



Georg-August-Universität Göttingen

Zentrum Hygiene und Humangenetik

Abteilung Transfusionsmedizin

Transfusionsmedizin

Vorlesungsbegleitendes Skript

Mit freundlicher Unterstützung des "Vereins zur Förderung der Forschung und Entwicklung der Transfusionsmedizin e.V."

Inhaltsverzeichnis

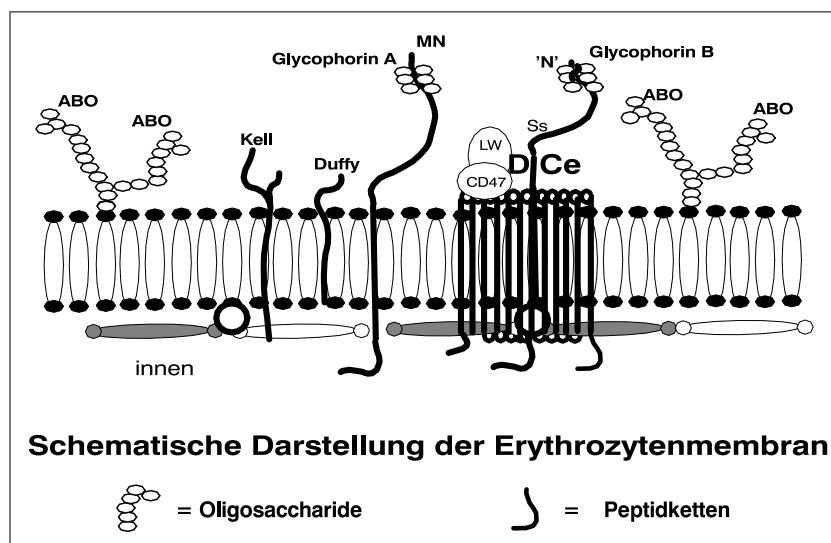
1. BLUTGRUPPENSEROLOGIE	5
1.1 Allgemeines	5
1.2 ABO-System	7
1.2.1 Genetische Grundlagen und Biochemie des ABO-Systems	7
1.2.2 Reagenzien und Tests	10
1.2.3 Erworbenes B-Antigen und Verlust der A B H-Antigene	11
1.2.4 Isoagglutinine	11
1.3 Rh-System	12
1.3.1 Allgemeines	12
1.3.2 Genetik, Biochemie und Aufbau der Rh-Antigene	12
1.3.3 D-Varianten und weak D	13
1.3.4 Nomenklaturen im Rh-System	14
1.3.5 Transfusionsmedizinische Regeln für den Rh-Faktor D	15
1.3.6 Transfusionsmedizinische Bedeutung von C, c, E, e und C ^W	15
1.3.7 Rh-Antikörper bei Patienten	16
1.4 weitere Blutgruppenmerkmale	16
1.4.1 Kell-System	17
1.4.2 Duffy-System	17
1.4.3 Kidd-System	17
1.4.4 MNSs-System	17
1.5. Immunhämatologische Diagnostik	17
1.5.1 Blutgruppenbestimmung	18
1.5.1.1 Richtlinien	18
1.5.1.2 Durchführung der ABO-Blutgruppenbestimmung	19
1.5.1.3 Bestimmung des Rh-Faktors D bei Patienten	19
1.5.1.4 Bestimmung des Rh-Faktors D bei Blutspendern	19
1.5.1.5 Bestimmung weiterer Blutgruppenmerkmale	20
1.5.1.6 Antikörpersuchtest	20
1.5.2 Direkter und indirekter Anti-Humanglobulin-Test (AHG-Test)	20
1.5.2.1 Direkter AHG-Test	21
1.5.2.2 Indirekter AHG-Test	22
1.5.3 Transfusionsvorbereitung	22
1.5.4 Bed side-Test	23
1.6 Morbus haemolyticus neonatorum (MHN)	24
1.7 Neonatale Alloimmunthrombozytopenie (NAIT)	25
1.8 Automimmunhämolytische Anämie	25
2. BLUT UND BLUTDERIVATE	27
2.1. Blut und seine Bestandteile	27
2.2 Allgemeine Prinzipien zur Herstellung	27
2.2.1 Präparateherstellung aus der Vollblutspende	27
2.2.2 Prinzip der Apherese	30
2.3 Lagerung und Stabilität der einzelnen Blutkomponenten	30
2.4 Therapie mit Blutkomponenten	31

2.4.1 Erythrozytenkonzentrate	31
2.4.2 Thrombozytenkonzentrate	32
2.4.3 Gefrorenes Frischplasma	33
2.4.4 Stammzellen	33
3. UNERWÜNSCHTE WIRKUNGEN	35
3.1 Akute unerwünschte Wirkungen	35
3.1.1 Hämolytische Transfusionsreaktionen	35
3.1.1.1 Intravasale Hämolyse	35
3.1.1.2 Extravasale Hämolyse	35
3.1.1.3 Klinik und Therapie der hämolytischen Transfusionsreaktion	35
3.1.2 Febrile nichthämolytische Transfusionsreaktionen	36
3.1.3 Allergische Transfusionsreaktionen	36
3.1.4 Urtikarielle Transfusionsreaktionen	37
3.1.5 Embolie	37
3.1.6 Hypervolämie	37
3.1.7 Transfusionsassoziierte akute Lungeninsuffizienz (TRALI)	37
3.2 Verzögerte Transfusionsreaktionen	37
3.2.1 Verzögerte hämolytische Transfusionsreaktion	37
3.2.1.1 Erstimmunisierung	37
3.2.1.2 Boosterung eines Antikörpers	37
3.2.2 Transfusionshäm siderose	38
3.3 Graft-versus-host-Reaktion (GvHD)	38
3.4 Posttransfusionelle Purpura (PTP)	38
4. INFEKTIONEN	38
4.1 Virale Infektionen	39
4.1.1 Hepatitisviren	39
4.1.1.1 Hepatitis B	39
4.1.1.2 Hepatitis C	40
4.1.2 Retroviren	41
4.1.3 Cytomegalievirus (CMV)	42
4.2 Bakterien	42
4.2.1 Treponemen - Syphilis	43
4.3 Parasitosen	44
4.3.1 Malaria	44
4.4 Prionen	44
4.5 Maßnahmen zur Reduktion von Nebenwirkungen durch Transfusionen	45
5. RECHTLICHE GRUNDLAGEN	45
5.1 Dokumentation	45
5.2 Rückverfolgungsverfahren und Meldepflichten	46
5.3 Qualitätsmanagement und Transfusionsgesetz	47
5.4 Gesetze und Richtlinien	51
6. PRAKTIKUMSANLEITUNG	53

1. BLUTGRUPPENSEROLOGIE

1.1 Allgemeines

Blutgruppen sind genetisch determinierte Merkmale von den Blutzellen, in erster Linie von Erythrozyten aber auch von Leukozyten und Thrombozyten. Für Humanerythrozyten sind mittlerweile über 600 verschiedene Blutgruppenmerkmale in über 20 Blutgruppensystemen bekannt. Biochemisch handelt es sich um Kohlenhydrate (Oligosaccharide) oder um Polypeptidsequenzen, welche an Membranlipide gebunden oder über hydrophobe Anteile in die Lipidschicht der Membran integriert sind.



Die Erythrozytenoberfläche trägt darüber hinaus viele negativ geladene Gruppen in Form von Sialinsäuren, überwiegend als Neuraminsäure an andere Strukturen gekoppelt. Die dadurch stark negative Nettoladung der Erythrozytenoberfläche heißt „Zetapotential“. Sie ist die Ursache für die hohe Suspensionsstabilität von Erythrozyten und verhindert eine stärkere Annäherung der Zellen aneinander.

Mit proteolytischen Enzymen (Bromelin, Papain, Trypsin, Pronase etc.) können Peptide als Träger der Neuraminsäure von der Membran abgespalten werden, was eine bessere Annäherung der Zellen erlaubt, jedoch gehen dabei auch Blutgruppenantigene verloren (MNSS- und Duffy-Blutgruppensystem). Die Darstellung von Antigenen und Antikörpern des ABO- und des Rh-Blutgruppensystems wird dadurch verbessert.

Im Routinebetrieb erfolgen Blutgruppenbestimmungen ausschließlich (schnell und sicher) mit Hilfe der Hämagglutination, ausgelöst durch Antiseren mit Blutgruppenspezifität. Die entsprechenden Antikörper sind entweder in der Lage, direkt eine Agglutination (Verklumpung der Erythrozyten) durch Brückenschlag von einer Zelle zur anderen herbeizuführen, oder sie binden sich an die Erythrozytenoberfläche, ohne zu agglutinieren. Im letzteren Fall werden sie dann auf der Erythrozytenoberfläche mit Hilfe eines agglutinierenden Antihumanglobulin-(AHG)-Serums (Coombsserum) nachgewiesen.

Unter den Antikörpern mit Blutgruppenspezifität unterscheidet man allotypische Antikörper von Auto-Antikörpern. **Allo-Antikörper** bildet ein Mensch gegen Blutgruppenmerkmale, die er selbst nicht besitzt. Nach Transfusionen oder bei Schwangerschaften gebildete Allo-

Antikörper (z.B. anti-D, anti-K, etc.), sind **irreguläre** oder **Immun- Antikörper**. Die **Isoagglutinine** des ABO-Systems (anti-A und anti-B) sind natürliche, **reguläre** Antikörper, d.h. sie werden ohne Kontakt mit fremden Erythrozyten gebildet.

Die Blutgruppenantikörper sind in der Regel vom Typ IgM oder IgG, bzw. ein Gemisch von beiden. Nach Immunisierung werden zunächst IgM-, dann IgG- Antikörper gebildet. Die Isoagglutinine (anti-A, anti-B) sind ein Gemisch von (überwiegend) IgM und IgG. Die Antikörper des Rhesus-Systems sind fast ausschließlich irreguläre Immun-Antikörper der IgG-Klasse. IgG-Antikörper sind plazentagängig (IgM nicht) und werden von der Mutter auf den Foeten übertragen. Ein Morbus haemolyticus neonatorum (MHN) tritt auf, wenn die Mutter IgG-Antikörper gegen ein Blutgruppenmerkmal des Foeten bildet.

Je nach Reaktionsoptimum unterscheidet man Kälte- und Wärmeantikörper. **Kälteantikörper** (in der Regel natürliche **IgM-Antikörper**) reagieren am besten bei 4°C, **Wärmeantikörper** (meist **IgG-Antikörper**) am besten bei 37°C. Kälteantikörper vom IgM-Typ nennt man auch „komplette“ Antikörper, weil sie ohne Zugabe von reaktionsverstärkenden Hilfsstoffen (ohne Supplement) direkt agglutinieren können. Dagegen lösen die Wärmeantikörper vom IgG-Typ meist erst nach Zugabe von Supplement Agglutinationen aus, man nennt sie deshalb „inkomplett“. Wenn ein Kälteantikörper noch bei 37°C wirksam ist, spricht man von einer breiten Wärmeamplitude. Am bedeutendsten sind Antikörper, wenn sie unter physiologischen Bedingungen, d.h. bei 37° reagieren.

Die Reaktion eines Blutgruppenmerkmals (Antigen, Ag) mit seinem spezifischen Antikörper führt zunächst zu einem Antigen-Antikörper-Komplex. Dieser Komplex kann bei Komplementaktivierung zur direkten Zerstörung der Erythrozytenmembran (intravasale Hämolyse) führen. Andererseits gewinnen Ag-Ak-Komplexe durch Konformationsänderung des Immunglobulins Signalcharakter und induzieren Phagozytose (am effektivsten durch Milz-Makrophagen, extravasale Hämolyse). Die Anlagerung von Antikörpern an Erythrozyten führt in vivo nicht zur Bildung von Agglutinaten. Im Labor können blutgruppenserologische Ag-Ak-Reaktionen dagegen optisch erkannt werden (Erythrozyten-Agglutination oder Hämolyse). Antikörper der IgG-Klasse können jedoch den Abstand zwischen zwei Erythrozyten nur schlecht überbrücken, hier hat die Bindung an Erythrozyten i.d.R. keine Agglutination zur Folge.

Tabelle: Unterschied zwischen IgG- und IgM-Antikörpern aus blutgruppenserologischer Sicht

	IgM	IgG
Molekulargewicht	900.000 D	150.000 D
Antigen-Bindungsstellen	10	2
Überbrückungsstrecke	> 300 A	ca. 140 A
Komplementaktivierung	gut	mäßig (IgG1 und IgG3)
Serum-Konzentration	50 - 190 mg/dl	800 - 1600 mg/dl
Placenta-Passage	nein	ja
Biologische Halbwertszeit	5 Tage	20-30 Tage
Reaktionsoptimum	Kälte, NaCl-Milieu	Wärme, Supplemente, Coombstest
Beispiele	Anti - A, Anti - B	Anti - D, Anti - K, Anti - E

Man bedient sich verschiedener Hilfsmittel, um nach stattgefundener IgG-Bindung eine Agglutination auszulösen:

1. Enzymbehandlung der Erythrozyten (z.B. Bromelase, Papain), führt zur Abspaltung von Oberflächensubstanzen auf dem Erythrozyten, dadurch zu verringerter elektrischer Ladung, die Erythrozyten können sich einander besser annähern (erfaßt nicht alle Ak).
2. Änderung der Dielektrizitätskonstanten des Suspensionsmediums, z.B. durch Albuminzusatz (bessere Annäherung), oder Änderung der Ionenstärke des Mediums durch Zusatz von LISS (Low ionic strength solution, dadurch schnellere und umfassendere Bindung der IgG-Antikörper, ideal der Coombs-Technik vorzuschalten).
3. Coombs-Technik (Antiglobulin-Technik). Den Erythrozyten mit dem gebundenen Antikörper werden Anti-Humanglobulin-Antikörper (Coombs-Serum, i.d.R. vom Kaninchen) zugegeben. Diese verbinden zwei Blutgruppen-Antikörper miteinander, dadurch wird die Distanz zwischen zwei Erythrozyten überbrückt (sicherste Methode).

Grundsätzlich gibt es verschiedene Arten von Coombs-Seren. Polyspezifische enthalten Antikörper gegen humane Immunglobuline und Komplement, monospezifische nur solche gegen eine einzelne Immunglobulinklasse (z.B. anti-IgG, anti-IgA) bzw. gegen Komplement (anti-C3, etc.).

Man unterscheidet den **direkten** vom **indirekten Coombs-Test**. Beim direkten Coombstest wird zu den Patienten-Erythrozyten Coombs-Serum gegeben. Liegen bereits in vivo mit Antikörpern beladene Patienten-Erythrozyten vor, wird hierdurch eine Agglutinationsreaktion ausgelöst. Beim indirekten Coombs-Test wird Serum oder Plasma des Patienten mit Test-Erythrozyten inkubiert und anschließend Coombs-Serum hinzugegeben. Man prüft also beim indirekten Coombs-Test, ob das Serum oder Plasma des Patienten erythrozytäre Antikörper enthält.

1.2 ABO-System

Die größte Bedeutung unter den Blutgruppen hat das ABO-Blutgruppensystem. Die ABO-Antigene finden sich nicht nur auf nahezu allen Zellen des menschlichen Körpers, sie sind auch in der Natur (Bakterien, Tier- und Pflanzenreich) weit verbreitet. Im ABO-Blutgruppensystem liegen obligat natürliche Antikörper vor, die sogenannten Isoagglutinine (Anti-A und/oder Anti-B). Diese werden erst durch den Kontakt mit der Umwelt nach der Geburt gebildet, und zwar nur gegen diejenigen ABO- Blutgruppeneigenschaften, die das Individuum selbst nicht besitzt (sogenannte Landsteiner'sche Regel). Dieses bedingt, dass das ABO-System bei Transfusionen immer berücksichtigt werden muss. Zudem erlaubt das natürliche Vorhandensein von Anti-A und/oder Anti-B durch die Bestimmung der Serumeigenschaften eine sogenannte umgekehrte Antigenbestimmung und somit eine Kontrolle des Befundes an den Erythrozyten. Die A- und B-Isoagglutinine haben in der Regel eine große Temperaturamplitude, einen hohen Titer und sie können Komplement aktivieren. Diese Tatsachen, verbunden damit, dass die A- und B-Antigene in sehr großen Mengen auf den Erythrozyten vorhanden sind, erklärt, dass ABO-inkompatible Transfusionen zu schwerwiegenden Zwischenfällen in der Transfusionsmedizin führen.

1.2.1 Genetische Grundlagen und Biochemie des ABO-Systems

Chemisch handelt es sich bei den Blutgruppenantigenen A und B um endständige Kohlenhydratabschnitte, die von spezifischen Glykosyltransferasen an die H-Substanz angeknüpft werden. Die A- und B-Transferase synthetisieren beide α 1,3-glykosidische Bindungen, unterscheiden sich aber in ihrer Substratspezifität. Während die A-Transferase N-Acetylgalactosamin (GalNAc, Enzym α 1,3-N-Acetylgalactosaminyltransferase) auf H als Akzeptor überträgt, ist dieses bei der B-Transferase Galactose (D-Gal, Enzym α 1,3-Galactosyltransferase).

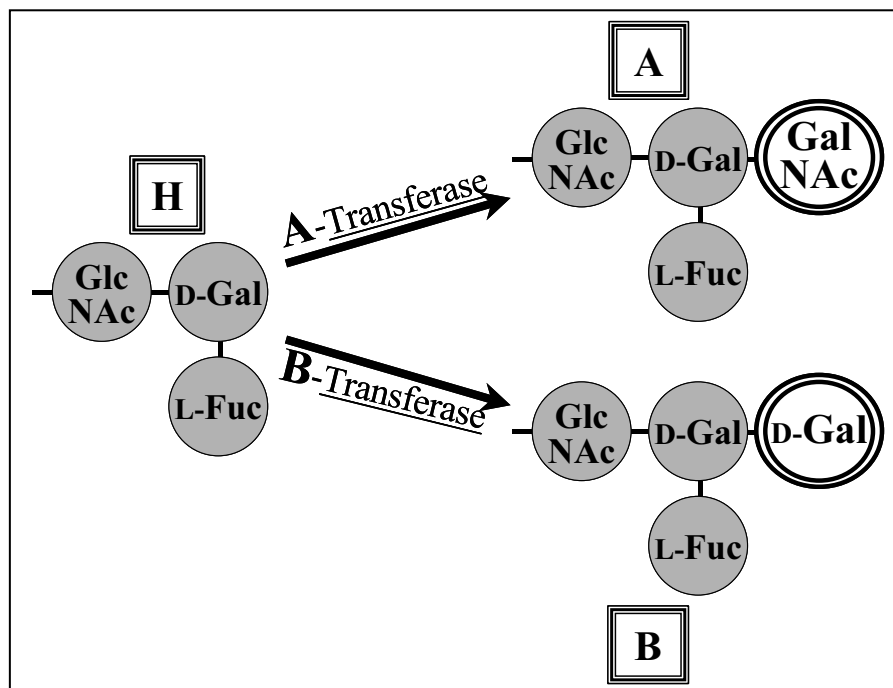


Abbildung: Die A-Transferase bindet N-Acetylgalactosamin, die B-Transferase Galactose an das H-Antigen. (GalNAc = N-Acetylgalactosamin, D-Gal = D-Galactose, GlcNAc = N-Acetylglucosamin, L-Fuc = L-Fucose)

Das H-Antigen der Blutgruppe O stellt selbst auch eine antigene Struktur dar. Sie entsteht durch die Bindung von Fucose an die endständige Galactose des Vorläufermoleküls auf der Erythrozytenmembran. Das H-Antigen kann nicht gebildet werden, wenn eine auf dem Chromosom 19 kodierte Fucosyltransferase, die Fucosyltransferase 1, fehlt (Abb. 2). Dann können die A- und B-Transferasen nicht an das unvollständige H-Antigen angreifen und das A- und B-Antigen synthetisieren. In diesem Fall resultiert der extrem seltene *Bombay*-Phänotyp (O, hh). Die Erythrozyten eines *Bombay*-Individuums werden nicht durch Anti-A, Anti-B oder Anti-H agglutiniert, das Serum enthält neben Anti-A und Anti-B auch ein Anti-H.

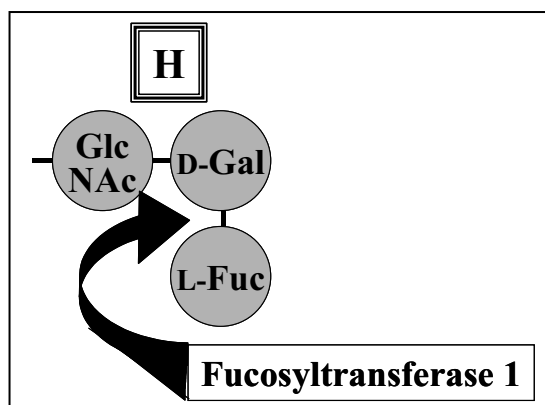


Abbildung: Die aktive Fucosyltransferase 1 verbindet L-Fucose (L-Fuc) mit dem Vorläufer-molekül aus N-Acetylglucosamin (GlcNAc) und D-Galactose (D-Gal). Eine inaktive Fucosyltransferase 1 führt zum *Bombay*-Typ.

Der ABO Locus befindet sich auf dem Chromosom 9. Während die Allele der Blutgruppen A und B für aktive Enzyme kodieren, besitzt das Allel der Blutgruppe O keine für eine aktive Glycosyltransferase genetische Information, d.h. das inaktive Enzym des O Allels verändert

die H-Vorläufersubstanz nicht. Die aktiven Transferasen der Allele A und B sind dominant über O, da sie die H-Antigene durch Anbinden der immundeterminanten Zucker N-Acetylgalactosamin und D-Galactose maskieren. Liegen die Allele für die beiden Transferasen A und B vor, so befinden sich zugleich A- und B-Antigene auf den Erythrozyten und es kann von einer Kodominanz gesprochen werden. Die Beziehung zwischen dem ABO Genotyp und dem erythrozytären Phänotyp ist aus der nachfolgenden Tabelle ersichtlich.

Genotyp	Phänotyp	Häufigkeit (%)	Isoagglutinine
A ₁ A ₁	A ₁	36,72	Anti-B
A ₁ A ₂	A ₁		
A ₁ O	A ₁		
A ₂ A ₂	A ₂	7,72	Anti-B
A ₂ O	A ₂		
BB	B	10,65	Anti-A
BO	B		
A ₁ B	A ₁ B	4,50	keine
A ₂ B	A ₂ B		
OO	O	40,41	Anti-A + Anti-B

Tabelle: Beziehung zwischen ABO Genotypen und ABO Phänotypen sowie die entsprechenden Häufigkeiten und die vorliegenden Isoagglutinine.

Die kodierende Region der ABO Gene besteht aus 7 Exons, die über einen Bereich von mehr als 18 kb genomischer DNA auf dem Chromosom 9 reichen. Die Größe der Exons variiert zwischen 28 und 688 bp, wobei sich fast 80% der Basen auf den Exons 6 und 7 befinden. Die gesamte kodierende Sequenz beträgt für die aktiven Glycosyltransferasen 1062 bp. Das kodierte Protein weist 354 Aminosäuren auf. Im Vergleich zum A₁ Allel unterscheidet sich das B Allel in nur 7 Nukleotiden, wovon 4 Aminosäureaustausche verursachen (Pos. 526, 703, 796, 803) und 3 *silent* Mutationen (Pos. 297, 657, 930) darstellen. Das A₂ Allel unterscheidet sich vom A₁ Allel durch einen Nukleotidaustausch (Pos. 467) und durch eine verlängerte Kodierungsregion, die einen Anbau von 21 Aminosäureresten am C-terminalen Ende der Transferase verursacht. Das O Allel kommt in zwei Hauptformen vor. Das häufige O¹ Allel (in ca. 96% der Fälle) weist im Vergleich zum A₁ Allel eine Deletion (Pos. 261) auf, die in einem Stop Codon resultiert. Das seltenere O² Allel (ca. 4%) unterscheidet sich von der A₁-Sequenz durch zwei in Aminosäureaustausche resultierende Nukleotidunterschiede an den Positionen 526 und 802.

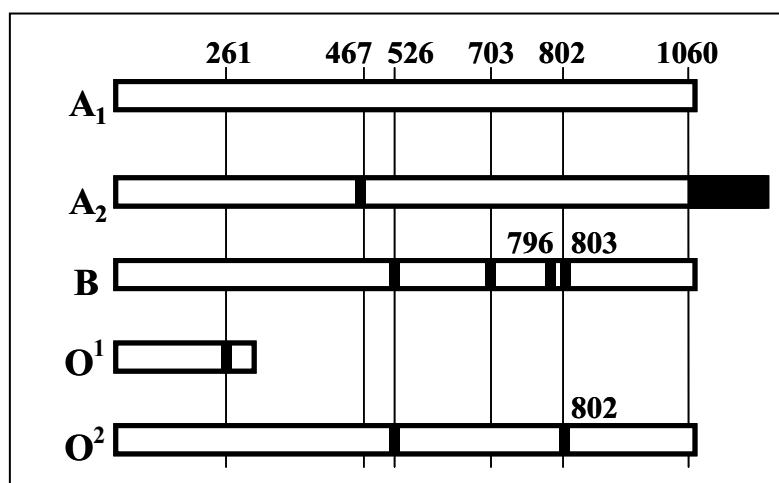


Abbildung: Markierung von Nukleotiden, die eine Abweichung zur Sequenz des A₁ Allel aufweisen und zu einem Aminosäureaustausch führen - z.B. unterscheiden sich das A₁ Allel und das B Allel in 4 Nukleotiden (Pos. 526, 703, 796, 803).

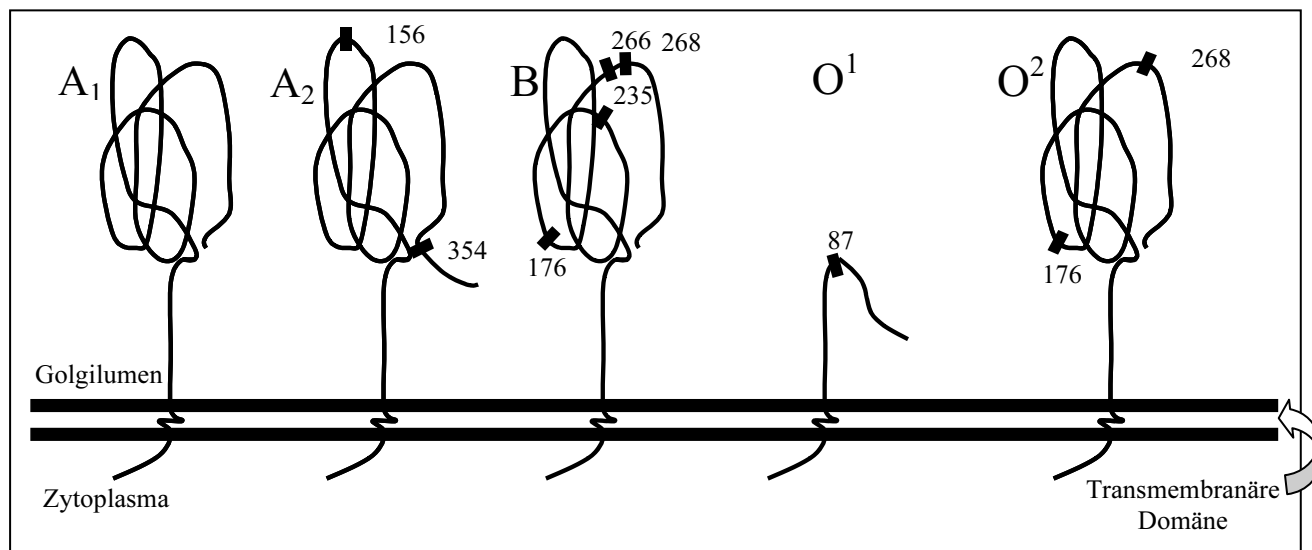


Abbildung: Schematische Darstellung der von den A-, B- und O-Allelen kodierten Glykosyltransferasen. Sie besitzen einen kurzen zytoplasmatischen Schwanz, eine hydrophobe, transmembranäre Domäne, eine Stammregion und eine große globuläre katalytische Domäne. Die Unterschiede in der Aminosäuresequenz zu A₁ sind markiert.

Aufgrund der typischen Nukleotidpolymorphismen bei den ABO Blutgruppen ist eine molekulargenetische Typisierung möglich. Maßgeblich für die Routine bleibt aber weiterhin die blutgruppenserologische Untersuchung.

Etwa 78% der Individuen mit Blutgruppe A (oder AB) haben die Blutgruppe A₁, 20% A₂. Weitere Untergruppen von A wie A_{int}, A₃, A_x, A_m und A_{el} sind wesentlich seltener. Die verschiedenen A Untergruppen unterscheiden sich deutlich in ihrer Antigendichte. Während A₁ Erythrozyten 1 bis 1,5 Millionen Antigene aufweisen, sind es bei A_m und A_{el} weniger als 2000. Die Blutgruppe A₁ ist durch eine hochaktive Glykosyltransferase gekennzeichnet, welche die vorhandene H-Substanz komplett nach A hin umbaut. Bei den A-Untergruppen liegen Glykosyltransferasen vor, die sich in ihrer Wirksamkeit von der A₁-Transferase unterscheiden, jedoch den gleichen immundeterminanten Zucker, nämlich N-Acetylgalactosamin an die Grundsubstanz anlagern. Je schwächer die Transferase um so weniger H-Substanz wird mit diesem Zucker versehen. Untergruppen der Gruppe B spielen in Europa keine Rolle, sie sind in Ostasien verbreitet. Die Unterschiede in der Aktivität der Transferase spiegelt sich in der Regel durch Nukleotidpolymorphismen in der Allelsequenz wieder. Merkmalsträger einer schwachen A-Untergruppe produzieren gelegentlich irreguläre Antikörper, welche nur A₁-Erythrozyten agglutinieren (sogenanntes irreguläres Anti-A₁). Diese IgM-Antikörper können als Auto-Antikörper interpretiert werden, sie sind jedoch wegen ihrer niedrigen Wärmeamplitude als klinisch irrelevante Kälteagglutinine anzusehen. Eine entsprechende Konstellation kann zu Fehlbestimmungen führen, wenn Blut mit einer schwachen A-Gruppe fälschlich als Blutgruppe 0 bestimmt wird (oder A₂B als B).

1.2.2 Reagenzien und Tests

Zur Bestimmung der Erythrozyteneigenschaften im ABO-System sind verschiedene Reagenzien verfügbar. Zum einen menschliche Isoagglutinine, die ein heterogenes Gemisch (polyklonal) von Antikörpern unterschiedlicher Art und Avidität sind, zum anderen humane, monoklonale Antikörper (IgM-Klasse), die nicht nur schneller, sondern auch stärker als polyklonale Testreagenzien reagieren, und schließlich die sogenannten Lektine. Es handelt sich bei den Lektinen in der Regel um Eiweiße pflanzlichen oder tierischen Ursprungs. Bei

der ABO-Bestimmung ist beispielsweise das Lektin aus dem Samen der indischen Prunkbohne (*Dolichos biflorus*), welches Anti-A₁-Spezifität aufweist, hilfreich.

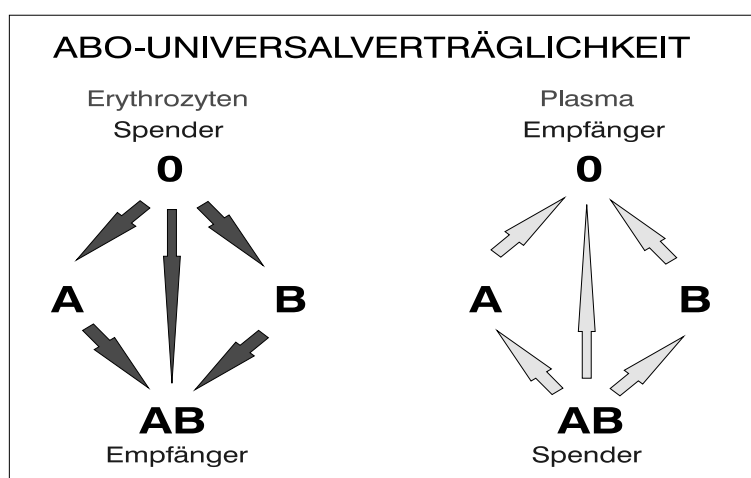
1.2.3 Erworbenes B-Antigen und Verlust der A B H-Antigene

In seltenen Fällen kann es bei Patienten der Blutgruppe A₁ bei Vorliegen eines Rectum- oder Colon-Karzinoms zu einer Änderung der ABO-Blutgruppeneigenschaften kommen, es wird ein erworbenes B-Antigen gefunden. Die Änderung der Blutgruppeneigenschaft A₁ zum erworbenen B kann durch Deacetylierung des A-Antigens durch bakterielle Enzyme erklärt werden. Dieses führt durch Änderung der Antigenstruktur zur Bindung von Anti-B. Das Anti-B im Serum dieser Patienten reagiert mit normalen B-Zellen anderer Individuen, jedoch nicht mit den eigenen Erythrozyten. Das Vorkommen eines erworbenen B-Antigens ist manchmal mit einem Polyagglutinationsphänomen verbunden, d.h. dass die Erythrozyten dieser Patienten mit allen verfügbaren Seren „unspezifische“ Agglutinationsreaktionen, eine sogenannte Panreaktivität, zeigen. Diese Phänomene, das erworbene B-Antigen, ist nur in ganz wenigen Fällen bei A₂ Individuen beschrieben worden.

Bei Patienten mit Erkrankungen der blutbildenden Stammzellen im Knochenmark, wie bei Leukämien, können im Verlauf dieser Erkrankungen die Antigene A, B und H verloren gehen. Wahrscheinlich werden bei diesen Patienten die entsprechenden Transferasen zur Produktion der immundeterminanten Zucker nicht ausreichend produziert.

1.2.4 Isoagglutinine

Die Isoagglutinine (Anti-A, Anti-B), d.h. die natürlich vorkommenden Antikörper im ABO-System, sind hauptsächlich Komplement-fixierende Antikörper vom IgM-Typ, die insgesamt stärker bei 4°C als bei 37°C reagieren. Sie werden im Laufe des 1. Lebensjahres gebildet. Der Titer der Antikörper steigt bis zum 10. Lebensjahr und fällt dann, insbesondere im höheren Alter, wieder ab. Daneben können Antikörper vom IgG-Typ ebenfalls vorkommen, besonders dann, wenn das entsprechende Isoagglutinin in hohem Titer vorliegt. Die IgG-Antikörper liegen nicht lebenslang sondern eher episodenhaft vor, unabhängig von Schwangerschaften oder Transfusionen. Sie reagieren besser bei 37°C und sie kommen bei entsprechender Blutgruppenkonstellation (meistens Mutter O, Kind A₁) als Auslöser eines Morbus haemolyticus neonatorum (Mhn) in Frage. Die noch schwache Ausprägung der AB-Merkmale an den fetalen Erythrozyten ist der Grund für den meist milden Verlauf eines ABO-bedingten MHN



Bei Blutgruppen-unverträglicher Transfusion (z.B. Plasma aus Thrombozyten-Konzentraten), besonders bei Kindern, kann durch Titration der Isoagglutinine des Spenders geklärt werden, ob die Gefahr einer minor-Unverträglichkeit besteht. Präparate mit einem Isoagglutinin-Titer > 1:16 sollten bei Kindern nicht zur Blutgruppen-ungleichen Transfusion herangezogen werden!

1.3 Rh-System

1.3.1 Allgemeines

Die Antigene des Rh-(früher Rhesus)-Systems sind am Aufbau des Membranskeletts von Erythrozyten beteiligt. Im Gegensatz zu ABO-Antigenen, welche am Ende längerer Ketten weit aus der Erythrozytenmembran herausragen können, liegen die Antigene des Rh-Systems in bzw. dicht auf der Erythrozytenmembran.

Im Rh-System gibt es nur sehr selten natürliche (d.h. vorgebildete) Antikörper im Sinne von Isoagglutininen, eine Serumgegenprobe ist also nicht möglich. Es gibt auch keine lösliche Blutgruppensubstanz. Die Antigene des Rh-Systems kommen nur auf Erythrozyten vor. Die Zahl der Antigene pro Erythrozyt liegt für den Rh-Faktor D erblich bedingt zwischen etwa 10.000 und 40.000, also erheblich niedriger als im ABO-System.

Im Rh-Blutgruppensystem sind heute über 50 verschiedene erbliche Antigen-Varianten bekannt. Viele davon sind abgeschwächte Antigenformen oder Defektvarianten, bei welchen eine oder mehrere Komponenten im normalerweise zu erwartenden Rh-Antigenprofil fehlen. Eine solche Vielfalt weist kein anderes erythrozytäres Blutgruppensystem auf. Die meisten seltenen Varianten wurden nicht in Europa sondern bei Menschen afrikanischer Herkunft beobachtet. Im folgenden werden die in Mitteleuropa wichtigen **Rh-Faktoren D, weak D, C, C^w, c, E und e** besprochen. Der wichtigste ist der Rh-Faktor D. Auf eine Beschreibung der selteneren Varianten muß hier verzichtet werden.

Ist der Rh-Faktor D vorhanden, so lautet die Blutgruppe **Rh positiv**, ist er nicht vorhanden, so liegt die Blutgruppe **Rh negativ** vor. Die Blutgruppe Rh positiv (D+) kommt in unserer Bevölkerung bei 85% aller Menschen vor, incl. 0,6% mit abgeschwächtem Rh-Faktor (heutige Bezeichnung weak D, früher D^u genannt). Die übrigen 15% sind Rh negativ (D-). Das Fehlen des Rh-Faktors D beschreibt man auch mit dem Buchstaben d. Da d gegenüber D rezessiv ist, muß bei Rh-negativen Individuen d erblich zweimal vorliegen (dd). Am *RHD* Genort D-negativer Individuen ist eine nicht kodierende genetische Struktur nachweisbar, die als **Hybrid Rhesus Box** bezeichnet wird.

Internationalen Vereinbarungen entsprechend ist es nicht zulässig, die Rh-Blutgruppe in Blutgruppenbefunden und auf Blutprodukten mit D und/oder d zu beschreiben, es müssen die Begriffe Rh positiv bzw. Rh negativ verwendet werden. Es ist jedoch erlaubt, Zusätze anzubringen, z.B. Rh positiv (D+) bzw. Rh negativ (D-).

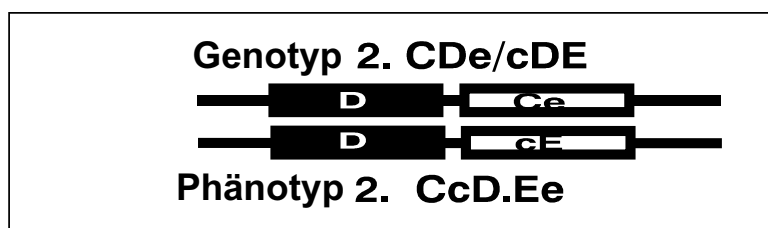
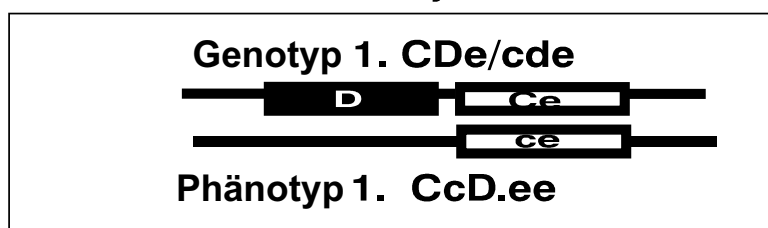
1.3.2 Genetik, Biochemie und Aufbau der Rh-Antigene

Die Rh-Faktoren werden durch die auf Chromosom 1 unmittelbar benachbarten Gene *RHD* und *RHCE* codiert. Jedes dieser Gene besteht aus 10 Exons und 9 Introns. Das *RHD* Gen codiert für den Rh-Faktor D. Liegt mindestens 1 normales *RHD* Gen vor, so ist diese Person D-positiv. Fehlt an diesem Genort auf beiden Chromosomen das *RHD* Gen, so ist das Individuum D-negativ (d). Das *RHCE* Gen codiert mit Nukleinsäurepolymorphismen auf Exon 2 für die Faktoren C oder c ("groß c" und "klein c") und mit einem Polymorphismus auf Exon 5 für die Faktoren E oder e ("groß E" und "klein e"). Während mit den Bezeichnungen "D, C,

c, E, e" Antigene beschrieben werden, die serologisch mit entsprechenden Antikörpern nachweisbar sind, so wird mit der Bezeichnung "d" nur das Fehlen von D angegeben. d ist kein Protein bzw. Antigen und ist daher mit serologischen Methoden nicht nachweisbar.

Als Genkomplexe oder auch **Rh-Haplotypen** werden die Kombinationen DCe, dce usw. bezeichnet. Einem **Rh Phänotyp** z.B. mit der **Rh-Formel** CcD.ee liegt als **Genotyp** eine Kombination aus 2 Rh Haplotypen zugrunde, entweder DCe/Dce oder DCe/dce. Die Unterscheidung zwischen diesen beiden Genotypen kann durch Familienuntersuchungen oder molekularbiologisch durch Nachweis der Hybrid *Rhesus Box* getroffen werden. Aus der serologischen Unklarheit über den Genotyp heraus resultiert die Bezeichnung "D." d.h. "entweder DD oder Dd".

Beispiele für Genotypen und Phänotypen im Rh - System



D ist über d dominant. Nur wenn beide Eltern jeweils ein Chromosom 1 mit fehlendem Gen für D vererben, resultiert der Phänotyp Rh negativ (Rh negativ ist rezessiv). Die Merkmale C und c werden kodominant vererbt. Dasselbe gilt für die Merkmale E und e. Bei Mischerbigkeit sind beide Merkmale serologisch nachweisbar.

Die Polypeptide - RhD für den Faktor D, und RhCcEe für die Faktoren C, c, E, und e - bestehen aus jeweils 417 Aminosäuren. Diese Polypeptide enthalten keine Saccharid-Anteile, sind also keine Glycoproteine. Das vom *RHD* Gen codierte Polypeptid besteht wie das CE-Polypeptid aus 417 Aminosäuren, jedoch sind die Aminosäuren des D-Polypeptids an 35 Positionen von denjenigen des CE-Polypeptids verschieden. Bei Rh negativen Menschen gibt es nur ein ce-Polypeptid, das D-Polypeptid fehlt. Als Epitop bezeichnet man Teilstrukturen eines Antigens. Mit Hilfe monoklonaler Anti-D-Reagenzien wurden bisher ca. 30 Epitope des Rh-Faktors D unterschieden. Aus diesen Epitopen setzt sich der Rh-Faktor D mosaikartig zusammen.

1.3.3 D-Varianten und weak D

Polymorphismen des *RHD* Gens bewirken eine abgeschwächte und/oder qualitativ veränderte Expression des D-Polypeptids bei ca. 0,5 % der Bevölkerung. Die überwiegende Mehrzahl der Personen mit diesen so genannten D-Varianten kann kein Anti-D bilden und wird als **weak D** (früher D^u) bezeichnet. D-Varianten bei Personen, die nach Schwangerschaft oder Erythrozytentransfusionen Anti-D gebildet haben bzw. bilden könnten werden **Partial-D** Phänotypen genannt (ca. 0,02 % der Bevölkerung).

Die in Europa häufigste und am besten untersuchte Partial-D Variante ist die Kategorie D^{VI} . D^{VI} -Probanden werden wie alle anderen Partial-D Empfänger Rh negativ, als Blutspender Rh positiv definiert. Dahingegen gelten weak D Phänotypen sowohl als Empfänger als auch als Blutspender Rh positiv.

1.3.4 Nomenklaturen im Rh-System

Lange waren verschiedene Schulen über die Vererbung im Rh-System zerstritten. Schwierigkeiten machte die Vorstellung, daß e i n Gen die Vererbung von d r e i Merkmalen bewirken sollte. Die Gegner dieser Vorstellung forderten für jeden Rh-Faktor ein eigenes Gen. Wie oben dargestellt ist heute bekannt, daß z w e i Gene auf dem Chromosom 1 die Rh-Faktoren (D,C^W,C/c,E/e) kodieren.

Die Auseinandersetzungen über die Vererbung im Rh-System hatten zwei verschiedene Nomenklaturen zur Folge. Zwar hat sich heute in Europa die CDE-Faktorennomenklatur nach Fisher und Race durchgesetzt, die zweite Nomenklatur nach Wiener ist jedoch auch heute noch in den USA gebräuchlich, und beide sollte man kennen. Die folgende Tabelle stellt beide Nomenklaturen gegenüber:

Rh positive Haplotypen

nach Wiener	nach Fisher/Race
Rh ₁	CDe
Rh ₂	cDE
Rh ₀	cDe
Rh _z	CDE

Rh negative Haplotypen

nach Wiener	nach Fisher/Race
rh	cde
rh'	Cde
rh''	cdE
rh _y	CdE

Die sehr ungleichmäßige Verteilung der Rh-Haplotypen wurde durch Untersuchungen über mehrere Generationen in vielen tausend Familien ermittelt. In der folgenden Tabelle sind die 10 häufigsten Genotypen (homozygote reinerbige und heterozygote mischerbige) entsprechend ihrer Häufigkeit aufgeführt:

Mit *RHD* zusammen ist am häufigsten der Komplex *Ce* gekoppelt, seltener liegt *RHD* zusammen mit *cE* vor. Die Kombinationen (=Genkomplexe) *Dce* und *DCE* sind sehr selten. Rh positive Menschen tragen mindestens auf einem Chromosom 1 beide Gene, nämlich eines für D und das zweite für *Ce* oder *cE* (sehr selten andere Kombinationen). Die serologisch bestimmte Rh-Formel wird heute noch in der alphabetischen Reihenfolge dargestellt z.B. CcD.ee. Nach Kenntnis der genetischen Grundlagen für die *RH* Gene wird jedoch der Genotyp in einer geänderten Reihenfolge angegeben (s. Tabelle S. 15).

In dieser Tabelle ergibt sich eine Differenz zu 100%, in welcher die noch viel selteneren Haplotypen vertreten sind, z.B die Haplotypen mit weak D (früher D^u), desweiteren die Haplotypen mit großen Faktoren ohne D (*dCe*, *dcE*, *dCE*), und der Haplotyp mit nur großen Faktoren, *DCE* (Rh_z). Die Häufigkeit dieser seltenen Haplotypen liegt selbst mischerbig in Kombination mit den häufigsten Haplotypen unter 1%.

	Genotyp	Häufigkeit		Genotyp	Häufigkeit
1	<i>DCe/dce</i>	32 %	6	<i>DcE/DcE*</i>	2 %
2	<i>DCe/DCe*</i>	17 %	7	<i>DCe/Dce</i>	2 %
3	<i>dce/dce*</i>	15 %	8	<i>dce/Dce</i>	2 %
4	<i>DCe/DcE</i>	12 %	9	<i>DCe/DC^We</i>	1 %
5	<i>dce/DcE</i>	11 %	10	<i>dce/DC^We</i>	1 %

* = reinerbig

1.3.5 Transfusionsmedizinische Regeln für den Rh-Faktor D

Während man den Rh-Faktor D bei Rh positiven Menschen mit entsprechenden Testseren nachweist, muß die Blutgruppe Rh negativ über das Fehlen des Rh-Faktors D erkannt werden. Der Rh-Faktor D muß im Doppel-Ansatz mit Testseren von zwei Herstellern bestimmt werden.

Der Rh-Faktor D ist ein sehr starkes Immunogen. Für eine Immunisierung Rh negativer Personen reicht die Menge von 0,2 ml Rh positiven Blutes in ca. 80% der Fälle aus. Wegen der so häufigen Immunisierung von Rh negativen Empfängern durch den Rh-Faktor D gilt die Transfusion von Rh positivem Blut an Rh negative Empfänger mit Ausnahme von Notfällen als **ärztlicher Kunstfehler**. Ist aufgrund eines massiven Blutverlustes nicht ausreichend Rh negatives Blut verfügbar, wird das Risiko einer Antikörperbildung, möglicherweise verbunden mit einer hämolytischen Transfusionsreaktion, in Kauf genommen.

Rh negatives Blut gilt als **universal verträglich** – ist also auch für Rh positive Empfänger geeignet. Daher wird 0 Rh negatives Blut in der Rettungsmedizin bei unbekannter Blutgruppe eingesetzt.

Eine Anti-D-Prophylaxe (i.m. verabreichtes Anti-D) dient der Verhinderung einer Immunisierung Rh negativer Mütter **während** der Schwangerschaft und nach der Entbindung von Rh positiven Kindern. Es kommt auch vor, daß Rh negative Empfänger durch die versehentliche Verabreichung Rh positiver Blutkonserven gefährdet werden. Falls dies rechtzeitig bemerkt wird, kann durch eine nachträgliche intravenöse IgG-Anti-D-Applikation (hochdosiert) eine Immunisierung verhindert werden.

1.3.6 Transfusionsmedizinische Bedeutung von C, c, E, e und C^W

Die Begleitfaktoren C, c, E und e können durch eine Agglutination mit entsprechenden Testseren erkannt werden. Das gilt auch für das Merkmal C^W, eine Variante des Merkmals C (Häufigkeit 1,3%). Grundsätzlich kann zwar jeder Mensch nach entsprechender Bluttransfusion Antikörper gegen C, c, E oder e bilden, vorausgesetzt daß er selbst diese Antigene nicht hat. Dies geschieht jedoch viel seltener als bei dem Rh-Faktor D. Die Immunogenität des Rh-Faktors D ist weit größer als diejenige der übrigen Rh-Faktoren, deshalb ist bisher in der Regel bei Bluttransfusionen nur die Berücksichtigung von D vorgeschrieben. Darüber hinaus sollen Mädchen sowie Frauen im gebärfähigen Alter keine Erythrozytenkonzentrate erhalten, die zu einer Immunisierung gegen die übrigen Antigene des Rh-Systems oder den Kell-Faktor führen können. Unter den Rh-Begleitfaktoren hat E die größte Immunogenität, gefolgt von c.

1.3.7 Rh-Antikörper bei Patienten

Bei Patienten sind Antikörper gegen Faktoren des Rh-Systems fast immer Folge eines immunisierenden Kontakts mit menschlichem Fremdblut durch Schwangerschaft und Entbindung oder durch Bluttransfusionen. Rh-Antikörper sind daher irreguläre Antikörper. Bei ihrem ersten Nachweis im Plasma oder Serum eines Menschen gehören sie in aller Regel schon der IgG-Klasse an. IgG-Antikörper sind aus mehreren Gründen nicht so gut wie IgM-Antikörper in der Lage, eine direkte Agglutination herbeizuführen. Ungünstig für den Nachweis dieser Antikörper ist auch, daß die Rh-Antigene nicht in großer Zahl vorkommen, und daß sie dicht auf der Erythrozytenoberfläche liegen.

Irreguläre IgG-Rh-Antikörper im Serum eines Patienten erlauben eine Bluttransfusion dann nicht mehr, wenn auf dem Spenderblut die entsprechenden Antigene vorhanden sind. Zum Aufspüren dieser Antikörper beim Antikörpersuchtest und bei der Verträglichkeitsprobe (Kreuzprobe) müssen Methoden eingesetzt werden, die den Nachweis dieser Antikörper empfindlich genug führen. Dazu gehört die Anwendung von Supplement (z.B. LISS-Reagenz) und unbedingt der indirekte Coombstest. Nur in Zweifelsfällen kann ein Enzymtest empfohlen werden.

1.4 weitere Blutgruppenmerkmale

Im Folgenden sind diejenigen Blutgruppenmerkmale aufgeführt, die seltener (als ABO- und Rh-System) klinische Probleme hervorrufen. Die klinische Bedeutung eines Blutgruppenmerkmals wird dabei von 3 prinzipiellen Aspekten geprägt:

1. wie immunogen ist das Merkmal, d.h. wie häufig bildet ein Mensch nach Transfusion mit einem solchen Merkmal - Allo-Antikörper gegen dieses Merkmal?
2. wie häufig kommen „unverträgliche“ Transfusionen bezüglich des entsprechenden Merkmals vor?
3. wie ist die klinische Wirkung des Antikörpers, z.B. in Bezug auf eine hämolytische Neugeborenenenerkrankung (morbus haemolyticus neonatorum, MHN)?

Tabelle: Häufigkeit von irregulären IgG-Antikörpern (Ak) bei Transfusionsempfängern

Spezifität	Häufigkeit unter den IgG-Antikörpern (%)	Antigenfrequenz (%)
Anti - D	33,0	85,0
Anti - K	24,0	9,7
Anti - E	23,0	30,0
Anti - Fy ^a	7,5	69,0
Anti - c	4,4	80,0
Anti - Jk ^a	4,0	75,0
Anti - C	1,8	70,0
Anti - S	1,8	52,0
Anti - e	0,5	98,0

Bei Antigenen mit sehr geringer Häufigkeit (private antigens) ist die Wahrscheinlichkeit, daß ein Mensch immunisiert wird, sehr gering, selbst wenn die Immunogenität hoch ist. Wie auch aus der Tabelle klar wird, haben vor allem Rh- und Kell-System die größte klinische Bedeutung, da sie auch einen MHN hervorrufen können. In vielen Transfusionsdiensten

werden daher bei Frauen im gebärfähigen Alter bei Transfusionen auch Rh-verträgliche (d.h. nicht nur D, sondern auch C und E kompatible) und Kell-verträgliche Blutkonserven herausgesucht.

1.4.1 Kell-System

Das Kell-System ist ein polymorphes System mit über 20 bekannten Antigenen. Die beiden antithetischen Hauptantigene sind K (Kell, K1) und k (Cellano, K2). Beim extrem seltenen McLeod-Phänotyp fehlen die Kell-Antigene bzw. sind abgeschwächt. Die bei dieser Erkrankung auftretenden Symptome (Akanthozytose, Anisozytose, hämolytische Krisen), oft vergesellschaftet mit progressiv septischer Granulomatose und neurologischen Symptomen, sprechen für eine funktionelle Bedeutung des Kell-Systems. Das Kell-Antigen K ist stark immunogen. Die Immunantikörper vom Typ Anti-K sind meist vom IgG1-Typ mit Komplementaktivierungskapazität und können auch einen MHN hervorrufen.

1.4.2 Duffy-System

Die Antigene des Duffy-Systems sind ebenfalls Polypeptide, die sich in mehreren Schlingen durch die Erythrozytenmembran winden. Sie werden durch proteolytische Enzyme (z.B. Bromelin, Papain) zerstört, was den Nachweis entsprechender Antikörper mit enzymbehandelten Testerythrozyten unmöglich macht. Die beiden antithetischen Hauptantigene sind Fy^a und Fy^b. Fy^a wird zu den mittelstarken Immunogenen gerechnet. Die Antikörper sind fast immer vom IgG-Typ, binden häufig Komplement, können dramatische, hämolytische Transfusionsreaktionen auslösen und einen MHN hervorrufen.

1.4.3 Kidd-System

Die Merkmale des Kidd-Systems heißen Jk^a und Jk^b. Antikörper gegen diese Merkmale sind immer transfusionsrelevant und sie können einen MHN auslösen. Anti-Jk^b ist allerdings sehr selten.

1.4.4 MNSs-System

Im polymorphen MNSs-System gibt es die vier Hauptantigene M, N, S, s und zahlreiche, meist seltene Varianten (ca 40 bekannte Antigene). Antikörper gegen diese Merkmale sind klinisch nur relevant bei aktueller Nachweisbarkeit, Reaktivität bei 37°C bzw. Positivität im indirekten Antiglobulintest. Dann können sie z.T. schwere hämolytische Transfusionsreaktionen oder einen MHN auslösen.

1.5. Immunhämatologische Diagnostik

Die immunhämatologische Diagnostik gliedert sich in die allgemeine Blutgruppenserologie und in die spezielle immunhämatologische Diagnostik. Für die Blutgruppenbestimmung werden Antiseren mit definierter Blutgruppenspezifität eingesetzt, um bei Patienten (Empfängern) bzw. Blutspendern das Vorhandensein oder Fehlen entsprechender Blutgruppenmerkmale (Antigene) zu ermitteln. Die Antiseren sind in der Regel monoklonal. Sie sind monospezifisch, stammen aus Zellkulturen von verschiedenen Klonen und gehören nur einer Immunglobulinklasse an, idealerweise IgM. Die Antiseren lösen beim Vorliegen des entsprechenden Antigens eine Agglutination der Erythrozyten aus. Für die Blutgruppenbezeichnung ist das Vorhandensein und/oder das Fehlen von Antigenen ausschlaggebend.

Eine besondere Stellung nimmt das ABO-Blutgruppensystem insofern ein, weil hier nicht nur die jeweiligen Antigene mittels spezifischer Antiseren nachgewiesen werden sondern auch die bei diesem Blutgruppensystem natürlicherweise auftretenden Antikörper (Anti-A und/oder Anti-B). Für den Isoagglutininnachweis benutzt man Testerythrozyten mit bekannter ABO-Blutgruppe. Für die Untersuchung von irregulären Antikörpern werden ausschließlich Erythrozyten der Blutgruppe O verwendet.

Die spezielle immunhämатologische Diagnostik dient der Charakterisierung (Reaktionsverhalten) und der Identifizierung (Spezifität) von irregulären Antikörpern. Die Spezifität von Alloantikörpern wird mit Hilfe von Testzell-Panels, die vollständig austypisierte Erythrozyten von mindestens 8, meist 11 verschiedenen Spendern enthalten.

Die Charakterisierung des Reaktionsverhaltens von Antikörpern dient der Beurteilung ihrer klinischen Bedeutung. Zur Charakterisierung gehört die Ermittlung der optimalen Reaktionstemperatur. Kälteantikörper gehören fast immer der IgM-Klasse an, agglutinieren vorzugsweise bei 4°C, gelegentlich noch bei 20°C und nur selten bei Körpertemperatur (37°C). Umgekehrt reagieren Wärmeantikörper der IgG-Klasse vorzugsweise bei 37°C. Eine weitergehende Charakterisierung ist möglich durch Verwendung von enzymbehandelten Testerythrozyten.

Der Nachweis von IgM-Kälteantikörpern gelingt idealerweise durch eine direkte Agglutination. Dagegen können IgG-Wärmeantikörper nur schlecht agglutinieren. Der Nachweis ihrer Bindung an Erythrozyten gelingt am sichersten nach einer Wärmeinkubation mit Hilfe eines Anti-Humanglobulin-Serums (AHG-Serum) im indirekten Coombsstest. Dieses AHG-Serum (sive Coombs-Serum) ist entweder monospezifisch für IgG, oder es ist polyspezifisch und enthält Antikörper gegen IgG, IgA, IgM und gegen das C3d-Fragment der dritten Komplementkomponente.

1.5.1 Blutgruppenbestimmung

1.5.1.1 Richtlinien

Der Mindestumfang einer Blutgruppenbestimmung umfaßt die Bestimmung der ABO-Blutgruppe und die Bestimmung des Rh-Faktors D. Für den Fall, daß bei Patienten eine längerfristige Transfusionstherapie absehbar ist, muß darüberhinaus die komplette Rh-Formel und die Kell-Formel bestimmt werden, damit hierzu angepaßt - besser noch - übereinstimmend transfundiert werden kann. Ebenso ist bei Kindern und bei Frauen im gebärfähigen Alter zu verfahren. Die Blutgruppenbestimmung muß an einer nur für diesen Zweck entnommenen Blutprobe durchgeführt werden.

Bei Blutspendern ist neben der ABO-Blutgruppenbestimmung die Bestimmung der kompletten Rh- und Kell-Formel erforderlich. Bei Erythrozytenkonzentraten muß neben der ABO-Blutgruppe die vollständige Rh- und Kell-Formel angegeben werden. Weiterführende Untersuchungen zur Ermittlung auch stark abgeschwächter Varianten des Rh-Faktors D sind nur bei Blutspendern erforderlich.

Pflichtbestandteil jeder Blutgruppenbestimmung ist ein Antikörpersuchtest (s.u.) zum Ausschluß oder zum Aufspüren von irregulären erythrozytären Antikörpern. Bei positivem Antikörpersuchtest muß die Spezifität der Antikörper ermittelt und ihre klinische Relevanz bewertet werden. Bei gegebener klinischer Relevanz können weitergehende Blutgruppenbestimmungen bei Empfängern und Blutspendern erforderlich werden, um verträgliche Transfusionen zu gewährleisten.

Für den Fall, daß eine serologische Verträglichkeitsprobe im Rahmen einer Erythrozytentransfusion erforderlich wird, muß eine Blutgruppenkontrolle beim Patienten durchgeführt werden. Der Antikörpersuchtest muß mit einer frischen Blutprobe wiederholt werden, wenn die vorherige Blutentnahme länger als drei Tage zurückliegt.

1.5.1.2 Durchführung der ABO-Blutgruppenbestimmung

Die Testreagenzien für die Durchführung der ABO-Blutgruppenbestimmung bedürfen einer amtlichen Zulassung. Zur Bestimmung der Erythrozytenmerkmale sollten monoklonale Testreagenzien verwendet werden mit den Spezifitäten Anti-A und Anti-B. Monoklonale Testseren enthalten Antikörper, die sich nur gegen ein einziges Epitop richten. Diese Antikörper gehören dann auch nur einer Immunglobulinklasse an, nämlich IgM oder IgG. Für die Gewinnung monoklonaler Antikörper benutzt man Lymphozyten eines homogenen Zellklons aus Lymphozyten eines z.B. gegen den Rh-Faktor D immunisierten Menschen. Nach Isolierung und Hybridisierung mit Krebszelllinien (meist von der Maus) können diese Lymphozyten auf unbegrenzte Zeit weitergezüchtet werden. In Zellkultur produzieren sie weiter den gewünschten Antikörper.

Für die Serumgegenprobe zum Nachweis entsprechender Antikörper im Serum oder Plasma des Probanden sind Testerythrozyten der Blutgruppen A1, A2, B und O zu verwenden. Die Ergebnisse von Antigenbestimmung und Serumgegenprobe müssen sich entsprechen, anderenfalls sind sie nicht zu verwerten. Bei Neugeborenen und Säuglingen ist die Serumgegenprobe noch negativ. Insofern sind diese noch nicht endgültigen Ergebnisse entsprechend mitzuteilen.

1.5.1.3 Bestimmung des Rh-Faktors D bei Patienten

Testseren für die Bestimmung der Rh-Faktoren sind immer humanen Ursprungs, sie stammen als polyklonale Reagenzien des IgG-Typs von gesunden Freiwilligen, die bereit waren, sich ärztlich kontrolliert immunisieren zu lassen. Der Ausdruck polyklonal beschreibt eine Population von vielen Antikörpern derselben Spezifität, welche unterschiedlich stark mit vielen Epitopen eines definierten Antigens reagieren.

Auch Reagenzien zur Bestimmung des Rh-Faktors D bedürfen einer amtlichen Zulassung. Bei **Transfusionsempfängern**, Schwangeren und Neugeborenen soll die Bestimmung des Rh-Faktors D mit **zwei** monoklonalen Antikörpern (aus verschiedenen Klonen) der IgM-Klasse erfolgen, die aus verschiedenen Zellklonen stammen müssen, und die das abgeschwächte Merkmal der Kategorie D^{VI} nicht erfassen. Ein Kontrollansatz zum Ausschluß einer Autoagglutination ist mitzuführen.

Bei negativem Ergebnis in allen drei Ansätzen ist der Patient als Empfänger von Transfusionen Rh negativ, und dasselbe gilt für Schwangere und Neugeborene.

Bei übereinstimmend positivem Ergebnis ist der Patient Rh positiv, und das gilt auch für übereinstimmend schwach positive Ergebnisse.

Bei abweichenden oder fraglich positiven Ergebnissen wird der Patient für "als Empfänger Rh negativ" erklärt. Die Ursachen für solche Diskrepanzen sollten jedoch ermittelt werden.

1.5.1.4 Bestimmung des Rh-Faktors D bei Blutspendern

Bei **Blutspendern** muß zusätzlich mit entsprechenden monospezifischen Reagenzien (Anti-C, -c, -E und -e) die komplette Rh-Formel bestimmt werden. Weiterhin ist bei der Untersuchung von Spendern besonders wichtig, daß auch weak D und partial-D Phänotypen als D-positiv erkannt werden. Der Nachweis (oder Ausschluß) von D-Varianten erfolgt mit polyklonalen oder oligoklonalen Reagenzien im indirekten Coombstest. Blutspender mit einer abgeschwächten D-Variante (weak D) gelten als Rh positiv.

In seltenen Fällen tragen Rh negative Menschen neben dem Gen für ce ein weiteres Gen für Ce oder für cE (extrem selten für CE). Solche Blute kann man als "Faktorenblute" bezeichnen, weil sie nicht D, aber einen anderen großbuchstabigen (C oder E) Rh-Faktor aufweisen. Es ist Konsens, daß für Rh negative Transfusionsempfänger mit der Rh-Formel ccddee auch Erythrozytenkonzentrate z.B. mit der Rh-Formel Ccddee oder ccddEe verwendet werden können.

1.5.1.5 Bestimmung weiterer Blutgruppenmerkmale

Eine Bestimmung weiterer Blutgruppenmerkmale bei Empfängern und Spendern wird erforderlich, wenn nach einem positiven Antikörpersuchtest irreguläre Antikörper mit Blutgruppenspezifität erkannt werden. Dann muß durch entsprechende Bestimmungen nachgewiesen werden, daß Patienten die Merkmale, gegen welche der oder die Antikörper gerichtet sind, nicht aufweisen, und daß diese Merkmale auch auf den zur Transfusion vorgesehenen Erythrozyten fehlen.

Auch bei diesen Bestimmungen sind immer zwei verschiedene Testreaganzien entsprechend den Anweisungen der Hersteller einzusetzen, und es müssen heterozygote, für das jeweilige Merkmal positive sowie (entgegengesetzt homozygote) negative Kontrollerythrozyten mituntersucht werden.

1.5.1.6 Antikörpersuchtest

Beim Antikörpersuchtest wird das Serum bzw. EDTA-Plasma eines Patienten mit Hilfe eines Testzell-Panels aus mindestens zwei, besser drei Testerythrozyten verschiedener Spender der Blutgruppe O auf das Vorliegen transfusionsrelevanter irregulärer Antikörper hin überprüft. Die Testzellen sollen folgende Merkmale aufweisen:

Rh-System:	C, C ^w , c, D, E, e
Kell-System:	K, k
Duffy-System:	Fy(a), Fy(b)
Kidd-System:	Jk(a), Jk(b)
MNSs-System:	M, N, S, s
P - System:	P1
Lewis-System:	Le(a), Le(b).

Mit Ausnahme des P- und des Lewis-Systems sollen die Merkmale beim Antikörpersuchtest möglichst homozygot vorliegen.

Die Methoden für den Antikörpersuchtest sollen nach dem jeweils modernsten Kenntnisstand ausgewählt werden. Pflichtbestandteil des Antikörpersuchtests soll jedoch immer ein indirekter AHG-Test (sive Coombstest) sein (s.u.).

Für die Identifizierung der Spezifität von irregulären Antikörpern wird ein erweitertes Testzell-Panel mit mindestens 8, meist 11 Zellen verwendet.

1.5.2 Direkter und indirekter Anti-Humanglobulin-Test (AHG-Test)

Die entsprechenden Untersuchungsverfahren wurden 1945 von dem Engländer Coombs entwickelt, und die von seinem Namen hergeleitete Bezeichnung Coombs-Test hat sich hartnäckig bis in die heutige Zeit gehalten. Erst ganz allmählich bürgert sich die Bezeichnung Anti-Humanglobulin-Test (AHG-Test) ein.

Anti-Humanglobulin-Serum (AHG-Serum [auch Coombs-Serum genannt]) wird benutzt, um an Erythrozyten gebundene Immunglobuline (IgG, IgA und IgM) und/oder gebundene Fragmente (C3b und C3d) der dritten Komplementkomponente nachzuweisen. Polyspezifisches AHG-Serum ist das Reagenz der ersten Wahl für Screening-Untersuchungen und enthält Antikörper gegen die drei genannten Immunglobuline und gegen die C3-Fragmente. Für weiterführende Untersuchungen stehen monospezifische AHG-Seren (Anti-IgG, Anti-IgA, Anti-C3d usw.) zur Verfügung.

Es muß zwischen dem direkten AHG-Test und dem indirekten AHG-Test unterschieden werden.

1.5.2.1 Direkter AHG-Test

Beim direkten AHG-Test werden die Erythrozyten eines Patienten untersucht. Dabei ist die Fragestellung, ob bereits *in vivo* eine Immunreaktion stattgefunden hat, die zur Bindung von Immunglobulinen und/oder Komplement an seine Erythrozyten geführt hat mit der Folge einer bereits *in vivo* stattfindenden Hämolyse. Bei den Immunglobulinen kann es sich entweder um Alloantikörper handeln, z.B. um ein Anti-D oder andere blutgruppenspezifische IgG-Antikörper, die in der Lage sind, bei Foeten und Neugeborenen einen MHN (morbus haemolyticus neonatorum) auszulösen, oder auch um Autoantikörper als Ursache einer autoimmunhämolytischen Anämie (AIHA).

Störungen durch verbreitet vorkommende aber banale Kälteagglutinine vermeidet man dadurch, daß Blutproben für den direkten AHG-Test auf EDTA-Monovetten abgenommen werden. Dadurch wird eine als Artefakt zu bezeichnende Komplementaktivierung bei einer Abkühlung entsprechender Blutproben während Lagerung oder Transport vermieden. Beim Ergebnis einer Komplementbeladung der Erythrozyten muß sichergestellt sein, daß diese *in vivo* passiert ist. Darüberhinaus sollte aber beim Vorliegen von tatsächlich pathogenen Kälteautoantikörpern jede Abkühlung der Blutproben vor der Untersuchung vermieden werden. Andererseits spielt eine Abkühlung der Blutproben keine Rolle für den AHG-Test bei IgG-Auto- und -Alloantikörpern.

In herkömmlicher Weise durchgeführt müssen die Erythrozyten aus einer EDTA-Monovette zunächst dreimal in isotoner Kochsalzlösung gewaschen werden. Dazu wird ein Aliquot der Erythrozyten dreimal in einem Überschußvolumen suspendiert, dann wird zentrifugiert und dekantiert. Zuletzt werden die gewaschenen Erythrozyten 5%ig (v/v) in isotoner Kochsalzlösung suspendiert, und 1 Tropfen dieser Suspension wird mit 2 Tropfen eines AHG-Serums im Reagenzröhrchen versetzt. Nach einer kurzen Zentrifugation (1 min bei 1000 U/min) wird das Sediment vorsichtig aufgeschüttelt und auf Agglutination überprüft. Für den Fall, daß Immunglobuline und/oder Komplement (C3-Fragmente) schon *in vivo* an die Erythrozyten gebunden waren, löst das AHG-Serum eine Agglutination aus und der direkte AHG-Test ist positiv.

Beim MHN lösen IgG-Alloantikörper der Mutter eine Hämolyse beim Kind aus. Ein durch Anti-IgG positiver direkter AHG-Test beim Neugeborenen ist immer pathologisch. Die ursächlichen IgG-Alloantikörper der Mutter werden meist schon in der Schwangerschaft festgestellt. Häufigste Ursache eines durch Anti-IgG positiven direkten AHG-Tests beim Erwachsenen ist eine AIHA durch IgG-Wärmeautoantikörper. Das Ausmaß der Hämolyse durch IgG-Antikörper hängt von verschiedenen Faktoren ab. Dafür sind die Spezifität, die Konzentration und die Subklasse der IgG-Antikörper nicht allein ausschlaggebend.

Eine nur sehr schwache Beladung der Erythrozyten mit IgG kann durch Medikamente ausgelöst sein, besonders häufig bei hochdosierter Antibiotikatherapie - ohne daß eine Blutgruppenspezifität erkennbar ist. Penicilline können sich an Erythrozyten binden, und Antikörper gegen Penicillin können deshalb beim direkten AHG-Test auffallen. In der Regel ist jedoch die Menge von auf diese Weise an Erythrozyten gebundenen Antikörpern zu gering für eine Hämolyse. Cephalosporine können zu einer unspezifischen Fixierung verschiedener Immunglobuline an Erythrozyten führen, wiederum in klinisch unwirksamer Menge.

Komplement (C3b/C3d) kann im Zusammenhang mit einer klinischen Hämolyse in folgenden Situationen nachgewiesen werden: 1) bei hämolytischen Anämien im frühen Kindesalter, ohne daß erythrozytäre Autoantikörper eine Rolle spielen, vermutlich aufgrund einer Komplementaktivierung über den Alternativweg; 2) bei einer AIHA durch Kälteautoantikörper, auch Kältagglutininkrankheit genannt, wobei es *in vivo* wegen hoher Konzentration und hoher Wärmeamplitude dieser Antikörper zur Hämolyse kommt; 3) bei einer AIHA durch IgG-Wärmeautoantikörper kann neben diesen Autoantikörpern auch C3b/C3d an die Erythrozyten gebunden sein, wobei die Komplementaktivierung jedoch nicht durch die IgG-Autoantikörper sondern durch andere Prozesse ausgelöst wird; 4) schließlich kann C3b/C3d

nach hämolytischen Transfusionsreaktionen (HTR) nachweisbar sein, z.B. nach einer ABO-Fehltransfusion bei major-Unverträglichkeit (z.B. Spender A - Empfänger O), und zwar sogar auf den O-Erythrozyten des Empfängers. Auch Alloantikörper des Duffy-, des Kidd- und des Kell-Blutgruppensystems können Komplement aktivieren.

Ein ausschließlich durch eine C3d-Beladung positiver direkter AHG-Test muß aber nicht mit einer klinischen Hämolyse in Verbindung stehen. Ganz unabhängig von erythrozytären Antikörpern kann das Komplementsystem auf verschiedenste Weise aktiviert werden, z.B. im Zuge einer Sepsis, bei anderen Autoimmunerkrankungen oder medikamentös/toxisch. Auch auf diese Weise entstandenes C3b bindet sich leicht an Erythrozyten, da diese einen natürlichen Rezeptor (CR1 genannt) für C3b haben. Die Bindung von C3b an Erythrozyten ist kovalent über Disulfidbrücken und irreversibel. Nach der Inaktivierung von C3b (durch Abspaltung von C3c) an den Erythrozyten verbleibendes C3d ist nicht mehr pathogen.

1.5.2.2 Indirekter AHG-Test

Auch beim indirekten AHG-Test wird zum Nachweis von Immunglobulinen und/oder C3-Fragmenten ein AHG-Serum benutzt, jedoch untersucht man dabei nicht die Erythrozyten des Patienten. Vielmehr sucht man durch Inkubation mit umfassend austypisierten Testerythrozyten nach Antikörpern im Serum bzw. im Plasma des Patienten. Die Domänen des indirekten AHG-Tests sind der Antikörpersuchtest als Pflichtteil der Blutgruppenbestimmung und die serologische Verträglichkeitsprobe vor Transfusionen. Darüberhinaus ist der indirekte AHG-Test obligatorisch bei den Antikörpersuchtests in der Schwangerschaftsüberwachung.

Grundprinzip der Untersuchung ist eine Inkubation des Patientenplasmas mit den Testerythrozyten bei 37°C, die geeignet ist eine Bindung eventuell vorhandener Antikörper an die Erythrozyten zu erreichen. Für den Antikörpersuchtest werden käufliche Testzell-Panels (s.o. unter Antikörpersuchtest) benutzt; bei der serologischen Verträglichkeitsprobe werden die Erythrozyten der Blutspender untersucht. Die Zugabe einer Lösung mit niedriger Ionenstärke (LISS-Reagenz, LISS = low ionic strength solution) beschleunigt und verstärkt die Bindung eventuell vorhandener Antikörper. Anschließend wird nach dreimaligem Waschen der Erythrozyten (s. direkter Coombstest) und nach Zugabe des AHG-Serums sowie nachfolgender Zentrifugation auf Agglutination geprüft.

Ein positiver, als indirekter AHG-Test durchgeführter Antikörpersuchtest macht immer eine Identifizierung der Antikörperspezifität erforderlich, und das gilt natürlich auch für positive Verträglichkeitsproben. Mit demselben Testverfahren wird dann durch die Untersuchung eines erweiterten Testzell-Panels (8 bis 11 Zellen) die Spezifität ermittelt. Für Transfusionen darf nur der Antikörperspezifität angepaßtes Spenderblut, dessen Antigenformel mit derjenigen des Empfängers übereinstimmt, verwendet werden.

1.5.3 Transfusionsvorbereitung

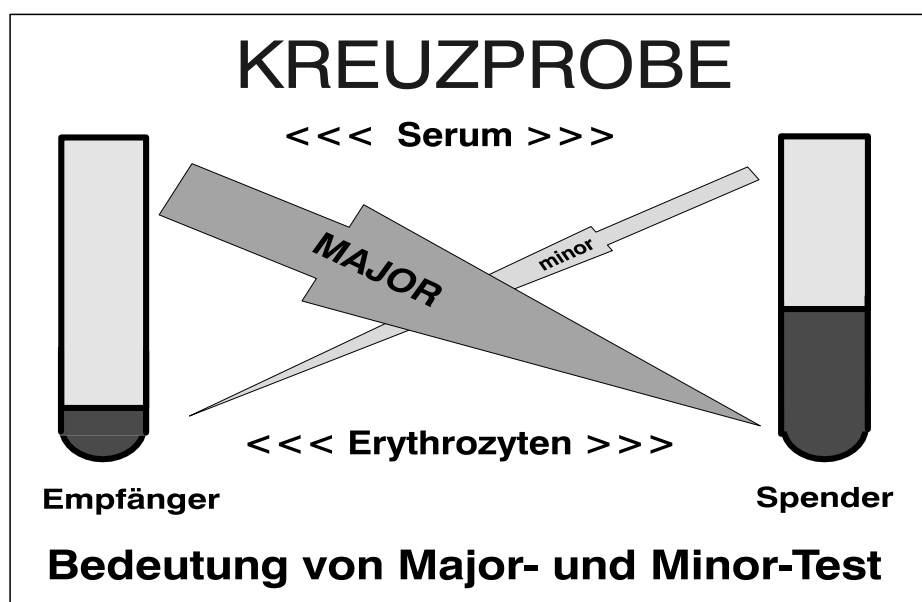
Vor Bluttransfusionen ist die serologische Verträglichkeitsprobe unerlässlich. Zur Vermeidung hämolytischer Transfusionsreaktionen ist jedoch auch die gewissenhafte Identifizierung aller Materialien auf jeder Stufe der Transfusionsvorbereitung unverzichtbar. Verwechslungen aller Art können Ursache einer hämolytischen Transfusionsreaktion werden, das geht von der Verwechslung von Blutproben, von Etiketten, von Blutkonserven, von Befunddokumenten bis hin zur Verwechslung von (narkotisierten!) Patienten. Deshalb sind umfassende Kontrollmaßnahmen Bestandteil der Transfusionsvorbereitung. Dazu gehören

- 1) die Blutgruppenerstbestimmung mit Antikörpersuchtest
- 2) die ABO-Blutgruppenkontrolle bei der serologischen Verträglichkeitsprobe
- 3) der Antikörpersuchtest bei der serologischen Verträglichkeitsprobe, wenn der letzte Antikörpersuchtest vor mehr als 3 Tagen stattfand
- 4) die serologische Verträglichkeitsprobe mit dem Spenderblut
- 5) der bed-side-Test (s.u.).

Das Ziel dieser Maßnahmen ist die verträgliche Bluttransfusion, mit Übereinstimmung der Blutgruppen und ggf. möglichst weitgehender Übereinstimmung weiterer Blutgruppenmerkmale, der Ausschluß von Antikörpern als Ursache einer Unverträglichkeit und die Vermeidung von Verwechslungen.

Die serologische Verträglichkeitsprobe (sog. Kreuzprobe) soll vor der Bluttransfusion Antikörper im Blut des Empfängers aufdecken, die sich gegen Erythrozytenantigene der Spender richten. Der Name Kreuzprobe leitet sich von der Mischung von Spendererythrozyten mit Empfängerserum (Major-Test) und Spenderserum mit Empfängererythrozyten (minor-Test) ab.

Im GK werden 3 Ansätze aufgeführt: Kälte-Ansatz, Supplement und Coombs-Test. Der Kälte-Ansatz (optimal Raumtemperatur) dient der Erkennung von ABO-Unverträglichkeiten durch Isoagglutine. Durch Supplement (Hochprotein, d.h. Albuminmilieu - Albumin heute ersetzt durch Liss-Reagenz) werden bestimmte Antikörper, vor allem Rh-Antikörper in ihrer Reaktion verstärkt. Die Coombs-Technik weist besonders gut die irregulären Wärme-AK mit der größten klinischen Bedeutung nach. Der indirekte AHG-Test ist damit der wichtigste. Die Ansätze sind auf Agglutination und auf Hämolyse hin abzulesen!



1.5.4 Bed side-Test

Nach Vorliegen der Blutgruppenbefunde und der Begleitpapiere zu Dokumentation der Verträglichkeit der Blutkonserven muß vor der Transfusion der Bed side-Test durchgeführt werden. Mit dem Bed side-Test wird die ABO-Blutgruppe des Patienten überprüft, und das Ergebnis wird mit dem Blutgruppenbefund aus der Krankenakte und mit der Deklaration der Blutkonserven verglichen. Voraussetzung für die Transfusion ist, daß ABO-Identität vorliegt.

Für den Bed side-Test benutzt man Testkarten, in welche Anti-A und Anti-B als flüssiges Testreagenz eingeschweißt sind. In die Reaktionskammern wird mittels einer Kanüle jeweils 1 Tropfen einer frisch entnommenen Blutprobe des Patienten verbracht, und nach Vermischen wird visuell auf Agglutination geprüft. Das Reaktionsmuster muß dem Blutgruppenbefund des Patienten entsprechen. Parallel dazu kann geprüft werden, ob mit dem zur Transfusion vorgesehenen Spenderblut identische Agglutinationen eintreten.

Der Bed side-Test dient dem Aufspüren einer Verwechslung, die Ursache einer tödlichen HTR werden könnte. Bei diskrepanten Ergebnissen darf die Transfusion nicht durchgeführt werden. Mit einer frischen Blutprobe des Patienten müssen erneut Blutgruppenbestimmung

und serologische Verträglichkeitsprobe durchgeführt werden, und die Ursache der Verwechslung muß ermittelt werden.

1.6 Morbus haemolyticus neonatorum (MHN)

Beim MHN werden IgG-Antikörper der Mutter gegen ein Erythrozytenantigen des Foeten, das die Mutter nicht besitzt, diaplacentar auf den Foeten übertragen und rufen dort eine Hämolyse mit deren Folgeerscheinungen hervor. Alle Rh-Faktoren sind auf den Erythrozyten eines Foeten schon ab der 6. Schwangerschaftswoche voll ausgereift.

Pathogenese: Nur Blutgruppenantikörper vom IgG-Typ sind pathogen. Dies setzt eine entsprechende Immunisierung voraus. Neben einer sogenannten Rh-Erythroblastose durch Anti-D mit Folge eines MHN können seltener auch Anti-c und Anti-E einen MHN auslösen. In der Häufigkeit folgt weiter das Anti-K. Typische Konstellationen sind:

Mutter	Kind	Vater	Konstellation
Rh negativ (D-) Anti-D (IgG!)	Rh positiv (D+)	Rh positiv (D+)	Rh-Inkompatibilität MHN oft sehr ernst
OO Anti-A (IgG!)	AO	AA	ABO-Inkompatibilität MHN oft sehr milde

Während der Schwangerschaft können kindliche Erythrozyten in den mütterlichen Kreislauf übertreten und bei Inkompatibilität zur Immunisierung bzw. Boosterung führen. Deshalb ist i.d.R. nicht das erste Kind, sondern die folgenden betroffen. Beim Kind führen die Antikörper der Mutter zur Hämolyse der Erythrozyten, je nach Schweregrad folgt eine Anämie, ein Icterus (Icterus gravis mit Kern-Icterus, d.h. Bilirubin-Enzephalopathie) und schließlich ein universelles Ödem als Folge der hypoxischen Kapillarschädigung (Hydrops congenitus fetus bzw. universalis). Die Rh-Erythroblastose verläuft i.d.R. schwer.

Die ABO-Erythroblastose dagegen ist seltener (die Isoagglutinine sind i.d.R. vom IgM-Typ) und verläuft milder. Sie kann allerdings schon das 1. Kind betreffen. Isoagglutinine vom IgG-Typ können bereits vor der 1. Schwangerschaft vorhanden sein. Ihr Nachweis unter einer Schwangerschaft hat keinen prognostischen Wert.

Diagnostik und Prophylaxe: Während der Schwangerschaft erfolgt bei der Mutter zunächst eine Blutgruppenbestimmung mit Antikörper-(AK)-Suchtest. Der AK-Suchtest wird in der 28. SSW wiederholt. Rh negative Mütter erhalten jetzt bei negativem AK-Suchtest eine sog. Rh-Prophylaxe durch i.m.-Injektion der Standarddosis eines therapeutischen Anti-D-Präparats, was einen Schutz vor RhD-Immunisierung durch kindliches Blut während des letzten Trimenons bietet (s.u.).

Bei jedem Neugeborenen muß ein direkter Coombs-Test durchgeführt werden. Ist die Mutter Rh-negativ (oder sind irreguläre AK nachgewiesen), muß beim Neugeborenen zusätzlich die Blutgruppe bestimmt werden. Die Rh-Prophylaxe wird wiederholt, wenn das Kind Rh positiv ist und im AK-Suchtest bei der Mutter keine Hinweise auf eine fortgeschrittene Immunisierung erkennbar sind.

Bei der ABO-Erythroblastose ist der direkte Coombs-Test oft negativ. Dagegen ist bei einem MHN durch Anti-D der direkte Coombstest beim Kind stark positiv und als Hinweis auf Hämolyse zu werten.

Therapie: Bei einem Neugeborenen mit MHN sind je nach klinischem Bedarf Bluttransfusionen bzw. Austauschtransfusionen angezeigt. Das Transfusionsblut muß in der Verträglichkeitsprobe mit dem mütterlichen Serum getestet werden (im Coombs-Test). Bei schweren Verläufen können schon im 2. Trimenon intrauterine Bluttransfusionen angezeigt sein. Eine Indikation hierfür ergibt sich i.d.R. nur selten, überwiegend in den durch Anti-D bedingten Fällen.

Prophylaxe: Die Rh-Prohylaxe besteht in der Injektion von 250 Mikrogramm Anti-D. Dadurch wird die Produktion eines Anti-D bei der Mutter unterdrückt. Bei einer Rh-negativen Mutter muß die sog. Rh-Prophylaxe in der 28.-30. Schwangerschaftswoche durchgeführt werden. Nach der Geburt eines Rh positiven Kindes, nach Abort, Extrauterin gravidität, Amniocentese, etc., muß die Prophylaxe innerhalb 72 Stunden erfolgen.

1.7 Neonatale Alloimmunthrombozytopenie (NAIT)

Nicht nur Erythrozyten tragen Alloantigene an ihrer Oberfläche, sondern auch Granulozyten, Lymphozyten und Thrombozyten. Die thrombozytenspezifischen Alloantigene werden als **human platelet antigen (HPA)** bezeichnet. Darüber hinaus tragen Thrombozyten auch die Antigene des HLA-Systems (human leukocyte antigen) und des ABO Systems. Derzeit sind 16 unterschiedliche HPA-Systeme bekannt. Die größte klinische Bedeutung besitzt das HPA-1 System. Es handelt sich hier um ein dialleles System mit den Phänotypen HPA-1aa (65,3%), HPA-1bb (2,8%) und HPA-1ab (31,9%). Die hier angegebenen Phänotypfrequenzen wurden in der Region Südniedersachsen ermittelt und unterscheiden sich von der Häufigkeitsverteilung in anderen ethnischen Gruppen. Das HPA-1 System ist auf dem thrombozytären Glykoproteinkomplex IIb/IIIa lokalisiert, der als Fibrinogenrezeptor eine zentrale Rolle im Gerinnungssystem einnimmt. Bei einer neonatalen (oder auch fetalen) Alloimmunthrombozytopenie bilden Schwangere Alloantikörper gegen HPA Antigene des Feten. Diese Antikörperbildung kann auch schon in der ersten Schwangerschaft eine fetale Thrombozytopenie auslösen. In 10-20% der betroffenen Kinder führt diese Thrombozytopenie zu intrazerebralen Blutungen mit möglicherweise tödlichem Ausgang oder lebenslangen neurologischen Schäden.

Die Inzidenz der Erkrankung liegt zwischen 1:1000 und 1:5000 Lebendgeburten. Am häufigsten werden anti-HPA-1a Antikörper von Frauen mit dem Phänotyp HPA-1bb gebildet wenn der Fetus das HPA-1a Antigen vom Vater geerbt hat. Durch die molekularbiologische Bestimmung der HPA-Antigene bei Mutter, Vater und aus fetalem Gewebe (z.B. Fruchtwasser) ist nach serologischem Nachweis der HPA-Antikörper eine intrauterine Therapie bzw. auch genetische Beratung möglich. Die Therapie besteht in der Transfusion von HPA-1bb Thrombozytenkonzentraten über die Nabelschnur und wird nur in perinatalogischen Zentren mit besonderer Erfahrung durchgeführt. In den meisten Fällen fällt die Erkrankung erst durch eine Blutungsneigung beim Neugeborenen auf. Hier ist eine rasche Diagnostik und Therapie mit kompatiblen Thrombozytenkonzentraten erforderlich.

1.8 Automimmunhämolytische Anämie

In der Immunhämatologie unterscheidet man zwischen Alloantikörpern und Autoantikörpern. Während Alloantikörper sich immer gegen Blutgruppenmerkmale richten, die auf den eigenen Erythrozyten nicht vorkommen, binden sich Autoantikörper an die autologen Erythrozyten eines Individuums. Wenn das eine Zerstörung der autologen Erythrozyten zur Folge hat, spricht man von einer AIHA. Als klinisch-chemische Zeichen der Erythrozytenzerstörung gelten neben der Anämie ein erniedrigtes Haptoglobin, erhöhtes (indirektes) Bilirubin sowie eine erhöhte Laktat-Dehydrogenase (LDH) und erhöhte Retikulozytenzahlen.

Art und Ausmaß einer Immunhämolyse ist abhängig von vielen Faktoren. Eine Rolle spielt bei den Autoantikörpern die Immunglobulinklasse (IgM, IgG und/oder IgA) bzw. deren Subklasse (IgG1 und/oder IgG3), eine Komplementbeteiligung (C3b/C3d), die Konzentration der Antikörper, ihr Reaktionsoptimum - bei Kälteautoantikörpern die Wärmeamplitude, und die Reaktivität der zellulären Effektorsysteme, also des Monozyten/Makrophagen-Systems.

Beim Erwachsenen kommt es bei einer AIHA nach einem akuten Beginn fast immer zu einem schubweisen, chronischen Verlauf. Bei Kindern dagegen ist eine AIHA nicht selten hochakut, heilt aber folgenlos aus. Eine postinfektiöse Genese wird diskutiert, als mögliche Erreger gelten z.B. *Mycoplasma pneumoniae* oder das Epstein-Barr-Virus. Weitaus häufiger als postinfektiös (oder idiopathisch) tritt eine AIHA jedoch auf als Begleiterkrankung bei malignen, lymphatischen Systemerkrankungen (M. Hodgkin, Non-Hodgkin-Lymphome, Plasmozytom, chronische lymphatische Leukämie).

Kälteautoantikörper der IgM-Klasse werden am besten über eine direkte Agglutination erkannt, sie reagieren optimal in Kälte (4°C) und zeigen in Kälte die längsten Titer. In vivo können sie bei hoher Konzentration und Wärmeamplitude unter Komplementaktivierung eine intravasale Hämolyse auslösen; entsprechende Patienten sollten jede Kälteexposition vermeiden. Darüberhinaus findet ein Erythrozytenabbau in Leber und Milz statt.

IgG-Wärmeautoantikörper werden am sichersten mit dem direkten Anti-Humanglobulin-Test (AHG-Test sive Coombstest) nachgewiesen. Hier spielen die Konzentration und die Subklasse eine Rolle, maßgeblich ist jedoch auch die Aktivität des Monozyten/Makrophagen-Systems. Die Erythrozytenzerstörung erfolgt überwiegend in der Milz. Mit dem indirekten AHG-Test lassen sich freie IgG-Autoantikörper in Serum oder Plasma nachweisen, und diese IgG-Autoantikörper führen nicht selten zu positiven Kreuzproben gegen Spenderblut. Unglücklicherweise kommen die Antigene, gegen welche sich die Autoantikörper richten, nahezu ubiquitär vor, sodaß es aussichtslos ist, für Transfusionen "antigenfreies" Blut zur Verfügung zu stellen. Das gilt für Kälteautoantikörper, die sich gegen das ubiquitäre Merkmal I (groß-I) richten, aber auch für Wärmeautoantikörper, die immer über das Merkmal LW eine sehr breite Spezifität für das Rh-System haben, gelegentlich mit zusätzlicher Teilspezifität für das Merkmal e, viel seltener für andere Rh-Merkmale, dann aber als Autoantikörper.

Bei der transfusionsmedizinischen Versorgung von Patienten mit AIHA sollte möglichst Spenderblut mit der Rh- und Kell-Formel des Patienten ausgewählt werden, um bei der längerfristig zu erwartenden Erythrozytensubstitution die Induktion einer Alloantikörperbildung zu vermeiden. Mit einer verkürzten Überlebenszeit der Spendererythrozyten ist zu rechnen. Ein Hb-Wert < 6 g/dl kann als absolute Transfusionsindikation gelten.

Wie bei anderen Autoimmunerkrankungen ist bei der AIHA eine immunsuppressive Therapie indiziert, unter Einsatz von hohen Cortikoid-Dosen, und bei vitaler Indikation auch von Zytostatika. Ziel ist die Drosselung der Produktion der Autoantikörper und die Unterdrückung des Erythrozytenabbaus. Letzteres kann auch durch die i.v. Applikation von hohen Immunglobulin-Dosen (IgG) erreicht werden. Bei vitaler Indikation kann eine Splenektomie den Krankheitsverlauf erheblich abmildern.

Eine durch Medikamente ausgelöste Immunhämolyse ist extrem selten, und Antigen-Karenz ist die beste Therapie. Viel häufiger sind positive direkte AHG-Tests ohne klinische Bedeutung, die über positive Eigenkontrollen bei der serologischen Verträglichkeitsprobe erkannt werden. Penicilline und Cephalotine, die vorzugsweise im Bolus bei postoperativen Intensivpatienten verabreicht werden, haben eine hohe Affinität zu Erythrozyten. Dagegen gerichtete Antikörper können positive direkte AHG-Tests auslösen, für die Induktion einer Hämolyse reicht ihre Konzentration jedoch nicht aus.

2. Blut und Blutderivate

2.1. Blut und seine Bestandteile

Blut setzt sich aus einer Mischung von verschiedenen Zellen und Stoffen zusammen, die unterschiedliche Funktionen erfüllen:

Blutzellen:

Erythrozyten: Runde, bikonkave, kernlose Zellen mit einem mittleren Durchmesser von 7,5 µm Durchmesser. Mittlere Lebensdauer 120 Tage. Sie sind für den Sauerstoff- und Kohlendioxid-Transport zuständig.

Leukozyten: Kernhaltige Zellen, die man in Lymphozyten, Granulozyten (Neutrophile, Eosinophile, Basophile) und Monozyten unterteilen kann. Sie dienen vor allem der Infektabwehr und der Beseitigung abgestorbener Zellen.

Thrombozyten: Diskusförmige, kernlose Scheiben mit einem mittleren Durchmesser von 2-4 µm, Lebensdauer 8-14 Tage. Sie dienen dem primären Wundverschluß.

Plasma: Setzt sich aus Wasser, Proteinen (Albumine und Globuline), Gerinnungsfaktoren, Fetten, Kohlenhydraten, Elektrolyten, Vitaminen, Spurenelementen, Hormonen etc. zusammen. Die Aufgaben bestehen im Transport von Blutzellen und Nährstoffen, Regelung des Wasser- und Elektrolythaushalts, Immunabwehr und Beteiligung an der Blutgerinnung.

Diese verschiedenen Bestandteile besitzen als Blutprodukte unterschiedliche Lagerungsstabilitäten. Sie benötigen verschiedene Temperaturen, Stabilisatoren und Hilfsstoffe sowie Behältnisse für eine optimale Haltbarkeit. Es ist daher sinnvoll, Vollblutspenden in ihre Einzelbestandteile aufzutrennen. Da die Patienten häufig nur einen Blutbestandteil benötigen, ist dies auch ein sehr ökonomisches Prinzip.

2.2 Allgemeine Prinzipien zur Herstellung

Das Blut freiwilliger Spender wird in ein durch Schläuche verbundenes Beutelsystem abgenommen. Im Abnahmebeutel ist ein citrathaltiges Antikoagulanzen, welches verhindert, daß es zur Gerinnung des Blutes kommt (siehe Abb. 1a).

Blutkomponenten, die aus diesen Vollblutspenden hergestellt werden, kann man durch Zentrifugation gewinnen. In Abhängigkeit vom spezifischen Gewicht und vom Radius der Zellen erfolgt hierbei die Sedimentation, d.h. die verschiedenen Zellen reichern sich in unterschiedlichen Schichten im Beutel an. Für eine einfache Trennung von Erythrozyten und Plasma genügt ein Zentrifugationsschritt, sollen auch noch Thrombozyten präpariert werden, so müssen diese in einer weiteren Zentrifugation abgetrennt werden:

2.2.1 Präparateherstellung aus der Vollblutspende

Bei der Verwendung von 4-fach Beutelsystemen erfolgt als erster Schritt nach der Abnahme eine scharfe Zentrifugation des zusammengepackten Beutelsystems bei hoher g-Zahl (4000 Umdrehungen/min) für 10 Minuten. Aufgrund von Dichte und Gewicht erfolgt dabei eine Sedimentation entlang eines Gradienten. Unten im Blutbeutel lagern sich die Erythrozyten ab, darüber der „buffy coat“, bestehend aus Leukozyten und Thrombozyten, und der Überstand besteht aus Plasma (Abb. 1b).

Anschließend werden Plasma und Erythrozyten in separate Beutel (Beutel 2 und 3) abgepreßt (Abb. 1c), während der buffy coat im ursprünglichen Abnahmebeutel verbleibt und mit 50 ml Plasma resuspendiert wird.

Abb. 1a: Vierfachbeutelssystem für Blutkomponentenpräparation

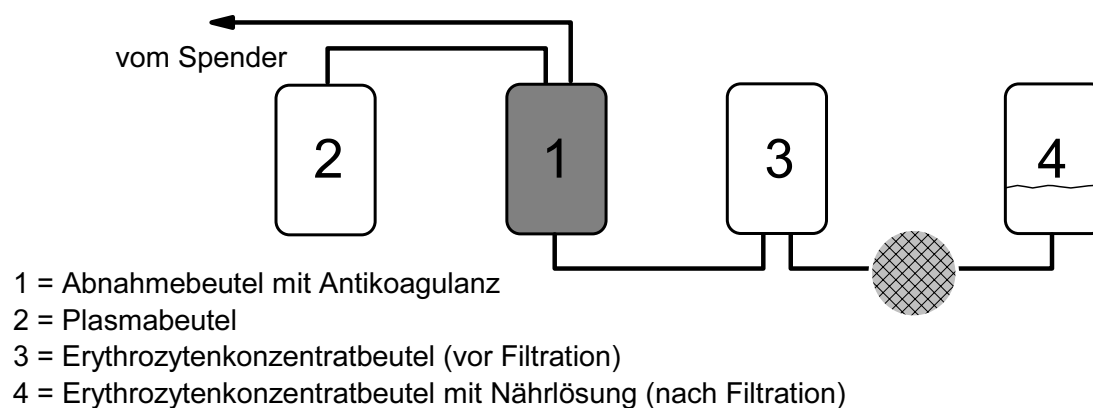


Abb. 1b: Auftrennung der Blutkomponenten nach der Zentrifugation

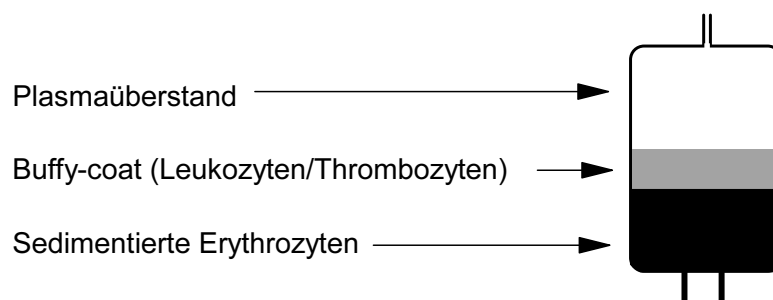


Abb. 1c: Nach Überführung der Nährlösung in Beutel 3 werden die Erythrozyten in Beutel 3 und das Plasma in Beutel 2 abgepreßt

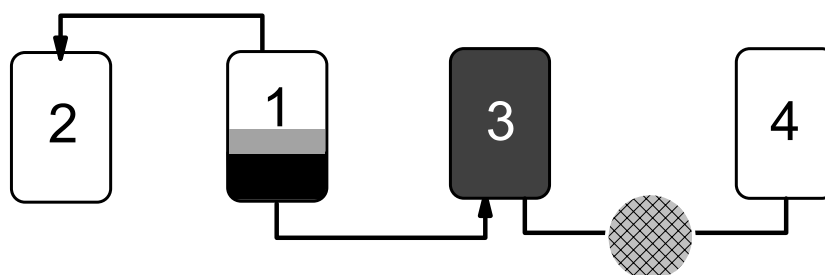
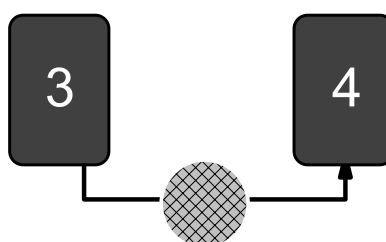


Abb. 1d: Nach Entfernung der Beutel 1 und 2 werden die Erythrozyten durch einen Filter leukozytendepletiert und in Beutel 4 überführt



Anschließend müssen die restlichen Leukozyten von den Erythrozyten getrennt werden. Dazu wird ein Leukozytendepletionsfilter zunächst mit der Nährlösung benetzt. Anschließend werden die Erythrozyten über den Filter in einen Lagerbeutel überführt, die Leukozyten verbleiben im Filter (Abb. 1d)

Soll anschließend noch ein Thrombozytenkonzentrat aus dem buffy coat hergestellt werden, erfordert dies eine weitere Verarbeitung. Zunächst werden mehrere Buffy-coats (4-5) zusammengeführt. Nach einer niedrigtourigen Zentrifugation, durch die sich die Erythrozyten und Leukozyten am Boden des Beutels absetzen, verbleiben die in Plasma gelösten Thrombozyten im oberen Beutelsegment. Durch Abpressen dieses plättchenreichen Plasmas (wieder über einen Leukozytendepletionsfilter) erhält man ein Thrombozytenkonzentrat.

Das Erythrozytenkonzentrat kann anschließend bei 2-4°C für bis zu 42 Tage in der Nährlösung gelagert werden, das Thrombozytenkonzentrat bei 20-22°C unter ständiger Bewegung auf Schaukeln für maximal 5 Tage und das Plasma bei Temperaturen < -30°C für bis zu 2 Jahren.

Ohne die Filtration würden die entsprechend präparierten zellulären Blutprodukte noch eine Restmenge an Leukozyten enthalten, die beim Patienten Immunisierungen gegen HLA-Klasse I auslösen könnten. Da das HLA-Klasse-I-System auch auf Thrombozyten ausgeprägt wird, würden solche Antikörper den Erfolg weiterer Substitutionen mit Thrombozyten verhindern. Daher werden alle zellulären Blutprodukte leukozytendepletiert hergestellt. Dies gelingt durch den Einsatz spezieller Filter, in denen die Leukozyten zurückgehalten und durch die ihre Zahl im Blutprodukt um mehr als 99,9 % reduziert werden kann.

Ein weiteres, potentiell durch Leukozyten verursachtes Risiko von Blutübertragungen, ist die Graft-versus-Host-Disease (GvHD). Da davon ausgegangen werden muß, daß auch durch äußerst geringe Leukozytenzahlen, wie sie nach Filtration noch in einem Blutprodukte vorhanden sein können, bei Patienten, die aufgrund ihrer Grunderkrankung oder der Therapie über ein nicht vollständig funktionierendes Immunsystem verfügen, eine GvHD verursacht werden kann, müssen die Blutprodukte bestrahlt werden (Dosis: 30 Gy). Damit wird die Teilungsfähigkeit der restlichen Leukozyten drastisch reduziert.

Tabelle: Charakteristika von Blutkomponenten, die mit 4-fach Beuteln hergestellt werden

	Erythrozyten- konzentrat (buffy coat arm)	Thrombozyten- konzentrat (aus buffy coat)	Frischplasma
Antikoagulanzen	Citrat	Citrat	Citrat
Zentrifugation (g)	4000	280	4000
Zentrifugationsdauer (min)	10	5	10
Volumen (ml)	290	200 („Pool“)	240
HKT (%)	60	-	-
pH	6,9	7,2	7,1
Leukozyten (vor Filtration)	<1,2*10 ⁹	<0,2*10 ⁹	<10 ⁶
Leukozyten (nach Filtration)	<5*10 ⁶	<5*10 ⁶	
Thrombozyten	<10 ¹⁰	2-3*10 ¹¹ („Pool“)	<5*10 ⁹
Lagerungsdauer (Tage)	42	5	730
Lagerungstemperatur(°C)	2-4	20-22	<-30°C

2.2.2 Prinzip der Apherese

Ein alternativer Weg in der Herstellung von Blutkomponenten oder Blutfraktionen liegt in der Anwendung der Apheresetechnik. Hier werden ebenfalls mittels der Zentrifugation Blutbestandteile gewonnen, dabei wird das Apheresegerät durch 2 venöse Zugänge mit dem Kreislauf des Spenders verbunden.

Man kann Apheresespenden als Plasmapheresen, Thrombozytapheresen oder Leukapheresen durchführen.

Das Prinzip soll anhand einer Thrombozytapherese erläutert werden:

Voraussetzungen:

- Eine Vollblutspende sollte absolviert und gut toleriert worden sein
- Der Spender muß ausreichend Thrombozyten aufweisen (mindestens 200.000/ μ l)
- gute Venenverhältnisse
- intaktes Gerinnungssystem
- regelrechte Nierenfunktion
- Gesamteiweiß und IgG im Normbereich

Zu Beginn wird der Spender über 2 Leitungssysteme an beiden Armen mit dem Apheresegerät verbunden: Ein Zulauf zur Zentrifuge und ein Rücklauf zum Spender.

Anhand von Größe, Gewicht, Geschlecht, Hämatokrit und dem aktuellen Thrombozytenwert werden die Dauer des Laufes, das Sammelvolumen und der Thrombozytenertrag errechnet. Um eine Aktivierung des Gerinnungssystems an den Oberflächen der Schläuche des Einmalsets zu verhindern, wird das Blut bereits im ableitenden Schenkel mit Citrat versetzt, welches Kalzium bindet und somit die Gerinnungskaskade hemmt.

In der Zentrifugenkammer werden die einzelnen zellulären Bestandteile und das Plasma getrennt, die Thrombozyten und etwas Plasma zurückbehalten und die Erythrozyten und der größte Teil des Plasmas dem Spender retransfundiert.

Neuere Geräte kommen auch mit nur einem venösen Zugang aus. Bei diesem „single needle“-Verfahren wird in abwechselndem Rhythmus Blut abgeleitet und nach Zentrifugation und Trennung in die gleiche Vene wieder retransfundiert. Die Dauer solcher Spendeverfahren beträgt 60-90 Minuten. Aufgrund des geringen Erythrozytenverlusts wird eine solche Apherese meistens gut vom Organismus bzw. Kreislaufsystem toleriert. Luftfallen und Filter verhindern Embolien. Und durch die Verwendung von Einmalmaterial gibt es kein Infektionsrisiko für den Spender. Da die Thrombozyten innerhalb weniger Tage wieder nachgebildet werden, kann eine solche Spende alle 2 Wochen durchgeführt werden.

Mit dem gleichen Systemen lassen sich auch Leukozyten oder bestimmte Leukozytenpopulationen anreichern und sammeln.

2.3 Lagerung und Stabilität der einzelnen Blutkomponenten

Erythrozytenhaltige Konzentrate benötigen eine Lagerungstemperatur von 4 bis 6 Grad Celsius. Unter diesen Bedingungen sind sie bis zu 42 Tage (in Ausnahmefällen bis 49 Tage, z. B. Eigenblut) haltbar.

Thrombozyten aggregieren bei Kühlschranktemperatur hingegen sehr rasch und ihre Überlebenszeit ist in konventionellen Beutelsystemen eingeschränkt. Die Herstellung von Thrombozyten aus Vollblutkonserven muß daher innerhalb von 24 Stunden nach der Vollblutspende erfolgen. Die Beutel sollen in dieser Zeit bei Zimmertemperatur bzw. 20°C aufbewahrt werden.

Mit besonders atmungsaktiven Beutelsystemen ist es möglich, Thrombozytenkonzentrate bis zu 5 Tage zu lagern. Diese Lagerung muß bei 20-22°C und unter Zuhilfenahme verschiedener Durchmischungsgeräte (Flachbettagitatoren, Rotationsagitatoren etc.), die den Gasaustausch der Thrombozyten im Beutel gewährleisten, erfolgen. Während der Lagerung der Thrombozyten finden selbst unter diesen optimierten Bedingungen

Aktivierungsvorgänge statt, welche die Funktion und die Überlebenszeit der Thrombozyten beeinträchtigen.

Die Verarbeitung von Plasma muß ebenfalls möglichst rasch erfolgen, da insbesondere die Gerinnungsfaktoren V und VIII bei Raumtemperatur nicht lagerungsstabil sind. Wird das Plasma innerhalb von 6 Stunden nach der Spende von den zellulären Blutbestandteilen getrennt und eingefroren, sind diese beiden Hämostasefaktoren im wesentlichen unverändert und das Präparat wird als (gefrorenes) Frischplasma bezeichnet. Besonders wichtig für die Qualität des gefrorenen Plasmas ist ein rascher Einfriervorgang der durch besondere Schockgefriergeräte (bei -30°C) oder in Tiefkühltruhen mit möglichst tiefer Temperatur (z. B. -70°C) ermöglicht wird. So hergestelltes Frischplasma ist bis zu zwei Jahr bei Temperaturen $<-30^{\circ}\text{C}$ haltbar. Um die Sicherheit für die Empfänger zu erhöhen, darf Frischplasma nur noch als Quarantäneplasma eingesetzt werden. Dies bedeutet, daß der Blutspender 6 Monate nach der Spende immer noch negativ hinsichtlich der Infektionsparameter sein muß, bevor das Produkt einem Patienten transfundiert werden darf. Alternativ kann das Plasma auch mit einem Virusinaktivierungsverfahren behandelt werden.

Die meisten Leukozyten sind nur sehr kurzlebig und können außerhalb des Organismus nur bis zu maximal 48 Std. gelagert werden, bevor sie in großem Umfang ihre Funktion verlieren, absterben und zerfallen. Daher werden Leukozytenpräparationen, wie die Stammzellen, entweder kurz nach ihrer Gewinnung als frische Produkte angewendet, oder aber eingefroren. Da beim Einfrieren durch Kristallisation der in den Zellen enthaltenden Wasseranteile die Zellen geschädigt würden, wird ihnen zuvor ein Mittel zugesetzt, welches das Wasser zum Teil aus den Zellen verdrängen kann. Anschließend können die Zellen mittels spezieller Einfriergeräte geregelt bis auf -80°C tiefgefroren werden. Üblicherweise werden diese Präparate dann anschließend in flüssigem Stickstoff (-196°C) oder in dessen Gasphase ($<-100^{\circ}\text{C}$) aufbewahrt. So gelagert sind auch nach mehreren Jahren noch 70-90 % der dann wieder aufgetauten Leukozyten vital und funktionsfähig.

2.4 Therapie mit Blutkomponenten

2.4.1 Erythrozytenkonzentrate

Bei einem normalgewichtigen Erwachsenen ohne gesteigerten Erythrozytenumsatz ist nach Übertragung eines EK mit einem Anstieg des Hämoglobinwertes um etwa 1,0-1,5 g/dl bzw. des Hämatokrites um etwa 3-4% zu rechnen. Die mittlere Überlebenszeit transfundierter, kompatibler Erythrozyten liegt bei 57,7 Tagen.

Bei jedem Patienten mit einer akuten oder chronischen Anämie muß der Versuch unternommen werden, die Ursache zu klären und möglichst eine kausale Therapie einzuleiten. Die Gabe von EK ist nur angezeigt, wenn solche Patienten ohne Transfusion einen gesundheitlichen Schaden erleiden würden und eine andere, gleichwertige Therapie nicht möglich ist.

Indikationen

Akuter Blutverlust:

- ein Blutverlust von 30% des Blutvolumens läßt sich durch alleinige Volumengabe meist voll kompensieren.
- bei Patienten mit normaler Herz-Kreislauf-Funktion werden auch größere Blutverluste (Hk bis 20%, Hb 7,0-6,0 g/dl) ohne hypoxische Schädigung toleriert.
- Ein Abfall des Hk auf 15% (Hb 5,0-4,5 g/dl) wird, besonders bei älteren Patienten, als kritischer Grenzwert der absoluten Indikation zur Substitutionstherapie mit EK angesehen.

Chronische Anämien:

- diese Patienten sind meist ausreichend an den langandauernden Hämoglobinmangel adaptiert.

- auch bei niedrigen Hb-Werten (8,0-7,0 g/dl) besteht so lange keine Indikation, wie keine auf die Anämie zurückzuführenden Symptome bestehen und ein weiterer rascher Hb-Abfall nicht zu erwarten ist.
- Patienten, bei denen eine Knochenmarktransplantation nicht ausgeschlossen werden kann, sollten grundsätzlich so wenig wie möglich transfundiert werden.

Die Auswahl von Erythrozytenkonzentraten erfolgt unter Berücksichtigung der blutgruppenserologischen Befunde (ABO-Eigenschaften, Rhesusfaktor, Antikörpersuchtest, serologische Verträglichkeitsprobe)

Bei Mädchen und gebärfähigen Frauen sollten die Rhesusformel und Kell berücksichtigt werden. Unmittelbar vor der Transfusion sind vom transfundierenden Arzt oder unter seiner direkten Aufsicht der ABO-Identitätstest am Empfänger vorzunehmen und das Ergebnis schriftlich zu dokumentieren. Der ABO-Identitätstest kann auch zusätzlich bei dem zu transfundierenden EK durchgeführt werden. Gegebenenfalls müssen weitere Blutgruppenmerkmale und Antikörper bestimmt werden.

Bestrahlte Erythrozytenkonzentrate

Die Übertragung vermehrungsfähiger, immunkompetenter Lymphozyten mit Blutprodukten kann besonders bei immungeschwächten Patienten zu einer Graft-versus-Host-Reaktion (GvHD) führen. Daher müssen zellhaltige Blutprodukte für solche Patienten mit 30 Gy bestrahlt werden, um eine GvHD zu verhindern.

Gewaschene Erythrozytenkonzentrate

Gewaschene EK sind nur bei Patienten indiziert, bei denen trotz Gabe von leukozytendepletierten EK in additiver Lösung Unverträglichkeitserscheinungen auftreten oder klinisch relevante Antikörper gegen IgA oder andere Plasmaproteine nachgewiesen wurden.

Kryokonservierte Erythrozytenkonzentrate

Kryokonservierte EK werden nur für Patienten mit komplexen Antikörpermischungen oder mit Antikörpern gegen ubiquitäre Antigenen, die nicht anders versorgt werden können, verwendet.

2.4.2 Thrombozytenkonzentrate

Thrombozytengaben erfolgen bei Thrombozytopenien bzw. Thrombozytopathien je nach klinischer Notwendigkeit. Bei Patienten ohne Risikofaktoren für eine Blutungskomplikation ist eine Substitution bei Thrombozytenwerten $\leq 10.000/\mu\text{l}$ indiziert.

Thrombozyten sollten in der Regel ABO-kompatibel transfundiert werden. Weiterhin sollte das Merkmal D berücksichtigt werden, da auch durch Thrombozytenkonzentrate eine Immunisierung möglich ist. Aus diesem Grund sollte auch bei bei D-negativen Frauen im gebärfähigen Alter eine Anti-D-Prophylaxe erfolgen, wenn die Gabe von D-positiven Thrombozytenkonzentraten nicht vermeidbar ist.

Bei Alloimmunisierung gegen HLA- und/oder Plättchenantigene ist die Gabe von Apherese-Thrombozytenkonzentraten, welche von einzelnen Spendern gewonnen und auf ihre Antigeneigenschaften getestet wurden, indiziert.

Besteht beim immuninkompetenten Patienten das Risiko einer Graft-versus-Host-Reaktion, sollten die Präparate bestrahlt werden. Weiterhin sollten CMV-negative Präparate verabreicht werden, wenn das Risiko einer CMV-Erkrankung besteht (z.B. bei Patienten nach Knochenmarktransplantation). Allerdings ist durch die Leukozytendepletion, welche seit 2001 für alle Blutprodukte vorgeschrieben ist, eine CMV-Übertragung nahezu ausgeschlossen.

2.4.3 Gefrorenes Frischplasma

Indikationen: Für gefrorenes Frischplasma (GFP) gibt es nur wenige gesicherte Anwendungsgebiete. Bei folgenden klinischen Situationen wird GFP jedoch häufig eingesetzt:

- In Notfällen bei klinisch manifester Blutungsneigung und bei akuten Blutungen aufgrund einer komplexen Störung des Hämostasesystems (z.B. Blutung bei schwerem Leberparenchymschaden)
- schwere Verbrauchskoagulopathie (DIC) **in Ergänzung zu Antithrombin** und parallel zur Therapie der Grunderkrankung
- Massivtransfusionen mit Substitutionsbedarf von mehr als 10 Erythrozytenkonzentraten innerhalb von 24 Stunden.
- Plasmaaustausch und Erhaltungstherapie bei Thrombotisch-thrombozytopenischer Purpura (TTP, Morbus Moschcowitz)
- Faktor V- oder Faktor XI-Mangel, wenn Desmopressin (DDAVP) zur Blutstillung nicht ausreicht
- Austauschtransfusionen

Zur Durchführung einer reinen Volumensubstitution sind kolloidale Lösungen und Albumin, **nicht** jedoch gefrorenes Frischplasma geeignet.

Dosierung: In erster Linie ist das klinische Bild entscheidend. Als Faustregel können gerinnungsphysiologische Untersuchungen herangezogen werden:

1 ml GFP pro kg Körpergewicht erhöht den Gehalt an Gerinnungsfaktoren im Patienten um etwa 1-2%

Bei Massivtransfusionen sollten nach Gabe von je 8 Erythrozytenkonzentraten je 4 (600-800 ml) Einheiten GFP transfundiert werden.

Anwendung: Vor der Anwendung muss sich der Arzt von der Korrektheit der Begleitpapiere, von der Identität des Patienten und der ABO-Blutgruppenverträglichkeit überzeugen. GFP wird bei $<-30^{\circ}\text{C}$ gelagert. Unmittelbar vor der Infusion wird GFP bei Temperaturen nicht über 37°C aufgetaut. Alle Proteinniederschläge (Kryoproteine) müssen gelöst sein. GFP sollte rasch über einen Standardfilter (Porengröße 170-230 μm) transfundiert werden, dabei muss auf mögliche Zeichen einer Volumenüberlastung geachtet werden.

2.4.4 Stammzellen

Hämatopoetische Stammzellen zeichnen sich durch ihre Fähigkeit zur Selbsterneuerung und zur Ausdifferenzierung in verschiedene Blutzelllinien aus. Sie sind in der Lage, durch fortwährende Zellteilung im Knochenmark permanent Blutzellen herzustellen. Alle Zellen des peripheren Blutes stammen von diesen pluripotenter Zellen ab. Hämatopoetische Stammzellen werden Patienten transfundiert, wenn es nach einer Hochdosischemotherapie gegen maligne Tumoren zu einer ausbleibenden oder zumindest stark verzögerten Blutbildung kommen würde. Nach einer Zeit von ca. 2 Wochen haben sich diese Zellen im Knochenmark angesiedelt und beginnen mit ihrer Proliferation (Engraftment).

Je nachdem, ob die hämatopoetischen Stammzellen vom Patienten selbst oder von einem gesunden Spender stammen, spricht man von einer **autologen** oder **allogenen Stammzelltransplantation**. Bei der autologen Transplantation werden dem Patienten eigene Zellen entnommen, tiefgefroren und später, nach einer Hochdosischemotherapie, retransfundiert. Im Fall einer allogenen Stammzelltransplantation stammen die Zellen von

einem gesunden Spender. Ausgewählt für die Transplantation wird der verwandte oder unverwandte Spender bezüglich der HLA-A-, HLA-B-Antigene sowie der Klasse II-Antigene DRB1. Da es nicht für alle potentiellen Empfänger von hämatopoetischen Stammzellen einen HLA-identischen Spender gibt, müssen gelegentlich nicht vollständig kompatible Stammzellspender akzeptiert werden. Bei der Suche nach einem passenden Spender beginnt man zunächst bei den unmittelbaren Verwandten. Wenn in diesem Kreis niemand gefunden wird, setzt man die Suche unter den Blutsverwandten der erweiterten Familie fort. Schließlich greift man auf unverwandte Spender zurück, die von Spenderorganisationen in Datenbanken registriert sind. Bei der Transplantation von hämatopoetischen Stammzellen haben die HLA-Merkmale eindeutig Vorrang vor den ABO-Blutgruppenmerkmalen. Daraus folgt, dass ABO- und Rhesus(D)-ungleiche Transplantationen durchaus stattfinden. Bei ABO-ungleich transplantierten Patienten ändert sich die Blutgruppe, wenn die Erythrozyten des Patienten aufgrund der natürlichen Alterung allmählich verschwinden und die Blutzellen des Transplantates zunehmend in der Zirkulation angetroffen werden. Bei der serologischen Untersuchung von Blutproben solcher Patienten beobachtet man dann eine sogenannte Mischfeldagglutination.

Eine autologe Stammzelltransplantation ist dann sinnvoll, wenn die zu behandelnde Tumorerkrankung auf eine Chemotherapie gut anspricht. Nur dann können durch eine Hochdosischemotherapie die malignen Zellen abgetötet werden und der Patient nach der Retransfusion der Stammzellen als geheilt angesehen werden. Indikationen zur autologen Stammzelltransplantation sind im allgemeinen maligne Erkrankungen ohne Beeinflussung der Blutbildung, wie Lymphome, Plasmozytome oder auch Keimzelltumore. Eine allogene Stammzelltransplantation wird dagegen durchgeführt bei erworbenen oder angeborenen Erkrankungen der hämatopoetischen Stammzellen, die die Blutbildung betreffen, wie (einige) Leukämien, aplastische Anämie oder Thalassämie.

Die Stammzellen befinden sich beim gesunden Menschen fast ausschließlich im Knochenmark und nur in sehr geringen Mengen im peripheren Blut. Durch die Gabe des Wachstumsfaktors G-CSF (Granulozyten-Kolonie-stimulierender Faktor) kann jedoch eine Ausschwemmung der hämatopoetischen Stammzellen aus dem Knochenmark in das periphere Blut bewirkt werden. Hierzu wird der Wachstumsfaktor G-CSF dem Patienten oder Spender für einige Tage subcutan verabreicht. Üblicherweise steigen die Leukozytenzahlen daraufhin auf übernormale Werte an. Parallel dazu werden auch die hämatopoetischen Stammzellen zur Proliferation angeregt und finden sich dann vermehrt im peripheren Blut. Bei den zu behandelnden Patienten lässt sich durch eine Zytostatikagabe mit anschließender Applikation des Wachstumsfaktors G-CSF eine Erhöhung der Stammzellzahl auf das 20 bis 100-fache erreichen. Bei einer autologen Transplantation werden derzeit mindestens 2×10^6 hämatopoetische Stammzellen/kg Körpergewicht des Patienten empfohlen. Allogene Transplantationen sind mit höheren Risiken verknüpft und werden daher nur in spezialisierten Zentren durchgeführt.

Identifiziert werden die hämatopoetischen Stammzellen innerhalb der übrigen Blutzellen durch den Stammzellmarker CD34, einem Glykoprotein in der Zellmembran. Die Zahl der Stammzellen wird durchflußzytometrisch (Detektion der an die CD34-Antigen zuvor gebundenen fluoreszierenden Antikörper per Laser) bestimmt.

Die hämatopoetischen Stammzellen werden durch den Einsatz von Zellseparatoren gewonnen. Zwischen Zellseparator und Patient bzw. Spender existiert dabei ein extrakorporaler Kreislauf. Das Zellseparationsverfahren beruht auf der Auftrennung des Blutes durch Zentrifugation. Nach der Sammlung der Stammzellen werden diese in den allermeisten Fällen eingefroren und nach einer Hochdosistherapie transfundiert. Bei einer allogenen Transplantation werden die Stammzellen in der Regel nicht eingefroren, da die Hochdosischemotherapie des Patienten zeitlich parallel zur Mobilisierung des

Stammzellspenders durchgeführt wird und somit die Stammzellen direkt nach Sammlung transfundiert werden können.

Die gewonnenen Stammzellkonzentrate werden nach Zusatz eines Gefrierschutzmediums eingefroren (kryokonserviert) und schließlich in flüssigem Stickstoff bei -196°C gelagert. Aus einer gleichzeitig eingefrorenen Referenzprobe ist der Nachweis der Vitalität der hämatopoetischen Stammzellen zu führen. Hierbei werden die Stammzellen mittels eines Zellfarbstoffs auf Integrität geprüft. Die Herstellung mindestens eines sogenannten Backup-Konzentrates, einer zusätzlichen Transplantationsdosis, wird dringend empfohlen, um im Falle des Verlustes eines Präparates, z.B. durch einen Beuteldefekt, die Transplantation mit dem dann noch vorhandenen Backup-Konzentrat durchführen zu können.

3. Unerwünschte Wirkungen

Nebenwirkungen - Transfusionsreaktionen

Definitionsgemäß sind unerwünschte Wirkungen eines Arzneimittels (UAW) nur solche, die bei bestimmungsgemäßem Gebrauch auftreten. Klinisch lassen sich Nebenwirkungen in akute, während oder direkt nach Transfusion auftretende, und chronische einteilen. Unter den akuten nimmt der „Transfusionszwischenfall“, durch eine akute, intravasale Hämolyse hervorgerufene, wegen seines oft tödlichen Ausgangs, eine Sonderstellung ein.

3.1 Akute unerwünschte Wirkungen

3.1.1 Hämolytische Transfusionsreaktionen

Hämolytische Transfusionsreaktionen werden durch Alloantikörper ausgelöst, die sich gegen Erythrozytenantigene richten. Die Antikörper hämolysieren dabei nicht direkt, sondern meist über die Aktivierung des Komplementsystems. Abhängig vom Ort kann man eine **intravasale** und eine **extravasale** Hämolyse unterscheiden.

Geschwindigkeit und Schweregrad der Hämolyse sind abhängig von Titer und Art der Antikörper (IgM wirksamer als IgG), Antigendichte, Komplementeigenschaften, der Beschaffenheit des Monozyten-Makrophagen-Systems, bzw. ob es sich um eine intravasale oder extravasale Hämolyse handelt.

3.1.1.1 Intravasale Hämolyse

Die intravasale Hämolyse ist aufgrund ihres dramatischen Verlaufes besonders gefürchtet. Sie erfolgt nach Aktivierung des Komplementsystems bis C9. Auslöser sind vor allem die zur Klasse IgM gehörenden Isoagglutinine und zur IgG Klasse gehörenden Isohämolysine Anti-A und Anti-B. Es kommt zu solch schwerer Schädigung der Erythrozytenmembran, daß der Zellinhalt austritt.

3.1.1.2 Extravasale Hämolyse

Zur extravasalen Hämolyse kommt es bei fehlender oder inkompletter Komplementaktivierung. Anschließend folgt ein intrahepatischer oder intralialer Abbau. Auslöser sind inkomplette IgG-Antikörper, die Komplement binden (z. B. Antikörper des Kell- oder Duffy-Systems), bzw. nicht binden (Antikörper des Rh-Systems).

3.1.1.3 Klinik und Therapie der hämolytischen Transfusionsreaktion

Die Sofortreaktion tritt während oder 1 bis 2 Stunden nach der Transfusion auf. Sie ist gekennzeichnet durch Fieber, Schüttelfrost, Kaltschweißigkeit, Unwohlsein, Kreuzschmerzen, Hautrötung, Brechreiz, Kopfschmerz, evtl. Brust/Flankenschmerz, Tachykardie, Bronchospasmus und Atemnot.

Durch die massive Freisetzung von Histamin und histaminähnlichen Substanzen kommt es zur Gefäßdilataion mit Erhöhung der Gefäßpermeabilität und einem Flüssigkeitsabstrom ins Interstitium mit anschließendem Volumenmangel. Eine Nierenschädigung ist sowohl durch den Volumenmangel, als auch durch die Verstopfung der Tubuli durch große Mengen an freiem Hämoglobin bedingt. Eine Verbrauchskoagulopathie kann das Krankheitsbild noch verkomplizieren.

Therapeutisches Vorgehen:

1. Transfusion stoppen, restliche Konserve und Transfusionsbesteck asservieren
2. Venösen Zugang offen halten
3. Herz-Kreislauf-Monitoring
4. Corticosteroide, Antihistaminika (H1- und H2-Blockade)
5. Volumensubstitution
6. Gleichzeitig die Diagnose sichern
 - ABO und Rhesusbestimmung von Empfänger, Konserve und Pilotröhrchen
 - Kreuzprobe (major und minor-Ansatz) aus Empfängerblut vor und nach der Transfusion
 - Freies Hämoglobin, LDH, Haptoglobin, Bilirubin im Serum, Blutbild
 - Komplette Antikörpersuche im Blut vor der Transfusion
 - Sterilkontrolle des Blutproduktes
 - Blutkulturen beim Empfänger
7. Aufrechterhaltung oder Verbesserung der Nierenperfusion (z. B. Dopamin)
8. Hämodialysebehandlung bei freiem Hämoglobin
9. Diuresesteigerung mit Furosemid
10. Therapie der Verbrauchskoagulopathie

Das Risiko eines tödlichen Ereignisses durch eine Transfusion ist kleiner als 1:100.000. Die häufigste Ursache ist dabei menschliches Versagen, welches meist durch sachgerechte Anwendung des „**bed-side-Tests**“ vermeidbar gewesen wäre.

3.1.2 Febrile nichthämolytische Transfusionsreaktionen

Definiert als transfusionsbedingter Anstieg der Körpertemperatur um mindestens 1°C, ohne Hämolysezeichen. Die Häufigkeit liegt bei 1:200 Transfusionen. Als Ursache kommen Allo-Antikörper gegen transfundierte Leukozyten und Thrombozyten (v. a. HLA-Antikörper) oder Eiweißunverträglichkeiten in Betracht. Pathophysiologisch werden freigesetzte Pyrogene aus Leukozyten verantwortlich gemacht. HLA-Antikörper können anhand eines LCT (Lymphozytotoxischer Test) und dem MAIPA (Monoclonal Antibody-specific Immobilization of Platelet Antigens Assay) differenziert werden. Um eine solche Immunisierung und die Reaktion zu vermeiden, sollen leukozytengefilterte Präparate transfundiert werden. In allen Fällen ist eine bakterielle Kontamination der Blutprodukte durch Anlegen von Kulturen auszuschließen.

3.1.3 Allergische Transfusionsreaktionen

Sie werden verursacht durch lösliche Bestandteile des Blutplasmas. Die Reaktion tritt bereits nach der Übertragung weniger Milliliter Blut, IgE vermittelt durch Anlagerung der Fc-Rezeptoren an die Mastzellen, ein. Dies führt zur Ausschüttung von Histamin, Serotonin und PAF (plättchenaktivierender Faktor) aus den Mastzellen. Häufig tritt diese Reaktion bei Patienten mit IgA-Mangel und gleichzeitigen IgA-Antikörpern auf. Ist dieses Phänomen bekannt, sollte man künftig gewaschene Erythrozytenkonzentrate oder autologes tiefgefrorenes Eigenblut transfundieren.

Therapie: Schockbekämpfung, Corticoide, Antihistaminika

3.1.4 Urtikarielle Transfusionsreaktionen

Diese Reaktion tritt relativ häufig auf, meist lokal, selten generalisiert und spricht gut auf Antihistaminika und Cortison an. Tritt diese Hautreaktion in diesem Zusammenhang häufig oder regelmäßig auf, sollte man die Applikation gewaschener Konzentrate erwägen.

Die urtikarielle ist die einzige Transfusionsreaktion, bei der die Blutübertragung nicht zwingend abgebrochen werden muß.

3.1.5 Embolie

Das Vorkommen von Detritusmikroembolien, die durch die Aggregation von Leukozyten und Thrombozyten ausgelöst wurden, ist heutzutage durch die Verabreichung buffy coat-freier Erythrozytenkonzentrate und entsprechender Mikroaggregatfilter in den Transfusionsbestecken nicht mehr von klinischer Bedeutung.

3.1.6 Hypervolämie

Die Hypervolämie ist eine vor allem bei jungen Menschen mit kleinem Blutvolumen und Herz-/Niereninsuffizienten älteren Patienten beobachtete Komplikation. Durch erhöhte Blutvolumina kommt es zu Kreislaufdekompensation mit Lungenödem.

3.1.7 Transfusionsassoziierte akute Lungeninsuffizienz (TRALI)

Bei der transfusionsassoziierten akuten Lungeninsuffizienz (TRALI) handelt es sich um ein durch granulozytenspezifische und in seltenen Fällen auch HLA-Antikörper ausgelöstes, akutes Krankheitsbild. In den meisten Fällen stammen die Antikörper vom Spender und reagieren mit den Granulozyten des Empfängers. Seltener ist die Reaktion von Antikörpern des Empfängers mit transfundierten Spendergranulozyten. Durch Anlagerung der Antikörper an die Granulozyten kommt es zur Aktivierung derselben mit Freisetzung von Proteasen und Zytokinen, was zu einer Hyperpermeabilität der Gefäßwände mit Ausbildung eines interstitiellen Lungenödems.

Symptome sind Husten, Kurzatmigkeit, erhöhte Atemfrequenz und Fieber 2-6 Stunden nach Transfusion. Differentialdiagnostisch muß es von einer pulmonalen Infektion und einer Hypervolämie abgegrenzt werden. Die Transfusion muß umgehend abgebrochen werden. Die meisten Patienten werden beatmungspflichtig. Diagnostisch wegweisend ist die Bestimmung granulozytärer und HLA-Antikörper beim Patienten und Spender. Nach der AB0-Verwechslung ist TRALI die häufigste Transfusionsreaktion mit tödlichem Ausgang.

3.2 Verzögerte Transfusionsreaktionen

3.2.1 Verzögerte hämolytische Transfusionsreaktion

3.2.1.1 Erstimmunisierung

Im Rahmen einer Erstimmunisierung durch Bluttransfusionen erscheinen Antikörper gegen Blutgruppenmerkmale nach etwa 1 bis 3 Wochen. Sie führen zur Hämolyse entsprechender Spendererythrozyten unter Fieber, Übelkeit, Ikterus und Anämie.

3.2.1.2 Boosterung eines Antikörpers

Die Konzentration eines Antikörpers kann bei der Transfusionsvorbereitung zu einem späteren Zeitpunkt bereits unter die Nachweisgrenze gefallen sein. Er fällt dann weder in der Kreuzprobe noch bei der Antikörpersuche auf. Die neuerliche Transfusion des nicht erkennbar unverträglichen Blutes kann eine verzögerte hämolytische Transfusionsreaktion auslösen. Die Symptome (Fieber, Nausea, Ikterus und Anämie) treten innerhalb weniger Stunden bis Tage nach Transfusion auf.

3.2.2 Transfusionshäm siderose

Jede Konserve enthält 250 mg an Hämoglobin gebundenes Eisen. Regelmäßige Gaben von Erythrozytenkonzentraten, z. B. bei einer chronischen Anämie führen zu einer Eisenüberladung, wovon v. a. Leber, Herz und endokrine Drüsen betroffen sind. Eine Manifestation tritt in jedem Fall nach 100 Erythrozytenkonzentraten auf. Die Therapie mit Desferrioxamin wirkt der Eiseneinlagerung durch Chelatbildung entgegen, vermag sie aber nicht zu verhindern.

3.3 Graft-versus-host-Reaktion (GvHD)

Die GvHD ist eine seltene aber gefürchtete Komplikation der Bluttransfusion. Sie kommt v.a. bei immundefizienten oder immunsupprimierten Empfängern vor und ist Folge der Absiedlung von peripheren Stammzellen und/oder immunkompetenten Lymphozyten des Spenders im immunologisch inkompetenten Empfängerorganismus. Da auch der Immunapparat von Früh- und Neugeborenen noch nicht völlig ausgereift ist, sind diese besonders gefährdet.

Schwere Fälle imponieren durch Fieber, Hautausschläge, Hepatitis, Diarrhöen und Infekte und können tödlich verlaufen. Zur Prävention erfolgt bei diesen Patienten eine Bestrahlung der Blutprodukte (EK und TK) mit 30Gy. Die Gefahr ist um so größer je ähnlicher die Histokompatibilitätskomplexe von Spender und Empfänger sind. Aus diesem Grund sollen auch Spenden für Blutsverwandte unterbleiben.

3.4 Posttransfusionelle Purpura (PTP)

Kommt es 3-14 Tage nach der Transfusion zellulärer Blutprodukte (Erythrozytenkonzentrat, Thrombozytenkonzentrat) zu einer schweren Thrombozytopenie, so sollte an die seltene Komplikation einer posttransfusionellen Purpura (PTP) gedacht werden. Der Nachweis von Antikörper gegen thrombozytäre Antigene ist für die Diagnose wegweisend. Meist sind diese gegen das Antigen HPA-1a gerichtet (s. 1.7 *Neonatale Alloimmunthrombozytopenie (NAIT)*, S. 25). In der Regel sind Frauen mit dem Phänotyp HPA-1bb betroffen, die im Rahmen von Schwangerschaften und durch Transfusionen immunisiert wurden. Die Therapie besteht in der intravenösen Applikation von IgG.

4. Infektionen

Die seltenen durch Bluttransfusionen verursachten Todesfälle sind auf die Übertragung pathogener Agentien zurückzuführen. Die transfusionsrelevanten Krankheitserreger zeigen charakteristische pathophysiologische Gemeinsamkeiten:

1. Lange Verweildauer im strömenden Blut
2. Lange Inkubationszeit und oft inapparenter Verlauf
3. Chronifizierung
4. Gute Stabilität unter Kühlschrankbedingungen (4°C) bzw. auch in Plasmaprodukten
5. Fehlende Nachweisverfahren in der diagnostischen Lücke während der Inkubationszeit

Prinzipiell hängt die Übertragung vom Spender, vom Blutprodukt und dem Empfänger ab. Auf der Spenderseite bestimmen die Epidemiologie (Häufigkeit der Erkrankung) und die Art des Erregers (Virulenz, Dauer der Virämie) sowie die Verfügbarkeit sensitiver Testsysteme zur Erfassung potentiell infektiöser Personen die Häufigkeit einer durch Transfusion übertragenen Erkrankung. Auch das Produkt nimmt Einfluss; bestimmte Keime werden in manchen Fraktionen angereichert oder inaktiviert (Lagerungsstabilität, Virusinaktivierungsverfahren). Auch der Empfänger bestimmt die Relevanz der Infektion. Kleinkinder und immunsupprimierte Patienten weisen eine erhöhte Empfindlichkeit für Infektionen auf.

Im Einzelnen unterscheidet man zwischen viralen, bakteriellen und parasitären Infektionen.

4.1 Virale Infektionen

4.1.1 Hepatitisviren

Die weitaus größte Bedeutung haben virale Infektionen, zu denen auch die Erreger einer Posttransfusionshepatitis zählen. Man versteht darunter eine Leberentzündung, die im Anschluß (bis zu 1/2 Jahr) an eine Transfusion auftritt. Bei der Diagnosestellung sind stets nicht-infektiöse Ursachen und die Infektionen durch hepatotrope Erreger (z. B. CMV, EBV, etc.) auszuschließen. Von besonderer Bedeutung sind dabei die Erreger der Hepatitis B und C, während Hepatitis A, D, E und G eine untergeordnete Rolle spielen.

	Hepatitis A	Hepatitis B	Hepatitis C	Hepatitis D	Hepatitis E	Hepatitis G
Durchmesser	28-32 nm	42 nm	60-80 nm	32-37nm	32nm	?
Erbmaterial	RNA	DNA	RNA	RNA	RNA	RNA
Hülle	fehlt	Lipid, KH	Lipid	HBsAg	fehlt	Protein
Prävalenz (BRD)	10%	4%	0,5-1,5%	>0,1%	-	1-2%
Übertragung	enteral	parenteral	parenteral	parenteral	enteral	parenteral
Inkubationszeit (Tage)	ca. 15-45	50-180	14-60	21-100	30-40	55-70
Chronifizierung	nein	5-15%	50-70%	ja	nein	nein
fulminanter Verlauf	ja	ja	selten	ja	Gravidität	nein
Impfung	aktiv + passiv	aktiv + passiv	nein	nein (HBV!)	nein	nein
gesunder Carrier	nein	ja	ja	teilweise	nein	ja
Serologischer Test	ja	ja	ja	ja	nein	ja
PCR	ja	ja	ja	ja	ja	ja

4.1.1.1 Hepatitis B

Die Hepatitis B wird durch ein ca. 42 nm großes DNA-Virus übertragen, welches zur Gruppe der Hepadnaviren gehört.

Übertragungswege: Blut- und Blutprodukte (Übertragungsrisiko bis $1:10^5$ - 10^6), Sexualkontakte, Endoskopien, Tätowierungen, Piercing, parenteraler Drogenabusus.

Inkubationszeit: Sie beträgt 50-180 Tage. Anschließend folgt die akute Infektionsphase mit ikterischem oder anikterischem Verlauf.

Verlaufsformen: a) In 80-90% der Fälle gutartiger Verlauf mit vollständiger Heilung und Elimination der Viren.

b) Chronische Verlaufsform mit persistierenden Viren. Dabei kann man 3 Formen unterscheiden: 1. Die progredient verlaufende chronisch aggressive Hepatitis mit Virusvermehrung, 2. die nur mit geringen Leberveränderungen einhergehende chronisch persistierende Hepatitis ohne Virusvermehrung und 3. die gesunden Virusträger ohne Symptomatik und minimalen Leberveränderungen.

c) In 0,5-1% der Fälle kommt es zum Tod durch akutes Leberversagen (fulminanter Verlauf).

Klinik: Subfebrile Temperaturen, Abgeschlagenheit, Appetitlosigkeit, Übelkeit, Arthralgien, Lebervergrößerung, evtl. Ikterus

Diagnose: Infektionsserologie, Virusnachweis (PCR), Leberwerte, Leberbiopsie

Testverfahren für Hepatitis B:

Marker	Definition	Bedeutung
HBsAg	Oberflächenprotein des HBV	akute oder chronische Hepatitis B-Infektion; frühester Marker
HBeAg	bei der Virusreplikation modifiziertes HBV-Kernantigen	Infektiositätsmarker: Hinweis auf hohe Infektiosität
HBV-DNA	Desoxyribonukleinsäure des Virus	direkter Virusnachweis (per Polymerasekettenreaktion)
Anti-HBs	Antikörper gegen HBsAg	abgelaufene Hepatitis B (in Verbindung mit Anti-HBc); Immunität (einziger Antikörper nach Hepatitis B-Impfung)
Anti-HBc	Antikörper gegen HBcAg (IgG und IgM)	Durchseuchungsmarker; positiv nach HBV-Kontakt (akute, chronische, abgelaufene Hepatitis B)
Anti-HBc-IgM	IgM-Antikörper gegen HBcAg	in hohen Titern beweisend für eine akute Hepatitis B-Infektion (niedrige-mittlere Titer auch bei chronischen Infektionen möglich)
Anti-HBe	Antikörper gegen HBeAg	löst HBeAg ab; spricht in der Regel für geringe oder fehlende Infektiosität

Prophylaxe: Aktivimmunisierung bereits im Kindesalter empfehlenswert, nach Exposition Simultanimpfung aktiv und passiv.

4.1.1.2 Hepatitis C

Die Hepatitis C (früher auch als Hepatitis „non-A non-B“ bezeichnet) wird durch ein 60-80 nm großes RNA-Virus übertragen, das zur Gruppe der Flaviviren gehört. Die Genome dieser RNS-Stränge weisen eine sehr große Heterogenität auf, was eine Einteilung in 6 Genotypen und mehr als 30 Subtypen erforderlich macht. Aufgrund dieser genetischen Variabilität der Nukleotidsequenzen (Mutation) ist es dem Virus möglich dem Immunsystem zu entkommen und so zu einer hohen Rate an chronischen Infektionen zu führen.

Übertragungswege: Blut- und Blutprodukte (Übertragungsrisiko: bis $<1:10^6$), Sexualkontakte, Endoskopien, Tätowierungen, parenteraler Drogenabusus.

Inkubationszeit: 7 Wochen (Spanne von 3-20 Wochen). Die Hepatitis-C-RNA ist bereits nach 1-3 Wochen nachweisbar. 30-50 Tage nach Infektion kommt es zum Anstieg der GPT gefolgt von möglichen Symptomen. Antikörper werden nach ca. 60 Tagen gefunden.

Verlaufsformen: a) Klinisch inapparenter Verlauf mit einer Dauer von 2-12 Wochen
b) Akute Hepatitis, die in seltenen Fällen in einen fulminanten Verlauf mit Leberversagen übergehen kann.
c) Akute selbstlimitierende Hepatitis mit Rückgang der GPT auf Normalwerte und nicht mehr nachweisbarer RNA (PCR negativ), aber noch positivem Anti-HCV-Test.
d) Chronische Infektionen mit positivem PCR-Ergebnis, erhöhter oder normaler GPT mit und ohne Symptomatik. Häufiger Übergang in eine Leberzirrhose oder ein Leberzellcarcinom (HCC) nach 20-30 Jahren.

Klinik: Abgeschlagenheit, schnelle Ermüdbarkeit, Übelkeit, Appetitlosigkeit, Arthralgien, Muskelschmerzen, Gewichtsverlust, subfebrile/ febrile Temperaturen, Ikterus nur in 30% der Fälle.

Diagnose: Infektionsserologie, Virusnachweis, Leberwerte, Leberbiopsie.

Testverfahren:

- EIA (Enzym-Immuno-Assay) Suchtest auf Hepatitis-C-Antikörper
- RIBA (Rekombinanter Immuno Blot Assay) Bestätigungstest für Hepatitis-C-Antikörper
- HCV-PCR (Polymerase-Kettenreaktion) Virusnachweis als Screening- und Bestätigungstest

Therapie: Interferon in Abhängigkeit vom Genotyp, Lebertransplantation im Endstadium der Zirrhose oder beim Leberzellcarcinom.

Prophylaxe: Derzeit ist noch kein aktiver oder passiver Impfstoff erhältlich.

4.1.2 Retroviren

In die Familie der Retroviren werden alle Viren mit einer während ihres Vermehrungszyklus vorkommenden Rückwärtsstrangtranskription (RNS-abhängige DNS-Synthese) eingeordnet. Der Name Retroviren leitet sich vom spezifischen Enzym, der reversen Transkriptase ab.

HIV 1 und 2 (human immunodeficiency virus) sind die Erreger des „acquired immune deficiency syndrome“ AIDS. HIV 1 und 2 haben sehr ähnliche Kernproteine, aber unterschiedliche Hüllproteine, was eine Kreuzreaktivität bei den unterschiedlichen Testverfahren verursachen kann.

Übertragungswege: Blut- und Blutprodukte, Sexualkontakte, Endoskopien, Tätowierungen, parenteraler Drogenabusus.

Inkubationszeit und Klinik: Die Inkubationszeit der eigentlichen HIV-Infektion schwankt zwischen wenigen Tagen bis mehreren Wochen. Hieraus ergibt sich das Problem der diagnostischen Lücke für die Blutspende, in der ein infizierter Patient noch nicht erkannt werden kann. Meist wird jedoch ein Anti-HIV-Test nach ca. 20 Tagen positiv. Die Infektion verläuft meist inapparent, gelegentlich mit Fieber, Pharyngitis, monoklonalem Exanthem, nuchalen und cervicalen Lymphknotenschwellungen, evtl. Hepatosplenomegalie. Die Dauer bis zum eigentlichen Ausbruch von AIDS beträgt bei HIV 1 ca. 2 bis 5 Jahre, Bei HIV 2: ca. 15 bis 20 Jahre. HIV 1 und 2 befallen T-Helferzellen, die an der Virusreproduktion zugrunde gehen. Dadurch nimmt die Anzahl der Helferzellen ab. Sinkt der Helferzellanteil unter einen bestimmten Wert, ist die Elimination permanent eindringender Fremdartigene nicht mehr gewährleistet. Es kommt zu opportunistischen Infektionen oder malignen Erkrankungen. Es entwickelt sich das Vollbild des erworbenen Immundefektsyndroms. Zu den bekanntesten opportunistischen Erregern zählen Pneumocystis carinii, Toxoplasmose, Isospora belli, Cryptosporidien, Candida, Aspergillus, Kryptococcus neoformans, Histoplasma capsulatum, Mykobakterien, Herpesviren und Cytomegalieviren.

Nachweisverfahren: Antikörpernachweis: EIA (Enzym-Immuno-Assay), Westernblot
 Antigennachweis: p24-Ag, PCR qualitativ und quantitativ (Viruslast)
 Lymphozytensubpopulationen (CD4/ CD8)

Übertragungsrisiko bei Bluttransfusionen: < 1:10⁶

Prophylaxe: Derzeit ist noch kein aktiver oder passiver Impfstoff erhältlich.

4.1.3 Cytomegalievirus (CMV)

Das CMV gehört wie das Ebstein-Barr-Virus in die Gruppe der Herpesviren. Es ist ein 150-200 nm großes DNA-Virus, das sowohl zellassoziiert, als auch frei im Serum vorkommt. Es hat einen direkten zytopathischen Effekt auf die befallenen Zellen und kann eine Beeinträchtigung der zellulären Immunabwehr zur Folge haben.

Es gehört zu den häufigsten Infektionserregern beim Menschen, ca. 50% aller Blutspender in Deutschland weisen Antikörper gegen das Virus auf. Die Durchseuchung nimmt kontinuierlich bis zum 20. Lebensjahr zu, danach nur noch wenig.

Übertragungswege: Bluttransfusionen, Sexualkontakte und perinatal (während der Geburt).

Klinik: Fieber, Lymphknotenschwellung, Hepatitis, Milzschwellung, Leuko- und Thrombozytopenie, meist jedoch inapparent.

Drei verschiedene Formen der CMV-Infektion sind möglich:

1. die Primärinfektion = erster Viruskontakt
2. die Reaktivierung = erneuter Schub nach bereits durchgemachter Infektion
3. die Reinfektion = nach bereits durchgemachter Infektion, erneuter Kontakt mit einem CMV-Stamm anderer Antigenität

Nachweisverfahren: IgM und IgG-Antikörperbestimmung als KBR (Komplementbindungsreaktion), EIA, IFT (Immunfluoreszenztest), Bestimmung des EA (Early Antigen) zur Klärung einer Reaktivierung, PCR als Virusnachweis.

Prävention: Ein besonders hohes Infektionsrisiko haben leukozytenhaltige Produkte, da CMV die Leukozyten infiziert. Von Bedeutung ist die Cytomegalie insbesondere in der Pädiatrie, in der Transplantationsmedizin und für immunsupprimierte bzw. immungeschwächte Patienten, da es zu der gefürchteten CMV-Pneumonie mit hoher Mortalität kommen kann, in der Regel jedoch nicht für immunkompetente Menschen. Alternativ kann man die Konserven serologisch auf CMV testen oder leukozytendepletiertes Blut verabreichen.

Es existieren noch weitere Viruserkrankungen, die für die Transfusionsmedizin in Deutschland derzeit von untergeordneter Bedeutung sind: Hepatitis A, Parvovirus B19 (Erreger der Ringelröteln), HTLV I (adulte T-Zell-Leukämie), HTLV II (mit Haarzelleukämie assoziiert), EBV (Mononukleose), sowie humane Herpesviren (z.B. Dreitagefieber).

4.2 Bakterien

Eine bakterielle Kontamination von Blutkonserven ist seit der Einführung geschlossener Blutentnahmesysteme sehr selten geworden.

Günstig wirkt sich die beträchtliche bakterizide Wirkung des Blutes, besonders auf grampositive Erreger innerhalb der ersten 12 Stunden der Lagerung aus (Antikörper, Komplement, Phagozytose durch Granulozyten). Dennoch können einige Keime auch bei 4°C wachsen (z. B. Pseudomonas- und Proteus-Spezies).

Die Häufigkeit eines tödlichen Transfusionszwischenfalls aufgrund Verkeimung von Erythrozytenkonzentraten wird auf 1:6.000.000 geschätzt. Wahrscheinlich ist die Zahl aufgrund vieler verkannter Infektionen jedoch weit höher anzusetzen. Dabei beinhaltet eine kontaminierte Konserve nicht nur eine extrem hohe Keimzahl (bis 10^7 Keime /ml), da Blut ein optimales Nährmedium bietet, sondern oft auch zusätzlich Pyrogene, die einen häufig nicht beherrschbaren Endotoxinschock auslösen.

Weniger gravierende Zwischenfälle werden oft als Unverträglichkeitsreaktionen fehlgedeutet. In einigen Fällen kann sich jedoch noch nach Tagen eine Sepsis entwickeln.

Eine Unterbrechung der Kühlkette verbessert die Wachstumsbedingungen und ermöglicht die Vermehrung der Bakterien. Deshalb muß auf eine strenge Einhaltung der Kühlkette geachtet werden. Eröffnete oder erwärmte Konserven müssen deshalb innerhalb von 6 Stunden transfundiert werden.

Prophylaktisch sind auch eine detaillierte Spenderanamnese und Untersuchung, sorgfältige Desinfektion der Punktionsstelle und die Verwendung einwandfreier Entnahmeinstrumente und Beutelsysteme wichtig.

Thrombozytenkonzentrate, die bei Raumtemperatur gelagert werden, sind aus diesem Grund besonders anfällig für ein Bakterienwachstum. Die Lagerung ist deshalb auf 5 Tage begrenzt. Die Zahl der kontaminierten Präparate wird hierbei auf 1:10.000 bis 1:100.000 geschätzt, abhängig davon, ob es sich um ein Thrombozytenkonzentrat aus einer Vollblutkonserve oder ein Thrombapheresepreparat handelt. Das Erregerspektrum umfaßt Streptokokken, Staphylokokken, Propionibakterien und Yersinien.

4.2.1 Treponemen - Syphilis

Treponema pallidum, der Erreger der Syphilis, gehört zur Familie der Spirochäten, spiralig aufgebauten 6-15 µm langen bakterienähnlichen Mikroorganismen.

Inkubationszeit: 2-4 Wochen

Übertragungswege: Sexueller Kontakt, Blutprodukte, diaplazentare Übertragung.

Klinik: Stadieneinteilung:

Primärstadium: Ulcus durum an der Inokulationsstelle und Befall der regionären Lymphknoten.

Sekundärstadium: Exanthem, Condylomata lata (generalisierte Hauterscheinungen).

Tertiärstadium: Gefäß- und ZNS-Befall, Chorioretinitis, Gummen.

Transfusionslues bricht typischerweise als Sekundärlues aus und weist eine Inkubationszeit von 4-5 Monaten auf.

Aufgrund ihrer Kälteempfindlichkeit sterben die Treponemen nach spätestens 72 Stunden bei Kühlschranktemperaturen ab, so daß Infektionen nur noch bei Frischblut bzw. Komponententransfusion auftreten können, wenn sie innerhalb 24 Stunden transfundiert werden oder wie Thrombozyten bei Raumtemperatur gelagert werden. Spender, die Antikörper gegen Treponemen aufweisen, werden generell von der Blutspende ausgeschlossen.

Nachweisverfahren:

- TPHA: Antikörpersuchtest, nach 9-12 Tagen positiv
- FTA-Abs-Test: IgG-Bestätigungstest, nach 9-12 Tagen positiv
- VDRL: Quantitative Titerbestimmung; unspezifischer Test; Beurteilung des Aktivitätsgrades der Erkrankung
- Cardiolipin: KBR (Komplementbindungsreaktion), quantitativ, unspezifischer Test, der nach 3-4 Wochen positiv wird. Gibt Aktivitätsgrad an.
- IgM-FTA-Test: Aktivitätsgrad
- PCR: direkter Erregernachweis

4.3 Parasitosen

4.3.1 Malaria

Ausgelöst durch Plasmodien (Sporozoen, Protozoen/Einzeller), die bei Stich einer Anophelesmücke übertragen werden. Es gibt 3 klinische Formen, die durch 4 menschenpathogene Plasmodienarten hervorgerufen werden:

Malaria tertiana: Erreger: Plasmodium ovale und Plasmodium vivax
Synchronisierung: 48 Stunden, d. h. Fieberschübe am 1. und 3. Tag usw.
Verlauf: Schwer therapierbar, jedoch nach ca. 3 Jahren selbst limitierend.

Malaria quartana: Erreger: Plasmodium malariae
Synchronisierung: 72 Stunden, 3-tägiges fieberfreies Intervall
Verlauf: Schwerwiegender Krankheitsverlauf, aber relativ gut therapierbar.

Malaria tropica: Erreger: Plasmodium falciparum
Synchronisierung: fehlt; unregelmäßige Fieberschübe
Verlauf: Schwerste Verlaufsform mit nicht selten tödlichem Ausgang, da nicht leicht diagnostizierbar, dafür dann jedoch gut therapierbar.

Eine Malaria kann über zelluläre, frische Blutprodukte übertragen werden. Aufgrund des zunehmenden Tourismus nehmen auch in Deutschland die Malariafälle zu. Aus diesem Grund werden Spender, die sich in Malariagebieten aufgehalten haben für mindestens 6 Monate von der Spende ausgeschlossen, und nur dann wieder zugelassen, wenn sie während dieser ganzen Zeit fieberfrei waren.

Nachweisverfahren: Erregernachweis: Blutausstrich, Dicker Tropfen, Acridinorangetest, PCR; Antikörpernachweis: IFT

Weitere Parasitosen, die durch Bluttransfusionen übertragen werden können, sind die Filariasis, die Chagas-Krankheit, die Toxoplasmose und die Babesiose. Sie haben zahlenmäßig in Deutschland (noch!) keine Bedeutung.

4.4 Prionen

Prion-Erkrankungen sind im Mensch- und Tierreich ubiquitär vorkommende Erkrankungen. Sie sind dadurch gekennzeichnet, dass die Infektiosität nicht durch Nukleinsäuren, sondern durch Proteine (Prionen, proteinaceous infectious particles) vermittelt wird. Die übertragbaren, spongiformen Encephalopathien (transmissible spongiform encephalopathies, TSEs) werden ätiologisch in

- a) sporadische Formen, d.h. die klassische Creutzfeldt-Jacobsche Erkrankung (sCJD),
- b) erbliche Formen, wie z.B. die Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS) Erkrankung und die
- c) übertragbaren Erkrankungen, wie z.B. iatrogene Creutzfeldt-Jacobsche Erkrankung (iCJD), Kuru und variante Creutzfeldt-Jacobsche Erkrankung (vCJD)

unterteilt.

Die sporadische CJD ist eine Erkrankung des höheren Lebensalters (mittleres Erkrankungsalter 60 Jahre) und äußert sich durch kognitive Defekte (Demenz) und

Myoklonus. Die vCJD betrifft hauptsächlich jüngere Patienten (30 Jahre) und ist durch psychiatrische sowie sensorische Symptome gekennzeichnet.

Bislang hat keiner der Empfänger von Blutkomponenten, die von Patienten gespendet wurden, die später an vCJD verstarben, eine vCJD entwickelt. Während bei der klassischen Form der CJD die Übertragung von Mensch zu Mensch durch Blutprodukte als unwahrscheinlich eingestuft wird, ist das Infektionspotential der varianten CJK im Zusammenhang mit Bluttransfusionen jedoch noch nicht vollständig geklärt. Ein sensitiver und spezifischer Bluttest zum Nachweis der vCJD in der Inkubationszeit steht derzeit noch nicht zur Verfügung. Daher gilt die Empfehlung, bei elektiven Eingriffen eine Eigenblutspende in Betracht zu ziehen.

4.5 Maßnahmen zur Reduktion von Nebenwirkungen durch Transfusionen

Die Verhütung von Infektionskrankheiten durch Bluttransfusionen stützt sich auf mehrere Maßnahmen: Spenderanamnese, körperliche Untersuchung, freiwilliger, anonymer Selbst-ausschluß von Spendern, unspezifische und spezifische Testsysteme (Such- und Bestätigungsteste) sowie ordnungsgemäße Lagerung und Verarbeitung des Blutes in einer Einrichtung mit einem Qualitätssicherungssystem.

Bei jeder Blutspende werden zum Schutz der Empfänger, aber auch der Spender, folgende Laboruntersuchungen durchgeführt:

1. Hämoglobinwert (muß >12,5 g/dl sein)
2. Blutgruppen-Kontrolle (ABO, Rh)
3. Suchtest auf irreguläre Antikörper (muß negativ sein)
4. Hepatitis B-Antigen (muß negativ sein)
5. Anti-HCV-Test (muß negativ sein)
6. HCV-PCR (muß negativ sein) (Pflicht seit April 1999)
7. HIV-1/HIV-2-Antikörper (muß negativ sein)
8. Lues-Test (muß negativ sein)
9. GPT (ALT, muß < 89 U/ml bei Frauen und < 134 U/ml bei Männern sein)

5. Rechtliche Grundlagen

5.1 Dokumentation

Die Dokumentation bezüglich Spender, Spende und Empfänger von Blutprodukten dient u.a. der Risikoerfassung nach dem Arzneimittelgesetz und einer lückenlosen Zuordnung im Falle eines Rückverfolgungsverfahrens.

Die Dokumentation bei jeder Transfusion von Blutprodukten in den Patientenakten umfasst

- die Aufklärung des Patienten über die Transfusion und die Einwilligungserklärung,
- das Ergebnis der Blutgruppenbestimmung und des Antikörpersuchtests,
- das Anforderungsformular,
- bei zellulären Blutprodukten die Produktbeschreibung/Präparatenummer, den Hersteller (pharmazeutischen Unternehmer), die Blutgruppenzugehörigkeit und bei Erythrozytenpräparaten das Ergebnis der serologischen Verträglichkeitsprobe (Kreuzprobe) sowie das Ergebnis des ABO-Identitätstests,
- bei Plasma die Angaben über Blutgruppenzugehörigkeit, den Hersteller (pharmazeutischen Unternehmer), die Produktbezeichnung/Präparatenummer, die Packungsgröße und Anzahl der verwendeten Packungen,
- Datum und Uhrzeit der Verabreichung der Blutprodukte,
- die anwendungsbezogenen Wirkungen sind durch geeignete Parameter (z.B. Hämatokrit, Thrombozytenzählung) zu dokumentieren,
- unerwünschte Wirkungen sind mit Datum und Angabe der Uhrzeit im Krankenblatt zu dokumentieren; die Meldung unerwünschter Wirkungen ist nach geltenden Vorschriften vorzunehmen

Die Dokumente müssen für mindestens 15 Jahre aufbewahrt werden.

Jede Spendenentnahme und die damit verbundenen Maßnahmen sind nachdem Arzneimittelgesetz zu protokollieren. Die Aufzeichnungen sind mindestens 15 Jahre, bei Spendern mit Vorbehandlung zur Stammzellseparation und nach Immunisierung mindestens 20 Jahre aufzubewahren.

Bei blutgruppenserologischen Untersuchungen sind Hersteller und Chargenbezeichnung aller Testreagenzien zu dokumentieren. Alle blutgruppenserologischen Untersuchungen einschließlich Reaktionsausfall und Kontrollen sind vollständig zu protokollieren. Eintragungen von Blutgruppen- und Antikörperbefunden in Ausweise müssen von dem Verantwortlichen für die Blutgruppenserologie überprüft und durch seine Unterschrift bestätigt werden. Ergeben spätere Untersuchungen Abweichungen von früheren Befunden, so hat der Untersucher nach Klärung für die Richtigstellung bzw. Ergänzung zu sorgen.

5.2 Rückverfolgungsverfahren und Meldepflichten

Im Falle eines Verdachts einer Nebenwirkung ist unverzüglich der pharmazeutische Unternehmer (im Klinikum der Abteilung Transfusionsmedizin) und im Falle des Verdachts einer schwerwiegenden Nebenwirkung zusätzlich die zuständige Bundesoberbehörde, d.h. das Paul-Ehrlich-Institut, zu unterrichten. Gleichzeitig sollte eine Meldung an die Arzneimittelkommission der deutschen Ärzteschaft erfolgen.

Handelt es sich dabei um die Übertragung einer Infektion, wird die Bezirksregierung im Falle eines spenderseitigen Rückverfolgungsverfahrens benachrichtigt, während das Paul-Ehrlich-Institut für patientenseitige Rückverfolgungsverfahren informiert werden muß. Das look-back Verfahren stützt sich auf §19 des Transfusionsgesetzes und wird entsprechend den „Empfehlungen des Arbeitskreises Blut durchgeführt“.

Wird bei einem Spender eine Hepatitis- oder HIV-Infektion festgestellt (oder besteht der begründete Verdacht), wird die entnommene Spende ausgesondert und der Verbleib früherer Spenden über einen definierten Zeitraum nachvollzogen. Noch vorhandene Spenden werden gesperrt und von bereits transfundierten Produkten die jeweiligen Empfänger ausfindig gemacht und nachuntersucht. Auch Rückstellproben, die von jeder Spende gezogen werden, können zur Abklärung herangezogen werden.

Bei neuauftretender Infektion eines Patienten, der mit Blutprodukten versorgt wurde, sind alle involvierten Spender zusätzlich mit Methoden nachzutesten, die sich von der ursprünglichen Testung unterscheiden.

5.3 Qualitätsmanagement und Transfusionsgesetz

Zahlreiche Gesetze und Normen, wie Sozialgesetz, Transfusionsgesetz, Berufsordnung etc. verpflichten den Arzt zur Qualitätssicherung (QS). Arzneimittelhersteller, Krankenhäuser, aber auch Autowerkstätten, Bäckereien oder Dienstleistungsstellen lassen sich mittlerweile nach ISO 9000 (Qualitätsmanagement) zertifizieren. Dennoch herrschen in weiten Teilen der Ärzteschaft Unsicherheit und Unkenntnis zu diesem Thema, da dieses nicht ausreichend während des Studiums gelehrt wird. Was ist Qualität im Gesundheitssystem, wie kann man sie messen, wie verbessern? Im Folgenden werden die wesentlichen Begriffe der Qualitätssicherung (die eigentlich aus der Technik kommen) erklärt und ihre Bedeutung für die Transfusionsmedizin aufgezeigt.

Im Rahmen der allgemeinen QS bedeutet **Qualität** eigentlich nur die Beschaffenheit eines Stoffes oder Gegenstands. Dieser Begriff ist zunächst wertfrei. Eine typische Definition ist: „Qualität ist die Gesamtheit von Merkmalen (und Merkmalswerten) einer Einheit bezüglich ihrer Eignung, festgelegte und vorausgesetzte Erfordernisse zu erfüllen.“ Demgegenüber wird im allgemeinen (und auch im ärztlichen) Wortgebrauch meist bei dem Begriff „Qualität“ von einer „besonderen Qualität“, „Güte“ oder „besonderem Wert“ ausgegangen.

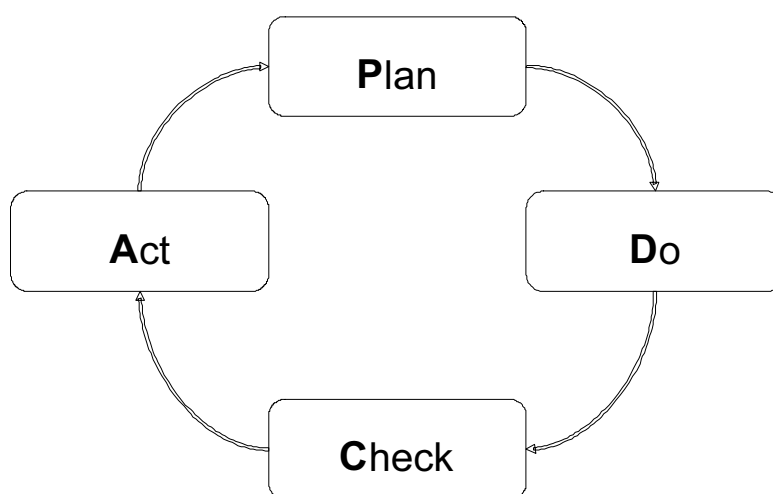
Beispiel: Die „Qualität“ eines Goldbarrens könnten Gesamtgewicht, der Goldgehalt und die Dimension (Länge, Breite, Höhe) sein. Würde ein Hersteller einen solchen Goldbarren produzieren, würde er dessen Eigenschaften (Spezifikation) angeben, aber auch die Toleranzen dieser Eigenschaften (z.B. Länge 9,95 cm bis 10,05 cm). Der Käufer (Kunde) einer solchen Ware würde den Preis für diese Eigenschaften bezahlen, aber Goldbarren, die diese Spezifikation nicht einhalten, zurückgeben, was für den Hersteller mit hohen Kosten verbunden wäre. Der Hersteller führt daher eine Qualitätskontrolle ein, in dem er jedes produzierte Stück misst und nur diejenigen Stücke verkauft, die den Spezifikationen entsprechen. Dies trägt zur erhöhten Befriedigung seines Kunden bei. Der Hersteller stellt aber fest, dass 10% seiner Produktion nicht die eigene Qualitätskontrolle passieren. Er beschließt, die Rate an Ausschuss von 10% auf 5% zu senken (was ebenfalls seine Produktionskosten senkt). Er versucht, die Ursachen des Ausschusses, die Variationen zu ergründen, und diese Fehler bei der Herstellung zu eliminieren. Er schreibt dazu mehrere Dienstanweisungen (Standard Operating Procedure, SOP), in der er seinen Mitarbeitern die Produktionsschritte genau vorschreibt, die Erfassung von Fehlern standardisiert, die einzelnen Produktionsschritte überprüft sowie auffordert, Verbesserungsvorschläge zu machen. Nach Auswertung der Daten entwickelt der Hersteller geänderte oder neue Produktionsschritte und ändert dementsprechend auch seine Arbeitsvorschriften (SOPs), oder er verbessert seine technische Ausrüstung. Damit hat der Hersteller ein Qualitätsmanagementsystem entwickelt. Ein nächster Kunde dieses Herstellers möchte auch Goldbarren kaufen, allerdings mit geringeren Toleranzen. Er würde einen höheren Preis für dieses Produkt bezahlen. Mit Hilfe des QS-Systems könnte unser Hersteller auch diesem Kundenwunsch nachkommen. Insofern sind die Kosten bei der Produktion von besonderer Bedeutung; Qualitätsmanagement kann helfen, die Produktionskosten zu senken, aber auch, einen höheren Preis für das Produkt zu erzielen („Deutsche Wertarbeit“).

Diese Beispiel lässt sich auch auf das Krankenhaus übertragen. Stellen Sie sich vor, dass eine Blinddarmentfernung pauschal mit 2000 Euro abgegolten wird. Mit diesem Entgelt ist im Regelfall der Eingriff und eine Liegedauer des Patienten von 4,3 Tagen bezahlt. Beträgt in einem Krankenhaus die durchschnittliche Liegedauer 6 Tage, so entspricht das

Behandlungsschema offensichtlich nicht der in anderen Krankenhäusern üblichen „Qualität“. Grund dafür könnten z.B. eine veraltete OP-Technik oder vermehrt auftretende Infektionen sein. Umgekehrt kann (muss aber nicht zwangsläufig) eine kurze Liegedauer nach Blinddarmentfernung ein Maß für eine gute (OP-, Sterilitäts-, Narkose-) Qualität sein. Mitentscheidend für die Qualität ist letztendlich auch die „Kundenzufriedenheit“. In diesem Fall würde eine Befragung der Patienten darüber Auskunft geben, die alle für den Patienten wichtigen Punkte abfragt (angefangen bei der Schmeckhaftigkeit des Essens über die Freundlichkeit des Personals bis zur eigentliche Behandlung).

Qualitätsmanagement ist daher die Zusammenfassung aller Maßnahmen innerhalb eines Betriebes, die darauf abzielen, die Qualität der produzierten Produkte oder der angebotenen Dienstleistung zu verbessern.

Der Ablauf lässt sich am besten mit dem PDCA- Zyklus (**Plan-Do-Check-Act**) beschreiben:



Aus dem bislang beschriebenen wird klar, dass diese Begriffe und Techniken nur mit Einschränkungen auf die besonderen Merkmale der Qualität der Krankenversorgung übertragbar sind. Bedingt durch die Tatsache, dass Menschen interagieren, sind neben den **objektiven Qualitätskriterien** auch **subjektive Qualitätskriterien** zu definieren. Subjektive Qualitäten des Patienten können sein: Besserung, Hilfe, menschenwürdiger, respektvoller Umgang, angemessene Kosten. Objektive Kriterien können sein: Einhalten von Standards, Komplikationsraten, Liegezeiten, etc. Demnach kann auch die Qualität der Krankenversorgung unterschiedlich definiert werden.

Gängige Definitionen sind z.B.: „Grad der Wahrscheinlichkeit, dass die Behandlung zu den von den Patienten gewünschten Resultaten führen wird und unter Berücksichtigung des aktuellen medizinischen Wissens, das Risiko der unerwünschten Nebeneffekte minimalisiert“ (US Office of Technology Assessment). Eine einfache Beschreibung der „Guten medizinischen Qualität“ ist auch:

1. das erreichbare Ziel wird erreicht
2. Unnötiges Risiko wird vermieden
3. Unnötiger Aufwand wird vermieden

(Bundesärztekammer, Leitfaden Qualitätsmanagement im deutschen Krankenhaus 1998).

Wie kann man die „gute“ Qualität im Krankenhaus definieren? Man unterscheidet hier zunächst **Strukturqualität, Prozessqualität und Ergebnisqualität**.

Strukturqualität spiegelt sich wider in der Anzahl und Kompetenz (Fachärzte) der Mitarbeiter, Konsiliardienste, dem Organisationsaufbau, den finanziellen Mitteln, der Ausstattung etc.

Prozessqualität besteht in den Maßnahmen und Aktivitäten im Rahmen der Krankenversorgung, während die Ergebnisqualität die Veränderungen des Gesundheitszustandes des Patienten beschreibt.

Das ärztliche Handeln spielt sich vor allem in der Prozessqualität ab. Hier sind vor allem die **diagnostischen und therapeutischen Maßnahmen** zu nennen. Eine „gute Qualität“ wird vermutet, wenn allgemein anerkannte **Leitlinien** oder Standards beachtet und eingehalten werden.

In dieser Problematik wird aber auch der Unterschied des ärztlichen Bereichs zum technischen Produktionsbereich deutlich. Der Patient und seine Erkrankung sind nicht immer identisch und der Arzt soll und muss auf die individuelle Situation des Patienten eingehen. Dennoch sind Teilbereiche von Diagnostik und Therapie standardisierbar und müssen beachtet werden.

Zunächst muss der Arzt die geltenden Gesetze, die sich mittlerweile auch mit den ärztlichen Tätigkeiten im engeren Sinne befassen, kennen und befolgen. Hier wird im **Transfusionsgesetz** der transfundierende Arzt besonders hinsichtlich einer exakten Dokumentationspflicht, der Abklärung von Nebenwirkungen und der **Etablierung eines Qualitätssicherungsystems** in der Hämotherapie verpflichtet. Abweichungen vom Gesetz sind nicht erlaubt. Im Transfusionsgesetz im Paragraphen 18

§ 18

Stand der medizinischen Wissenschaft und Technik zur Anwendung von Blutprodukten

- (1) *Die Bundesärztekammer stellt im Einvernehmen mit der zuständigen Bundesoberbehörde und nach Anhörung von Sachverständigen unter Berücksichtigung der Empfehlungen der Europäischen Union, des Europarates und der Weltgesundheitsorganisation zu Blut und Blutbestandteilen in Richtlinien den allgemein anerkannten Stand der medizinischen Wissenschaft und Technik insbesondere für*
- 1. die Anwendung von Blutprodukten, die Testung auf Infektionsmarker der zu behandelnden Personen anlässlich der Anwendung von Blutprodukten und die Anforderungen an die Rückstellproben,*
 - 2. die Qualitätssicherung der Anwendung von Blutprodukten in den Einrichtungen der Krankenversorgung und ihre Überwachung durch die Ärzteschaft,*
 - 3. die Qualifikation und die Aufgaben der im engen Zusammenhang mit der Anwendung von Blutprodukten tätigen Personen,*
 - 4. den Umgang mit nicht angewendeten Blutprodukten in den Einrichtungen der Krankenversorgung*
- fest. Bei der Anhörung ist die angemessene Beteiligung von Sachverständigen der betroffenen Fach- und Verkehrskreise, insbesondere der Träger der Spendeinrichtungen, der Spitzenverbände der Krankenkassen, der Deutschen Krankenhausgesellschaft, der Kassenärztlichen Bundesvereinigung, sowie der zuständigen Behörden von Bund und Ländern sicherzustellen.*
- (2) *Es wird vermutet, daß der allgemein anerkannte Stand der medizinischen Wissenschaft und Technik zu den Anforderungen nach diesem Abschnitt eingehalten worden ist, wenn und soweit die Richtlinien der Bundesärztekammer nach Absatz 1 beachtet worden sind.*

wird definiert, dass die **Richtlinien der Bundesärztekammer** (RICHTLINIEN ZUR GEWINNUNG VON BLUT UND BLUTBESTANDTEILEN UND ZUR ANWENDUNG VON BLUTPRODUKTEN (HÄMOTHERAPIE), 2000), den derzeitigen „Stand der medizinischen Wissenschaft und Technik“ angeben. Darüber hinaus werden von der Bundesärztekammer **Leitlinien** (LEITLINIEN ZUR THERAPIE MIT BLUTKOMPONENTEN UND PLASMADERIVATEN, 2001) publiziert, die als Empfehlungen zur Therapie mit diesen Arzneimitteln gelten.

Ein weiterer Begriff, nämlich die **Qualitätssicherung**, bezeichnet die Gesamtheit der organisatorischen, technischen, normativen und motivierenden Maßnahmen, die geeignet sind, die Qualität der Versorgung der Patienten zu sichern, zu verbessern und der Weiterentwicklung des medizinischen/pflegerischen/organisatorischen Wissens anzupassen. **Qualitätsmanagement** bezeichnet alle Tätigkeiten der Unternehmensführung, welche die Qualitätspolitik, die Qualitätsziele und -Verantwortungen festlegen, sowie diese durch Mittel wie Qualitätsplanung, Qualitätslenkung geeignet sind, Qualitätssicherung, Qualitätsverbesserung und Qualitätsförderung zu verwirklichen (Bundesärztekammer 1998). Qualitätssicherung und Qualitätsmanagement werden mittlerweile synonym gebraucht.

Die gesetzlich geforderte Qualitätssicherung im Krankenhaus (oder auch in der Praxis des niedergelassenen Arztes) besteht darin, sicherzustellen und zu dokumentieren, dass die geforderten Normen und Richtlinien eingehalten werden. Dieses wird durch einen **Qualitätsbeauftragten** überwacht.

Zur Kontrolle der Qualität können verschiedene Maßnahmen ergriffen werden. Im Medizinischen Labor z.B. wird dies schon lange durchgeführt. Man unterscheidet zunächst zwischen **interner und externer Qualitätskontrolle**. An jedem Tag, teilweise bei jedem Ansatz, werden positive und negative Kontrollen mitgeführt, die das erwartete und geforderte Ergebnis zeigen müssen (interne Qualitätskontrolle). Darüber hinaus nimmt ein Medizinisches Labor an **externen Ringversuchen** teil. Dabei wird von zentraler Stelle eine Probe zugeschickt, die von dem Labor analysiert werden muss. Das Ergebnis dieser Analysen ist nicht bekannt, nach zentraler Auswertung wird dem Labor mitgeteilt, ob es im Rahmen vorher festgelegter Toleranzen richtig gemessen hat (externe Qualitätskontrolle).

In anderen Bereichen kann analog vorgegangen werden. Typischerweise wird eine „Selbstinspektion“ durchgeführt, in der die Verantwortlichen in Form einer strukturierten Visite ihren Bereich überprüfen (interne Qualitätskontrolle=„internes Audit“. Ebenfalls kann eine externe Qualitätskontrolle= „**externes Audit**“ erfolgen, bei dem ein besonderer Spezialist die entsprechende Stelle (Labor, Transplantationszentrum, etc.) überprüft. Besteht die Stelle diese Überprüfung, kann sie für bestimmte Leistungen „**zertifiziert**“ bzw. „**akkreditiert**“ werden. Eine solche Akkreditierung ist mittlerweile Voraussetzung für bestimmte Leistungen (z.B. Transplantationsdiagnostik).

In der Hämotherapie wurden durch das Transfusionsgesetz für die Qualität verantwortliche Personen eingesetzt, der **Transfusionsverantwortliche** und die **Transfusionsbeauftragten**. Der Transfusionsverantwortliche ist für die gesamte Hämotherapie und das Qualitätssicherungssystem innerhalb einer Klinik verantwortlich, je ein Transfusionsbeauftragter für jede transfundierende Abteilung (das kann z. B. eine Station oder eine Ambulanz sein). Gemeinsam erstellen sie ein **Qualitätssicherungshandbuch**, in dem alle wichtigen Normen, Richtlinien und vor allem **die Standard- Arbeitsanweisungen (SOP)** niedergelegt sind. Ebenfalls sind die Überprüfungen dargelegt. Ein **Qualitätsbeauftragter** ist für die Kontrolle der Abläufe verantwortlich. Wenn die definierten Qualitätsziele nicht erreicht werden, muss durch entsprechende Änderungen in Verfahrensabläufen und durch Schulung der Mitarbeiter eine verbesserte Arbeitsweise erreicht werden.

Zusammenfassend werden sie feststellen, dass inhaltlich eine Qualitätssicherung zu jeder ordentlichen Berufsausübung, auch der ärztlichen, gehört hat und gehören sollte. Der formale Unterschied zu den jetzt geforderten Qualitätsmanagementsystemen besteht vor allem darin, dass sie strukturiert, vorab geplant, und schriftlich dokumentiert erfolgen soll. Die

Verfechter des „total quality management“ (TQM) postulieren, dass TQM zur Kostenreduktion führt. Das mag für die Industrie gelten, im Krankenhaus jedoch ist die Einführung solcher Programme zunächst mit hohen Kosten verbunden; ob sie tatsächlich langfristig mit Einsparungen in der betriebswirtschaftlichen Mikroökonomie verbunden sind, ist fraglich. Unabhängig davon werden Sie sich zukünftig in allen Bereichen der ärztlichen Berufsausübung mit strukturiertem Qualitätsmanagement auseinandersetzen müssen.

5.4 Gesetze und Richtlinien

Der Schwerpunkt der immunhämatologischen Laborroutine liegt in der Vermeidung von Nebenwirkungen durch Bluttransfusionen. Blut- und Blutprodukte sind Arzneimittel und werden oft durch die Institutionen hergestellt, die auch die Verträglichkeitsproben (prätransfusionelle Diagnostik) durchführen. Bei diesen Untersuchungen ist eine besondere Sorgfalt geboten und die Kenntnis der wichtigsten Gesetze bzw. Vorschriften und Empfehlungen erforderlich.

Das **Transfusionsgesetz** wurde 1998 in Kraft gesetzt und stellt die Entnahme und Übertragung von Blut und seinen Bestandteilen auf eine rechtliche Grundlage. Das Transfusionsgesetz gilt für Hersteller und Anwender in gleichem Maße. Es regelt die rechtliche Basis sämtlicher transfusionsmedizinischer Fragen und Belange, und setzt das Strafmaß bei zuwiderrechtlichen Handlungen fest.

Wesentliche Elemente des **Transfusionsgesetzes** sind:

- Die Spendeinrichtungen erhalten den gesetzlichen Auftrag, Blut und Plasma zur Versorgung der Bevölkerung zu gewinnen.
- Die Spender müssen mit einem Höchstmaß an Sorgfalt und nach dem Stand der medizinischen Wissenschaft auf Infektionen untersucht werden. Die Mißachtung der entsprechenden Testvorschriften ist strafbar.
- Zum Schutz der Spender und Patienten müssen diese jeweils sachkundig aufgeklärt werden
- Sicherheit, Zuverlässigkeit und Qualität der Anwendung von Blutprodukten (Transfusion) wird durch die Einrichtung eines Qualitätssicherungssystems erheblich gefördert.
- Die Blutentnahme, die Herstellung und die Anwendung von Blutprodukten muß vollständig und detailliert dokumentiert werden. Dies ist besonders wichtig für die Rückverfolgung verdächtiger Produkte.
- Die ärztlichen Personen, die eigenverantwortlich Blutprodukte anwenden, müssen ausreichende Erfahrung in dieser Tätigkeit besitzen (§13 TFG). Die Durchführung und Überwachung einer Transfusion fallen in den Verantwortungsbereich des transfundierenden Arztes. Die Übertragung von Blut- und Blutbestandteilen sind ärztliche Leistungen.

Blut und Blutderivate sind verschreibungspflichtige Arzneimittel.

Herstellung, Verbreitung und Umgang mit diesen Arzneimitteln werden dabei im **Arzneimittelgesetz** geregelt.

In diesem Zusammenhang sind Blut und Blutderivate Arzneimittel gemäß §2 Abs.(1) (Auszug):

- Arzneimittel sind Stoffe und Zubereitungen aus Stoffen, die dazu bestimmt sind, durch Anwendung am oder im menschlichen oder tierischen Körper
- (1) Krankheiten, Leiden Körperschäden oder krankhafte Beschwerden zu heilen, zu lindern, zu verhüten oder zu erkennen,
- (3) vom menschlichen oder tierischen Körper erzeugte Wirkstoffe oder Körperflüssigkeiten zu ersetzen.

Weiterhin sind im **Arzneimittelgesetz** folgende Begriffe definiert (§ 4):

-(2) Blutzubereitungen sind Arzneimittel, die aus Blut gewonnene Blut-, Plasma- oder Serumkonserven, Blutbestandteile oder Zubereitungen aus Blutbestandteilen sind oder enthalten.

-(13) Nebenwirkungen sind die beim bestimmungsgemäßen Gebrauch eines Arzneimittels auftretenden unerwünschten Begleiterscheinungen.

-(15) Qualität ist die Beschaffenheit eines Arzneimittels, die nach Identität, Gehalt, Reinheit, sonstigen chemischen, physikalischen, biologischen Eigenschaften oder durch das Herstellungsverfahren bestimmt wird.

Die **Richtlinien zur Blutgruppenbestimmung und Bluttransfusion (Hämotherapie)** wurden vom Wissenschaftlichen Beirat der Bundesärztekammer und vom Paul-Ehrlich-Institut erstellt (überarbeitete Fassung von 1996, eine aktualisierte Fassung erscheint 2000). Hier wird ein bestimmtes Vorgehen bei der Herstellung von Blut und Blutderivaten, der praetransfusionellen und der serologischen Diagnostik festgelegt.

Die **Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten**, herausgegeben vom Vorstand und Wissenschaftlichen Beirat der Bundesärztekammer (letzte Auflage 1995) richtet sich sowohl an die Ärzteschaft als auch an die Hersteller von Blut und Blutderivaten. Darin werden Herstellungsverfahren, Qualitätskriterien, Lagerung und Haltbarkeit sowie die Anwendungsgebiete festgelegt.

Auf europäischer Ebene wird vom ‚Council of Europe‘ ein auch für die deutschen Hersteller und Anwender von Blut und Blutderivaten gültiges Regelwerk herausgegeben: **Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components**, (Council of Europe Publishing, Straßburg 2000).

Transfusionsgesetz

Der Zweck des Transfusionsgesetzes vom 07.07.1998 ist es, eine sichere und gesicherte Versorgung der Bevölkerung mit Blut und Blutbestandteilen zu gewährleisten. Es gilt für Hersteller und Anwender im selben Maße.

In 12 Abschnitten und insgesamt 39 Paragraphen werden Begriffbestimmungen, Gewinnung und Anwendung von Blutprodukten, **Rückverfolgung und Meldewesen**, Sachverständige und zuständige Behörden sowie Straf- und Bußgeldvorschriften festgelegt.

Für die Anwendung der Produkte gelten Anforderungen zur Durchführung, **Dokumentation** und Datenschutz, **Qualitätssicherung**, **Unterrichtungspflichten** und die Handhabung nicht angewandeter Produkte. Es gilt der jeweilige Stand der medizinischen Wissenschaft und Technik zur Anwendung von Blutprodukten.

6. Praktikumsanleitung

**Achtung: Sie arbeiten mit potenziell infektiösem Material.
Handschuhe verwenden!**

Aufgabe 1:

ABO- und Rhesus-Blutgruppenbestimmung

Reagenzien:

Original Blutproben (EDTA),

Daraus bereiten Sie sich zunächst vor (Röhrchen sind bereitgestellt):

1. Ery-Sediment belassen (= VB)
2. Plasma: vorsichtig in Röhrchen überführen
3. 1%ige Erythrozytensuspension in Diluent 2:
1 Tropfen Ery-Sediment plus 2,0 ml Diluent 2

Testseren für die Rhesus-Bestimmung:

Anti-D (1)

Anti-D (2)

Rh-Kontrollserum

Testseren für die ABO-Bestimmung:

Anti-A

Anti-B

Anti-AB

Testblutzellen: jeweils 5 %-ige Suspension von Erythrozyten der Blutgruppen A1, A2, B und O in physiologischer Kochsalzlösung.

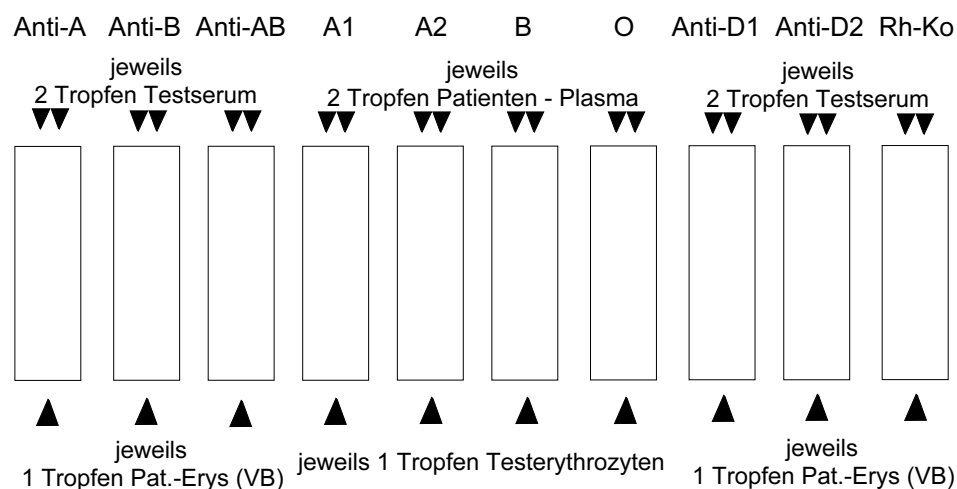
1.1. Bestimmung der ABO-Blutgruppe und des Rh-Faktors D

Plattentest auf „Bioplates“.

1. Die Antigenbestimmung erfolgt an den Erythrozyten aus EDTA-Vollblut (VB) mit entsprechenden Testseren. Für die Serumgegenprobe benutzen Sie das abgetrennte Plasma der Blutprobe und testen gegen Testerythrozyten.
2. Nach Pipettierschema arbeiten. Immer zunächst 2 Tropfen Serum (Testserum bzw. vorbereitetes Plasma der Blutprobe) vorlegen. Anschließend VB bzw. Testerythrozyten in das Serum tropfen.
3. mischen durch vorsichtiges Kippen der Platten.
4. Raumtemperatur Inkubation über mindestens 15 Minuten.
5. Ablesen der Reaktion ggf. unter vorsichtigem Kippen der Platten.
6. Ablesung protokollieren. Reaktionsstärken von 1+ bis 3+.

Pipettierschema:

Platznummer



Ergebnis:

Anti-A _____, Anti-B _____, Anti-AB _____,

Serumgegenprobe: A1 _____, A2 _____, B _____, O _____

Anti-D (1) _____, Anti-D(2) _____, Rh-Kontroll _____.

7. Ergebnis zusammen mit dem Rhesus-Ergebnis interpretieren und protokollieren:

Blutgruppe: _____

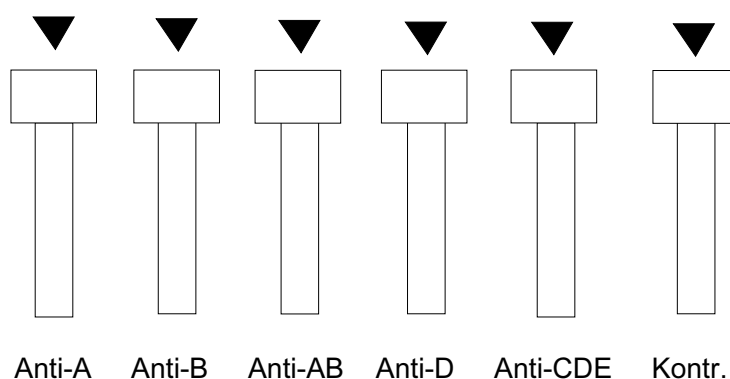
1.2. Bestimmung der ABO-Antigene und des Rh-Faktors D mittels Geltest

1. Standardisierte Gelkarte für die AB-Rh-Bestimmung benutzen
2. pro Reaktionskammer je 50 μ l (1 Tropfen) der 1%igen Suspension der Patienten-Erythrozyten dazugeben

Pipettierschema:

Platznummer

jeweils 1 Tropfen der 1%igen Pat.-Erythrozytensuspension



3. keine Inkubation, 10 Minuten Zentrifugation in Spezialzentrifuge
4. Agglutinationen protokollieren:

Anti-A____, Anti-B____, Anti-AB____, Anti-D____, Anti-CDE____, Kontr.____

5. Blutgruppe nach Antigenbestimmung: _____

Aufgabe 2:***Antikörpersuchtest und Kreuzprobe (Serologische Verträglichkeitsprobe) mittels Geltest:***

Reagenzien:

1. gebrauchsfertige „Empfänger“-Erythrozyten: (1%ig Suspension in Diluent 2)
2. Empfänger-Plasma
3. Von 2 Spendern die Erythrozyten (Konserve): gebrauchsfertige Erythrozyten-suspensionen (jeweils 1%ig in Diluent 2)
4. Testzellpanel mit drei Antikörpersuchzellen / Suchzellen (I, II,III), jeweils 1%ig in Diluent 2 (das Diluent 2 ist ein Liss-Reagenz [Liss = Low Ionic Strength Solution])
5. Liss/Coombs-Gelkarten mit Anti-Humanglobulin-Serum für den indirekten Coombstest

Erläuterung:

Der Antikörpersuchtest und die Kreuzprobe dienen dem Nachweis und der Charakterisierung von irregulären Erythrozytenantikörpern. Diese Antikörper stellen ein absolutes Transfusionshindernis dar, wenn sie im indirekten Coombstest erfaßt werden.

Die Testzellpanels für den Antikörpersuchtest sind so zusammengestellt, daß damit >98 % aller Transfusions-relevanten Antikörper erfaßt werden können. Die Kreuzprobe bestätigt das Ergebnis des Antikörpersuchtests in einem individuellen Test mit den Erythrozyten des jeweiligen Spenders. Außerdem dient die Kreuzprobe dem Schutz vor ABO-Verwechslungen und entsprechenden Fehltransfusionen. Hingegen kann nur die parallel zur Kreuzprobe durchgeführte Blutgruppenbestimmung eine Rh-Fehltransfusion vermeiden.

Also:

Zur Serologischen Verträglichkeitsprobe gehören jeweils die

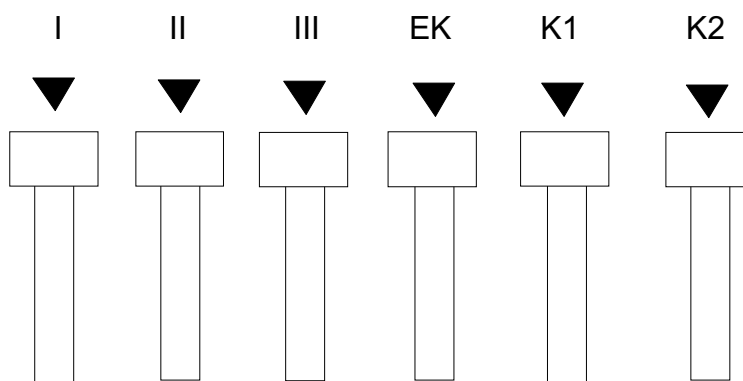
- 1. Blutgruppenbestimmung des Empfängers (Identitätssicherung),**
- 2. der Antikörpersuchtest**
- 3. die eigentliche Kreuzprobe.**

Durchführung von Antikörpersuchtest und Kreuzprobe:

1. Kennzeichnung der Liss/Coombs-Gelkarte:
 - a) I, II, III für die drei Zellen des Antikörpersuchtest-Zellpanels (scl /scII /scIII)
 - b) EK (Eigenkontrolle) für einen Ansatz mit Empfängererythrozyten
 - c) K1 und K2 (Major-Ansätze) für die beiden Spender (Konserven)
2. Empfängerplasma vorlegen: Je 1 Tr. Empfängerplasma pro Reaktionskammer der Gelkarte pipettieren
3. Je 1 Tr. Erythrozytensusp. (1 %) entsprechend 1. (a-c) dazugeben
4. Wärmeinkubation 15 Minuten 37°C
5. Zentrifugieren 10 Minuten in der Gelkartenzentrifuge.
6. Auf Agglutination prüfen (Protokollierung mit 1+ bis 3+ im Ergebnisprotokoll (s.u.)

Pipettierschema:

Platznummer: Jeweils 1 Tropfen Erythrozytensuspension (1%)



Pro Reaktionskammer je 1 Tropfen Empfängerplasma

Ergebnisprotokoll:

SCI____, SCII____, SCIII____, EK____, K1____, K2____.

Überlegen Sie anhand des beigefügten Antigramms der Suchzellen I, II und III, um welche Antikörperspezifität(en!) es sich handeln könnte.

Beurteilung: _____

1. Irreguläre Antikörper nachgewiesen? Ja / Nein

2. Ist der indirekte Coombstest positiv? Ja / Nein

3. Sind die Konserven (Spender) verträglich im Majortest? Ja / Nein

Welche Konserven dürfen transfundiert werden? Nur 1 / Nur 2 / 1 und 2 / Keine

Begründung:

Im Routinekreuzprobenlabor würden als weitere Schritte noch Identifizierung des Antikörpers mit einem 11er-Testzellpanel, Antigenbestimmungen beim Empfänger und eine Austypisierung von Blutkonserven erfolgen. Nur dem Antikörper angepaßte, Antigenfreie Konserven werden dann mit der Kreuzprobe (Majortest) auf Verträglichkeit überprüft.

Aufgabe 3:**Bed-side-Test:**

Reagenzien:

Bed-side-Karte

2 ml Spritzen mit Kanülen

Vollblutproben von Empfänger und Spender.

Durchführung: Bed-side-Karte beschriften: oben Patient, unten Konservennummer.

Mit 2 ml Spritze und Kanüle ca. 0,5 ml „Patientenblut“ aufnehmen, nacheinander in die beiden oberen Kammern der Karte einstechen und wenig (jeweils nur einen kleinen Tropfen = ca. 0,05 ml) hineingeben.

Das gleiche noch einmal mit einer zweiten 2 ml Spritze und dem „Konservenblut“.

Achtung: Kanüle sofort verwerfen, nicht in die Kanülenkappe zurückstecken (Stichverletzungsgefahr).

Auswertung:

- Das Reaktionsergebnis mit Anti-A und Anti-B ist identisch: es liegt keine Verwechslung im ABO-System vor, die Transfusion kann beginnen.
- Das Reaktionsergebnis mit Anti-A und Anti-B für Konserve und Patient ist **nicht** identisch: Es liegt eine Verwechslung im ABO-System vor, es darf **nicht** transfundiert werden!

Blutspendedienst

im Universitätsklinikum Göttingen

Blutspenden werden dringend gebraucht

Unsere Spendezeiten:

Vormittags:	MO u. FR	8:00 - 11:00
Nachmittags:	DI u. MI	14:00 - 18:00
	DO	16:00 - 20:00

Wir freuen uns auf Ihren Besuch

Bitte bringen Sie zur Spende Ihren gültigen Personalausweis mit.

Bei Fragen können Sie uns während der Spendezeiten unter
Telefon 0551/39-6899 erreichen.

Nach der Spende erwarten Sie ein Imbiß und eine
Aufwandsentschädigung

www.blutspende-goettingen.de