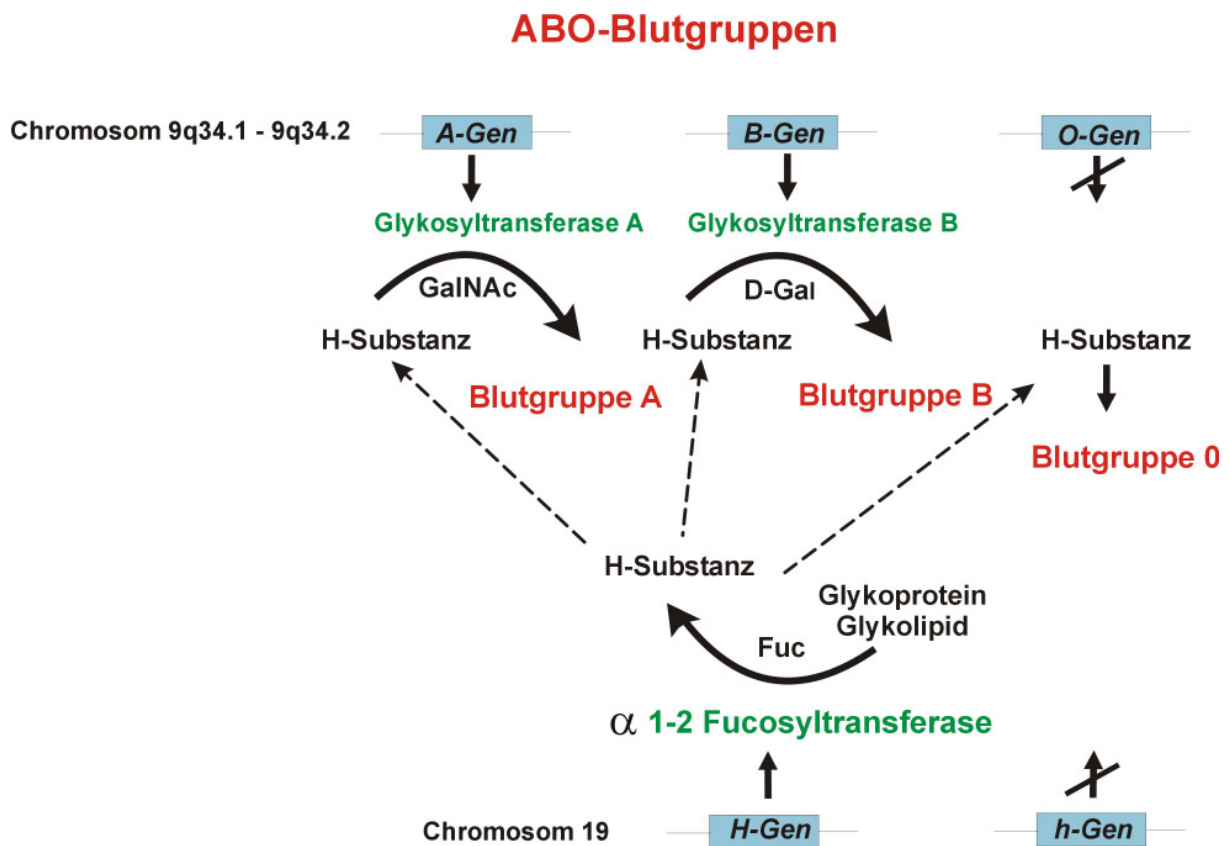


Abb. 1.1: Synthese der ABO-Blutgruppen.

Bei der Blutgruppe A unterscheidet man die Untergruppen  $A_1$  und  $A_2$ , wobei  $A_1$ -Erythrozyten deutlich mehr A-Antigen tragen als  $A_2$ -Erythrozyten und phänotypisch  $A_2$  überdecken. Erythrozyten der Blutgruppen  $A_1$  und  $A_2$  reagieren gleichermaßen mit Anti-A Antikörpern,  $A_1$ -Erythrozyten werden durch Anti- $A_1$ , nicht aber durch Anti- $A_2$  zur Agglutination gebracht. Die beiden Gene A (mit den Untergruppen  $A_1$  und  $A_2$ ) und B sind kodominant, so dass daraus die in Tabelle 1.1 angegebenen Genotypen und Phänotypen resultieren.

Tabelle 1.1: Genotypen und Phänotypen der ABO-Blutgruppen

Genotyp	Phänotyp	Phänotyp-Häufigkeit im Einzugsbereich Kiel in %
$A_1A_1$	$A_1$	44
$A_1A_2$		
$A_1O$		
$A_2A_2$	$A_2$	
$A_2O$		
$A_1B$	$A_1B$	5
$A_2B$	$A_2B$	
BB	B	12
BO		
OO	O	39

In sehr seltenen Fällen (etwa 1 auf 300 000 Blutspender) liegt das Gen *h* auf Chromosom 19 homozygot vor, so dass keine Fucosyltransferase gebildet wird und somit auch keine H-Substanz. Menschen dieses sogenannten „Bombay“-Phänotyps besitzen keine A, B, oder H-Blutgruppenmerkmale, weisen in ihrem Serum somit Anti-A, Anti-B und das seltene Anti-H auf.

Bei Feten und Neugeborenen ist der Nachweis der ABO-Blutgruppen schwieriger, da die Glykosylierung von Molekülen weniger ausgeprägt ist und somit die Gesamtmenge an ABH-Substanz deutlich geringer ist. Die starke Verzweigung der Kohlenhydratketten kommt erst beim Erwachsenen zustande. Bei der Ausbildung der Verzweigungsstellen entstehen die Blutgruppenepitope "J".



## 1.2 Das Rhesus-System

Die Blutgruppen des **Rhesus-Systems** gehören zu den **Protein-Blutgruppen**, d.h. das Blutgruppenepitop ist Bestandteil eines Proteins und nicht eines Kohlenhydrats. Die Blutgruppenantigene des Rhesus-Systems werden ausschließlich auf der Membran von Erythrozyten in einer Dichte von  $1 - 4 \times 10^4$  pro Zelle exprimiert. So gibt es im Rhesus-System auch keine Isoagglutinine, da eine obligate Immunisierung durch kommensale Bakterien entfällt. Die Antigene des Rhesus-Systems sind nach den ABO-Antigenen die klinisch wichtigsten Blutgruppenantigene. Eine Übertragung Rhesus-positiver Erythrozyten auf einen Rhesus-negativen Menschen führt in 80 % der Fälle zu einer Immunisierung. Da diese Antikörper erst nach einer Antigenzuführung von außen gebildet werden und nicht obligat oder natürlicherweise vorkommen, spricht man hier von **irregulären Antikörpern**. Die Bezeichnung **Alloantikörper** gibt die Tatsache wieder, dass die Antikörper gegen Antigene derselben Spezies gebildet werden, die das Individuum selbst nicht besitzt. Antikörper gegen Rhesus-Antigene sind üblicherweise vom IgG-Typ und somit, im Gegensatz zu IgM, auch plazentagängig, weshalb Rhesus-Antikörper aufgrund einer Mutter-Kind-Unverträglichkeit zu einem Morbus haemolyticus neonatorum (MHN) führen können (siehe 7.3.1). Da Rhesus-Antigene schon ab der 6. Schwangerschaftswoche auf den fetalen Erythrozyten ausgeprägt sind, kann eine mütterliche Immunisierung zu schweren Krankheitsbildern beim Feten führen. Neben MHN können irreguläre Rhesus-Antikörper schwere hämolytische Transfusionsreaktionen auslösen.

Die nicht glykosylierten Moleküle, die sich 12-fach durch die Erythrozytenmembran ziehen, üben wahrscheinlich die Funktion eines Ammoniumtransportproteins aus. Die **Rhesus-Antigene C, c, E und e** einerseits, sowie **D** andererseits werden von zwei in enger Nachbarschaft auf dem Chromosom 1p36.2-p34 lokalisierten Genen kodiert. Beide Gene weisen große Ähnlichkeit in ihrem Aufbau (10 Exons) und einen hohen Grad an Sequenzhomologie innerhalb der Exons auf (Abb. 1.2). Die Rhesus-Antigene C („groß C“) bzw. c („klein c“) sowie E („groß E“) bzw. e („klein e“) werden von verschiedenen Exons desselben **RHCE**-Gens kodiert, so dass sich die Epitope C bzw. c und E bzw. e auf einem Molekül befinden. Das **RHCE-Gen** weist also die vier Allele **RHCE**, **RHcE**, **RHCe** und **RHce** auf. Das Rhesus-Antigen D wird von dem zweiten Gen (**RHD**) kodiert und weist keinen regulären Polymorphismus auf. Ein Rhesus-Antigen d („klein d“), welches serologisch durch Antikörper nachweisbar wäre, gibt es nicht. Die Bezeichnung „d“ oder „dd“ gibt lediglich das Fehlen von D an und beruht in den meisten Fällen auf dem Fehlen des **RHD**-Gens.

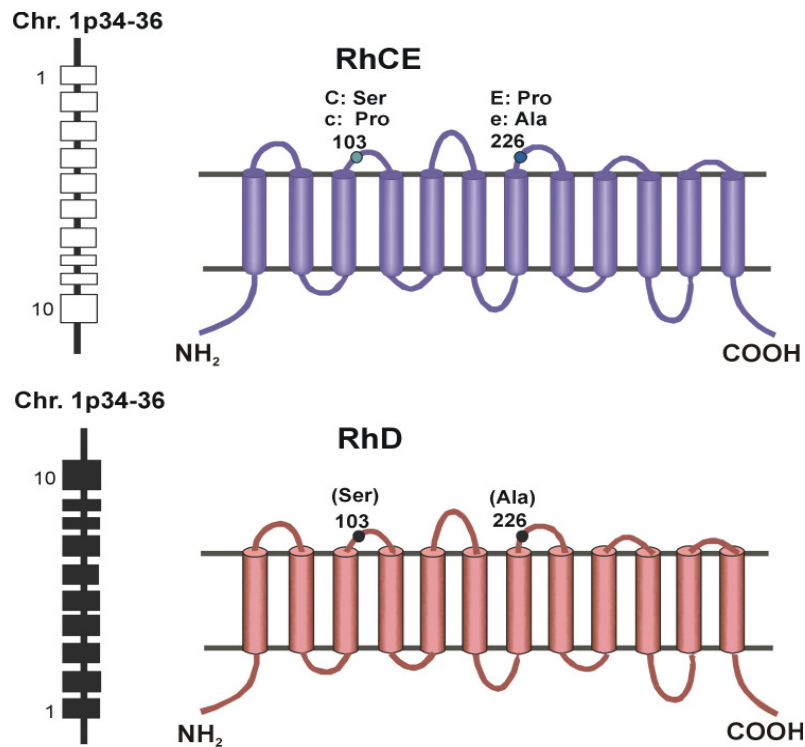


Abb. 1.2: Molekulare Struktur der *RHD*- und *RHCE*-Gene und der RhD und RhCE-Antigene.

Die Rhesus-Antigene werden gemeinsam als **Haplotyp** vererbt, wobei entweder C oder c zusammen mit E oder e und gegebenenfalls D vorkommen. Personen, die positiv sind für das Rhesus D-Antigen werden als **Rhesus-positiv (Rh-positiv)** bezeichnet. Personen, die das Rhesus D-Antigen nicht besitzen, sind **Rhesus-negativ (Rh-negativ)**. Daraus ergeben sich die in Tabelle 1.2 aufgelisteten Haplotypen:

Tabelle 1.2: Rhesus-Haplotypen  
in abnehmender Häufigkeit

Rhesus-Haplotypen	
CDe	
cde	
cDE	
cDe	
Cde	
cdE	
CDE	
CDE	

Einem Rh-Phänotypen liegt eine Kombination aus zwei Rh-Haplotypen zugrunde, wobei serologisch nicht unterschieden werden kann zwischen heterozygotem oder homozygotem Vorliegen des *RHD*-Gens. So führen die Haplotyp-Kombination *CDe/cde* und *CDe/cDe* beide zu dem Phänotyp CcD.ee, wobei die Bezeichnung „D.“ die Unklarheit über das Vorliegen von „DD“ oder „Dd“ angibt (Abb. 1.3).

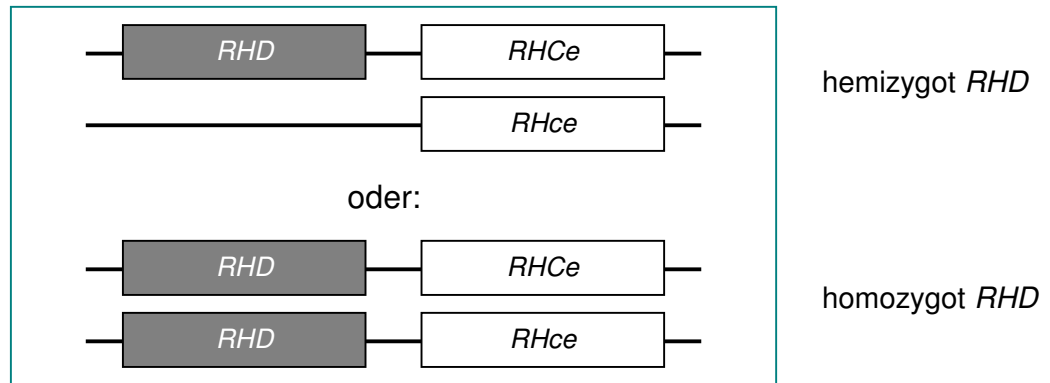


Abb. 1.3: *RHD*-Haplotypen, die zum Phänotyp CcD.ee führen.

Der Rh-negative Phänotyp resultiert somit aus dem kompletten Fehlen des *RHD*-Gens auf beiden elterlichen Chromosomen. In Mitteleuropa sind 15 % der Individuen Rh-negativ.

Von dem aufgezeigten Schema gibt es eine große Anzahl von Abweichungen, die zu einer Reihe von Rhesus-Varianten führen. Durch Austausch mehr oder weniger großer Genfragmente des *RHD*-Gens gegen *RHCE*-Genfragmente, kommt es zur Expression partieller D-Antigene, denen Teile des normalen Rhesus D-Antigens fehlen, man spricht auch von „**partial D**“ (Abb. 1.4). Dadurch kann es vorkommen, dass der Träger eines solchen „partial D“ nach einer Immunisierung mit Rhesus-positiven Erythrozyten Anti-D bildet und zwar gegen solche Epitope, die er selbst nicht besitzt. Klinisch am wichtigsten ist die sogenannte D-Kategorie VI (Kategorie D<sup>VI</sup>; Häufigkeit 1: 6.000). Personen mit solchen partial D-Varianten müssen als Erythrozyten-Spender als Rhesus-positiv angesehen werden, da sie ja zumindest Teile des Rhesus-D-Antigens besitzen, während sie als Empfänger als Rhesus-negativ gelten.

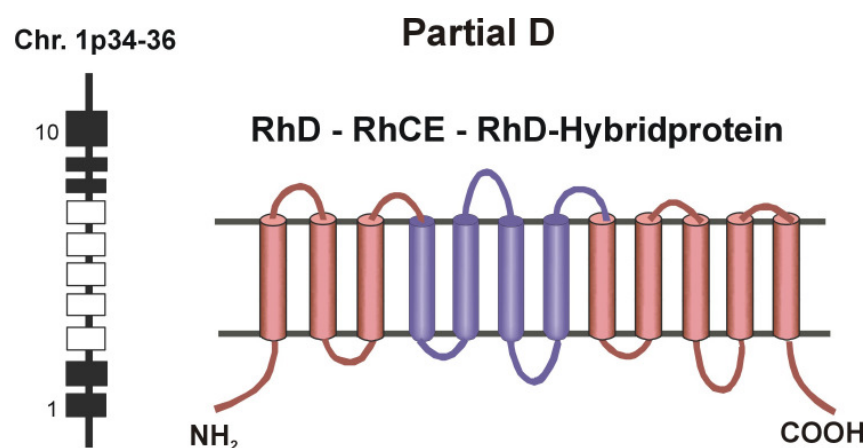


Abb. 1.4: Partial D als Hybridmolekül zwischen RhD und RhCE

Neben dem „partial D“ gibt es noch das „**weak D**“, das sich durch eine verminderte Expression des Rhesus D-Antigens auf der Erythrozytenmembran auszeichnet, wobei auch hier ge-

ringe qualitative Veränderungen des Moleküls vorliegen können. Immunisierungen gegen Rhesus D kommen jedoch normalerweise bei weak D-Trägern nicht vor.

Darüber hinaus gibt es weitere Varianten, die z.B. durch Deletionen oder Inserts der DNA zu einer Verschiebung des Leserahmens führen und somit einen Rh-negativen Status hervorrufen. Dies trifft bei den meisten Rh-negativen Schwarzafrikanern zu, die ein sogenanntes **RHΨ-Gen** besitzen.

### 1.3 Das Kell-System

Mehr als 20 Antigene des **Kell-Systems** sind auf einem polymorphen Protein mit Enzymfunktion (Ektopeptidase) lokalisiert (Abb. 1.5). Wegen seiner starken Immunogenität ist das **Antigen K (Kell, K1)**, das antithetische Antigen zu **k (Cellano, K2)**, das klinisch wichtigste Antigen dieses Systems mit einer Antigenfrequenz von 9,7 % in der mitteleuropäischen Bevölkerung. Das Molekül, das nur in einer Anzahl von 3 – 6 x 10<sup>3</sup> Kopien pro Zelle vorkommt, ist über eine Disulfid-Brücke mit dem Kx-Protein verbunden, wobei das Kx-Protein das Kell-Molekül stabilisiert (Abb. 1.6). Ein in seltenen Fällen beobachtetes Fehlen des Kx-Proteins führt zur Destabilisierung des Kell-Moleküls und somit zur Abschwächung der Kell-Antigene (McLeod-Phänotyp).

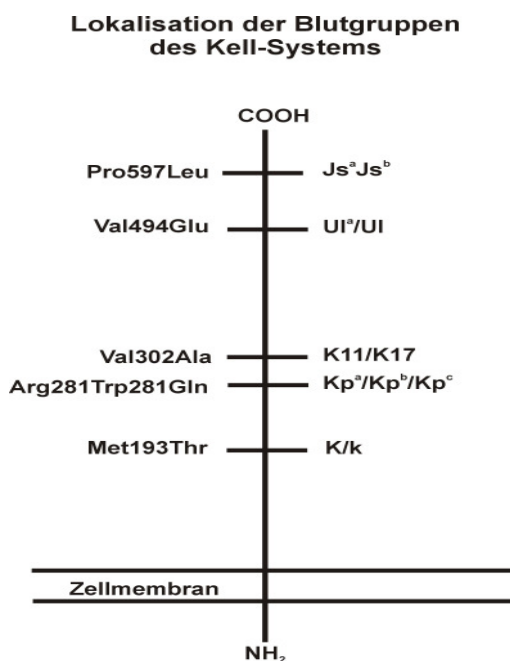


Abb. 1.5: Lokalisation der Blutgruppen des Kell-Systems

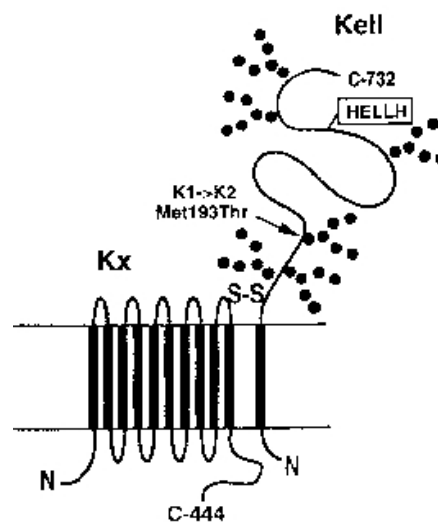
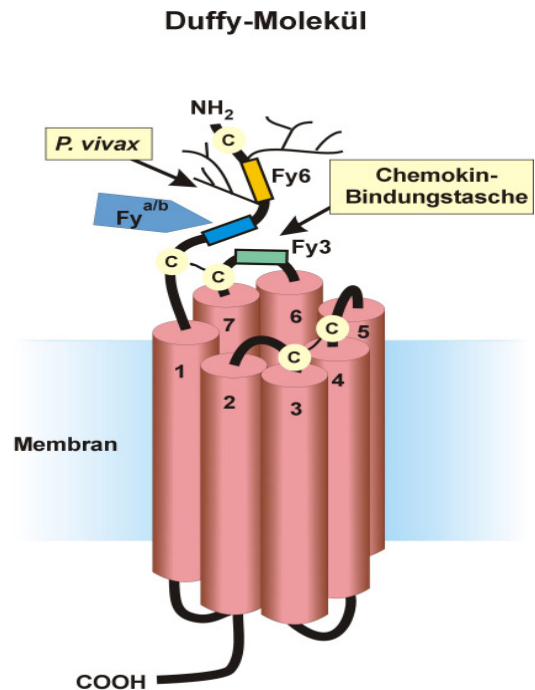


Abb. 1.6: Kell-Molekül, assoziiert mit dem Kx Protein.

Irreguläre IgG-Antikörper gegen die Blutgruppe K können schwere hämolytische Transfusionsreaktionen und MHN hervorrufen.

### 1.4 Das Duffy-System

Die Blutgruppen des **Duffy-Systems** sind auf dem aminoterminalen Anteil eines Glykoproteins lokalisiert, welches sich mehrfach durch die Zellmembran zieht (Abb. 1.7), wobei im Schnitt  $1,2 \times 10^4$  Moleküle/Zelle exprimiert werden. Die anti-thetischen Hauptantigene **Fy<sup>a</sup>** und **Fy<sup>b</sup>** (gesprochen Duffy a und Duffy b) werden von den kodominanten Gene **FYA** und **FYB** kodiert. Das Proteinase-empfindliche Molekül dient als **Rezeptor für Chemokine**, aber auch als **Rezeptor für Plasmodium vivax**, einem Erreger der Malaria tertiana. Interessanterweise sind die Erythrozyten der meisten Schwarzafrikaner aus Gebieten südlich der Sahara Duffy-defizient, was auf eine genetisch veränderte Promotorregion zurückzuführen ist. Die Erythrozyten dieser Menschen



nach Cartron et al. 1998

Abb. 1.7: Struktur des Duffy-Moleküls.

Irreguläre IgG-Antikörper gegen Fy<sup>a</sup> können schwere hämolytische Transfusionsreaktionen und MHN hervorrufen.

### 1.5 Das Kidd-System

Die Antigene der Kidd-Blutgruppen **JK<sup>a</sup>** und **JK<sup>b</sup>** sind auf einem Glykoprotein lokalisiert, welches die Zellmembran 10fach durchzieht und die Funktion eines Harnstoff-Transportproteins hat. Aufgrund dessen werden diese Blutgruppen auch nicht nur auf Erythrozyten, sondern auch in vielen Geweben wie Blase, Niere, Prostata, Colon, Herz, Hirn usw. exprimiert. Das kodierende Gen ist **HUT11** (human urea transporter 11). Mit  $1,8 \times 10^4$  Kopien/Zelle ist die Expression des Moleküls eher gering. Antikörper gegen

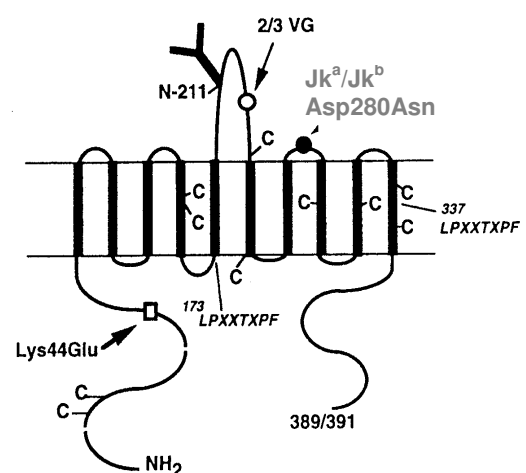


Abb. 1.8: Struktur des Kidd-Moleküls

Jk<sup>a</sup> und Jk<sup>b</sup> können sowohl schwere hämolytische Transfusionsreaktionen hervorrufen, wie auch einen MHN bewirken, wobei Anti-Jk<sup>a</sup> deutlich häufiger gebildet wird als Anti-Jk<sup>b</sup>.

## 1.6 Das MNSs-System

Die Antigene des polymorphen **MNSs**-Systems werden auf zwei Glykoproteinen exprimiert, die jeweils noch eine Reihe weiterer Blutgruppenantigene tragen (Abb. 1.9). **Glykophorin A** (GPA;  $\sim 1 \times 10^6$  Kopien/Erythrozyt) trägt die antithetischen **Antigene M und N**, während die Epitope **S und s** auf **Glykophorin B** (GPB) lokalisiert sind ( $\sim 2,5 \times 10^5$  Kopien/Erythrozyt). Anti-M, Anti-N und Anti-S können sowohl als natürliche Antikörper vorkommen (ohne ein Immunisierungsereignis durch Zufuhr fremder Erythrozyten) wie auch als irreguläre Antikörper, im Gegensatz zu Anti-s, das nur als irregulärer Antikörper vorliegt. Antikörper gegen Antigene des MNSs-Systems sind nur von klinischer Relevanz bei aktueller Nachweisbarkeit mit Reaktivität bei 37 °C bzw. positivem Ergebnis im indirekten Coombstest. Unter diesen Voraussetzungen können die Antikörper an hämolytischen Transfusionsreaktionen und MHN beteiligt sein.

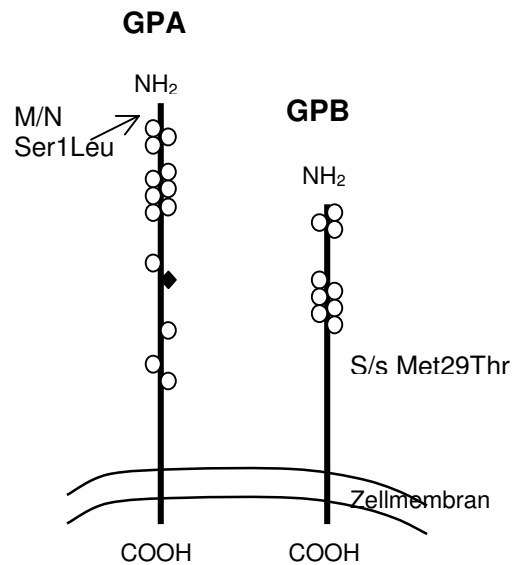


Abb. 1.9: Struktur der M/N und S/s tragenden Glykoproteine GPA und GPB; o = Kohlenhydratrest.

**Cave:** Neben den oben beschriebenen Blutgruppen gibt es noch eine Reihe weiterer Blutgruppen, die im Routinefall meist keine Beachtung finden, da Immunisierungen selten sind. **Ist bei einem Patienten jedoch eine Immunisierung gegen eine hochfrequente Blutgruppe (>99 % in der betreffenden Bevölkerungsgruppe) bekannt, so erfordert jede geplante Operation mit notwendiger Blutversorgung eine sorgfältige Planung, da die Beschaffung des geeigneten Blutproduktes sehr schwierig sein kann.**

## 2 HLA-Antigene

Polymorphe Strukturen, die nach einer Blutübertragung auf einen anderen Menschen zu einer Alloantikörper-Bildung führen können, sind nicht nur auf Erythrozyten, sondern auch auf anderen Blutzellen zu finden. Zu diesen Strukturen gehören die Antigene des Haupthistokompatibilitätskomplexes (**MHC**), die entscheidenden Anteil an der Immunerkennung, Im-

munregulation und Infektabwehr haben. Beim Menschen sind diese Strukturen als **Humane Leukozyten Antigene (HLA)** bekannt. Die fünf klassischen Genorte HLA-A, -B, -C, -DR und -DQ, die in einer eng umschriebenen Genregion des kurzen Arms des humanen Chromosoms 6 (Bande 6p21) lokalisiert sind, weisen einen extrem hohen Grad an Polymorphismus mit über 2500 bekannten Allelen auf. Die Genprodukte der Genorte **HLA-A, -B, und C** werden auch als **HLA-Klasse I-Antigene** bezeichnet, die Produkte der Genorte **HLA-DR und -DQ** als **HLA-Klasse II-Antigene**. Bei den HLA-Klasse I-Molekülen ist eine glykosylierte schwere Kette, die die polymorphe Region trägt, nicht kovalent mit einer leichten Kette, dem  $\beta_2$ -Mikroglobulin (kodiert auf Chrom. 15) assoziiert, während die HLA-Klasse II-Moleküle aus zwei glykosylierten nicht kovalent gebundenen Polypeptidketten bestehen. Aus transfusionsmedizinischer Sicht sind insbesondere die **HLA-Klasse I-Moleküle** von Interesse, da sie auf nahezu allen kernhaltigen Zellen des Körpers exprimiert werden und somit auch auf **Leukozyten** und in einer hohen Dichte auf **Thrombozyten** (Blutplättchen) vorhanden sind. Aufgrund des ausgeprägten Polymorphismus kann insbesondere nach einer Thrombozyten-Übertragung leicht eine Alloimmunisierung induziert werden, was im Folgenden die **Transfusion verträglicher Thrombozyten** erforderlich macht. Antikörper gegen HLA-Antigene können vom IgM- oder IgG-Typ sein und fixieren häufig Komplement.

### 3 Antigene auf Thrombozyten

Neben den HLA-Klasse I-Antigenen werden auf Thrombozyten eine Reihe weiterer Antigene exprimiert. In Anlehnung an die HLA-Nomenklatur werden diese als **Human Platelet Antigens (HPA)** bezeichnet. Die HPA-Antigene sind auf **Glykoproteinkomplexen** lokalisiert, die von verschiedenen Genorten kodiert werden. Viele dieser Glykoproteine tragen auch **ABH**-Substanz, so dass auf Thrombozyten auch ABO-Blutgruppen exprimiert werden können und bei einer Transfusion berücksichtigt werden müssen. Die thrombozytären Glykoproteinkomplexe wurden zunächst als Thrombozyten-spezifisch angesehen. Heute ist bekannt, dass manche dieser Moleküle auch auf anderen Zellen zu finden sind. Die meisten Antigene, insbesondere auch das klinisch wichtige **HPA-1a**, trägt der Glykoprotein IIb/IIIa-Komplex (**GPIIb/IIIa**; Abb. 3.1). Anti-HPA-1a tritt besonders auf in Verbindung mit der neonatalen Alloimmunthrombozytopenie (**NAITP**), einer Mutter-Kind-Unverträglichkeit im thrombozytären Bereich und der posttransfusionellen Purpura (**PTP**), einer relativ seltenen Erkrankung, bei der es etwa eine Woche nach Transfusion zu einem plötzlichen Thrombozytenabfall kommt (Tab. 3.1). Ebenfalls auf dem GPIIb/IIIa-Komplex lokalisiert sind die **HPA-3**-Antigene, deren korrespondierende Alloantikörper ebenfalls in Fällen von PTP und NAITP nachgewiesen worden sind. Alloantikörper gegen **HPA-5b**, welches auf dem GPIa lokalisiert ist, treten v.a. bei polytransfundierten Patienten auf, aber auch bei NAITP.

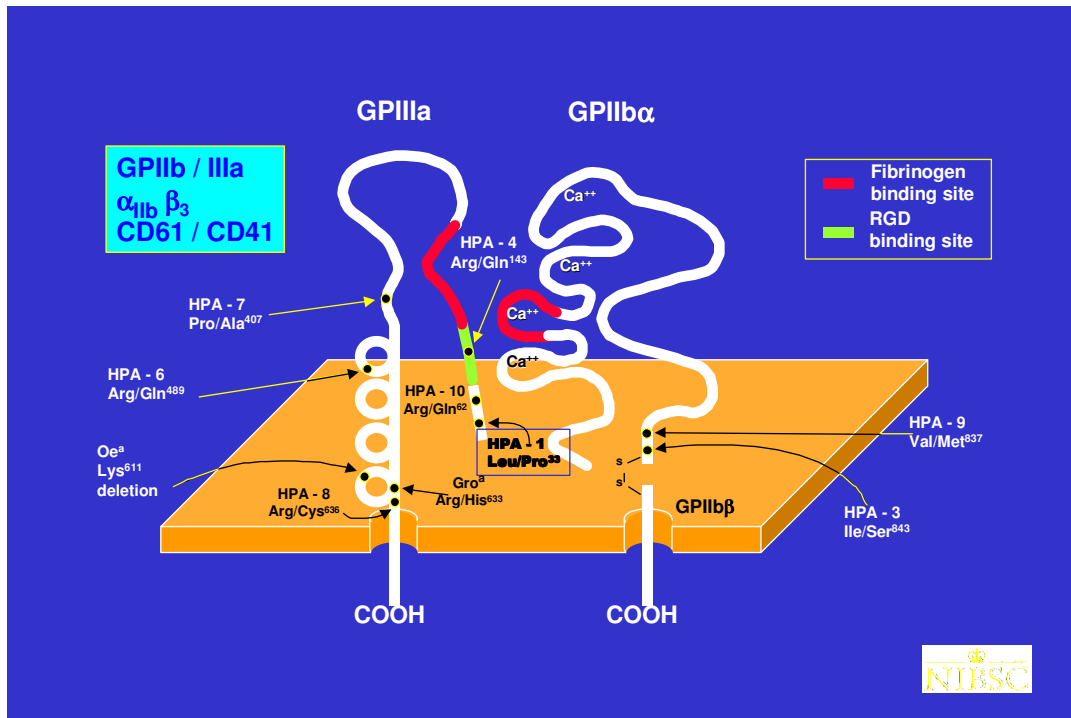


Abb. 3.1: Glykoprotein IIb/IIIa-Komplex auf Thrombozyten (National Institute of Biological Standards and Controls, NIBSC;  
[www.nibsc.ac.uk/division/Haem/diag\\_glycoprotein\\_hpa\\_antigens.html](http://www.nibsc.ac.uk/division/Haem/diag_glycoprotein_hpa_antigens.html))

Tabelle 3.1: Zuordnung der wichtigsten Thrombozytenantigene zu Glykoproteinkomplexen, Phänotypfrequenzen in Deutschland und Zuordnung der korrespondierenden Antikörper zu Krankheitsbildern

Antigen	Phänotyp-frequenz [%]	Glyko-protein	Alloantikörper beteiligt an:
HPA-1a	97,50	GPIIIa	NAITP, PTP
HPA-1b	30,80		selten: Refraktärzust. bei polytransf. Patienten
HPA-2a	99,80	GPIIbα	--
HPA-2b	11,80		selten: Refraktärzust. bei polytransf. Patienten, NAITP
HPA-3a	86,14	GPIIb	selten: PTP
HPA-3b	62,92		selten: NAITP
HPA-4a	>99,90	GPIIIa	sehr selten: PTP
HPA-4b	<0,10		sehr selten: NAITP
HPA-5a	98,79	GPIa	Refraktärzustand bei polytransf. Patienten, NAITP
HPA-5b	20,65		selten: PTP
HPA-15a (Gov(b))	77,30	CD109	selten: Refraktärzustand
HPA-15b (Gov(a))	74,87		selten: PTP, NAITP



In allen Fällen einer Unverträglichkeit aufgrund thrombozytärer Alloantikörper darf eine weitere Versorgung des Patienten nur mit ausgewählten Thrombozytenpräparaten erfolgen.

## 2 Antigene auf Granulozyten

Auch auf Granulozyten gibt es neben den HLA-Klasse I-Antigenen weitere Oberflächenmerkmale, die nach einer Blutübertragung zu einer Alloimmunisierung führen können. Solche Immunisierungen treten insbesondere als Folge einer Schwangerschaft auf, können aber auch auf Bluttransfusionen zurück gehen, wobei bei heutigen Präparaten aufgrund der Filtration (Restleukozyten-Gehalt  $\leq 1 \times 10^6$  pro Präparat) die Immunisierungswahrscheinlichkeit gering ist und reine Granulozytenpräparate nur nach gesonderter, eng gefasster Indikation verabreicht werden. Analog zur HLA- und HPA-Nomenklatur werden die Antigene als **Human Neutrophil Antigens (HNA)** bezeichnet. Klinisch wichtige Alloantigene sind die polymorphen Formen **HNA-1a, -1b und -1c des Fc $\gamma$ RIIIb** (Fc gamma Rezeptor IIIb; Tab. 4.1), einem GPI-verankerten Glykoprotein, das mit einer Kopienzahl von  $2 - 3 \times 10^5$  je Zelle ausschließlich auf neutrophilen Granulozyten exprimiert wird und der Bindung von Immunkomplexen dient. In seltenen Fällen (Frequenz in Europa 0,1 – 0,8 %) gibt es auch Fc $\gamma$ RIIIb-defiziente Individuen. Weitere wichtige Antigene sind das auf dem CD177-Molekül lokalisierte **HNA-2a**-Antigen (ebenfalls GPI-verankert), das in unterschiedlichen Prozentsätzen jeweils nur auf einer Subpopulation der Granulozyten eines Individuums exprimiert wird, und das **HNA-3a**, ein Glykoprotein von 70-95 kDa, dessen Struktur nicht bekannt ist. Weitere klinisch bedeutsame Antigene gehören zur Familie der  $\beta_2$ -Integrine wie das **HNA-4** (lokalisiert auf CD11b) und **HNA-5** (lokalisiert auf CD11a). Alloantikörper gegen granulozytäre Antigene werden nachgewiesen bei der **Neonatalen Alloimmunneutropenie (NIN)**, einer Mutter-Kind-Unverträglichkeit. Insbesondere spielen diese Antikörper jedoch eine Rolle bei der **Transfusions-abhängigen akuten Lungeninsuffizienz (TRALI)**, die mittlerweile als häufigste Ursache für tödliche Transfusionszwischenfälle angesehen wird. Die Antikörper werden in den meisten Fällen mit dem Blutpräparat, insbesondere Thrombozytenpräparaten und Plasmen, antransfundierte (**Minor-Typ-Reaktion**), es wurden in der Vergangenheit aber auch Reaktionen aufgrund eines Alloantikörpers im Plasma des Empfängers (Major-Typ-Reaktion) bekannt. Eine Beteiligung von HLA-Antikörpern an TRALI-Reaktionen wurde mittlerweile auch belegt.

Tabelle 4.1: Zuordnung der wichtigsten Granulozytenantigene zu Glykoproteinen, Phänotypfrequenzen in Deutschland und Zuordnung der korrespondierenden Antikörper zu Krankheitsbildern

Antigen	Phänotypfrequenz	Glykoprotein	Alloantikörper beteiligt an:
HNA-1a	46 %	Fc $\gamma$ RIIIb (CD16b)	NIN, TRALI
HNA-1b	88 %		
HNA-1c	5 %		
HNA-2a	97 %	CD177	NIN, TRALI
HNA-3a	95 %	N.N.	NIN, TRALI
HNA-4	96%	CD11b	NIN
HNA-5	85 %	CD11a	NIN

## 5 Unerwünschte Wirkungen von Bluttransfusionen

Unerwünschte Wirkungen von Bluttransfusionen sind definitionsgemäß nur solche Wirkungen, die bei bestimmungsgemäßem Gebrauch von Blutprodukten auftreten.

**Die häufigste Ursache schwerster und tödlicher Transfusionszwischenfälle ist nach wie vor die Verwechslung von Patienten, Konserven oder Proben!**

Somit handelt es sich hierbei definitionsgemäß nicht um eine unerwünschte Nebenwirkung, sondern um die Folgen eines ärztlichen Kunstfehlers. Unerwünschte Transfusionswirkungen und gefährliche Reaktionen durch Kunstfehler können eingeteilt werden in immunologische und nicht-immunologische Transfusionsreaktionen, wobei die immunologischen Transfusionsreaktionen weiter aufgrund der beobachteten Symptome unterteilt werden können.

### 5.1 Immunologische Transfusionsreaktionen

Immunologische Transfusionsreaktionen beruhen auf der Bindung eines Blutgruppenspezifischen Alloantikörpers an Blutgruppenantigene und führen zu einer unerwünschten Zerstörung von Blutzellen. Je nachdem, um welche Blutzellen es sich dabei handelt, unterscheidet man zwischen *hämolytischen* und *nicht-hämolytischen* Reaktionen.

### 5.1.1 Hämolytische Transfusionsreaktionen

**Hämolytische Transfusionsreaktionen** werden durch Alloantikörper hervorgerufen, die sich gegen Erythrozytenantigene richten und zu einer Hämolyse der Erythrozyten führen. Da Erythrozytenpräparate nur sehr wenig Plasma enthalten, sind hämolytische Transfusionsreaktionen üblicherweise vom **Major-Typ** (Abb. 5.1), d.h. im Plasma des Empfängers vorhandene Alloantikörper richten sich gegen die Blutgruppenantigene auf den Blutzellen des Spenders.

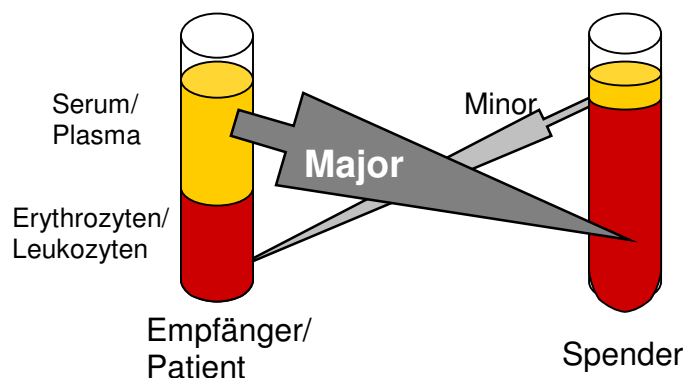


Abb. 5.1: Major- und Minor-Typ-Unverträglichkeiten zwischen Empfänger und Spender.

Im Gegensatz dazu steht die Minor-Unverträglichkeit, bei der sich Antikörper in dem nur geringen Plasmavolumen des Erythrozytenpräparates auf die Gesamtzahl der Erythrozyten des Empfängers verteilen.

#### 5.1.1.1 Akute hämolytische Transfusionsreaktionen

**Akute hämolytische Transfusionsreaktionen** treten bereits während der Transfusion oder in unmittelbarem zeitlichen Zusammenhang damit auf. Dabei handelt es sich um **komplementabhängige Hämolyse-Reaktionen**, die bereits im Gefäß zum vollständigen Ablauf der Komplementkaskade und dem Freisetzen des Erythrozyteninhaltes führen, weshalb man hier von **intravasaler Lyse** spricht. Hervorgerufen wird die akute, Komplement-abhängige intravasale Lyse im Regelfall durch die Isoagglutinine Anti-A oder Anti-B vom IgM- oder IgG-Typ als Folge einer ABO-inkompatiblen Fehltransfusion. Solche, auch als Transfusionszwischenfälle bezeichnete Reaktionen, enden nicht selten (10%) tödlich. Man geht davon aus, dass jedes 600.000ste transfundierte Erythrozytenpräparat aufgrund einer ABO-Fehltransfusion zum Tod führt! Die klinischen Zeichen einer akuten hämolytischen Transfusionsreaktion können sein: Temperaturanstieg, Schüttelfrost, Blutdruckabfall, evtl. Kreislaufschock, Übelkeit, Erbrechen, plötzlich Unruhe, Brust-, Flanken- oder Kreuzschmerz oder auch nur die Äuße-

rung des Patienten, er habe "ein komisches Gefühl". Bei narkotisierten Patienten kann aufgrund fehlender Äußerungen wertvolle Zeit bis zum Sichtbarwerden der Transfusionsreaktion verstreichen. Die akute hämolytische Reaktion kann einher gehen mit Nierenversagen und Blutungsneigung bei disseminierter intravasaler Gerinnung. Bei diesen Symptomen muss die Transfusion sofort gestoppt werden, wobei ein venöser Zugang erhalten bleiben soll, und eine sofortige Klärung erfolgen muss. Typische Anzeichen sind eine **Hämoglobinurie** mit bräunlich schwarzem Urin des Patienten (das Hämoglobin wird in der Niere in Dimere zerlegt und ultrafiltriert) und eine **Hämoglobinämie** mit rötlichem Blutplasma. Es muss umgehend geprüft werden, ob der Patient das richtige Erythrozytenkonzentrat erhalten hat und auch, falls es sich um eine Verwechslung handelt, ob noch ein weiterer Patient betroffen sein kann, für den nun fälschlicherweise das Präparat für den ersten Patienten zur Verfügung gestellt wird. Alle Materialien wie Blutbeutel, Restblut, eine Blutprobe des Patienten vor Transfusion etc. sind umgehend der zuständigen transfusionsmedizinischen Einrichtung zur weiteren Abklärung zu übergeben.

Neben der sehr schnell ablaufenden intravasalen Hämolyse gibt es auch eine langsamer ablaufende **extravasale Hämolyse** mit einem Abbau der Erythrozyten in Leber oder Milz. Die verursachenden irregulären IgG-Antikörper (v.a. Kell- und Duffy-spezifische Antikörper) binden zwar Komplement, aber die Komplementkaskade stoppt bei C3b bzw. C4b. Monozyten und Makrophagen binden die beladenen Erythrozyten über einen Rezeptor (CR1) und phagozytieren den Komplex. Erythrozyten die mit Antikörpern beladen sind, die kein Komplement fixieren (z.B. Anti-Rhesus), werden über Fc $\gamma$  Rezeptoren auf Monozyten/Makrophagen gebunden und ebenfalls phagozytiert.

#### 5.1.1.2 Verzögerte hämolytische Transfusionsreaktionen

**Verzögerte hämolytische Transfusionsreaktionen** beruhen zumeist auf **präformierten irregulären Blutgruppen-Antikörpern** vom IgG-Typ (Antikörper gegen Rhesus-, Kidd-, Duffy-, Kell- und MNSs-Antigene), die durch eine vorangegangene Bluttransfusion oder Schwangerschaft gebildet worden sind, zum Zeitpunkt der Transfusion aber unterhalb der Nachweisgrenze lagen. Das erneut zugeführte Antigen hat einen Booster-Effekt und bewirkt etwa 5 – 10 Tage nach der Transfusion eine **extravasale Hämolyse** der transfundierten Erythrozyten. Auch im Rahmen einer Erstimmunisierung durch die vorangegangene Transfusion sind innerhalb von 1 – 3 Wochen verzögerte hämolytische Transfusionsreaktionen möglich. Die Symptome wie z.B. Fieber, Hämoglobinabfall und evtl. leichter Ikterus sind meist weniger gravierend als bei der akuten Hämolyse. Zur Diagnose können die Blutgruppen-Antikörper und z.T. auch Komplement auf den Patientenerythrozyten nachgewiesen werden.

### 5.1.2 FEBRILE NICHTHÄMOLYTISCHE TRANSFUSIONSREAKTIONEN

**Febrile, nichthämolytische Transfusionsreaktionen** sind gekennzeichnet durch einen zur Transfusion zeitnahen Anstieg der Körpertemperatur um mindestens 1 °C, häufig gepaart mit Schüttelfrost, aber ohne Anzeichen von Hämolyse. Verursacht werden diese Symptome durch **präformierte Alloantikörper** des Patienten **gegen Antigene auf Leukozyten oder Thrombozyten**. Von besonderer Bedeutung sind hierbei neben Granulozyten- oder Thrombozyten-spezifischen Antikörpern auch HLA-spezifische Antikörper, die letztlich zur Zerstörung der Zielzellen und Freisetzung schädlicher Substanzen führen. Seit der Einführung von Leukozytenfiltern, die den Gehalt an Leukozyten pro Präparat unter  $1 \times 10^6$  halten, dürfte die Rate leukozytärer Transfusionsreaktionen gesunken sein. Patienten mit präformierten HLA- und/oder HPA-Antikörpern sollten ausgewählte Thrombozytenpräparate erhalten. Das Alter des transfundierten Präparates scheint ebenfalls einen Einfluss zu haben, da mit zunehmender Lagerungsdauer die Anzahl zerstörter Zellen wächst, Zellinhaltsstoffe in Lösung gehen und Aktivierungsprozesse in Gang gesetzt werden. Sezerniert werden u.a. Zytokine wie IL-1, IL-6, IL-8 und TNF- $\alpha$ , die zu einer weiteren Aktivierung immunkompetenter Zellen führen.

### 5.1.3 Posttransfusionelle Purpura (PTP)

Die **posttransfusionelle Purpura (PTP)** ist eine seltene, bisweilen aber ernste Erkrankung infolge der Transfusion eines Thrombozyten-haltigen Präparates. Etwa 3 – 14 Tage nach der Transfusion tritt bei den meist weiblichen Patienten, die durch Schwangerschaft oder Transfusion zu einem früheren Zeitpunkt gegen thrombozytäre Antigene immunisiert worden sind, ein **Thrombozytenabbau** mit Thrombozytenwerten unter  $1 \times 10^{10}/L$  ein. Der Thrombozytenabbau ist häufig mit einer erhöhten Blutungsneigung verbunden, die bis hin zu Todesfällen führen kann. In den meisten Fällen sind **Antikörper gegen den Glykoprotein IIb/IIIa-Komplex**, insbesondere gegen das HPA-1a-Antigen (bei HPA-1bb Patientinnen) involviert. Fatalerweise zerstören diese Antikörper nicht nur die antransfundierten HPA-1a-positiven Thrombozyten, sondern in einer bislang nicht vollständig geklärten Reaktion auch die HPA-1a-negativen Thrombozyten des Patienten. Die Diagnosestellung erfolgt anhand des serologischen Nachweises Thrombozyten-spezifischer Antikörper. Zur Therapie ist die Gabe hochdosierten intravenösen IgGs die erste Wahl.

#### 5.1.4 GRAFT VERSUS HOST DISEASE (GVHD)

Die **transfusionsassoziierte Graft versus Host disease (GvHD)** ist eine zwar seltene, aber schwere Erkrankung, die durch **transfundierte immunkompetente T-Lymphozyten oder periphere Stammzellen** ausgelöst wird, die sich im Empfänger ansiedeln und das Wirtsgewebe angreifen und zerstören. Etwa 1 Woche nach Transfusion kommt es zu Fieber, gefolgt von Hautausschlägen, Erbrechen und Diarrhöen, die im Verlauf weniger Wochen häufig tödlich enden. Im Gegensatz zur GvHD nach Transplantation richtet sich die GvHD nach Transfusion auch gegen die Hämatopoese des Empfängers und führt somit zu einer Panzytopenie. Insbesondere bei immundefizienten oder immunsupprimierten Patienten, wie auch bei Feten und Neugeborenen, erkennt das eigene Immunsystem die fremden transfundierten Lymphozyten oder Stammzellen nicht und eliminiert sie nicht. Dies ist insbesondere dann der Fall, wenn die HLA-Antigene der transfundierten Zellen eine hohe Übereinstimmung mit denen des Patienten aufweisen, weshalb u.a. Transfusionen zwischen Verwandten nicht zugelassen sind. Eine Therapie ist meist nicht möglich, sodass bei Risikopatienten unbedingt vorbeugend gehandelt werden muss. Da durch Leukozytenfiltration nicht restlos alle Leukozyten zurück gehalten werden, müssen die Blutpräparate (Erythrozytenkonzentrate und Thrombozytenkonzentrate) mit 30 Gy bestrahlt werden, um eine Proliferation der Zellen zu verhindern.

#### 5.1.5 TRANSFUSIONSASSOZIIERTE AKUTE LUNGENINSUFFIZIENZ (TRALI)

Die **Transfusionsassoziierte akute Lungeninsuffizienz (TRALI)** ist die häufigste Ursache tödlicher Transfusionszwischenfälle. Die Inzidenz wird mit etwa 1 auf 10.000 bis 1 auf 100.000 transfundierte Präparate mit hohem Plasmaanteil angegeben, wobei die Letalitätsrate bei etwa 10% liegt. **TRALI** ist durch eine akute Atemnot mit reduzierter Sauerstoffsättigung und reduziertem Sauerstoffpartialdruck während oder unmittelbar nach der Transfusion (max. 6 Std.) charakterisiert. Radiologisch sind beidseitige neu entstandene Lungeninfiltrate auffällig, sodass sich das klinische Bild nicht vom acute respiratory distress syndrome (ARDS) unterscheidet. Manche Patienten werden beatmungspflichtig. Klinisch sollte eine kardogene Ursache der Lungeninsuffizienz ausgeschlossen werden. Im Gegensatz zu ARDS agglutinieren bei TRALI **Granulozyten-spezifische Antikörper (Anti-HNA-1, -2, -3)** oder auch **HLA-Antikörper** Antigen-positive Granulozyten. Diese werden aktiviert und wandern in die engen Lungenkapillaren ein, wo sie am Gefäßendothel zur Freisetzung von Zytokinen, Proteasen und Sauerstoffradikalen führen und weitere Aktivierungsprozesse in Gang setzen. Die aktivierten Granulozyten wandern durch das Gefäßendothel in das umgebende Lungengewebe ein und zerstören es. Meist liegen die Antikörper im Plasma des

Spenders vor (v.a. durch Schwangerschaft immunisierte Spenderinnen), so dass eine **Minor-typ-Unverträglichkeit** vorliegt (vergl. Abb. 5.1), gelegentlich liegen aber auch präformierte Antikörper im Plasma des Patienten vor (Major-typ-Unverträglichkeit). Da viele Antikörper-positive Spenderinnen oft jahrelang trotz Vorliegen des Antikörpers unerkant bleiben, geht man davon aus, dass TRALI nur im Zusammenspiel mit weiteren Faktoren auftritt, welche wahrscheinlich auf Aktivierungsprozessen basieren, die als Folge der Vorerkrankung des Patienten auftreten. Die Diagnose umfasst den Nachweis des granulozytenreaktiven Antikörpers. Ein z. Zt. vom Paul-Ehrlich-Institut angekündigter Stufenplan sieht vor, dass Plasmen von Spenderinnen mit Schwangerschaftsanamnese nicht für therapeutische Zwecke verwendet werden dürfen, es sei denn, sie werden als Antikörper-negativ getestet. Antikörper-positive Spender(innen) sollen insbesondere vom Vorliegen granulozytenspezifischer Antikörper von weiteren Spenden ausgeschlossen werden. Therapeutisch ist die Gabe von Corticosteroiden üblich und führt meist innerhalb weniger Tage zur Therapiefreiheit.

#### 5.1.6 ALLERGISCHE TRANSFUSIONSREAKTIONEN

Die relativ häufig auftretenden **Allergischen Transfusionsreaktionen** treten meist bereits wenige Minuten nach Beginn der Transfusion auf und können sich in einer **Urtikaria, Pruritus**, aber auch **gastrointestinalen Symptomen** (Diarrhö, Erbrechen) äußern. Verursacht werden sie durch IgE- Antikörper gegen Plasmabestandteile, wobei diese Bestandteile aber nur selten identifiziert werden können.

Bei Patienten mit **IgA-Defizienz** kann es durch vorangegangene Transfusionen zu einer Immunisierung gegen IgA gekommen sein, so dass IgG-anti-IgA-Antikörper zu anaphylaktischen Reaktionen führen. Zur Therapie eignet sich die Gabe von Antihistaminika und Corticoiden. Bei Patienten mit bekanntem Anti-IgA bei IgA-Defizienz können unter strenger Indikation gewaschene zelluläre Blutpräparate verabreicht werden, bei denen der Plasmaanteil durch Kochsalzlösung ersetzt wird. Besser ist es jedoch, Präparate IgA-defizienter Spender zu verabreichen.

## 5.2 Nicht immunologisch bedingte Transfusionsreaktionen

Zu den nicht durch immunologische Prozesse hervorgerufenen Transfusionsreaktionen gehört die **Hypervolämie**, die auf einem zu hohem Blutvolumen durch zu schnelle Transfusion oder Massentransfusion basiert und zu einem Lungenödem führen kann. Im Gegensatz zum TRALI sind bei diesem Prozess jedoch keine Alloantikörper beteiligt.

Desweiteren kann es bei einer Langzeiterythrozytensubstitution (ab ~ 100 EK) aufgrund ungenügender Ausscheidung zu einer Akkumulation von Eisen kommen (**Transfusionshäm siderose**). Betroffen sind Leber, Herz und endokrine Drüsen.

### 5.3 Durch Transfusion übertragene Infektionen

In seltenen Fällen können zusammen mit dem Blut Infektionserreger übertragen werden. An erster Stelle stehen hier Viren, gefolgt von Bakterien und Parasiten.

#### 2.1.1 VIRALE INFEKTIONEN

Aus transfusionsmedizinischer Sicht sind v.a. solche Viren von Bedeutung, die über lange Zeit oder lebenslang persistieren und gegen die nur ein geringer Teil der Bevölkerung immun ist, oder gegen die es keine Immunität gibt. Viren lassen sich anhand verschiedener Merkmale einteilen, wie z.B. in **Viren mit und ohne lipidhaltige Hülle**. Dies ist insofern von Bedeutung als dass bei umhüllten Viren bestimmte Virusinaktivierungsverfahren zur Anwendung kommen können, die bei hüllenlosen Viren wirkungslos sind. Des Weiteren gibt es die Einteilung in **RNA- und DNA-Viren** in Abhängigkeit von der Art der Erbinformation. Die Einteilung in Kategorien hat jedoch keinen generellen Einfluss auf die Pathogenität der Viren.

#### 5.3.1.1 Hepatitisviren

Unter dem Begriff **Hepatitisviren** werden Viren mit unterschiedlichem Aufbau, Übertragungswegen und Inaktivierbarkeit zusammen gefasst, die allesamt **leberspezifisch** sind (Hepatitis), in der Infektionsphase aber auch im Blut vorkommen. Die Hepatitisviren der Typen A – E sind gut charakterisiert, aus transfusionsmedizinischer Sicht von besonderem Interesse sind nach heutiger Erkenntnis nur **Hepatitis B und C**.

Das **Hepatitis B-Virus (HBV)** ist ein etwa 45 nm großes, teils doppelsträngiges **DNA-Virus** mit lipidhaltiger Hülle, das zur Gruppe der **Hepadnaviren** gehört. In der Virushülle befindet sich das Core-Partikel (HBcAg), welches die DNA umschließt (Tab. 5.1). Allen Hepadnaviren gemein ist, dass sie ihre Hüllproteine im Überschuss produzieren und in Form nicht-infektiöser **HBsAg**-Partikel ins Blut sezernieren. Diese Partikel bieten eine Möglichkeit des Hepatitis B-Nachweises. Obwohl das Virus sich in Hepatozyten vermehrt, werden die Leberzellen bei inapparenten Verläufen kaum geschädigt. Sowohl Fälle mit vollständiger Heilung und Vireneliminierung (80 – 90 %), symptomfreie Formen mit persistierendem Virus, wie



auch chronische Formen sind bekannt, ebenso wie mehr oder weniger fulminante Verläufe bis hin zum totalen Leberversagen. Das Risiko einer HBV-Übertragung durch Blutprodukte wird mit  $1:5 \times 10^5 - 1:10^6$  angegeben, die Inkubationszeit beträgt 50 – 180 Tage.

Das **Hepatitis C-Virus (HCV)**; früher "**Hepatitis non-A non-B**" genannt) ist ein 60 – 80 nm großes umhülltes, einzelsträngiges **RNA-Virus**, das zu den **Flaviviren** gehört. Neben dem Coreprotein gibt es die Hüllproteine E1 und E2 sowie Strukturproteine. Es weist eine hohe Heterogenität mit 6 Genotypen und 30 Subtypen auf und kann deshalb das Immunsystem häufig unterminieren und zu chronischen Infektionen führen. Verschiedene Verläufe sind möglich vom inapparenten Verlauf über (seltene) fulminante Formen mit Leberversagen bis zu chronischen Formen ( $\geq 80\%$ ), die z.T. zu einer Leberzirrhose führen. Das Risiko einer HCV-Übertragung durch Blutprodukte liegt unter  $1:10^6$ , die mittlere Inkubationszeit beträgt 7 Wochen (3-20 Wochen). Ein in der Vergangenheit häufig als Indikator für Hepatitiden genutzter Begleitfaktor ist die bisweilen erhöhte GPT (Glutamat-Pyruvat-Transaminase).

#### 5.3.1.2 Retroviren

Die einzelsträngige RNA der **Retroviren** wird während der Replikation mittels des Enzyms **Reverse Transcriptase** in einen komplementären DNA-Strang übersetzt. Retroviren sind 80 – 110 nm groß und enthalten neben einem komplex gebauten Nukleokapsid (p24-Antigen) auch Membran- und membranassoziierte Proteine. Die für die Transfusionsmedizin wichtigsten Retroviren sind **HIV 1 und 2 (human immunodeficiency virus)**, die Erreger des "**acquired immunodeficiency syndrome (AIDS)**". HIV 1 und 2 gehören zu den Lentiviren und haben sehr ähnliche Kernproteine, aber sehr variable Oberflächenproteine. HIV 1 und 2 befallen T-Helferzellen, die infolge der Virusvermehrung absterben und dem Immunsystem nicht mehr für eine effektive Abwehr zur Verfügung stehen. Die Folge sind opportunistische Infektionen mit Erregern wie *Pneumocystis carinii*, Toxoplasmose, *Candida*, Mykobakterien, Herpesviren, Cytomegalieviren u.a. oder auch maligne Erkrankungen wie Karposi-Sakom und Lymphome, die letztlich zum Tode führen. Das Risiko einer HIV-Übertragung durch Bluttransfusion liegt unter  $1:10^6$ , die Inkubationszeit liegt zwischen wenigen Tagen und mehreren Wochen.

#### 5.3.1.3 Cytomegalievirus

Das **Cytomegalievirus (CMV)** gehört ebenso wie das Epstein-Barr-Virus zu den **Herpesviren**, großen doppelsträngigen DNA-Viren mit Lipidhülle. CMV ist weit verbreitet (Prävalenz in Deutschland ~ 50 %), eine Symptomatik tritt aber nur selten auf (Aufreten insbesondere bei Immundefizienz). Das Virus kommt latent sowohl zellassoziiert (Leukozyten) wie auch frei im

Plasma vor. Gefürchtet sind von der Mutter übertragene intrauterine Infektionen, die zu Behinderungen des Kindes führen können. Deshalb erhalten CMV-negative Schwangere, Neugeborene CMV-negativer Mütter, Knochenmarkempfänger, Immunsupprimierte und Immundefiziente Personen CMV-negative Blutprodukte. Bei immunkompetenten Personen wird kein erhöhtes Risiko angenommen.

Tabelle 5.1: Charakteristika, Klinik und Diagnose einiger transfusionsmedizinisch relevanter Viren.

Virus	Familie	DNA/ RNA	Lipid- hülle	Prävalenz (D) <sup>#</sup> [%]	Klinik	Übertragungs- risiko*	Diagnose- Verfahren
<b>HBV</b>	Hepadna- Viren	dsDNA	ja	0,62	Hepatitis; Ausheilung bis chronisch	$1:5 \times 10^5$ – $10^6$	HBs-Antigen; HBV-Ak; DNA (PCR)
<b>HCV</b>	Flavi- Viren	ssRNA	ja	0,4	Hepatitis; inapparent bis chronisch	$\leq 1:10^6$	HCV-Antigen; HCV-Ak; RNA (PCR)
<b>HIV1</b> <b>HIV2</b>	Retro- Viren	ssRNA, rev. transcr.	ja	< 0,05 %	opportunistische Infektionen; maligne Erkrank.	$< 1:10^6$	g24-Ag; HIV-Ak; PCR; CD4/CD8-Ratio
<b>CMV</b>	Herpes- Viren	dsDNA	ja	~50	meist inapparent; Hepatitis, Pneumonie, Anämie; Schädigung d. Feten in Infektionsphase	Einzel- fälle	IgM/IgG-Ak; PCR

ds = doppelsträngig; ss = einzelsträngig; # in Deutschland; \*Übertragungsrisiko durch Blutprodukte bei als negativ getesteten Spendern, Ausnahme CMV (hier Risiko nach Leukozytendepletion nur theoretisch abschätzbar)

Neben den aufgeführten Viren können in Ausnahmefällen auch Infektionen durch **Hepatitis A-Virus**, **Parvovirus B19** (Erreger der Ringelröteln), **Ebstein-Barr-Virus (EBV)** – Mononukleose), **Herpes-Simplex-Viren**, **Varizella Zoster**, **HTLV-Viren** (Leukämien), **West Nile Virus (WNV)** u.a. von klinischer Bedeutung sein.

### 5.3.2 Bakterielle Infektionen

Bei den **bakteriellen Infektionen** ist prinzipiell zwischen verschiedenen Möglichkeiten der Kontamination zu unterscheiden:

- der Spender selbst weist eine bakterielle Infektion auf und weiß es nicht, oder gibt es nicht an (z.B. Syphilis)
- die Kontamination kommt bei der Bearbeitung (unzulässige Probenentnahme durch Punktion des Beutels) oder Lagerung des Blutbeutels zustande

- c) bei der **Venenpunktion des Spenders** gelangen ubiquitäre Bakterien auf der Haut oder aus der Luft in die Konserve (häufigste Kontaminationsquelle)

Die Häufigkeit der durch Transfusionen übertragenen bakteriellen Infektionen ist seit Einführung geschlossener Beutelsysteme und gekühlter Lagerung von Erythrozytenkonzentraten, bzw. Einfrieren des Plasmas deutlich zurück gegangen. Eine genaue Rate kann nur schwer angegeben werden, da **geringe Keimzahlen** häufig nicht entdeckt werden, bzw. die Symptome als Unverträglichkeitsreaktionen oder Folgen der Grunderkrankung des Patienten fehlinterpretiert werden. Man geht heute von einer Häufigkeit von etwa  $1: 6 \times 10^5$  aus. Die Übertragung **hoher Keimzahlen** birgt insbesondere das Risiko eines **Endotoxinschocks** durch freigesetzte bakterielle Pyrogene, auch dann, wenn der Erreger (z.B. *Serratia*) nicht unbedingt eine Infektion verursacht. Bakterien können durch immunkompetente Phagozyten im Spenderblut eliminiert werden, jedoch ist die zeitliche Möglichkeit nach Einführung der Leukozytendepletionsfilter hierfür nur noch kurz.

Ein in der Transfusionsmedizin wichtiges Bakterium ist **Treponema pallidum**, der **Erreger der Syphilis**, der zu den Spirochäten gehört. Da *Treponema pallidum* kältesensitiv ist, sind nach einer Lagerungsdauer von 72 Stunden bei 4 – 8 °C praktisch keine lebenden Keime mehr in Erythrozytenpräparaten enthalten. Die Thrombozytenlagerung bei 22 °C wird von den Treponemen aber wohl toleriert. Die Inkubationszeit beträgt 2 – 4 Wochen, ein Test auf *Treponema pallidum*-spezifischen Antikörper (**TPHA** = *Treponema pallidum* Hämagglutinationstest) wird routinemäßig bei allen Spendern durchgeführt. Positive Spender werden zeitlebens ausgeschlossen.

### 5.3.3 Infektionen durch Parasiten

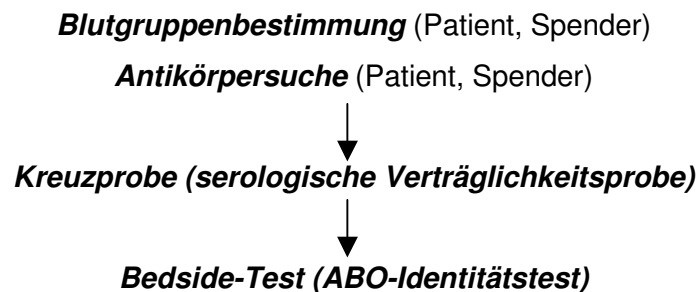
Auch im Blut lebende **Parasiten** können durch Bluttransfusionen übertragen werden. An erster Stelle stehen hierbei **Malaria-Erreger**, auch wenn diese in Deutschland z. Zt. natürlicherweise nicht vorkommen. Infektionen nach Aufenthalt in Risikogebieten sind jedoch nicht selten. Drei verschiedene Malaria-Formen werden durch vier verschiedene **human-pathogene Plasmodien** (Protozoen) verursacht:

- a) **Malaria tropica**: Erreger *Plasmodium falciparum*; schwere bis tödliche Verläufe, nach Diagnosestellung jedoch gut therapierbar
- b) **Malaria tertiana**: Erreger *Plasmodium vivax* und *Plasmodium ovale*; mittlere bis schwere Verläufe, nach 3 Jahren jedoch meist selbst limitierend
- c) **Malaria quartana**: Erreger *Plasmodium malariae*; mittlere bis schwere Verläufe, gut therapierbar

Die Erkrankungen äußern sich v.a. in wiederkehrenden Fieberschüben. Die Infektion läuft über Blutgruppenmoleküle auf Retikulozyten und Erythrozyten ab. Blutspender werden nach Aufenthalt in Risikogebieten für 6 Monate gesperrt und dürfen nur dann wieder spenden, wenn sie in diesem Zeitraum fieberfrei waren.

### 3 Immunhämatologische Diagnostik

Die **immunhämatologische Diagnostik** umfasst die Untersuchung des Spenderblutes und des Patientenblutes sowie die serologische Verträglichkeitsprüfung auf Reaktionen von Spender- mit Empfängerblut. Das Vorgehen stellt sich wie folgt dar:



Auf der Spenderseite erfolgt neben einer Anamneseerhebung, die insbesondere Angaben zu Infektionskrankheiten, Operationen, Schwangerschaften, Aufhalten in Risikogebieten für Infektionskrankheiten und Zugehörigkeit zu Risikogruppen enthält, auch eine Untersuchung des Blutes auf Infektionen mit den in den vorangegangenen Kapiteln beschriebenen Erregern. Im Einzelnen sind dies:

- HBs-Ag-Nachweis
- Nachweis von Antikörpern gegen HCV, HIV1, HIV2, CMV und *Treponema pallidum* (TPHA)
- Nukleinsäure-Amplifikationsverfahren zum Nachweis von HBV, HCV, HIV 1, HIV2

Damit ein Blutprodukt transfundiert werden darf, müssen folgende Befunde vorliegen:

- **HBs-Ag negativ**
- **Anti-HCV negativ**
- **Anti-HIV1 und Anti-HIV2 negativ**
- **HIV1- und HIV2-PCR negativ**
- **TPHA negativ**
- **HCV-PCR negativ**

- Blutprodukte mit **positivem Anti-CMV-Befund dürfen nicht an Risikopatienten** (Immundefiziente, Immunsupprimierte, Schwangere, Neugeborene u.a.) **verabreicht werden**.

## 6.1 Blutgruppenserologische Untersuchungen

Blutgruppenserologische Untersuchungen werden anhand der Reaktivität von Antigenen auf Blutzellen mit korrespondierenden Antikörpern durchgeführt. Im Folgenden soll zunächst ausschließlich auf das Vorgehen im Zusammenhang mit **der Transfusion von Erythrozytenkonzentraten (EK)** eingegangen werden.

Blutgruppenspezifische Antikörper (IgG, IgM, selten auch IgA) binden an Blutgruppenantigene, wobei IgG-Antikörper vorwiegend bei 37°C und IgM-Antikörper meist bei 4 °C optimal reagieren. Viele Nachweise können jedoch auch bei Raumtemperatur erbracht werden. Eine positive Reaktion wird anhand der **Erythrozytenagglutination** sichtbar. Sollte es unter dem Einfluss von Komplement zu einer Hämolyse gekommen sein, so wird auch dies zur Beurteilung mit herangezogen. Aufgrund der serologischen Reaktionsweise unterscheidet man zwischen **kompletten und inkompletten Antikörpern**, wobei sich diese Einteilung nur auf die *in vitro* Reaktivität und nicht auf die Vorgänge *in vivo* bezieht. Erythrozyten tragen auf ihrer Oberfläche eine negative Nettoladung (**Zeta-Potenzial**), so dass die einzelnen Zellen sich gegenseitig abstoßen und einen gewissen Abstand voneinander halten, weshalb sie unter physiologischen Bedingungen nicht verklumpen. **Komplette Antikörper** (alternativ: **agglutinierende Antikörper**) vermögen diesen Abstand im Kochsalzmilieu ohne Zusatz von Hilfsmitteln zu überbrücken und führen direkt zu einer Agglutination (Abb. 6.1). Meist handelt es sich um IgM-Antikörper (große Moleküle - Pentamere).

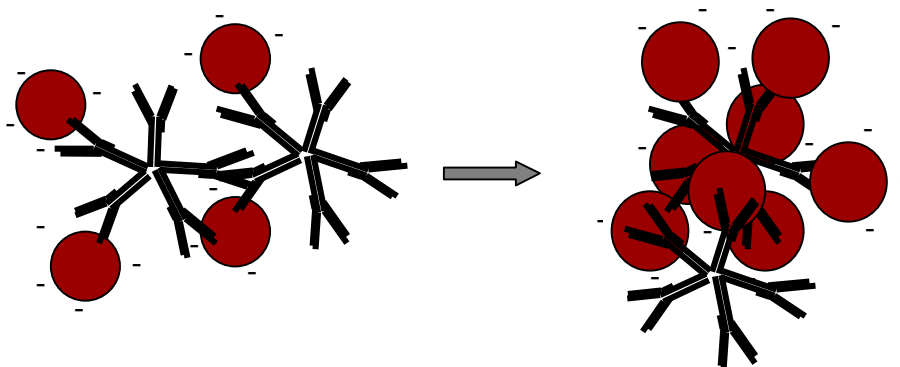


Abb. 6.1: Erythrozytenagglutination durch komplette Antikörper. Blutgruppenspezifische Antikörper (IgM) binden an die Erythrozyten und führen ohne Zugabe von Reaktionsverstärkern zu einer Agglutination.

Weniger avide Antikörper binden zwar ebenfalls an ihr korrespondierendes Antigen auf den Erythrozyten, aber die Bindung ist nicht stark genug, um zu einer sichtbaren Agglutination zu führen. Da diese Antikörper Hilfsmittel (*Supplemente*) wie Rinderserumalbumin oder Dextran benötigen, um Erythrozyten zu agglutinieren, spricht man von **inkompletten Antikörpern**. Durch Zugabe eines Anti(humanimmun)globulins können benachbarte, mit Blutgruppenantikörpern beladene Erythrozyten leichter vernetzt (agglutiniert) werden. **Proteinasen** wie Bromelin oder Papain spalten Proteine auf der Erythrozytenmembran und können auf diese Weise Blutgruppenepitope leichter für eine Antikörperbindung zugänglich machen (z. B. Rhesus und Kidd) oder je nach Struktur auch zerstören (z.B. Duffy).

### 6.1.1 Direkter Coombstest (DCT)

Mit dem **direkten Coombstest (direkter Antiglobulintest)** werden Erythrozyten auf eine *in vivo* Beladung mit IgG-Antikörpern oder die Komplementkomponente C3d überprüft (Anwendung bei auto-immunhämolytischen Anämien, Morbus hämolyticus neonatorum und hämolytischen Transfusionszwischenfällen). Nachdem Plasmaresten durch Waschen von den Erythrozyten entfernt wurden, wird ein in einem Tier durch Immunisierung gewonnener Antikörper gegen humanes IgG bzw. humanes C3d (**Antiglobulin**) zu den Erythrozyten gegeben. Sind die Erythrozyten mit IgG bzw. C3d beladen, kommt es zu einer sichtbaren Agglutination (Vernetzung über den tierischen Antikörper) der Erythrozyten.

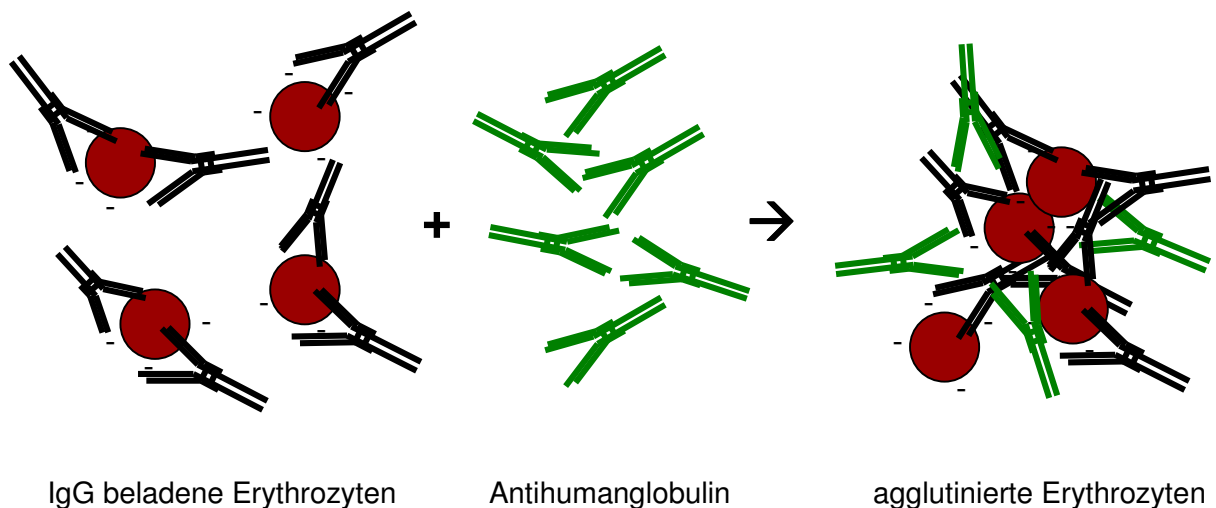


Abb. 6.2: Prinzip des direkten Coombstest.

## 6.1.2 Indirekter Coombstest (ICT)

Beim **indirekten Coombstest (indirekter Antiglobulintest)** erfolgt die Beladung der Erythrozyten mit Blutgruppen-spezifischem Antikörper *in vitro*, d.h., die Erythrozyten werden zunächst mit einem Antikörper-haltigen Serum inkubiert. Nachdem der Antikörper gebunden hat, wird zum Auslösen der sichtbaren Agglutination das tierische Antihumanglobulin zugegeben. Dieser Test wird eingesetzt zum Nachweis bestimmter Blutgruppen, zum Nachweis irregulärer Antikörper vor Transfusion und bei der Kreuzprobe (unter Kursbedingungen wird die Kreuzprobe in der direkten Agglutination durchgeführt, da der ICT aus technischen Gründen nicht möglich ist).

Die blutgruppenserologischen Teste können auf Platten, in Röhrchen, Kapillaren, Mikrotiterplatten, sog. Gelkarten u.a. Systemen durchgeführt werden, wobei heute bei größerem Probenaufkommen meist automatisiert gearbeitet wird.

## 6.2 Blutgruppenbestimmung

Die Blutgruppenbestimmung erfolgt mittels definierter Testseren, die nach Bindung an das betreffende Blutgruppenepitop zu einer Agglutination führen. Heute werden hierzu weitgehend monoklonale Antikörper verwendet, die ein klares Reaktionsmuster erkennen lassen. Den kommerziellen Präparationen ist häufig schon Supplement zugegeben. Bei **Patienten wie Blutspendern** wird die **ABO-Blutgruppe** mittels **monoklonalem Anti-A** und **Anti-B**-Reagenz bestimmt, teilweise wird auch **Anti-AB** verwendet. Da die ABO-Blutgruppen regulär

Tab. 6.1: Schema der ABO-Blutgruppenbestimmung. (Erythrozytenagglutination: "-" keine Agglutination bis "++++" starke Agglutination)

Testserum	Reaktion der Probandenerythrozyten mit den Test-Antikörpern			
Anti-A	++++	-	++++	-
Anti-B	-	++++	++++	-
Anti-AB	++++	++++	++++	-

Testerythrozyten	Reaktion des Probandenserums mit den Testerythrozyten (Serumgegenprobe)			
A1	-	+++	-	+++
A2	-	++	-	++
B	+++	-	-	+++
O	-	-	-	-

→ Blutgruppe	A	B	AB	O
--------------	---	---	----	---

mit dem Vorkommen von Isoagglutininen verbunden sind, gehört zur Bestimmung der **ABO-Blutgruppen** zwingend der **Nachweis der Isoagglutinine in der Serumgegenprobe**. Dazu wird Serum des Patienten bzw. Blutspenders mit Testerythrozyten der Blutgruppen A1, A2, B und O inkubiert. Das Ergebnis der Serumgegenprobe und die ABO-Blutgruppenbestimmung dürfen keine Widersprüche erkennen lassen. Anderenfalls muss der Widerspruch aufgeklärt werden.

Zusätzlich zur ABO-Blutgruppe wird sowohl bei Spendern wie Empfängern das Rhesusmerkmal D bestimmt. Bei **Patienten** geschieht dies mittels zweier monoklonaler Antikörper vom IgM-Typ (verschiedene Antikörper-Klone), wobei diese Antikörper das abgeschwächte Merkmal der Kategorie D<sup>VI</sup> (siehe Abb. 1.4) nicht erfassen dürfen. Dies dient dazu, Menschen, denen ein größerer Teil des RhD-Antigens fehlt, als Rh-negativ zu typisieren, so dass sie auch mit Rh-negativen Erythrozyten versorgt werden und es zu keiner Rhesus D-Immunsierung kommt. Bei **Blutspendern** müssen weak D- und partial-D- (auch Kategorie D<sup>VI</sup>) -Phänotypen mittels polyklonaler oder monoklonaler Antikörper bestimmt werden und die Spender bei Vorliegen von weak D- oder partial D als RhD positiv angegeben werden. Bei Blutspendern und z.T. auch bei Patienten wird darüber hinaus mit Anti-C, -c, -E und -e, sowie Anti-C<sup>w</sup> die komplette Rh-Formel bestimmt. Die Bestimmung weiterer Blutgruppen ist immer dann erforderlich, wenn bei einem Spender oder einem Patienten ein Antikörpersuchtest positiv ausgefallen ist und auf irreguläre Antikörper hinweist. Ein Patient muss dann mit Erythrozyten versorgt werden, die das betreffende Blutgruppenantigen nicht aufweisen, gegen das er Alloantikörper gebildet hat. Die Blutgruppenbestimmung erfolgt entsprechend mit jeweils zwei unterschiedlichen Antikörper-Präparationen (unterschiedliche Klone). Die Blutgruppe Kell (K, K1) wird häufig routinemäßig bestimmt.

Da die Gene vieler Blutgruppen heute bekannt und sequenziert sind, gewinnt die **DNA-Blutgruppentypisierung** mittels Nukleinsäureamplifikationsverfahren ("PCR") zunehmend an Bedeutung. Von besonderem Interesse ist dies bei Blutgruppen, für deren Bestimmung keine monoklonalen Reagenzien verfügbar sind und Alloantiseren rar sind, sowie bei der Typisierung der hohen Anzahl an *RHD*-Genvarianten. Ein aktueller Aspekt ist auch die Möglichkeit zum Nachweis fetaler Blutgruppen, insbesondere Rhesus D, aus Amniocentesematerial, Chorionzottenbiopsien und maternalem Plasma. Etwa 3 – 5 % der frei im mütterlichen Plasma vorkommenden DNA ist fetalen Ursprungs, so dass auf diese Weise bei einer Rh-negativen Mutter der Nachweis *RHD*-spezifischer DNA-Fragmente auf einen Rh-positiven Feten zurückzuführen ist. Durch diese non-invasive Methode ergeben sich für den Kliniker wichtige Informationen zur weiteren Betreuung der Schwangerschaft. Zudem gibt es die Möglichkeit, die *RHD*-Zygotie (*RHD*-Gen homozygot oder hemizygot vorhanden) mittels PCR beim Vater eines Feten zu bestimmen, um darüber eine Risikoabschätzung vornehmen zu können, ob der Fetus ebenfalls *RHD*-positiv ist. DNA-Typisierungen erfordern aber sehr de-



taillierte Kenntnisse des Gen- und Proteinaufbaus, um Fehlinterpretationen zu vermeiden. Bei einer Reihe von Blutgruppengenen sind Variationen mit DNA-Deletionen oder –Inserts bekannt, die dazu führen, dass kein Protein, oder eine trunkierte Form synthetisiert wird. Serologisch fällt der Antigennachweis dann negativ aus, während mit Nukleinsäureamplifikationsverfahren die Variation nicht erkannt wird, wenn die Primer den betreffenden DNA-Bereich nicht abgreifen.

### **3.1 Antikörperscreening**

Bei Patienten gehört zu jeder Blutgruppenbestimmung auch ein **Antikörperscreening (Antikörpersuche)**, welches irreguläre Antikörper nachweist. Es werden dazu mindestens zwei, besser drei Testzellen verwendet, die die folgenden Blutgruppenantigene in möglichst homozygoter Form aufweisen:

**C, C<sup>w</sup>, c, D, E, K, k, Fy<sup>a</sup>, Fy<sup>b</sup>, Jk<sup>a</sup>, Jk<sup>b</sup>, S, s**

Das Antikörperscreening ist nach den z. Zt. gültigen Richtlinien bei jeder Verträglichkeitsprobe (Kreuzprobe) zu wiederholen, wenn die Blutentnahme, aus der das vorangegangene Antikörperscreening durchgeführt wurde, länger als 72 Stunden zurück liegt. Das Antikörperscreening wird mindestens im indirekten Coombstest durchgeführt und evtl. in weiteren Testverfahren. Beim Vorliegen positiver Reaktionen wird mit speziellen Testzellpaneln die exakte Spezifität des Antikörpers bestimmt (**Antikörperdifferenzierung**). Einige Angaben zu Testbedingungen bei Blutgruppenantikörper-Nachweisen sind in Tabelle 6.2 aufgelistet.

### **6.4 Serologische Verträglichkeitsprobe**

Die **serologische Verträglichkeitsprobe (Kreuzprobe)** wird vor der Transfusion durchgeführt, um Unverträglichkeitsreaktionen durch Antikörper im Serum des Patienten gegen Blutgruppenantigene auf den Erythrozyten des Spenders aufzudecken. Da heutige Erythrozytenkonzentrate nur noch einen sehr geringen Plasmaanteil enthalten und Antikörper im Plasma des Blutspenders somit keinen negativen Effekt haben, wird die Kreuzprobe nur als **Major-Ansatz** durchgeführt (siehe Abb. 5.1). Da sowohl komplette wie inkomplette Antikörper nachgewiesen werden müssen, werden meist unterschiedliche Ansätze parallel durchgeführt, wie die Agglutination bei Raumtemperatur (Isoagglutinine) und der indirekte Coombstest bei 37 °C unter Einsatz von Supplement und Anti-human Immunglobulin (viele irreguläre Antikörper), der in jedem Fall unerlässlich ist. Die verschiedene Antikörpereigenschaften wie Temperaturoptimum, Zusatz von Supplement, Proteinase, Ionenstärke etc.

werden berücksichtigt. Es wird nicht nur die Agglutination, sondern auch eine evtl. vorkommende Hämolyse als Zeichen einer Komplementaktivierung abgelesen.

Zusätzlich zur eigentlichen Kreuzprobe wird auf derselben Platte auch eine ABO-Kurzbestimmung mit Anti-A und Anti-B an den Spender- und den Empfängererythrozyten durchgeführt, sowie ein autologer Ansatz (Eigenansatz) mit Serum und Erythrozyten des Patienten.

Tabelle 6.2: Eigenschaften von Blutgruppenantikörpern. Die regulären Blutgruppen-Antikörper sind grau unterlegt.

<b>Spezifität</b>	<b>Ig-Klasse</b>	<b>Häufigkeit<sup>#</sup></b>	<b>Nachweis</b>	<b>klinischer Effekt</b>
Anti-A	IgM, IgG	obligates Isoagglutinin	Kälte, NaCl	schwere Transfusionszwischenfälle, MHN (meist mild); C-Akt.
Anti-A <sub>1</sub>	IgM, (IgG)	1% bei A <sub>2</sub> und 25% bei A <sub>2</sub> B-Individ.	Kälte, NaCl	meist irrelevant
Anti-B	IgM, IgG	obligates Isoagglutinin	Kälte, NaCl	schwere Transfusionszwischenfälle, MHN (meist mild); C-Akt.
Anti-D	meist IgG	häufigster irreg. Blutgruppen-AK	AGT, (Enzym)	hämolyt. Transfusionsreaktionen, MHN;
Anti-K	IgG, selten IgM*	häufig	AGT, kein Reduktionsm.	hämolyt. Transfusionsreaktionen, MHN; C-Akt.
Anti-E	meist IgG	häufig	AGT, (Enzym)	hämolyt. Transfusionsreaktionen, selten MHN
Anti-Fy <sup>a</sup>	IgG	mittlere Häufigkeit	AGT, keine Enzyme	hämolyt. Transfusionsreaktionen, selten MHN; C-Akt.
Anti-c	IgG	mittlere Häufigkeit	AGT, (Enzym)	hämolyt. Transfusionsreaktionen, MHN
Anti-Jk <sup>a</sup>	IgG	mittlere Häufigkeit	AGT, Enzym	schwere hämolyt. Transfusionsreaktionen, selten MHN
Anti-C	IgG, selten IgM	selten, häufiger in Komb. mit Anti-D	AGT, (Enzym)	hämolyt. Transfusionsreaktionen, selten MHN
Anti-S	IgG/IgM	selten	AGT	hämolyt. Transfusionsreaktionen, selten MHN
Anti-e	IgG	selten	AGT, (Enzym)	selten Transfusionszwischenfälle, MHN
Anti-C <sup>w</sup>	IgG, selten IgM	selten	AGT, (Enzym),	selten Transfusionszwischenfälle, MHN

AGT: Anti-Globulin-Test (Coombs-Test), wird bei Routine-Ansätzen meist als Wärmeansatz bei 37 °C durchgeführt; \*IgM-Antikörper reagieren meist im NaCl-Ansatz in der Kälte; # Häufigkeiten der irregulären Antikörper beziehen sich auf die Immunisierungswahrscheinlichkeit nach inkompatibler Transfusion; häufig: > 20 %, mittlere Häufigkeit: 4 – 20 %, selten: < 4 %; C-Akt. = Komplement-Aktivierung

Aufgrund des regelmäßigen Vorkommens von Isoagglutininen und der durch eine Fehltransfusion hervorgerufenen akuten Hämolysen wird in der Regel versucht, ABO-identisch zu transfundieren. Ist dies aufgrund eines Präparatemangels oder einer Notfallsituation nicht möglich, so kann alternativ wie folgt verfahren werden:

Abb. 6.3: Erlaubte Ersatzblutgruppen bei der Transfusion von **Erythrozytenkonzentraten**

Patientenblutgruppe	erlaubte Ersatzblutgruppe	Isoagglutinine	nicht erlaubt
A	O	Anti-B	B, AB
B	O	Anti-A	A, AB
AB	A, B, O	---	---
O	---	Anti-A, Anti-B	A, B, AB

Die oben angegebenen Alternativen gelten nur für die Transfusion von Erythrozytenkonzentraten, da hier aufgrund des geringen Plasmaanteils die Isoagglutinine des Spenders nicht berücksichtigt werden müssen im Gegensatz zu Plasma und plasmahaltigen Thrombozytenpräparaten. Die Blutgruppe O ist bei Erythrozytenkonzentraten also Universalspender.

Auch in Bezug auf die Rhesus-Blutgruppe D wird nach Möglichkeit blutgruppenidentisch transfundiert, insbesondere bei jungen Menschen, Frauen im gebärfähigen Alter und Patienten, die häufig transfundiert werden. Rhesus negatives Blut kann natürlich in jedem Fall transfundiert werden.

### 6.5 Bedside-Test

Der **Bedside-Test (ABO-Identitätstest)** dient der Vermeidung von Verwechslungen als letzter Test vor der Transfusion. Wie der Name angibt, ist dieser Test **direkt beim Patienten aus einer frisch entnommenen Blutprobe** (am besten aus der gelegten Transfusionsnadel) **unmittelbar vor Transfusion durchzuführen**. Das Patientenblut wird auf einer kommerziell erhältlichen Identitätskarte, auf die Anti-A und Anti-B (bei manchen Karten zusätzlich auch Anti-D) fertig aufgetropft vorliegen, mit den Antikörpern vermischt und die Agglutination abgelesen. Das Ergebnis ist zu dokumentieren. Bei Abweichungen von dem in der Krankenakte vermerkten Blutgruppenbefund darf nicht transfundiert werden. Der Beside-Test am Empfängerblut ist innerhalb der EU rechtlich bindend vorgeschrieben, während die Durchführung mit dem Blut des Präparats durch die Transfusionsordnung der einzelnen Einrichtungen geregelt ist. Sinnvoll ist diese Überprüfung in jedem Fall, um eine evtl. Falschetikettierung des Erythrozytenkonzentrates aufzudecken.

### 6.6 Nachweis thrombozytärer und leukozytärer Blutgruppen

Neben den Blutgruppen auf Erythrozyten können auch **Blutgruppen auf Thrombozyten und Leukozyten** von Bedeutung sein. Bei der Transfusion von Thrombozytenkonzentraten sowie infolge Schwangerschaft kann es zur Immunisierung gegen **HLA-Antigene** oder **HPA-Antigene** kommen. Um immunisierte Patienten adäquat behandeln zu können, müssen die HLA-Klasse I-Antigene bekannt sein. Die **Typisierung von HLA-Antigenen** wird klassischerweise im **Komplement-abhängigen Lymphozytotoxischen Test (LCT)** mittels einer Reihe von HLA-Typisierungsseren mit bekannter Spezifität vorgenommen. Die Antikörper binden an die Lymphozyten des Probanden und führen nach Komplementzugabe zur Zellyse, welche mikroskopisch beurteilt werden kann. Jedoch gewinnt auch hier zusehends die **DNA-Typisierung** an Bedeutung und löst z.T. bereits die serologische Typisierung ab. Aufgrund des stark ausgeprägten Polymorphismus der HLA-Antigene ist der Aufwand allerdings beträchtlich und man erhält eine Vielzahl verschiedener Allele, die häufig durch Sequenzierung voneinander unterschieden werden. Der **Nachweis und die Spezifizierung von HLA-Antikörpern** wird klassischerweise ebenfalls im **LCT** an einem **Lymphozyten-Zellpanel** vorgenommen, welches alle relevanten HLA-Antigene der jeweiligen Population umfassen sollte. Alternativ wurden auch **indirekte Immunfluoreszenz- und ELISA (enzyme labelled immuno sorbent assay)-Verfahren** entwickelt. Bei diesen Testen bindet der Antikörper an Lymphozyten, HLA-Antigen-beladene Beads oder auf einer Mikrotiterplatte immobilisiertes HLA-Antigen. Die Reaktion wird nach Bindung eines Sekundärantikörpers an den HLA-spezifischen Antikörper sichtbar gemacht, wobei der Sekundärantikörper entweder mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert ist (indirekter Immunfluoreszenztest) bzw. an ein Enzym gekoppelt ist, welches in einem weiteren Schritt ein Substrat umsetzt und zu einer photometrisch messbaren Farbreaktion führt (ELISA). Die meisten dieser Teste sind kommerziell erhältlich und können automatisiert durchgeführt werden. Mit der Luminex-Technik ist ein neueres Verfahren am Markt, das aus einer Probe den gleichzeitigen Nachweis einer höheren Anzahl von Parametern bei hoher Sensitivität erlaubt.

**Thrombozytenantigene (HPA-Antigene)** können **im indirekten Plättchenimmunfluoreszenztest (PIFT)** typisiert werden, wobei für jedes HPA-Antigen ein spezifischer Antikörper zur Verfügung stehen muss. Aufgrund der weltweiten Knappheit an Typisierungsseren wird die Typisierung heute jedoch weitgehend mittels **Nukleinsäure-Amplifikationsverfahren** durchgeführt. **HPA-spezifische Antikörper** werden im **PIFT** unter Verwendung HPA-typisierter Thrombozyten bestimmt. Um eine genaue Zuordnung zu bestimmten Glykoproteinen und eine Abgrenzung gegenüber HLA-Antikörpern vornehmen zu können, wird der Glykoprotein-spezifische **MAIPA-Test** (monoclonal antibody immobilisation of platelet antigens) durchgeführt, bei dem zunächst durch Zugabe eines Glykoprotein-spezifischen monoklonalen Antikörpers aus der Maus und des zu testenden Humanserums zu typisierten Plättchen Molekülkomplexe gebildet und anschließend aus der Zellmembran

heraus gelöst werden. Der Komplex wird über ein Anti-Maus-Immunglobulin an eine Mikrotiterplatte gebunden und der gebundene humane Serumantikörper durch Zugabe eines enzymmarkierten Anti-Human-Immunglobulins und Substrat sichtbar gemacht. Weitere ELISA-Verfahren, die ebenfalls auf der Reaktivität der humanen Plättchenantikörper mit Glykoproteinkomplexen beruhen sind kommerziell erhältlich. Kommt es bei einem immunisierten Patienten nach Thrombozytentransfusion trotz Berücksichtigung der HLA- bzw. HPA-Antigene nicht zu einem Thrombozytenanstieg, muss (bei Ausschluss nicht-immunologischer Ursachen) ein **Thrombozyten-Crossmatch** durchgeführt werden, bei dem das Serum des Patienten im PIFT oder einem ELISA-Assay zusammen mit Spenderthrombozyten getestet wird.

**Leukozytenantigene** sind analog zu den Thrombozytenantigenen zu sehen. Immunisierungen durch Blutübertragungen sind nach Einführung der Leukozytenfiltration unwahrscheinlicher geworden, jedoch bleibt die fetomaternale Immunisierung bestehen. In Fällen transfusionsabhängiger Lungeninsuffizienz (**TRALI**) und bei **Antikörper-induzierten Neutropenien** ist es deshalb notwendig, granulozytenspezifische (**HNA**) **Antigene** zu typisieren und korrespondierende Antikörper nachzuweisen. Die Bindung zwischen HNA-Antigenen und HNA-spezifischen Antikörpern wird nachgewiesen mittels eines **indirekten Granulozyten-Immunfluoreszenztests (GIFT)**, bei dem der zellgebundene HNA-Antikörper durch Zugabe eines fluoreszenzmarkierten Antihuman-Immunglobulins sichtbar gemacht wird. Parallel sollte der **Granulozyten-Aggregationstest (GAT)** eingesetzt werden, der auf einem aktiven Aufeinanderzubewegen der Granulozyten im antikörperhaltigen Medium beruht und mikroskopisch ausgewertet wird. Zur **Antigentypisierung** werden HNA-Antiseren bekannter Spezifität eingesetzt, während die **Antikörperspezifizierung** anhand der Reaktion mit HNA-typisierten Granulozyten durchgeführt wird. Aufgrund der Knappheit an Typisierungsseren wird heute weitgehend auf **DNA-Typisierungen mittels Nukleinsäureamplifikationsverfahren** zurück gegriffen. Die Bestimmung der Glykoproteinspezifität von HNA-Antikörpern wird im **MAIGA** (monoclonal antibody immobilisation of granulocyte antigens) analog zum MAIPA durchgeführt, ist aber nur für solche Proteine anwendbar, für die spezifische monoklonale Antikörper zur Verfügung stehen.

## 7 Durch Blutgruppenantikörper verursachte Erkrankungen

### 7.1 Autoimmunologische Erkrankungen

Blutgruppenantikörper können verschiedene Erkrankungen hervorrufen, wobei zwischen **Autoantikörpern** und **Alloantikörpern** unterschieden werden muss. Autoantikörper richten sich gegen autologe Antigene, also Antigene, die der Organismus selbst trägt. Im Gegensatz dazu sind Alloantikörper gegen Antigene gerichtet, die das Individuum selbst nicht trägt, wobei die Immunisierung durch Zufuhr des Antigens von außen erfolgt.

#### 7.1.1 AUIMMUNTOHÄMOLYTISCHE ANÄMIEN

Führen Autoantikörper zur Zerstörung körpereigener Erythrozyten, so spricht man von einer **Autoimmunhämolytischen Anämie (AIHA)**. Als Auslöser werden bakterielle oder virale Infektionen diskutiert, sowie das Auftreten als Begleiterscheinung maligner lymphatischer Erkrankungen. Das klinische Bild ist stark abhängig von der Art des Antikörpers. Die akute **AIHA vom Wärmetyp** wird ausgelöst durch IgG- und/oder IgM-Antikörper (selten IgM allein), deren Temperaturoptimum bei 37 °C liegt. Die Erkrankung beginnt oft mit einem ausgeprägten Krankheitsgefühl und hat bei Erwachsenen meist einen chronischen Verlauf. Bei der **AIHA vom Kältetyp**, unterscheidet man zwischen akut reversiblen und chronischen Verläufen. Beiden gemeinsam ist, dass das Temperaturoptimum in der Kälte liegt und eine starke Beladung der Erythrozyten mit C3d nachweisbar ist. In der Mehrzahl handelt es sich um IgM-Antikörper der Spezifität Anti-I (das "I"-Antigen ist Bestandteil verzweigter Kohlenhydratketten, die A- und B-Antigene tragen). Eine Behandlung erfolgt im Normalfall durch Vermeidung großer Kälteexposition im Winter.

#### 7.1.2 AUTOIMMUNTHROMBOZYTOPENIE

Autoantikörper gegen HPA-Antigene können durch Zerstörung der eigenen Thrombozyten zu einer **Autoimmunthrombozytopenie (AITP, Morbus Werlhoff)** führen. Es handelt sich nicht um eine Bildungsstörung (normale oder vermehrte Megakaryozentenzahlen liegen vor), sondern um einen erhöhten peripheren Thrombozytenumsatz. Freie Autoantikörper sind häufig nicht nachweisbar, sondern nur zellständige Antikörper. Der Nachweis der Antikörper im Eluat stellt die klarste Diagnose für AITP dar. Neben akuten postinfektiösen Formen im Kindesalter sind chronische Formen sowie sekundäre Formen bei systemischem Lupus erythematoses (SLE), Lymphomen, HIV-Infektionen, usw. bekannt. Bei ausgeprägten Thrombozytopenien sind die Patienten durch ihre erhöhte Blutungsneigung gefährdet. Die Therapie erfolgt mit Corticosteroiden, ivIgG-Gabe oder Immunsuppressiva. Bei chronischer AITP kann

eine Splenektomie in Erwägung gezogen werden. Thrombozyten sollten nur im Notfall transfundiert werden, dann in hoher Dosis und HLA-verträglich.

### 7.1.3 AUTOIMMUNNEUTROPENIE

Auch gegen HNA-Antigene auf neutrophilen Granulozyten können Autoantikörper gebildet werden und zu **Autoimmunneutropenien (AIN oder AINP)** führen. Primäre Formen kommen meist im Kindesalter vor und werden häufig als normale Infekte verkannt. Sekundäre Formen hingegen werden bevorzugt im Erwachsenenalter zusammen mit SLE, Lymphomen, rheumatoider Arthritis (RA) u.a. beobachtet. Die Therapie erfolgt durch Antibiotika oder bei akuten Formen mit G-CSF (granulocyte-colony stimulating factor). Corticosteroide und ivIgG sind nicht immer wirksam.

## 7.2 **Medikamenten-abhängige Antikörper**

Medikamente, bzw. deren Metabolite können die Bildung von Autoantikörpern auslösen, die Epitope erkennen, welche sowohl Anteile des Medikaments (oder eines Metaboliten) wie auch eines Blutgruppenantigens beinhalten. Solche Autoantikörper gibt es sowohl im erythrozytären Bereich (**Medikamenten-induzierte Immunhämolysen**), wie auch im thrombozytären (**Medikamenten-induzierte Immunthrombozytopenie**) und granulozytären Bereich (**Medikamenten-induzierte Immunneutropenie**). Das klinische Bild entspricht meist demjenigen der Autoantikörper-induzierten Erkrankung ohne Medikament, ist häufig jedoch besonders schwer ausgeprägt. Es handelt sich in diesen Fällen nicht um Bildungsstörungen, sondern um erhöhten Zellabbau. In der Diagnostik geht man so vor, dass die jeweiligen Antikörpernachweise in jedem Schritt des Testes in Anwesenheit des Medikamentes bzw. seiner Metaboliten (Urin) durchgeführt werden. Häufig sind diese Nachweise jedoch genauso wie eine exakte Anamnese der eingenommenen Medikamente schwer zu erbringen. Der wichtigste therapeutische Ansatz besteht im Weglassen der auslösenden Substanz. Bei besonders schweren Fällen kann hochdosiertes ivIgG verabreicht werden. Auslösende Medikamente können sein: einige Antibiotika, Penicillin, Chinin, Chinidin, Diclofenac, Ibuprofen, Paracetamol, u.a. Eine besondere Rolle spielen **Heparin-induzierte Thrombozytopenien (HAT)**, bei denen Antikörper gegen Epitope auf Heparin und Plättchenfaktor IV zur Zerstörung der Thrombozyten führen. Patienten mit Medikamenten-induzierten Antikörpern sollten einen **Notfallausweis** mit Angabe der betreffenden Wirksubstanz erhalten.

### 7.3 Mutter-Kind-Unverträglichkeiten

Während der Entbindung und z.T. bereits während der Schwangerschaft können kindliche Zellen in den Blutkreislauf der Mutter übertreten. Hat das Kind vom Vater Antigene geerbt, welche die Mutter nicht hat, so kann es zu einer Immunisierung der Mutter mit nachfolgender Alloantikörperbildung kommen. Diese Alloantikörper (allesamt vom IgG-Typ, da nur IgG beim Menschen plazentagängig ist) können den Fetus der aktuellen oder nachfolgender Schwangerschaften schädigen (Abb. 7.1).

#### 7.3.1 MORBUS HAEMOLYTICUS NEONATORUM

Beim **Morbus haemolyticus neonatorum (MHN)** handelt es sich um **eine Mutter-Kind-Unverträglichkeit** im erythrozytären System, wobei in den meisten Fällen bei einer Rh-negativen Mutter Rhesus D-Antikörper beteiligt sind. Unter der Geburt in die mütterliche Blutzirkulation übertretende kindliche Rhesus-positive Erythrozyten führen zu einer Alloimmunisierung einer Rhesus-negativen Mutter. Der Fetus der ersten Schwangerschaft, welche zur Immunisierung führt, ist meist noch nicht betroffen, wohl aber Rh-positive Feten folgender Schwangerschaften. MHN infolge Anti-D führt meist zu Hämolysen und schweren Anämien bis hin zum hydrops fetalis und zum Kindstod. Anti-D-Antikörper passieren die Plazenta, binden an die fetalen Erythrozyten und werden von den kindlichen Monozyten als Immunkomplexe erkannt und phagozytiert. In Ländern mit etablierter Schwangerenbetreuung, ist dieses

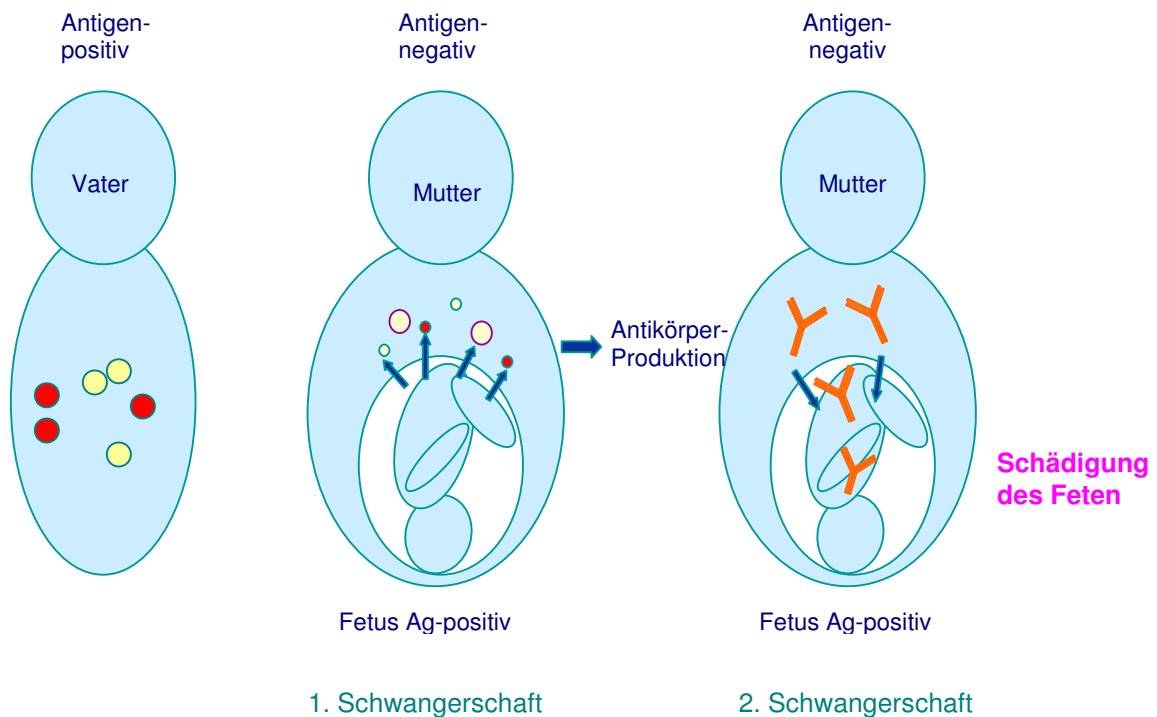


Abb. 7.2: **Mechanismus der feto-maternalen Unverträglichkeit.** Fetale Zellen gelangen in der 1. Schwangerschaft in den Kreislauf der Mutter und führen zur Immunisierung. Die Antikörper können noch in derselben oder in einer weiteren Schwangerschaft den Antigen-positiven Feten schädigen.



Krankheitsbild nahezu verschwunden, da sowohl unmittelbar nach Entbindung bei Rh-negativen Schwangeren mit Rh-positivem Neugeborenen wie auch während der Schwangerschaft bei ansteigendem Anti-D-Titer eine **Rh-Prophylaxe** durch Anti-D-Gabe durchgeführt wird. Der MHN infolge Anti-A (IgG) verläuft deutlich milder als bei Anti-D. Betroffene Neugeborenen können je nach Schweregrad transfundiert werden bzw. Austauschtransfusionen erhalten. Bei besonders schweren Fällen, in denen bereits eine Schädigung des Feten erkennbar ist, können intrauterine Transfusionen vorgenommen werden.

### 7.3.2 NEONATALE ALLOIMMUNTHROMBOZYTOPENIEN

Mutter-Kind-Unverträglichkeiten im thrombozytären System beruhen in der Mehrzahl der Fälle auf **HPA-1a-Antikörpern** (~85 – 90 %), seltener auf **HPA-5b-Antikörpern**. Diese können bereits während der ersten inkompatiblen Schwangerschaft zum Abbau der fetalen Thrombozyten mit den Folgen **fetaler Blutungen von Petechien bis hin zu Hirnblutungen** mit lebenslangen neurologischen Schäden oder gar tödlichem Ausgang führen. Neugeborene mit Thrombozytenzahlen  $\leq 5 \times 10^{10}/l$  sollten sofort, ohne die serologische Diagnostik (HPA-Antikörpernachweis im PIFT o.ä.) abzuwarten, mit ABO-Blutgruppen-identischen Thrombozyten versorgt werden, wobei auf jeden Fall eine **Versorgung mit HPA-1a-negativen Thrombozyten** versucht werden soll. Alternativ kann auch hochdosiert ivIgG verabreicht werden, wobei diese Therapieform nicht immer erfolgreich ist. Das Ziel ist das Erreichen und Halten von Thrombozytenzahlen  $\geq 1 \times 10^{11}/l$ , wobei sowohl 1-Stunden-Werte, wie auch 24-Stunden-Werte genommen werden müssen. Steigen die kindlichen Thrombozyten nicht an, oder fallen innerhalb 24 Stunden wieder ab, sollten entweder gewaschene Thrombozyten der Mutter (Entfernen der Alloantikörper) oder HPA-, HLA- und ABO-verträgliche Fremdspender-Thrombozyten transfundiert werden. **Neonatale Alloimmunthrombozytopenien (NAITP)** kommen mit einer Frequenz von 1:1.000 bis 1:2.000 Geburten vor, wobei nicht jede fetomaternale HPA-Inkompatibilität zu einer Immunisierung der Mutter und auch nicht jeder nachgewiesene HPA-Alloantikörper zur Erkrankung führt. Das Risiko jeder weiteren Schwangerschaft ist davon abhängig, ob der Kindsvater homozygot oder heterozygot für das betreffende Antigen ist. Durch eine DNA-Typisierung der mütterlichen und väterlichen HPA-Antigene und einen Alloantikörpernachweis bei der Mutter können in Verbindung mit einer engen Überwachung der Schwangerschaft Schädigungen des Feten in vielen Fällen reduziert oder ausgeschlossen werden. Gibt es sonographisch etwa ab der 30. SSW (z.T. bereits früher) Hinweise auf fetale Blutungen, so kann eine genauere Diagnostik über eine Blutentnahme sowie eine Thrombozyten-Transfusion über die Nabelvene erfolgen. Bei jeder Punktion der Nabelvene sollten HPA-1a-negative, mit 30 Gy bestrahlte (zur Vermeidung einer GvHD) und CMV-negative Fremdspenderthrombozyten zur Transfusion bereit

liegen. Folgetransfusionen sind bei Bedarf wöchentlich bis zur 35. SSW möglich, danach sollte zur Minimierung des Risikos durch die Nabelvenenpunktion eine vorzeitige Sectio erwogen werden. Diese Therapie sollte nur in ausgewiesenen perinatologischen Zentren durchgeführt werden.

### 7.3.3 NEONATALE ALLOIMMUNNEUTROPENIEN

Unverträglichkeiten im System der granulozytären HNA-Antigene können zu **neonatalen Alloimmunneutropenien (NIN)** führen, die durch lokale oder systemische Infektionen (bakt. Infektionen der Haut, des Respirationstraktes; später Meningitis oder Sepsis) gekennzeichnet sind. Beteiligt sind meist Antikörper der Spezifitäten **HNA-1a, -1b und -2a**. Häufig handelt es sich um vorübergehende Effekte, die nach 3 – 28 Wochen verschwinden. In schweren Fällen wird hochdosiertes ivIgG verabreicht oder auch G-CSF.

## 8 Transfusion

Blutpräparate haben selbst unter optimalen Bedingungen nur eine sehr begrenzte Haltbarkeit. **Erythrozytenkonzentrate** können bei **4 °C** bis zu **maximal 35 - 42 Tagen** gelagert werden, wobei die Temperatur konstant gehalten werden muss. **Thrombozyten** benötigen einen höheren Gasaustausch und werden in speziellen Beuteln bei **20 – 22 °C** unter ständiger sanfter Agitation (spezielle Schüttler) **maximal** für **5 Tage** gelagert, wobei der Grad der Thrombozytenaktivierung mit fortschreitender Lagerung zunimmt und zu einem stetigen Qualitätsverlust führt. Eine zwischenzeitliche Lagerung bei Kühlschranktemperatur führt zur irreversiblen Schädigung. **Plasma** muss innerhalb weniger Stunden nach Gewinnung bei Temperaturen  $\leq -30$  °C eingefroren werden, um die Aktivität der Gerinnungsfaktoren zu erhalten. Wird die Temperatur konstant gehalten, kann Plasma **bis zu 2 Jahren** aufbewahrt werden. Aufgrund der Temperatursensitivität der Blutkomponenten ist eine sachgemäße Lagerung normalerweise nur in speziellen transfusionsmedizinischen Einrichtungen gewährleistet. Blut sollte auf klinischen Stationen nicht gelagert, sondern nur in dem Umfang angefordert werden, der aktuell zur Patientenversorgung benötigt wird. Erythrozytenkonzentrate werden im Normalfall vor Transfusion nicht angewärmt, Plasma sollte unmittelbar nach dem vollständigen Auftauen verwendet werden.

Nachdem der Bedside-Test ordnungsgemäß durchgeführt und protokolliert wurde und das Ergebnis mit den Angaben in der Patientenakte übereinstimmt, kann transfundiert werden. Der Hautbereich der Punktionsstelle muss zur Vermeidung von Infektionen desinfiziert werden, ein evtl. vorhandener venöser Zugang kann genutzt werden. Bei Erythrozytenkonzentraten lässt man zunächst etwa 10 ml schnell einlaufen und stellt dann für 10 min. auf

langsame Fließgeschwindigkeit um. Während dieser Zeit muss der Patient sorgfältig beobachtet werden, um evtl. Transfusionsreaktionen zu erkennen. Danach wird die Transfusion normal fortgesetzt. Nach der Transfusion wird der leere Blutbeutel mit anhängendem Transfusionsbesteck 24 Stunden in einem Kühlschrank aufbewahrt und erst danach entsorgt. Dies dient dazu, bei Nebenwirkungen, die erst nach der Transfusion aufgetreten sind, Reste des transfundierten Blutes untersuchen zu können.

## 9 Blutkomponenten

Die früher durchgeführten Transfusionen von **Vollblut** sind heute nicht mehr üblich. Statt dessen wird das Vollblut (450 – 500 ml) nach der Entnahme in **einzelne Komponenten** getrennt, die jeweils therapeutisch eingesetzt werden können. Das Vollblut wird in einem System steriler, miteinander verbundener Beutel (meist 3 -5) entnommen, welches steriles Antikoagulant (Citrat) und Stabilisatoren enthält. Nach der Transfusion wird das Vollblut (Abb. 9.1; (1)) in dem Beutelsystem zentrifugiert und auf diese Weise in Schichten mit Bestandteilen unterschiedlicher Dichte getrennt. Unten befindet sich das **Erythrozytenkonzentrat (EK)**, oben das **Plasma**, und in einer Grenzschicht dazwischen der weiß-gräuliche **"buffy coat"**, der Leukozyten und Thrombozyten enthält (Abb. 9.1). Erythrozytenkonzentrat und Plasma werden in anhängende Beutel (3 und 2) abgedrückt, während der buffy coat im ursprünglichen Blutbeutel verbleibt und zur weiteren Isolierung von Thrombozyten genutzt werden kann. Die anhängenden Beutel werden durch Abschweißen von dem ursprünglichen Beutel getrennt. Die Erythrozyten werden durch einen speziellen Filter gegeben, der die verbliebenen Restleukozyten zurück hält, so dass die Gesamtleukozytenzahl pro EK die vom Gesetzgeber vorgegebene Anzahl von  $1 \times 10^6$  Leukozyten nicht übersteigt. Ein **Erythrozytenkonzentrat** hat ein Volumen von etwa 300 ml, wovon 190 ml auf die Erythrozyten entfallen. Die Transfusion eines EKs soll den Hb eines 70 kg schweren Patienten um 1 g% erhöhen. Vier bis sechs buffy coats werden mit einer Nährlösung versehen gepoolt und zentrifugiert, so dass sich die angereicherten Thrombozyten im Überstand befinden und wiederum über einen Leukozytenfilter abgetrennt werden können. Auf diese Weise erhält man ein sogenanntes Pool-**Thrombozytenkonzentrat**. Da dieses Präparat die HLA-Antigene mehrerer Spender trägt, ist es nicht zur Therapie bei immunisierten Patienten geeignet. Die Leukozytenreduktion durch Filtrieren wird in erster Linie durchgeführt, um die Wahrscheinlichkeit einer Immunisierung durch Spenderleukozyten sowie eine GvHD zu verringern. Desweiteren geht man davon aus, dass viele Viren zellständig sind (z.B. CMV) und somit die Viruslast verringert wird.

Neben der Vollblutspende gibt es auch **Aphereseverfahren**, bei denen die Beutelsysteme bereits während der Blutspende in einen **Zellseparator**, eine Art Zentrifuge, eingespannt werden und die einzelnen Blutkomponenten bereits getrennt werden, wenn der Blutspender noch mit dem System verbunden ist. Alle nicht benötigten Blutkomponenten, insbesondere die Erythrozyten werden dem Spender über den noch liegenden Zugang zurück gegeben. Bei einer **Thrombozytapherese** können auf diese Weise größere Mengen an Thrombozyten gewonnen werden, ohne dass der Spender dabei zu viele Erythrozyten verliert. Die Thrombozyten werden innerhalb von etwa 2 Wochen nachgebildet. Es gibt die Möglichkeit, mit diesem Verfahren gleichzeitig neben den Thrombozyten auch **Plasma** zu gewinnen. Thrombozytenkonzentrate, die aus einer Apherese gewonnen wurden, haben gegenüber

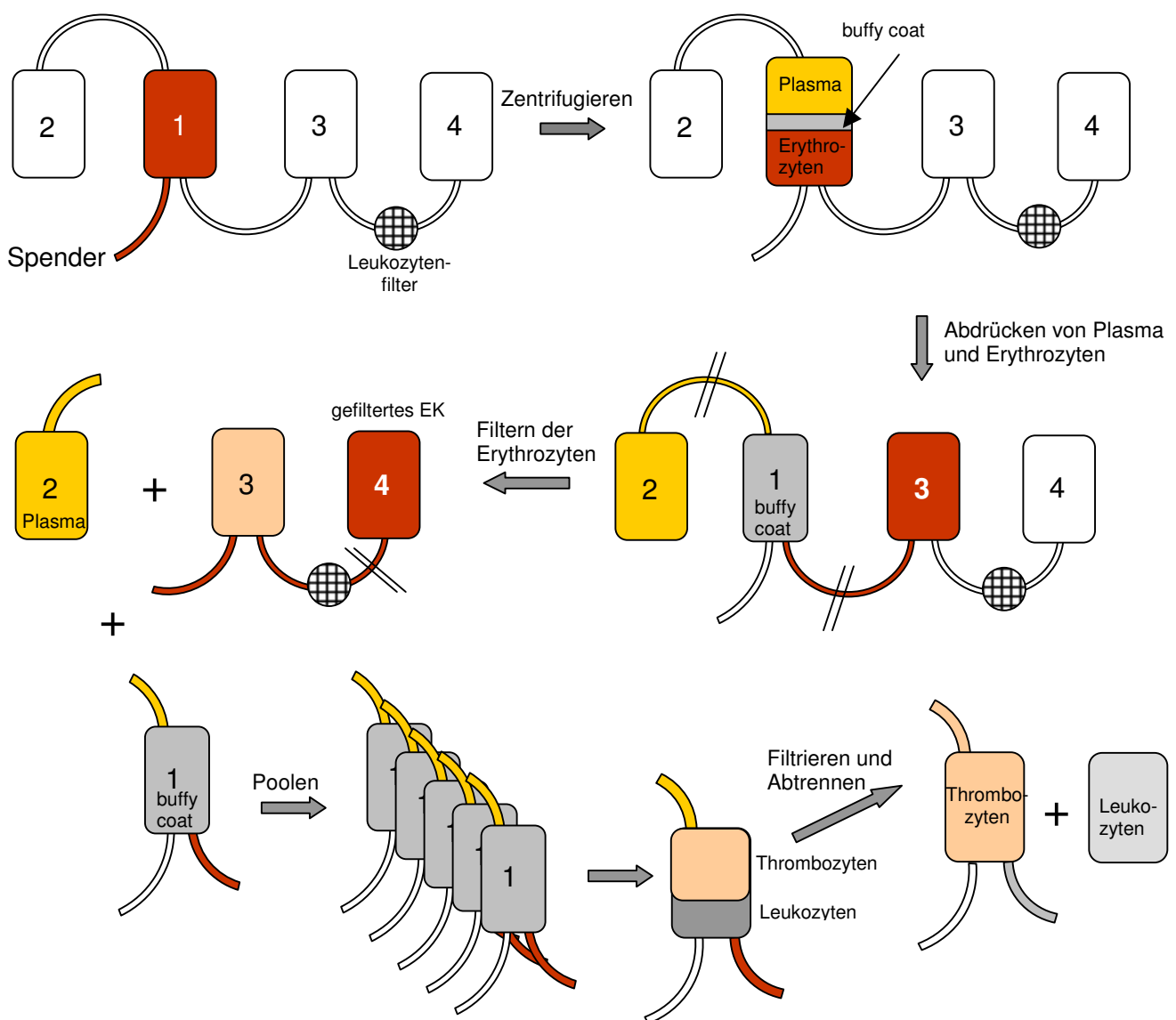


Abb. 9.1: Ablauf der Gewinnung von Erythrozytenkonzentrat (EK), gepoolten Thrombozytenkonzentrat und Plasma aus Vollblutspenden.

Poolpräparaten den Vorteil, dass für eine therapeutische Einheit nur Thrombozyten eines Spenders benötigt werden. Somit kann für einen immunisierten Patienten gezielt ein passender Spender ausgewählt und eine weitere Immunisierung durch Fremddantigen verhindert werden. Ein **Thrombozytenpräparat** mit  $3 \times 10^{11}$  Thrombozyten (4 – 6 gepoolte Präparate aus Vollblutspenden oder ein Apheresepräparat) soll bei einem 70 kg schweren Patienten zu einem Anstieg der Thrombozyten um  $30 - 40 \times 10^9/l$  führen.

Mit den gleichen Geräten können auch Leukozyten (**Leukozytapherese**) oder Leukozyten-subpopulationen für spezielle Anwendungen gewonnen werden.

Neben der Transfusion von Blutpräparaten von Fremdspendern gibt es die Möglichkeit zur **Eigenblutspende (autologe Transfusion)**, wenn ein planbarer Eingriff bei einem Patienten bevorsteht, dessen gesundheitlicher Zustand die Blutspende erlaubt. Liegt die Wahrscheinlichkeit für die Notwendigkeit einer Bluttransfusion im Zusammenhang mit der geplanten Operation über 5 %, so muss der Patient über diese Möglichkeit aufgeklärt werden. Der Vorteil besteht für den Patienten in der subjektiven Wahrnehmung eines geringeren Infektionsrisikos, da ja nur eigene Blutbestandteile dem Körper wieder zugeführt werden. Der für die Eigenblutspende betriebene Aufwand der behandelnden Ärzte, der transfusionsmedizinischen Einrichtung (die blutgruppenserologische und infektionsserologische Austestung entspricht weitgehend derjenigen einer Fremdblutspende) und letztlich die Belastung des Patienten durch meist mehrere Blutspenden gegenüber einem sehr geringen Infektionsrisiko durch eine Fremdblutspende lässt deshalb im Normalfall keine objektivierbaren Vorteile der Eigenblutspende erkennen.

## 10 Weiterführende Literatur

- Bundesärztekammer: Querschnitts-Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten. 4. überarbeitete und erweiterte Auflage 2009. Deutscher Ärzte-Verlag, Köln  
  
Bundesärztekammer: Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie). Gesamtnovelle 2005. Deutscher Ärzte-Verlag Köln
- Ecksten R: Immunhämatologie und Transfusionsmedizin. 5. Auflage 2005. Urban und Fischer/Elsevier München
- Hillyer CD, Silberstein LE, Ness PM, Anderson KC, Roush KS: Blood Banking and Transfusion Medicine. Basic Principles & Practice. 2003. Churchill Livingstone/Elsevier Science, Philadelphia, Pennsylvania
- Kiefel V: Transfusionsmedizin und Immunhämatologie 2002. [www-tmed.med.uni-rostock.de/tmed.pdf](http://www-tmed.med.uni-rostock.de/tmed.pdf)
- Mintz PD: Transfusion Therapy: Clinical Principles and Practice. 1999. AABB Press, Bethesda, Maryland
- Mueller-Eckhardt C, Kiefel V (Hrsg.): Transfusionsmedizin 3. Aufl. 2004. Springer Berlin, Heidelberg, New York.
- Reid ME, Mohandas N: Red blood cell blood group antigens: structure and function. *Seminars in Hematology* (2004) 41:93-117
- Reid ME, Øyen R, Marsh WL: Summary of the clinical significance of blood group alloantibodies: *Seminars in Hematology* (2000) 37:197-216