

Aus dem Institut für Klinische Hämostaseologie und Transfusionsmedizin,
Universität und Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Hermann Eichler)

**Untersuchung zum Einfluss der AB0-
inkompatiblen Thrombozytentransfusion auf
die HLA-/HPA-Immunisierungsrate von
Patienten**

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

der Medizinischen Fakultät

der

UNIVERSITÄT DES SAARLANDES
2013

Vorgelegt von: Jonathan Che Christian Mathieu
geb. am: 07.11.1985 in Mannheim

INHALTSVERZEICHNIS

<i>ABBILDUNGSVERZEICHNIS</i>	5
<i>TABELLENVERZEICHNIS</i>	6
<i>FORMELVERZEICHNIS</i>	7
<i>ANLAGENVERZEICHNIS</i>	8
<i>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</i>	9
<i>1. ZUSAMMENFASSUNG</i>	11
Abstract	13
<i>2. EINLEITUNG</i>	15
2.1. Thrombozytentransfusion und Kompatibilität	15
2.1.1. Historischer Wissensstand	15
2.1.2. Aktueller Wissensstand	18
2.2. HLA-Merkmale	22
2.2.1. Entwicklung des Wissensstandes	22
2.3. HPA-Merkmale	25
2.3.1. Entwicklung des Wissensstandes	25
2.4. Ziele der Arbeit	27
<i>3. MATERIAL UND METHODIK</i>	29
3.1. Studiendesign und Patientenkollektiv	29
3.1.1. Allgemeiner Überblick	29
3.1.2. Patientenkollektiv	29
3.1.3. Miteinbeziehung von medizinischem Personal	30
3.2. Retrospektiver Teil	30

3.2.1. Gewinnung der Daten	30
3.2.2. Statistische Analyse	31
3.3. Prospektiver Teil	31
3.3.1. Material	31
3.3.2. Methoden	34
3.3.2.1. Gewinnung der Blutproben und der Patientendaten	34
3.3.2.2. Corrected Count Increment (CCI)	36
3.3.2.3. Vorgehensweise bei der Analyse der Blutproben	36
3.3.2.3.1. Erfassung von HLA-Antikörpern - Lymphozytotoxizitätstest	37
3.3.2.3.2. DNA-Typisierung von HLA-Klasse I-Antigenen	41
3.3.2.3.3. Erfassung von HPA-Antikörpern - MAIPA-Assay	45
3.3.2.3.4. Erfassung von HPA-Antikörpern - Qualitativer ELISA	46
 4. ERGEBNISSE	 48
4.1. Retrospektiver Teil	48
4.1.1. Charakteristika der untersuchten Präparate und des Patientenkollektivs	48
4.1.1.1. Verteilung der AB0-Blutgruppen	48
4.1.1.2. Verteilung des Rhesusmerkmals (D)	49
4.1.1.3. Verteilung der AB0-Blutgruppen unter Berücksichtigung von Rhesusfaktor (D)	50
4.1.2. Versorgung mit TKs abhängig von der AB0-Blutgruppe des Patienten	51
4.1.2.1. Patientenblutgruppe A	51
4.1.2.2. Patientenblutgruppe B	52
4.1.2.3. Patientenblutgruppe AB	53
4.1.2.4. Patientenblutgruppe 0	54
4.1.2.5. Vergleich der Versorgungskompatibilität	55
4.1.3. Transfusion von TKs in Abhängigkeit von der Spenderblutgruppe	56
4.1.3.1. Präparateblutgruppe A	56
4.1.3.2. Präparateblutgruppe B	57
4.1.3.3. Präparateblutgruppe AB	58
4.1.3.4. Präparateblutgruppe 0	59
4.1.3.5. Vergleich der Versorgungskompatibilität	60
4.1.4. Abhängigkeit vom Rhesusfaktor (D)	60
4.1.5. Patienten mit einmaliger Transfusion im Untersuchungszeitraum	61
4.1.5.1. Patientenblutgruppe 0	61
4.1.5.2. Patientenblutgruppe A	61
4.1.5.3. Patientenblutgruppe B	62
4.1.5.4. Patientenblutgruppe AB	63
4.1.5.5. Vergleich der Kompatibilität der Transfusion abhängig von der Transfusionshäufigkeit	63

4.1.6. Zusammenhang zwischen AB0-Inkompatibler TK-Transfusion und Transfusionsreaktionen.....	64
4.1.6.1. Anteil der Patienten mit inkompatiblen TK-Transfusionen an allen Patienten mit gemeldetem Transfusionszwischenfall.....	64
4.1.7. Alter der ausgegebenen Präparate	65
4.1.7.1. Alter aller ausgegebenen Präparate	65
4.1.7.2. Alter der AB0-kompatibel ausgegebenen Präparate.....	66
4.1.7.3. Alter der AB0-inkompatibel ausgegebenen Präparate	67
4.1.7.4. Alter der Rh(D)-kompatibel ausgegebenen Präparate.....	68
4.1.7.5. Alter der Rh(D)-inkompatibel ausgegebenen Präparate.....	69
4.1.7.6. Alter der AB0/Rh(D)-kompatibel ausgegebenen Präparate	70
4.1.7.7. Alter der AB0/Rh(D)-inkompatibel ausgegebenen Präparate	71
4.2. Prospektiver Teil.....	72
4.2.1. Patientencharakteristika.....	72
4.2.2. CCI-Werte nach Transfusion.....	74
4.2.3. Ergebnisse des HLA- und HPA-Antikörperscreenings	74
 5. DISKUSSION.....	 75
5.1. Retrospektiver Teil	75
5.1.1. Gewinnung der Daten.....	75
5.1.2. Verteilung der Blutgruppen auf das untersuchte Patientenkollektiv.....	75
5.1.3. Verteilung der Blutgruppen auf die untersuchten Präparate	75
5.1.4. Versorgung der Patienten mit TKs	76
5.1.5. Zuteilung der TKs.....	78
5.1.6. Beachtung des Rhesusfaktors	79
5.1.7. Ausgabe der TKs bei einmaliger Transfusion	80
5.1.8. Transfusionszwischenfälle und AB0-inkompatible TK-Transfusion am UKS.....	81
5.1.9. Alter der ausgegebenen Präparate	82
5.2. Prospektiver Teil.....	82
5.2.1. Planung der Probengewinnung	82
5.2.2. Auswahl der Patienten	83
5.2.3. Gewinnung der Proben und Patientendaten	84
5.2.4. Wertung der Transfusionsrefraktärität.....	85
5.2.5. HLA-/HPA-Antikörperscreening	85
5.3. Bedeutung der Ergebnisse für das UKS.....	87
5.4. Bedeutung der Ergebnisse für den Patienten	88

Anlage 1	91
Anlage 2	92
Anlage 3	93
Anlage 4	94
Anlage 5	95
6. LITERATURVERZEICHNIS.....	96
7. DANKSAGUNG.....	112
8. LEBENSLAUF.....	113

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Chromosom 6 mit den Genorten HLA-A, -B, -C, -DR, -DQ und -DP	24
Abb. 2: Testset	35
Abb. 3: Befüllte Fünf-Kavitäten-Platten im GenoM-Automaten	41
Abb. 4: Prinzip der Gewinnung von DNA aus Blut mit dem GenoM-Automaten	42
Abb. 5: Häufigkeitsverteilung der AB0-Blutgruppen im Patientenkollektiv und bei den verabreichten Thrombozytenkonzentraten	49
Abb. 6: AB0-Blutgruppen der verabreichten TK-Präparate an Empfänger der Blutgruppe A	51
Abb. 7: AB0-Blutgruppen der verabreichten TK-Präparate an Empfänger der Blutgruppe B	52
Abb. 8: AB0-Blutgruppen der verabreichten TK-Präparate an Empfänger der Blutgruppe AB	53
Abb. 9: AB0-Blutgruppen der verabreichten Präparate an Empfänger der Blutgruppe 0	54
Abb. 10: AB0-Blutgruppen der Patienten, die TKs der Blutgruppe A erhalten haben	56
Abb. 11: AB0-Blutgruppen der Patienten, die TKs der Blutgruppe B erhalten haben	57
Abb. 12: AB0-Blutgruppen der Patienten, die TKs der Blutgruppe AB erhalten haben	58
Abb. 13: AB0-Blutgruppen der Patienten, die TKs der Blutgruppe 0 erhalten haben	59
Abb. 14: Vergleich der TK-Blutgruppen der an Patienten der AB0-Blutgruppe 0 verabreichten TKs bei einmaliger und mehrmaliger Transfusion	61
Abb. 15: Vergleich der TK-Blutgruppen der an Patienten der AB0-Blutgruppe A verabreichten TKs bei einmaliger und mehrmaliger Transfusion	62
Abb. 16: Vergleich der TK-Blutgruppen der an Patienten der AB0-Blutgruppe B verabreichten TKs bei einmaliger und mehrmaliger Transfusion	62
Abb. 17: Vergleich der TK-Blutgruppen der an Patienten der AB0-Blutgruppe AB verabreichten TKs bei einmaliger und mehrmaliger Transfusion	63
Abb. 18: Anteil der Patienten mit inkompatiblen TK-Transfusionen an allen Patienten mit gemeldetem Transfusionszwischenfall	64
Abb. 19: Alter aller ausgegebenen Präparate	65
Abb. 20: Alter der AB0-kompatibel ausgegebenen Präparate	66
Abb. 21: Alter der AB0-inkompatibel ausgegebenen Präparate	67
Abb. 22: Alter der Rh(D)-kompatibel ausgegebenen Präparate	68
Abb. 23: Alter der Rh(D)-inkompatibel ausgegebenen Präparate	69
Abb. 24: Alter der AB0/Rh(D)-kompatibel ausgegebenen Präparate	70
Abb. 25: Alter der AB0/Rh(D)-inkompatibel ausgegebenen Präparate	71

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Bekannte HPA-Antigene, ihre molekulare Grundlage und Antigenfrequenzen.....	28
Tab. 2: Füllschema des ersten Terasakiplattenpaares.	38
Tab. 3: Füllschema des zweiten Terasakiplattenpaares.	39
Tab. 4: Die wichtigsten im Lymphozytotoxizitätstest getesteten HLA-Merkmale	40
Tab. 5: International Workshop Score zur Klassifizierung des Lymphozytotoxizitätstestes	40
Tab. 6: Verteilung der AB0-Blutgruppen im Patientenkollektiv, bei den verabreichten TKs und in der deutschen Normalbevölkerung	48
Tab. 7: Verteilung des Rhesusmerkmals (D) im Patientenkollektiv, bei den verabreichten TK und in der deutschen Normalbevölkerung.	49
Tab. 8: Verteilung der AB0-Blutgruppen unter Berücksichtigung des Rh(D)-Faktors bei den untersuchten Patienten.	50
Tab. 9: TK-Präparateblutgruppen, die an Patienten der Blutgruppe A transfundiert wurden	51
Tab. 10: TK-Präparateblutgruppen, die an Patienten der Blutgruppe B transfundiert wurden.....	52
Tab. 11: TK-Präparateblutgruppen, die an Patienten der Blutgruppe AB transfundiert wurden....	53
Tab. 12: TK-Präparateblutgruppen, die an Patienten der Blutgruppe 0 transfundiert wurden	54
Tab. 13: Kompatibilität der TKs in Abhängigkeit von der Patientenblutgruppe	55
Tab. 14: Blutgruppen von Patienten, denen TKs der AB0-Blutgruppe A transfundiert wurden....	56
Tab. 15: Blutgruppen von Patienten, denen TKs der AB0-Blutgruppe B transfundiert wurden	57
Tab. 16: Blutgruppen von Patienten, denen TKs der AB0-Blutgruppe AB transfundiert wurden .	58
Tab. 17: Blutgruppen von Patienten, denen TKs der AB0-Blutgruppe 0 transfundiert wurden.....	59
Tab. 18: Kompatibilität der TKs in Abhängigkeit von der TK-Präparateblutgruppe	60
Tab. 19: Ausgabe von Präparaten an Rh(D)-positive und Rh(D)-negative Patienten	60
Tab. 20: Haupt- und Nebendiagnosen der Patienten im Krankheitsverlauf.....	72
Tab. 21: Patientencharakteristika.....	73

Formelverzeichnis

Formel 1: Berechnung des CCI	36
Formel 2: Berechnung des Inkrements aus einer peripheren Blutprobe	36
Formel 3: Berechnung der Körperoberfläche	36
Formel 4: Formel zur Errechnung der Ergebnisse des Luminex-Verfahrens	44

Anlagenverzeichnis

Anlage 1	91
Anlage 2	92
Anlage 3	93
Anlage 4	94
Anlage 5	95

Abkürzungsverzeichnis

AABB	American Association of Blood Banks
Abb.	Abbildung
ACD	Acid Citrate Dextrose
CCI	Corrected Count Increment (korrigiertes Inkrement)
CDC	Complement Dependent Cytotoxicity (komplementabhängige Zytotoxizität)
C-FDA	Carbofluoresceindiacetat
CFSE	Carboxyfluorescein-Succinimidylester
CSV	Comma-separated values (Textdatei zur Speicherung einfach strukturierter Daten)
DGTI	Deutsche Gesellschaft für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EK	Erythrozytenkonzentrat
ESB	Transfusionsmedizinische Laborsoftware
GP	Glykoprotein
h	Hours (Stunden)
HLA	Human Leukocyte Antigen
HPA	Human Platelet Antigen
HSV	Herpes Simplex Virus
IE	Internationale Einheit
IgA	Immunglobulin A
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
ISBT	International Society of Blood Transfusion
IUIS	International Union of Immunological Societies
i.v.	Intravenös
LIMS	Laborinformations- und Management-System
MAIPA	Monoclonal Antibody Immobilization of Platelet Antigens
MFI	Mittlere Fluoreszenzintensität
MHC	Major Histocompatibility Complex (Haupthistokompatibilitätskomplex)
MHH	Medizinische Hochschule Hannover
mRNA	Messenger-Ribonukleinsäure
MTA	Medizinisch-Technischer Assistent
ns.	Nicht signifikant
OPD	o-Phenylendiamin

PAS	Platelet Additive Solution
PBS	Phosphate Buffered Saline
PC	Platelet Concentrate
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polymerasekettenreaktion)
PE	Phycoerythrin
PLT	Platelets (Thrombozytenanzahl)
PNC	Platelet Nomenclature Committee
PNPP	p-Nitrophenylphosphat
Rh(D)	Rhesusfaktor (D)
rt-PCR	Reverse Transkriptase-Polymerasekettenreaktion
SA-PE	Phycoerythrin-konjugiertes Streptavidin
s.c.	Subkutan
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
SSO	Sequenzspezifische Oligonukleotide
Tab.	Tabelle
T-ALL	Akute T-Lymphozyten Leukämie
TBS	Tris-buffered Saline
TK	Thrombozytenkonzentrat
UKS	Universitätsklinikum des Saarlandes
VRE	Vancomycinresistente Enterokokken
WHO	World Health Organization
Z.n.	Zustand nach

1. Zusammenfassung

Hintergrund: TK-Transfusionen sind ein wichtiger Bestandteil vor allem in der Therapie von Patienten mit Knochenmarkinsuffizienz, beispielsweise bei onkologischen Erkrankungen und Stammzelltransplantation sowie bei erhöhtem Thrombozytenumsatz. Immer wieder kommt es bei der Therapie zu AB0-Blutgruppen-inkompatiblen Transfusionen. Die vorliegende Studie untersucht retrospektiv das Vorkommen solcher inkompatibler Transfusionen am UKS und prospektiv die möglichen Auswirkungen auf die Immunisierung gegen HLA- und HPA-Antigene. Zur retrospektiven Analyse wurden dabei Daten aus dem Blutbankmanagementsystem des UKS entnommen, statistisch ausgewertet und im Kontext aktueller Studien anderer Autoren bewertet. Zum prospektiven Teil wurden Blutproben von neun Patienten mit Zustand nach AB0-inkompatibler TK-Transfusion auf die Bildung von HLA- und HPA-Antikörpern untersucht.

Material und Methodik: Die Studie beinhaltet einen retrospektiven Teil sowie einen klinisch-experimentellen prospektiven Teil. Im retrospektiven Teil wurde ein Zeitraum von 786 Tagen mit insgesamt 11270 TK-Transfusionen mit Blick auf die AB0- und Rhesuskompatibilität ausgewertet. Darüber hinaus wurde das Kollektiv der erstmalig transfundierten Patienten in diesem Zeitraum sowie der Zusammenhang von gemeldeten Transfusionszwischenfällen und AB0-inkompatibler TK-Transfusion betrachtet.

Der prospektive Teil schloss neun Patienten einer hämatoonkologischen Station des UKS ein, die allesamt multipel AB0-inkomatibel vortransfundiert waren. Bei Ihnen wurden Blutproben auf HLA- und HPA-Antikörper untersucht. Darüber hinaus wurde bei einer AB0-inkompatiblen TK-Transfusion der CCI-Wert bestimmt und verschiedene für den Transfusionserfolg und die Immunisierung relevante Faktoren erfasst. Zum Antikörperscreening wurden der Lymphozytentoxizitätstest und das LUMINEX-Verfahren zur Bestimmung von HLA-Antikörpern und der MAIPA-Assay und ein quantitativer ELISA-Test zur Bestimmung von HPA-Antikörpern eingesetzt.

Ergebnisse: Die Blutgruppenverteilung des Kollektivs weicht signifikant von der in der deutschen Bevölkerung ab. Die Anzahl der über den Beobachtungszeitraum verfügbaren TKs deckt, mit Ausnahme von Blutgruppe B, den Bedarf über den Zeitraum. Trotzdem wurden Patienten der häufigen AB0-Blutgruppen A und 0 gegenüber AB und B signifikant häufiger kompatibel versorgt ($\chi^2(1)=11678.5$, $p<.01$). Ebenso werden Präparate der häufigen AB0-Blutgruppen häufiger kompatibel transfundiert ($\chi^2(1)=11643.08$, $p<.01$). Im Kollektiv der Patienten mit gemeldetem Transfusionszwischenfall fanden sich bei 63% am Transfusionstag und/oder im Voraus inkompatible TK-Transfusionen. Im Untersuchungszeitraum einmalig transfundierte Patienten wurden signifikant häufiger kompatibel transfundiert. 55% der transfundierten TKs wurden an den letzten beiden Tagen ihrer Haltbarkeit verwendet, dabei waren inkompatibel verabreichte Präparate im Durchschnitt 7,6 Stunden älter als kompatibel verabreichte.

Die Untersuchung multipel vortransfundierter Patienten im prospektiven Teil lässt vermuten, dass die zur Zeit verwendeten leukozytendepletierten TKs auch bei inkompatibler Transfusion keinen Einfluss auf die HLA-/HPA-Immunsierung haben. Zwar kam es in mehreren Fällen zu einer Transfusionsrefraktärität, allerdings konnte nur bei einer Patientin eine Immunsierung gegen HPA-Antigene nachgewiesen werden, HLA-Antikörper fanden sich in keinem der Fälle.

Schlussfolgerung: Die gewonnenen Daten stützen die Vermutung, dass die am UKS verwendeten, leukozytendepletierten TKs auch bei ABO-Blutgruppen-inkompatibler Transfusion keinen Einfluss mehr auf die HLA-/HPA-Immunsierung von Patienten haben.

Eine dem retrospektiven Teil der Arbeit ähnliche Studie an der MHH zeigt, dass die Versorgungsqualität am UKS auf einem national vergleichbaren Niveau ist. Allerdings ergeben sich Hinweise, dass die inkompatible Transfusion gehäuft mit dokumentierten Transfusionszwischenfällen einhergeht. In Zusammenschau mit anderen Studien lässt sich schlussfolgern, dass die ABO-inkompatible Thrombozytentransfusion zwar vertretbar, aber nach wie vor nicht gleichwertig mit der ABO-kompatiblen Transfusion ist.

Abstract

Background: PC-Transfusions form an important part especially in the treatment of patients with a bone marrow failure, for instance, in case of oncological diseases and stem cell transplantation, as well as in case of an increased use of thrombocytes. In treatment, transfusions that are blood type AB0 incompatible have been occurring repeatedly. The present study looks retrospectively at the occurrence of such incompatible transfusions at the UKS, and prospectively at possible consequences of the immunization against HLA- and HPA- antigens. For the retrospective analysis, data has been obtained from the management system of the UKS's blood bank. The data was evaluated statistically and assessed in the context of current studies of other authors. For the prospective part, blood samples of nine patients who had received an AB0 incompatible PC transfusion were tested for the formation of HLA- and HPA-antibodies.

Material and methods: The study contains a retrospective part, as well as a clinical-experimental prospective part. In the retrospective part, a total of 11270 PC-transfusions was evaluated focusing on the AB0- and rhesus-compatibility over a period of 786 days. Furthermore, those patients who were transfused for the first time during that period of time and the connection between reported transfusion incidents and AB0-incompatible PC-transfusions was observed.

The prospective part includes nine patients of a hemato-oncological ward of the UKS who have all received AB0-incompatible transfusions several times before. Blood samples of those patients were tested for HLA- and HPA-antibodies. Additionally, the CCI-value of one AB0-incompatible transfusion was determined and several factors relevant for a successful transfusion and the immunization were gathered. For the antibody screening, the lymphocyte toxicity test and the LUMINEX-procedure for the determination of HLA-antibodies and the MAIPA-Assay and a quantitative ELISA-test for the determination of HPA-antibodies were used.

Results: The distribution of the blood groups in the share of patients included in the study differs significantly from of the distribution of blood groups in the German population. The number of PC available during the observation period covered the requirements over the entire period with the exception of blood group B. Still, patients with the common AB0-blood groups A and 0 were supplied compatibly significantly more frequently as compared to AB and B ($\chi^2(1)=11678.5$, $p<.01$). Also, PCs of the common AB0-blood groups are transfused compatibly more often ($\chi^2(1)=11643.08$, $p<.01$). In the group of patients with reported transfusion incidents, 63% of the patients received incompatible PC-transfusions on the day of the transfusion and/or before. Those patients who were only transfused once within the period of observation were transfused compatibly significantly more often. 55% of the transfused PCs were used two days before their expiry date. On average, incompatibly administered PCs were 7,6 hours older than compatibly administered ones.

The examination of patients transfused multiple times before in the prospective part of the study suggests that the currently used leukocyte-depleted PCs do not have an influence on the HLA-/HPA-immunization, also not in case of an incompatible transfusion. Although several patients were refractory to transfusions, only one patient showed an immunization against HPA-antigens. There were no HLA-antigens in any of the patients.

Conclusion: The collected data supports the assumption that even with transfusions which are ABO-blood group incompatible, the leukocyte-depleted PCs used at the UKS do not impact the HLA-/HPA-immunization of patients. A study from the MHH resembling the retrospective part of the present study shows that the quality of supply with PC transfusions at the UKS is in line with the national level. Still, there are indications that incompatible transfusions are frequently accompanied with reported transfusion incidents. In synopsis with other studies, it can be concluded that ABO-incompatible platelet-transfusions are justifiable, but still remain not equivalent to compatible transfusions.

2. Einleitung

2.1. Thrombozytentransfusion und Kompatibilität

2.1.1. Historischer Wissensstand

„A few months ago I was requested to visit a woman who was sinking under uterine hemorrhage. The discharge had stopped before my arrival, but her fate was decided, and notwithstanding every exertion of the medical attendants, she died in the course of two hours. Reflecting afterwards on this melancholy scene, for there were circumstances which gave it a peculiar interest, I could not forbear considering, that the patient might very probably have been saved by transfusion.“ (Blundell, 1818).

Diese Sätze, niedergeschrieben vom englischen Geburtshelfer James Blundell (1791-1878) stellen die Geburtsstunde der modernen Transfusionsmedizin dar. Schon zuvor waren mit der Entdeckung des Blutkreislaufes im Jahr 1628 durch William Harvey (1578-1657) und der Entwicklung der intravenösen Injektion 1656 in Oxford sowie mit der ersten dokumentierten Transfusion von Blut 1666 zwischen zwei Hunden am Gresham College in Oxford unter Leitung von Richard Lower (Lower R, 1666) die Grundlagen dafür gelegt worden. Die Intention der Bluttransfusion war bis dato allerdings die Wiederherstellung der allgemeinen Gesundheit und die Beeinflussung des Gemüts, wie es beispielsweise in der Schrift „Appendix Necessaria Syntagmatis Arcanorum Chymicorum“ des Deutsche Andreas Libavius (1555-1616) beschrieben ist. James Blundell erkannte als erster den eigentlichen Wert der Bluttransfusion und startete seine Forschung, um dem postpartalen Verbluten seiner Patientinnen entgegenwirken zu können. Bei Tierexperimenten stellte er fest, dass Bluttransfusionen zwischen zwei Tieren der gleichen Spezies verträglicher waren als Transfusionen zwischen unterschiedlichen Spezies und folgerte daraus, dass nur menschliches Blut auf den Menschen übertragen werden sollte. Mit den gesammelten Erkenntnissen und der erfolgreichen Transfusion von menschlichem Fremdblut auf eine postpartal ausgeblutete Frau im Jahr 1825 erarbeitete er sich den Titel „Vater der modernen Transfusionsmedizin“ (Baskett, 2002). Fortan war die Wirkung von Bluttransfusionen bei Blutungsanämie anerkannt, auch wenn nur etwa die Hälfte der Transfusionen positiv verlief. Schon 1879 kam die Idee der Kochsalzinfusion auf, gefolgt von der Verwendung von Zuckerlösungen zur Aufrechterhaltung des kolloidosmotischen Drucks 1896 (Starling, 1896; Starling und Tubby, 1894). Zeitgleich machte man sich an die Erforschung der Zusammensetzung des Blutes und speziell an die Frage, warum manche Blutproben gerinnen, wenn man sie mit anderen Blutproben vermischt. Zunächst ging man Ende des neunzehnten Jahrhunderts davon aus, dass nur krankes Blut gesundes Blut gerinnen lassen kann (Shattock SG, 1900). Karl Landsteiners (1868-1943) Entdeckung der Blutgruppen im Jahr 1901 machte dann endlich eine gefahrlosere Transfusion von Blut möglich. 1930 erhielt Landsteiner für seine Leistungen den Nobelpreis (Landsteiner, 1931). Im ersten Weltkrieg wurde erstmals die indirekte Bluttransfusion, also die Verabreichung von Blutkonserven, in großer Anzahl durchgeführt (Wederhake, 1917). Bereits

1919 wurde im Rockefeller-Institut in New York eine erste Blutbank eingerichtet. Nach dem zweiten Weltkrieg setzte sich die Auftrennung von Vollblut in seine Bestandteile immer mehr durch, begonnen mit der Entwicklung einer chemischen Trennmethode durch Edwin Joseph Cohn (1892-1953) (Cohn, 1947; Kendrick DB, 1964) und der Trennung durch Zentrifugation 1944, die auch den Ausgangspunkt zur Entwicklung der geschlossenen Zentrifugation (Judson, Jones et al., 1968) und somit der Hämapherese im Jahr 1968 darstellt (Giangrande, 2000; Greenwalt, 1997; Schleinzner W und Singbartl G, 1993; Webster, 1971).

Der erste erfolgreiche Versuch, speziell die Thrombozytenzahl bei einem thrombozytopenen Patienten anzuheben, wurde 1910 von Duke durch eine Vollbluttransfusion unternommen (Duke, 1910). Viele seitdem stattgehabte Verbesserungen in der Herstellung und der Lagerung von Thrombozytenpräparaten erlauben heute eine erfolgreiche Behandlung thrombozytopenen Patienten mit unterschiedlichsten Grunderkrankungen wie Leukämie und anderen bösartigen Neubildungen, nach Blutungen oder mit Erkrankungen des thrombopoetischen Systems. In den 1950er Jahren wurde gezeigt, dass Thrombozytentransfusionen die Mortalität in Folge von Hämorrhagien bei Patienten mit akuter Leukämie senken (Hersh EM, Bodey GP et al., 1965). Allerdings wird der Transfusionserfolg durch verschiedene Einflussfaktoren wie Splenomegalie, Fieber und Medikamentengabe (Kankirawatana, Huang et al., 2007) beeinflusst. Seit 1969 kennt man einen weiteren Grund für fehlenden Transfusionserfolg: Antikörper gegen die HLA-Oberflächenantigene auf Thrombozyten (Yankee, Grumet et al., 1969). Auf der Thrombozytenoberfläche kommen die HLA-Antigene der Klasse I, also HLA-A, HLA-B und HLA-C vor. Darüber hinaus werden die Erythrozytenantigene A, B und H sowie thrombozytenspezifische HPA-Antigene exprimiert.

Die Bildung der HLA-Antikörper wird unter anderem durch zusammen mit den Thrombozyten transfundierten Leukozyten getriggert, sodass man in den siebziger Jahren des vergangenen Jahrhunderts begann, Leukozyten aus den TKs abzutrennen (Hogman, Berseus et al., 1997). Vor der Entwicklung dieser leukozytendepletierten Thrombozytenpräparate entwickelten bis zu 70% der polytransfunden Patienten Antikörper gegen HLA-Antigene der Klasse I (Howard und Perkins, 1978). Als Problem für den Transfusionserfolg wurde zu diesem Zeitpunkt vor allem die Expression der AB0-Blutgruppenantigene gesehen (Lee und Schiffer, 1989), deren Vorkommen auf Thrombozyten 1954 von Gurevitch et al erstmals beschrieben wurde (Gurevitch J und Nelken D, 1954). Allerdings wusste man auch früh, dass eine AB0-inkompatible Thrombozytentransfusion einen Transfusionserfolg zumindest nicht ausschließt (Klein E, Djerassi I et al., 1958), wohl aber die Wiederfindungsrate der Spenderthrombozyten im Patientenblut verringert (Aster RH, 1965). Klinisch relevante Hämolysen traten vor allem bei AB0-inkompatibel transfundierten Thrombozyten der Blutgruppe 0 durch Mittransfusion von inkompatiblem Plasma auf (Pfisterer, Thierfelder et al., 1968; Sadani, Urbaniak et al., 2006). Die Erythrozytenantigene A, B und H werden auf Thrombozyten nur sehr schwach exprimiert (Dunstan RA, Simpson MB et al., 1984), sodass mit der Einführung reiner TKs statt der vorher verwendeten Vollblutpräparate damit begonnen wurde, auch AB0-Blutgruppen

inkompatibel zu transfundieren (Djerassi I, Farber S et al., 1963). Die Blutgruppenantigene auf Thrombozyten sind sowohl intrinsisch produziert als auch extrinsisch, also aus dem Plasma, adsorbiert (Dunstan RA, Simpson MB et al., 1985) und sitzen auf den plättchenspezifischen Glykoproteinen GP IIb-IIIa, GP Ib-IX-V, GP Ia/IIa, GP IVIIIa und Ib (Santoso S, Kiefel V et al., 1991; Tsuji T und Osawa T, 1986). Darüber hinaus ist bekannt, dass Thrombozyten der Blutgruppe A₂ im Vergleich zu denen der Blutgruppe A₁ sehr wenige Blutgruppenantigene exprimieren (Skogen B, Rossebo HB et al., 1988), während 5% der Individuen mit den Blutgruppen A₁ und B eine ungewöhnlich hohe Dichte an Blutgruppenantigenen auf der Thrombozytenoberfläche besitzen (Curtis BR, Edwards JT et al., 2000; Ogasawara K, Ueki J et al., 1993). Innerhalb eines Individuums schwankt die Dichte an Blutgruppenantigenen auf der Thrombozytenoberfläche ebenfalls (Cooling LL, Kelly K et al., 2005; Dunstan RA und Simpson MB, 1985), desweiteren nimmt mit zunehmender Lagerzeit des TK die Expression von Blutgruppenantigenen zu (Julmy F, Achermann F et al., 2003).

Neben den AB0-Blutgruppenantigenen finden sich auf Thrombozyten noch Blutgruppenantigene des Lewis-, P- und Ii-Systems (Dietrich G und Kretschmer V, 1992; Dunstan RA, Simpson MB et al., 1984), die für die Transfusionspraxis meist nur eine geringe Rolle spielen. Eine sehr wichtige Rolle in Hinsicht auf den Transfuserfolg spielen dagegen die HLA-Klasse I-Antigene HLA-A und HLA-B und die schwächer exprimierten HLA-C-Antigene (Datema G, Stein S et al., 2000; Saito, Ota et al., 2002), sowie die thrombozytenspezifischen Antigene, heute als HPA-Antigene bezeichnet. Erst in den letzten beiden Jahrzehnten kam der Gedanke auf, dass durch Transfusion eines Thrombozytenkonzentrates mit ungleicher AB0-Blutgruppe auch die Immunisierungsrate gegen HLA- und HPA-Antigene stärker getriggert werden könnte als bei AB0-identischer Transfusion. In einer Studie aus dem Jahr 1990, in der die Auswirkungen einer AB0-major-inkompatiblen Thrombozytentransfusion an 13 nicht-immunisierten Patienten im Vergleich zu 13 AB0-major-kompatibel versorgten Patienten mit insgesamt 293 applizierten TKs untersucht wurden, fand sich eine signifikant erhöhte Refraktärität (69% vs. 8%) und eine erhöhte Immunisierungsrate gegen HLA- und HPA-Antigene in der Gruppe der AB0-major-inkompatibel transfundierten Probanden (Carr, Hutton et al., 1990). Außerdem stellte die Studie einen signifikanten Anstieg der AB-Isoantikörper fest. Verwendet wurden damals Thrombozytenpräparate mit einer Leukozytenzahl von unter 4×10^8 pro Einheit, also deutlich mehr, als es der heutige Standard - erlaubt sind seit dem Jahr 2000 unter 1×10^6 Leukozyten pro Einheit - vorschreibt. Angenommen wird, dass die Immunisierung gegen HLA-Antigene vor allem durch die mittransfundierten Leukozyten hervorgerufen wird, da Leukozyten eine wesentlich höhere Dichte dieser Antigene auf ihrer Oberfläche tragen als Thrombozyten (Waßmuth, 2005).

2.1.2. Aktueller Wissensstand

In Deutschland wurden im Jahr 2009 über 440000 TKs transfundiert (Henseler O, Heiden M et al., 2011). In Europa sind es jährliche ungefähr drei Millionen Thrombozytenprodukte (Maniatis A, 2005), in den Vereinigten Staaten von Amerika sind es mehr als eineinhalb Millionen pro Jahr (Sullivan MT und EL, 2005).

TKs werden in Deutschland entweder aus Vollblutspenden oder durch Thrombozytapherese gewonnen. Bei der Thrombozytapherese werden die Thrombozyten aus dem Blut des Spenders abgetrennt, die nicht benötigten Blutbestandteile werden dem Spender wieder zugeführt. Bei der Weiterverarbeitung der Präparate unterscheidet man die Gewinnung aus Poolpräparaten oder aus Einzelspenden. Bei Poolpräparaten werden die Thrombozyten von vier bis sechs Spendern zusammengefasst und in Konzentrate mit 240 bis 360×10^9 Thrombozyten in 200 bis 350 ml Plasma oder Plasmaersatzlösung aufgeteilt. Ein Apherese-Thrombozytenkonzentrat eines Einzelspenders hingegen enthält in der Regel 200 bis 400×10^9 Thrombozyten in circa 200 bis 300 ml Plasma. Ein Unterschied im Therapieeffekt zwischen den beiden Präparaten besteht nicht (Strindberg und Berlin, 1996). Allerdings legen einige Untersuchungen nahe, dass bei Apheresepräparaten seltener eine Refraktärität auftreten könnte (Slichter, Davis et al., 2005) und die Recoveryrate sowie die Überlebenszeit von Thrombozyten höher sein könnten (Arnold, Heddle et al., 2006).

Die aktuellen Leitlinien der Bundesärztekammer (BÄK, 2010) sehen vor, die AB0-Gleichheit zwischen Spender und Empfänger eines TK nach Möglichkeit zu gewährleisten, da inkompatible Thrombozyten mutmaßlich den Effekt der Transfusion negativ beeinflussen und inkompatibel transfundiertes Plasma zur Immunisierung des Patienten führen kann (Lozano, Heddle et al., 2010).

Trotz aller Fortschritte in der Transfusionsmedizin ist auch heute noch das Vorkommen von HLA- und HPA-Alloantikörpern einer aktuellen Studie zufolge der wichtigste Grund für eine Transfusionsrefraktärität des Patienten (Xia, Ye et al., 2010). Gerade bei polytransfunden Patienten ist dies oft ein limitierender Faktor in der hämotherapeutischen Versorgung des Betroffenen. Einziger Ausweg ist in einem solchen Fall die Suche nach einem Spender mit möglichst gleichen HLA- und HPA-Merkmalen, wobei eine Übereinstimmung aller HLA-Merkmale einen Transfusionserfolg bei Abwesenheit anderer Einflussfaktoren wie Fieber, Splenomegalie oder Antikörpern gegen thrombozytenspezifische Antigene (HPA) sehr wahrscheinlich macht, bei zwei HLA-Mismatches ist die Erfolgsrate noch bei 65% (Sekiguchi, Mitani et al., 1988). Allerdings benötigt eine Blutbank laut einer Studie statistisch gesehen 3000 typisierte Thrombozytenspender, um alle kaukasischen Patienten mit Thrombozytenpräparaten zu versorgen, die maximal zwei HLA-Mismatches zwischen Spender und Empfänger aufweisen (Bolgiano, Larson et al., 1989). Um 80% der kaukasischen Patienten vier bis fünf mögliche HLA-identische Spender zu garantieren, benötigt man eine Spenderdatenbank von bis zu 25000 Personen (Takahashi, Juji et al., 1987). Alternativ ist bei Patienten mit HLA-Immunisierung auch das Verabreichen von Präparaten, die eine negative Kreuzprobe im Lymphozytotoxizitätstest aufweisen, effektiver als eine zufällige Zuordnung (Hyun, Lim et al., 2009).

Bewährt hat sich außerdem die Vorhersage der Verträglichkeit von Thrombozytenpräparaten bei stark HLA-immunisierten Patienten durch Algorithmen wie den „HLAMatchmaker“ (www.hlamatchmaker.net), die unter Berücksichtigung von Kreuzreaktionen zwischen verschiedenen HLA-Antikörpern, typischen Antigenkonstellationen beim Spender und „kompatiblen“ Mismatches bei strukturell ähnlichen HLA-Antigenen die verträglichste Spenderantigenkonstellation für HLA-immunisierte Patienten ermitteln. Solche Algorithmen erleichtern die Zuordnung von Thrombozytenpräparaten und senken die Kosten für HLA-Typisierungen (Duquesnoy, 2002).

Da sich die übertragenen, funktionstüchtigen Thrombozyten nach der Transfusion im Blut und in der Milz verteilen, liegt die Wiederfindungsrate (Recovery) im peripheren Blut nur bei 60-70% und ist bei Fehlen der Milz höher, bei Splenomegalie niedriger. Zur Bestimmung des Transfusionserfolgs hat sich in den letzten Jahren die Bestimmung des Corrected Count Increment (CCI) durchgesetzt. Er ist ein wichtiger Parameter zur Einschätzung des Transfusionserfolgs, da er im Gegensatz zu anderen Laborparametern durch die Einbeziehung der Körperoberfläche des Patienten in die Formel (siehe Seite 36) ungefähr zum Blutvolumen des Patienten korrigiert und somit interindividuell vergleichbar ist (Carson JL, 2002). Der CCI-Wert korreliert unter anderem negativ mit der Lagerzeit der Präparate (Hyun, Lim et al., 2009), keine Auswirkung auf den CCI-Wert hat die Transfusionsmethode (Norville, Hinds et al., 1994). In einigen Studien konnte in der Vergangenheit gezeigt werden, dass Thrombozytentransfusionen, bei denen AB0-inkompatibles Plasma (minor-inkompatible Transfusion) oder AB0-inkompatible Zellen (major-inkompatible Transfusion) auf den Patienten übertragen werden, ein geringeres CCI erzeugen, als eine Transfusion, bei denen sowohl AB0-kompatible Zellen als auch AB0-kompatibles Plasma übertragen wird. Darüber hinaus postulierten Mazzara et al 1996 neben fehlender Wirksamkeit eine signifikante Aktivierung des Gerinnungssystems bei AB0-inkompatiblen Transfusionen (Mazzara, Escolar et al., 1996). Der Zustand nach erfolgloser Thrombozytentransfusion wird als „Refraktärität“ bezeichnet und entsteht bei 5-15% der polytransfunden Patienten (Rebulla, 2005).

Die AB0-inkompatible Thrombozytentransfusion zeigt eine Verminderung des Inkrements um mindestens 30% im Vergleich zur kompatiblen Transfusion (Jimenez, Patel et al., 2003), die Wiederfindungsrate ist bei AB0-major-inkompatibler Transfusion um 30-40% im Vergleich zur kompatiblen Transfusion reduziert (Duquesnoy RJ, Anderson AJ et al., 1979; Heal, Blumberg et al., 1987; Klumpp, Herman et al., 1996) und nimmt bei folgenden AB0-major-inkompatiblen Transfusionen weiter ab. Bei AB0-minor-inkompatibler Transfusion nimmt die Recoveryrate um knapp 20% ab (Heal, Blumberg et al., 1987). Zumindest für manche Patientengruppen konnte allerdings gezeigt werden, dass die inkompatible Transfusion keine Auswirkungen auf das klinische Outcome hat (Lin, Callum et al., 2002). In älteren Studien ist die Überlebenszeit von Leukämiepatienten bei AB0-identischer Thrombozytentransfusion länger als die inkompatibel transfundierter Patienten (Benjamin und Antin, 1999; Benjamin, McGurk et al., 1999; Heal, Masel et al., 1993). Dahingegen wurde eine retrospektive Studie mit 153 Fällen, die einen Trend zu erhöhter

Mortalität und Infektion bei herzchirurgischen, AB0-inkompatibel transfundierten Patienten zeigte (Blumberg, Heal et al., 2001), von einer größer angelegten retrospektiven Studie (Lin, Callum et al., 2002) nicht bestätigt. In einer Untersuchung an nicht-onkologischen Patienten zeigte sich ein geringer Unterschied im Inkrement von AB0-kompatibel versus AB0-inkompatibel transfundierten Patienten (Pavenski, Warkentin et al., 2010). Bestätigt werden diese Ergebnisse von einem Review aus 19 Studien mit über 1500 Patienten (Shehata, Timmouth et al., 2009).

Wegen der unklaren Datenlage und wegen des Fehlens direkt ersichtlicher Nebenwirkungen, die beispielsweise vergleichbar mit denen bei AB0-inkompatibler Erythrozytentransfusion wären, wird, den Empfehlungen der Bundesärztekammer folgend (BÄK, 2010), bei nicht-Vorhandensein eines AB0-gleichen TK häufig ein AB0-ungleiches TK verwendet. Dieses Vorgehen ist notwendig, da auf Grund zu weniger Spender und der mit vier Tagen (BÄK, 2010) sehr kurzen Haltbarkeit des TK häufig nicht genügend AB0-gleiche Produkte verfügbar sind. Ob allerdings durch AB0-ungleiche Transfusion von TKs eine stärkere Wahrscheinlichkeit für eine HLA- oder HPA-Immunisierung des Empfängers gegenüber einer AB0-gleichen Transfusion ausgeht, ist für die momentan verwendeten leukozytendepletierten Präparate mit pro Präparat $< 1 \times 10^6$ Leukozyten noch nicht eindeutig geklärt worden. Die HLA-Immunisierung durch TKs wird vor allem auf verunreinigende Leukozyten, die eine hohe HLA-Antigendichte auf ihrer Zelloberfläche besitzen, zurückgeführt. Vergleichbare Arbeiten beziehen sich auf Produkte, die nach veralteten Standards hergestellt wurden und somit nicht mit den heutigen Produkten vergleichbar sind. McVey et al weisen aber in diesem Zusammenhang in einer aktuellen Studie darauf hin, dass auch in der modernen Transfusionsmedizin eine Gabe von sowohl AB0- als auch HLA-kompatiblen TKs den Transfusionserfolg optimiert (McVey und Cserti-Gazdewich, 2010).

Darüber hinaus liegen nur sehr wenige publizierte Daten vor, die dazu dienen könnten, die Auswirkungen der AB0-inkompatiblen Thrombozytentransfusion abzuschätzen. In einer sekundären Analyse der Datensätze der TRAP-Studie, in der fast 6.400 Thrombozytentransfusionen bei mehr als 530 Patienten durchgeführt wurden, konnte kein Zusammenhang zwischen einer AB0-inkompatiblen Transfusion und der Entwicklung einer Thrombozytenrefraktärität beobachtet werden (Slichter, Davis et al., 2005). Allerdings wurden im Rahmen dieser Studie 97% der Transfusionen AB0-kompatibel appliziert und die Präparate entsprachen dem Standard der American Association of Blood Banks, die pro Einheit eine Leukozytenanzahl von unter 5×10^6 Leukozyten vorschreibt (AABB, 2004), eben die Anzahl an Leukozyten, die Ende des letzten Jahrhunderts als gerade nicht mehr immunisierend angesehen wurde (Andreu G und Dewailly J, 1994; Novotny VMJ, van Doom R et al., 1995). Somit sollten die Ergebnisse dieser Studie nicht uneingeschränkt auf die aktuelle Transfusionspraxis in Deutschland angewendet werden. Es liegen somit keine verwertbaren aktuellen Studien vor, die die Auswirkungen einer AB0-major oder AB0-minor-inkompatiblen Thrombozytentransfusion mit leukozytendepletierten Apheresekonzentraten bezüglich der Entwicklung einer klinischen Refraktärität oder der Entwicklung einer laboranalytisch nachweisbaren Immunsierung gegen HLA-

oder HPA-Antigene untersucht haben: „There is a lack of evidence for guiding the best strategy for ABO selection of platelet transfusions“ (Lozano, Heddle et al., 2010).

Einige Studien kommen zu dem Ergebnis, dass die ABO-inkompatible Thrombozytentransfusion sowohl kurzfristig als auch langfristig Folgen für den Empfänger haben kann. So berichten mehrere Fallstudien von allgemeinen (Siren, Koponen et al., 1998) oder hämolytischen (Larsson, Welsh et al., 2000; Ozturk, Turken et al., 2003; Sadani, Urbaniak et al., 2006) Transfusionsreaktionen nach minor-inkompatibler Transfusion, teilweise mit fatalem Ausgang, sowie von einem die Blutgerinnung fördernden Effekt (Mazzara, Escolar et al., 1996). Eine retrospektive schwedische Studie an über 86000 Patienten postuliert eine höhere Mortalität vor allem bei Patienten mit fünf oder mehr inkompatiblen Transfusionen. Hier lag das relative Risiko bei 1,15 (Shanwell, Andersson et al., 2009), dies bestätigen weitere Studien (Kerkhoffs, Eikenboom et al., 2008).

Darüber hinaus wurde für einige definierte Patientengruppen in den letzten Jahren ein Überlebensvorteil bei konsequent ABO-kompatibler Versorgung mit Thrombozytenpräparaten extrapoliert. Dies gilt beispielsweise für Erwachsene mit akuter Leukämie, die laut einer Untersuchung bei ABO-kompatibler Thrombozytentransfusion gegenüber der nicht-kompatibel transfundierten Patientengruppe eine längere Remissionszeit und eine längere Überlebenszeit hatten (Heal, Kenmotsu et al., 1994). Eine weitere Studie befasst sich mit herzchirurgischen Patienten, bei denen Patienten mit einer oder mehr ABO-inkompatiblen Plättchentransfusionen eine signifikant höhere Mortalität hatten (Blumberg, Heal et al., 2001). Weitere Parameter der Studie unterstützen diese Aussage: Inkompatibel transfundierte Patienten hatten längere Episoden mit febrilen Temperaturen, einen längeren Intensivaufenthalt, längeren Antibiotika- und einen um 50% größeren Thrombozytentransfusionsbedarf. Daraus lässt sich auch ein Nachteil für die Krankenhausökonomie ablesen. Auch dieser wurde in der Studie erfasst: Aus dem längeren Krankenhausaufenthalt ergaben sich signifikant höhere Ausgaben.

Auch im Rahmen einer finanziellen Optimierung der medizinischen Behandlung ist der transfusionsrefraktäre Patient somit interessant: Meehan et al berichten von einer mittleren Krankenhausverweildauer refraktärer Patienten von 35 Tagen und mittleren Kosten von 103.956 US-Dollar versus im Mittel 14,4 Tage und 37.818 US-Dollar in der Gruppe nicht-refraktärer Patienten (Meehan, Matias et al., 2000). Eine weitere Studie erfasste die Kosten für die Bereitstellung Crossmatch-negativer Blutplättchen für 40 refraktäre Patienten. Sie erhielten im Beobachtungszeitraum von 33 Monaten im Durchschnitt vierzehn Crossmatch-negative Thrombozytenkonzentrate. Dabei entstanden alleine für die Beschaffung der speziellen Crossmatch-Testkits insgesamt über 173.000 Euro an Kosten (Rebulla, Morelati et al., 2004).

2.2. HLA-Merkmale

2.2.1. Entwicklung des Wissensstandes

Der Haupthistokompatibilitätskomplex (Major Histocompatibility Complex, MHC) wurde im Zusammenhang mit Untersuchungen zur Gewebetransplantation entdeckt und konnte bisher in vielen Vertebraten nachgewiesen werden (Amos, 1975). Neben dem Sammelbegriff MHC hat sich für jede Spezies eine spezifische Bezeichnung durchgesetzt, beim Menschen ist diese „Humanes Leukozyten Antigen“ (Human Leukocyte Antigen, HLA). Hintergrund der Entdeckung dieser Merkmale war die Frage, warum Gewebetransplantationen zwischen nicht genetisch identischen Versuchstieren regelmäßig zur Zerstörung des transplantierten Gewebes führten und warum die Abstoßungsreaktion verschieden stark ablief. Dausset entdeckte 1958 im Blut polytransfundierter Patienten einen ersten Antikörper gegen ein Antigen, das er als „Mac“ bezeichnete. Dieses Antigen wird heute als HLA-A2 bezeichnet. Durch weitere Versuche mit Alloantikörpern aus Seren von Frauen nach stattgehabter Schwangerschaft oder Seren von durch Transfusionen alloimmunisierten Patienten als Suchwerkzeug fand man immer mehr schwache (minor) Transplantationsantigene und starke (major) Transplantationsantigene, die MHC-Moleküle.

Diese werden auf der Zelloberfläche der Körperzellen exprimiert. Im Laufe der Erforschung dieser Antigene fand man immer mehr, über die Transplantatabstoßung hinaus gehende Funktionen dieser Moleküle und gelangte zu der Ansicht, dass sie das immunologische Selbst eines Individuums definieren und darüber hinaus zur Präsentation fremder Antigene dienen.

Im Jahr 1980 wurde die vollständige Aminosäuresequenz der HLA-A, -B und -C Antigene aufgeklärt (Tragardh, Rask et al., 1980). Ob die HLA-Antigene auf der Thrombozytenoberfläche allerdings während der Thrombopoese gebildet werden oder die Thrombozyten vielmehr als „immunologischer Schwamm“ Antigeneigenschaften adsorbieren, wurde schon früh diskutiert. So zeigten Blumberg et al im Jahr 1984, dass eine hypertone Chloroquinlösung *in vitro* HLA-A und HLA-B-Merkmale von der Thrombozytenoberfläche, nicht aber von der Lymphozytenoberfläche ablöst (Blumberg, Masel et al., 1984), andere Arbeiten zeigen die Aufnahme von gelösten Antigenen auf die Thrombozytenoberfläche (Blumberg, 1982). Bei Poolpräparaten, bei denen die Thrombozyten aus den gepoolten Präparaten mehrerer Spender gewonnen werden, konnte allerdings keine Adsorption von Antigeneigenschaften fremder Thrombozyten nachgewiesen werden (Zeiler, 2006).

Bei allogenen Transplantationen zwischen genetisch unterschiedlichen Menschen spielen die HLA-Merkmale eine zentrale Rolle bei der Transplantatabstoßung, wodurch die klinische Relevanz des HLA-Systems sichtbar wird: Das Überleben eines transplantierten Gewebes sowie das Überleben transfundierter Thrombozyten ist laut verschiedener Studien abhängig vom Grad der Übereinstimmung der HLA-Merkmale zwischen Spender- und Empfängerindividuum und dem Vorkommen von Antikörpern gegen transplantierte HLA-Merkmale beim Empfänger (Murphy, 1996). So wurde bereits 1969 in einer Studie an Patienten, die nach Thrombozytentransfusion einen

inadäquaten Anstieg der Thrombozytenzahl im Blut zeigten, mit dem Lymphozytotoxizitätstest nachgewiesen, dass HLA-A Merkmale für die Refraktärität zumindest mitverantwortlich waren (Yankee, Grumet et al., 1969) und dass HLA-kompatible Thrombozyten bei Patienten, die zuvor erfolglos transfundiert worden waren, eine Wirkung zeigen (Levy und Woodfield, 1984). Darüber hinaus sind Fälle beschrieben, bei denen HLA-inkompatible Thrombozytentransfusionen zu anaphylaktischen Transfusionsreaktionen geführt haben (Kuntz, Schottler et al., 1994; Take, Tamura et al., 1993).

Eine HLA-Immunsierung kann dabei nicht nur bei polytransfunden Patienten, sondern auch bei Frauen auftreten, die sich bei einer stattgehabten Schwangerschaften gegen paternale HLA-Merkmale des Kindes immunisiert haben (Panzer, Auerbach et al., 1995). Dabei wirken auch schon unerkannte, früh spontan abortierte Schwangerschaften immunogen (Brooks, MacPherson et al., 2008). So findet man HLA-Klasse I-Antigene bei Erstgravida in 18,2% der Fälle, bei 27,3% der Zweitgravida und bei 50% der Frauen mit drei oder mehr Schwangerschaften (Morin-Papunen, Tiilikainen et al., 1984). Unabhängig von der Anzahl der Schwangerschaften findet man zytotoxische HLA-Antikörper in den Sera von rund einem Viertel der Frauen nach Entbindung (Bux, Jung et al., 1992).

Das Ziel der Transfusionsmedizin muss es also sein, bei offensichtlicher Refraktärität nach Gabe eines Thrombozytenpräparates zu überprüfen, ob nicht Antikörper gegen HLA-Merkmale dafür verantwortlich sein könnten und - als Konsequenz daraus - ein möglichst kompatibles Thrombozytenpräparat zu verabreichen (Tosato, Applebaum et al., 1978). Eine besondere Rolle steht dabei - vor allem bei Patienten, bei denen wiederholte Transfusionen vorgesehen sind - der AB0-Blutgruppen inkompatiblen TK-Transfusion zu, die im Verdacht steht, eine Alloimmunsierung gegen HLA-Antigenmerkmale stärker zu fördern, als eine AB0-kompatible Thrombozytentransfusion. Dabei sind bis heute noch nicht alle HLA-Antigene bekannt. Die Liste der bekannten HLA-Antigene ändert sich regelmäßig, zuletzt wurde sie im Januar 2012 angepasst. Ihre Nomenklatur soll im Folgenden in ihren Grundzügen dargestellt werden.

Die Gene für alle HLA-Proteine - mit Ausnahme des β -Mikroglobulins, das sich auf Chromosom 15 befindet - finden sich zentromernah auf Chromosom 6 (6p21.1-6p21.3) (Waßmuth, 2005). Sie lassen sich topographisch in zwei Gruppen einteilen, die Klasse I-Antigene, zu denen HLA-A-, HLA-B- und HLA-C-Antigene gehören und Klasse II-Antigene, die die HLA-Antigengruppen DR, DP und DQ umfassen (Abb. 1, Seite 24). Auf Thrombozyten werden nur die HLA-Antigene der Klasse I, also HLA-A, HLA-B und HLA-C exprimiert. Mit der Nomenklatur des HLA-Systems befassen sich Experten von WHO (World Health Organization) und IUIS (International Union of Immunological Societies). Die Benennung eines HLA-Antigens setzt sich aus mehreren Komponenten zusammen. Zu Beginn steht die Abkürzung „HLA“ für „Human Leukocyte Antigen“, gefolgt von einem Bindestrich und den Buchstaben A,B,C, DR, DP oder DQ, die den Genort des bezeichneten Merkmals bestimmen. Im Anschluss daran werden weitere Merkmale des Genotyps kodiert.

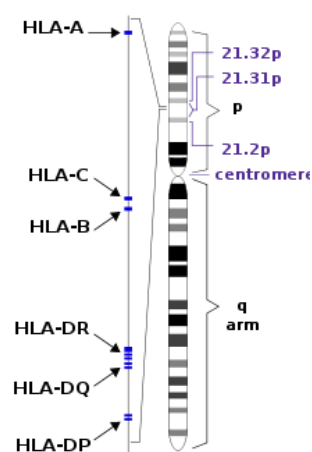


Abb. 1: Chromosom 6 mit den Genorten HLA-A, -B, -C, -DR, -DQ und -DP (Philip Deitiker, 2009)

Um eine Immunisierung gegen HLA-Antigene zu detektieren, gibt es verschiedene Verfahren. Die klassische Methode ist der Lymphozytotoxizitätstest oder CDC (Complement Dependent Cytotoxicity), bei dem Lymphozyten mit bekannten HLA-Merkmalen bei Anwesenheit lymphozytotoxischer HLA-Antikörper im zu untersuchenden Serum komplementabhängig lysiert werden. Er ist auch heute noch das Standardverfahren zum Nachweis von komplementaktivierenden Antikörpern gegen HLA-Antigene der Klasse I und erfasst die komplementabhängigen Immunglobulinklassen IgG₁, IgG₃, IgM und IgA (Waßmuth, 2005). Zur besseren Beurteilung unter dem Mikroskop wurde dem Reaktionsansatz bei der vorliegenden Studie FluoroQuench AO-EB zugegeben. Es enthält EDTA, Ethidiumbromid sowie weitere unterstützende Reagenzien. EDTA stoppt die Komplementreaktion durch Bindung von Calciumionen, die für die Bindung von C1_q an die FC-Region der Antikörper benötigt wird. Ethidiumbromid färbt Lymphozyten mit geschädigter Zellmembran rot. Weitere Zusätze verhindern das Eindringen von Ethidiumbromid in vitale Zellen und sorgen für eine Hintergrundausschöpfung zur besseren mikroskopischen Beurteilung.

Eine DNA-gestützte Typisierung von HLA-Merkmalen kann mit Hilfe von für HLA-Genloci sequenzspezifischen Oligonukleotiden (HLA-SSO) durchgeführt werden. Dieses Testverfahren beruht auf der Hybridisierung von mittels PCR (Saiki, Gelfand et al., 1988) amplifizierter, aus lysiertem Vollblut gewonnener DNA mit sequenzspezifischen Oligonukleotiden (SSO). So werden bestimmte, für HLA-Antigene codierende Nukleotidsequenzen - falls sie in der Probe vorkommen - markiert. In der vorliegenden Studie verwendeten Luminex-Testverfahren werden die sequenzspezifischen Oligonukleotide im nächsten Schritt mit Luminex-Mikrosphären verbunden, die spezifisch an bestimmte Sonden binden und diese fluoreszenzmarkieren. Pro Durchgang können dabei bis zu einhundert verschiedene Mikrosphären eingesetzt werden (Tepnel Lifecodes Corporation, 2007). Jede Mikrosphäre hat eine charakteristische Fluoreszenzsignatur, die mit dem passenden Luminex-Analysegerät einer SSO-Sonde und somit einem auf der DNA vorkommenden Allel spezifisch zugeordnet werden kann. Zusätzlich wird die amplifizierte DNA auch mit mehreren konsensuellen Sonden hybridisiert, die zu in allen Allelen eines Locus vorkommenden Sequenzen homolog sind. Diese Sonden binden somit bei korrekter Durchführung der Analyse unabhängig davon, welche Allele

in der DNA vorkommen, immer an die DNA. Das für die konsensuellen Sonden erhaltene Signal dient daher als Indikator für den Erfolg des Amplifikations- und Hybridisierungsverfahrens. Es wird außerdem verwendet, um das Signal der allelspezifischen Sonden zu normalisieren und korrigierend bei Variationen der Menge des amplifizierten Produkts bei der Hybridisierungsreaktion zu wirken.

2.3. HPA-Merkmale

2.3.1. Entwicklung des Wissensstandes

Auf der Oberfläche der Blutplättchen gibt es eine Reihe verschiedener Glykoproteine, von denen die meisten eine wichtige Rolle beim Ablauf der Hämostase spielen. So ist Glykoprotein IIb/IIIa ein Fibrinogenrezeptor, der Glykoproteinkomplex Ib/IX fungiert als Rezeptor für das von-Willebrand-Molekül und erfüllt eine wichtige Aufgabe bei der Adhäsion von Thrombozyten.

Stellt sich nach einer Thrombozytentransfusion trotz HLA-Kompatibilität des eingesetzten Präparates eine Refraktärität ein, so ist vor allem bei polytransfunden Patienten an das Vorhandensein von Antikörpern gegen diese plättchenspezifischen Oberflächenmerkmale zu denken (Sanz, Freire et al., 2001).

Im Gegensatz zu HLA-Antigenen sind Antigene der Glykoproteine IIb/IIIa, Ia/IIa und Ib/IX plättchenspezifisch und werden als HPA-Antigene (Human Platelet Antigene) bezeichnet (Giltay JC, Leeksa OC et al., 1988). Insgesamt sind sechs plättchenspezifische Glykoproteine bekannt: GPIa, GPIb α , GPIb β , GPIIb, GPIIIa und das GPI-assoziierte CD109 (Santoso, 2003). Darüber hinaus wurden früher auch Antigene als plättchenspezifisch angesehen, die inzwischen auf anderen Zellen nachgewiesen wurden. Antigene auf dem β 3-Integrin (GPIIIa) wurden beispielsweise auf Endothelzellen, glatter Muskulatur und Fibroblasten gefunden (Giltay JC, Brinkman HJM et al., 1989), Antigene auf dem α 2-Integrin (GPIa) fanden sich auf aktivierten T-Lymphozyten (Santoso S, Kiefel V et al., 1989) und Endothelzellen (Giltay JC, Brinkman HJM et al., 1989) und CD109 findet sich auf aktivierten T-Lymphoblasten (Sutherland DR, Yeo E et al., 1991). Die verschiedenen HPA-Antigene stellen molekulare Varianten der Glykoproteine der Thrombozytenmembran dar. Dabei handelt es sich um Polymorphismen im Bereich einer Aminosäure des jeweiligen Glykoproteins.

In unselektierten Patientengruppen findet man nach Polytransfusion mit Erythrozyten und Thrombozyten bei ungefähr 5% der Patienten Antikörper gegen HPA-Merkmale auf der Thrombozytenoberfläche (Godeau B, Fromont E et al., 1992; Slichter SJ, 1997). In Patientengruppen, die eine starke Immunisierung gegen HLA-Antigene aufweisen, findet man einen noch größeren Anteil von Patienten mit HPA-Antikörpern (Schnaidt M, Northoff H et al., 1996). Die immunisierten Patienten zeigen in bis zu 50% der Fälle eine Refraktärität nach Thrombozytentransfusion (Kurz M, Greinix H et al., 1996). Wegen der hohen Koinzidenz von HLA- und HPA-Antikörpern bei polytransfunden Patienten hilft in einem solchen Fall meist nur die Auswahl von Thrombozyten mit bekanntem, auf den Empfänger passenden HLA- und HPA-Phänotyp, um ausreichende CCI-Werte

erreichen zu können (Kekomaki, 1998). Neben einer stattgehabten Transfusion von Blutprodukten (Eckstein, 2004) ist - ebenso wie bei HLA-Merkmalen - eine stattgehabte Schwangerschaft eine mögliche Immunisierungsquelle (Panzer, Auerbach et al., 1995). Schnaidt et al beschreiben in diesem Zusammenhang, dass HPA-Antikörper im MAIPA-Assay noch 30 Jahre nach der letzten Schwangerschaft nachgewiesen werden konnten (Schnaidt und Wernet, 2000).

Zur Bestimmung der HPA-Antikörper wird häufig das bereits erwähnte MAIPA-Assay gewählt (Kiefel, Santoso et al., 1987). Das MAIPA-Assay ist ein zuverlässiger serologischer Test bei klinisch relevanter Refraktärität nach Thrombozytentransfusion (Kaplan, Freedman et al., 2007). Es zeichnet sich durch eine hohe Sensitivität und Spezifität auch bei Antikörpern gegen niedrigfrequente Antigene aus (Kiefel, 1992). Das Prinzip des Tests beruht auf der Bindung von HPA-Antikörpern im zu untersuchenden Serum an HPA-Antigene auf Testthrombozyten mit bekannten HPA-Antigeneigenschaften. Diese Thrombozyten stammen mangels artifiziell hergestellter Antigene von Blutspendern mit bekannten Antigeneigenschaften. Der entstandene Antigen-Antikörperkomplex wird mit monoklonalen Maus-Anti-Human-Antikörpern gegen das Glykoprotein CD 61 markiert, dann werden die Thrombozyten mittels eines Lysepuffers aufgelöst. Im Anschluss werden die unlöslichen Zellbestandteile sedimentiert und der bei Vorkommen von HPA-Antikörpern entstandene dreimolekulare Komplex im Überstand davon abgetrennt. Der Überstand wird auf einer Mikrotiterplatte anhand von polyklonalen Ziege-Anti-Maus-Antikörpern immobilisiert, an einen mit Peroxidase enzymmarkierten Ziege-Anti-Human-IgG-Antikörper gebunden und die Extinktion der im Folgenden ausgelösten Farbreaktion im Photometer gemessen. Molekulargenetische Verfahren zur Typisierung von HPA-Merkmalen basieren auf mittels rt-PCR vervielfältigter mRNA.

Neben den genannten Verfahren wird häufig ein Festphasenimmunoassay zum Nachweis der HPA-Antikörper im Patientenserum benutzt. In dieser Studie wurde ein Capture-Festphasenimmunoassay verwendet, bei dem HPA-Antikörper an Thrombozytenglykoproteine binden, die an Flachbodenvertiefungen eines Teststreifens gebunden sind. Nach Zugabe von mittels alkalischer Phosphatase markierten Anti-Human-Antikörpern sowie PNPP (p-Nitrophenylphosphat) wird eine Farbreaktion initiiert, deren Extinktion photometrisch gemessen wird. Dadurch kann eine eventuelle Immunisierung des Patienten abgebildet werden.

Die heute gültige, systematische Nomenklatur thrombozytenspezifischer Alloantigene wurde im Jahr 1990 von Von dem Borne und Decary vorgeschlagen (von dem Borne AEGK und Decary F, 1990). Die Benennung wird vom Platelet Nomenclature Committee (PNC) überwacht. Die thrombozytenspezifischen Antigene erhalten in dieser Nomenklatur die gemeinsame Kennung HPA für „Human Platelet Antigen“ und daran anschließend eine Ziffer, die nach der Reihenfolge der Entdeckung des jeweiligen Antigensystems vergeben wird. Eine Antigengruppe ist immer durch den Austausch oder die Deletion der gleichen Aminosäure eines Glykoproteins charakterisiert (Tab. 1, Seite 28). Das hochfrequente Allel eines Antigensystems wird mit „a“, das dazugehörige, niedrigfrequenterere Antigen mit „b“ benannt. Ist erst ein Antigen einer Gruppe entdeckt, die Häufigkeit

des Allels im Vergleich zum korrespondierenden Antigen der Gruppe also noch nicht bekannt, wird die zugehörige Antigengruppe mit „w“ für „workshop“ gekennzeichnet (Metcalf P, Watkins NA et al., 2003). In der Transfusionspraxis am relevantesten ist das HPA-1-System, besonders HPA-1b, bei dem der korrelierende Antikörper oft im Blut polytransfundierter Patienten gefunden wird (Kiefel V, König C et al., 2001). Das erste Antigen dieser Klasse wurde 1959 beschrieben (van Loghem JJ, Dorfmeijer H et al., 1959), der passende Antikörper 1963 (van der Weerd CM, Veenhoven-von Riesz LE et al., 1963). Bis heute sind immunologisch 24 Antigene dieser Gruppe entdeckt worden, wobei zwölf von ihnen in die sechs diallelischen Gruppen HPA-1, HPA-2, HPA-3, HPA-4, HPA-5 und HPA-15 eingeteilt wurden (Metcalf P, Watkins NA et al., 2003). In den Gruppen HPA-6 bis HPA-14 und HPA-16 ist nur jeweils ein Antigen bekannt, sodass diese Gruppen den Zusatz „w“ tragen.

2.4. Ziele der Arbeit

In der vorliegenden Arbeit sollte der vorhandene Wissenstand um eine statistische Analyse der Transfusionspraxis am UKS erweitert werden. Darüber hinaus sollte an Empfängern von AB0-inkompatiblen TKs der Nachweis einer möglicherweise häufigeren Immunisierung gegen HLA- und HPA-Antigene gegenüber nicht-inkompatibel transfundierten Patienten erbracht werden, wobei bei dieser Fragestellung die Nullhypothese angenommen wurde.

Antigen	Glykoprotein	Nukleotidsubstitution	Aminosäuresubstitution	Allelfrequenz
HPA-1a	GP IIIa	T ₁₉₆	Leu ₃₃	85%
HPA-1b		C ₁₉₆	Pro ₃₃	18%
HPA-2a	GP Ib α	C ₅₂₄	Thr ₁₄₅	99%
HPA-2b		T ₅₂₄	Met ₁₄₅	7%
HPA-3a	GP IIb	T ₂₆₂₂	Ile ₈₄₃	59%
HPA-3b		G ₂₆₂₂	Ser ₈₄₃	43%
HPA-4a	GP IIIa	G ₅₂₆	Arg ₁₄₃	99%
HPA-4b		A ₅₂₆	Gln ₁₄₃	0%
HPA-5a	GP Ia	G ₁₆₄₈	Glu ₅₀₅	99%
HPA-5b		A ₁₆₄₈	Lys ₅₀₅	11%
HPA-6W	GP IIIa	A ₁₅₆₄	Gln ₄₈₉	
		G ₁₅₆₄	Arg ₄₈₉	
HPA-7W	GP IIIa	G ₁₃₁₇	Ala ₄₀₇	
		C ₁₃₁₇	Pro ₄₀₇	
HPA-8W	GP IIIa	T ₂₀₀₄	Cys ₆₃₆	
		C ₂₀₀₄	Arg ₆₃₆	
HPA-9W	GP IIb	A ₂₆₉₃	Met ₈₃₇	
		G ₂₆₀₃	Va ₈₃₇	
HPA-10W	GP IIIa	A ₂₈₁	Gln ₆₂	
		G ₂₈₁	Arg ₆₂	
HPA-11W	GP IIIa	A ₁₉₉₆	His ₆₃₃	
		G ₁₉₉₆	Arg ₆₃₃	
HPA-12W	GP Ib β	A ₁₄₁	Glu ₁₅	
		G ₁₄₁	Gly ₁₅	
HPA-13W	GP Ia	T ₂₅₃₁	Met ₇₉₉	
		C ₂₅₃₁	Thr ₇₉₉	
HPA-14W	GP IIIa	del AAG ₁₉₂₉₋₁₉₃₁	delLys ₆₁₁	
		AAG	Lys ₆₁₁	
HPA-15a	CD 109	C ₂₁₀₈	Ser ₇₀₃	77%
HPA-15b		A ₂₁₀₈	Tyr ₇₀₃	74%
HPA-16W	GP IIIa	T ₅₁₇	Ile ₁₄₀	
		C ₅₁₇	Thr ₁₄₀	

Tab. 1: Bekannte HPA-Antigene, ihre molekularen Grundlagen und Antigenfrequenzen (nach: Metcalfe, 2002 und Eckstein 2004)

3. Material und Methodik

3.1. Studiendesign und Patientenkollektiv

3.1.1. Allgemeiner Überblick

Die Studie wurde in zwei Abschnitte unterteilt.

In einer retrospektiven Analyse sollte zunächst untersucht werden, wie hoch der Anteil an AB0-major-inkompatiblen und AB0-minor-inkompatiblen Transfusionen mit TKs im Vergleich zu AB0-kompatiblen TK-Transfusionen im UKS ist. In Verbindung damit wurde untersucht, ob polytransfundierte Patienten häufiger AB0-inkompatibel transfundiert wurden als Patienten, die nur einmalig transfundiert wurden. Darüber hinaus wurde eruiert, ob eine Verbindung zwischen dokumentierten Transfusionszwischenfällen im Zusammenhang mit TK-Transfusionen und der AB0-Kompatibilität des TK zu beobachten ist und wie lange die ausgegebenen Präparate gelagert waren.

Im zweiten Abschnitt wurde mittels verschiedener Testverfahren prospektiv untersucht, ob im Blut von Patienten, die AB0-inkompatible TKs erhalten hatten, Antikörper gegen HLA- oder HPA-Antigene nachweisbar sind. Außerdem wurde anhand einer AB0-inkompatiblen Thrombozytentransfusion das Corrected Count Increment (CCI) berechnet und somit die Wirksamkeit dieser Transfusion vor dem Hintergrund einer möglichen Immunisierung des Patienten gegen HLA- oder HPA-Antigene bewertet. Zur Anwendung kamen im Rahmen der Studie ausschließlich leukozytendepletierte Thrombozytapheresepräparate.

3.1.2. Patientenkollektiv

Der retrospektive Teil der Studie bezieht sich auf die Analyse aller im Zeitraum zwischen dem 01.06.2006 und dem 25.07.2008 im UKS stattgefundenen Thrombozytentransfusionen. Der Zeitraum beträgt 786 Tage und beinhaltet 11270 Thrombozytentransfusionen.

Für den prospektiven Teil der Studie wurden in Zusammenarbeit mit der Klinik für Innere Medizin I des UKS (Onkologie, Hämatologie, Klinische Immunologie und Rheumatologie) Patienten ausgewählt, die bereits AB0-inkompatible TKs erhalten hatten, bei denen die Transfusion von Thrombozyten medizinisch notwendig war und die aus Gründen mangelnder Verfügbarkeit eines AB0-kompatiblen TKs von der Blutbank des UKS routinemäßig ein AB0-inkompatibles TK zugeordnet bekommen hatten. Die Patienten wurden vor der Transfusion über die Studie schriftlich (siehe Anlage 1 „Aufklärungsbogen und Einwilligungserklärung“, Seite 91 und Anlage 2 „Einwilligungserklärung“, Seite 92) und mündlich aufgeklärt, insbesondere darüber, dass eine Teilnahme an der Studie keine Auswirkung auf die weitere medizinische Behandlung hat, ebenso eine Nichtteilnahme. Von allen in die Studie eingeschlossenen Patienten liegt eine Einverständniserklärung zur Teilnahme an der Studie vor. Für den prospektiven Studienteil liegt außerdem ein positives Votum der Ethikkommission der Ärztekammer des Saarlandes vor (Ethikkommission, 2008). Die

Ausgabep Praxis bezüglich der Zuordnung von TKs zu den Patienten durch die Blutbank des UKS wurde im Sinne einer nichtinterventionellen Beobachtungsstudie nicht geändert. Ebenso wurde die Indikation zur TK-Transfusion von den behandelnden Ärzten ungeachtet der laufenden Studie gestellt. Auf die weitere Behandlung der Patienten hatte die Studie keine Auswirkungen, außer, es wurden bei den Laboruntersuchungen der Blutproben für die Behandlung relevante Antikörper gegen HLA- oder HPA-Antigene gefunden. In diesem Fall wurde dies den behandelnden Ärzten mitgeteilt und - soweit relevant - in das weitere Behandlungskonzept mit einbezogen. Auch darüber, dass durch die Studie keine zusätzliche Venenpunktion zur Blutentnahme notwendig war, wurde der Patient informiert.

3.1.3. Miteinbeziehung von medizinischem Personal

Die ärztlichen Leiter der betroffenen Stationen wurden im Rahmen der Studienplanung über die Studie und ihre Ziele aufgeklärt und, ebenso wie die Leitung der Blutbank und des Labors, in die Planung einbezogen. Das Personal der betroffenen Stationen, des Labors und der Blutbank des UKS wurden persönlich und schriftlich über die Fragestellung und die Ziele der Studie aufgeklärt und über den Ablauf der Probengewinnung informiert (siehe Anlage 3, Seite 93 und Anlage 5, Seite 95). Zusätzlich wurde jedem AB0-inkompatibel zugeordneten TK ein Informationsblatt für den behandelnden Arzt (Anlage 4, Seite 94) sowie ein Probenset (Abb. 2, Seite 35) beigelegt.

3.2. Retrospektiver Teil

3.2.1. Gewinnung der Daten

Für die retrospektive Analyse der Häufigkeit AB0-inkompatibler TK-Transfusionen am UKS wurde zunächst vom Rechenzentrum eine Datenbankabfrage im transfusionsmedizinischen LIMS (Blutbank-Management-System ESB, DRK Blutspendedienst Baden-Württemberg, Baden-Baden/Deutschland) durchgeführt. Dabei wurden folgende Merkmale erfasst:

- Artikelnummer
- Präparatenummer
- Patientenummer
- Lieferscheinnummer des TK
- Blutgruppe des TK
- Rhesusfaktor des TK
- Herstellungs-, Haltbarkeits- und Transfusionsdatum

Eine gleichzeitige Erfassung der Merkmale „Blutgruppe des Empfängers“ und „Rhesusfaktor des Empfängers“ war aus technischen Gründen nicht möglich. Ergänzt wurden die Daten mit den fehlenden Merkmalen „Blutgruppe des Empfängers“ und „Rhesusfaktor des Empfängers“ durch Abfrage der einzelnen Transfusionen im ESB-System und Hinzufügen der Merkmale zu den Daten der Datenbankabfrage. Die so gewonnen Datensätze wurden in eine Excel-Tabelle eingepflegt. Die

Richtigkeit der so zusammengeführten Daten wurde stichprobenartig überprüft. Darüber hinaus wurde mit dem Statistikprogramm SPSS geprüft, ob bei den im Untersuchungszeitraum mehrmals transfundierten Patienten dem Merkmal „Patientennummer“ immer die gleichen Merkmale „Blutgruppe des Empfängers“ und „Rhesusfaktor des Empfängers“ zugeordnet waren. Bei dieser Überprüfung fielen keine Fehler auf, sodass von der Richtigkeit der gewonnenen Daten ausgegangen werden kann.

3.2.2. Statistische Analyse

Die statistische Analyse der gewonnenen Daten wurde mit der Software SPSS 14.0 für Windows (Version 14.0.1, SPSS Inc., 1989-2005) durchgeführt. Als Grundlage diente die oben erwähnte Excel-Tabelle. Die erhobenen Daten wurden mit Hilfe der deskriptiven und induktiven Statistik ausgewertet. Dabei kamen der χ^2 -Test und eine binär logistische Regression zur Analyse dichotomer Kriteriumsvariablen zur Anwendung. Dafür wurde das gängige Alphafehlerniveau übernommen und die Nullhypothese bei einem p-Wert von $<.05$ abgelehnt.

3.3. Prospektiver Teil

3.3.1. Material

Probengewinnung

- Sarstedt Monovette Serum 7,5ml (Sarstedt AG, Nümbrecht/Deutschland)
- Sarstedt Monovette EDTA 2,7ml (Sarstedt AG)
- Sarstedt Multi Adapter (Sarstedt AG)
- Wiederverschließbarer Plastikbeutel
- Kühlschrank 4°C (Robert Bosch GmbH, Gerlingen-Schillerhöhe/Deutschland)

Lymphozytenisolierung

- Schüttelbad (GFL, Burgwedel/Deutschland)
- Pasteurpipette (Eppendorf, Hamburg/Deutschland)
- Rotina 420R-Zentrifuge (Hettich, Tuttlingen/Deutschland)
- Genius 3-Vortex-Mischer (IKA, Staufen/Deutschland)
- Umkehrmikroskop Diavert (Leitz, Wetzlar/Deutschland)
- Neubauer-Zählkammer (Carl Roth GmbH, Karlsruhe/Deutschland)
- Hanks-Lösung (Biochrom AG, Berlin/Deutschland)
- Bicolll-Lösung (Biochrom AG)
- PBS-Lösung (Biochrom AG)
- C-FDA (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München/Deutschland)
- Terasaki-Park-Lösung (BAG Health Care GmbH, Lich/Deutschland)

Lymphozytotoxizitätstest

- Pasteurpipette (Eppendorf)
- Mikrottestplatten nach Terasaki mit je 60 Vertiefungen (Sarstedt AG)
- Lichtmikroskop (Carl Zeiss, Oberkochen/Deutschland)
- Paraffin-Decköl (Biotest AG, Dreieich/Deutschland)
- PBS-Lösung (Biochrom AG)
- FluoroQuench AO-EB (BmT GmbH, Meerbusch-Osterat/Deutschland)

DNA-Typisierung von Klasse-I- und Klasse-II-HLA-Allelen

- GenoM-Automat (Genovision, Wien/Österreich)
- Luminex 200 mit XY PLATFORM (Luminex Cooperation, Austin/USA)
- Vortex-Mischer (Jahnke & Kunkel, Staufen/Deutschland)
- Pasteurpipette (Eppendorf)
- Fünf-Kavitäten-Platte (Qiagen, Hilden/Deutschland)
- PCR-Gefäße und -Kappen 0,2ml (AB Gene, Cambridge/England)
- Thermalcycler-96-Kavitätenplatten (Costar, Cornis/USA)
- Microseal-Film (Bio-Rad, Hercules/USA)
- Mastercycler-Thermalcycler (Eppendorf)
- Wasserbadsonikator (Fisher Scientific, Pittsburgh/USA)
- Megafuge 1.0S-Mikrozentrifuge (Heraeus, Hanau/Deutschland)
- Barrier Filterspitzen (Applied Biosystems, Carlsbad/USA)
- Pipettierhilfen (Eppendorf)
- Mehrkanalpipettierhilfen (Eppendorf)
- Wattestäbchen (International Medical, Kleve/Deutschland)
- Microsoft Excel 2007 (Microsoft Corporation, Redmont/USA)
- Hitzeblock (Fisher Scientific)
- Microseal-Film (Bio-Rad)
- Chargenspezifische Grenzwerttabelle (Luminex)
- Sondentreffertabelle (Luminex)
- MagAttract G-Lösung (Qiagen)
- Buffer AL (Qiagen)
- Phycoerythrin-konjugiertes-Streptavidin (SA-PE) 1mg/ml (Tepnel Lifecodes Corporation, Stamford/USA)
- Luminex-Hüllstromflüssigkeit (Tepnel Lifecodes Corporation)
- Rekombinante Taq-Polymerase (Tepnel Lifecodes Corporation)
- Luminex Kalibrierungsbeads (Tepnel Lifecodes Corporation)

- Nukleasefreies Wasser (Tepnel Lifecodes Corporation)
- 70% Isopropanol (Merck KGaA, Darmstadt/Deutschland)
- 100% Isopropanol (Merck KGaA)
- 96% Ethanol (Merck KGaA)
- PBS-Lösung (Biochrom AG)
- Qiagen-Protease (Qiagen)
- Buffer AW1 (Qiagen)
- Buffer AW2 (Qiagen)
- Buffer AE (Qiagen)
- Lifecodes HLA Mastermix für HLA-A, HLA-B und HLA-C (Tepnel Lifecodes Corporation)
- Lifecodes HLA Sondenmischung für HLA-A, -B und -C (Tepnel Lifecodes Corporation)
- Verdünnungslösung (Tepnel Lifecodes Corporation)

MAIPA-Assay

- Brutschrank 37°C (Heraeus)
- Kühlschrank 4°C (Robert Bosch GmbH)
- Rotina 35R-Zentrifuge (Hettich)
- Mikrotiterplatten mit 96 Kavitäten (Qiagen)
- Mikropipette (Eppendorf)
- Photometer Spectra 492nm (SLT Labinstruments, Crailsheim/Deutschland)
- PBS-BSA 2% Lösung (Biochrom AG)
- Isotonische Kochsalzlösung (0,9%): 9,0g Natriumchlorid in 1000ml destilliertem Wasser
- Lysepuffer (TBS): 1,21g Tris in 950ml isotonischer Kochsalzlösung (pH 7,4) mit 5ml Triton X-100 und Auffüllen auf 1000ml mit isotonischer Kochsalzlösung
- OPD-Tabletten (o-Phenylenediamine)

PakPlus-HPA-Elisa

- Teststreifen (GTI Diagnostics, Waukesha/USA)
- Halterahmen (GTI)
- Polypropylen-Reagenzröhrchen (GTI)
- Protokollbogen (GTI)
- Abklebefolien (GTI)
- Pipetten 10-100µl und 100-1000µl (Eppendorf)
- Laborwecker (Sigma-Aldrich)
- Anthos HAT III ELISA-Reader (Anthos Labtec Instruments, Wals-Siezenheim/Österreich)
- Eppendorf Research pro 8-Kanal-Pipette (Eppendorf)

- Rotanta 460RS-Zentrifuge (Hettich)
- Brutschrank (Heraeus)
- Papierhandtücher
- Waschlösungskonzentrat (GTI)
- Probenverdünnungspuffer (GTI)
- Substratpuffer (GTI)
- Stopplösung (GTI)
- Anti-Human-IgG/IgA/IgM-Konjugat (GTI)
- PNPP-Substrat (GTI)
- Positives Kontrollserum (GTI)
- Negatives Kontrollserum (GTI)
- Destilliertes Wasser

3.3.2. Methoden

3.3.2.1. Gewinnung der Blutproben und der Patientendaten

Der prospektive Studienarm beinhaltete die Gewinnung von für die Untersuchung wichtigen Patientendaten durch Abfragen in einem Fragebogen sowie die Gewinnung von Blutproben zur Bestimmung des CCI nach einer Transfusion und zur Detektierung von etwaigen HLA- oder HPA-Antikörpern.

Neun Patienten der teilnehmenden Stationen des UKS wurden in die Studie eingeschlossen, sobald sie von der Blutbank ein zufällig ausgewähltes AB0-inkompatibles TK zugeordnet bekamen und eine Einwilligung vorlag. Dem AB0-inkompatiblen TK wurde ein Testset (Abb. 2, Seite 35) beigelegt und die Patienten- sowie die Präparateblutgruppe in einer Ausgabeliste vermerkt.

In dem Testset enthalten waren:

- Wiederverschließbarer, transparenter Plastikbeutel zur Aufbewahrung des Testsets und zum Zurücksenden der Probenröhrchen
- Ein Informationsblatt über die Studie für den behandelnden Arzt (siehe Anlage 4, Seite 94)
- Formular „Aufklärungsbogen und Einwilligungserklärung“ für den Patienten (siehe Anlage 1, Seite 91)
- Formular „Einwilligungserklärung“ für den Patienten (siehe Anlage 2, Seite 92)
- Eine Checkliste für den behandelnden Arzt zur Durchführung der Transfusion im Rahmen der Studie (siehe Anlage 5, Seite 95)
- Ein EDTA-Probenröhrchen 2,7ml
- Ein Serum-Probenröhrchen 7,5ml

- Ein Sarstedt Multi-Adapter



Abb. 2: Testset

Nach Verbringen des TK auf Station und Aufklärung sowie Einwilligung des Patienten erfolgte die Entnahme einer Blutprobe in die beiden Probenröhrchen durch einen zentralen oder peripheren Venenkatheter. Dieses Vorgehen ist zur Antikörperdiagnostik statthaft und erspart eine zusätzliche Venenpunktion. Die Probe diente zur Erkennung einer eventuell bereits nachweisbaren HLA- oder HPA-Immunisierung bei den vortransfundenen Probanden. Außerdem wurden die routinemäßig bestimmten Thrombozytenzahlen vor und nach der Transfusion, das Gewicht und die Körpergröße des Probanden erfasst, um den CCI-Wert berechnen zu können. Darüber hinaus wurde der Patient wegen der Möglichkeit des Einflusses auf die Immunisierung gegen HLA- oder HPA-Antigene nach stattgefundenen Schwangerschaften gefragt.

Aus dem ESB-System wurde desweiteren das Geschlecht des Probanden erfasst, da bei weiblichen Probanden auch unbemerkt stattgefundenene, spontan abortierte Schwangerschaften als Grund einer Immunisierung in Erwägung gezogen werden mussten. Zusätzlich erfasste der Aufklärungsbogen auch die Transfusion anderer Blutprodukte, da auch darauf eine Immunisierung gegen HLA- und HPA-Antigene zurückgeführt werden kann.

Die entnommenen Blutproben wurden per Rohrpost zurück in die Blutbank gesendet, bei +4°C gelagert und innerhalb von 72 Stunden durch einen Kurierfahrer mit einem Kühlfahrzeug zur Analyse in das Labor des Zentrums für Transfusionsmedizin des DRK-Blutspendedienstes Rheinland-Pfalz/Saarland in Bad Kreuznach verbracht. Dort wurde das Serum von den MTAs zeitnah nach dem Eintreffen bei Raumtemperatur für 10 Minuten bei 1500 x g abzentrifugiert und bei -48°C tiefgefroren gesammelt.

3.3.2.2. Corrected Count Increment (CCI)

In der Studie wurde der Thrombozytenanstieg im peripheren Blut des Empfängers nach Gabe des TK bestimmt. Dazu diente die Thrombozytenzahl in einer routinemäßig ungefähr 20 Stunden nach Transfusion entnommene Blutprobe sowie die am Tag der Transfusion bestimmte Thrombozytenzahl. Berechnet wurde der CCI-Wert unter Berücksichtigung der Körperoberfläche und somit des Blutvolumens des Patienten mit Formel 1 (BÄK, 2008)

$$CCI = \frac{\text{Inkrement} \left[\frac{1}{nl} \right] \times \text{Körperoberfläche} [m^2]}{\text{Anzahl transfundierter Thrombozyten} [x 10^{11}]}$$

Formel 1: Berechnung des CCI

Das Inkrement wurde mit Formel 2 berechnet (BÄK, 2008).

$$\text{Inkrement} \left[\frac{1}{nl} \right] = \text{PLT Nachwert} - \text{PLT Vorwert} \left[x \frac{1}{nl} \right]$$

Formel 2: Berechnung des Inkrements aus einer peripheren Blutprobe; Nachwert=Thrombozytenzahl ca. 20 Stunden nach Transfusion, Vorwert=Thrombozytenzahl vor Transfusion

Zur Berechnung der Körperoberfläche diente Formel 3 (BÄK, 2008):

$$\text{Körperoberfläche} [m^2] = \sqrt{\frac{\text{Körpergewicht} [kg] \times \text{Körpergröße} [cm]}{3600}}$$

Formel 3: Berechnung der Körperoberfläche

Bei einem CCI-Wert unter 4,5 wurde entsprechend der Querschnittsleitlinien der Bundesärztekammer (BÄK, 2008) die Transfusion als erfolglos gewertet („Refraktärität“).

3.3.2.3. Vorgehensweise bei der Analyse der Blutproben

Zur Analyse der HLA-Antikörper empfiehlt sich ein stufenförmiges diagnostisches Vorgehen. An erster Stelle steht ein Lymphozytotoxizitätstest (Waßmuth, 2005). Gefolgt wird dieser von einem ELISA-Test zur genaueren Klassifizierung, wenn im Lymphozytotoxizitätstest komplementaktivierende HLA-Antikörper festgestellt wurden.

Zur Detektierung von HPA-Antikörpern eignet sich besonders der MAIPA-Assay (Campbell, Rishi et al., 2007).

3.3.2.3.1. Erfassung von HLA-Antikörpern - Lymphozytotoxizitätstest

Gewinnung der Lymphozyten für den Lymphozytotoxizitätstest

Die Isolierung von Lymphozyten mit bekannten HLA-Merkmalen ist der Ausgangspunkt des HLA-Antikörperscreenings. Dazu stehen dem DRK Blutspendedienst Rheinland-Pfalz/Saarland Spender zur Verfügung, deren HLA-Antigene bekannt sind.

Von diesen Spendern wird regelmäßig ACD-Blut entnommen, aus dem die Lymphozyten separiert werden. Dazu wird das Blut im ersten Schritt defibriniert: Das Blut wird mit Hanks-Lösung und Glaskugeln versetzt und bei 37°C im Schüttelbad circa 30 Minuten inkubiert, bis die Gerinnung einsetzt.

An den Glaskugeln bilden sich Blutgerinnsel, die zusammen mit den Glaskugeln abgetrennt werden. Dadurch wird erreicht, dass auch die Thrombozyten abgetrennt werden, allerdings gehen auch Lymphozyten verloren. Der Überstand wird im Rundbodenröhrchen mit Bicoll-Lösung überschichtet und 15 Minuten mit 1200 x g bei Raumtemperatur zentrifugiert. Die Bicoll-Lösung bewirkt einen Dichtegradienten, durch den die verschiedenen Blutzellen nach ihrer Dichte aufgetrennt werden. Erythrozyten und Granulozyten haben eine größere Dichte, die anderen Blutzellen eine niedrigere Dichte. Es bilden sich von oben nach unten drei Phasen im Rundbodenröhrchen:

- Plasma
- Buffy Coat=Interphase
- Erythrozyten und Granulozyten

Der Buffy Coat enthält unter anderem die Lymphozyten. Er wird mit einer Pasteurpipette abgetrennt und in ein Spitzbodenröhrchen gegeben. Darin wird er zum Waschen mit PBS versetzt und mit dem Vortex-Mischer aufgemischt. Der Inhalt des Röhrchens wird 10 Minuten mit 550 x g zentrifugiert, der Überstand wird verworfen. Daraufhin werden 4 µl C-FDA-Lösung pro ml Zellsuspension zugegeben, mit dem Vortex-Mischer gemischt und die Mischung 10 Minuten bei 37°C inkubiert. C-FDA ist ein hydrophobes Molekül und kann somit die Zellmembran der Lymphozyten durchdringen. Im Lymphozyten werden durch zelleigene Esterasen die Acetatreste des C-FDA abgespalten, es entsteht CFSE, das im UV-Licht grün fluoresziert (Wetzel, 2003). Der Waschvorgang mit PBS wird nach der Färbung wiederholt. Dann wird das Zellpellet in Terasaki-Park-Lösung mit Hilfe einer Neubauer-Zählkammer auf 2000 Zellen/µl eingestellt.

Die Terasaki-Park-Lösung ist eine wässrige Lösung aus anorganischen und organischen Verbindungen zur Lagerung von Lymphozyten (Park und Terasaki, 1974).

Durchführung des Lymphozytotoxizitätstest

Im Lymphozytotoxizitätstest wurden die von Spendern mit bekannten HLA-Merkmalen gewonnenen Lymphozyten verwendet und mit dem Patientenserum, das auf HLA-Klasse I-Antikörper untersucht werden sollte, inkubiert. Die dazu benötigten Terasakiplatten lagen fertig vorbereitet kryokonserviert bereit. Das Serum wurde in einer Verdünnungsreihe 1:1 bis 1:128 mit PBS gemischt. Danach wurden

vier Terasakiplatten mit je 60 Vertiefungen mit jeweils einem Tropfen Paraffin-Decköl befüllt. Unter jeden Paraffinöltropfen wurde je 1 µl des Serums mit den zu untersuchenden Antikörpern in den verschiedenen Verdünnungen der Verdünnungsreihe gegeben und mit je 1 µl der Lymphozyten mit bekannten HLA-Antigenen im folgenden Schema (Tab. 2 und Tab. 3, Seite 39) für 30 Minuten inkubiert, sodass eventuell vorhandene HLA-Antikörper an die HLA-Antigene der Lymphozyten binden konnten.

Nr.	1	2	3	4	5	6	Titer	7	8	9	10	11	12
Pos. Kontrolle													
2							1:1						
3							1:2						
4							1:4						
5							1:8						
6							1:16						
7							1:32						
8							1:64						
9							1:128						
Vitalitätskontrolle													
HLA-A Merkmale	24	3	2	1	2	2		2	1	2	24	1	1
	29	68	29	2	32				3		30	2	2
HLA-B Merkmale	44	35	13	8	18	7		18	7	7	18	37	8
	1	2	44	44	51	38		56	8	44	44	11	15

Tab. 2: Füllschema des ersten Terasakiplattenpaares (Vertiefungen der Terasakiplatte grau hinterlegt, Beschreibung der Felder weiß hinterlegt). Die Platten wurden von oben nach unten mit dem gleichen zu untersuchenden Serum in den jeweils in der Mitte angegebenen Verdünnungen befüllt. Von links nach rechts wurde jede Spalte mit den jeweils gleichen Leukozyten mit den unten angegebenen bekannten HLA-Merkmalen inkubiert.

Nr.	13	14	15	16	17	18	Titer	19	20	21	22	23	24
Pos. Kontrolle													
2							1:1						
3							1:2						
4							1:4						
5							1:8						
6							1:16						
7							1:32						
8							1:64						
9							1:128						
Vitalitätskontrolle													
HLA-A Merkmale	2	1	1	2	2	2		2	11	2	11	3	2
	1	3	2	4	11	28		26	26	11	26	28	12
HLA-B Merkmale	49	8	44	7	35	60		7	38	44	14	7	27
	60	44	27		44			45	44		35	44	

Tab. 3: Füllschema des zweiten Terasakiplattenpaares (Vertiefungen der Terasakiplatte grau hinterlegt, Beschreibung der Felder weiß hinterlegt). Die Platten wurden von oben nach unten mit dem gleichen zu untersuchenden Serum in den jeweils in der Mitte angegebenen Verdünnungen befüllt. Von links nach rechts wurde jede Spalte mit den jeweils gleichen Leukozyten mit den unterhalb der Spalten angegebenen bekannten HLA-Merkmalen inkubiert.

Im durchgeführten Lymphozytotoxizitätstest wurde auf die in Tab. 4 (Seite 40) aufgeführten, häufig vorkommenden HLA-Klasse I-Antikörper getestet.

Nach der Inkubation wurde Komplement in Form von 5 µl Kaninchenserum zugegeben und der Ansatz weitere 60 Minuten inkubiert. Nach der Inkubation wurde jeder Vertiefung FluoroQuench AO-EB zugegeben.

Die Terasakiplatten wurden nun unter dem Mikroskop begutachtet. Dabei erschienen vitale Lymphozyten grün (CFDA), beschädigte Lymphozyten hingegen wurden durch FluoroQuench AO-EB rot angefärbt. Nach einem Score (Tab. 5, Seite 40) wurden die einzelnen Vertiefungen hinsichtlich des Verhältnisses von vitalen zu avitalen Lymphozyten bewertet.

Die Bewertung jeder Vertiefung wurde in einer Tabelle festgehalten. Aus dieser konnten gegebenenfalls vorhandene HLA-Antikörper im Patientenserum differenziert werden.

HLA-Merkmal	HLA-Merkmal
A1	B7
A2	B8
A3	B13
A11	B14
A24	B15
A26	B18
A28 (A68)	B27
A29	B35
A30	B37
A32	B38
	B44
	B45
	B49
	B51
	B56
	B60

Tab. 4: Die wichtigsten im Lymphozytotoxizitätstest getesteten HLA-Merkmale

Score	Tote Zellen [%]	Interpretation
1	0-14	Negativ
2	15-30	Wahrscheinlich negativ
4	31-60	Wahrscheinlich positiv
6	61-80	Positiv
8	81-100	Stark positiv
9	Nicht bewertbar	Nicht bewertbar

Tab. 5: International Workshop Score zur Klassifizierung der Antigen-Antikörperreaktion im Lymphozytotoxizitätstest

3.3.2.3.2. DNA-Typisierung von HLA-Klasse I-Antigenen

Reinigung der genomischen DNA

Zur Aufreinigung der DNA wurde ein GenoM-Automat verwendet. Das Gerät gewinnt mit Hilfe von mit Silikat überzogenen, magnetischen Partikeln, sogenannter Beads, aus 20-350 µl lysiertem Vollblut automatisch zwischen 30 und 50ng/µl in wässriger Lösung eluierte DNA. Für die Analyse im Luminex-Analysegerät werden vom Hersteller Konzentrationen zwischen 10 und 200ng/µl DNA vorausgesetzt.

Zur Aufreinigung wurde je aufzureinigender Blutprobe eine Fünf-Kavitäten-Platte bei Raumtemperatur wie folgt befüllt:

- In die erste, linke Kavität wurden 20 µl Qiagen-Protease, 200 µl Vollblut und 430 µl Mastermix pipettiert. Die Protease enthält Subtilisin, eine bakterielle Serinprotease. Der Mastermix setzt sich aus 30µl MagAttract G-Lösung, 200µl Isopropanol 100% und 200µl Buffer AL zusammen. Die MagAttract G-Lösung enthält die Beads und musste vor der Verwendung für 3 Minuten mit dem Vortex-Mischer gemischt werden, der fertige Mastermix für eine Minute. Buffer AL ist ein Lysepuffer, der die im Blut enthaltenen Zellen lysiert und so die DNA freisetzt. Die im Mastermix enthaltenen Beads können so ungehindert an die DNA binden.
- In die zweite Kavität wurden 700 µl Waschpuffer Buffer AW1 pipettiert.
- In die dritte Kavität wurden 500 µl Waschpuffer Buffer AW2 pipettiert.
- In die vierte Kavität wurden 500 µl Waschpuffer Buffer AW2 pipettiert.
- In die fünfte Kavität wurden 200 µl Elutionspuffer Buffer AE pipettiert.

Die fertig vorbereiteten Fünf-Kavitäten-Platten wurden in den GenoM-Analyseautomaten gestellt (Abb. 3). Dieser bindet magnetisch die an die DNA gebundenen Beads und entnimmt sie so aus der ersten Kavität. In den Kavitäten zwei bis vier werden die Beads aufgereinigt und schließlich in den Elutionspuffer in der fünften Kavität freigesetzt (siehe Abb. 4, Seite 42). Nach Ablauf des Programms ist die DNA geeignet, um in einer PCR amplifiziert zu werden.



Abb. 3: Befüllte Fünf-Kavitäten-Platten im GenoM-Automaten

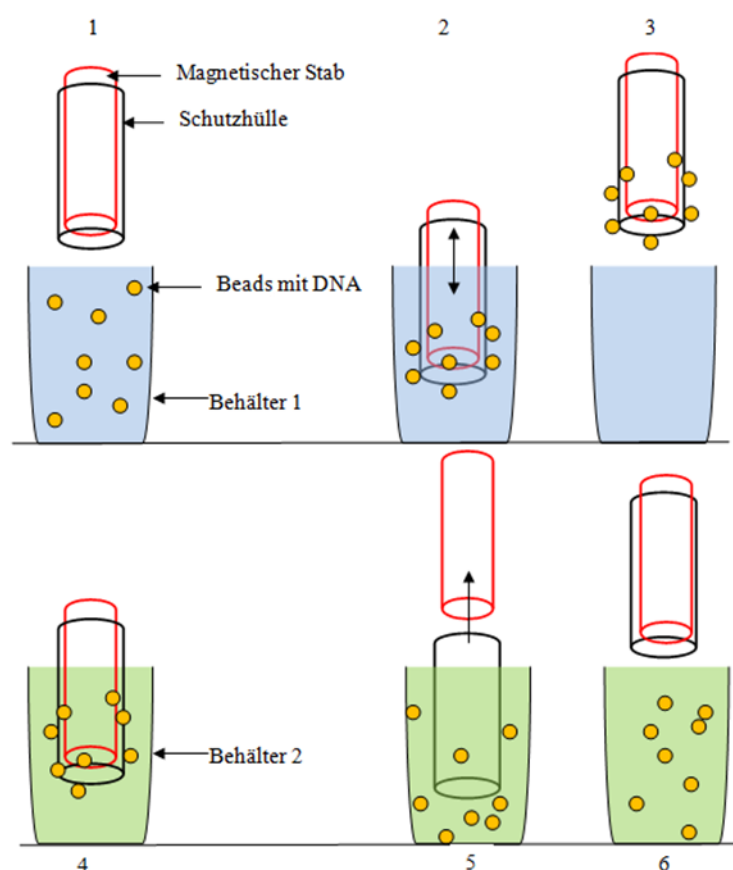


Abb. 4: Prinzip der Gewinnung von DNA aus Blut mit dem GenoM-Automaten:

- 1) Der von einer Hülle umgebene Magnet wird in den Reaktionsansatz abgesenkt
- 2) Durch auf- und abbewegen werden die Beads im Reaktionsgefäß an den Magneten gebunden
- 3) Der Magnet wird mit den gebundenen Beads aus dem Reaktionsansatz herausgezogen
- 4) Der Magnet mit den Beads wird in ein Reaktionsgefäß mit Wasch- bzw. Elutionspuffer abgesenkt
- 5) Der Magnet wird aus der Schutzhülle herausgezogen, die Beads werden in den Puffer freigesetzt
- 6) Die Hülle wird aus dem Reaktionsgefäß gezogen, die Beads mit der DNA liegen nun frei im Puffer vor

Dieser Vorgang läuft vier Mal ab, bis die DNA nach den Waschsritten aufgereinigt im Elutionspuffer vorliegt.

PCR

Mittels der Polymerasekettenreaktion (PCR) wurden für die Analyse im Luminex ausreichende Mengen an DNA-Sequenzen gewonnen. Bei der Amplifikation von DNA durch PCR werden entweder äquimolare Mengen von Vorwärts- und Rückwärtsprimern verwendet, um ein doppelsträngiges DNA-Produkt zu erzeugen, oder die Menge eines Primers wird im Vergleich zum anderen größer gewählt, sodass die Reaktion zusätzlich zu einem doppelsträngigen DNA-Produkt ein einsträngiges DNA-Produkt erzeugt. Sobald der in geringerer Menge vorhandene Primer verbraucht ist, verwendet der verbleibende Primer das doppelsträngige Produkt als Matrize für die Generierung von einsträngiger DNA. Diese Methode erzeugt sowohl doppelsträngige als auch einsträngige Produkte, die nach ihrer Denaturierung beide an der folgenden Hybridisierungsreaktion beteiligt sind. Für die Analyse im Luminex wurde die Variante der PCR gewählt, bei der auch ein einsträngiges Produkt entsteht.

Zur Analyse der aufgereinigten DNA musste der verwendete Mastermix, eine Mischung der benötigten Primer, auf Raumtemperatur erwärmt werden. Für die Erfassung der verschiedenen bekannten HLA-Merkmale standen neun verschiedene Primermischungen (Mastermix) zur Verfügung. Für eine vollständige HLA-Diagnostik mussten die folgenden Schritte mit jedem dieser Mastermixe durchgeführt werden. Zur Verfügung stehen die Lifecodes HLA Mastermix für HLA-A, HLA-B und HLA-C.

Alle verwendeten Reagenzien wurden für 10 Sekunden mit dem Vortex-Mischer gemischt, um darin enthaltenen Salze zu lösen und kurze Zeit in der Mikrozentrifuge zentrifugiert. In jede Kavität einer 96-Kavitäten-Platte wurden folgende Substanzen pipettiert:

- 15 µl Mastermix (Primer)
- Ungefähr 200ng der mittels PCR amplifizierten DNA
- 0,5 µl (entsprechend 2,5 U) Taq-Polymerase
- Zum Auffüllen des Reaktionsansatzes auf 50 µl wurde nukleasefreies Wasser verwendet

Die fertige Mischung wurde mit dem Vortexmischer gemischt, zur Verhinderung von Evaporation mit einem Deckel verschlossen und im Thermalcycler mit folgenden Einstellungen amplifiziert:

- 5 Minuten bei 95 °C (Denaturierung)
- 8 Zyklen:
 - 30 Sekunden bei 95 °C (Denaturierung) - 45 Sekunden bei 60 °C (Annealing) - 45 Sekunden bei 72 °C (Elongation)
- 32 Zyklen:
 - 30 Sekunden bei 95 °C (Denaturierung) - 45 Sekunden bei 63 °C (Annealing) - 45 Sekunden bei 72 °C (Elongation)
- 15 Minuten bei 72 °C (Elongation)

In jedem Zyklus werden DNA-Doppelstränge bei 95°C in DNA-Einzelstränge aufgespalten (Denaturierungsphase). In der folgenden Phase binden die Primer an die DNA-Einzelstränge (Annealingphase) und verlängern sie in der darauffolgenden Phase bei 72°C (Elongationsphase).

Luminex

Nach Ablauf des PCR-Programms konnte die amplifizierte DNA im Luminex verwendet werden.

Zur Analyse der Proben standen verschiedene Sondenmischungen zur Verfügung. Diese sind - ähnlich den Primermischungen für die PCR - spezifisch für die Analyse verschiedener HLA-Merkmale. Verwendet wurden Lifecodes HLA Sondenmischung für HLA-A, HLA-B und HLA-C.

Die jeweilige Sondenmischung wurde in einem Hitzeblock bei 60°C für 10 Minuten erwärmt, für 15 Sekunden im Wasserbadsonikator beschallt und dann für weitere 15 Sekunden mit dem Vortexmischer gemischt. Das garantiert, dass sich die Komponenten der Mischung vollständig lösen beziehungsweise suspendieren.

In eine Thermalcycler-96-Kavitätenplatte wurden in jede Kavität folgende Substanzen pipettiert:

- 5 µl des PCR-Produktes
- 15 µl Sondenmischung

Die Platte wurde nach dem Befüllen mit Microseal-Film versiegelt und unter den nachstehenden Bedingungen im Thermalcycler hybridisiert:

- 5 Minuten bei 97°C
- 30 Minuten bei 47°C
- 10 Minuten bei 56°C

Nach Ablauf des Hybridisierungsprogrammes wurden die Proben bei 56°C im Thermalcycler belassen und jede Probe wurde innerhalb von 5 Minuten mit 170 µl einer Lösung aus Verdünnungslösung und PE-Streptavidin im Verhältnis 1:200 versetzt.

Diese lichtempfindliche Verdünnungslösung wurde nach ihrer Zubereitung bei Raumtemperatur im Dunkeln aufbewahrt und vor der Verwendung kurz mit dem Vortexmischer aufgemischt.

Im nächsten Schritt wurden die Proben direkt vom Thermalcycler in den Heizblock des Luminex-Analyseapparates gestellt. Dieser wurde mindestens 30 Minuten vor seiner Verwendung eingeschaltet, um vorwärmen zu können.

Nach dem Start des Analyseprogrammes analysierte das Gerät vollautomatisch die Fluoreszenzmuster der DNA-gebundenen Oligonukleotidsonden und gab eine Datei (CSV-Datei) mit den Ergebnissen an einen angeschlossenen Computer aus.

Die erzeugten CSV-Dateien wurden mit dem Tabellenkalkulationsprogramm Microsoft Excel verarbeitet. Zur Kontrolle des Erfolges der PCR und der Hybridisierung liegen in jeder Sondenmischung konsensuelle Oligonukleotidsonden vor, die mit jedem möglichen Allel hybridisieren und so in jedem Fall ein positives Ergebnis in der Fluoreszenzanalyse zeigen müssen.

Zur Verifizierung der einzelnen Sonden wurde den Herstellerangaben folgend darauf geachtet, dass die Anzahl der Ergebnisse für jede der SSO-Sonden in jeder Probe bei mindestens 60 lag und der Wert für jede der Sonden über der mittleren Fluoreszenzintensität (MFI) der jeweiligen Sonde lag. Die jeweiligen Referenzwerte liegen in einer Grenzwerttabelle des Herstellers vor.

War eine dieser Kontrollsonden negativ, wurde der gesamte Test als fehlerhaft angesehen, das Ergebnis verworfen und ein neuer Reaktionsansatz hergestellt und gemessen.

Die Ergebnisse der einzelnen Sonden wurden nun - wie in Formel 4 dargestellt - durch Subtraktion des sonden- und chargenspezifischen Hintergrundkontrollwertes der jeweiligen Sonde korrigiert und die korrigierten Werte für jede der Sonden durch den Wert der jeweiligen ebenfalls korrigierten konsensuellen Sonde dividiert um den normalisierten Datensatz zu erhalten:

$$\frac{MFI(\text{Sonde}) - MFI(\text{Hintergrundkontrollwert der Sonde})}{MFI(\text{konsensuelle Sonde}) - MFI(\text{Hintergrundkontrollwert der konsensuellen Sonde})}$$

Formel 4: Formel zur Errechnung der Ergebnisse des Luminex-Verfahrens (Produktbeilage Lifecodes HLA-SSO Typisierungssets zur Verwendung mit Luminex)

Die normalisierten Daten wurden in die Grenzwerttabelle eingetragen und anhand einer Sondentreffertabelle interpretiert.

3.3.2.3.3. Erfassung von HPA-Antikörpern - MAIPA-Assay

Zur Analyse wurden Testthrombozyten mit bekannten HPA-Antigenen benötigt, die durch Differentialzentrifugation aus EDTA-Blut gewonnen und bei 4°C in isotoner Kochsalzlösung mit 0,1% NaN₃ gelagert wurden. Zur Gewinnung der Testthrombozyten stehen dem DRK Blutspendedienst Rheinland-Pfalz/Saarland Spender mit bekannten HPA-Merkmalen zur Verfügung. Von den Testthrombozyten wurden 20 x 10⁶ Zellen in ein Eppendorf-Reaktionsgefäß gegeben und eine Minute lang mit 10000 x g zentrifugiert. Der entstandene Überstand wurde abgesaugt und die Thrombozyten mit 30µl PBS-BSA 2% resuspendiert. Dazu wurden 10µl des zu untersuchenden Serums pipettiert. Dann wurde der Ansatz für 30 Minuten bei 37°C inkubiert. Eventuell im Serum vorhandene HPA-Antikörper binden während dieser Zeit an die HPA-Antigene der Testthrombozyten. Nach der Inkubation erfolgten zwei Waschschrte, der erste mit 100µl isotonischer Kochsalzlösung, der zweite mit 30µl PBS-BSA 2%. Die Abzentrifugation erfolgte für je eine Minute bei 10000 x g. Im nächsten Schritt wurden den Thrombozyten 10µl einer Lösung aus Waschpuffer mit glykogenspezifischen, mononucleären Maus-Anti-Human CD 61 Antikörpern mit der Konzentration 20µg/ml zugegeben und der Ansatz für 30 Minuten bei 37°C inkubiert. Es folgten drei Waschschrte mit je 100µl isotoner Kochsalzlösung und Abzentrifugation bei 10000 x g. Dabei wurden nicht gebundene Maus-Anti-Human-Antikörper aus dem Ansatz entfernt. Die gewaschenen Thrombozyten wurden wieder in 100µl isotoner Kochsalzlösung resuspendiert, zur Lyse mit 100µl Lysepuffer versetzt und für 30 Minuten bei 4°C inkubiert. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurde das Lysat bei 4°C für 30 Minuten bei 10000 x g abzentrifugiert. 50µl der bei der Zentrifugation entstandenen oberen Schicht wurden abpipettiert, ohne die darunter liegende Schicht aus lysierten Thrombozyten aufzuwirbeln. Das abpipettierte Material enthielt den dreimolekularen Antigen-Antikörper-Komplex. Es wurde mit 200µl TBS-Waschpuffer verdünnt und vorsichtig durchmischt. In eine mit 0,6 µg Ziege-Anti-Maus-IgG pro Kavität beschichtete Mikrotiterplatte wurden nun 100µl des Ansatzes pro Kavität pipettiert. Daraufhin folgte eine neunzigminütige Inkubationszeit bei 4°C, in der bei positivem HPA-Antikörperbefund im zu untersuchenden Serum noch vorhandene murine Antikörper mittels der Ziege-Anti-Maus Antikörper an die Platte gebunden wurden. Zur weiteren Bearbeitung wurde der Überstand verworfen und die Kavitäten vier Mal mit je 200µl TBS-Waschpuffer gewaschen. Nur bei positivem HPA-Antikörperbefund verbleiben noch humane Antikörper, die an die Platte gebunden sind. Die Kavitäten der Mikrotiterplatte wurden dann mit je 100µl einer Lösung aus Waschpuffer mit Peroxidase markierten Ziege-Anti-Human IgG für 120 Minuten bei 4°C inkubiert. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurde fünf Mal mit TBS Waschpuffer gewaschen. Bei Raumtemperatur wurden die Platten daraufhin mit Substratlösung, bestehend aus einer OPD-Tablette aufgelöst in 12ml destilliertem Wasser und 5µl 30% Wasserstoffperoxid, für 15 Minuten inkubiert. Die OPD-Tabletten enthalten pro Tablette 3,5mg 1,2 Phenylendiamin-Dihydrochlorid. Zur Beendigung der Reaktion

wurden im folgenden Schritt 50µl 2,5-molaren H₂SO₄ zupipettiert. In einem Photometer wurde der Leerwert mit Hilfe von TBS-Waschpuffer bestimmt und daraufhin die Extinktion der Proben bei 492nm gegen den Leerwert gemessen. Anhand der eingesetzten Testthrombozyten mit bekannten HPA-Merkmalen konnten mit Hilfe des Ergebnisses der photometrischen Messung HPA-Antikörper im zu untersuchenden Serum erfasst und spezifiziert werden.

3.3.2.3.4. Erfassung von HPA-Antikörpern - Qualitativer ELISA

Ergänzend zum MAIPA-Assay wurde mit dem PakPlus-Test der Firma GTI-Diagnostics ein Capture-Festphasenzymimmunoassay zum Nachweis von HPA-Antikörpern durchgeführt. Als Probe diente aus EDTA-Blut abgetrenntes Plasma der zu untersuchenden Patienten. Alle Reagenzien wurden vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur gebracht. Daraufhin wurde die Waschlösung durch Verdünnen des Waschlösungskonzentrates, mit destilliertem Wasser im Verhältnis 1:10 hergestellt. Das Waschlösungskonzentrat enthielt Polysorbat-20, Natriumchlorid und Natriumacid, gepuffert durch Tris-Aminomethan. Jede der Proben wurde auf dem mitgelieferten Protokollbogen einer Flachbodenvertiefung auf dem verwendeten Teststreifen zugeordnet. Nun wurden 200µl einer Plasmaprobe mit 600µl Probenverdünnungspuffer, bestehend aus einer salinen, phosphatgepufferten Lösung mit Natriumazid, Rinderalbumin und Mausserum, versetzt. Darüber hinaus wurden 200µl des negativen Kontrollserums mit 600µl des Probenverdünnungspuffers und außerdem 50µl des positiven Kontrollserums mit 150µl Probenverdünnungspuffer vermischt. Die Kontrollseren waren humanen Ursprungs.

Gleichzeitig wurden die benötigten Teststreifen mit den gebundenen Thrombozytenglykoproteinen in den Halterahmen eingelegt und mit 300µl der eingangs hergestellten Waschlösung pro Vertiefung versetzt. Daraufhin wurden die Teststreifen für 10 Minuten bei Raumtemperatur gelagert, ehe die Waschlösung in den Vertiefungen verworfen und der Teststreifen auf einem saugfähigen Papiertuch ausgeklopft wurde, um verbleibende Waschlösung zu entfernen.

Anhand des Schemas auf dem Protokollbogen wurden dann je 50µl der Patientenproben und der Kontrollproben in die Flachbodenvertiefungen der Teststreifen, mit Ausnahme der Blank-Vertiefungen, pipettiert und die mit Abklebefolie versiegelten Teststreifen für 45 Minuten im Brutschrank bei 37°C inkubiert. Während der Inkubationszeit wurde zur Vorbereitung der weiteren Analyse das Konjugat mit Probenverdünnungspuffer im Verhältnis 1:100 in einem Polypropylenröhrchen versetzt. Wichtig ist hier die gute Durchmischung. Das Konjugat beinhaltet gereinigte, mit alkalischer Phosphatase markierte Ziege-Anti-Human-Antikörper der Klassen IgG, IgA und IgM und Natriumazid.

Nach Ablauf der Inkubationszeit wurde der Inhalt der Teststreifen verworfen und die Teststreifen gründlich auf Papierhandtüchern ausgeklopft. Nun wurde jede Vertiefung fünf Mal mit je 300µl Waschlösung gewaschen und die Teststreifen wiederum auf Papierhandtüchern sorgfältig ausgeklopft, bis keine Flüssigkeitsreste mehr in den Vertiefungen verblieben waren. Anschließend wurden alle Vertiefungen außer die Blank-Vertiefungen mit je 50µl des Konjugat-Probenverdünnungspuffer-

Gemisches versetzt und die Teststreifen wiederum mit Abklebefolie versiegelt für 45 Minuten bei 37°C im Brutschrank inkubiert. Während dieser Zeit wurde in das Vial mit dem kristallinen PNPP-Substrat 500µl destilliertes Wasser gegeben und das Substrat durch Schütteln aufgelöst und durchmischt. Das aufgelöste PNPP wurde im Verhältnis 1:100 mit Substratpuffer, bestehend aus Diethanolamin, Magnesiumchlorid und Natriumazid, vermischt und dann an einem dunklen Ort gelagert.

Nach Ende der Inkubationszeit wurde der Inhalt der Flachbodenvertiefungen verworfen, die Vertiefungen wurden fünf Mal mit je 300µl Waschlösung gewaschen und der Teststreifen abgeklopft, bis keine Flüssigkeit mehr in den Vertiefungen verblieb. In die leeren Vertiefungen kamen nun 100µl der verdünnten PNPP-Lösung je Vertiefung, die Blank-Vertiefungen wiederum ausgenommen. Es folgte eine Inkubationszeit von 30 Minuten, bei der die Proben bei Raumtemperatur im Dunkeln gelagert wurden. Auf die Inkubationszeit folgte die Zugabe von 100µl der Stopplösung in jede der Vertiefungen inklusiver der Blank-Vertiefungen. Die verwendete Stopplösung bestand aus dreimolarer NaOH-Lösung. Sie sollte in der gleichen Reihenfolge wie die PNPP-Lösung in die Vertiefungen gegeben werden, um eine möglichst genaue Einhaltung der sehr sensiblen Inkubationszeit zu gewährleisten.

Zur Analyse wurden die gestoppten Proben zeitnah in einem ELISA-Reader bei 405nm Wellenlänge und einer Referenzwellenlänge von 490nm ausgelesen. Von den erhaltenen Ergebnissen für die Proben mussten daraufhin die Werte der Blank-Vertiefungen subtrahiert werden, um die Endergebnisse zu erhalten, die dann im Protokollbogen dokumentiert wurden. Eine Probe wurde laut Anweisung des Herstellers als positiv gewertet, wenn die Extinktion der Probe größer oder gleich des doppelten Mittelwertes der negativen Kontrolle war. Eine Qualitätskontrolle erfolgte an Hand der negativen und positiven Kontrollseren.

4. Ergebnisse

4.1. Retrospektiver Teil

4.1.1. Charakteristika der untersuchten Präparate und des Patientenkollektivs

Die Analyse umfasst den Zeitraum 01.06.2006 bis 25.07.2008 und damit 786 Tage. Sie schließt 11270 Thrombozytentransfusionen am UKS ein. Die TKs wurden an 2095 verschiedene Patienten transfundiert, von denen 721 (34,4%) in diesem Zeitraum nur ein einzelnes TK bekamen.

4.1.1.1. Verteilung der AB0-Blutgruppen

Die prozentuale Verteilung der AB0-Blutgruppen weicht im Empfängerkollektiv und folglich auch bei den verabreichten Präparaten (Tab. 6) leicht von der Verteilung der AB0-Blutgruppen in der deutschen Bevölkerung ab. So fand sich Blutgruppe A bei 42,2% der Patienten (n=4756) und bei 44,4% der verabreichten Präparate (n=5008). Beide Werte liegen nicht im Konfidenzintervall des für Deutschland anhand einer repräsentativen Stichprobe (n=624161) (Wagner, Kasulke et al., 1995) gefundenen Durchschnittswertes (43,26%, Konfidenzintervall: [43,259 ; 43,261]). Blutgruppe B findet sich bei 9,6% (n=1083) der Patienten und 6,4% (n=723) der verabreichten Präparate, aber bei rund 10,71% Merkmalsträgern in Deutschland (Konfidenzintervall: [10,709 ; 10,711]). Blutgruppe 0 kommt bei 44,6% (n=5032) der Patienten und 44,2% (n=4985) der verwendeten Präparate versus 41,21% in der deutschen Bevölkerung vor und liegt somit ebenfalls nicht im Konfidenzintervall ([41,209 ; 41,211]). Die Blutgruppe AB konnte in der Untersuchung bei 3,5% der Patienten (n=399) und 5,0% der verabreichten TKs (n=560) gefunden werden. In Deutschland kommt diese Blutgruppe in 4,82% vor (Konfidenzintervall: [4,819 ; 4,821]). Bei sechs Patienten konnte aus dem ESB-System keine Blutgruppe ermittelt werden.

	Abs. Häufigkeit Patientenkollektiv	Rel. Häufigkeit Patientenkollektiv	Abs. Häufigkeit Präparate	Rel. Häufigkeit Präparate	Rel. Häufigkeit Population*	Konfidenz- intervall Population
A	4756	42,2%	5008	44,4%	43,26%	[43,259 ; 43,261]
B	1083	9,6%	723	6,4%	10,71%	[10,709 ; 10,711]
AB	399	3,5%	560	5,0%	4,82%	[4,819 ; 4,821]
0	5032	44,7%	4985	44,2%	41,21%	[41,209 ; 41,211]
Σ	11270	100%	11276	100%	100%	

Tab. 6: Verteilung der AB0-Blutgruppen im Patientenkollektiv, bei den verabreichten TKs und in der deutschen Normalbevölkerung (*Wagner, Kasulke et al., 1995)

Für alle Blutgruppen gilt, dass die relative Häufigkeit im Patientenkollektiv signifikant von der relativen Häufigkeit bei den TK-Präparaten abweicht: Patientenblutgruppe A kommt mit 42,2% seltener vor, als Präparateblutgruppe A (Präparate-Konfidenzintervall: [44,39 ; 44,41]), ebenso Patientenblutgruppe AB mit 3,5% (Präparate-Konfidenzintervall: [4,99 ; 5,01]). Patientenblutgruppe B kommt mit 9,6% häufiger vor, als Präparateblutgruppe B (Präparate-Konfidenzintervall: [6,39 ; 6,41]), ebenso Patientenblutgruppe 0 mit 44,6% (Präparate-Konfidenzintervall: [44,19 ; 44,21]).

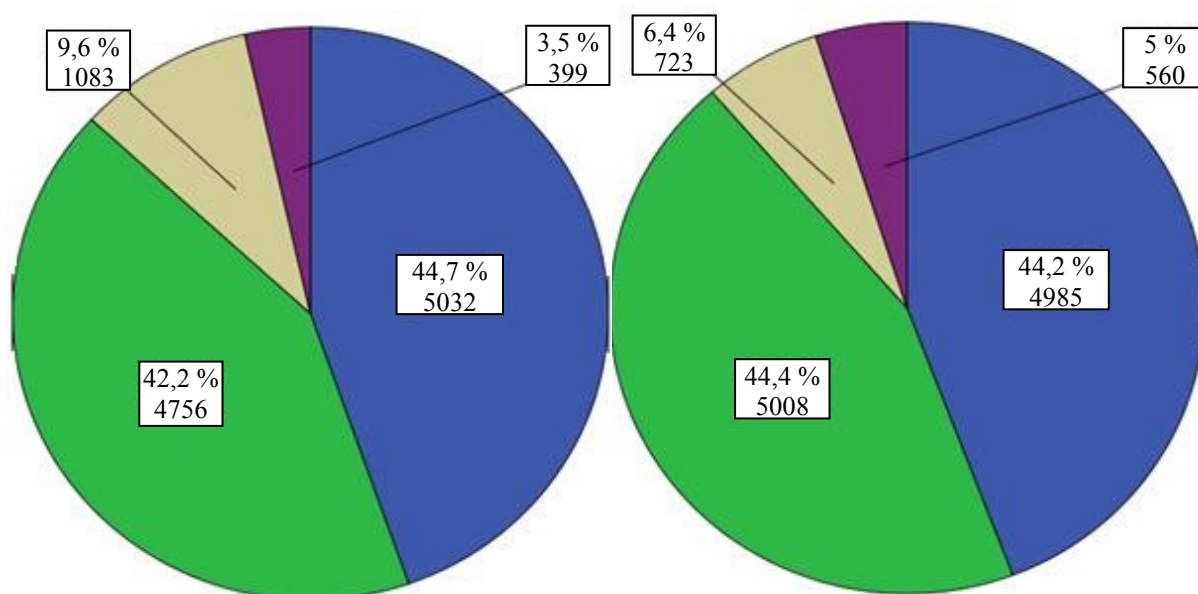


Abb. 5: Häufigkeitsverteilung der AB0-Blutgruppen im Patientenkollektiv (links) und bei den verabreichten Thrombozytenkonzentraten (rechts). Blutgruppe A = grün, B = braun, 0 = blau, AB = violett

4.1.1.2. Verteilung des Rhesusmerkmals (D)

Im untersuchten Patientenkollektiv waren, wie in Tab. 7 dargestellt, 82,1% der Patienten Rh(D)-positiv (n=9248) und 17,9% Rh(D)-negativ (n=2022). Die verwendeten TKs waren zu 71,7% Rh(D)-positiv (n=8083) und in 28,3% der Fälle Rh(D)-negativ (n=3193). Alle Werte liegen außerhalb der für die Population errechneten Konfidenzintervalle.

Rh(D)	Abs. Häufigkeit Patientenkollektiv	Rel. Häufigkeit Patientenkollektiv	Abs. Häufigkeit Präparate	Rel. Häufigkeit Präparate	Rel. Häufigkeit Population*	Konfidenzintervall Population
positiv	9248	82,1%	8083	71,7%	82,71%	[82,709 ; 82,711]
negativ	2022	17,9%	3193	28,3%	17,29%	[17,289 ; 17,291]
Σ	11270	100%	11276	100%	100%	

Tab. 7: Verteilung des Rhesusmerkmals (D) im Patientenkollektiv, bei den verabreichten TKs und in der deutschen Normalbevölkerung (*Wagner, Kasulke et al., 1995)

4.1.1.3. Verteilung der AB0-Blutgruppen unter Berücksichtigung von Rhesusfaktor (D)

Die AB0-Rh(D)-Blutgruppen bei den transfundierten Patienten (Tab. 8) entsprachen im Untersuchungszeitraum in etwa der Verteilung in der deutschen Bevölkerung. Hierzu sind keine Angaben zur Größe der Stichprobe verfügbar, somit kann keine weitere statistische Analyse durchgeführt werden. Bei den transfundierten Präparaten war der Anteil Rh(D)-negativer Präparate überdurchschnittlich hoch.

Blutgruppe	Häufigkeit Patientenkollektiv absolut	Häufigkeit Patientenkollektiv relativ	Häufigkeit Präparate absolut	Häufigkeit Präparate relativ	Häufigkeit in der dt. Bevölkerung relativ
A+	3847	34,1%	3652	32,4%	37%
A-	909	8,1%	1356	12,0%	6%
B+	953	8,5%	559	5,0%	9%
B-	130	1,2%	164	1,5%	2%
AB+	383	3,4%	447	4,0%	4%
AB-	16	0,1%	113	1,0%	1%
0+	4065	36,1%	3425	30,4%	35%
0-	967	8,6%	1560	13,8%	6%
Σ	11270	100%	11276	100%	100%

Tab. 8: Verteilung der AB0-Blutgruppen unter Berücksichtigung des Rh(D)-Faktors bei den untersuchten Patienten und bei den untersuchten Präparaten

4.1.2. Versorgung mit TKs abhängig von der AB0-Blutgruppe des Patienten

4.1.2.1. Patientenblutgruppe A

Patienten der Blutgruppe A erhielten im Untersuchungszeitraum insgesamt 4756 TKs. Davon hatten 79,7% AB0-Blutgruppe A (n=3789), was einer kompatiblen Transfusion entspricht, 1,7% der Konzentrate hatten Blutgruppe B, waren also sowohl major- als auch minor-inkompatibel (=doppelt-inkompatibel, n=83). Major inkompatibel transfundiert wurden 3,4% mit Blutgruppe AB (n=161) und 15,2% der Konzentrate hatten Blutgruppe 0 (n=723) und stellten somit eine minor-inkompatible Transfusion dar (Tab. 9 und Abb. 6). Rh(D)-inkompatible Transfusionen fanden in 1,6% der Fälle (n=77) statt. Die meisten rhesusinkompatiblen Transfusionen waren AB0-kompatibel (n=68),

Blutgruppe Präparat	Absolute Häufigkeit	Prozentuale Häufigkeit
A	3789	79,7
B	83	1,7
AB	161	3,4
0	723	15,2
Σ	4756	100

Tab. 9: TK-Präparateblutgruppen, die an Patienten der Blutgruppe A transfundiert wurden. Kompatible Transfusion weiß hinterlegt, **doppel-inkompatibel rot**, **major-inkompatibel gelb**, **minor-inkompatibel grün**

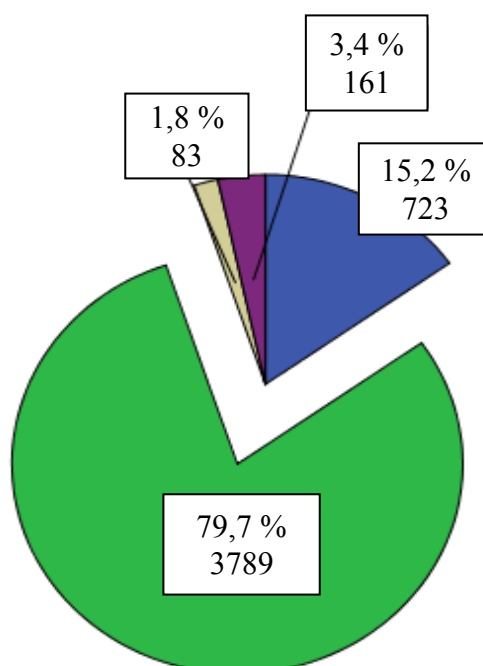


Abb. 6: AB0-Blutgruppen der verabreichten TK-Präparate an Empfänger der Blutgruppe A. Blutgruppe A=grün, B=braun, 0=blau, AB=violett

4.1.2.2. Patientenblutgruppe B

Patienten der Blutgruppe B wurden in nur 39,4% der Fälle AB0-Blutgruppenkompatibel transfundiert (n=427). Bei 12,1% (n=131) der Transfusionen wurde die doppelt-inkompatible Blutgruppe A transfundiert, mit Blutgruppe AB, also major-inkompatibel, wurden 12,6% der Transfusionen durchgeführt (n=136). Die minor-inkompatible Blutgruppe 0 wurde bei 35,9% (n=389) der untersuchten Transfusionen verwendet (Tab. 10 und Abb. 7). In 0,4% der Fälle (n=4) war eine Transfusion Rh(D)-inkompatibel, davon je zwei major- und zwei minor-inkompatibel.

Blutgruppe Präparat	Absolute Häufigkeit	Prozentuale Häufigkeit
A	131	12,1
B	427	39,4
AB	136	12,6
0	389	35,9
Σ	1083	100

Tab. 10: TK-Präparateblutgruppen, die an Patienten der Blutgruppe B transfundiert wurden. Kompatible Transfusion weiß hinterlegt, **doppelt-inkompatibel rot**, **major-inkompatibel gelb**, **minor-inkompatibel grün**

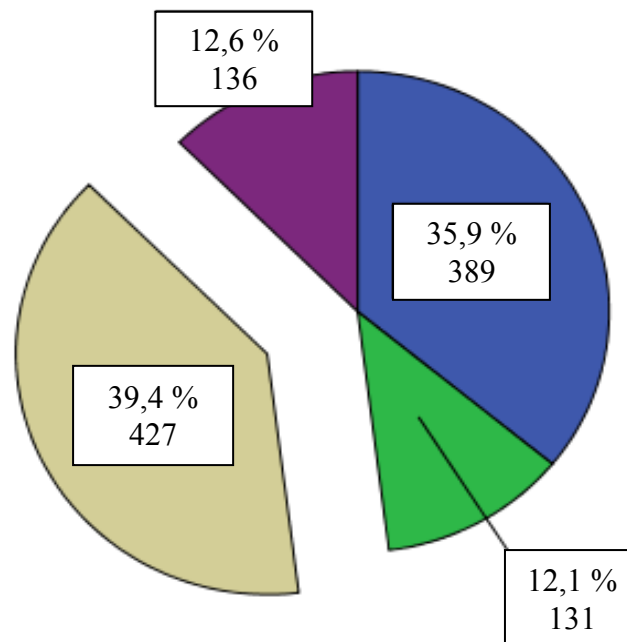


Abb. 7: AB0-Blutgruppen der verabreichten TK-Präparate an Empfänger der Blutgruppe B. Blutgruppe **A=grün**, **B=braun**, **0=blau**, **AB=violett**

4.1.2.3. Patientenblutgruppe AB

Patienten der AB0-Blutgruppe AB erhielten im Untersuchungszeitraum insgesamt 399 TKs. Davon waren 39,6% (n=158) kompatibel und 60,4% (n=241) minor-inkompatibel: 40,4% (n=161) der TKs hatten die AB0-Blutgruppe A, 11,8% (n=47) die Blutgruppe B und 8,3% (n=33) die Blutgruppe 0 (Tab. 11 und Abb. 8). 0,5% der Transfusionen (n=2) wurden Rh(D)-inkompatibel transfundiert, wobei in beiden Fällen eine AB0-Kompatibilität vorlag.

Blutgruppe Präparat	Absolute Häufigkeit	Prozentuale Häufigkeit
A	161	40,4
B	47	11,8
AB	158	39,6
0	33	8,3
Σ	399	100

Tab. 11: TK-Präparateblutgruppen, die an Patienten der Blutgruppe AB transfundiert wurden. Kompatible Transfusion weiß hinterlegt, minor-inkompatibel grün

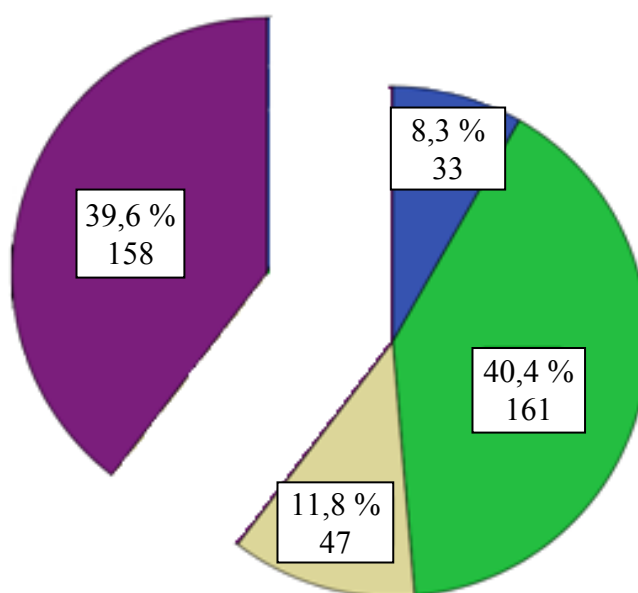


Abb. 8: AB0-Blutgruppen der verabreichten TK-Präparate an Empfänger der Blutgruppe AB. Blutgruppe A=grün, B=braun, 0=blau, AB=violett

4.1.2.4. Patientenblutgruppe 0

Patienten der Blutgruppe 0 erhielten im Untersuchungszeitraum in 76,3% der Fälle (n=3837) eine AB0-kompatible TK-Transfusion. In 23,7% der Fälle (n=1195) wurde ein AB0-major-inkompatibles Präparat verabreicht. Dabei entfielen 18,4% der Transfusionen auf Blutgruppe A (n=924), 3,3% auf Blutgruppe B (n=166) und 2,1% auf Blutgruppe AB (n=105). In 3,4% der Fälle wurde Rh(D)-inkompatibel transfundiert (n=170). Dabei entfielen 126 Transfusionen auf Blutgruppe A+, sechs auf Blutgruppe AB+ und 38 auf Blutgruppe 0+ (Tab. 12 und Abb. 9).

Blutgruppe Präparat	Absolute Häufigkeit	Prozentuale Häufigkeit
A	924	18,4
B	166	3,3
AB	105	2,1
0	3837	76,3
Σ	5032	100

Tab. 12: TK-Präparateblutgruppen, die an Patienten der Blutgruppe 0 transfundiert wurden. Kompatible Transfusion weiß hinterlegt, major-inkompatibel gelb

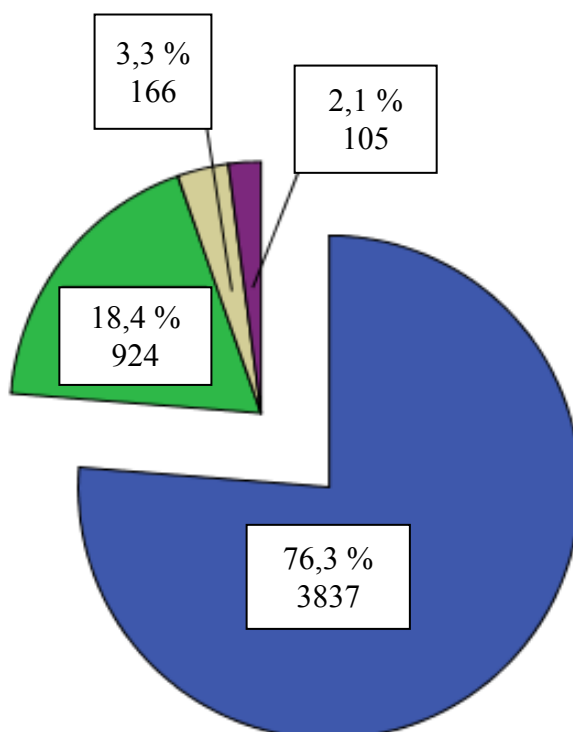


Abb. 9: AB0-Blutgruppen der verabreichten Präparate an Empfänger der Blutgruppe 0. Blutgruppe A=grün, B=braun, 0=blau, AB=violett

4.1.2.5. Vergleich der Versorgungskompatibilität

Zur Überprüfung der Versorgung mit TKs in Abhängigkeit von der Blutgruppe des Patienten wurde ein χ^2 -Test durchgeführt. Getestet wurde der zweigestufte Faktor Kompatibilität (kompatibel / nicht kompatibel) in Abhängigkeit von dem viergestuften Faktor Blutgruppe (Tab. 13).

	Patientenblutgr. A absolut (relativ)	Patientenblutgr. B absolut (relativ)	Patientenblutgr. AB absolut (relativ)	Patientenblutgr. 0 absolut (relativ)
kompatibel	3788 (79,7%)	427 (39,4%)	158 (39,7%)	3835 (76,2%)
inkompatibel	967 (20,3%)	656 (60,6%)	240 (60,3%)	1197 (23,8%)

Tab. 13: Kompatibilität der TKs in Abhängigkeit von der Patientenblutgruppe

Der χ^2 -Test zeigt, dass die Faktoren Kompatibilität und Patientenblutgruppe nicht unabhängig voneinander sind, $\chi^2(3)=973.03$, $p<.001$. Folglich hat der Faktor Patientenblutgruppe einen Einfluss auf die Kompatibilität der TKs. Somit gibt es Unterschiede in der Versorgungsqualität in Abhängigkeit von der Blutgruppe des Patienten. Im Einzelnen deutet das auf eine kompatiblere Versorgung von Patienten mit den häufigen AB0-Blutgruppen A und 0 gegenüber den Blutgruppen AB und B ($\chi^2(1)=958.29$, $p<.01$) hin, wobei ein signifikanter Unterschied zwischen den Blutgruppen A und 0 besteht ($\chi^2(1)=16.91$, $p<.01$). Die Häufigkeitsverteilung weist darauf hin, dass Patienten der Blutgruppe A signifikant häufiger kompatibel versorgt werden, als Patienten der Blutgruppe 0. Bei den seltenen AB0-Blutgruppen B und AB ist kein statistisch signifikanter Unterschied in der Versorgung feststellbar ($\chi^2(1)=.007$, *ns.*).

4.1.3. Transfusion von TKs in Abhängigkeit von der Spenderblutgruppe

4.1.3.1. Präparateblutgruppe A

Präparate der Blutgruppe A wurden zu 75,7% (n=3789) an Patienten der AB0-Blutgruppe A transfundiert. Alleine 924 der Präparate (18,5%) gingen an Patienten der Blutgruppe 0, was einer major-Inkompatibilität entspricht, 161 (3,2%) wurden an Patienten der Blutgruppe AB (minor-inkompatibel) und 131 (2,6%) doppelt-inkompatibel an Patienten der Blutgruppe B transfundiert (Tab. 14 und Abb. 10).

Blutgruppe Patient	Absolute Häufigkeit	Prozentuale Häufigkeit
A	3789	75,7
B	131	2,6
AB	161	3,2
0	924	18,5
Σ	5005	100

Tab. 14: Blutgruppen von Patienten, denen TK-Präparate der AB0-Blutgruppe A transfundiert wurden. Kompatible Transfusion weiß hinterlegt, **doppelt-inkompatibel rot**, **major-inkompatibel gelb**, **minor-inkompatibel grün**

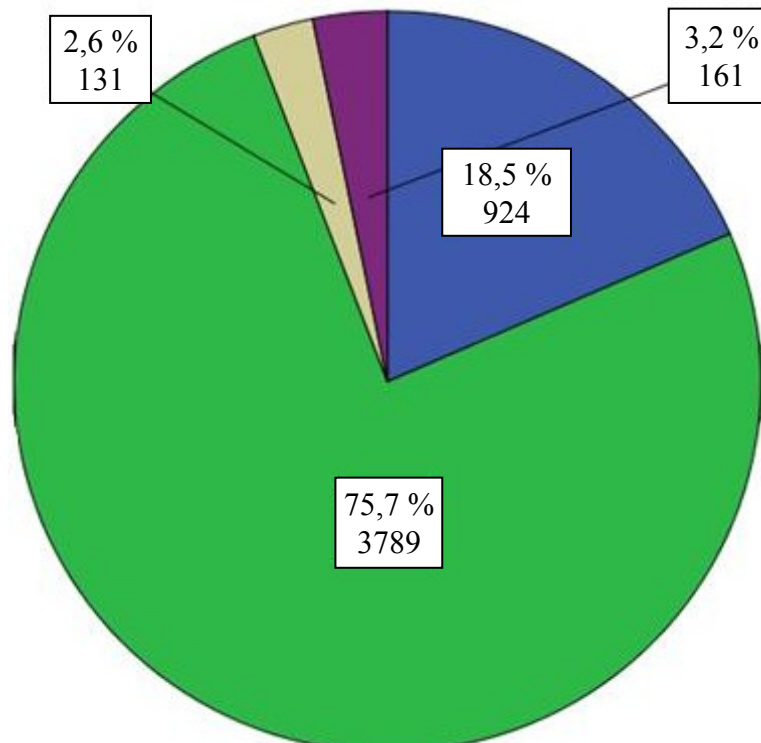


Abb. 10: AB0-Blutgruppen der Patienten, die TKs der Blutgruppe A erhalten haben. Blutgruppe A=grün, B=braun, 0=blau, AB=violett

4.1.3.2. Präparateblutgruppe B

Präparate der Blutgruppe B wurden zu in 59,1% der Fälle (n=427) blutgruppenidentisch transfundiert. 23% der Präparate (n=166) wurden major-inkompatibel an Patienten der AB0-Blutgruppe 0 verabreicht. 6,5% (n=47) der Präparate mit AB0-Blutgruppe B wurden minor-inkompatibel an Patienten der AB0-Blutgruppe AB und 11,5% (n=83) der Präparate doppelt-inkompatibel an Patienten der Blutgruppe A verabreicht (Tab. 15 und Abb. 11).

Blutgruppe Patient	Absolute Häufigkeit	Prozentuale Häufigkeit
A	83	11,5
B	427	59,1
AB	47	6,5
0	166	23,0
Σ	723	100

Tab. 15: Blutgruppen von Patienten, denen TK-Präparate der AB0-Blutgruppe B transfundiert wurden. Kompatible Transfusion weiß hinterlegt, **doppelt-inkompatibel rot**, **major-inkompatibel gelb**, **minor-inkompatibel grün**

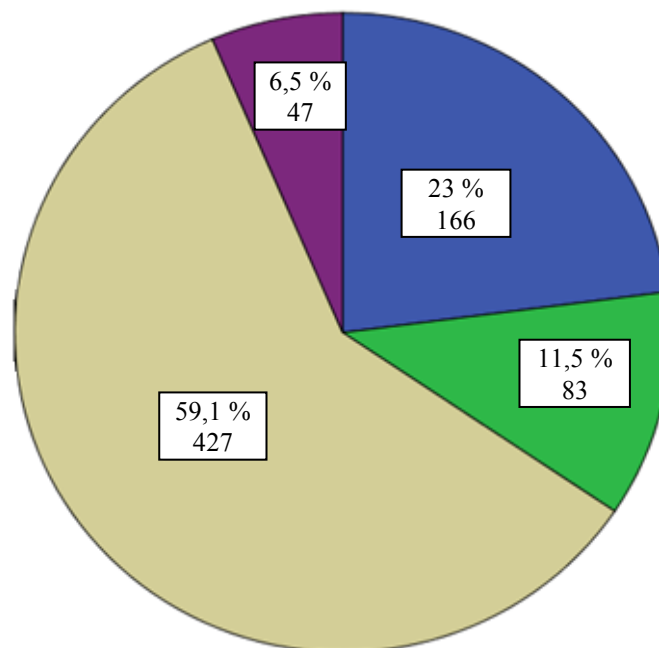


Abb. 11: AB0-Blutgruppen der Patienten, die TKs der Blutgruppe B erhalten haben. Blutgruppe **A=grün**, **B=braun**, **0=blau**, **AB=violett**

4.1.3.3. Präparateblutgruppe AB

Die im Untersuchungszeitraum verabreichten TKs der AB0-Blutgruppe AB wurden in 28,2% (n=158) der Fälle blutgruppenidentisch an Patienten mit Blutgruppe AB transfundiert. In 28,8% (n=161) der Fälle wurden solche Präparate an Patienten mit Blutgruppe A, in 24,3% (n=136) der Fälle an Patienten mit Blutgruppe B und in 18,8% (n=105) der Fälle an Patienten mit Blutgruppe 0 transfundiert, was jeweils einer major-Inkompatibilität entspricht (Tab. 16 und Abb. 12).

Blutgruppe Patient	Absolute Häufigkeit	Prozentuale Häufigkeit
A	161	28,8
B	136	24,3
AB	158	28,2
0	105	18,8
Σ	560	100

Tab. 16: Blutgruppen von Patienten, denen TK-Präparate der AB0-Blutgruppe AB transfundiert wurden. Kompatible Transfusion weiß hinterlegt, major-inkompatibel gelb

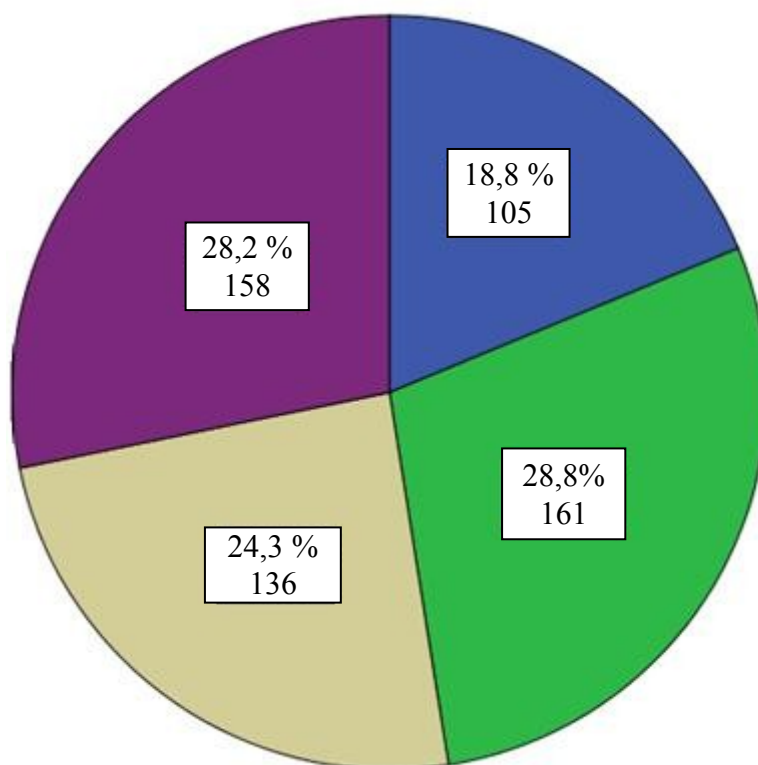


Abb. 12: AB0-Blutgruppen der Patienten, die TKs der Blutgruppe AB erhalten haben. Blutgruppe A=grün, B=braun, 0=blau, AB=violett

4.1.3.4. Präparateblutgruppe 0

TKs der Blutgruppe 0 wurden in 77% (n=3837) der Fälle kompatibel an Patienten der Blutgruppe 0 übertragen. 14,5% (n=723) der Patienten, die TKs der Blutgruppe 0 erhielten, hatten Blutgruppe A, 7,8% (n=389) Blutgruppe B und 0,7% (n=33) Blutgruppe AB, was jeweils einer minor inkompatiblen Transfusion entspricht (Tab. 17 und Abb. 13).

Blutgruppe Patient	Absolute Häufigkeit	Prozentuale Häufigkeit
A	723	14,5
B	389	7,8
AB	33	0,7
0	3837	77,0
Σ	4982	100

Tab. 17: Blutgruppen von Patienten, denen TK-Präparate der AB0-Blutgruppe 0 transfundiert wurden. Kompatible Transfusion weiß hinterlegt, minor-inkompatibel grün

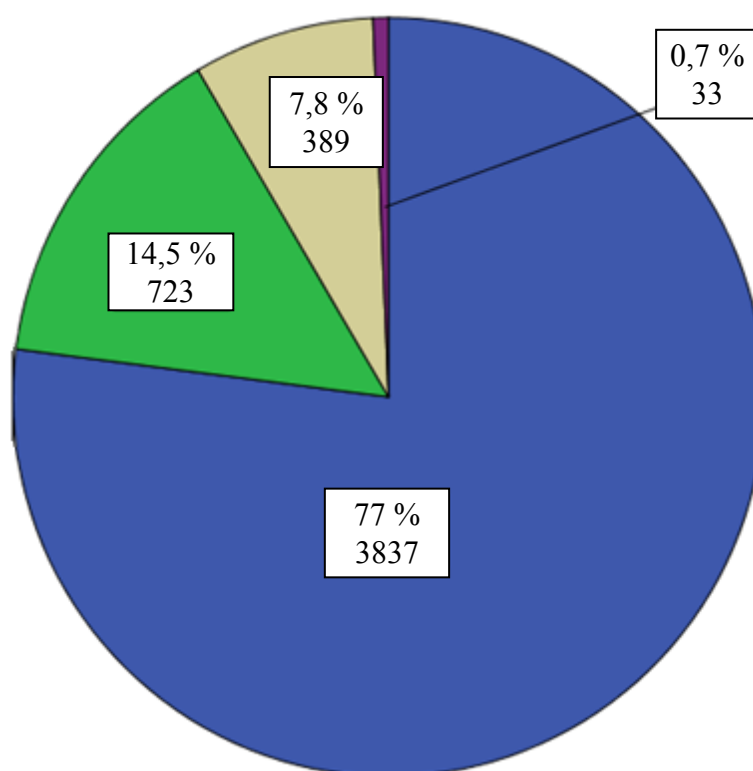


Abb. 13: AB0-Blutgruppen der Patienten, die TKs der Blutgruppe 0 erhalten haben. Blutgruppe A=grün, B=braun, 0=blau, AB=violett

4.1.3.5. Vergleich der Versorgungskompatibilität

Zur Überprüfung, ob in Abhängigkeit der Blutgruppe des Präparates ein Unterschied in der kompatiblen Zuordnung besteht, wurde ein χ^2 -Test durchgeführt. Getestet wurde der zweigestufte Faktor Kompatibilität (kompatibel / nicht kompatibel) in Abhängigkeit von dem viergestuften Faktor Blutgruppe (Tab. 18).

	Patientenblutgr. A absolut (relativ)	Patientenblutgr. B absolut (relativ)	Patientenblutgr. AB absolut (relativ)	Patientenblutgr. 0 absolut (relativ)
kompatibel	3789 (75,7%)	427 (59,1%)	158 (28,2%)	3836 (77%)
inkompatibel	1218 (24,3%)	296 (40,9%)	402 (71,8%)	1148 (23%)

Tab. 18: Kompatibilität der TKs in Abhängigkeit von der TK-Präparateblutgruppe

Der χ^2 -Test zeigt, dass die Faktoren Kompatibilität und Präparateblutgruppe nicht unabhängig voneinander sind, $\chi^2(3)=696.05$, $p<.001$. Folglich hat der Faktor Präparateblutgruppe einen Einfluss auf die Kompatibilität zwischen TK und Empfänger. Es gibt also signifikante Unterschiede in der Zuordnung von TKs in Abhängigkeit von ihrer Blutgruppe. Im Einzelnen zeigt sich, dass Präparate der häufigeren AB0-Blutgruppen A und 0 öfter kompatibel zugeordnet werden, als die selteneren Blutgruppen ($\chi^2(1)=958.29$, $p<.001$), wobei der χ^2 -Test und die Häufigkeitsverteilung darauf hinweisen, dass Blutgruppe 0 häufiger als Blutgruppe A kompatibel zugeordnet wird ($\chi^2(1)=16,90$, $p<.001$), während sich die Blutgruppe B und AB in der Häufigkeit ihrer kompatiblen Zuordnung nicht signifikant unterscheiden ($\chi^2(1)=0.01$, *ns.*).

4.1.4. Abhängigkeit vom Rhesusfaktor (D)

Rh(D)-positive Patienten erhielten im Untersuchungszeitraum in 84,6% der Fälle (n=7826) auch Rh(D)-positive Präparate. Rh(D)-negative Patienten erhielten in 87,5% der Fälle Rh(D)-negative Präparate, somit lag hier in 12,5% (n=253) der Fälle eine Rh(D)-Inkompatibilität vor (Tab. 19). Von den in dieser Zeit ausgegebenen Rh(D)-negativen Präparaten (n=3192) wurden 55,5% (n=1770) an Rh(D)-negative Patienten verabreicht.

Rh(D) Präparat	Ausgabe an Rh(D)-positive Patienten absolut	Ausgabe an Rh(D)-positive Patienten relativ	Ausgabe an Rh(D)-negative Patienten absolut	Ausgabe an Rh(D)-negative Patienten relativ
Positiv	7826	84,6%	253	12,5%
Negativ	1422	15,4%	1770	87,5%
Σ	9248	100%	2023	100%

Tab. 19: Ausgabe von Präparaten an Rh(D)-positive und Rh(D)-negative Patienten. Rh(D)-Inkompatibilität rot hervorgehoben

4.1.5. Patienten mit einmaliger Transfusion im Untersuchungszeitraum

Zur Analyse der Patienten mit einmaliger TK-Transfusion im Untersuchungszeitraum wurde aus dem bisher analysierten Kollektiv die Subgruppe der Patienten, die nur ein TK erhielten, ausgewählt.

4.1.5.1. Patientenblutgruppe 0

Patienten mit Blutgruppe 0, die im Untersuchungszeitraum einmalig transfundiert wurden, erhielten in 82,7% der Fälle (n=243) eine AB0-gleiche Thrombozytentransfusion. Mehrfach transfundierte Patienten der Blutgruppe 0 erhielten in 75,9% der Fälle (n=3594) Präparate der Blutgruppe 0. Ein t-Test für unabhängige Stichproben zeigt, dass sich die beiden Gruppen (einmal/mehrmal) signifikant in Bezug auf die Kompatibilität der TK-Transfusion unterscheiden, $t(341)=2,82$; $p=.005$. Bei den einmalig transfundierten Patienten erhielten 13% (n=35) major-inkompatibel Blutgruppe A, 3,4% (n=10) major-inkompatibel Blutgruppe B und 1% (n=3) major-inkompatibel Blutgruppe AB.

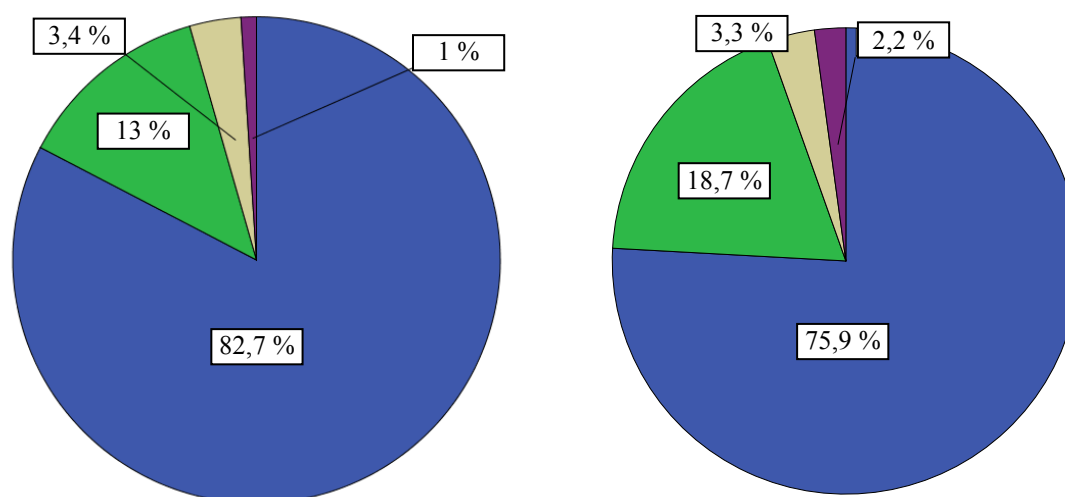


Abb. 14: Vergleich der TK-Blutgruppen, die an Patienten der AB0-Blutgruppe 0 verabreicht wurden: Bei einmaliger Transfusion (links) und mehrmaliger Transfusion (rechts). A = grün, B = braun, 0 = blau, AB = violett

4.1.5.2. Patientenblutgruppe A

Im Untersuchungszeitraum einmalig transfundierte Patienten mit Blutgruppe A erhielten in 82,4% der Fälle (n=253) eine AB0-gleiche Thrombozytentransfusion. Dies ist häufiger im Vergleich zu den mehrfach transfundierten Patienten dieser Blutgruppe, die in 79,5% der Fälle (n=3536) Präparate der Blutgruppe A erhielten. Die übrigen einmalig transfundierten Patienten der Blutgruppe A erhielten in 13% (n=40) der Fälle minor-inkompatibel Blutgruppe 0, in 3,6% (n=11) major-inkompatibel Blutgruppe AB und in 1% (n=3) der Fälle doppelt-inkompatibel Blutgruppe B.

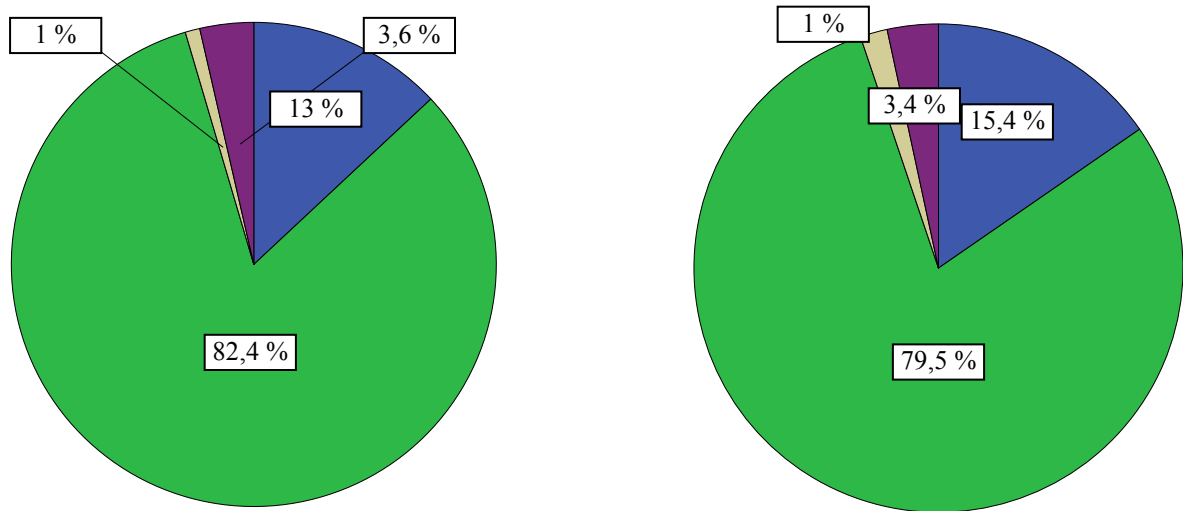


Abb. 15: Vergleich der TK-Blutgruppen, die an Patienten der AB0-Blutgruppe A verabreicht wurden: Bei einmaliger Transfusion (links) und mehrmaliger Transfusion (rechts). A = grün, B = braun, 0 = blau, AB = violett

4.1.5.3. Patientenblutgruppe B

Im Untersuchungszeitraum einmalig transfundierte Patienten der Blutgruppe B wurden bei 46,8% (n=36) der Thrombozytentransfusionen mit AB0-identischen Präparaten versorgt. Die AB0-identische Transfusion ist in diesem Kollektiv häufiger im Vergleich zu den mehrfach transfundierten Patienten der Blutgruppe B, die in 38,9% der Fälle (n=391) AB0-identische Präparate erhielten. Desweiteren erhielten einmalig transfundierte Patienten der Blutgruppe B in 27,3% der Fälle (n=21) minor-inkompatibel Blutgruppe 0, in 18,2% (n=14) major-inkompatibel Blutgruppe AB und in 7,8% (n=6) der Fälle doppelt-inkompatibel Blutgruppe A.

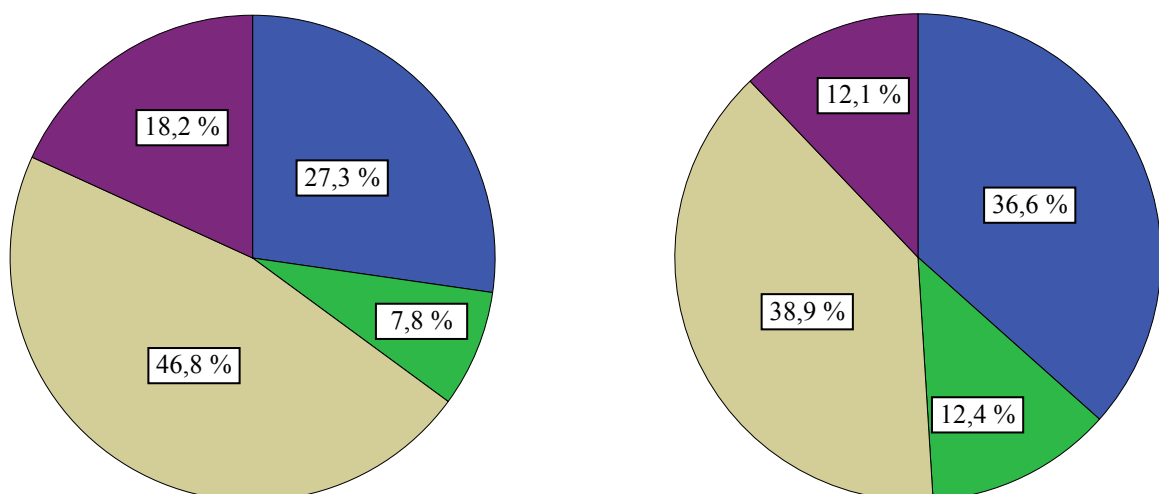


Abb. 16: Vergleich der TK-Blutgruppen, die an Patienten der AB0-Blutgruppe B verabreicht wurden: Bei einmaliger Transfusion (links) und mehrmaliger Transfusion (rechts). A = grün, B = braun, 0 = blau, AB = violett

4.1.5.4. Patientenblutgruppe AB

Die Patienten der Blutgruppe AB, die im Untersuchungszeitraum einmalig transfundiert wurden, erhielten bei 52,5% (n=21) der Thrombozytentransfusionen ein AB0-identisches Präparat. Die AB0-identische Transfusion ist somit bei einmalig transfundierten Patienten dieser AB0-Blutgruppe häufiger im Vergleich zu den mehrfach transfundierten Patienten der Blutgruppe AB, die nur in 38,2% der Fälle (n=137) AB0-identische Präparate erhielten. Die einmalig transfundierten Patienten dieser Blutgruppe erhielten in 35% (n=14) minor-inkompatible TKs der Blutgruppe A, in 7,5% der Fälle (n=3) minor-inkompatibel Blutgruppe B und in 5% der Transfusionen (n=2) minor-inkompatibel Blutgruppe 0.

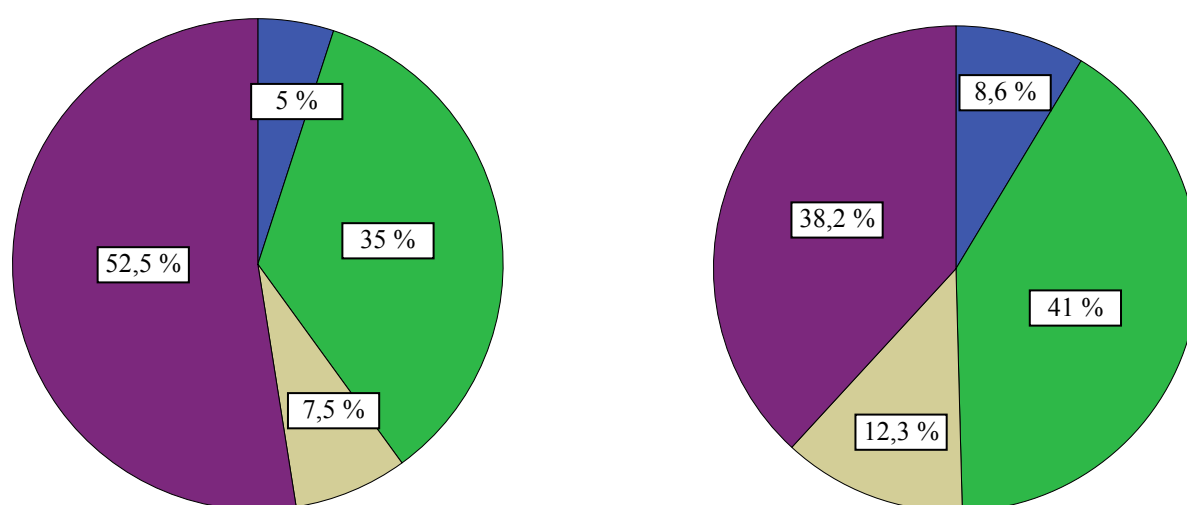


Abb. 17: Vergleich der TK-Blutgruppen, die an Patienten der AB0-Blutgruppe AB verabreicht wurden: Bei einmaliger Transfusion (links) und mehrmaliger Transfusion (rechts). A = grün, B = braun, 0 = blau, AB = violett

4.1.5.5. Vergleich der Kompatibilität der Transfusion abhängig von der Transfusionshäufigkeit

Zur Überprüfung der Fragestellung, ob im Kollektiv einmalig im Untersuchungszeitraum transfundierter Patienten häufiger kompatibel transfundiert wurde, als im Kollektiv mehrmals transfundierter Patienten, wurde eine binär logistische Regression mit der dichotomen Kriteriumsvariable Kompatibilität (kompatibel / inkompatibel) durchgeführt. Dabei zeigte sich, dass der Faktor Häufigkeit der TK-Gabe ein signifikanter Prädiktor für die Kompatibilität der Transfusion ist (Wald=5.83, $p < .05$, Nagelkerkes R-Quadrat=.001).

4.1.6. Zusammenhang zwischen AB0-inkompatibler TK-Transfusion und Transfusionsreaktionen

4.1.6.1. Anteil der Patienten mit inkompatiblen TK-Transfusionen an allen Patienten mit gemeldetem Transfusionszwischenfall

Die Transfusionsreaktion ist am UKS definiert als „alle bei oder nach einer Verabreichung von Blut oder Blutprodukten beobachteten Befindlichkeitsstörungen sowie subjektive und objektive Krankheitssymptome einschließlich Laborwertveränderungen [...], die im möglichen Zusammenhang mit der Gabe von Blut, Blutprodukten und Blutderivaten stehen“ (Universitätsklinikum des Saarlandes, 2010). Insgesamt wurden im Untersuchungszeitraum von 786 Tagen bei den insgesamt 11270 durchgeführten TK-Transfusionen 57 Transfusionszwischenfälle gemeldet, was einem Anteil von 0,5% entspricht. Bei 36,9% (n=21) der Patienten, bei denen ein Transfusionszwischenfall durch TK-Gabe dokumentiert wurde, wurde am gleichen Tag ein AB0-inkompatibles TK verabreicht, bei 21,1% (n=12) wurden darüber hinaus bereits über verschiedene Zeitabstände im Voraus AB0-inkompatible TKs transfundiert. Ein AB0-inkompatibles TK ließ sich in der Transfusionshistorie von 26,3% (n=15) der Patienten finden, die nach Gabe eines AB0-kompatiblen TK eine Transfusionsreaktion zeigten. Somit zeigen 63,6% (n=36) der Patienten eine Korrelation zwischen AB0-inkompatibler TK-Transfusion und Transfusionsreaktion. Lediglich bei 36,4% (n=21) der Patienten mit dokumentierter Transfusionsreaktion nach TK-Gabe konnte keine Gabe AB0-inkompatibler TK-Konzentrate in der ESB-Datenbank gefunden werden (Abb. 18). Die anhand dieser Daten erhobene absolute Risikoreduktion (AAR) durch kompatible Transfusion beträgt 0,25%, die Number Needed to Treat (NNT) zur Vermeidung einer dokumentierten Transfusionsreaktion 403,124.

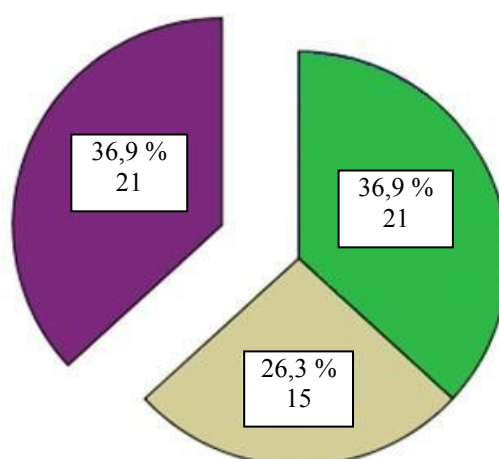


Abb. 18: Anteil der Patienten mit inkompatiblen TK-Transfusionen an allen Patienten mit gemeldetem Transfusionszwischenfall, grün=Inkompatible TK-Transfusion am gleichen Tag, braun=Inkompatible TK-Transfusion nur im Voraus (24h – 14 Monate), violett=keine inkompatible TK-Transfusion bekannt

4.1.7. Alter der ausgegebenen Präparate

4.1.7.1. Alter aller ausgegebenen Präparate

Wie in Abb. 19 zu sehen ist, wurden TKs vor allem zwischen 48 und 144 Stunden nach Herstellung ausgegeben. Nur 0,8% wurden am Tag der Herstellung und 8,6% zwischen 24 und 48 Stunden nach Herstellung ausgegeben. 23,8% (n=2688) der TKs wurden am letzten Tag ihrer Haltbarkeit ausgegeben.

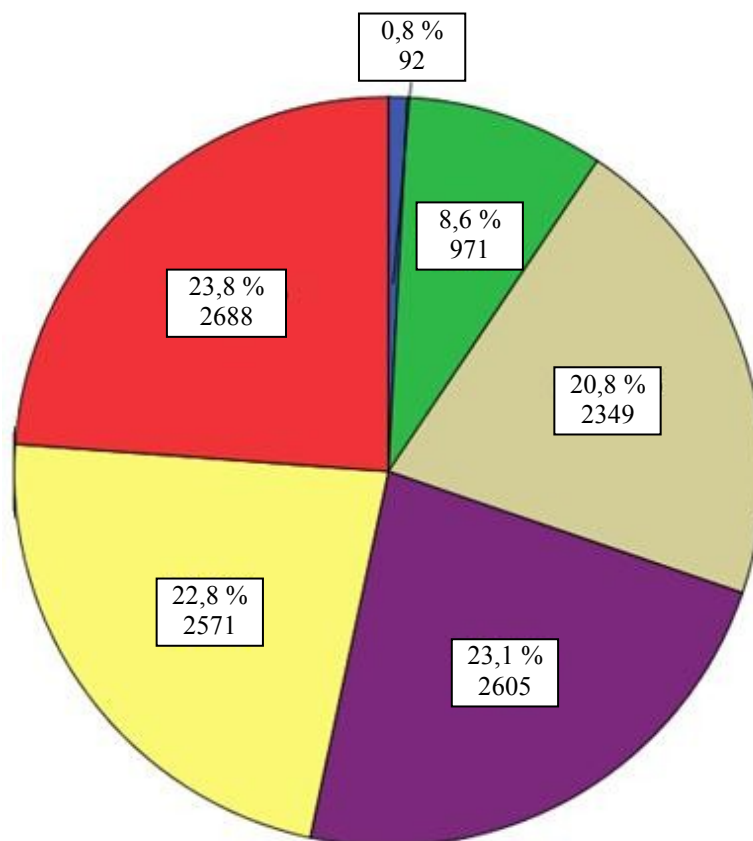


Abb. 19: Alter aller ausgegebenen Präparate. blau=Ausgabe 0-24h nach Herstellung, grün=24-48h nach Herstellung, braun=48-72h nach Herstellung, violett=72-96h nach Herstellung, gelb=96-120h nach Herstellung, rot=120-144h nach Herstellung

4.1.7.2. Alter der AB0-kompatibel ausgegebenen Präparate

Die Präparate, die im Untersuchungszeitraum kompatibel verabreicht wurden, wurden, verglichen mit allen ausgegebenen Präparaten, zu einem früheren Zeitpunkt ihrer Haltbarkeit ausgegeben. Jedoch werden auch hier 21% (n=1725) erst am letzten Tag der Haltbarkeit verabreicht (Abb. 20).

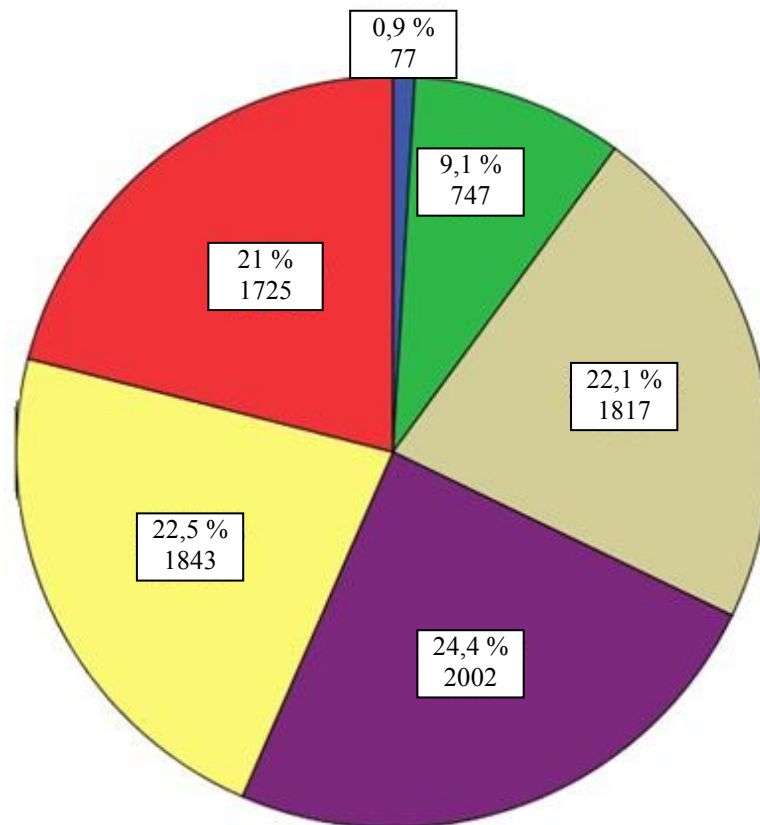


Abb. 20: Alter der AB0-kompatibel ausgegebenen Präparate. blau=Ausgabe 0-24h nach Herstellung, grün=24-48h nach Herstellung, braun=48-72h nach Herstellung, violett=72-96h nach Herstellung, gelb=96-120h nach Herstellung, rot=120-144h nach Herstellung

4.1.7.3. Alter der AB0-inkompatibel ausgegebenen Präparate

Über die Hälfte (55,1%, n=1686) der AB0-inkompatibel verabreichten Präparate wurden an den letzten beiden Tagen ihrer Haltbarkeit transfundiert, fast ein Drittel (31,4%, n=961) am letzten Tag (Abb. 21).

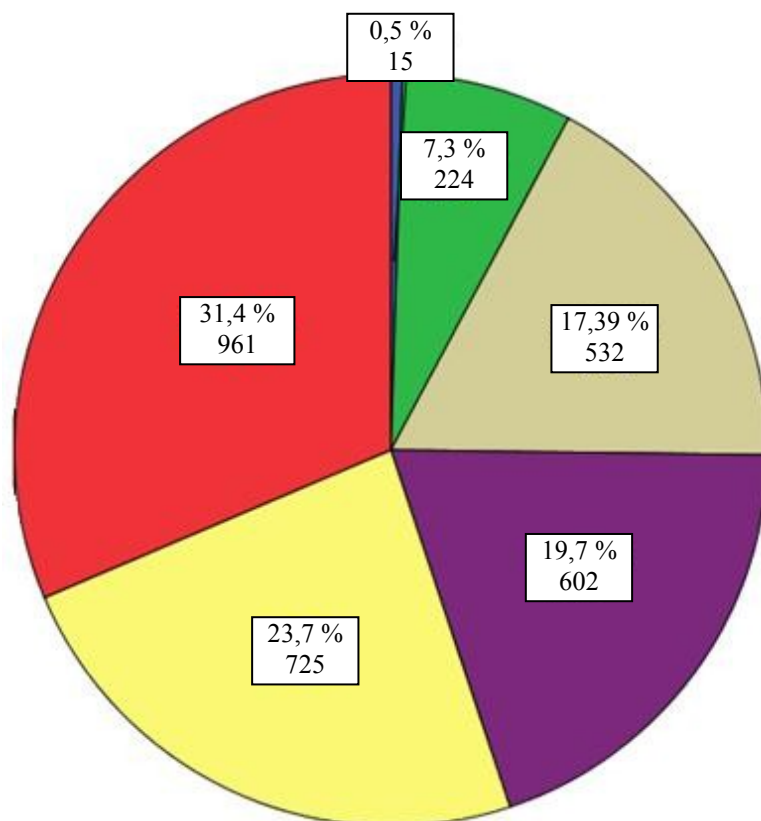


Abb. 21: Alter der AB0-inkompatibel ausgegebenen Präparate. blau=Ausgabe 0-24h nach Herstellung, grün=24-48h nach Herstellung, braun=48-72h nach Herstellung, violett=72-96h nach Herstellung, gelb=96-120h nach Herstellung, rot=120-144h nach Herstellung

4.1.7.4. Alter der Rh(D)-kompatibel ausgegebenen Präparate

Rh(D)-kompatibel verabreichte TKs wurden gleichmäßig verteilt 48-144 Stunden nach Haltbarkeit ausgegeben und verabreicht. Die Mehrzahl der Präparate wurde in der zweiten Hälfte ihrer Lagerzeit (67,7%, n=6497) transfundiert (Abb. 22).

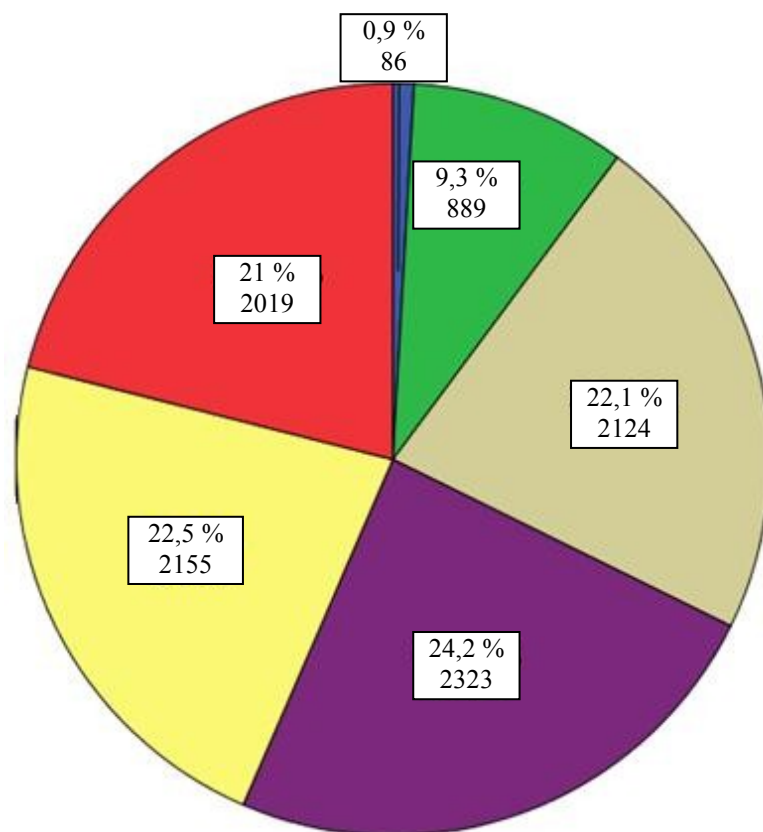


Abb. 22: Alter der Rh(D)-kompatibel ausgegebenen Präparate. blau=Ausgabe 0-24h nach Herstellung, grün=24-48h nach Herstellung, braun=48-72h nach Herstellung, violett=72-96h nach Herstellung, gelb=96-120h nach Herstellung, rot=120-144h nach Herstellung

4.1.7.5. Alter der Rh(D)-inkompatibel ausgegebenen Präparate

Bei den Rh(D)-inkompatibel ausgegebenen Präparaten zeichnet sich deutlich ab, dass vor allem ältere Präparate verwendet wurden. So wurden 39,8% (n=667) am letzten Tag der Haltbarkeit und 24,7% (n=414) am vorletzten Tag der Haltbarkeit verabreicht. Nur 5,3% (n=88) wurden innerhalb von 48 Stunden nach der Herstellung transfundiert (Abb. 23).

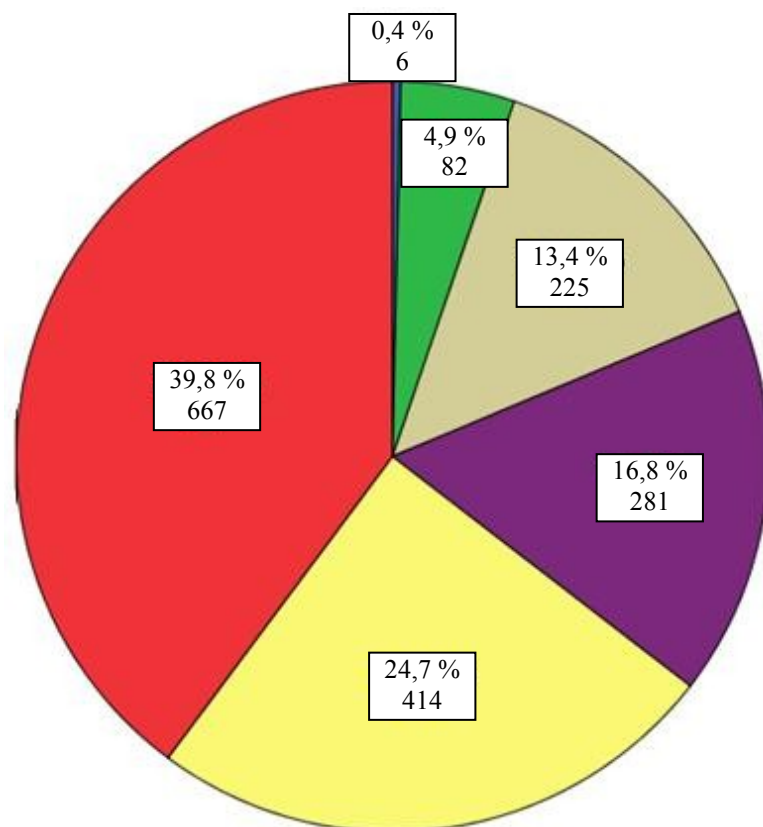


Abb. 23: Alter der Rh(D)-inkompatibel ausgegebenen Präparate. blau=Ausgabe 0-24h nach Herstellung, grün=24-48h nach Herstellung, braun=48-72h nach Herstellung, violett=72-96h nach Herstellung, gelb=96-120h nach Herstellung, rot=120-144h nach Herstellung

4.1.7.6. Alter der AB0/Rh(D)-kompatibel ausgegebenen Präparate

Das Alter der sowohl Rh(D)- als auch AB0-kompatibel ausgegebenen Präparate liegt im zweiten und dritten Drittel ihrer Haltbarkeit. Nur 10,9% (n=778) der Präparate wurden innerhalb von 48 Stunden nach ihrer Produktion verabreicht. Immerhin 18,4% (n=1304) wurden am letzten Tag der Haltbarkeit angewendet (Abb. 24).

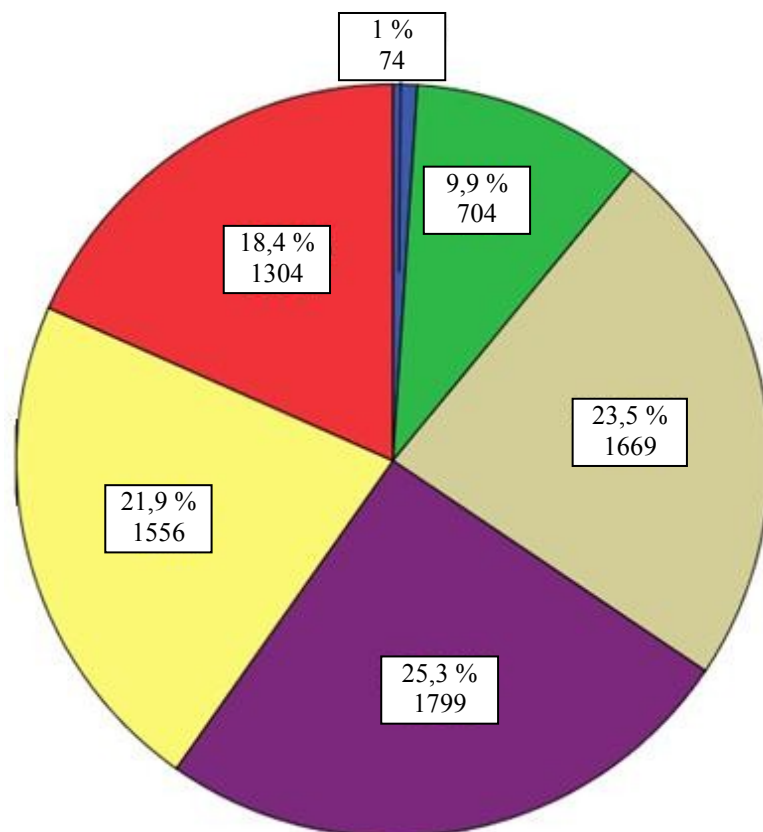


Abb. 24: Alter der AB0/Rh(D)-kompatibel ausgegebenen Präparate. blau=Ausgabe 0-24h nach Herstellung, grün=24-48h nach Herstellung, braun=48-72h nach Herstellung, violett=72-96h nach Herstellung, gelb=96-120h nach Herstellung, rot=120-144h nach Herstellung

4.1.7.7. Alter der AB0/Rh(D)-inkompatibel ausgegebenen Präparate

TKs, die weder Rh(D)- noch AB0-gleich übertragen wurden, zeigen einen Schwerpunkt ihrer Anwendung an den letzten beiden Tagen der Haltbarkeit. Ein Drittel wird am letzten Tag angewendet (Abb. 25).

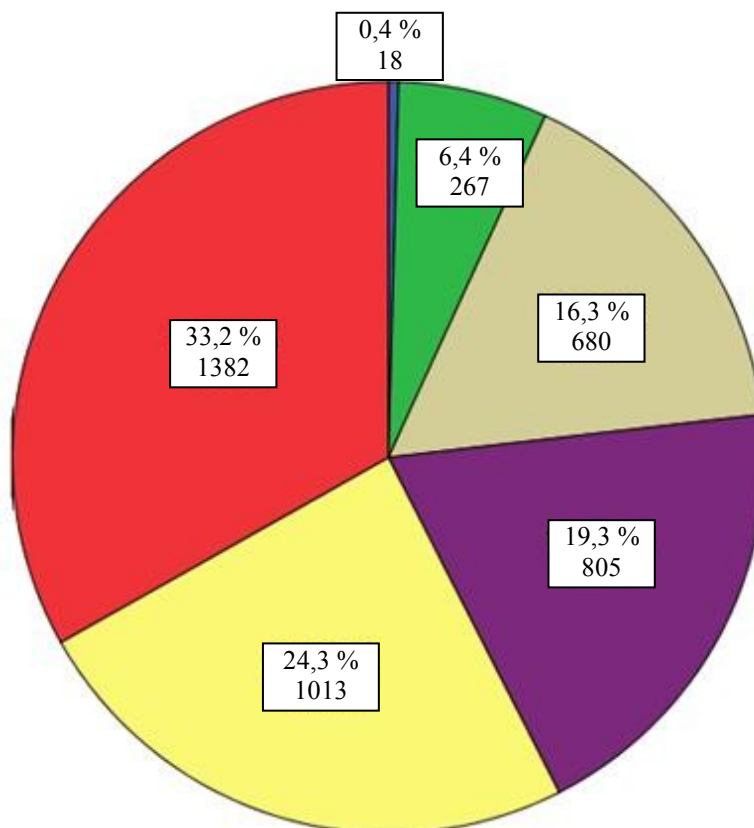


Abb. 25: Alter der AB0/Rh(D)-inkompatibel ausgegebenen Präparate. blau=Ausgabe 0-24h nach Herstellung, grün=24-48h nach Herstellung, braun=48-72h nach Herstellung, violett=72-96h nach Herstellung, gelb=96-120h nach Herstellung, rot=120-144h nach Herstellung

4.2. Prospektiver Teil

4.2.1. Patientencharakteristika

In die Studie wurden neun Patienten aufgenommen. Bei ihnen wurden einmalig der Transfusionserfolg und die Antikörpertiter bestimmt. Eine Übersicht über die Charakteristika geben Tab. 20 und Tab. 21 (Seite 73).

	Hauptdiagnosen	Nebendiagnosen
Patient 1	Akute Graft-Versus-Host-Reaktion bei Z.n. Nierentransplantation, T-ALL	Staphylokokkensepsis, Aplasie, Anämie, Thrombopenie, Ileus, Hypertonie, Aszites, Pleuraergüsse, akute Parotitis, Mukositis, akutes Nierenversagen
Patient 2	Follikuläres Keimzentrumslymphom	Anämie, Thrombopenie, Aplasie, Hypertonie, Mukositis, akute Zystitis
Patient 3	Akute myeloische Leukämie, Infekt in Aplasie, akute Graft-Versus-Host-Reaktion	Pleuraergüsse, akute Parotitis, , akutes Nierenversagen
Patient 4	Sekundäre akute myeloische Leukämie aus einem myelodysplastischen Syndrom	Anämie, Thrombopenie, Aplasie, Staphylokokkensepsis, Mukositis
Patient 5	Akute lymphatische Leukämie	Anämie, Thrombopenie, Aplasie, Hypertonie, HSV-Infektion mit ZNS-Befall, Enterokokken (VRE)- und Staphylokokkensepsis, Lungencandidose, Norovirus, Amaurosis, Mukositis, chron. Hepatitis C-Infektion
Patient 6	Plasmozytom	Anämie, Thrombopenie, Aplasie, Niereninsuffizienz IV°
Patient 7	Akute myeloische Leukämie	Anämie, Thrombopenie, Aplasie, Zystitis, Candidainfektion Rachen
Patient 8	Myelodysplastisches Syndrom, neuroendokrines Pankreaskarzinom, Infekt in Aplasie	Anämie, Thrombopenie, Aplasie, Niereninsuffizienz II°, Intertrigo, Mukositis
Patient 9	Mantelzellymphom	Anämie, Thrombopenie, Aplasie, Sepsis (E. cloacae, Staphylokokken), Hypertonie, Niereninsuffizienz II°, Candidose der Lunge, Pneumonie, Schüttelfrost nach EK-Gabe, Mukositis

Tab. 20: Haupt- und Nebendiagnosen der Patienten im Krankheitsverlauf

	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4	Patient 5	Patient 6	Patient 7	Patient 8	Patient 9
Geschlecht	Männlich	Weiblich	Männlich	Weiblich	Weiblich	Männlich	Männlich	Männlich	Männlich
Körpergröße/-gewicht	180 cm / 79 kg	151 cm / 82 kg	180 cm / 82 kg	160 cm / 69 kg	160 cm / 52 kg	183 cm / 87,5 kg	171 cm / 68,5kg	180 cm / 90 kg	178 cm / 79 kg
Vortransfusionen	Ja, TK und EK	Ja, TK und EK	Ja, TK und EK	Ja, TK und EK	Ja, TK und EK	Ja, TK und EK	Ja, nur TK	Ja, TK und EK	Ja, TK und EK
Schwangerschaft	Entfällt	Fraglich	Entfällt	Nein	Ja	Entfällt	Entfällt	Entfällt	Entfällt
Blutgruppe Patient	A Rh(D) +	A Rh(D) +	A Rh(D) +	AB Rh(D) +	A Rh(D) +	A Rh(D) +	0 Rh(D) -	A R(D) +	AB Rh(D) +
Blutgruppe TK	0 Rh(D) +	0 Rh(D) +	0 Rh(D) +	B Rh(D) +	0 Rh(D) +	0 Rh(D) +	A Rh(D) -	0 Rh(D) +	B Rh(D) +
Inkompatibilität	Minor	Minor	Minor	Minor	Minor	Minor	Major	Minor	Major
Thrombozyten vor Transfusion [nl ⁻¹]	13	55	10	15	14	35	10	27	13
Thrombozyten ca. 20 h nach Transfusion [nl ⁻¹]	23	45	26	37	10	44	28.	25	26
Alter TK in Tagen	3	4	4	2	4	3	3	4	3
CCI-Wert nach Transfusion	14,4	-12,7	24,3	25,0	-3,4	14,8	21,7	-3,3	18,8
Refraktärzustand	Nein	Ja	Nein	Nein	Ja	Nein	Nein	Ja	Nein
HLA-AK Serologisch	Schwach reaktiv, vermutlich unspezifisch	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ
HLA-AK Luminex	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ
HPA-AK MAIPA	negativ	negativ	negativ	negativ	Anti - HPA-5b	negativ	negativ	negativ	negativ
HPA-AK ELISA	negativ	negativ	negativ	negativ	Anti - HPA-5b	negativ	negativ	negativ	negativ
HLA-Antikörper Patient	Keine	Keine	Keine	Keine	Keine	Keine	Keine	Keine	Keine
HPA-Antikörper Patient	Keine	Keine	Keine	Keine	Anti - HPA-5b	Keine	Keine	Keine	Keine

Tab. 21: Patientencharakteristika

4.2.2. CCI-Werte nach Transfusion

Bei drei der neun Patienten zeigte sich nach TK-Transfusion kein adäquater Anstieg der Thrombozyten, sodass hier laut Definition eine Transfusionsrefraktärität vorlag (Tab. 21, Seite 73).

4.2.3. Ergebnisse des HLA- und HPA-Antikörperscreenings

In der Antikörpertestung konnte lediglich bei Patient 5 eine Immunisierung gegen HPA-Merkmale nachgewiesen werden. Keiner der Patienten zeigte eine Immunisierung gegen die untersuchten HLA-Merkmale. Bei Patient 1 zeigte sich im LCT eine schwache Reaktion, die im Luminex nicht bestätigt werden konnte (Tab. 21, Seite 73).

5. Diskussion

5.1. Retrospektiver Teil

5.1.1. Gewinnung der Daten

Die gewonnenen Daten gewährleisten eine zuverlässige Bestimmung der AB0- und Rh(D)-Kompatibilität der Transfusionen sowie die Bestimmung des Alters der TK-Präparate zum Ausgabezeitpunkt. Über die Patienten-, die Ausgabe- und die Präparatenummer ist jedoch eine Zuordnung der Daten zu einem Patient möglich. Eine anonyme Erfassung der Daten hätte allerdings keine Unterscheidung zwischen im Untersuchungszeitraum einfach- und mehrfach transfundierten Patienten erlaubt und wäre somit der Fragestellung, wie Patienten bei Ersttransfusion versorgt werden, nicht gerecht geworden.

Der gewählte retrospektive Untersuchungszeitraum umfasst eine Zeit von 768 Tagen und 11270 TK-Transfusionen im gesamten UKS, sodass die retrospektiv gewonnenen Daten auf das Kollektiv der im UKS transfundierten Patienten bezogen werden können.

Im Zuge einer ähnlichen Untersuchung wurden an der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH) in den Jahren 2006 und 2007 insgesamt 23145 Transfusionen ausgewertet.

5.1.2. Verteilung der Blutgruppen auf das untersuchte Patientenkollektiv

Die Verteilung der AB0- und Rh(D)-Merkmale auf das untersuchte Patientenkollektiv weicht geringfügig, aber signifikant von der Verteilung der Blutgruppen in der deutschen Normalbevölkerung ab. Regionale, auf das Einzugsgebiet des UKS beschränkte Zahlen hierzu liegen nicht vor, somit ist eine differenzierte Aussage auf das Einzugsgebiet des UKS nicht möglich.

5.1.3. Verteilung der Blutgruppen auf die untersuchten Präparate

Die Verteilung der AB0- und Rh(D)-Merkmale auf die im Untersuchungszeitraum verwendeten Präparate weicht ausnahmslos signifikant vom Vorkommen der Merkmale im untersuchten Patientenkollektiv ab. Signifikant häufiger vorhanden sind die Präparateblutgruppen A und AB, signifikant seltener die Präparateblutgruppen B und 0. Somit sind zumindest für Patienten der Blutgruppen A und AB über den Untersuchungszeitraum genügend TKs vorhanden, während Patienten der Blutgruppen B und 0 häufig Blutgruppendifferent versorgt werden müssen. Allerdings sagt die vorliegende Stichprobe nichts über den tagesaktuellen Bestand an TKs aus, sodass Engpässe auch in der Versorgung von Patienten mit den Blutgruppen A und AB nicht ausgeschlossen sind.

5.1.4. Versorgung der Patienten mit TKs

Im untersuchten Zeitraum wurden 214 Patienten doppelt AB0-inkompatibel transfundiert, was pro Jahr etwa 99 Fällen oder 1,9% der Gesamtversorgung entspricht. Dazu kommen 1353 minor-inkompatibel transfundierte Patienten (628 pro Jahr, 12%), insgesamt erhielten also 1567 Patienten AB0-inkompatibles Plasma aufgrund ihrer TK-Transfusion (727 pro Jahr, 13,9%). Hinzu kommen 1492 major-inkompatible Patienten im Untersuchungszeitraum entsprechend 693 pro Jahr (13,2%), sodass sich die Anzahl der AB0-inkompatibel transfundierten Patienten auf 3059 im Untersuchungszeitraum und 1420 pro Jahr beläuft. Das entspricht 27,1% aller erfassten TK-Transfusionen und deckt sich mit den Ergebnissen einer ähnlichen Studie von Heuft et al, bei der an der MHH ebenfalls 27,1% der TKs AB0-inkompatibel verabreicht wurden (Heuft, 2008). Die Quote der doppelt-inkompatiblen Transfusionen betrug an der MHH 2,6% (Konfidenzintervall [2,4% ; 2,8%]). Im Vergleich dazu zeigt sich am UKS eine signifikant bessere Quote von nur 1,9%. Dahingegen wird am UKS mit 13,2% signifikant häufiger major-inkompatibel transfundiert, die Rate an der MHH lag bei nur 12,2% (Konfidenzintervall [11,8% ; 12,6%]). Die Anzahl der minor-inkompatiblen Transfusionen liegt in der hannoverschen Studie bei 12,3% (Konfidenzintervall [11,9% ; 12,7%]), was nicht signifikant vom Ergebnis des UKS (12%) abweicht. Weitere Vergleichsdaten liegen aus Deutschland nicht vor, sodass eine weitergehende Bewertung nicht möglich ist. Festzuhalten bleibt, dass die doppelt-inkompatible Transfusion in diesem Vergleich am UKS seltener und die als problematisch angesehene minor-inkompatible Transfusion zumindest nicht häufiger vorkommt, als an der MHH. Zu beachten ist bei beiden Studien, dass aus dem Patientenkollektiv nicht das Alter der Patienten ablesbar ist. Es lässt sich davon ausgehen, dass Kinder am UKS in den meisten Fällen kompatibel transfundiert wurden und in der Gruppe der inkompatibel transfundierten Patienten unterrepräsentiert sind. Somit vergrößert sich der Anteil der inkompatibel transfundierten erwachsenen Patienten gegenüber dem Anteil der kompatibel transfundierten erwachsenen Patienten. Da aus dem bereitgestellten Datensatz das Alter der Patienten nicht ablesbar war, konnte an dieser Stelle keine weitere Differenzierung erfolgen.

Betrachtet man nun die Versorgung der Patienten abhängig von ihrer AB0-Blutgruppe, fällt ins Auge, dass Patienten mit den häufig vorkommenden AB0-Merkmalen 0 und A zwar mit 76% (AB0-Blutgruppe 0) und 80% (AB0-Blutgruppe A) relativ gesehen signifikant häufiger kompatibel transfundiert werden, allerdings sticht die hohe absolute Zahl an inkompatiblen Transfusionen hervor. Innerhalb dieser Gruppe wurden Patienten der Blutgruppe A signifikant häufiger kompatibel transfundiert, als Patienten der Blutgruppe 0. Patienten der AB0-Blutgruppe A erhielten dabei besonders häufig minor-inkompatible Transfusionen (n=723 bei insgesamt 967 AB0-inkompatiblen Transfusionen), Patienten der Blutgruppe 0 erhielten mit 1195 inkompatiblen Transfusionen besonders häufig major-inkompatible TKs. Zumindest für Blutgruppe A standen im Untersuchungszeitraum mehr kompatible TKs zur Verfügung, als für Patienten der entsprechenden Blutgruppe benötigt wurden. Somit scheint hier ein Problem der Distribution und der Verfügbarkeit zum richtigen

Zeitpunkt vorzuliegen. Zu beachten ist hierbei, dass zum Zeitpunkt der Datenerhebung die erlaubte Lagerzeit für TKs noch bei 5 Tagen lag und inzwischen auf 4 Tage reduziert wurde (BÄK, 2010). Eine erste Kontrolle der Machbarkeit an der MHH zeigte, dass mit geringen Modifikationen der Eigenproduktion von TKs mit Steigerung der Produktion montags und freitags mit Drosselung in der Wochenmitte keine merkbaren Veränderungen in der Versorgung festzustellen waren (Heuft, 2008). Eine Überprüfung, ob auch am UKS eine Kompensation dieser Regelung stattgefunden hat, scheint erstrebenswert.

Bei den selteneren AB0-Blutgruppen B und AB zeigt sich ein anderes Bild: Hier fällt der hohe relative Anteil an AB0-inkompatiblen Transfusionen auf, die signifikant häufiger stattfinden, als bei den beiden häufigen AB0-Blutgruppen. So werden bei Patienten mit AB0-Blutgruppe B nur 39,6% (n=427) der Transfusionen kompatibel durchgeführt, fast ebenso häufig erhielten diese Patienten minor-inkompatible TKs (35,9%, n=398), zusammen mit den doppelt-inkompatiblen Transfusionen (12,1%, n=131) entspricht das 48% Transfusionen mit minor-inkompatibler Komponente (n=429). Ähnlich ist das Bild bei AB0-Blutgruppe AB, bei der 39,6% (n=158) kompatibel und 60,4% (n=241) minor-inkompatibel transfundiert wurden, was sich von der Versorgung von Patienten der AB0-Blutgruppe B nicht signifikant unterscheidet. Allerdings waren im Untersuchungszeitraum signifikant mehr TKs der Blutgruppe AB vorhanden, als Empfänger dieser Blutgruppe, bei Blutgruppe B zeigt sich ein entgegengesetztes Bild mit signifikant mehr Empfängern, als vorhandenen TKs. In der Gesamtübersicht zeigt sich also, dass ca. 60% (n=897) der Patienten mit einer der beiden seltenen AB0-Blutgruppen inkompatibel transfundiert werden, davon alleine 630 minor-inkompatibel, entsprechend 290 pro Jahr. Da aus der Untersuchung hervorgeht, dass die Menge der pro AB0-Blutgruppe gewonnenen TKs über den Untersuchungszeitraum gesehen zumindest ungefähr der Menge der pro Blutgruppe benötigten TKs abdeckt, stellt sich hier die Frage der Verfügbarkeit eines TK zum richtigen Zeitpunkt und der Möglichkeit einer Optimierung, die im Sinne einer Versorgung „on demand“ wohl nur einer Blutbank mit sehr großem Spender- und Empfängeraufkommen möglich ist, da die Zahlen für eine Blutbank mit mehr als dem doppelten TK-Transfusionsaufkommen wie der der MHH wie bereits erwähnt ähnlich aussehen. Schlussfolgern lässt sich, dass Patienten mit AB0-Blutgruppe A signifikant häufiger kompatibel versorgt werden, als Patienten der Blutgruppe 0 und diese wiederum signifikant häufiger als Patienten der Blutgruppe B und AB, zwischen denen es keine signifikanten Unterschiede gibt. Diese Unterschiede lassen sich wegen des Spenderaufkommens und der beschränkten Haltbarkeit der TKs wohl nur bedingt verbessern und es wäre für die Zukunft interessant, retrospektiv den tagesaktuellen Bestand an TKs mit deren Ausgabe zu vergleichen, um Handlungsweisen zu optimieren, die die kompatible Versorgung verbessern. Hier gilt international aktuell der Grundsatz, dass die AB0- und Rh(D)-kompatible TK-Transfusion, wenn verfügbar, das Mittel der Wahl ist (BÄK, 2010). Das British Committee for Standards in Haematology ergänzt dieses durch den Vorschlag, TKs der Blutgruppe 0 nur dann inkompatibel zu verabreichen, wenn sie negativ auf hochtitrige AB-Blutgruppenantikörper getestet wurden (British Committee for Standards in

Haematology, 2003). Heal et al zeigten an Präparaten, die nach alten Standards hergestellt wurden, dass Empfängerplasma der Blutgruppe 0 in der Kreuzprobe bei 52% der getesteten Thrombozyten der Blutgruppe A und 17% der Thrombozyten mit Blutgruppe B inkompatibel waren (Heal, Mullin et al., 1989). Eine neuere Untersuchung zeigt, dass auch nach Adjustierung der Störvariablen die Mortalität nach Gabe von AB0-kompatiblen aber nicht-AB0-identischem Plasma erhöht war und nach Gabe von fünf oder mehr solcher TKs stark anstieg (Relatives Risiko 1.15; 95% Konfidenzintervall [1,02 ; 1,29]). Das höchste Risiko tragen dabei Empfänger der Blutgruppe 0, insbesondere bei Gabe von TKs der Blutgruppe AB (Shanwell, Andersson et al., 2009).

Wünschenswert wäre, zwecks Qualitätssicherung eine bundesweite Statistik über inkompatible TK-Transfusionen zu führen, um den einzelnen Blutbanken die Möglichkeit zu geben, die Qualität ihrer Patientenversorgung einschätzen zu können. Für bereits HLA-immunisierte Patienten zeigen verschiedene Studien, dass eine Versorgung mit TKs, die sowohl AB0- als auch HLA-kompatibel sind, ein signifikant besseres Inkrement erzeugen, als TKs, die nur für eine dieser Merkmalsgruppen kompatibel sind (McVey und Cserti-Gazdewich, 2010). Darüber hinaus wäre es interessant, aus Studien wie der BEST-Studie (Lozano, Heddle et al., 2010), die mit Bezug auf die AB0-Kompatibilität das praktische Vorgehen bei der TK-Vergabe in verschiedenen Staaten untersucht hat, eine optimierte und einheitliche Handlungsanweisung zu entwickeln, um den Umgang mit AB0-inkompatiblen TKs sicherer zu machen.

Ein weiterer Ansatz sind sogenannte plättchenadditive Lösungen (PAS). Diese werden bereits seit den 1980er Jahren eingesetzt, um das Blutplasma in TKs teilweise zu ersetzen und zeigen weniger Nebenwirkungen (van der Meer, 2007), wobei erst neuere Präparate qualitativ mit TKs in Plasma vergleichbar sind (Kerkhoffs, Eikenboom et al., 2006; Kerkhoffs, van Putten et al., 2010). Mit diesen neuen PAS kann der Plasmaanteil auf unter 5% verringert werden (van der Meer, 2007). Eingesetzt werden PAS in Deutschland vor allem bei der Produktion von Pool-TK, weniger jedoch bei Apherese-TK (Schrezenmeier und Seifried, 2010).

5.1.5. Zuteilung der TKs

Die im Untersuchungszeitraum ausgegebenen TKs wurden zu 72,9% (n=8211) AB0-kompatibel transfundiert. 13,3% (n=1494) der TKs wurden AB0-major- und 12,0% (n=1353) AB0-minor-inkompatibel transfundiert. 1,9% (n=214) der TKs wurden doppelt-inkompatibel transfundiert. Auffällig ist, dass TKs mit den häufigen AB0-Blutgruppen A und 0 mit 75,7% (Blutgruppe A) beziehungsweise 77% (Blutgruppe 0) signifikant öfter AB0-kompatibel transfundiert werden, als die AB0-Blutgruppen B (59,1%, n=427) und AB (28,2%, n=158). Genauer betrachtet wurden TKs der Blutgruppe 0 signifikant häufiger kompatibel als TKs der Blutgruppe A transfundiert und diese wiederum signifikant häufiger als die Blutgruppen AB und B, zwischen denen kein signifikanter Unterschied in Hinsicht auf ihre kompatible Zuordnung besteht. Im Untersuchungszeitraum standen für Patienten der AB0-Blutgruppe A und AB signifikant mehr Präparate zur Verfügung, als an

Patienten dieser Blutgruppe transfundiert wurden, sodass hier wieder das Problem der Distribution der kompatiblen TKs zum Tragen kommt. Ist dieses Problem nicht lösbar, könnte zur Erkennung von TKs mit hochtitrigen AB0-Antikörpern erwogen werden, ob man ein Verfahren aus Großbritannien übernimmt, wo alle TKs, unabhängig von ihrer AB0-Blutgruppe, automatisch auf hochtitrige AB0-Antikörper untersucht werden. Als Grenze wird dort ein Titer von 1:100 angesehen. So werden ungefähr 10% der TKs als hochtitrig eingestuft und nur AB0-identisch transfundiert (Kaufman, 2009). Weiterhin sinnvoll wäre die Unterscheidung zwischen den AB0-Blutgruppen A₁ und A₂, da Thrombozyten der Blutgruppe A₂ kaum Antigen A exprimieren und damit wenig oder gar nicht mit A₁-spezifischen IgG-Antikörpern reagieren. Sie sind somit voll mit Empfängern der Blutgruppe 0 kompatibel (Cooling LL, Kelly K et al., 2005). Interessant wäre hier zu eruieren, ob für ein solches Vorgehen im UKS genügend Spender mit der Blutgruppe A₂ zur Verfügung stehen würden.

5.1.6. Beachtung des Rhesusfaktors

Im Zeitraum der retrospektiven Analyse bekamen Rh(D)-negative Patienten in 253 (12,5%) Fällen Rh(D)-positive Thrombozytenkonzentrate. Im gleichen Zeitraum wurden 3192 Rh(D)-negative Präparate ausgegeben, 1422 (44,5%) davon an Rh(D)-positive Empfänger. Eine vergleichbare Untersuchung an anderen Krankenhäusern bezüglich der Rh(D)-Kompatibilität bei Thrombozytentransfusionen liegt nicht vor, sodass ein Vergleich und somit eine Wertung der Versorgungsqualität nicht möglich ist. Auffallend ist aber, dass der Anteil Rh(D)-negativer TKs an allen TKs mit 39,5% wesentlich größer ist, als der Anteil Rh(D)-negativer Menschen in der deutschen Bevölkerung (17,29%). Auch zeigt eine Studie, dass die eingesetzten serologischen Testmethoden zur Rhesustypisierung ausreichend sind. So wurden in dieser Studie durch genetische Typisierung der Spender nur 0,26% mehr Rh(D)-positive Proben gefunden, als mit den serologischen Testverfahren (Krog, Clausen et al., 2011). Somit werden im UKS insgesamt deutlich mehr Rh(D)-negative TKs vorgehalten, als benötigt werden. Auch hier erscheint eine vertiefende Untersuchung der Auswirkungen angesichts der Zahl an inkompatibel transfundierten Patienten sinnvoll. In diesem Zusammenhang liegen etliche Studien vor, die die möglichen Folgen der Immunisierung Rh(D)-negativer Patienten nach Rh(D)-inkompatiblen TK-Transfusionen beschreiben. Eine Studie aus dem Jahr 2004 stellte bei 4% eines Kollektivs Rh(D)-negativer Stammzellempfänger eine Alloimmunisierung nach Gabe von Rh(D)-positiven TKs fest (Asfour, Narvios et al., 2004), zu einem ähnlichen Ergebnis kommt eine spanische Studie, die bei 3,8% der Rh(D)-negativen Empfänger Rh(D)-positiver TKs eine Immunisierung feststellt und schlussfolgert, dass bei Patienten, die keine Kinder mehr bekommen können, eine Rh(D)-inkompatible Transfusion sicher ist (Cid, Carbasse et al., 2011). Ältere Untersuchungen ergeben eine Immunisierungsrate Rh(D)-negativer Patienten von bis zu 19% nach Rh(D)-positiver TK-Transfusion (McLeod, Piehl et al., 1990) sowie 13,5% in einer aktuelleren Studie an nicht-hämatologischen Patienten (Atoyebi, Mundy et al., 2000), wobei bei hämato-onkologisch aufgenommenen Erwachsenen und Kindern weniger bis keine Immunisierungen

festgestellt wurden, was auf die laufenden Chemotherapien der Patienten zurückgeführt wird (Atoyebi, Mundy et al., 2000; Cid, Ortin et al., 2002; Molnar, Johnson et al., 2002). Problematisch ist eine Immunisierung gegen Rh(D) zum Beispiel für Frauen im gebärfähigen Alter oder jünger, da mit der Alloimmunisierung das Risiko einer Hämolyse beim Fetus und eines Abortes steigen. In diesem Zusammenhang beschreiben Studien, dass die Gabe von Anti-D-Immunglobulin innerhalb von 48 Stunden nach Rh(D)-positiver Transfusion eine Alloimmunisierung verhindern kann (Lee, Contreras et al., 1999), allerdings wurden bei solchen Studien auch Immunisierungen gegen andere Faktoren des Rhesussystems berücksichtigt (Chamouni, Josset et al., 2005). Abschließend kommen diese Studien zum Ergebnis, dass Rhesusfaktor (D) bei TK-Transfusionen beachtet werden sollte. Vor allem bei Frauen im oder vor dem gebärfähigen Alter sollten Rh(D)-inkompatible Transfusionen vermieden werden oder, falls eine solches Vorgehen unvermeidbar ist, sollte den „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten“ der Bundesärztekammer (BÄK, 2010) folgend innerhalb von 72 Stunden nach Transfusion eine Prophylaxe mit 100 IE Anti-D-Immunglobulin s.c. oder - bevorzugt - i.v. durchgeführt werden (Heim, Bock et al., 1992; Zeiler, Wittmann et al., 1994; Ewing, Rumsey et al., 1998; Meyer, Kiesewetter et al., 2004).

5.1.7. Ausgabe der TKs bei einmaliger Transfusion

Patienten, die im UKS lediglich ein TK erhielten, bekamen im Untersuchungszeitraum mit 77,3% signifikant häufiger eine AB0-kompatible TK-Transfusion, als das Gesamtkollektiv mit 72,9% beziehungsweise das Kollektiv der mehrfach transfundierten Patienten mit 72,6%. Ins Auge fällt wiederum die bessere Stellung von Patienten der häufigen AB0-Blutgruppen. Hier wurden Patienten der Blutgruppe 0 in 82,7% (n=243) kompatibel und in 27,3% (n=48) der Fälle major-inkompatibel transfundiert. Patienten der Blutgruppe A erhielten zu 82,4% (n=253) eine AB0-gleiche Thrombozytentransfusion, zu 13% (n=40) minor-inkompatibel Blutgruppe 0, zu 3,6% (n=11) major-inkompatibel Blutgruppe AB und zu 1% (n=3) doppelt-inkompatibel Blutgruppe B. Im Gegensatz dazu wurde bei einmaliger Transfusion bei Patienten mit Blutgruppe B in 46,8% (n=36) ein kompatibles TK verwendet, desweiteren in 27,3% der Fälle (n=21) ein minor-inkompatibles TK der Blutgruppe 0, in 18,2% (n=14) major-inkompatibel Blutgruppe AB und in 7,8% (n=6) der Fälle doppelt-inkompatibel Blutgruppe A. Patienten der Blutgruppe AB konnten bei 52,5% (n=21) der TK-Transfusionen ein AB0-identisches Präparat erhalten, bei 47,5% wurde ein minor-inkompatibles TK verwendet. Erfasst wurden in der Analyse ausschließlich Patienten des gesamten untersuchten Kollektivs, die im Untersuchungszeitraum einmalig als Empfänger eines TK im ESB vermerkt sind. Darunter fällt auch ein Anteil, der bereits vor Beginn des Zeitraums bzw. noch danach TKs erhalten hat. Da der Untersuchungszeitraum mit 786 Tagen ausreichend lang gewählt ist, scheint der daraus resultierende Fehler jedoch vernachlässigbar, zumal wie erwartet abgebildet wird, dass Patienten, die erst- bzw. einmalig transfundiert werden im UKS bevorzugt ein AB0-kompatibles TK erhalten und somit einem geringeren Immunisierungsrisiko ausgesetzt sind. Dieses Risiko ist alleine schon durch

Mehrfachtransfusion kompatibler TKs erhöht (Godeau, Fromont et al., 1992), was die Bevorzugung einfach transfundierter Patienten rechtfertigt. Eine Fortführung oder gar Verbesserung dieser Praxis ist wünschenswert.

5.1.8. Transfusionszwischenfälle und AB0-inkompatible TK-Transfusion am UKS

Die Untersuchung des möglichen Zusammenhangs zwischen dokumentierten Transfusionsreaktionen und AB0-inkompatibler TK-Transfusion führte zu dem Ergebnis, dass im Kollektiv der Patienten mit Transfusionszwischenfall (n=57) bei 36,9% ein AB0-inkompatibles TK verabreicht wurde, was deutlich über dem Anteil inkompatibel transfundierter Patienten im Gesamtkollektiv (27,1%) liegt. Betrachtet man die Transfusionshistorie der betroffenen Patienten, haben 63,2% davon im Laufe ihrer Krankengeschichte bereits Kontakt zu inkompatiblen TKs gehabt. Nur bei 36,8% der Patienten mit Transfusionszwischenfall konnte in der Transfusionshistorie keine inkompatible TK-Transfusion nachgewiesen werden. Es ist aber davon auszugehen, dass auch einige dieser Patienten in anderen Kliniken bereits inkompatible TKs bekommen haben. Darüber hinaus spielt auch eine eventuell bereits stattgehabte EK-Transfusion eine Rolle für die Vorimmunisierung. Eine weitergehende Untersuchung des Zusammenhangs scheint hier angebracht. Klar feststellbar war bei der Aktendurchsicht die oft unvollständige Dokumentation der Zwischenfälle oder auch ein unklarer Zusammenhang zwischen Ereignis und Transfusion. Außerdem fällt auf, dass manche Stationen und Ärzte häufig in den Akten vertreten sind, andere jedoch gar nicht. Anzunehmen ist daher, dass die Dunkelziffer der Transfusionszwischenfälle höher ist und somit die präsentierten Zahlen nur ein ungefähres Bild der Lage widerspiegeln. Der Zusammenhang zwischen Transfusionszwischenfällen und AB0-inkompatibler Transfusion und HPA- bzw. HLA-Immunsierung ist in der Literatur vielfach belegt. So schildert eine Fallstudie einen Transfusionszwischenfall bei einer mehrfach vortransfunden und HLA- sowie HPA-immunisierten Patientin, die reproduzierbar nach Gabe HLA und/oder HPA-inkompatibler TKs Symptome wie Fieber, Schüttelfrost und Kopfschmerzen, Tachykardie und Dyspnoe im Sinne einer Anaphylaxie präsentierte, bei Gabe HLA- und HPA-kompatibler TKs allerdings keine Reaktion zeigte (Siren, Koponen et al., 1998). Weitere Studien beschreiben Hämolysen und Tachykardien nach AB0-inkompatibler TK-Transfusion. Eine amerikanische Studie an herzchirurgischen Patienten kommt zu dem Schluss, dass Patienten, die nicht der Blutgruppe 0 angehören und multiple AB0-inkompatible TK-Transfusionen in kurzer Zeit erhalten, ein erhöhtes Risiko einer intravaskulären Hämolyse tragen. Von den neun ähnlich gelagerten Fällen innerhalb der Studie endeten zudem 4 letal (McManigal und Sims, 1999). In einem anderen Fall erhielten zwei Tumorpatienten der Blutgruppe A Rh(D)+ jeweils TKs der Blutgruppe O Rh(D)+ des gleichen Spenders, woraufhin beide eine intravasale Hämolyse zeigten, an der einer der beiden verstarb (Valbonesi, De Luigi et al., 2000). Eine Fallpräsentation aus dem Jahr 2006 berichtet von einer Patientin der Blutgruppe A Rh(D)+, die nach einer Chemotherapie bei akuter myeloischer Leukämie mehrere Tage nacheinander Thrombozytapherese-TKs bekam. In drei Fällen erhielt sie TKs der

Blutgruppe 0 Rh(D)+, woraufhin sie eine Hämolyse mit letalem Ausgang entwickelte. Die verwendeten TKs hatten einen relativ niedrigen Anti-A/B-Antikörpertiter von unter 1:100 (Sadani, Urbaniak et al., 2006). Die Dokumentation der Transfusionszwischenfälle im Zusammenhang mit TKs am UKS zeigt einen - wahrscheinlich transfusionsunabhängigen - Exitus letalis bei einem multipel vortransfundierte Patienten, der am Tag der Transfusionsreaktion kompatible TKs erhalten hatte. Typische dokumentierte Symptome sind Fieber, Schüttelfrost, Urtikaria, Tachykardie, Übelkeit und Hypotonie. Diese Symptome gleichen denen in den oben genannten Studien. Ob sie aber mit der Transfusion zusammenhängen, oder ob nur eine zufällige zeitliche Koinzidenz besteht, kann nur eine prospektive Untersuchung unter Berücksichtigung der HLA- und HPA-Antikörper von Spender und Empfänger zeigen, auch wenn die transfundierenden Ärzte in den meisten untersuchten Fällen einen Zusammenhang zwischen Transfusion und Symptomen für wahrscheinlich hielten.

5.1.9. Alter der ausgegebenen Präparate

Auffallen ist, dass fast ein Viertel der ausgegebenen Präparate im Untersuchungszeitraum am letzten Tag ihrer Haltbarkeit ausgegeben wurden. Die unumstrittene Studienlage hierzu ist, dass mit zunehmender Lagerzeit das CCI sinkt und somit die Wirkung der Transfusion nachlässt (Heim, Passweg et al., 2008; Hyun, Lim et al., 2009; Inaba, Branco et al., 2011). Betrachtet man nur die AB0-inkompatibel ausgegebenen Präparate, wird der Anteil der kurz vor Ende der Haltbarkeit verabreichten TKs noch deutlich größer - mit der Konsequenz, dass - neben der Inkompatibilität - mit der langen Lagerzeit noch ein zweiter Faktor ins Spiel kommt, der den Transfusionserfolg gefährdet. Insgesamt zeigt sich, dass nur sehr wenige TKs innerhalb von 48h nach ihrer Herstellung angewendet werden - weder kompatibel (10,04%, n=1063) noch inkompatibel (7,81%, n=239). Die inkompatibel verabreichten Präparate waren im Durchschnitt 7,6 Stunden älter, als die kompatibel verabreichten.

5.2. Prospektiver Teil

5.2.1. Planung der Probengewinnung

Die Planung des Ablaufs der Probengewinnung gestaltete sich sehr schwierig, da neben den Anforderungen des Labors, an das die Proben gesandt wurden, auch die beteiligten Stationen mit ihrem Personal und die Blutbank des UKS mit in die Planung einbezogen werden mussten. Schwierig gestaltete sich hier vor allem die Vermittlung eines Verständnisses für die Relevanz des Problems und den richtigen Umgang mit den TKs, was die Kooperation teilweise schwierig machte und die Ergebnisse der Untersuchung verfälschen könnte. Darüber hinaus stellte sich das Problem, dass das ausgewählte Patientenkollektiv multipel vortransfundierte ist und somit keine einwandfreie Aussage über die Ursache einer vorliegenden Immunisierung getroffen werden kann. Nicht vortransfundierte Patienten erhalten am UKS hingegen selten AB0-inkompatible TKs und fallen somit als Zielgruppe für die Untersuchung aus.

Eine weitere Fehlerquelle liegt im hämatoonkologischen Patientenkollektiv, das sich zum Zeitpunkt der TK-Transfusionen meist in einer Phase der Immunsuppression befand und somit davon auszugehen ist, dass eine mögliche Immunisierung nicht regelhaft stattfand. Ähnliche Probleme zeigen sich bei ähnlich gearteten Studien, die ebenfalls meist an hämatoonkologischen Patienten durchgeführt wurden. Somit ist die Übertragbarkeit des Ergebnisses auf alle Empfänger von TKs unzulässig. Sollte eine ähnliche Studie zur Bestätigung dieses Ergebnisses initiiert werden, sollte darauf geachtet werden, die betroffenen Ärzte und Pfleger der teilnehmenden Stationen zu Beginn gründlich im Umgang mit TKs und der Studie zu schulen. Darüber hinaus sollte versucht werden, ein immunkompetentes Patientenkollektiv zu untersuchen.

Die Zeiten und die Art der Probengewinnung sind einerseits so gewählt, dass sie für das Stationsteam möglichst wenig zusätzliche Arbeit und für den Patienten möglichst wenig Zusatzbelastung bedeuten, andererseits aber auch labortechnische Standards gewahrt bleiben. Die Berechnung des CCI erfolgte aus dem Ergebnis des standardmäßig vor und nach Transfusion gefertigten Blutbildes und den Daten des Patientenfragebogens, sodass für das Stationspersonal kein zusätzlicher Arbeitsaufwand entstand und dem Patienten nicht zusätzlich Blut entnommen werden musste. Dieses Vorgehen ermöglichte eine Bestimmung des CCI circa 20 Stunden nach Transfusion. Während der CCI-Wert eine Stunde nach Transfusion von vielen klinischen Faktoren wie Splenomegalie und Fieber beeinflusst wird, ist der CCI-Wert 20 Stunden nach Transfusion vor allem von der HLA- bzw. HPA-Kompatibilität abhängig (McFarland, Anderson et al., 1989). Hierfür liegen Vergleichswerte zur Beurteilung vor. Auch andere Studien verwenden diesen Wert zur Beurteilung des Transfusionserfolges. Die Proben für das Antikörperscreening wurde aus der für die TK-Transfusion ohnehin liegenden Venenverweilkanüle entnommen, was nach Rücksprache mit dem verarbeitenden, auf HLA- und HPA-Antikörpersuche spezialisierten Labor, problemlos möglich ist. Alle benötigten Materialien und ein Informationsblatt lagen dem Testset (Abb. 2, Seite 35) bei. Die zur Vereinfachung der Probengewinnung eingesetzten Methoden sind somit als geeignet zur Beurteilung der Fragestellung zu betrachten.

5.2.2. Auswahl der Patienten

Der ursprüngliche Versuchsplan sah vor, im Rahmen der prospektiven Untersuchung Patienten, die noch nie eine TK-Transfusion erhalten hatten, auf die Entwicklung von HLA-/HPA-Antikörpern nach ABO-inkompatibler Transfusion zu untersuchen, ohne dabei das etablierte Procedere der Ausgabe von TKs zu beeinflussen. Damit sollte verhindert werden, dass den Patienten durch die Teilnahme an der Untersuchung ein Nachteil in ihrer Behandlung entsteht. Als Kooperationspartner wurde dafür die Innere Klinik 1 (Hämato-Onkologie) des UKS ausgewählt, da an diese Klinik die meisten TKs ausgegeben werden. Allerdings stellte sich im Verlauf der Untersuchung heraus, dass die Vorgabe, Patienten zu rekrutieren, die noch nie eine TK-Transfusion erhalten hatten, auf Grund der bevorzugten Ausgabe kompatibler Präparate an diese Patienten, nicht haltbar war. Stattdessen konnten nur

Patienten rekrutiert werden, die bereits mehrfach Blutpräparate, darunter auch AB0-inkompatible TK-Transfusionen, erhalten hatten. Somit sinkt die Aussagekraft der Untersuchungsergebnisse. Auch ist retrospektiv festzustellen, dass die untersuchten Patienten zum Zeitpunkt der Probeentnahme eine mangelnde Immunkompetenz hatten, was dazu führen kann, dass die Bildung oder Boosterung der gesuchten Antikörper gegebenenfalls ausbleibt. Somit sind die Ergebnisse nicht auf immunkompetente Patienten übertragbar. Das gleiche Problem findet sich in den meisten anderen Studien mit vergleichbarer Fragestellung. Selbst bei älteren Produktionsstandards findet sich nach Leukozytendepletion bei immunsupprimierten, onkologischen Patienten keine HLA-/HPA-Antikörperbildung mehr (Adamzik, Jin et al., 1995).

Für zukünftige Studien zu dieser Fragestellung ist, um die Aussagekraft der Ergebnisse zu stärken, ein Vorgehen von Nöten, das auch immunkompetente Patienten einschließt. Da diese aber selten TK-Transfusionen und noch seltener AB0-inkompatible TK-Transfusionen erhalten, ist auch die Untersuchung am Tiermodell als mögliche Alternative in Betracht zu ziehen. Hieraus ergibt sich aber wieder das Problem der fraglichen Verallgemeinerbarkeit.

5.2.3. Gewinnung der Proben und Patientendaten

Die Probengewinnung fand unter den Bedingungen des Votums der Ethikkommission der Ärztekammer des Saarlandes (Ethikkommission, 2008) zu der Studie statt. Dabei wurden auch die Anforderungen der Blutbank und des auswertenden Labors in Hinsicht auf Transport, Lagerung und Verarbeitung der Proben berücksichtigt. Die Zentrifugation und Auftrennung der Proben erst im Labor vermeidet ein häufiges Umfüllen und so Verunreinigung und Verwechslung der Proben, der Vorteil des gekühlten Transports im Gegensatz zum sofortigen Einfrieren liegt darin, dass die Proben im Labor erst weiterverarbeitet und dann eingefroren werden konnten. Somit wurde ein Auftauvorgang gespart. Das garantiert, dass auch niedrig titrige Antikörper nachweisbar waren. Die einfache Vorgehensweise, die nach Rücksprache mit dem Stationspersonal, der Blutbank und dem Labor entwickelt wurde, stellt gleichzeitig sicher, dass auf Ergebnisse der Proben keine entnahme- oder transportbedingten Störgrößen einwirken.

Die Belastung der Studienteilnehmer wurde möglichst gering gehalten, auch die Gewinnung der Patientendaten wurde auf das notwendige Minimum reduziert. Diese Daten erlauben die Berechnung des CCI und eine Wertung der Ergebnisse des CCI und der Antikörperbestimmung in Zusammenschau mit der Transfusionshistorie und der aktuellen Erkrankung des Patienten und sind somit ausreichend, um die Fragestellung der Studie gerecht zu werden.

Trotz der ausführlichen Planung war das erreichte Studienkollektiv deutlich geringer, als erwartet, da erstmalig transfundierten Patienten am UKS regelhaft kompatible TKs zugeordnet wurden. Somit stand dieses wegen fehlender Vorimmunisierung besonders geeignete Kollektiv für die Studie nicht zur Verfügung. Eine deutlich längere Rekrutierungszeit von mehreren Jahren wäre daher notwendig gewesen.

5.2.4. Wertung der Transfusionsrefraktärität

Der CCI-Wert eignet sich exzellent, um das morgendlich entnommene Routineblutbild als Quelle für den Thrombozytenwert nach Transfusion zu nutzen. Da sowohl der Transfusions- als auch der Entnahmezeitpunkt leicht schwanken, bilden die erhaltenen Werte lediglich näherungsweise den Transfusionserfolg ab, was der Ergebnisinterpretation in dieser Studie allerdings nicht abträglich war, da die erhaltenen Werte entweder deutlich über- oder deutlich unter dem Referenzwert lagen und eine Wertung des Transfusionserfolges somit eindeutig zu bewerkstelligen war. Allerdings ist zu beachten, dass auf den CCI-Wert des Patientenkollektivs multiple weitere Faktoren wie Fieber oder Splenomegalie einwirken, die ebenfalls Einfluss auf den Transfusionserfolg haben (Bishop JF, Matthews JP et al., 1991; Doughthy HA, Murphy MF et al., 1994). Somit ist eine Refraktärität nicht eindeutig auf die AB0-inkompatible Transfusion zurück zu führen. Hier - wie bereits in den vorigen Kapiteln - zeigt sich wiederum das Problem, dass für eine Untersuchung, die Probanden mit diesen Störfaktoren ausschließen würde, kein geeignetes Patientenkollektiv zur Verfügung steht.

Bei einem Drittel der Patienten zeigte sich ein negativer CCI-Wert, also eine Abnahme der Thrombozytenzahl trotz TK-Transfusion. Dies ist alleine durch die AB0-inkompatible Transfusion nicht zu erklären und somit zumindest teilweise auf andere Faktoren zurückzuführen. Die restlichen untersuchten Patienten lagen eindeutig über dem Grenzwert, sodass hier von einem Erfolg der TK-Transfusion auszugehen ist. Diese Interpretation der Ergebnisse lässt die Annahme zu, dass trotz der multiplen Vortransfusion der Patienten die AB0-inkompatible TK-Transfusion keinen Einfluss auf den Transfusionserfolg hat, wobei eine eindeutige Klärung des Sachverhaltes wegen der vielen bereits beschriebenen Einflussvariablen nicht erreicht werden konnte.

Ein weiterer Faktor, der Einfluss auf den CCI-Wert hat, ist die Lagerungszeit der TKs. Hier ließ sich allerdings kein Unterschied zwischen erfolgreichen und nicht erfolgreichen Transfusionen feststellen. Ein nicht miterfasster Störfaktor ist der Umgang mit den TKs außerhalb des Labors. Hier wurden vor allem bei der Lagerung auf Station wiederholt Fehler festgestellt, sodass nicht sicher auszuschließen ist, dass eine Refraktärität auch zumindest teilweise auf eine fehlerhafte Lagerung zurück zu führen ist.

5.2.5. HLA-/HPA-Antikörperscreening

Bei der Testung des Patientenkollektivs auf Antikörper gegen HLA- oder HPA-Merkmale fielen nur zwei Proben auf. Patient 1 hatte eine schwach positive Reaktion im Lymphozytentoxizittstest auf HLA-Antikörper, die vom Labor als unspezifische Reaktion gewertet wurde. Das bestätigte sich in den weiteren Tests, sodass bei diesem Patienten keine HLA-/HPA-Antikörper nachgewiesen wurden. Bei Patient 5 war sowohl der HPA-ELISA als auch der MAIPA-Test positiv auf Antikörper gegen HPA-5b. Hier lag somit sicher eine Immunisierung vor. Bei diesem Patienten ließ sich ebenso eine Transfusionsrefraktärität nachweisen. Diese kann allerdings auch auf die vorliegende Hepatitis C oder andere vorliegende Faktoren zurück zu führen sein (Sagir, Wettstein et al., 2002). Der betroffene

Patient hatte im Voraus bereits multiple AB0-inkompatible TK-Transfusionen erhalten, sodass eine dadurch ausgelöste Immunisierung wahrscheinlich - aber letztlich nicht zu beweisen - ist. Alles in allem lässt dieses Ergebnis aber die Annahme zu, dass bei diesem Studienkollektiv mit multipler Vortransfusion die AB0-inkompatible TK-Transfusion keinen entscheidenden Einfluss auf die HLA-/HPA-Antikörperbildung hatte. Bei hämato-onkologischen Patienten begründen Studien, die die Immunisierung gegen Rh(D) bei Rh(D)-negativen Probanden untersuchen, eine mangelnde Immunisierung meist mit der schlechten Immunlage des Patienten. Interessant wäre hier die Untersuchung eines größeren Kollektivs AB0-inkompatibel transfundierter Patienten, das auch Patienten mit normaler Immunlage einschließt, um valide Daten zu erhalten. Für Patienten mit Immunsuppression scheint eine AB0-inkompatible TK-Transfusion aber sicher zu sein.

Das MAIPA-Assay ist ein weit verbreitetes Verfahren zur Bestimmung von HPA Antikörpern. Eine häufig beschriebene Fehlerquelle ist ein falsch-negatives Ergebnis beim Vorliegen von Antikörpern gegen niederfrequente Antigene. Auch kann es vorkommen, dass die Antikörperbindungsstellen für die Testantikörper und eventuell im Patientenserum vorhandene Antikörper in so enger Nachbarschaft liegen, dass es zur kompetitiven Verdrängung der Antikörper kommt. Auch hier entsteht ein falsch negatives Ergebnis (Kaplan, Freedman et al., 2007). Allerdings wird diese Fehlerquelle durch den Einsatz von Antikörperpanels, die sich gegen dasselbe Glykoprotein mit verschiedenen Epitopen richten, verringert. Darüber wird berichtet, dass der MAIPA bei der Bestimmung von HPA-3a versagt. Dieses Antigen kann durch ein Festphasenimmunoassay detektiert werden (Barba, Pallares et al., 2010). Dieses Testverfahren wurde im Rahmen der Studie ebenfalls angewandt, um HPA-Antikörper zu bestimmen, versagt aber in einer älteren Studie auch bei der Bestimmung verschiedener Antikörper (Lucas und Rogers, 1999), was eine Wertung der Ergebnisse in der Zusammenschau beider Testverfahren erfordert.

Zur Bestimmung von HLA-Antikörpern kam der seit langem bewährte Lymphozytotoxizitätstest zum Einsatz. Er bietet neben einem einfachen und kostengünstigen Versuchsablauf auch einige Fehlerquellen. Er erfasst keine nicht-komplementaktivierenden Antikörper wie IgG2 und IgG4, was falsch-negative Ergebnisse zur Folge hat und ist stark abhängig von der Qualität der Zellen, was zu falsch-positiven Ergebnissen führen kann (Zachary, Klingman et al., 1995). Diese Fehlerquellen spielen beim parallel dazu durchgeführten Luminex keine Rolle. Das Luminex-Verfahren bietet zurzeit die höchste Sensitivität und Spezifität auch bei Bestimmung von klinisch relevanten Antikörpern, die im Lymphozytotoxizitätstest nicht oder nur schwer zu bestimmen sind (Giannoli, Nguyen et al., 2011).

Durch die Nutzung von jeweils zwei Testverfahren für HPA- und HLA-Antikörper wird sichergestellt, dass testspezifische Fehlerquellen keinen Einfluss auf das Ergebnis der Analyse haben und somit von validen Ergebnissen der Testung ausgegangen werden kann.

5.3. Bedeutung der Ergebnisse für das UKS

Wie in der Einleitung bereits erwähnt, zeigen verschiedene Studien, dass AB0-inkompatibel versorgte Patienten neben ihrem schlechteren klinischen Outcome auch eine längere Krankenhausverweildauer aufweisen und signifikant höhere Therapiekosten verursachen (Blumberg, Heal et al., 2001; Meehan, Matias et al., 2000; Rebull, Morelati et al., 2004) sowie einen höheren Bedarf an TK-Transfusionen haben (Alsuhaibani O., Mah R. et al., 2009).

Die Datenlage hatte im Jahr 2010 zur Folge, dass auch die Bundesärztekammer ihre „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“ aus dem Jahr 2005 anpasste. Aus dem ursprünglichen Text „Thrombozytenkonzentrate sind AB0-kompatibel, bevorzugt AB0-gleich in der Regel AB0-kompatibel zu übertragen. Das Merkmal D soll wegen der Möglichkeit einer Immunisierung berücksichtigt werden“ wurde der Passus „in der Regel AB0-kompatibel“ gestrichen. Weiterhin wird empfohlen „bei Alloimmunisierung gegen HLA- und/oder plättchenspezifische Antigene, verbunden mit einem unzureichenden Substitutionseffekt [...] Apherese-TKs von Einzelspendern, die nach ihrem Antigenmuster ausgewählt werden“ zu transfundieren. Diese Richtlinie gibt - betrachtet man vor allem die hier präsentierten retrospektiven Daten - auch aus medico-legalen Gründen Anlass zu einer Überprüfung der Transfusionspraxis am UKS. So hat das Universitätsklinikum Gießen/Marburg eine Dienstanweisung herausgegeben, in der gefordert wird: „Bei allen Patienten, die langfristig Thrombozytenpräparate benötigen, sollte frühzeitig eine HLA-Typisierung sowie eine vierwöchige Kontrolle auf thrombozytenreaktive Antikörper erfolgen. Sind solche Antikörper vorhanden, werden möglichst kompatible Präparate vom Institut bereitgestellt“ (Universitätsklinikum Gießen und Marburg, 2011). Das Einordnen von TKs von Spender der Blutgruppe 0 mit besonders hohen Anti-A Titern als „Risiko-TKs“ scheint ebenso sinnvoll, da in der Literatur Hämolysen häufig nach Gabe von TKs von Spendern mit hohen Anti-A Titern an Patienten der Blutgruppe A und AB beschrieben werden (Josephson, Castillejo et al., 2010). Eine einheitliche Regelung für die AB0-inkompatible Transfusion existiert aber weder in Europa noch in Amerika (Fung, Downes et al., 2007; Lozano, Heddle et al., 2010).

Weiterhin sollte die Entwicklung der bereits erwähnten Additivlösungen (PAS), die den Plasmagehalt von TKs senken, verfolgt und die TK-Produktion am UKS auch in Zukunft dem aktuellen wissenschaftlichen Stand angepasst werden.

Ein weiterer zu evaluierender Faktor ist die Lagerungszeit. Zu sehen war hier eine klare Tendenz, TKs kurz vor Ende ihrer Haltbarkeit auszugeben und damit eine schlechtere Wirksamkeit, als sie bei frischeren TKs zu erwarten gewesen wäre, in Kauf zu nehmen. Dieses Vorgehen ist unter anderem der Wirtschaftlichkeit der Blutbank geschuldet und gängige Praxis auch in vergleichbaren Instituten. Wie schon erwähnt sollte auch der korrekte Einsatz von TKs regelmäßig evaluiert werden. Hier zeigen Studien, dass der Einsatz von TKs durchaus verbesserungswürdig (Ang, Marinescu et al., 2008) und eine strenge Indikationsstellung sinnvoll ist (Mohanty, 2009). Prophylaktische TK-Gaben erbringen weder klinisch noch ökonomisch einen Vorteil (Slichter, Kaufman et al., 2010). Und auch die

Bundesärztekammer weist in ihren aktuellen Empfehlungen darauf hin, zur Verbesserung des Transfusionserfolges - und damit zur Verringerung des TK-Bedarfs des Patienten - den Transfusionserfolg in Form der Bestimmung des CCI-Wertes stärker zu nutzen und so unnötige Transfusionen zu vermeiden (BÄK, 2008).

Dass auch der korrekte Umgang mit den TKs von großer Bedeutung für den Transfusionserfolg ist, lässt sich in mehreren Studien erkennen. Ein korrekter Umgang mit TKs ist wichtig für den Transfusionserfolg und um auszuschließen, dass eine Refraktärität auf Grund falsch transportierter beziehungsweise gelagerter TKs eintritt und fälschlicher Weise als durch den Patienten verursacht eingestuft wird. Die Transfusion sollte möglichst schnell nach Eintreffen des TK eingeleitet werden, Zwischenlagerungen bei Temperaturen unter +20°C oder über +24°C sind zu vermeiden, da dies die Thrombozyten schädigen kann (Sandgren, Hansson et al., 2007). Dazu ist eine konsequente Schulung aller an der Ausgabe, dem Transport, der Lagerung und der Verabreichung von TKs beteiligter Personen wichtig. Dem Personal des UKS liegt zu diesem Zweck eine an die aktuellen Querschnittsleitlinien (BÄK, 2008) und Hämotherapierichtlinien (BÄK, 2010) angepasste Dienstanweisung (Universitätsklinikum des Saarlandes, 2010) vor, die den Umgang mit TKs, die Therapiekontrolle sowie den Umgang mit Refraktärzuständen regelt.

5.4. Bedeutung der Ergebnisse für den Patienten

Die vorliegende Studie lässt die Annahme zu, dass bei dem untersuchten Patientenkollektiv keine HLA-/HPA-Immunsierung durch die AB0-inkompatible Plättchentransfusion eingetreten ist. Dieser Effekt beruht vermutlich auf dem schlecht funktionierenden Immunsystems der untersuchten Patienten. Andere Publikationen kommen zumindest für definierte Patientenkollektive zu einem ähnlichen Ergebnis (Lin, Callum et al., 2002). Daneben finden sich aber auch Publikationen, die die Relevanz der AB0-, HLA- und HPA-inkompatiblen TK-Transfusion für den Transfusionserfolg unterstreichen (Jimenez, Patel et al., 2003), da sich aus einer TK-Gabe, die nicht AB0-identisch stattfindet, in allen dazu durchgeführten Studien Überlebensnachteile für die betroffenen Patienten ergeben. Die genauen Gründe hierfür sind nicht bekannt, wie Blumberg et al in einer Studie hervorheben, die zu dem Ergebnis kommt, dass herzchirurgische Patienten mit Immunsierung gegen HLA- oder HPA-Antigene einen signifikant längerer Krankenhausaufenthalt und eine erhöhte Mortalität haben (Blumberg, Heal et al., 2001). Für AB0-identisch mit TKs versorgte Patienten mit akuter Leukämie wurde - allerdings für veraltete TK-Zubereitungen - ebenfalls ein Überlebensvorteil nachgewiesen (Heal, Kenmotsu et al., 1994). Eine Studie aus dem Jahr 2010 zeigt bei 1030 untersuchten Transfusionen einen signifikant besseren CCI von im Schnitt 18,6 bei AB0-kompatibler versus 15,2 bei AB0-inkompatibler Transfusion (Pavenski, Warkentin et al., 2010).

Auch wenn am UKS im Zusammenhang mit AB0-inkompatiblen Transfusionen im Untersuchungszeitraum keine schwerwiegenden Transfusionszwischenfälle gemeldet wurden, so finden sich in der Literatur dennoch auch aktuelle Hinweise darauf, dass dieses Vorgehen auch ernste

Gefahren birgt. Die gefährlichste akute Nebenwirkungen der AB0-minor-inkompatiblen TK-Transfusion ist die akute Hämolyse, die letal enden kann (Lozano und Cid, 2003; Ozturk, Turken et al., 2003). In den USA wurden zwischen 1996 und 2006 insgesamt 6 Fälle von letalen Hämolysen nach AB0-minor-inkompatibler TK-Transfusion bekannt, eine höhere Dunkelziffer wird in der Studie vermutet (Fung, Downes et al., 2007). Auf der Sektionssitzung Hämapherese des DGTI im Jahr 2008 betonte Dr. Kroll, Institutsdirektor des DRK-Blutspendedienstes Dessau, ebenfalls die Möglichkeit letaler Komplikationen bei minor-inkompatibler TK-Transfusion (Heuft, 2008). Eine major-inkompatible Transfusion vermindert regelhaft den Transfusionserfolg (Lozano und Cid, 2003).

Liegt eine Immunisierung vor, sollte HPA-, HLA-A-, HLA-B- und auch HLA-C-kompatibel transfundiert werden (McVey und Cserti-Gazdewich, 2010; Pai, Lo et al., 2010), wie auch die Fallbeschreibung einer Leukämiepatientin mit reproduzierbarer anaphylaktischer Reaktion nach Gabe HPA- und HLA-inkompatibler TKs, nicht aber bei Transfusion HLA- und HPA-kompatibler TKs, zeigt (Siren, Koponen et al., 1998).

Mit Blick auf die vorgestellten Zahlen ist darüber hinaus davon auszugehen, dass im Untersuchungszeitraum möglicherweise eine zweistellige Zahl an Patienten eine Alloimmunisierung gegen Rh(D) entwickelt haben könnte. Problematisch ist das zum Beispiel für Frauen im oder vor dem gebärfähigen Alter, da mit der Alloimmunisierung das Risiko einer Hämolyse beim Fetus und eines Abortes steigen. In diesem Zusammenhang beschreiben Studien, dass die Gabe von Anti-D Immunglobulin innerhalb von 48 Stunden nach Rh(D)-positiver Transfusion eine Alloimmunisierung verhindern kann.

Um zweifelsfrei das Outcome AB0-inkompatibel transfundierter Patienten in Deutschland bewerten zu können, werden größer angelegte, randomisierte und kontrollierte Studien benötigt. Auch die Erstellung eines UKS-weiten oder gar eines bundesweiten Registers zur TK-Transfusion und deren Outcome scheint sinnvoll zur Risikobewertung.

Am UKS sollte die Dokumentation von Transfusionen und Transfusionszwischenfällen, wie sie in der bereits erwähnten Dienstanweisung (Universitätsklinikum des Saarlandes, 2010) geregelt ist, weiterhin flächendeckend und vollständig durchgeführt werden, um eine retrospektive Analyse und Bewertung des Transfusionsverhaltens zu ermöglichen.

Auch sollte untersucht werden, in wie fern die Politik der Ausgabe von TKs zum Ende ihrer Haltbarkeit Auswirkungen auf das Outcome der transfundierten Patienten hat.

Ein Leitartikel der Fachzeitschrift „Transfusion“ aus dem Jahr 2004 sieht für die Zukunft eine elegante Lösung in der Aufbewahrung der Thrombozyten in einer künstlichen Lösung nach dem Abtrennen aller weiteren Bestandteile, was zumindest das große Problem der minor-inkompatiblen TK-Transfusion lösen würde (Herman und King, 2004) und - wie bereits erwähnt - im Ansatz schon heute praktiziert wird.

Der beste Schutz vor eine Immunisierung gegen HLA- oder HPA-Antigene und die daraus resultierenden Konsequenzen, vor allem bezüglich der Prognose des Patienten, ist es jedoch nach wie

vor, TKs nur mit eindeutiger Indikationsstellung zu verabreichen und die Wirkung der Transfusion konsequent zu überprüfen, um eine Refraktärität des Patienten frühzeitig zu erkennen und die unnötige und wirkungslose Transfusion weiterer nicht HLA- und/oder HPA-kompatibler TKs zu vermeiden. Letztlich ist dies jedoch nur ein Baustein auf dem Weg zur erfolgreichen Transfusion, so ist auch das Ergebnis einer französischen Studie: „Finally, three critical factors for establishing a coherent platelet transfusion strategy are developed: the transfusion trigger for prophylactic platelet transfusion, the platelet dose, and the impact of ABO compatibility between the product and the recipient.” (Andreu, Vasse et al., 2009).

Anlage 1

Aufklärungsbogen und Einwilligungserklärung

Untersuchung zum Einfluss der nicht AB0-identischen Transfusion von Blutplättchen (Thrombozyten) auf die Bildung von Antikörpern

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient!

Blutplättchen (Thrombozyten) sind in unserem Körper ein wichtiger Bestandteil der Blutgerinnung.

Bildet der Körper nicht ausreichend Blutplättchen, so kann man diese über eine Transfusion zuführen, um eine ungestörte Blutgerinnung sicherzustellen. Die heute verwendeten Blutplättchen-Präparate enthalten nur eine sehr geringe Anzahl von Blutzellen, die eine Antikörperbildung gegen Zellmerkmale des Blutspenders auslösen könnten. Daher ist es aus Gründen der Verfügbarkeit von Präparaten gelegentlich erforderlich, solche Blutplättchen-Präparate zu verabreichen, die bezüglich der AB0-Blutgruppe von der des Empfängers abweichen.

Was wollen wir untersuchen und was bedeutet das für Sie?

Im Rahmen unserer Untersuchung soll festgestellt werden, ob die nicht AB0-Blutgruppen identische Transfusion der Blutplättchen-Präparate einen Einfluss auf die Wirksamkeit der Behandlung mit Blutplättchen hat. Für diese Untersuchung benötigen wir Blutproben von Patienten, die ein Blutplättchen-Präparat erhalten haben, welches mit der Blutgruppe des Patienten nicht völlig identisch war. Darin können wir dann bestimmen, ob das Immunsystem darauf reagiert hat.

Wir würden Sie also gerne um die Abgabe von Blutproben im Rahmen der routinemäßigen Nachuntersuchung zum Transfusionserfolg bitten. Dafür ist kein zusätzliches „Piksen“ erforderlich, Ihnen werden lediglich im Rahmen der routinemäßigen diagnostischen Blutentnahme auf Ihrer Station zusätzliche Röhrchen Blut entnommen. Die Teilnahme an der Studie wird Ihre Behandlung in keiner Weise beeinflussen. Der Unterschied zu einer Behandlung außerhalb der Studie besteht lediglich in den für die Studie zusätzlich abgenommenen Blutröhrchen.

Ihr Blut wird anschließend in einem speziellen Labor untersucht. **Im Falle eines für Ihre Behandlung ggf. relevanten Befundes (z.B. Nachweis eines Blutgruppen-Antikörpers) werden wir Ihren behandelnden Arzt über diesen Befund informieren.** Er kann dann bei Folgetransfusionen ggf. auch berücksichtigt werden.

Bitte beachten Sie:

Die **Abgabe der Blutproben ist freiwillig.** Falls Sie damit nicht einverstanden sein sollten, so entstehen Ihnen hierdurch **keinerlei Nachteile.**

Anlage 2

Einwilligungserklärung

Ich habe diese Patienteninformation und –einwilligung gelesen und in Ruhe durchdacht.

In einem persönlichen Gespräch hatte ich ausreichend Gelegenheit, Fragen zu stellen und habe keine weiteren Fragen. Alle Fragen sind vollständig und zu meiner Zufriedenheit beantwortet worden.

Mit der Entnahme der Blutproben und deren wissenschaftlicher Auswertung in nicht anonymisierter Form

bin ich einverstanden und stimme freiwillig zu.

Ich weiß, dass ich meine Zustimmung jederzeit, ohne Begründung und ohne Nachteile für mich, widerrufen kann.

bin ich nicht einverstanden.

PATIENTENAUFKLEBER

Für Rückfragen bin ich unter der folgenden Telefonnummer erreichbar (Angabe freiwillig):

- Ich habe bereits Thrombozytenpräparate erhalten
- Ich habe bereits andere Blutprodukte erhalten
- Ich war schon einmal schwanger

Anlage 3

Checkliste für die Blutbank zur Ausgabe nicht
AB0-identischer TKs an die Station M1-03

1. TK richten. Bei Ausgabe eines TK, dessen AB0-Blutgruppe **nicht** mit der des Empfängers übereinstimmt, bitte Schritte 2 und 3 durchführen
2. Dem TK das Studienset beilegen
3. Eintragen des Präparates in die Ausgabeliste, dabei bitte zusätzlich die Patientenblutgruppe in der Spalte „Sonstiges“ eintragen

Bei Rückfragen stehe ich Ihnen jederzeit gerne zur Verfügung:
cand. med. Jonathan Mathieu, Doktorand
Tel.: 0170-9029823
Email: s9jomath@stud.uni-saarland.de

Anlage 4

Wichtig: Bitte sorgfältig durchlesen!

Information für die Ärztin/den Arzt **zur Verabreichung von Thrombozyten-Konzentraten im Rahmen der Studie** **„Untersuchung zum Einfluss der AB0-major/minor-inkompatiblen Thrombozyten-** **Transfusion auf die HLA-/HPA-Immunisierungsrate von Patienten“**

Sehr geehrte Frau Kollegin, sehr geehrter Herr Kollege,

im Rahmen einer laufenden Studie des Instituts für Klinische Hämostaseologie und Transfusionsmedizin, Studienleitung Prof. Eichler, soll der Einfluss der Transfusion von AB0-Blutgruppen-inkompatiblen Thrombozyten-Konzentraten (TKs) auf die HLA-/HPA-Immunisierungsrate von Patienten prospektiv untersucht werden. Während der Laufzeit der Studie wird dabei die bisherige Praxis der Zuordnung von TKs zu Patienten durch die Blutbank nicht geändert.

Für die Patientenrekrutierung und die Durchführung der Studie benötigen wir aber Ihre freundliche Unterstützung!

Bitte führen Sie folgende Schritte aus:

1. Falls der Patient noch nicht aufgeklärt ist, klären Sie ihn bitte mit der beigefügten Einwilligungserklärung auf. Lassen Sie sich das Einverständnis bitte auf dem beiliegenden Formular per Unterschrift bestätigen. Dieser Schritt kann auch im Nachhinein vom Doktoranden, Herrn Mathieu, durchgeführt werden. Versenden Sie das Formular zusammen mit der Blutprobe per Rohrpost an Nr. 22575.
2. Versehen Sie die mit dem TK mitgelieferten Proberöhrchen mit je einem Patientenaufkleber. Nehmen Sie unmittelbar vor Beginn der Thrombozytentransfusion in das Proberöhrchen eine Blutprobe ab und versenden Sie die Blutprobe, ggf. zusammen mit der Einwilligungserklärung, per Rohrpost an Nr. 22575. Die Entnahme dieser Blutprobe ist durch eine bereits liegende Venenverweilkanüle möglich.

Den Handlungsablauf finden Sie auf der Rückseite dieses Schreibens.
Ich bedanke mich für Ihre Bemühungen.

Mit freundlichen Grüßen

Jonathan Mathieu
Cand. Med., Doktorand

Für Rückfragen stehe ich Ihnen jederzeit zur Verfügung:
Tel.: 0170-9029823
Email: s9jomath@stud.uni-saarland.de

Anlage 5

Checkliste

zur Verabreichung von Thrombozyten-Konzentraten im Rahmen der Studie „Untersuchung zum Einfluss der ABO-major/minor-inkompatiblen Thrombozyten-Transfusion auf die HLA-/HPA-Immunsierungsrate von Patienten“

1. Patient mit beiliegendem Formular aufklären, falls er noch nicht aufgeklärt ist (dieser Schritt kann auch im Nachhinein vom Doktoranden durchgeführt werden)
2. Versehen der beigefügten Röhrchen und ggf. der Einwilligungserklärung mit einem Patientenaufkleber
3. Entnahme einer Blutprobe mit den beiliegenden Proberöhrchen unbedingt vor der Transfusion (Entnahme ist durch eine bereits liegende Venenverweilkanüle möglich).
4. Versenden der Blutprobe und ggf. der Einwilligungserklärung im wiederverschließbaren Beutel per Rohrpost an Nr. 22575
5. Transfusion des Thrombozytenkonzentrates

Ich bedanke mich für Ihre Bemühungen.

Mit freundlichen Grüßen

Jonathan Mathieu

Cand. Med., Doktorand

Für Rückfragen stehe ich Ihnen jederzeit zur Verfügung:

Tel.: 0170-9029823

Email: s9jomath@stud.uni-saarland.de

6. Literaturverzeichnis

AABB (2004). Standards for Blood Banks and Transfusion Services. Bethesda/Maryland.

Adamzik, I. D., J. Jin, et al. (1995). [Prevention of HLA antibody formation in patients with hematologic diseases by using leukocyte depleted blood preparations]. *Infusionsther Transfusionsmed* 22: 9-13.

Alsuhaibani O., Mah R., et al. (2009). Platelets in the management of platelet transfusion refractoriness: review of an institutional approach and outcomes
AABB 2009 Meeting Abstract

Amos (1975). Nomenclature for factors of the HLA system. *Bull World Health Organ* 52: 261-265.

Andreu G and Dewailly J (1994). Prevention of HLA alloimmunization by using leucocyte-depleted components
Curr Stud Hemato 160: 29-40.

Andreu, G., J. Vasse, et al. (2009). [Platelet transfusion: products, indications, dose, threshold and efficacy]. *Transfus Clin Biol* 16: 118-133.

Ang, D. C., L. Marinescu, et al. (2008). Physician compliance with platelet usage criteria. *Arch Pathol Lab Med* 132: 1321-1324.

Arnold, D. M., N. M. Heddle, et al. (2006). In vivo recovery and survival of apheresis and whole blood-derived platelets: a paired comparison in healthy volunteers. *Transfusion* 46: 257-264.

Asfour, M., A. Narvios, et al. (2004). Transfusion of RhD-incompatible blood components in RhD-negative blood marrow transplant recipients. *MedGenMed* 6: 22.

Aster RH (1965). Effect of anticoagulant and ABO incompatibility on recovery of transfused human platelets. *Blood* 26: 732-743.

Atoyebi, W., N. Mundy, et al. (2000). Is it necessary to administer anti-D to prevent RhD immunization after the transfusion of RhD-positive platelet concentrates? *Br J Haematol* 111: 980-983.

Bekanntmachung der Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie) gemäß §§ 12 und 18 des Transfusionsgesetzes (TFG) (Änderungen und Ergänzungen 2010). Deutscher Ärzte-Verlag. 2010.

Querschnitts-Leitlinien (BÄK) zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten. Vorstand der Bundesärztekammer auf Empfehlung des Wissenschaftlichen Beirats. Deutscher Ärzte-Verlag. 2008.

Barba, P., P. Pallares, et al. (2010). Post-transfusion purpura caused by anti-HPA-3a antibodies that are only detectable using whole platelets in the platelet immunofluorescence test. *Transfus Med* 20: 200-202.

Baskett, T. F. (2002). James Blundell: the first transfusion of human blood. *Resuscitation* 52: 229-233.

Benjamin, R. J. and J. H. Antin (1999). ABO-incompatible bone marrow transplantation: the transfusion of incompatible plasma may exacerbate regimen-related toxicity. *Transfusion* 39: 1273-1274.

Benjamin, R. J., S. McGurk, et al. (1999). ABO incompatibility as an adverse risk factor for survival after allogeneic bone marrow transplantation. *Transfusion* 39: 179-187.

Bishop JF, Matthews JP, et al. (1991). Factors influencing 20-hour increments after platelet transfusion. *Transfusion* 31: 392-395.

Blumberg (1982). Acquisition of new HLA-A,B phenotypes by human platelets. *Blood* 60.

Blumberg, N., J. M. Heal, et al. (2001). Association of ABO-mismatched platelet transfusions with morbidity and mortality in cardiac surgery. *Transfusion* 41: 790-793.

Blumberg, N., D. Masel, et al. (1984). Removal of HLA-A,B antigens from platelets. *Blood* 63: 448-450.

- Blundell, J. (1818). Experiments on the Transfusion of Blood by the Syringe. *Med Chir Trans* 9: 56-92.
- Bolgiano, D. C., E. B. Larson, et al. (1989). A model to determine required pool size for HLA-typed community donor apheresis programs. *Transfusion* 29: 306-310.
- British Committee for Standards in Haematology, B. T. T. F. (2003). Guidelines for the use of platelet transfusions. *Br J Haematol* 122: 10-23.
- Brooks, E. G., B. R. MacPherson, et al. (2008). Validation of HLAMatchmaker algorithm in identifying acceptable HLA mismatches for thrombocytopenic patients refractory to platelet transfusions. *Transfusion* 48: 2159-2166.
- Bux, J., K. D. Jung, et al. (1992). [Granulocyte-specific and HLA antibodies in pregnancy: incidence and clinical value]. *Beitr Infusionsther* 30: 446-449.
- Campbell, K., K. Rishi, et al. (2007). A modified rapid monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigen assay for the detection of human platelet antigen (HPA) antibodies: a multicentre evaluation. *Vox Sang* 93: 289-297.
- Carr, R., J. L. Hutton, et al. (1990). Transfusion of ABO-mismatched platelets leads to early platelet refractoriness. *Br J Haematol* 75: 408-413.
- Carson JL, H. S., Carless P, Hebert P, Henry D (2002). Transfusion triggers: a systematic review of the literature. *Transfus Med Rev* 16: 187-199.
- Chamouni, P., V. Josset, et al. (2005). [Transfusions of rhesus-incompatible platelet concentrates in Rouen University Hospital: procedures and consequences]. *Transfus Clin Biol* 12: 306-312.
- Cid, J., G. Carbasse, et al. (2011). Platelet transfusions from D+ donors to D- patients: a 10-year follow-up study of 1014 patients. *Transfusion* 51: 1163-1169.
- Cid, J., X. Ortin, et al. (2002). Absence of anti-D alloimmunization in hematologic patients after D-incompatible platelet transfusions. *Transfusion* 42: 173-176.

Cohn, E. J. (1947). The separation of blood into fractions of therapeutic value. *Ann Intern Med* 26: 341-352.

Cooling LL, Kelly K, et al. (2005). Determinants of ABH expression on human blood platelets. *Blood* 105: 3356-3364.

Curtis BR, Edwards JT, et al. (2000). Blood group A and B antigens are strongly expressed on platelets of some individuals. *Blood* 96: 1574-1581.

Datema G, Stein S, et al. (2000). HLA-C expression on platelets: Studies with an HLA-Cw1-specific human monoclonal antibody. *Vox sang* 79: 108-111.

Dietrich G and Kretschmer V (1992). Qualitätskontrolle bei peri- und postoperativer autologer Transfusion. Aktueller Stand der Eigenbluttransfusion. Mempel W, Heim MU and S. G. München, Sympomed: 26-31.

Djerassi I, Farber S, et al. (1963). Transfusion of fresh platelet concentrates to patients with secondary thrombocytopenia. *N Engl J Med* 268: 221-226.

Doughthy HA, Murphy MF, et al. (1994). Relative importance of immune and non-immune causes of platelet refractoriness. *Vox Sang* 66: 200-205.

Duke, W. (1910). The relation of blood platelets to haemorrhagic disease: Description of a method for determining the bleeding time and coagulation time and report of three cases of haemorrhagic disease relieved by transfusion. *JAMA* 55: 1185-1192.

Dunstan RA and Simpson MB (1985). Heterogeneous distribution of antigens on human platelets demonstrated by fluorescence flow cytometry. *Br J Haematol* 61: 603-609.

Dunstan RA, Simpson MB, et al. (1985). The origin of ABH antigens on human platelets. *Blood* 65: 615-619.

Dunstan RA, Simpson MB, et al. (1984). Erythrocyte antigens on human platelets: Absence of Rhesus, Duffy, Kell, Kidd and Lutheran antigens. *Transfusion* 24: 243-246.

Duquesnoy, R. J. (2002). HLAMatchmaker: a molecularly based algorithm for histocompatibility determination. I. Description of the algorithm. *Hum Immunol* 63: 339-352.

Duquesnoy RJ, Anderson AJ, et al. (1979). ABO compatibility and platelet transfusion of alloimmunized thrombocytopenic patients. *Blood* 54: 595-599.

Eckstein, R. (2004). *Immunhämatologie und Transfusionsmedizin*. Urban & Fischer Jena

Ethikkommission (2008). Kenn-Nr. 198/08. Ärztekammer des Saarlandes.

Ewing, C. A., D. H. Rumsey, et al. (1998). Immunoprophylaxis using intravenous Rh immune globulin should be standard practice when selected D-negative patients are transfused with D-positive random donor platelets. *Immunohematology* 14: 133-137.

Fung, M. K., K. A. Downes, et al. (2007). Transfusion of platelets containing ABO-incompatible plasma: a survey of 3156 North American laboratories. *Arch Pathol Lab Med* 131: 909-916.

Giangrande, P. L. (2000). The history of blood transfusion. *Br J Haematol* 110: 758-767.

Giannoli, C., T. K. Nguyen, et al. (2011). [HLA and transfusion: new approaches with Luminex technology]. *Transfus Clin Biol* 18: 218-223.

Giltay JC, Brinkman HJM, et al. (1989). Human vascular endothelial cells express a membrane protein complex immunochemically indistinguishable from platelet VLA-2 (glycoprotein Ia-IIa) complex. *Blood* 73: 1235-1241.

Giltay JC, Brinkman HJM, et al. (1989). Expression of the alloantigen Zw(a) (or Pl(A1)) on human vascular smooth muscle cells and foreskin fibroblasts: a study on normal individuals and a patient with Glanzmann's thrombastenia. *Blood* 74: 965-970.

Giltay JC, Leeksa OC, et al. (1988). Alloantigenic composition of the endothelial vitronectin receptor. *Blood* 72.

Godeau B, Fromont E, et al. (1992). Platelet alloimmunization after multiple transfusions: A prospective study of 50 patients. *Br J Haematol* 81: 395-400.

- Greenwalt, T. J. (1997). A short history of transfusion medicine. *Transfusion* 37: 550-563.
- Gurevitch J and Nelken D (1954). ABO groups in blood platelets. *J Lab Clin Med* 44: 562-570.
- Heal, J. M., N. Blumberg, et al. (1987). An evaluation of crossmatching, HLA, and ABO matching for platelet transfusions to refractory patients. *Blood* 70: 23-30.
- Heal, J. M., N. Kenmotsu, et al. (1994). A possible survival advantage in adults with acute leukemia receiving ABO-identical platelet transfusions. *Am J Hematol* 45: 189-190.
- Heal, J. M., D. Masel, et al. (1993). Circulating immune complexes involving the ABO system after platelet transfusion. *Br J Haematol* 85: 566-572.
- Heal, J. M., A. Mullin, et al. (1989). The importance of ABH antigens in platelet crossmatching. *Transfusion* 29: 514-520.
- Heim, D., J. Passweg, et al. (2008). Patient and product factors affecting platelet transfusion results. *Transfusion* 48: 681-687.
- Heim, M. U., M. Bock, et al. (1992). Intravenous anti-D gammaglobulin for the prevention of rhesus isoimmunization caused by platelet transfusions in patients with malignant diseases. *Vox Sang* 62: 165-168.
- Henseler O, Heiden M, et al. (2011). Report on Notifications Pursuant to §21 German Transfusion Act for 2008 and 2009. *Transfus Med* 38: 199-216.
- Herman, J. H. and K. E. King (2004). Apheresis platelet transfusions: does ABO matter? *Transfusion* 44: 802-804.
- Hersh EM, Bodey GP, et al. (1965). Causes of death in acute leukemia: a ten-year study of 414 patients from 1954-1963. *JAMA* 193: 105-109.
- Heuft, H.-G. (2008). 4-Tage-Lagerung von Thrombozytapheresekonzentraten (A-TK). Sektionssitzung DGTI Köln, Medizinische Hochschule Hannover.

Heuft, H.-G. (2008). ABO Identität bei der Thrombozytentransfusion an der MHH. Sektionssitzung Hämapherese des DGTI, Köln.

Hogman, C. F., O. Berseus, et al. (1997). International forum: Europe. Buffy-coat-derived platelet concentrates: Swedish experience. *Transfus Sci* 18: 3-13.

Howard, J. E. and H. A. Perkins (1978). The natural history of alloimmunization to platelets. *Transfusion* 18: 496-503.

Hyun, J., Y. M. Lim, et al. (2009). [An evaluation of platelet transfusion response using HLA crossmatch-compatible donors in patients with platelet refractoriness]. *Korean J Lab Med* 29: 481-489.

Inaba, K., B. C. Branco, et al. (2011). Impact of the duration of platelet storage in critically ill trauma patients. *J Trauma* 71: 1766-1773; discussion 1773-1764.

Jimenez, T. M., S. B. Patel, et al. (2003). Factors that influence platelet recovery after transfusion: resolving donor quality from ABO compatibility. *Transfusion* 43: 328-334.

Josephson, C. D., M. I. Castillejo, et al. (2010). ABO-mismatched platelet transfusions: strategies to mitigate patient exposure to naturally occurring hemolytic antibodies. *Transfus Apher Sci* 42: 83-88.

Judson, G., A. Jones, et al. (1968). Closed continuous-flow centrifuge. *Nature* 217: 816-818.

Julmy F, Achermann F, et al. (2003). PLTs of blood group A1 donors express increased surface A antigen owing to apheresis and prolonged storage. *Transfusion* 43: 1378-1385.

Kankirawatana, S., S. T. Huang, et al. (2007). Refractory thrombocytopenia and positive platelet crossmatches without HLA or platelet-specific antibodies. *Am J Hematol* 82: 175-176.

Kaplan, C., J. Freedman, et al. (2007). Monoclonal platelet antigen capture assays (MAIPA) and reagents: a statement. *Vox Sang* 93: 298-299.

Kaufman, R. M. (2009). Platelet ABO matters. *Transfusion* 49: 5-7.

Kekomaki, R. (1998). Use of HLA- and HPA--matched platelets in alloimmunized patients. *Vox Sang* 74 Suppl 2: 359-363.

Kendrick DB (1964). Blood program in World War II. US Government Printing Office: 922.

Kerkhoffs, J. L., J. C. Eikenboom, et al. (2006). A multicenter randomized study of the efficacy of transfusions with platelets stored in platelet additive solution II versus plasma. *Blood* 108: 3210-3215.

Kerkhoffs, J. L., J. C. Eikenboom, et al. (2008). The clinical impact of platelet refractoriness: correlation with bleeding and survival. *Transfusion* 48: 1959-1965.

Kerkhoffs, J. L., W. L. van Putten, et al. (2010). Clinical effectiveness of leucoreduced, pooled donor platelet concentrates, stored in plasma or additive solution with and without pathogen reduction. *Br J Haematol* 150: 209-217.

Kiefel, V. (1992). The MAIPA assay and its applications in immunohaematology. *Transfus Med* 2: 181-188.

Kiefel V, König C, et al. (2001). Platelet alloantibodies in transfused patients. *Transfusion* 41: 766-770.

Kiefel, V., S. Santoso, et al. (1987). Monoclonal antibody--specific immobilization of platelet antigens (MAIPA): a new tool for the identification of platelet-reactive antibodies. *Blood* 70: 1722-1726.

Klein E, Djerassi I, et al. (1958). Maintenance of normal platelet levels in recipients of multiple transfusions of platelets from incompatible blood. *Proceedings of the VIIth Congress of the International Society of Hematology*: 957.

Klumpp, T. R., J. H. Herman, et al. (1996). Factors associated with response to platelet transfusion following hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 17: 1035-1041.

Krog, G. R., F. B. Clausen, et al. (2011). Is current serologic RhD typing of blood donors sufficient for avoiding immunization of recipients? *Transfusion* 51: 2278-2285.

Kuntz, B. M., B. Schottler, et al. (1994). [Resuscitation necessitated by a transfusion reaction after HLA mismatched platelets substitution]. *Beitr Infusionsther Transfusionsmed* 32: 307-309.

Kurz M, Greinix H, et al. (1996). Specificities of anti-platelet antibodies in munitransfused patients with haematooncological disorders. *Br J Haematol* 195: 564-569.

Landsteiner, K. (1931). Individual differences in human blood. *Science* 73: 403-409.

Larsson, L. G., V. J. Welsh, et al. (2000). Acute intravascular hemolysis secondary to out-of-group platelet transfusion. *Transfusion* 40: 902-906.

Lee, D., M. Contreras, et al. (1999). Recommendations for the use of anti-D immunoglobulin for Rh prophylaxis. British Blood Transfusion Society and the Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. *Transfus Med* 9: 93-97.

Lee, E. J. and C. A. Schiffer (1989). ABO compatibility can influence the results of platelet transfusion. Results of a randomized trial. *Transfusion* 29: 384-389.

Levy, L. and D. G. Woodfield (1984). The transfusion of HLA-matched platelets to thrombocytopenic patients resistant to random donor platelets. *N Z Med J* 97: 719-721.

Lin, Y., J. L. Callum, et al. (2002). Transfusion of ABO-nonidentical platelets is not associated with adverse clinical outcomes in cardiovascular surgery patients. *Transfusion* 42: 166-172.

Lower R (1666). The success of the experiment of transfusing the blood of one animal into another. *Philos Trans R Soc Lond*.

Lozano, M. and J. Cid (2003). The clinical implications of platelet transfusions associated with ABO or Rh(D) incompatibility. *Transfus Med Rev* 17: 57-68.

Lozano, M., N. Heddle, et al. (2010). Practices associated with ABO-incompatible platelet transfusions: a BEST Collaborative international survey. *Transfusion* 50: 1743-1748.

Lucas, G. F. and S. E. Rogers (1999). Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay kit (GTI PakPlus) for the detection of antibodies against human platelet antigens. *Transfus Med* 9: 63-67.

Maniatis A (2005). Criteria for clinical transfusion practice. *Blood transfusion in Europe-the white book*
2005. H. C. Paris, Elsevier SAS: 205-212.

Mazzara, R., G. Escolar, et al. (1996). Procoagulant effect of incompatible platelet transfusions in alloimmunized refractory patients. *Vox Sang* 71: 84-89.

McFarland, J. G., A. J. Anderson, et al. (1989). Factors influencing the transfusion response to HLA-selected apheresis donor platelets in patients refractory to random platelet concentrates. *Br J Haematol* 73: 380-386.

McLeod, B. C., M. R. Piehl, et al. (1990). Alloimmunization to RhD by platelet transfusions in autologous bone marrow transplant recipients. *Vox Sang* 59: 185-189.

McManigal, S. and K. L. Sims (1999). Intravascular hemolysis secondary to ABO incompatible platelet products. An underrecognized transfusion reaction. *Am J Clin Pathol* 111: 202-206.

McVey, M. and C. M. Cserti-Gazdewich (2010). Platelet transfusion refractoriness responding preferentially to single donor aphaeresis platelets compatible for both ABO and HLA. *Transfus Med* 20: 346-353.

Meehan, K. R., C. O. Matias, et al. (2000). Platelet transfusions: utilization and associated costs in a tertiary care hospital. *Am J Hematol* 64: 251-256.

Metcalf P, Watkins NA, et al. (2003). Nomenclature of human platelet antigens. *Vox Sang* 85: 240-245.

Meyer, O., H. Kiesewetter, et al. (2004). Efficacy and safety of anti-D given by subcutaneous injection to patients with autoimmune thrombocytopenia. *Eur J Haematol* 73: 71-72.

Mohanty, D. (2009). Current concepts in platelet transfusion. *Asian J Transfus Sci* 3: 18-21.

Molnar, R., R. Johnson, et al. (2002). Absence of D alloimmunization in D- pediatric oncology patients receiving D-incompatible single-donor platelets. *Transfusion* 42: 177-182.

Morin-Papunen, L., A. Tiilikainen, et al. (1984). Maternal HLA immunization during pregnancy: presence of anti HLA antibodies in half of multigravidous women. *Med Biol* 62: 323-325.

Murphy, M. F. (1996). State of the art in platelet transfusion therapy. *Transfus Sci* 17: 575-584.

Norville, R., P. Hinds, et al. (1994). The effects of infusion methods on platelet count, morphology, and corrected count increment in children with cancer: in vitro and in vivo studies. *Oncol Nurs Forum* 21: 1669-1673.

Novotny VMJ, van Doorn R, et al. (1995). Occurrence of allogenic HLA- and non-HLA antibodies after transfusion of prestorage filtered platelet and red blood cells: A prospective study. *Blood* 85: 1736-1741.

Ogasawara K, Ueki J, et al. (1993). Study on the expression of ABH antigens on platelets. *Blood* 82: 993-999.

Ozturk, A., O. Turken, et al. (2003). Acute intravascular hemolysis due to ABO-incompatible platelet transfusion. *Acta Haematol* 110: 211-212.

Pai, S. C., S. C. Lo, et al. (2010). Epitope-based matching for HLA-alloimmunized platelet refractoriness in patients with hematologic diseases. *Transfusion* 50: 2318-2327.

Panzer, S., L. Auerbach, et al. (1995). Maternal alloimmunization against fetal platelet antigens: a prospective study. *Br J Haematol* 90: 655-660.

Park, M. S. and P. I. Terasaki (1974). Storage of human lymphocytes at room temperature. *Transplantation* 18: 520-524.

Pavenski, K., T. E. Warkentin, et al. (2010). Posttransfusion platelet count increments after ABO-compatible versus ABO-incompatible platelet transfusions in noncancer patients: an observational study. *Transfusion* 50: 1552-1560.

Pfisterer, H., S. Thierfelder, et al. (1968). ABO Rh blood groups and platelet transfusion. *Blut* 17: 1-5.

Rebulla, P. (2005). A mini-review on platelet refractoriness. *Haematologica* 90: 247-253.

Rebulla, P., F. Morelati, et al. (2004). Outcomes of an automated procedure for the selection of effective platelets for patients refractory to random donors based on cross-matching locally available platelet products. *Br J Haematol* 125: 83-89.

Sadani, D. T., S. J. Urbaniak, et al. (2006). Repeat ABO-incompatible platelet transfusions leading to haemolytic transfusion reaction. *Transfus Med* 16: 375-379.

Sagir, A., M. Wettstein, et al. (2002). Autoimmune thrombocytopenia induced by PEG-IFN-alpha2b plus ribavirin in hepatitis C. *Dig Dis Sci* 47: 562-563.

Saiki, R. K., D. H. Gelfand, et al. (1988). Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 239: 487-491.

Saito, S., S. Ota, et al. (2002). Platelet transfusion refractoriness caused by a mismatch in HLA-C antigens. *Transfusion* 42: 302-308.

Sandgren, P., M. Hansson, et al. (2007). Storage of buffy-coat-derived platelets in additive solutions at 4 degrees C and 22 degrees C: flow cytometry analysis of platelet glycoprotein expression. *Vox Sang* 93: 27-36.

Santoso, S. (2003). Human platelet alloantigens. *Transfus Apher Sci* 28: 227-236.

Santoso S, Kiefel V, et al. (1989). Human platelet alloantigens Br(a)/Br(b) are expressed on the very late activation antigen 2 (VLA-2) of T-lymphocytes. *Hum Immunol* 25: 237-246.

Santoso S, Kiefel V, et al. (1991). Blood group A and B determinants are expressed on platelet glycoproteins IIa, IIIa, and Ib. *Thromb Haemost* 65: 196-201.

Sanz, C., C. Freire, et al. (2001). Platelet-specific antibodies in HLA-immunized patients receiving chronic platelet support. *Transfusion* 41: 762-765.

Schleinzner W and Singbartl G (1993). Fremdblutsparende Maßnahmen in der operativen Medizin. Karger Basel

Schnaidt M, Northoff H, et al. (1996). Frequency and specificity of platelet-specific alloantibodies in HLA-immunized haemato-oncologic patients. *Transfus Med* 6: 111-114.

Schnaidt, M. and D. Wernet (2000). Platelet-specific antibodies in female blood donors after pregnancy. *Transfus Med* 10: 77-80.

Schrezenmeier, H. and E. Seifried (2010). Buffy-coat-derived pooled platelet concentrates and apheresis platelet concentrates: which product type should be preferred? *Vox Sang* 99: 1-15.

Sekiguchi, S., T. Mitani, et al. (1988). [Experience of HLA-matched platelet transfusion in patients who are refractory to random donor platelets]. *Hokkaido Igaku Zasshi* 63: 552-561.

Shanwell, A., T. M. Andersson, et al. (2009). Post-transfusion mortality among recipients of ABO-compatible but non-identical plasma. *Vox Sang* 96: 316-323.

Shattock SG (1900). Chromocyte clumping in acute pneumonia. *J Pathol Bacteriol* 6: 303-314.

Shehata, N., A. Tinmouth, et al. (2009). ABO-identical versus nonidentical platelet transfusion: a systematic review. *Transfusion* 49: 2442-2453.

Siren, M. K., A. Koponen, et al. (1998). Serious adverse events after HPA-incompatible platelet transfusions in an alloimmunized patient with leukaemia. *Transfus Med* 8: 221-224.

Skogen B, Rossebo HB, et al. (1988). Minimal expression of blood group A antigen on thrombocytes from A2 individuals. *Transfusion* 28: 456-459.

Slichter SJ (1997). The Trial to Reduce Alloimmunization to Platelets Study Group: Leucocyte reduction and ultraviolet B irradiation of platelets to prevent alloimmunization and refractoriness to platelet transfusions. *N Engl J Med* 337: 1861-1869.

Slichter, S. J., K. Davis, et al. (2005). Factors affecting posttransfusion platelet increments, platelet refractoriness, and platelet transfusion intervals in thrombocytopenic patients. *Blood* 105: 4106-4114.

Slichter, S. J., R. M. Kaufman, et al. (2010). Dose of prophylactic platelet transfusions and prevention of hemorrhage. *N Engl J Med* 362: 600-613.

Starling, E. H. (1896). On the Absorption of Fluids from the Connective Tissue Spaces. *J Physiol* 19: 312-326.

Starling, E. H. and A. H. Tubby (1894). On Absorption from and Secretion into the Serous Cavities. *J Physiol* 16: 140-155.

Strindberg, J. and G. Berlin (1996). Transfusion of platelet concentrates--clinical evaluation of two preparations. *Eur J Haematol* 57: 307-311.

Sullivan MT and W. EL (2005). Blood collection and transfusion in the United States in 1999. *Transfusion* 45: 141-148.

Sutherland DR, Yeo E, et al. (1991). Identification of a cell-surface antigen associated with activated T lymphoblasts and activated platelets. *Blood* 77: 84-93.

Takahashi, K., T. Juji, et al. (1987). Determination of an appropriate size of unrelated donor pool to be registered for HLA-matched platelet transfusion. *Transfusion* 27: 394-398.

Take, H., J. Tamura, et al. (1993). Severe anaphylactic transfusion reaction associated with HLA-incompatible platelets. *Br J Haematol* 83: 673-674.

Tepnel Lifecodes Corporation (2007). Produktbeilage zu den Lifecodes HLA-SSO Typisierungssets zur Verwendung mit Luminex®.

Tosato, G., F. R. Applebaum, et al. (1978). HLA-matched platelet transfusion therapy of severe aplastic anemia. *Blood* 52: 846-854.

Tragardh, L., L. Rask, et al. (1980). Complete amino acid sequence of pooled papain-solubilized HLA-A, -B, and -C antigens: relatedness to immunoglobulins and internal homologies. *Proc Natl Acad Sci U S A* 77: 1129-1133.

Tsuji T and Osawa T (1986). Structures of the carbohydrate chains of membrane glycoproteins IIb and IIIa of human platelets. *J Biochem* 100: 1387-1398.

Universitätsklinikum des Saarlandes (2010). Dienstanweisung zur Vorbereitung und Durchführung von Transfusionen sowie zur Qualitätssicherung bei der Anwendung von Blutprodukten. Homburg/Saar.

Universitätsklinikum Gießen und Marburg (2011). Dienstanweisung für die klinische Anwendung von Blutprodukten und Plasmaderivaten.

Valbonesi, M., M. C. De Luigi, et al. (2000). Acute intravascular hemolysis in two patients transfused with dry-platelet units obtained from the same ABO incompatible donor. *Int J Artif Organs* 23: 642-646.

van der Meer, P. F. (2007). Platelet additive solutions: a future perspective. *Transfus Clin Biol* 14: 522-525.

van der Weerd CM, Veenhoven-von Riesz LE, et al. (1963). The Zw blood group system in platelets. *Vox Sang* 8: 513-530.

van Loghem JJ, Dorfmeijer H, et al. (1959). Serological and genetical studies on a platelet antigen (Zw). *Vox Sang* 4: 161-169.

von dem Borne AEGK and Decary F (1990). ICSH/ISBT working party on platelet serology. Nomenclature of platelet-specific antigens. *Vox Sang* 58: 176.

Wagner, F. F., D. Kasulke, et al. (1995). Frequencies of the blood groups ABO, Rhesus, D category VI, Kell, and of clinically relevant high-frequency antigens in south-western Germany. *Infusionsther Transfusionsmed* 22: 285-290.

Waßmuth, R. (2005). Einführung in das HLA-System. Ecomed Medizin Dresden

Webster, C. (1971). The origins of blood transfusion: a reassessment. *Med Hist* 15: 387-392.

Wederhake (1917). Überpflanzung (Transfusion) von Blut. Münch Med Wochenschr, Feldärztl Beilage 64 II: 1471-1473.

Wetzel, W. (2003). Charakterisierung der Immunantwort auf Tumore nach regionaler Hyperthermie im Mausmodell des malignen Melanoms. Berlin, Fachbereich Biologie, Chemie und Pharmazie der Freien Universität Berlin.

Xia, W. J., X. Ye, et al. (2010). [Study of the platelet GP specific antibodies and HLA antibodies expression in platelet transfusion refractoriness patients.]. Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi 31: 594-598.

Yankee, R. A., F. C. Grumet, et al. (1969). Platelet transfusion The selection of compatible platelet donors for refractory patients by lymphocyte HL-A typing. N Engl J Med 281: 1208-1212.

Zachary, A. A., L. Klingman, et al. (1995). Variations of the lymphocytotoxicity test. An evaluation of sensitivity and specificity. Transplantation 60: 498-503.

Zeiler (2006). Platelets do not adsorb HLA class I molecules during storage of pooled platelet concentrates. Transfus Med 16: 176-183.

Zeiler, T., G. Wittmann, et al. (1994). A dose of 100 IU intravenous anti-D gammaglobulin is effective for the prevention of RhD immunisation after RhD-incompatible single donor platelet transfusion. Vox Sang 66: 243.

7. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich die Gelegenheit nutzen, mich bei meinen Helfern und Freunden zu bedanken, die mich kritisch unterstützt und ausdauernd motiviert haben und mir so den Weg zu dieser Arbeit geebnet haben.

Allen voran möchte ich Herrn Univ.-Prof. Dr. Hermann Eichler, Direktor des Instituts für Klinische Hämostaseologie und Transfusionsmedizin, Medizinische Fakultät der Universität des Saarlandes, für die Überlassung des Themas, die jederzeit verfügbare Beratung bei dessen Bearbeitung, die Bereitstellung der notwendigen Ressourcen und die konstruktiv-kritische Unterstützung bei der Niederschrift der Ergebnisse, ganz besonderen Dank aussprechen. Ebenso danke ich Herrn Dr. Christof Weinstock, Leiter der Abteilung Immunhämatologie und Blutgruppenserologie am Institut für Klinische Transfusionsmedizin und Immungenetik in Ulm und ehemaliger Leiter der Abteilung für Immunhämatologie und Transplantationsimmunologie des DRK-Blutspendedienstes Rheinland-Pfalz und Saarland in Bad Kreuznach, für die Unterstützung bei der Planung und Durchführung der Probengewinnung.

Desweiteren gilt mein Dank den Mitarbeitern der Blutbank des UKS, hier im Besonderen Frau Angelika Kojek, für die Unterstützung bei der Planung des Versuchsablaufs und den Mitarbeitern des HLA-Labors des DRK in Bad Kreuznach für die Einweisung in die Analyseverfahren und die Unterstützung bei der Probenauswertung.

Ein großer Dank gilt auch den Probanden der Studie, die trotz schwerer Erkrankung das Engagement gezeigt haben, die Forschung und somit die Gemeinschaft zu unterstützen.

Abschließend darf ich einige Wegbereiter meines Werdeganges nicht unerwähnt lassen, ohne die ich wahrscheinlich weder das Studium der Humanmedizin noch meine Dissertation gemeistert hätte und denen ich unermesslich dankbar dafür bin. Allen voran sind das meine Eltern Angelika und Armin Mathieu, die mich jederzeit liebevoll unterstützt und gefördert haben und meine Schwester Aline Mathieu.

Darüber hinaus die vielen Förderer des Leistungssports im Saarland, die Landessportschule des Saarlandes und nicht zuletzt das Gymnasium am Rotenbühl in Saarbrücken, die es mir gemeinsam erst ermöglicht haben, meine schulische Laufbahn zu bewältigen.

Letztlich bleibt ein großer Dank an meinen Freundeskreis auszusprechen, aus dem ich große Unterstützung erfahren habe, in besonderem Maße in Form von Verena Johann, die mir über die Höhen und Tiefen der Arbeit hinweg geholfen hat und kompetent deren statistische Auswertung begleitet hat.

8. Lebenslauf

Persönliche Daten

Geburtsdatum: 07.11.1985

Geburtsort: Mannheim

Schulbildung

1992-1996 Grundschule am Ordensgut, Saarbrücken

1996-2002 Ludwigsgymnasium, Saarbrücken

2002-2005 Gymnasium am Rotenbühl, Saarbrücken

Hochschulausbildung

2005-2011 Studium der Humanmedizin an der Universität des Saarlandes

- Abschluss des ersten Studienabschnitts mit dem ersten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung im August 2007
- Teilnahme am Praktischen Jahr 2010/2011 in den Fächern Chirurgie, Innere Medizin und Anästhesiologie/Intensivmedizin am Klinikum Saarbrücken
- Abschluss des Studiums im Oktober 2011 mit Bestehen der zweiten Ärztlichen Prüfung

Studienbegleitende Tätigkeiten

- Zweimonatiges Krankenpflegepraktikum Klinik für Unfallchirurgie, Orthopädische Chirurgie (Caritasklinik St. Theresia, Saarbrücken)
- Einmonatiges Krankenpflegepraktikum Geriatrische Klinik/Chirurgische Belegabteilung (SHG Klinik Halberg, Saarbrücken)
- Einmonatige Famulatur Klinik für Kardiologie (Caritasklinik St. Theresia, Saarbrücken)
- Einwöchige Famulatur im Labor für Immunhämatologie und HLA-Diagnostik des DRK Blutspendedienstes West in Bad Kreuznach
- Einmonatige Famulatur Klinik für Pädiatrie (Tongji Medical College, Wuhan/VR China)
- Zweimonatige Famulatur in einer Praxis für Orthopädie
- Einmonatige Famulatur in einer Praxis für Kardiologie
- Hospitanz bei mehreren Notarztdiensten im Rahmen des Praktischen Jahres
- Dozent der Nanz medico Akademie für Physiotherapie und Massage, Landstuhl
- Dozent der Schule für Gesundheitsfachberufe des Klinikums Saarbrücken

Beruflicher Werdegang

- Seit Dezember 2012 Assistenzarzt in der Klinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin des Klinikums Saarbrücken

Berufliche Weiterbildung

- 2. Saarbrücker Workshop Atemwegsmanagement 2011
- ALS - Providerkurs des European Resuscitation Council 2011
- 2. Workshop Ultraschall in der Regionalanästhesie 2012
- Praktikum Airwaymanagement des anatomischen Institutes des UKS 2012
- Diverse Fortbildungen im Rahmen des Saar Kolloquium Anästhesie
- Diverse Fortbildungen im Rahmen des Fortbildungsplans Notfallmedizin und Rettungsdienst Saarland