

Die anti-erythrozytäre Alloimmunisierung bei Neugeborenen und Kleinkindern

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Tugce Türkmén - Uthayanan
aus Hof/Saale

Gießen 2022

Aus dem Fachbereich Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen
Institut für Klinische Immunologie, Transfusionsmedizin und Hämostaseologie

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Gregor Bein
2. Gutachter: Prof. Dr. med. Stefan Rupp

Tag der Disputation: 01. Juli 2022

Für meine Eltern und meinen wichtigsten Unterstützer, meinen Ehemann.

In dieser wissenschaftlichen Arbeit wurde gemäß den Vorgaben der Justus-Liebig-Universität versucht, korrekt zu Gendern. Sollte aus Gründen der besseren Lesbarkeit das generische Maskulinum verwendet worden sein, sind weibliche und anderweitige Geschlechteridentitäten ausdrücklich mitgemeint, soweit es für die Aussage erforderlich ist.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1. Historische Einordnung: Erythrozytentransfusion.....	1
1.2. Erythrozytenantigene	2
1.2.1. Aufbau und Funktion der Erythrozytenantigene	2
1.3. Klinisch relevante Blutgruppensysteme.....	5
1.3.1. AB0-System.....	5
1.3.2. Rhesus-System.....	7
1.3.3. MNS-System.....	8
1.3.4. Kell-System	9
1.3.5. Kidd-System	10
1.3.6. Duffy-System.....	10
1.3.7. Weitere transfusionsrelevante Antikörper	11
1.4. Alloantikörper gegen erythrozytäre Antigene.....	11
1.5. Transfusionspraxis in Deutschland	13
1.6. Hämolytische Transfusionsreaktionen.....	15
1.7. Alloimmunisierung	19
1.8. Nachweisverfahren erythrozytärer Antigene und Alloantikörper vor Transfusion.....	25
1.8.1. Nachweis von Iso- und Alloantikörpern.....	25
1.8.2. Antikörper-Suchtest, Antikörper-Differenzierung	25
1.8.3. Serologische Verträglichkeitsprobe.....	27
1.9. Immunogenität von Antigenen.....	27
1.10. Fragestellung	29
2. Material und Methoden	30
2.1. Studiendesign.....	30

2.2. Datenerhebung und Kriterien der gebildeten Kollektive	30
2.3. Antikörper-Suchtestverfahren	35
2.3.1. Säulenagglutinationstechnologie mit drei Suchzellen (1994–2003)	35
2.3.2. Festphaseverfahren mit drei Suchzellen (2004–2011)	36
2.3.3. Gelkarte mit drei Testzellen (ab 2012)	37
2.3.4. Antikörper-Differenzierung mit Gelkarte und elf Testzellen (ab 1994).....	37
2.4. Statistische Auswertung	38
3. Ergebnisse	39
3.1. Kontrollgruppe Erwachsenenkohorte (45. bis 100. Lebensjahr).....	39
3.1.1. Patientencharakteristika	39
3.1.2. Inzidenz der Alloimmunisierung bei Erwachsenen	41
3.1.3. Häufigkeiten erythrozytärer Alloantikörper	42
3.1.4. Kumulative Inzidenz der Alloimmunisierung	43
3.1.5. Transfusionscharakteristika	44
3.2. Beobachtungsgruppe Neugeborene, Säuglinge, Kleinkinder (Geburt bis drittes Lebensjahr)	47
3.2.1. Patientencharakteristika	47
3.2.2. Inzidenz der Alloimmunisierung bei Neugeborenen und Kleinkindern.....	49
3.2.3. Häufigkeiten erythrozytärer Alloantikörper	50
3.2.4. Transfusionscharakteristika	51
4. Diskussion	53
4.1. Studiendesign	53
4.2. Nachweis erythrozytärer Blutgruppenalloantikörper	56
4.3. Erythrozytäre Alloantikörper in der Kontrollgruppe Erwachsene (45. bis 100. Lebensjahr)	57
4.4. Erythrozytäre Alloantikörper in der Beobachtungsgruppe Neugeborene und Kinder (bis zum dritten Lebensjahr).....	60

5. Schlussfolgerung und Ausblick.....	65
6. Zusammenfassung.....	66
7. Summary.....	67
8. Abkürzungsverzeichnis.....	68
9. Abbildungsverzeichnis.....	70
10. Tabellenverzeichnis.....	70
11. Literaturverzeichnis.....	72
12. Anhang.....	90
13. Publikationsverzeichnis.....	91
14. Ehrenwörtliche Erklärung.....	92
15. Danksagung.....	93

1. Einleitung

1.1. Historische Einordnung: Erythrozytentransfusion

Jährlich werden am Universitätsklinikum Gießen und Marburg circa 40.000 Erythrozytenkonzentrate transfundiert ¹⁸². Deutschland wies 2015 einen jährlichen Bedarf von 47,7 Erythrozytenkonzentrat pro 1000 Einwohnerinnen und Einwohnern auf ⁶. Erythrozytenkonzentrate werden grundsätzlich AB0- und Rhesus-D-kompatibel (RhD) transfundiert ²⁹. Nach Transfusion von Erythrozytenkonzentrat kann der Empfänger Alloantikörper gegen eine Vielzahl von weiteren Blutgruppenantigenen bilden. Präformierte Alloantikörper lösen hämolytische Transfusionsreaktionen aus, wenn die transfundierten Erythrozyten das korrespondierende Antigen tragen. Die Kenntnis der Risikofaktoren für eine Alloimmunisierung gegen Blutgruppenantigene ist für die sichere und gesicherte Transfusion von Erythrozytenkonzentrat von hoher Bedeutung.

Die erste gelungene Bluttransfusion führte der Physiologe Richard Lower 1666 in Oxford zwischen zwei Hunden durch. Im Jahr 1667 wurde durch Jean- Baptiste Denis und den Chirurgen Paul Emmeret in Paris die erste Blutübertragung vom Tier (Lamm) auf den Menschen vollzogen ¹³. Nach zahlreichen Experimenten mit Tieren versuchte sich der Geburtshelfer James Blundell 1825 als einer der Ersten an Bluttransfusionen von Menschen zu Menschen. Mittels eines speziellen Transfusionssystems mit Spritze und Trichter verabreichte er Gebärenden Frauen mit postpartaler Blutung, das ihrer Ehemänner. Postpartale Blutungen waren einer der wichtigsten Ursachen der erhöhten Müttersterblichkeit bei Gebärenden. James Blundell gilt daher als „Vater der modernen Bluttransfusion“ ¹⁹. Schnell zeigte sich das Problem der schnellen Blutgerinnung und somit Unbrauchbarkeit des Blutes für eine Transfusion. Zahlreiche Todesfälle durch die bis dahin unbekanntes Unverträglichkeitsreaktionen infolge AB0-inkompatibler Transfusionen, wurden ebenfalls verzeichnet. Für die erfolgreiche Durchführung einer Transfusion ist die Kompatibilität der AB0-Blutgruppen zwischen Spender und Empfänger essentiell, die erst 1901 entdeckt wurden ¹²⁵.

1.2. Erythrozytenantigene

Heute sind 43 verschiedene Blutgruppensysteme (siehe Tabelle 1, S. 4) bekannt, an deren Bildung 45 Gene beteiligt sind. Insgesamt sind mehrere Hundert Blutgruppenantigene bekannt^{110,132,164}. 1901 wurde das AB0-System (siehe Kapitel 1.3.1, S. 5) von Karl Landsteiner entdeckt¹²⁵, der für die Entdeckung der menschlichen Blutgruppen 1930 mit dem Nobelpreis für Physiologie oder Medizin ausgezeichnet wurde.

Blutgruppen sind definitionsgemäß Strukturen auf Blutzellen, die von Alloantikörpern erkannt werden. Alloantikörper werden von Individuen gebildet, die das korrespondierende Blutgruppenantigen nicht besitzen und durch fremde Blutzellen im Rahmen einer Schwangerschaft, Transfusion oder Transplantation immunisiert werden. Im AB0-Blutgruppensystem entstehen „natürliche“ Anti-A- und Anti-B-Antikörper nach der Geburt, die vorwiegend der IgM-Immunglobulinklasse angehören. Die Agglutination von Erythrozyten durch IgM-Antikörper ist makroskopisch sichtbar und daher war es Landsteiner bereits 1900 möglich, die AB0-Blutgruppen zu entdecken⁹⁶. Verfahren zum Nachweis von Immunantikörpern der IgG-Klasse, durch welche die meisten anderen Blutgruppensysteme charakterisiert sind, wurden erst Jahrzehnte später entwickelt (siehe Kapitel 1.8, S. 25).

1.2.1. Aufbau und Funktion der Erythrozytenantigene

Biochemisch handelt es sich bei Blutgruppenantigenen um Kohlenhydrate (Oligosaccharide) beziehungsweise um Polypeptide (Proteinstrukturen). Das Rhesus-System und das Kell-System sind durch Proteinstrukturen charakterisiert. Zu den Blutgruppensystemen mit überwiegendem Kohlenhydratanteil gehören das AB0-System, H-, Ii-, Lewis- und das P-System. Diese Oligosaccharide sind fest in der Lipidschicht der Erythrozytenmembran über sogenannte Membranlipide oder über hydrophobe Anteile verankert (siehe Abb. 1, S. 3).

Schematische Darstellung der Erythrozytenmembran

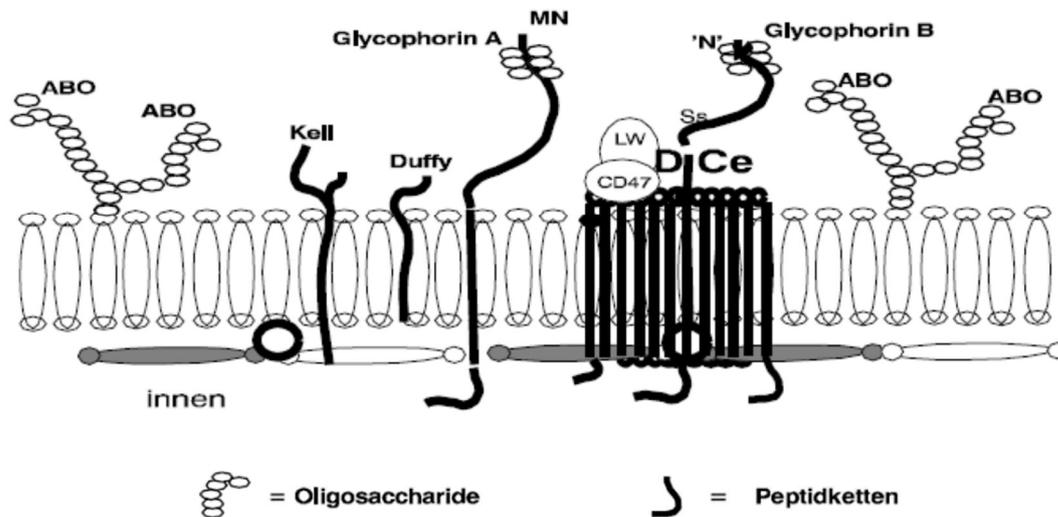


Abb. 1 Schematische Darstellung der Erythrozytenmembran ^{103,124}

Polymorphe Gene determinieren die Blutgruppenantigene. Infolge der zahlreichen Blutgruppenantigene ist es extrem unwahrscheinlich, dass zwei Menschen, mit Ausnahme eineiiger Zwillinge, exakt die gleiche Blutgruppenkonstellation aufweisen ¹³³. In biochemisch leicht modifizierter Art sind diese Antigenstrukturen auch in anderen Geweben des menschlichen Körpers zu finden, womit deren Bedeutung in der Transplantationsmedizin eine besondere Stellung einnimmt ¹⁴⁴.

Fünf verschiedene Funktionen können mit Blutgruppenantigenen assoziiert sein: ³¹ Enzyme (Transferasen, Proteasen, Ektoenzyme und weitere Enzyme), Rezeptoren für exogene Liganden (Viren, Bakterien und Parasiten), Adhäsionsfunktion (Beeinflussung der Leukozytenextravasation, Metastasierung von Tumorzellen), Transporter- und Kanalfunktion sowie Strukturproteine (Glykophorine) (siehe Tabelle 1, S. 4).

Tabelle 1 Einteilung der erythrozytären Antigene nach der *International Society of Blood Transfusion* (ISBT) in Blutgruppensysteme, Struktur determinanten, Funktionelle Klassifizierung der Erythrozytenantigene und ihre Transfusionsrelevanz⁸⁶ (Quelle: ISBT 03 Februar 2021)

<i>ISBT-Nr.</i>	<i>System</i>	<i>ISBT-Symbol</i>	<i>Antigene</i>	<i>Funktionsmolekül</i>	<i>Transfusionsrelevanz</i>
001	AB0	AB0	A, B, H	Glykosyltransferase ¹⁹²	regelmäßig
002	MNSs	MNSs	M, N, S, s	Glykophorin ⁶³	bei Antikörper-Nachweis
003	P	P	P (1)	Rezeptor für Parvovirus B19 ²⁸	bei Antikörper-Nachweis
004	Rhesus	Rh	D, C, c, E, e, Cw	Membrantransporter ¹⁰⁷	regelmäßig (wichtig bei Schwangerschaft)
005	Lutheran	Lu	Lu(a), Lu(b)	Adhäsionsmolekül ⁵³	bei Antikörper-Nachweis
006	Kell	Kel	K, k, Kp(a), Kp(b), Js(a), Js(b)	Ektoenzym/Zink-Metalloproteinase ¹⁵³	bei Antikörper-Nachweis (wichtig bei Frauen im gebärfähigen Alter)
007	Lewis	Le	Le(a), Le(b)	Glykosyltransferase ¹¹³	bei Antikörper-Nachweis
008	Duffy	Fy	Fy(a), Fy(b)	Bindungsprotein ¹²³	bei Antikörper-Nachweis
009	Kidd	Jk	Jk(a), Jk(b)	Membrantransporter ¹⁰¹	bei Antikörper-Nachweis
010	Diego	Di		Membrantransporter ¹³¹	
011	Cartwright	Yt	Wr(a), Wr(b)	Ektoenzym ⁹	bei Antikörper-Nachweis
012	Xg	Xg		Adhäsionsmolekül ⁵⁴	
013	Scianna	SC		Adhäsionsmolekül	
014	Dombrock	Do		Ektoenzym ⁶⁸	
015	Colton	Co		Membrantransporter ¹⁰⁹	
016	Landsteiner/Wiener	Lw		Adhäsionsmolekül ⁸¹	
017	Chido-Rodgers	Ch/Rg		Komplement	
018	Hh	H		Glykosyltransferase ¹²²	
019	Kx	Xk		Membrantransporter	
020	Gerbich	Ge		Glykophorin ³²	
021	Cromer	Crom		Komplementregulator ⁶⁵	
022	Knops	Knops		Komplementregulator ¹¹⁵	
023	Indian	In		Adhäsionsmolekül ²⁴	
024	Ok	Ok		Adhäsionsmolekül ¹⁶²	
025	Raph	Raph		Nicht bekannt	
026	John Milton Hagen	Jmh		Adhäsionsmolekül	
027	I	I		Glykosyltransferase	
028	Globoside	Glob		Glykosyltransferase	
029	Gill	Gil		Membrantransporter	
030	Rh-associated glycoprotein	RHAG			
031	FORS	FORS			
032	JR	JR			
033	LAN	LAN			
034	VEL	VEL			
035	CD59	CD59			
036	AUG	AUG			
037	KANNO	KANNO	KANNO1		
038	Sid	SID	B4GALNT2 und Sd(a)		
039	CTL2	CTL2			
40	PEL	PEL			
41	MAM	MAM			
42	EMM	EMM			
43	ABCC1	ABCC1			
	Transkriptionsfaktor	GATA1		Transkriptionsfaktor ¹⁵⁸	
	Transkriptionsfaktor	KLF1		Transkriptionsfaktor ¹⁵⁸	

1.3. Klinisch relevante Blutgruppensysteme

1.3.1. AB0-System

Das AB0-System ist das Blutgruppensystem mit der höchsten klinischen Relevanz in der Transfusionspraxis. Die AB0-Blutgruppen sind durch endständige Zuckerreste charakterisiert, die durch eine Glykosyltransferase mit unterschiedlicher Substratspezifität an bestimmte Vorläuferstrukturen transferiert werden. Ihre Morphologie entspricht endständig verzweigter Kohlenhydratketten, die an Lipide oder Proteine der Erythrozytenmembran angeheftet sind⁵⁹. Es werden fünf wichtige Allele unterschieden (siehe Tabelle 2, S. 6), deren Expression verschiedene Genprodukte kodieren¹⁶⁵. Die Allele für A und B sind hierbei dominant gegenüber dem rezessiven Allel 0. Kommen beide Allele A und B in einem Individuum vor, handelt es sich um eine Kodominanz mit der daraus resultierenden Blutgruppe AB. Die Antigene A und B bilden die unterschiedlichen Phänotypen 0, A, B und AB¹⁰³. Im Blutplasma liegen natürlich vorkommende Antikörper (Isoagglutinine) vor, die gegen Antigen determinanten (Anti-A, Anti-B) gerichtet sind, die dem Individuum selbst fehlen. Postnatal werden die AB0-Antikörper durch Zuckerstrukturen an Darmbakterien induziert. AB0-Antigene sind nicht nur auf der Erythrozytenmembran, sondern auch in Körperflüssigkeiten, im Serum (als lösliche Glykoproteine), in verschiedenen Körperzellen und Zelloberflächen, in sensorischen Nervenzellen, Blutplättchen, in Endothelzellen von Blutgefäßen, auf Bakterien sowie im Tier- und Pflanzenreich zu finden⁶². Infolge präformierter antierythrozytärer Antikörper der Immunglobulinklasse IgM ist es von entscheidender Bedeutung, eine inkompatible Transfusion zu vermeiden. Der gebildete Antigen-Antikörper-Komplex führt zur Komplementaktivierung und Bildung des Membran-Angriff-Komplexes C5b-9. Es kommt zu einer Hämagglutination (Verklumpung) und sofortigen intravasalen Hämolyse der Erythrozyten. Hämolysen resultieren sehr rasch in klinischen Symptomen, in nicht wenigen Fällen mit tödlichem Verlauf (siehe Kapitel 1.6, S. 15). Es handelt sich hierbei um hämolytische Transfusionsreaktionen (HTR) vom Soforttyp.

Tabelle 2 Genetische Grundlagen des ABO-Systems (modifiziert übernommen) S. 390 Tab. 10.5 aus dem Buch Klinische Chemie und Hämatologie 6. Auflage ⁴⁸

<i>Allel/Merkmal</i>	<i>Antigen</i>	<i>Genprodukt</i>	<i>Blutgruppe</i>
H	H-Substanz	α - (1-2) L-Fucosyltransferase	H-Substanz als Grundstruktur bei 0 und als Basisstruktur bei A und B, AB
H	Entfällt	Nicht vorhanden	Keine der ABO-Blutgruppen, „Bombay-Phänotyp“
AB0*A	A-Substanz	α -(1 \rightarrow 3) -3-N-Acetyl-Galactosaminyltransferase	A und AB
AB0*B	B-Substanz	α -(1 \rightarrow 3) -D-Galactosyltransferase	B und AB
AB0*0	Entfällt	Nicht vorhanden, codiert für kein funktionierendes Enzym	0

Wie in der Tabelle 2 ersichtlich, stellt das H-Antigen die Basisstruktur der Kohlenhydrat-Epitope der Antigene A und B dar. Das H-Antigen wird mittels einer Fucosyltransferase mit dem Vorläufermolekül aus N-Acetylgalactosamin (GlcNAc) und D-Galactose (D-Gal) gebildet. Bei Blutgruppe A ist das spezifische Enzym α -(1 \rightarrow 3) -3-N-Acetyl-Galactosaminyltransferase (A-Transferase) für die Entstehung der A-Substanz verantwortlich ¹⁰³. Es wird zwischen zwei Merkmalen unterschieden: Merkmal A1, mit einer sehr hohen A-Antigenexpressionsdichte (80 % Vorkommen) und Merkmal A2, mit einer geringeren A-Antigenexpressionsdichte (20 % Vorkommen) ⁷³. Bei Blutgruppe B ist es die α -(1 \rightarrow 3) -D-Galactosyltransferase (B-Transferase). Die Antigene A und B entstehen an unterschiedlichen Kohlenhydratketten. Insgesamt gibt es vier verschiedene Typen. Auf den Erythrozyten überwiegen Antigene an Typ-2-Ketten. Besitzt ein Individuum beide Transferasen, hat es die Blutgruppe AB. Blutgruppe 0 ist durch funktionslose Allele charakterisiert. Fehlt die Fucosyltransferase-Aktivität, entsteht der extrem seltene sogenannte Bombay-Phänotyp ^{103,155}. Bei diesem Typ haben die Erythrozyten weder ein A- oder ein B-Antigen noch ein H-Antigen auf ihrer Membranoberfläche. Bei diesen Individuen sind Isoagglutinine vom Typ Anti-A, Anti-B und ein Anti-H im Serum zu finden ^{103,110}. Individuen mit diesem Phänotyp können nur mit Erythrozyten des gleichen Phänotyps transfundiert werden, was in der klinischen Praxis zu erheblichen Problemen führen kann.

Die Antigene A- und B sind auch zahlreich auf der Oberfläche von Bakterien der Darmflora vorhanden. Im Lauf der ersten Lebensjahre kommt es durch die Entwicklung des Mikrobioms zur Bildung von natürlichen Antikörpern der Immunglobulinklasse IgM gegen Zuckerstrukturen von Bakterienmembranen oder -kapseln. Diese Antikörper

gehören zum frühen Abwehrsystem gegen Infektionen. Gegen körpereigene Zuckerstrukturen werden AB0-Antikörper nicht gebildet.¹⁶⁵ Die Bestimmung der AB0-Blutgruppe erfolgt durch den Nachweis der Antigene auf der Erythrozytenoberfläche und der Isoagglutinine im Plasma. Bei Neugeborenen wird die Blutgruppe nur vorläufig bestimmt und erst mit der endgültigen Ausbildung der Isoagglutinine bestätigt¹².

Die Rolle des AB0-Systems beschränkt sich nicht nur auf die Hämotherapie, die Transplantationsmedizin oder auf die Immunhämatologie. AB0-Blutgruppen sind mit kardiovaskulären Erkrankungen und dem Thromboserisiko assoziiert^{7,62}. So ist das thromboembolische Risiko bei Patientinnen und Patienten mit einer Nicht-0-Blutgruppe erhöht, vermutlich durch eine höhere Konzentration des von-Willebrand-Faktors (vWF) und Faktor VIII^{7,62,110}.

1.3.2. Rhesus-System

Das Rhesus-System (Rh-System) kommt in der klinischen Relevanz direkt nach dem AB0-System. Erstmalige Beschreiber des Rh-Systems waren Philip Levine und Rufus Edwin Stetson⁹⁹. 83 % der deutschen Bevölkerung tragen das RhD-Antigen und werden entsprechend als RhD-positiv bezeichnet¹⁰³. Bei den verbleibenden 17 % fehlt das RhD-Antigen auf der Erythrozytenmembranoberfläche¹⁸⁸. Das Rh-System umfasst 50 verschiedene Blutgruppenantigene. Klinisch wie auch hämotherapeutisch relevant sind fünf verschiedene Antigene (D, C, E, c, e). Die CDE Nomenklatur erfolgt gemäß Robert Russel Race und Ronald Aylmer Fischer^{70,110}. Die Rh-Antigenmerkmale sind serologisch mit entsprechenden Antikörpern nachweisbar. Das Rhesus-System wird durch zwei Gene kodiert: RHD und RHCE. RHD kodiert das serologische Merkmal RhD während die Merkmale C, c, E und e durch das RHCE-Gen kodiert werden. Personen mit dem RhD-negativen Phänotyp besitzen in der Regel kein RHD-Gen (homozygote RHD-Deletion). Ob von einer RhD-positiven oder RhD-negativen Blutgruppe gesprochen werden kann, entscheidet alleine das Vorhandensein des RhD-Antigens¹¹⁰. Antikörper gegen Antigene im Rh-System entstehen in der Regel erst durch Immunisierung im Rahmen einer Schwangerschaft oder Transfusion⁹⁴. Eine wichtige Ausnahme im Rh-System stellen Anti-E-Antikörper dar, welche bei Neugeborenen beziehungsweise Kleinkindern natürlich oder Infekt assoziiert vorkommen können^{47,111,159}.

Aufgrund der klinischen Relevanz des Rh-Systems sollten alle Transfusionen RhD-kompatibel erfolgen¹². Bekannt sind über 100 verschiedene Allele, zum Beispiel engl. *weak D* (verminderte Antigendichte, gerade noch nachweisbar im indirekten Coombs-Test (ICT)), engl. *partial D* (D-Antigen so verändert, dass eine Ausbildung von Anti-RhD-Antikörper möglich ist), engl. *DEL* (D-Antigene, welche sich nur mit Elutions- und Adsorptionsverfahren beziehungsweise genetisch nachweisen lassen)¹⁸⁸. Das RhD-Merkmal ist das immunogenste Antigen. Die durch inkompatible Transfusionen entstandenen Antikörper sind häufig IgG-Antikörper, seltener vom IgM-Typ. In nur wenigen Ausnahmen können IgA-Antikörper vorliegen^{12,188}. Durch den Übertritt von fetalem Blut in den mütterlichen Kreislauf, zum Beispiel durch den Geburtsvorgang, kommt es zur Bildung von Anti-RhD-Antikörpern der IgG-Immunglobulinklasse. Im Rahmen einer weiteren Schwangerschaft können Anti-RhD-Antikörper nach plazentarem Transport in die fetale Zirkulation gelangen und somit eine hämolytische Erkrankung beim Fetus und Neugeborenen hervorrufen. In Deutschland ist bei jeder Schwangerschaft die Bestimmung der AB0- und RhD-Blutgruppe der Mutter verpflichtend, diese muss in den Mutterschaftspass eingetragen werden. Bei RhD-negativen Müttern und negativem Antikörper-Suchtest wird in der 28.–30. Schwangerschaftswoche (SSW) eine Prophylaxe mit Anti-RhD-Immunglobulin (Rhesusprophylaxe) durchgeführt. Die Gabe von Anti-RhD-Immunglobulin wird nach der Entbindung wiederholt, wenn das Neugeborene RhD-positiv bestimmt wurde. Durch die prä- und postpartale Prophylaxe konnte die Inzidenz der hämolytischen Erkrankung beim Fetus und Neugeborenen deutlich gesenkt werden¹⁴³.

1.3.3. MNS-System

Erstbeschreiber des MNS-Blutgruppensystems waren Levine und Landsteiner im Jahr 1927^{95,96}. Heute sind circa 40 verschiedene Antigene bekannt, wobei vier Hauptantigene klinisch relevant sind. Hierzu zählen M, N, S und s. Anti-M und Anti-N gehören häufig der Immunglobulinklasse IgM an. Häufiger kommen diese Antikörper natürlich vor und reagieren schon bei einer Temperatur unter 37 °C. Sie führen nicht zu einer hämolytischen Reaktion bei Antigen positiver Erythrozytentransfusion und sind somit nicht transfusionsrelevant³⁴. Sind diese Antikörper im indirekten Coombs-Test bei 37 °C nachweisbar und gehören sie der Immunglobulinklasse IgG an, werden sie als klinisch relevant eingestuft und müssen bei Transfusionen berücksichtigt werden^{103,104,189}. Die

Antigene des MNS-Systems befinden sich auf Glykophorin A und Glykophorin B ¹¹⁰ (siehe Tabelle 1, S. 4).

1.3.4. Kell-System

Gebildet wird das Kell-System durch Membranglykoproteine auf der Oberfläche der Erythrozytenmembran. Das K-Antigen ist ebenso wie das RhD-Antigen sehr immunogen. Deshalb steht es in seiner Bedeutung in der Transfusionsdiagnostik hinter dem AB0- und dem Rhesus-System an dritter Stelle. Inkompatible Transfusionen bei Patientinnen und Patienten mit Anti-K-Antikörpern können zu sehr schweren hämolytischen Transfusionsreaktionen führen ¹⁴². Das im Serum einer Patientin mit rezidivierenden Aborten namens Mrs. Kell im Jahr 1946 nachgewiesene Anti-K führte zur Namensgebung des Kell-Blutgruppensystems. Drei Jahre später fanden Levine et al. (1949) einen weiteren Antikörper im Serum einer Mutter, deren Kind postnatal an einer hämolytischen Erkrankung litt. Der Name der Mutter, Cellano, war namensgebend für das zweite Antigen im Kell System ^{98,183}. Die Antikörper im Kell-System, die durch eine Alloimmunisierung gebildet werden, gehören meistens der Immunglobulinklasse IgG1 an ¹⁰³. In diesem System sind mittlerweile über 20 Antigene bekannt, wobei die antithetischen Hauptantigene K und k (Cellano), Js(a) und Js(b), sowie Kp(a) und Kp(b) sind ¹⁰³. Beide Merkmale K und k werden kodominant weitervererbt. Bei der Blutgruppenbestimmung wird in der Regel nur das K-Merkmal bestimmt ¹². Es können die drei verschiedenen Phänotypen K-neg. (kk), mischerbig K-pos. (Kk) und reinerbig K-pos. (KK) unterschieden werden. Mehr als 90 % der Menschen in Mitteleuropa sind K-negativ (kk), 8 % der Menschen sind mischerbig K-positiv (Kk) und können somit K-positiv und K-negative Erythrozytenkonzentrate erhalten. Etwa 2 % der Bevölkerung sind reinerbig K-positiv (KK) und können daher Anti-k bilden, was aufgrund der niedrigen Immunogenität dieses Antigens k selten vorkommt ¹⁴². Falls doch ein Anti-k im Serum nachgewiesen wird, müssen diese Patientinnen und Patienten mit (KK)-Erythrozytenkonzentraten versorgt werden, was ein erhebliches Versorgungsproblem aufwirft, da nur 2 % der Spender homozygot für K sind ¹⁸³. Natürlich vorkommende Anti-K-Antikörper sind selten. Bei Vorhandensein eines Anti-K-Antikörpers im Serum ohne vorherige Transfusion oder Gravidität ist am ehesten Krankheit oder Infektion ein Trigger ¹⁴². Das K-System hat nicht nur eine blutgruppenbestimmende Eigenschaft, sondern ist eine funktionsbildende Struktur. Dessen Fehlen beziehungsweise Verlust führt zu einem

extrem seltenen McLeod-Phänotyp, wodurch es zu einer Akanthozytose mit hämolytischen Krisen kommen kann^{3,4}.

1.3.5. Kidd-System

1951 fanden Allen et al. (1978)¹⁴¹ im Serum einer Patientin den irregulären erythrozytären Antikörper, der die Ursache einer hämolytischen Erkrankung bei dem Neugeborenen einer Wöchnerin in Boston war. Das Kind hieß „John Kidd“. Die Antikörper wurde Anti-Jk(a) genannt. Zu den Merkmalen des Kidd-Systems zählen Jk(a) und Jk(b), wobei Jk(a) und Jk(b) kodominant gegenüber Jk vererbt werden. Anti-Jk(b) kommt hingegen selten vor¹⁰³. Eine Besonderheit der Kidd-Antikörper ist, dass sie häufiger dem Ig3-Subtyp angehören, welcher in vitro eingeschränkt nachzuweisen ist. Außerdem fallen die Titer der Kidd-Antikörper nach einer stattgefundenen Sensibilisierung oft schnell wieder unter die Nachweisgrenze, sodass zuvor durchgeführte serologische Verträglichkeitsproben trotz Immunisierung zunächst negativ sein können. Bei inkompatibler Transfusion kommt es durch Boosterung in diesen Fällen zu einer verzögerten hämolytischen Transfusionsreaktion¹⁴² (siehe Kapitel 1.6, S. 15).

1.3.6. Duffy-System

Antigene im Duffy-System zählen zu den mittelstarken Immunogenen. Antikörper gegen Antigene im Duffy-System kommen nie natürlich vor. Sie werden durch Transfusionen, seltener durch Schwangerschaften, induziert^{103,142}. Die beiden antithetischen Hauptantigene hier sind Fy(a) und Fy(b)^{41,85}. Die Antikörper des Duffy-Systems gehören zur IgG-Klasse¹⁰³. Sie können durch Aktivierung des Komplementsystems eine hämolytische Transfusionsreaktion oder in seltenen Fällen eine hämolytische Krankheit beim Fetus und Neugeborenen auslösen¹⁴². Ihre Namensherkunft stützt sich auf einen Hämophilie-Patienten namens Joseph Duffy, der nach multiplen Erythrozytentransfusionen eine Alloimmunisierungsreaktion aufwies⁵. Rund 49 % der Kaukasierinnen und Kaukasier tragen die Blutgruppenkonstellation Fy(a+b+), 34 % Fy(a-b+) und 17 % Fy(a+b-). Die Konstellation Fy(a-b-) ist in der kaukasischen Bevölkerung mit <1 % sehr selten, dagegen in der afroamerikanischen Bevölkerung mit 68 % stark vertreten¹⁴².

1.3.7. Weitere transfusionsrelevante Antikörper

Weitere Blutgruppensysteme sind seltener transfusionsrelevant. Sie werden daher in dieser Arbeit nur tabellarisch aufgeführt (siehe Tabelle 1, S. 4).

Wird im Rahmen der prätransfusionellen Diagnostik ein Antikörper gegen eines der oben genannten Blutgruppensystemantigene nachgewiesen, muss vor jeder Transfusion die Spezifität des Antikörpers und seine transfusionsmedizinische Bedeutung bestimmt werden, um die Gefahr einer hämolytischen Transfusionsreaktion zu minimieren.

1.4. Alloantikörper gegen erythrozytäre Antigene

Die Exposition gegenüber fremden Erythrozytenantigenen im Rahmen einer Schwangerschaft, Transfusion oder Transplantation kann zur Bildung von Antikörpern führen. Antikörper gegen fremde Antigene werden Alloantikörper genannt. Alloantikörper können nach plazentarem Transfer eine hämolytische Erkrankung beim Fetus und Neugeborenen hervorrufen. Bei Transfusion inkompatibler Erythrozyten kann eine hämolytische Transfusionsreaktion auftreten. Die Schwere der Immunhämolysen ist abhängig von den verschiedenen Faktoren wie Antigendichte, chemischer Zusammensetzung, Expositionsdauer oder Reexposition und somit Boosterungsreaktion, Antikörper-Titer, Komplementaktivierung und weiteren Faktoren.

Erythrozytäre Antikörper werden je nach ihrer optimalen Reaktionstemperatur eingeteilt in Wärmeantikörper, die bei 37 °C reagieren (meist der Immunglobulinklasse IgG zugehörig) sowie in Kälteantikörper, welche bevorzugt zwischen 0–4 °C reagieren (Immunglobulinklasse IgM). Wärmeantikörper können auch bei niedrigen Temperaturen mit Erythrozyten reagieren, wobei Kälteantikörper keine Reaktionen bei 37 °C zeigen.

Im ABO-System werden reguläre Antikörper (Isoantikörper, Isoagglutinine) und irreguläre Antikörper (Alloantikörper) unterschieden. Durch einen Erstkontakt mit einem Fremdartigen durch Transfusion oder Schwangerschaft gelangen membrangebundene Fremdoberflächenantigene der Erythrozyten in den Kreislauf. Es kommt zur Bildung von Blutgruppenalloantikörpern gegen die Fremdartigen, die auch als primäre Immunisierung bezeichnet wird. Die Präsentation des Antigens steht hier am Anfang einer Wirkungskaskade des adaptiven Immunsystems. Die Präsentation des allogenen Materials erfolgt durch den Abbau der Erythrozyten im retikuloendothelialen System (RES). Immunkompetente Zellen wie dendritische Zellen, B-Lymphozyten und

Makrophagen nehmen Antigenmoleküle der Erythrozyten in sich auf und fragmentieren diese mithilfe proteolytischer Enzyme. Bruchstücke dieser Antigene werden anschließend über *Major Histocompatibility Complex*-(MHC)-Klasse-II-Moleküle T-Helferzellen^{80,147} präsentiert. Antigen-spezifische B-Lymphozyten werden durch Signale von T-Helferzellen zur Bildung von Blutgruppenalloantikörpern angeregt⁴⁹. Bei der primären Immunisierung gehören die Antikörper der Immunglobulinklasse IgM an. Durch die Aktivierung der Komplementkaskade bis C9 kommt es zur intravasalen Hämolyse. Der entstandene C5b-9-Komplex lagert sich in die Erythrozytenmembran ein und zerstört diese. Im Verlauf der Immunisierung erfolgt in der Regel innerhalb 2–4 Wochen durch T-Zellen-Hilfe ein Wechsel der Immunglobulinklasse zu IgG („Klassen-Switch“)⁴⁹.

Das Thema sekundäre Immunisierungsreaktion und Booster-Effekt wird in Kapitel 1.6, S. 15 näher erläutert.

Erythrozytäre Antikörper können allerdings auch ohne Kontakt mit fremden Erythrozytenantigenen gebildet werden. Diese Antikörper gehören zu den natürlichen Blutgruppenantikörpern. Kreuzreaktive Strukturen wie zum Beispiel bakterielle Polysaccharid-Strukturen (engl. *Pathogen-associated molecular patterns*, PAMPS) und andere molekulare Strukturen, die einem Zielantigen der Oberflächenmerkmale von Erythrozyten ähneln, führen zu einer Heteroimmunisierung^{43,52}. Natürliche Antikörper gehören oft der IgM-, teils der IgG- und seltener der IgA-Klasse an. Klinisch relevante Blutgruppenisoagglutinine sind Anti-A und Anti-B, welche natürlich im menschlichen Körper vorkommen^{43,137}. Laut Laura Dean (2005)⁴³ lässt sich diese auf eine inapparente Immunisierung durch A- und B-ähnliche Antigene auf Darmbakterien, die im Magen-Darm-Trakt verbreitet vorkommen, zurückführen und wird mit dem enteralen Kostaufbau des Kindes in den ersten Lebensjahren begünstigt¹⁰³. Es lässt sich ein exponentieller Anstieg der jeweiligen Antikörpertiter bis etwa zum zehnten Lebensjahr beobachten, welche mit der fortschreitenden Seneszenz wieder einen Abwärtstrends aufzeigen^{139,150}. Anti-A und Anti-B Antikörper sind häufig vom IgM-Immunglobulinklasse-Typ. Diese reagieren bei Umgebungstemperaturen stärker bei 4 °C als bei 37 °C. AB0-Antikörper der IgG-Immunglobulinklasse können ohne nachweisbare Immunisierung vorkommen, die besser bei 37 °C reagieren^{103,132}. Die IgG-Antikörper haben keine lebenslange Persistenz, sondern können intermittierend und auch unabhängig von vorangegangenen Schwangerschaften oder Transfusionen nachweisbar sein^{103,57}. Bei entsprechender

Blutgruppenkonstellation (meistens Mutter 0, Kind A1) kommen IgG-Antikörper auch als Auslöser einer hämolytischen Erkrankung des Neugeborenen infrage¹³².

1.5. Transfusionspraxis in Deutschland

Für eine sichere Übertragung von Blutkomponenten ist die Durchführung und Vorbereitung einer Erythrozytentransfusion mittels transfusionsserologischen Untersuchungen und Qualitätsprüfungen gemäß den deutschen Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie), Gesamtnovelle 2017 (Anpassungen 2019), und des Transfusionsgesetzes von 1998⁶⁶ unabdingbar¹². Die prätransfusionellen Untersuchungen lassen sich wie folgt gliedern:

Transfusionsmedizinische Anamnese mit der Frage nach vorherigen Transfusionen, bereits vorliegende/bekannte Antikörper, vorangegangene Schwangerschaften und/oder allogene/autologe Transplantation von Stammzellen oder Knochenmark.

Blutgruppenbestimmung im AB0- und Rh-System (RhD) und gegebenenfalls weitere Blutgruppenmerkmale zwischen Empfangenden und Spendenden müssen kompatibel sein⁶⁰. AB0-Antigene werden mit monoklonalen Testantikörpern (Anti-A, Anti-B) versetzt und die korrespondierenden AB0-Isoagglutinine mit Testerythrozyten (A1, A2, B, 0) bestimmt, bekannt als Serumgegenprobe¹². Diese kann bei Neugeborenen und Säuglingen bis zum Abschluss des dritten Lebensmonats zunächst vernachlässigt und der serologische Befund als vorläufig angenommen werden. Die RhD-Bestimmung erfolgt mit mindestens zwei Testreagenzien¹².

Der Antikörper-Suchtest im indirekten Coombs-Test bei 37 °C (siehe Kapitel 1.8.1, S. 25) ist Bestandteil der Blutgruppenbestimmung. Getestet wird auf irreguläre erythrozytäre Antikörper (außerhalb des AB0-Systems). Vor einer Transfusion mit Erythrozytenkonzentraten soll der letzte Antikörper-Suchtest in der Regel nicht länger als 72 Stunden zurückliegen. Kann eine Schwangerschaft oder erfolgte Erythrozytentransfusion in den letzten drei Monaten sicher ausgeschlossen werden, ist der Gültigkeitszeitraum eines negativen Antikörper-Suchtests in Deutschland rechtmäßig auf sieben Tage ausdehnbar¹². Gemäß der schweizerischen Transfusionsrichtlinien, kann die Gültigkeit eines negativen Antikörper-Suchtests im oben genannten Fall auf 21 Tage verlängert werden²⁰.

Die serologische Verträglichkeitsprobe mit Spendererythrozyten und Empfängerserum (Kreuzprobe) dient dem Nachweis klinisch relevanter blutgruppenserologischer Unverträglichkeiten zwischen Spendenden und Empfangenden (AB0-Inkompatibilität und Antikörper gegen private Erythrozytenantigene)^{12,60}.

Die Antikörper-Identifizierung/Antikörper-Differenzierung (siehe Kapitel 1.8.2, S. 25) dient dem Nachweis irregulärer Antikörper¹². Hierdurch ist die Antikörper-Spezifität im Serum durch eine größere Anzahl Testerythrozyten (8–13 Zellen) mit allen klinisch relevanten Erythrozytenantigenen in bekannter Verteilung zu ermitteln⁶⁰.

Die vollständige Bestimmung aller Rhesusmerkmale (mit monospezifischen Reagenzien sowie polyklonalen oder oligoklonalen Reagenzien im indirekten Coombs-Test) C, c, E, e und K ist mittels zweier verschiedener Testreagenzien durchzuführen^{12,103}.

Beim AB0-Identitätstest engl. *Bedside-Test* bestimmt die transfundierende ärztliche Person unmittelbar vor der Transfusion mittels mit Testseren beschichteter Testkarten die AB0-Blutgruppe der Patientin oder des Patienten am Patientenbett und vergleicht diese mit der Blutgruppe des Erythrozytenkonzentrats.

Zur Vermeidung einer iatrogenen Anämie ist gemäß den deutschen Richtlinien für Hämotherapie²⁹ bei Früh- und Neugeborenen die prätransfusionelle Diagnostik auf ein Minimum zu beschränken.

Der notwendige Antikörper-Suchtest und die serologische Verträglichkeitsprobe vor Erythrozytentransfusionen kann mittels mütterlichen Plasmas oder Serum unter Bestimmung der AB0-Blutgruppe der Mutter ermittelt werden. Grund hierfür ist das unreife Immunsystem der Früh- und Neugeborenen. Die Bildung erythrozytärer Antikörper ist im Regelfall nicht vor dem vierten Lebensmonat möglich^{61,93,102}. Bereits ab der 13.SSW ist der aktive diaplazentare Transport von maternalen IgG-Alloantikörpern zwischen Mutter und Fetus möglich, wodurch die passive Immunität der Früh- und Neugeborenen ermöglicht wird^{145,154}

Bei fehlendem mütterlichem Serum/Plasma erfolgt die oben genannte prätransfusionelle Diagnostik über das kindliche Blut. Bei Verwendung sogenannter Baby-Erythrozytenpräparate und fehlendem Nachweis irregulärer Antikörper im Serum/Plasma der Mutter, kann bis zur Vollendung der vierten Lebenswoche nach dem errechneten Geburtstermin auf die Wiederholung der Kreuzprobe und des Antikörper-Suchtests

verzichtet werden. Baby-Erythrozytenpräparate sind mehrere kleine Erythrozyteneinheiten, die durch Aufteilung eines Erythrozytenkonzentrats von möglichst wenigen Spenderinnen und Spendern hergestellt werden. Die wiederholte Transfusion von Erythrozyten aus der gleichen Ursprungskonserven soll das Risiko der transfusionsbedingten Infektionsübertragung und die Belastung mit Fremddantigenen für die Neugeborenen verringern. Bei Erythrozytentransfusion ausschließlich der Blutgruppe 0 kann auf den AB0-Identitätstest (Bedside-Test) verzichtet werden ²⁹.

1.6. Hämolytische Transfusionsreaktionen

Schwerwiegende unerwünschte Reaktionen beim Empfangen von Blutkomponenten werden mithilfe eines etablierten Meldesystems beim Paul-Ehrlich-Institut (PEI) erfasst (siehe Tabelle 4, S.18). Laut Hämovigilanzreport des PEI von 2018 ⁶⁴ haben sich in einem Beobachtungszeitraum von 21 Jahren (1997–2018) 126 Todesfälle nach der Übertragung von Blutkomponenten ereignet ¹²⁹. Im Zeitraum 1997–2018 sind dem PEI 366 bestätigte Fälle einer hämolytischen Transfusionsreaktion (akut und verzögert) gemeldet worden. Davon 17 mit tödlichem Verlauf. Ein Drittel der bestätigten Fälle waren verzögerte hämolytische Reaktionen ²⁹. Führende Ursachen schwerwiegender Transfusionsreaktionen sind heute allergische Reaktionen und Reaktionen mit pulmonaler Symptomatik, insbesondere die transfusionsassoziierte Volumenüberladung (*Transfusion associated circulatory overload*, TACO) ¹²⁹. Transfusionsreaktionen zeigen sich bei Empfangenden unmittelbar nach Erythrozytengabe oder nach sieben, selten nach bis zu 28 Tagen ^{60,67}. Das klinische Bild einer hämolytischen Transfusionsreaktion kann diffus und deren Symptome relativ unspezifisch sein. Unterschieden werden milde, schwere und lebensbedrohliche Anämien, die durch die hämolytische Transfusionsreaktion verursacht wurden ⁶⁷. Differenziert werden akute hämolytische Transfusionsreaktionen (AHTR), die sich innerhalb von 24 Stunden nach Transfusionsereignis manifestieren können, von zeitlich zum Transfusionsereignis verzögerten hämolytischen Transfusionsreaktionen (*Delayed haemolytic transfusion reaction*, engl. DHTR), die zwischen 24 Stunden und 28 Tagen nach Transfusion auftreten können ^{23,64}.

Die häufigste Ursache der akuten hämolytischen Transfusionsreaktionen sind die AB0-Fehltransfusionen ^{103,129}. Die engl. *major*-inkompatible AB0-Fehltransfusion ist mit einem Mortalitätsrisiko von 10 % für den Empfangenden assoziiert ¹³². Im

Beobachtungszeitraum von 1997–2018 führten Fehltransfusionen bei 16 Menschen zum Tod ¹²⁹.

Auslöser hämolytischer Transfusionsreaktionen können immunologische oder nicht immunologische Ursachen sein. Nicht immunologische Faktoren, welche eine akute hämolytische Transfusionsreaktion verursachen können, sind die falsche Lagerung der Erythrozytenkonzentrate oder das Hinzufügen falscher Adjuvanzen in die Erythrozytenkonzentrate, zum Beispiel einer 5 %-Dextrose-Lösung ⁴⁵. Immunologische Auslöser sind Alloantikörper oder Auto-Antikörper, die über die Aktivierung des Komplementsystems eine Kaskade in Gang setzen, die letztlich zur Hämolyse der Erythrozyten führt ¹⁰³.

Geschwindigkeit und Schweregrad der Hämolyse sind abhängig vom Antikörper-Titer, der Immunglobulinklasse (IgM wirksamer als IgG), der Antigendichte auf den Erythrozyten, der Aktivierung des Komplementsystems, der Beschaffenheit des Monozyten-Makrophagen-Systems oder der Art der Hämolyse (intra- oder extravasale Hämolyse) ¹⁰³ (siehe Tabelle 3, S. 17).

Vielfältige Symptome einer akuten hämolytischen Transfusionsreaktion sind Fieber, Frösteln/Schüttelfrost, Gesichtsrötung, Rückenschmerzen oder Flankenschmerzen, gastrointestinale Manifestationen (abdominelle Schmerzen, Übelkeit/Erbrechen, Diarrhoe), Hypotension, Blässe, Ikterus, Oligo-/Anurie, diffuse Blutungen und dunkler Urin ⁶⁴.

Häufige Laborconstellationen: Hämoglobinämie, Hämoglobinurie, Hämolyse Parameter (erniedrigter Serum-Haptoglobinspiegel, Anstieg des unkonjugierten (indirekten) Bilirubinspiegels und Anstieg des Lactatdehydrogenase (LDH)-Spiegels) ^{59,29}.

In Abhängigkeit vom jeweiligen Antikörper-Typ kann zwischen intravasaler und extravasaler Hämolyse unterschieden werden. Ort dieser Hämolyse ist vorwiegend das RES ¹⁸⁸.

Tabelle 3 Übersicht über die intravasale und extravasale Hämolyse ¹⁰³

	<i>Intravasale Hämolyse</i>	<i>Extravasale Hämolyse</i>
Auslöser	IgM-Antikörper + Isohämolysine Anti-A und Anti-B vom IgG-Typ <ul style="list-style-type: none"> • anti-H(Bombay-Phänotyp) • Anti-Jk(a) • anti-P, P(1), Pk ¹³² 	Inkomplette IgG-Antikörper des: <ul style="list-style-type: none"> • K-System • AB0-System • Duffy-System • Rhesus-System ¹³²
Komplementaktivierung	Aktivierung bis C9	Fehlende oder nur inkomplette Aktivierung (bis C3)
Effekt / Verlauf	Zellinhalt der Erythrozytenmembran tritt aus /schwerer Verlauf	Intrarenaler und intrahepatischer Abbau der Erythrozyten durch Makrophagen/milder Verlauf
Symptome	Hämoglobinurie, Schock durch engl. <i>DIC</i> (Disseminierte intravasale Gerinnung)	Fieber und Frösteln

Eine extravasale Hämolyse wird häufig durch IgG-Antikörper hervorgerufen. Die Komplementaktivierungskaskade verläuft hierbei nicht vollständig ab. Sie endet bei der Stufe C3b beziehungsweise es findet eine inkomplette Aktivierung bis C3 statt. Die mit C3b-beladenen Erythrozyten werden über Makrophagen abgebaut, welche C3b-Rezeptoren besitzen. Bei der inkompletten Aktivierung lösen mit Antikörper beladene Erythrozyten eine antikörpervermittelte zelluläre zytotoxische Reaktion über mononukleäre Zellen aus.

Patientinnen und Patienten mit einer verzögerten hämolytischen Transfusionsreaktion (DHTR) haben meistens bereits einen Alloantikörper durch primäre Immunisierung gebildet, sei es durch vorangegangene Schwangerschaft oder durch vorherige Transfusionen. Meist ist in diesen Fällen der Antikörper-Titer unter die Nachweisgrenze gefallen. Dieses Phänomen wird in verschiedenen Studien häufig angegeben ^{139,140,150}: In 10–37 % der Fälle sind Antikörper im Median nach zehn Monaten nicht mehr nachweisbar (Antikörper-Evanescenz) ^{139,140,179}.

Wird ein/e Patient/in mit einem inkompatiblen Erythrozytenkonzentrat transfundiert, kommt es zum *Booster-Effekt* und einer sekundären Immunisierung, die zu einer verzögerten hämolytischen Transfusionsreaktion führen kann ⁴⁵. Die Inzidenz der DHTR liegt aktuell bei einem Fall pro 2500 Transfusionen. Bei sichelzellanämischen Patientinnen und Patienten liegt die Inzidenz für eine DHTR um 11 % höher als bei gesunden Patientinnen und Patienten ¹⁷². Studien haben gezeigt, dass über 70 % der Antikörper einige Jahre nach ihrer Entstehung nicht mehr nachweisbar sind ^{72,139,179}. Ein

Antikörper-Suchtest sechs Wochen nach Transfusion hatte eine hohe Sensitivität im Nachweis von Alloantikörpern¹³⁶. In einer prospektiven Studie von Tormey et al. (2008)¹⁷⁶ zeigte sich, dass Blutgruppenalloantikörper in einem zeitlichen Rahmen von 4–16 Wochen nach Transfusion serologisch nachweisbar werden.

Tabelle 4 Anzahl an registrierten und nach den Kriterien der IHN (Internationales Hämovigilanz Netzwerk) bestätigten Transfusionsreaktionen vom Jahre 1997–2018 in Deutschland, Daten übernommen aus Hämovigilanz-Bericht des Paul-Ehrlich-Instituts 2018¹²⁹

Transfusionsreaktionen	<i>Bestätigte Fälle von 1997–2018</i>
Allergische Transfusionsreaktion (ATR) Grad I- IV*	1506
Hämolytische Transfusionsreaktion (HTR)	366
Transfusionsassoziierte Lungeninsuffizienz** (TRALI engl. <i>Transfusion related acute Lung Injury</i>)	240
AB0- Inkompatibilität	219
Bakteriell übertragene Infektionen (TTBI engl. <i>Transfusion transmitted bacterial infection</i>)	128
Viral übertragene Infektionen*** (TTVI engl. <i>Transfusion-transmitted viral infection</i>)	64
Posttransfusionelle Purpura (PTTP)	18
Transplantat-gegen-Wirt-Reaktion (GvHD engl. <i>Graft versus Host Disease</i>)	3
Total	2544

* ab 2009 nur ATR Grad III und IV in die Auswertung einbezogen.

** ab 2013 nur wahrscheinliche und gesicherte TRALI als bestätigt aufgenommen.

*** enthält Meldungen zu Hepatitis-C-Virus, Hepatitis-B-Virus, Hepatitis-A-Virus, Hepatitis-E-Virus, Human Immunodeficiency Virus (HIV)

1.7. Alloimmunisierung

Die vollständige Vermeidung der Alloimmunisierung im Rahmen der Transfusion von Erythrozytenkonzentraten ist bei über 300 verschiedenen Blutgruppenantigenen schwierig. Hierfür müsste die Kompatibilität zwischen Spendenden und Empfangenden für alle bekannten Blutgruppenantigene überprüft werden (engl. *matching*). Aus logistischen Gründen ist das nicht möglich. Die höchste Alloimmunisierungswahrscheinlichkeit ist bei Antigenen mittlerer Frequenz zu finden, da hier das Zusammentreffen von Antigen-negativen Empfängerinnen und Empfängern und Antigen-positiven Spenderinnen und Spendern am wahrscheinlichsten ist ¹⁸⁸. Irreguläre Antikörper entstehen bei ca. 5–17 Patientinnen und Patienten pro 10000 transfundierte Erythrozytenkonzentrate; somit führt ein Erythrozytenkonzentrat mit einer Wahrscheinlichkeit von 0,1 %–0,2 % zur Alloimmunisierung ¹⁸⁰. Die häufigste Ursache für eine verzögerte hämolytische Transfusionsreaktion sind laut dem „*Annual-SHOT-Bericht (Serious Hazards of Transfusion, Hämovigilanzsystem aus Großbritannien)*“ Antikörper des Kidd-Systems ²², da der Titer dieser Antikörper nach primärer Immunisierung häufig unter die Nachweisgrenze fällt.

Adaptive Immunantworten werden durch Präsentation des Antigens durch professionelle Antigen-präsentierende Zellen (APZ) an T-Helferzellen initiiert. Der Mechanismus der Immunisierung gegen erythrozytäre Antigene ist im HOD-Modell untersucht worden. HOD-Mäuse exprimieren **H**en egg lysozyme, **O**valbumin und das humane Blutgruppenantigen **D**uffy an Erythrozyten. Im Rahmen der Immunisierung mit transgenen HOD-Erythrozyten werden in der Milz zwei Populationen von konventionellen dendritischen Zellen (cDCs, engl. *Cluster of Differentiation*) charakterisiert: cDC1-Zellen (XCR1+) präsentieren Fremdartigene an MHC-Klasse-I-Molekülen, während cDC2-Zellen (33D1+) Fremdartigene an MHC-Klasse-II-Molekülen präsentieren ³⁰. Die Studie von Calabro et al. (2016) ³⁰ mit dem transgenen HOD-Mausmodell zeigt auf, dass die Induktion einer Alloantikörperbildung nach Erythrozytentransfusionen durch Präsentation des Antigens durch cDC2-Zellen eingeleitet wird. Dieser Zelltyp wird auch als *Bridging channel dendritic cell* (33D1+) bezeichnet ³⁰. In murinen Modellen untersuchten Adams et al. (2011) ¹ die immunmodulatorischen Veränderungen bei einer neonatalen Alloimmunisierung von Blutgruppenalloantikörpern. Sie beobachteten eine deutliche Zunahme der regulatorischen T-Lymphozyten (CD8+ CD25+), die mit einer erhöhten Produktion von

IL-10 und IFN- α einhergeht. Bisher gab es keine Berichte beim Menschen, die die immunologischen Veränderungen beschreiben, die mit dem Prozess der Alloimmunisierung gegen Erythrozytenantigene einhergehen. In der vorliegenden Studie von Molina-Aguilar et al. (2020)¹¹² wurden in einer groß angelegten Kohortenstudie an Menschen die T- und B-Lymphozyten-Subpopulationen (CD3+, CD4+, CD8+) und das CD4/CD8-Verhältnis sowie regulatorische T-Lymphozyten (Treg) bei Patientinnen und Patienten mit verschiedenen hämatologischen Erkrankungen bestimmt, die mehrfachen Transfusionen von Erythrozytenkonzentraten ausgesetzt waren und Alloantikörper gegen Erythrozyten des Spendenden entwickelten. Die Lymphozyten-Subpopulationen wurden mit Patientinnen und Patienten unter den gleichen Bedingungen (hämatologische Erkrankung, Alter, Geschlecht, Polytransfusion) verglichen, die keine Anti-Erythrozyten-Alloantikörper entwickelten. Bei alloimmunisierten Individuen wurde in dieser Studie eine niedrigere Anzahl von CD4+-Lymphozyten, Treg CD4+-Zellen und eine höhere Anzahl von B- und CD8+-Lymphozyten sowie eine Abnahme des CD4/CD8-Verhältnisses beobachtet¹¹².

Es wird davon ausgegangen, dass Blutgruppenantigene nur unmittelbar nach der Transfusion allogen/immunogen sind. In verschiedenen Mausmodellen wurden dendritische Zellen für einige Tage unter bestimmten Bedingungen depletiert (zum Beispiel durch Injektion von Diphtherie-Toxinen)⁸⁹. Nach Depletion werden dendritische Zellen innerhalb weniger Tage durch Neubildung aus Vorläuferzellen ersetzt. Diese neugebildeten dendritischen Zellen aus dem Knochenmark führten zu keiner Alloantikörperbildung, obwohl die Blutgruppenantigene noch mehrere Wochen nach Transfusion im Organismus der Mäuse nachzuweisen waren⁸⁹.

Ein weiterer Faktor der Alloimmunisierung – neben spezialisierten dendritischen Zellen – ist die zeitgleiche Aktivierung dieser Zellen durch sogenannte engl. *Danger signals*. Dies konnte auch im Rahmen einer klinischen Studie an Patientinnen und Patienten mit Sichelzellanämie gezeigt werden²¹. Fasano et al. (2015)⁵⁶ zeigten, dass die Neubildung von Alloantikörpern nach Bluttransfusion häufiger beobachtet wird, wenn die Transfusion während einer inflammatorischen Episode erfolgte⁵⁶.

Es sind verschiedene Faktoren bekannt, die das Auftreten einer Alloimmunisierung begünstigen können (siehe Tabelle 5, S. 21).

Tabelle 5 Einflussfaktoren für eine Alloimmunisierung nach Erythrozytentransfusion

<i>Empfängende</i>
Genetische Faktoren engl. <i>Responder</i> Phänomen (unabhängig von Vorerkrankungen) [106]
Fähigkeit Fremdmerkmale zu präsentieren: Splenektomie bei Patientinnen und Patienten ohne vorherigen Blutgruppenantigen-Kontakt bzw. Antikörperbildung senkt Alloimmunisierung (Thalassämie) [9,107–109]
Vorerkrankte (höhere Alloimmunisierungsrate bei Hämoglobinopathien) [9,110–112]
Immunstatus zum Zeitpunkt der Transfusion [43,113]
Anzahl an Transfusionen bis zur 40. Transfusion Erstimmunisierung konstant [114,115]
Polymorphe Allele und Zusammensetzung des Rh-Systems [116,117]
<i>Spendende/ Präparatfaktoren</i>
Lagerung und Alter der Erythrozytenkonzentrate vor Transfusion ^{11,197}
Beschädigung der Erythrozyten aufgrund der Vorbehandlung ¹⁷⁷
Matching, Screening erweiterter Blutgruppenmerkmale zwischen Spendenden und Empfängenden senkt Alloimmunisierung ^{97,121,171}
Verunreinigung durch Lymphozyten oder Plättchen ^{18,149,157,168}
Polymorphe Allele und Zusammensetzung des Rh-System ^{35,157}

Die genetische Veranlagung des Blutempfangenden spielt eine Rolle in der Wahrscheinlichkeit, eine Alloimmunisierungsreaktion nach Exposition mit Blutgruppenantigenen zu zeigen. Unterschieden wird zwischen *Responder* und *Non-Responder*. In einer Studie von James Higgins et al. (2008) wurde gezeigt, dass 13 % der Bevölkerung zu den *Respondern* und 30 % zu den *Non-Respondern* zählen ⁸². In der Studie von Tatari-Calderone et al. (2013) wurde gezeigt, dass zwei einzelne Nukleotid-Polymorphismen in dem CD81-Gen bei Patientinnen und Patienten mit einer Sichelzellanämie mit Alloimmunisierung vergesellschaftet sind ¹⁷⁴.

Ebenso hat das *Matching* der Blutgruppenantigene einen erheblichen Einfluss auf die Alloimmunisierung. Die Alloimmunisierungswahrscheinlichkeit liegt bei dauerhaft transfusionsabhängigen Individuen beispielsweise mit hämato-onkologischen Erkrankungen (Hämoglobinopathien (Sichelzellanämie, Thalassämien)), Myelodysplastisches Syndrom (MDS)) zwischen 8 und 76 %, speziell bei Patientinnen und Patienten mit Sichelzellanämie bei 44 % ¹³². Die Arbeit von Tahhan et al. (1994) ¹⁷¹ zeigt, dass bei Erkrankten mit Sichelzellanämie, die dauerhaft auf Transfusionen

angewiesen sind durch ein *extended Matching* für weitere Blutgruppenmerkmale (C, c, E, e, c, E, e, K, S, Fy(a), Fy(b)) die Alloimmunisierungsrate von 35 % auf beinahe 0 % senken kann ¹⁷¹. Die Arbeit von LaSalle Williams et al. (2011) ⁹⁷ zeigt, dass durch *extended Matching* die Rate der Alloimmunisierung auf 7 % reduziert wird. Das Problem der hohen Alloimmunisierungsrate bei Erkrankten mit Sichelzellanämie lässt sich mitunter durch das polymorphe Rh-System erklären (siehe Tabelle 5, S. 21). Die Sichelzellanämie kommt häufig bei Patientinnen und Patienten mit afrikanischer Abstammung vor. Bekommen diese Transfusionen von nicht-afrikanischen Blutspendenden, in den USA häufig kaukasischer Abstammung, kommt es aufgrund einer Diskrepanz in der Ausprägung der Merkmale C, Fy(a), Fy(b), Jk(b) und S zwischen Personen der kaukasischen Bevölkerung, die häufig Antigen-Merkmalsträger sind, und der afroamerikanischen Bevölkerung, die diese Antigene selten ausprägen, zu einer Alloimmunisierungsreaktion ^{35,157}. Studien in Jamaika ¹²¹ zeigen, dass ein *Matching* nach ethnischer Herkunft zwischen Empfangenden und Spendenden ein dreimal niedrigeres Immunisierungsrisiko birgt, verglichen mit der Transfusionspolitik in Europa und Nordamerika (9 % gegenüber 27 %).

Zalpuri et al. (2012) ¹⁹⁸ zeigten in einer Studie, dass sich die Inzidenz der Alloimmunisierung zwischen Männern und Frauen über dem 45. Lebensjahr nicht unterscheidet. Bis zur vierzigsten Transfusion nimmt das Risiko der erstmaligen Alloimmunisierung bei beiden Geschlechtern zu (siehe Tabelle 6, S. 22) und bleibt danach annähernd konstant ^{71,198}.

Tabelle 6 Alloimmunisierungsinzidenz in Abhängigkeit der transfundierten Einheiten, Inhalte nach Zalpuri et al. (2012) ¹⁹⁸

<i>Erythrozytenpräparate [n]</i>	<i>Häufigkeit der Blutgruppenalloantikörper in [%]</i>
5	1,00
10	2,40
20	3,40
40	6,50

Alloimmunisierungsinzidenzen bei n = 3002 transfundierten Individuen, davon n = 1929 Männer und n = 1073 Frauen > 40. Lebensjahr

Ein möglicher Therapieansatz, Alloimmunisierung bei multipel transfundierten Patientinnen und Patienten durch eine Splenektomie zu verringern, wird kontrovers diskutiert. In einem Tiermodell von Benner et al. (1975) ¹⁴ stellte sich die Splenektomie als ein möglicher Ansatz zur Senkung der Alloimmunisierungsrate dar. Die

Arbeitsgruppe von Thompson et al. (2011) ¹⁷⁵ fand gegenteilige Ergebnisse. Eine Splenektomie bei Erkrankten mit Thalassämie war ein Risikofaktor für eine Alloimmunisierung. Die Alloimmunisierungsrate bei chronisch transfundierten Patientinnen und Patienten mit Splenektomie war hier verdreifacht.

In zahlreichen Mausmodellen, aber auch beim Menschen wurde gezeigt, dass der Immunstatus zum Zeitpunkt der Transfusion einen entscheidenden Einfluss auf die Alloimmunisierung haben kann ^{78,80,166}. Wurden Mäusen Adjuvantien in Form von engl. *polyinosinic polycytidylic acid* vor Transfusion gegeben, wurde in „Non-Responder“-Mausstämmen eine Alloimmunisierung beobachtet ¹⁶⁰. Patientinnen und Patienten, die aufgrund einer Organtransplantation mit Cyclosporin und Kortikosteroiden immunsupprimiert wurden, zeigten seltener eine Alloimmunisierung, auch bei Transfusion des immunogenen Rhesusmerkmals RhD bei RhD-negativen Empfängern ^{33,134}.

Tabelle 7 Häufigkeiten alloimmunisierter Patientinnen und Patienten bei bestimmten Grunderkrankungen

<i>Population</i>	<i>Alloimmunisierungsrate in [%]</i>	<i>Referenzen</i>
Männliche Militärveteranen	2,4	Tormey et al. (2008) ¹⁷⁶
Unselektierte Patientinnen und Patienten	2,9	Hoeltge et al. (1995) ⁸³
Erkrankte mit MDS	36,8	Guelsin et al. (2015) ⁶⁹
Erkrankte mit Thalassämie	29 bei Kindern 47 bei Erwachsenen	Aygun et al. (2002) ⁸
	18–76 bei AB0- und D-matching	Chou ST et al. ³⁶
Erkrankte mit Sichelzellanämie	5–11 zusätzlich C-, E-, K-kompatible Versorgung	Vichinsky et al. (2014) ¹⁸⁵ , Sakhalkar et al. (2005) ¹⁴⁶
	0–7 <i>Extended matching</i> (K, C, E, S, und Fy(a) oder Fy(b) Antigene)	Lasalle-Williams et al. (2011) ⁹⁷ , Tahhan et al. (1994) ¹⁷¹

Der Einfluss des Alters auf die Alloimmunisierungsrate ist umstritten. In einer Studie mit einem Patientenkollektiv mit Hämoglobinopathien zeigte sich, dass ein früher Beginn einer multiplen Transfusionstherapie (vor dem dritten Lebensjahr) die Rate der Alloimmunisierungsreaktionen im Vergleich zu Patientinnen und Patienten mit späterem Beginn chronischer Transfusionen senkte ^{140,161,185}.

Die Dauer der Lagerung und Vorbehandlung der Erythrozytenkonzentrate vor der Transfusion beeinflusst die Aktivität des Immunsystems beim Empfangenden und könnte

laut Baumgartner et al. (2009) ¹¹ die Ursache für dessen Immunreaktionen nach Bluttransfusionen sein.

Die biochemischen und physikalischen Veränderungen aufgrund der Dauer der Lagerung eines Erythrozytenkonzentrates könnten als proinflammatorische Faktoren im Empfänger wirken ^{11,79}. Stowell et al. (2013) ¹⁶⁷ zeigten an einem transgenen Mausmodell mit HOD-Mäusen, dass die Lagerung von Erythrozyten mit Vitamin C (Ascorbinsäure) als Antioxidans protektiv auf die Erythrozyten wirkt und somit die Wahrscheinlichkeit einer Alloimmunisierung beim Empfangenden verringert. Beeinflussende Faktoren sind hier Stoffwechselprodukte im Erythrozytenkonzentrat, die zum Beispiel durch Hämolyse (freiwerdendes Häm ist ein TLR4-Ligand) entstehen ^{11,118}.

In retrospektiven Studien wurde gezeigt, dass eine Leukozytendepletion der Erythrozytenkonzentrate im Vergleich zu nicht Leukozyten-depletierten Präparaten mit einer geringeren Alloimmunisierungswahrscheinlichkeit assoziiert ist. Leukozyten oder deren Stoffwechselprodukte könnten ein *Danger signal* darstellen und die Immunisierungswahrscheinlichkeit erhöhen ¹⁸. Eine groß angelegte retrospektive multizentrische Studie von Schonewille et al. (2005) ¹⁴⁹ fand gegenteilige Ergebnisse. Es gibt laut dieser Studie keinen Unterschied in der Inzidenz von Blutgruppenalloantikörpern nach Transfusion zwischen *Buffy coat*-leukoreduzierten Erythrozytenkonzentraten verglichen mit Leukozyten-depletierten Erythrozyten-Präparaten gegen HLA-Merkmale. Sie liegt laut Studie in beiden Gruppen bei 0,13–0,17 % pro Transfusion. Entscheidender sind nicht lagerungsabhängige Risiken für Alloimmunisierung von Blutgruppenantikörpern (siehe Tabelle 5, S. 21) ¹⁸⁴. Die Leukozytendepletion von Blutkomponenten ist heute in Deutschland Standard, da Nebenwirkungen wie febrile Reaktionen und die Übertragung von Cytomegalievirus durch diesen Prozess erheblich gemindert werden können ^{17,29,93}.

1.8. Nachweisverfahren erythrozytärer Antigene und Alloantikörper vor Transfusion

1.8.1. Nachweis von Iso- und Alloantikörpern

Im Jahr 1945 wurde von dem Engländer Robert Royston Amos Coombs ein Testverfahren entwickelt, von dessen Namen die hergeleitete Bezeichnung „Coombs-Test“ abstammt³⁹.

Beim direkten Antihumanglobulin-Test werden an Erythrozyten gebundene Immunglobuline und/oder Komplementfaktoren (C3d) nachgewiesen. Ist es *in vivo* beim Blutempfänger zu einer Beladung mit Immunglobulinen und/oder Komplementfaktoren gekommen, ist dieser Test positiv³⁹. Der direkte Coombs-Test findet Anwendung zur Detektion von Alloantikörpern nach beziehungsweise vor Transfusionen, Auto-Antikörpern als mögliche Ursache einer AIHA und bei Neugeborenen zur Diagnose eines MHN durch maternale IgG-Antikörper¹⁰³. Mit monospezifischen Seren gegen IgG, IgA, IgM, C3 und C3d kann eine Differenzierung an Erythrozyten gebundenen Humanglobulinen vorgenommen werden.

Der indirekte Coombs-Test dient dem Nachweis von freien erythrozytären Antikörpern im Serum/Plasma, die *in vitro* nach Inkubation bei 37 °C an Testerythrozyten gebunden werden. Nach der ersten Inkubation werden die Testerythrozyten gewaschen, um freies Humanglobulin zu entfernen. Die anschließende Inkubation mit Anti-Humanglobulin– auch Coombs-Serum genannt – führt zur Agglutination derjenigen Erythrozyten, die mit Immunglobulin und/oder Komplementfaktoren beladen wurden¹⁰³. Das Coombs-Serum überbrückt mithilfe des Antihumanglobulin-Tests die Distanz zwischen den mit inkompletten Antikörpern beladenen Erythrozyten¹⁰⁰.

1.8.2. Antikörper-Suchtest, Antikörper-Differenzierung

Zur Vermeidung hämolytischer Transfusionsreaktionen muss, laut Richtlinie Hämotherapie der Bundesärztekammer (BÄK), bei allen invasiven und operativen Eingriffen mit möglicher Transfusionsindikation ein aktuelles Antikörper-Suchtestergebnis vorliegen²⁹. Beim Antikörper-Suchtest wird das Patientenserum oder EDTA-Plasma (Ethylendiamintetraessigsäure bzw. Ethylendiamintetraacetat) mit Hilfe von bekannten Testerythrozytensuspensionen (engl. *Testzell-Panels*, Testzellen) bestehend aus mindestens zwei, besser drei Testerythrozytensuspensionen verschiedener

Spenderinnen und Spender der Blutgruppe 0 untersucht. Reagieren die Testerythrozyten mit den entsprechenden Antikörpern im Serum kommt es zu einer Verklumpung/Agglutination¹⁰³.

Das Antigenpanel, das auf den Testerythrozytensuspensionen vorliegen muss, ist in der Richtlinie Hämotherapie der BÄK²⁹ vorgeschrieben. Folgende Antigene sollen auf den Testerythrozyten ausgeprägt sein:

Rh-System: C, C_w, c, D, E, e, Kell-System: K, k, Duffy-System: **Fy(a)**, **Fy(b)**, Kidd-System: **Jk(a)**, **Jk(b)**, MNSs-System: M, N, **S**, **s**, P-System: P (1), Lewis-System: Le(a), Le(b)²⁹.

Die fettgedruckten Antigensysteme sollten im Antikörper-Suchtest möglichst homozygot (Antigen in hoher Dichte) vorliegen.

Es gibt verschiedene Techniken, die in der Antikörper-Suche Verwendung finden: die Röhrentechnik, die Säulenagglutination sowie die Festphasentechniken.

Bei den Säulen- und Festphasentechniken ist das Untersuchungsergebnis lange stabil im Vergleich zur Röhrentechnik, sodass es durch eine zweite Person mitbeurteilt werden kann. Pflichtbestandteil des Antikörper-Suchtests soll jedoch immer ein indirekter Antihumanglobulin-Test sein. Bei positivem Antikörper-Suchtest wird zur Identifizierung der Spezifität des irregulären Antikörpers ein erweitertes Testzell-Panel mit mindestens acht, meist elf Zellen verwendet (Antikörper-Differenzierung).

Zugrunde liegt allen Methoden eine Verdünnungsreihe 2ⁿ ohne einen linearen Zusammenhang der Stufen bei der Auswertung. Somit sind die Ergebnisse rein semiquantitativ und dienen zum Nachweis der Antikörper in den verschiedenen Verdünnungsstufen. Aufgrund der Unterschiede in Aufbau und Reaktionsweise der verschiedenen Blutgruppenalloantikörper müssen bei ihrem Nachweis unterschiedliche Methoden und Phasen verwendet werden. Zur Anwendung kommen der klassische Coombs-Dreistufentest bestehend aus Agglutinationstest, Supplement-Test und Coombs-Test. Es gibt weitere unterschiedliche Techniken, die die Sensitivität der Antikörper-Suchtests mittels Enzymzusätzen wie Papain, Bromelin und Ficin steigern. Die Auswertung erfolgt durch den Coombs-Test oder in neutraler Karte / Kochsalz (NaCl)¹⁸⁸. Der Papain-Coombs-Ansatz wird aufgrund seiner besseren Sensitivität für Rh- und Kidd-Antikörper als der Standard-Coombs-Ansatz verwendet. Allerdings sind

Enzymtechnik oder NaCl-Ansätze keine gängigen Untersuchungsverfahren in der Transfusionsdiagnostik, sondern stellen nur eine ergänzende Technik dar¹⁹⁰.

1.8.3. Serologische Verträglichkeitsprobe

Die serologische Verträglichkeitsprobe soll vor der Bluttransfusion eine mögliche Inkompatibilität durch gebildete Antikörper im Blut des Empfängenden, die möglicherweise gegen Erythrozytenantigene des Spendenden gerichtet sind, entdecken. Durch Supplement (Lösung mit niedrigen Ionenstärke, engl. *low ionic strength solution*) wie das LISS-Reagenz (früher Albumin-Zusätze) werden bestimmte Antikörper, vor allem Rh-Antikörper, in ihrer Reaktion verstärkt¹⁰³. Die Technik dieser Untersuchung entspricht dem des indirekten Coombs-Tests. Bei Neugeborenen (bis zur vollendeten vierten Lebenswoche nach dem errechneten Geburtstermin) kann auf eine wiederholte Kreuzprobe vor jeder Transfusion verzichtet werden, wenn bei Mutter und Kind keine irregulären Antikörper gefunden werden und der Antikörper-Suchtest unauffällig ist. In den ersten drei Lebensmonaten könnten immunhämatologische Diagnostika unter bestimmten Voraussetzungen mit mütterlichem Blut erfolgen²⁹.

1.9. Immunogenität von Antigenen

Die Immunogenität erythrozytärer Antigene wird durch die Frequenz der Alloimmunisierung gegen das jeweilige Antigen bestimmt und durch den Immunogenitätsindex ausgedrückt. Dieser Index lässt sich über die Kenntnis der Häufigkeit der Beobachtung des betreffenden Antikörpers, das Evaneszenzverhalten des Antikörpers und das mögliche Vorliegen einer Antigen-Inkompatibilität bei Transfusion, berechnen¹⁷⁸.

Die Alloimmunisierungsrate kann bei gleicher Antigenfrequenz völlig unterschiedlich sein. Zum Beispiel besitzen Lu(a) und Yt(b) nahezu einen identischen Immunogenitätsindex (etwa 8 %). Der Häufigkeitsnachweis der verschiedenen Antikörper ist ebenfalls divers: Anti-Lu(a) ist einer der zehn am häufigsten gebildeten irregulären Antikörper, während Anti-Yt(b) sehr selten nachgewiesen wird^{150,178}.

Vermindert nachgewiesene Antigene werden im engl. als *private antigens* bezeichnet. Hier ist die Wahrscheinlichkeit sehr gering, dass ein/e Patient/in immunisiert wird, selbst wenn die Immunogenität des Antigens eine Hohe ist.

Tabelle 8 Immunogenität von Blutgruppen-Antigenen (modifiziert nach Tormey et al. (2009))¹⁷⁸. Die angegebenen Werte sind relative Immunogenitäten im Vergleich zum Antigen K, dem die Immunogenität 1 zugeordnet wird.

<i>Antigen</i>	<i>*Immunogenitätsindex der Antigene</i>
K	1,00
Cw	0,70
Lu(a)	0,40
Jk(a)	0,37
E	0,35
Le(a)	0,16
P (1)	0,12
c	0,097
M	0,090
Le(b)	0,089
Fy(b)	0,064
C	0,055
S	0,013

**Antikörper-Potenzität korrigiert mit der Antikörper-Persistenz (Antigenpotenz, korrigiert um die Antikörper-Persistenz, dividiert durch die traditionelle Antigenpotenz)*

Tabelle 9 Evanescenzverhalten verschiedener Antikörper-Spezifitäten in einem Untersuchungszeitraum von 1978–1997¹⁵⁰

	<i>Verteilung der nachweisbaren Antikörper (auf die Gesamtzahl vorliegender Antikörper) in [%]</i>	<i>Medianer Zeitraum vom Zeitpunkt des ersten und letzten Nachweises (Evanescenz) [Monate]</i>
<i>Anti-K</i>	28	6
<i>Anti-E</i>	23	7
<i>Anti-D</i>	20	34
<i>Anti-Fy(a)</i>	9	6
<i>Anti-C</i>	8	6
<i>Anti-c</i>	5	8
<i>Anti-Jk(a)</i>	3	1
<i>Anti-S</i>	2	23
<i>Anti-Jk(b)</i>	1	3
<i>Anti-e</i>	1	39
<i>Anti-Fy(b)</i>	<1	
<i>Anti-s</i>	<1	

1.10. Fragestellung

Frühgeborene erhalten häufig Transfusionen mit Erythrozytenkonzentraten. Im Gegensatz zur transfusionsassoziierten Alloimmunisierung bei Erwachsenen ist die Immunisierung gegen Blutgruppenantigene bei Früh- und Neugeborenen ein seltenes Ereignis ^{2,46,61,75,102,105,108,127,159,168,169}. Postuliert wird eine Unreife des neonatalen Immunsystems, die dazu führt, dass bei Neugeborenen Alloantikörper nach einer Transfusion selten nachgewiesen werden ^{105,106,194}. In Übereinstimmung mit nationalen ²⁹ und internationalen Standards ^{15,116,119} werden prätransfusionelle Untersuchungen bei Neugeborenen in limitiertem Umfang durchgeführt. Dabei steht die Vermeidung einer iatrogenen Anämie durch wiederholte Blutentnahmen im Vordergrund. Die Evidenz für die Standards zur Durchführung der prätransfusionellen Untersuchungen bei Neugeborenen wird aus den Ergebnissen kleiner Kohortenstudien abgeleitet, die zwischen 30 und 90 Patientinnen und Patienten einschlossen ^{102,169}. Die bisher vorgelegten Studien sind daher zu klein, um seltene Ereignisse nachzuweisen. Ferner ist unbekannt, wie lange die postulierte Nicht-Reaktionsfähigkeit des neonatalen Immunsystems gegenüber Blutgruppenalloantigenen andauert.

Im Rahmen dieser Doktorarbeit soll die Inzidenz der Alloimmunisierung gegen erythrozytäre Blutgruppenantigene nach Transfusion, primär in einer Kohorte von mehr als 1000 Neugeborenen und Kleinkindern bis zum dritten Lebensjahr sowie bei Erwachsenen älter als 45 Jahre, untersucht und miteinander verglichen werden.

Ziel dieser Untersuchung ist es, festzustellen, ob und bis zu welchem Zeitpunkt nach der Geburt nicht mit einer Alloimmunisierung durch Blutgruppenantigene gerechnet werden muss.

Die Ergebnisse der Studie sollen eine evidenzbasierte Grundlage für Standards zur Minimierung der blutgruppenserologischen Untersuchungen bei Früh- und Neugeborenen liefern. Ziel ist die Vermeidung einer iatrogenen Anämie durch wiederholte Blutentnahmen bei zugleich sicherer Vermeidung hämolytischer Transfusionsreaktionen.

2. Material und Methoden

2.1. Studiendesign

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine retrospektive Kohortenstudie, in welcher das Alloimmunisierungsverhalten Erwachsener (über 45 Jahre) gegenüber einer Kohorte von Neugeborenen und Kleinkindern nach Transfusion von Erythrozytentransfusionen untersucht wurde. Die Patientendaten stammen aus dem Laborinformationssystem BBS, dem Blutempfängersystem registrierter Transfusionen am Institut für Klinische Immunologie und Transfusionsmedizin am Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH (UKGM), Standort Gießen.

Die statistische Untersuchung der Labordaten wurde mittels eines Votums der Ethikkommission des Fachbereichs Humanmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen (Aktenzeichen 06/15) genehmigt.

2.2. Datenerhebung und Kriterien der gebildeten Kollektive

Diese retrospektive Kohortenstudie umfasste Patientinnen und Patienten, die ihre erste Erythrozytentransfusion in einem Beobachtungszeitraum von 20 Jahren (1. Januar 1994–31. Dezember 2013) am UKGM, Standort Gießen in Deutschland, erhielten. Alle Patientinnen und Patienten wurden vor der Erythrozytentransfusion routinemäßig auf Allo- oder Autoantikörper untersucht. Die Ergebnisse des Antikörper-Screenings und der Antikörper-Identifizierungen wurden für 72 Stunden als gültig angesehen. Erythrozytentransfusionen innerhalb dieses Zeitrahmens wurden als eine einzelne Transfusionsepisode definiert. Individuen mit vorbestehenden Alloantikörpern und/oder Autoantikörpern wurden aus der Studie ausgeschlossen. Nur Patientinnen und Patienten mit vorliegendem Antikörper-Screening zwischen 7 und 365 Tagen nach der ersten Erythrozytentransfusion wurden eingeschlossen. Falls verfügbar, wurden alle nachfolgenden Antikörper-Screenings und Transfusionsepisoden ausgewertet. Alle Ergebnisse des Antikörper-Screenings, wie Patientenblutgruppe, Abnahmedatum, Blutgruppenkonstellation der Erythrozytenkonzentrate und vorhandene Blutgruppenalloantikörper der Patientinnen und Patienten vor Transfusion beziehungsweise nach Transfusion mit den jeweiligen Testdaten, wurden in dem Laborinformationssystem BBS, dem Blutempfängersystem des Instituts für Klinische Immunologie und Transfusionsmedizin am UKGM, Standort Gießen, gespeichert. Nicht

für alle reaktiven Antihumanglobulin-Tests waren die Protokolle der Antikörper-Differenzierung auffindbar. In diesen Fällen wurden archivierte Daten ein zweites Mal kontrolliert. Fehlende Werte wurden entsprechend in der Datenbank festgehalten. Bei Respondern wurde der Endpunkt der Nachuntersuchung, engl. *follow-up*, definiert als die erstmalige Entdeckung eines Blutgruppenalloantikörpers. Bei Non-Respondern wurde der Endpunkt definiert als die letzte Transfusion innerhalb des Beobachtungszeitraums, der eine Nachuntersuchung folgte. Die Vergleichskohorte bestand aus Erwachsenen, die 45 Jahre alt oder älter waren, um die Wahrscheinlichkeit einer schwangerschaftsinduzierten Alloimmunisierung zu minimieren. Die Beobachtungsgruppe waren Neugeborene und Kinder bis zum dritten Lebensjahr. Die prätransfusionelle Diagnostik und Bereitstellung kompatibler Erythrozytenkonzentrate erfolgte gemäß den deutschen Richtlinien für Hämotherapie⁶⁶.

Die Patientendaten wurden anschließend in Microsoft Excel-Tabellen exportiert und nach den unten genannten Kriterien ausgewertet. Die klinischen Indikationen für die Transfusion, Informationen über vorgängige Transfusionen an anderen Standorten, ethnische Herkunft oder vorgängige Schwangerschaften der einzelnen Patientinnen und Patienten waren nicht verfügbar.

Neben dem Geschlecht (weiblich (w)/männlich (m)) wurde das Alter zum Zeitpunkt der ersten Transfusion (in Tagen) erfasst. Die Beobachtungsgruppe umfasste alle Transfusionsfälle zwischen Geburt und Vollendung des dritten Lebensjahrs (Neugeborene- und Kleinkinder-Kohorte). Die Vergleichskohorte beinhaltete alle Transfusionsfälle von Erwachsenen zwischen dem 45. und 100. Lebensjahr. Eingeschlossen wurden alle Patienten, die ihre erste Transfusion am UKGM, Standort Gießen, im oben genannten Beobachtungszeitraum erhielten und ein vorheriger Antikörper-Suchtest max. 72 Stunden vor jeder Transfusion → **VORTEST** mit einem negativen Testergebnis einherging. Je Transfusion wurde ein **NACHTEST1** (Antikörper-Suchtest) im Zusammenhang mit dem Transfusionsfall erfasst. In der Regel erfolgt dieser Test am Tag der Transfusion beziehungsweise innerhalb ≤ 72 Stunden. Der Gültigkeitszeitraum lag im Rahmen dieser Studie (1990–2014) nach den Querschnitts-Leitlinien (BÄK) von 2014²⁹ bei 72 Stunden beziehungsweise drei Tage nach der Blutentnahme, wobei zu beachten ist, dass der Tag der Blutentnahme als Tag Null zählt und somit die Gültigkeit letztendlich auf 96 Stunden ausgedehnt werden konnte. Mit der

neuen Richtlinie zur Gewinnung von Blut von 2017²⁹ änderte sich dieser Zeitraum auf genau 72 Stunden, wobei der Tag der Blutentnahme als Tag Eins angesehen wurde. Zusätzlich wurde je Transfusion ein erster **NACHTEST2** erfasst und war der erste Antikörper-Suchtest nach der Transfusion. Dieser Test kann nach dem dritten Geburtstag erfolgt sein → Nachbeobachtungszeit: Zeit zwischen dem dritten Geburtstag und dem letzten Antikörper-Suchtest. Ein weiterer **NACHTEST3/letzter vorhandener Nachtest** wurde zusätzlich erfasst. Dies entsprach dem ersten Antikörper-Suchtest im Nachbeobachtungszeitraum mit positivem Ergebnis (Bewertung POS) oder der letzte vorhandene Antikörper-Suchtest, wenn die Durchsuchung keinen positiven Befund erbrachte. Der Test kann ebenfalls nach dem dritten Geburtstag erfolgt sein. Der NACHTEST3 wurde erfasst, um falsche Befunde im NACHTEST2 zu erkennen, zum Beispiel kein Material im NACHTEST2. Erfasst wurde die Anzahl der transfundierten Erythrozytenkonzentrate bis zum Ende der Beobachtungszeit der Studie sowie die Anzahl der Transfusionsepisoden bis zum Ende der **follow-up-Zeit*.

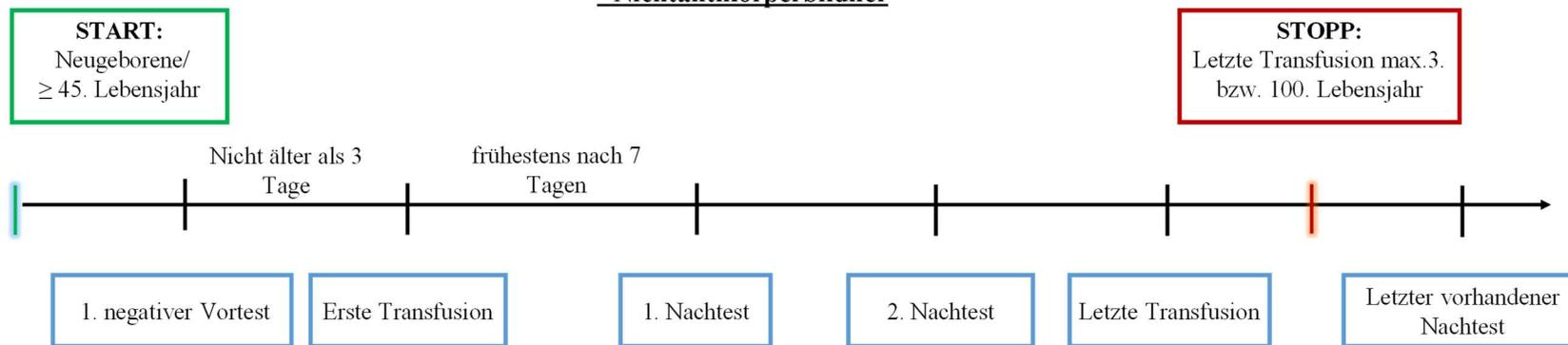
Studienendpunkt: ist der erstmalige Nachweis eines transfusionsrelevanten irregulären Antikörpers (Tage nach der ersten Transfusion). Voraussetzung ist die Angabe der Spezifität des Antikörpers mittels Antikörper-Differenzierung. Eingeschlossen wurde das Ergebnis der Antikörper-Suchtests frühestens ≥ 7 Tage nach der ersten Transfusion bis maximal 365 Tage nach der Transfusion (siehe Abb. 2, S. 33).

***Follow-up-Zeit Definition für Non-Responder:** Zeitpunkt der letzten Transfusion und des letzten vorhandenen Antikörper-Suchtests.

***Follow-up-Zeit Definition für Responder:** Zeitpunkt des erstmaligen Nachweises eines Alloantikörpers nach Transfusion.

- Weitere Zeitspannen zum Studiendesign sind in Abb. 3, S. 34 dargestellt.

Beobachtungszeitraum für Beobachtungs- und Vergleichskohorte, die zum ersten Mal am UKGM transfundiert wurden
- Nichtantikörperbildner



Beobachtungszeitraum für Beobachtungs- und Vergleichskohorte, die zum ersten Mal am UKGM transfundiert wurden
- Antikörperbildner

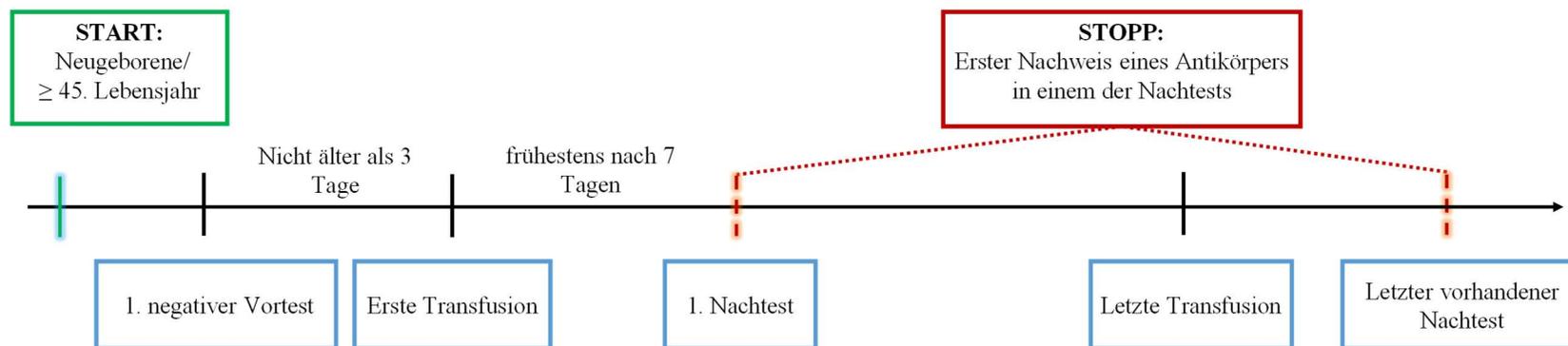


Abb. 2 Studiendesign der Beobachtungs- und Vergleichskohorte

Zeitspannen im Beobachtungszeitraum für Beobachtungs- und Vergleichskohorte

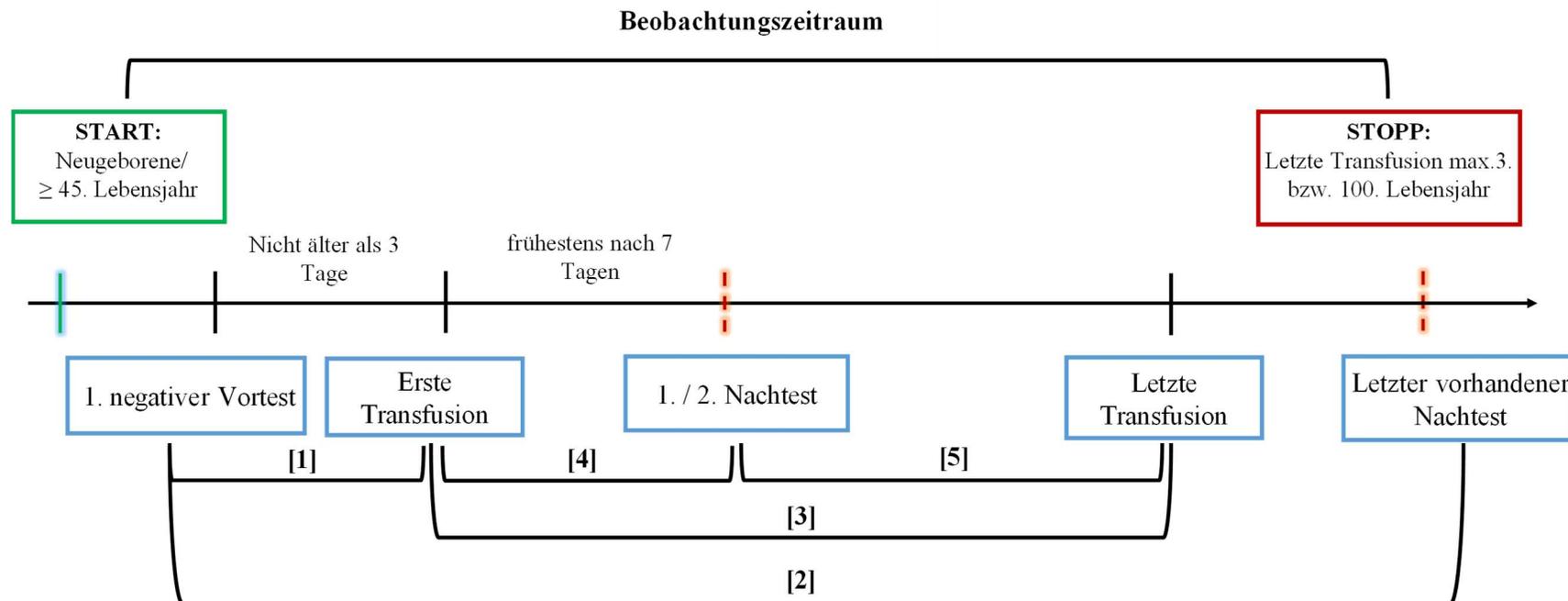


Abb. 3 Zeitspannen für Beobachtungs- und Vergleichskohorte [1] Alter bei erster Transfusion; [2] Alter bei letzter Transfusion; [3] Zeitspanne zwischen erster und letzter Transfusion; [4] Zeitspanne zwischen erster Transfusion und erstem Antikörper-Suchtest/Nachtest. Nach erster Transfusion frühestens nach sieben Tagen möglich; [4] Zeitspanne zwischen erster Transfusion und zweitem/ letzten vorhandenem Antikörper-Suchtest; [5] Zeitspanne zwischen 1. oder 2. Nachtest und letzter Transfusion

2.3. Antikörper-Suchtestverfahren

Im Beobachtungszeitraum von 1994–2013 gab es Änderungen in den Antikörper-Suchtestverfahren im immunhämatologischen Labor am Standort Gießen, welche in den nachfolgenden Kapiteln kurz vorgestellt werden.

2.3.1. Säulenagglutinationstechnologie mit drei Suchzellen (1994–2003)

In der vorliegenden Arbeit erfolgten die immunhämatologischen Untersuchungen zur Durchführung der Antikörper-Suche und Antikörper-Differenzierung in der Gelzentrifugationstechnik mit dem ScanGel-Kartensystem mittels ID-Karte LISS/Coombs + Enzyme Test (DiaCell I-II-III-Testerythrozyten) der Firma Bio-Rad DiaMed, Cressier sur Morat in der Schweiz.

Das Testprinzip entspricht der Sichtbarmachung einer Hämagglutination mittels einer Säulen-Agglutinations-Methode in einer Gelsäule. Sie wird mit mindestens zwei Testerythrozytensuspensionen mit bekanntem Verteilungsmuster durchgeführt, welche sich in ihrem Antigenmuster ergänzen¹⁰³. Hierzu werden CE-zertifizierte Reagenzien verwendet. Die Testerythrozyten müssen folgende Antigene ausprägen: C, Cw, c, D, E, e, K, k, Fy(a), Fy(b), Jk(a), Jk(b), S, s, M, N, P(1), Le(a), und Le(b). D, c, Fy(a), Fy(b), Jk(a), Jk(b), S, und s müssen homozygot vorliegen. Der Gelkartentest besteht aus einer Plastikkarte mit sechs Mikroröhrchen, die jeweils mit einer Gelmatrix mit Antihumanglobulin-Serum befüllt sind. In die oberste Kammer des Mikroröhrchens (Kavität oder engl. *Well* genannt) wird das Reaktionsgemisch (zu untersuchendes Serum/Plasma und Testerythrozyten) pipettiert und 30 Minuten bei 37 °C inkubiert. Bei positivem Antikörper-Suchtest kommt es zu einer Agglutination, sichtbar durch eine Verklumpung. Zu Beginn der Zentrifugation werden die Erythrozyten aufgrund von Größe und Gewicht sauber vom Serum und damit von allen ungebundenen Humanglobulinen getrennt. Danach treffen die Erythrozyten auf das Antihumanglobulin-Serum-Reagenz, welches in das Gel aufgenommen ist. Es kann zu einer Quervernetzung kommen, sofern eine Antigen-Antikörper-Reaktion stattgefunden hat. Die Agglutinate werden nach ihrer Größe und Festigkeit beim Zentrifugieren von der Gelmatrix aufgehalten. Bei Agglutination werden die Gel-Kügelchen am Herabsinken gehindert. Anschliessend wird ein roter Belag auf der Geloberfläche ersichtlich. Bei ausbleibender Agglutination werden nicht agglutinierte Erythrozyten bei der Zentrifugation durch die

feinen Poren des Gels gedrückt und sammeln sich am Boden der Säulen. Nach Zentrifugation ist dort ein roter Knopf ersichtlich ⁶⁰.

Der Enzym-Coombs-Ansatz (mit Bromelin) ist deutlich sensitiver in der Detektion von Rh- und Kidd-Antikörpern als der Standard-Coombs-Ansatz ¹⁸⁸. Die Enzymtechnik wird nur bei besonderen Fragestellungen der Antikörper-Differenzierung eingesetzt ⁸⁸. Bei besonderen Fragestellungen erfolgt der Antikörper-Suchtest mit NaCl-Karten in einem neutralen Gel. Hier können besonders gut Immunglobuline vom IgM-Typ detektiert werden. Die ID-Gelkarten (DiaMed AG, Cressier sur Morat, Schweiz) werden seit einigen Jahren routinemäßig in der Blutgruppenserologie verwendet.



Abb. 4 Testprinzip der Gelsäule der Firma DiaMed (modifiziert übernommen) ¹⁵² IgA-Nachweis auf Erythrozyten/Gelmatrix mit Agglutinate. Die Gelkarte besteht aus sechs trichterförmigen Vertiefungen. Die Gelsäulen sind mit Dextran Gel befüllt.

2.3.2. Festphaseverfahren mit drei Suchzellen (2004–2011)

Testprinzip des hier verwendeten Antikörper-Suchtests ist das Festphaseverfahren zur Identifizierung von Blutgruppenalloantikörpern (2004–2011) ⁹².

In der Solidscreen-Methode werden mit Antikörper und/oder Komplement-Komponenten beladene Testerythrozyten dem Antihumanglobulin-Serum zugeführt und anschließend in einer Rundboden-Mikrotiterplatte zentrifugiert. Während der Zentrifugation kommt es zu einer mehr oder weniger festen Kavitätenwandbindung. Das Antihumanglobulin-Serum (Solidscreen II der Bio-Rad Medical Diagnostics GmbH, Dreieich, Deutschland) bindet anschließend an die mit Protein A beschichtete Kavität. Protein A stellt eine zelluläre Struktur der Zellmembran des Bakteriums *Staphylococcus aureus* dar. Durch

das Protein A besteht eine hohe Bindungs-Affinität zum Fc-Teil der meisten Immunglobulinklassen¹³⁸. Ein Bindeglied zwischen der Wandkavität und bereits agglutiniertes Antihumanglobulin-Moleküle stellen sensibilisierte Testerythrozyten dar¹⁶. Eine Reaktion ist dann als positiv zu bewerten, wenn sich an der Kavitätenwand ein Zellrasen bildet. Ungebundene Erythrozyten sedimentieren nach dem letzten Zentrifugationsschritt auf den Boden der Kavität¹⁶.

Die erste Auswertung der Testergebnisse erfolgt durch den Analyseautomaten (Tango-Optimo AG-TL-265 der Biotest AG, Dreieich, Deutschland). Anschließend werden die Ergebnisse von einem/einer MTA (Medizinisch-technische/r Assistent/in) überprüft und an das Laborinformationssystem übermittelt⁹².

2.3.3. Gelkarte mit drei Testzellen (ab 2012)

Das Testprinzip entspricht dem oben beschriebenen Gelzentrifugationstest. Die automatische Kameraauswertung erfolgt durch einen Vollautomaten IH-100 der Bio-Rad Medical Diagnostics GmbH, Hercules, USA. Die Testergebnisse werden durch eine/n MTA und anschließend zur Übertragung in das Laborinformationssystem freigegeben.

2.3.4. Antikörper-Differenzierung mit Gelkarte und elf Testzellen (ab 1994)

Die Identifizierung der Antikörper-Spezifitäten bei positivem Antikörper-Suchtest im Antihumanglobulin-Test entspricht dem Testprinzip der Gelkarte (siehe Kapitel 2.3.1, S. 35). Die Antikörper-Differenzierung erfolgt mit elf Testerythrozyten.

Die Testerythrozyten besitzen unterschiedliche Antigenkonfigurationen und werden von den Herstellerfirmen so ausgewählt, dass die meisten einzelnen Antikörper sowie die meisten häufig auftretenden Antikörper-Kombinationen identifiziert werden können.

Die Auswertung beziehungsweise Befundung der Antikörper-Differenzierung ist ähnlich dem Antikörper-Suchtest in der Säulenagglutinationstechnik. Anhand der bekannten Antigenausstattung der Testerythrozyten und dem daraus entstehenden jeweiligen Reaktionsmuster in den Panelzellen kann auf die Spezifität der irregulären Antikörper im Patientenplasma geschlossen werden. Reagieren alle Panelzellen homogen, erklärt sich diese Reaktion am besten durch vorhandene Auto-Antikörper (Eigenansatz positiv) oder sehr ausgedehnt reagierende Alloantikörper (Eigenansatz negativ). Kann ein spezifischer Antikörper nicht eindeutig differenziert werden, müssen weitere Untersuchungen zur

Abklärung der Spezifität mittels Adsorptionstechnik, Elution (Säure, Wärme, Chloroform) und Festphaseverfahren durchgeführt werden. Bei beispielsweise Kälteantikörpern kann die Antikörper-Differenzierung zur Abklärung der Antikörper-Spezifität auch in verschiedenen Test-Milieus wie NaCl, Bromelin und bei unterschiedlichen Temperaturen durchgeführt werden. Zudem lässt sich anhand der Verdünnungsreihe der sogenannte Antikörper-Titer ablesen. Bei diesem Versuch wird das Serum so lange geometrisch verdünnt, bis es gerade noch zu einer sichtbaren Agglutinationsreaktion kommt. Die letzte Verdünnungsstufe mit gerade noch erkennbarer Agglutination ist der Antikörper-Titer.

2.4. Statistische Auswertung

Mittels GraphPad (Version 6.0, GraphPad Prism Software Inc, La Jolla California, USA) wurden die statistischen Analysen und graphischen Darstellungen erstellt. Deskriptive Statistiken und Abbildungen wurden teils mit Microsoft Excel (Version 2013, Microsoft Corporation, Redmond Washington, USA) und teils mit Microsoft Publisher (Version 2013, Microsoft Corporation, Redmond Washington, USA) erstellt. Die Excel-Datenbank wurde durch eine weitere Untersuchungsperson auf Vollständigkeit überprüft und für die anschließende statistischen Auswertungen in eine Microsoft Access-Datenbank (Version 2013, Microsoft Corporation, Redmond Washington, USA) konvertiert.

Alle Werte wurden stets mit Maximum, Minimum, Median und dem IQR (engl. *Interquartilrange*, Spannweite (25 %, 75 %)) angegeben. In der Kohorte der Erwachsenen wurde zur Schätzung der kumulierten Inzidenz der Alloimmunisierung in Abhängigkeit von der Anzahl transfundierter Erythrozyten eine Analyse nach Kaplan-Meier durchgeführt.

3. Ergebnisse

3.1. Kontrollgruppe Erwachsenenkohorte (45. bis 100. Lebensjahr)

3.1.1. Patientencharakteristika

In diese retrospektive Studie wurden, im oben genannten Zeitraum, insgesamt $n = 17084$ Patientinnen und Patienten in die Kohorte der Erwachsenen eingeschlossen, welche die Einschlusskriterien erfüllten.

Tabelle 10 Alter bei erster und letzter Transfusion in der Vergleichskohorte (Erwachsene 45–100-Jährige) im Untersuchungszeitraum (von 1994–2013)

	<i>Alter bei erster Transfusion (in Jahren) [a]</i>	<i>Alter bei letzter Transfusion (in Jahren) [a]</i>
Minimum	45	45
25%-Perzentile	61	62
Median	70	71
75%-Perzentile	77	78
Maximum	99	100

Altersverteilung 45 - 100 Jährige nach Jahren

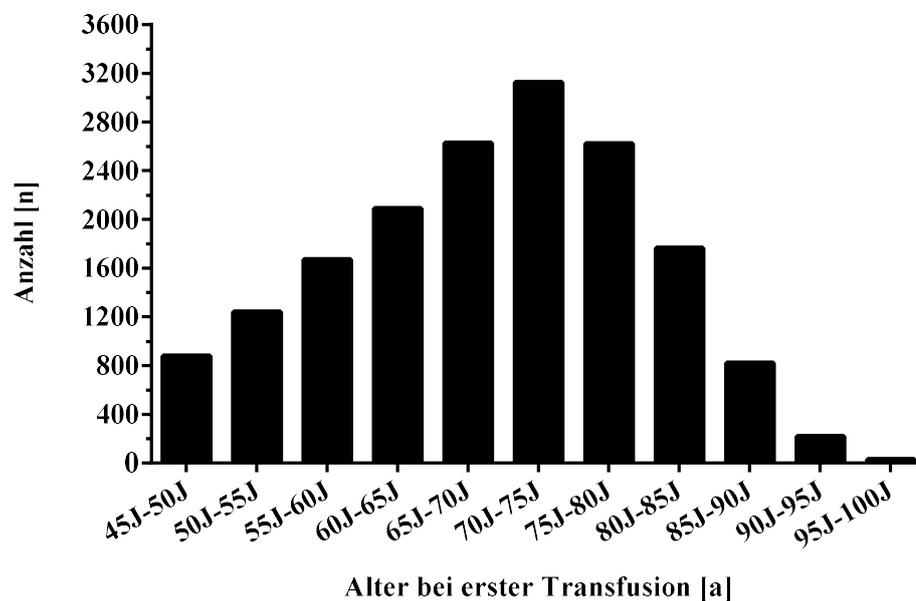


Abb. 5 Altersverteilung der Erwachsenenkohorte ($n = 17084$ Patientinnen und Patienten) bei erster Transfusion, Klassenbreite 5 Jahre [a]

Das Durchschnittsalter vor der ersten Transfusion lag bei 70 Jahren (Median, IQR 61–77 Jahre).

Tabelle 11 Geschlechterverteilung der Erwachsenenkohorte (n = 17084 Patientinnen und Patienten)

	<i>männlich</i>	<i>weiblich</i>	<i>nicht ermittelbar</i>
Anzahl [n]	5198	4070	7816

Bei den Patienten und Patientinnen, bei welchen das Geschlecht nicht ermittelbar war, ist auf eine fehlende Dokumentation und Übertragung in das Laborinformationssystem des jeweiligen Geschlechtes zurückzuführen und mit wenig Aufwand retrospektiv nicht mehr nachvollziehbar gewesen.

Die Patientinnen und Patienten der Erwachsenenkohorte hatten in zwei Transfusionsepisoden (Median) fünf Erythrozytenkonzentrate (Median, IQR 2–12) erhalten. Polytransfundierte Personen mit maximal 990 Transfusionsepisoden waren eine Seltenheit. Insgesamt erfolgten maximal 2208 Erythrozytentransfusionen je Patient/in. Im Median wurden die Transfusionen in zwei Transfusionsepisoden (Median, IQR 1–5) durchgeführt.

Tabelle 12 Anzahl der Erythrozytenkonzentrate und der Transfusionsepisoden je Patient/in in der Erwachsenenkohorte (n = 17084 Patientinnen und Patienten)

	<i>Erythrozytenkonzentrate (je Patient/in) [n]</i>	<i>Transfusionsepisoden (je Patient/in) [n]</i>
Minimum	1	1
25 %-Perzentile	2	1
Median	5	2
75 %-Perzentile	12	5
Maximum	2208	990

3.1.2. Inzidenz der Alloimmunisierung bei Erwachsenen

Im Beobachtungszeitraum wurde in der Kohorte der Erwachsenen bei 607 Patientinnen und Patienten (3,56 %) nach Transfusion mindestens ein Alloantikörper nachgewiesen.

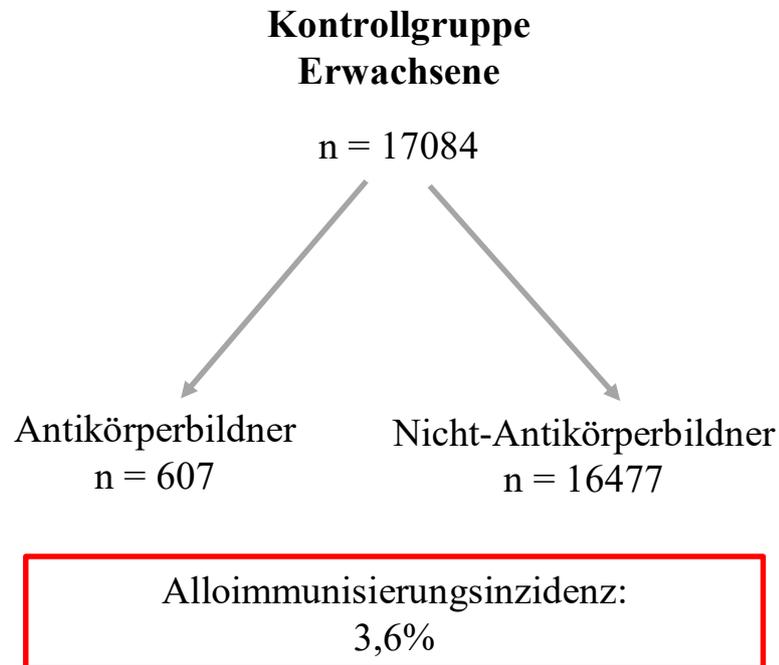


Abb. 6 Inzidenz der Alloimmunisierung bei Erwachsenen

In der Kohorte der Erwachsenen mit Alloimmunisierung lag eine gleichmäßige Verteilung der Geschlechter vor (siehe Tabelle 13, S. 41). Allerdings waren die Anzahl der nicht ermittelbaren Geschlechter mit $n = 306$ hoch.

Tabelle 13 Geschlechterverteilung bei den Antikörperbildenden ($n = 607$) in der Kohorte der Erwachsenen

	<i>männlich</i>	<i>weiblich</i>	<i>nicht ermittelbar</i>
Anzahl [n]	142	159	306

3.1.3. Häufigkeiten erythrozytärer Alloantikörper

Die Häufigkeit der beobachteten Blutgruppen-Spezifitäten der Alloantikörper entsprach den Ergebnissen anderer Autorinnen und Autoren für kaukasische Populationen (siehe Kapitel 1.9, S. 27). Der häufigste Antikörper war Anti-E, gefolgt von Anti-K.

Tabelle 14 Häufigkeiten der Blutgruppenalloantikörper in der Kohorte der Erwachsenen

<i>Antikörper-Typ</i>	<i>Anzahl [n]</i>	<i>Anteil an allen Antikörperbildenden [%]</i>
<i>Anti-E</i>	138	22,7
<i>Anti-K</i>	120	19,9
<i>Mehrere Alloantikörper (häufig Kombination aus Anti-D + Anti-E, Anti-C+ Anti-S oder Anti-K)</i>	99	16,3
<i>Anti-D</i>	57	9,4
<i>Anti-Lu(a)</i>	33	5,4
<i>Anti-Jk(a)</i>	32	5,3
<i>Anti-C</i>	21	3,5
<i>Anti-c</i>	20	3,3
<i>Anti-M</i>	16	2,6
<i>Anti-Cw</i>	13	2,1
<i>Anti-Fy(a)</i>	13	2,1
<i>Anti-Kp(a)</i>	10	1,7
<i>Anti-S</i>	10	1,7
<i>Anti-Jk(b)</i>	6	1,0
<i>Anti-Wr(a)</i>	5	0,8
<i>Anti-e</i>	4	0,7
<i>Anti-Co(b)</i>	2	0,3
<i>Anti-Fy(b)</i>	2	0,3
<i>Anti-Le(a)</i>	2	0,3
<i>Anti-Le(b)</i>	2	0,3
<i>Anti-N</i>	2	0,3
Total	607	

3.1.4. Kumulative Inzidenz der Alloimmunisierung

Tabelle 15 zeigt die Anzahl der Erythrozytenkonzentrate und die Anzahl der Transfusionsepisoden bei erwachsenen Patientinnen und Patienten mit Alloimmunisierung.

Tabelle 15 Anzahl der Erythrozytenkonzentrate und der Anzahl der Transfusionsepisoden bei erwachsenen Personen mit Alloimmunisierung

	<i>Erythrozytenkonzentrate (je Patient/in) [n]</i>	<i>Transfusionsepisoden (je Patient/in) [n]</i>
<i>Minimum</i>	1	1
<i>25%-Perzentile</i>	3	1
<i>Median</i>	6	2
<i>75%-Perzentile</i>	13	5
<i>Maximum</i>	149	83

Im Median hatten erwachsene Patientinnen und Patienten mit Alloimmunisierung sechs Erythrozytenkonzentrate (Median, IQR 3–13) innerhalb von zwei Transfusionsepisoden (Median, IQR 1–5) erhalten.

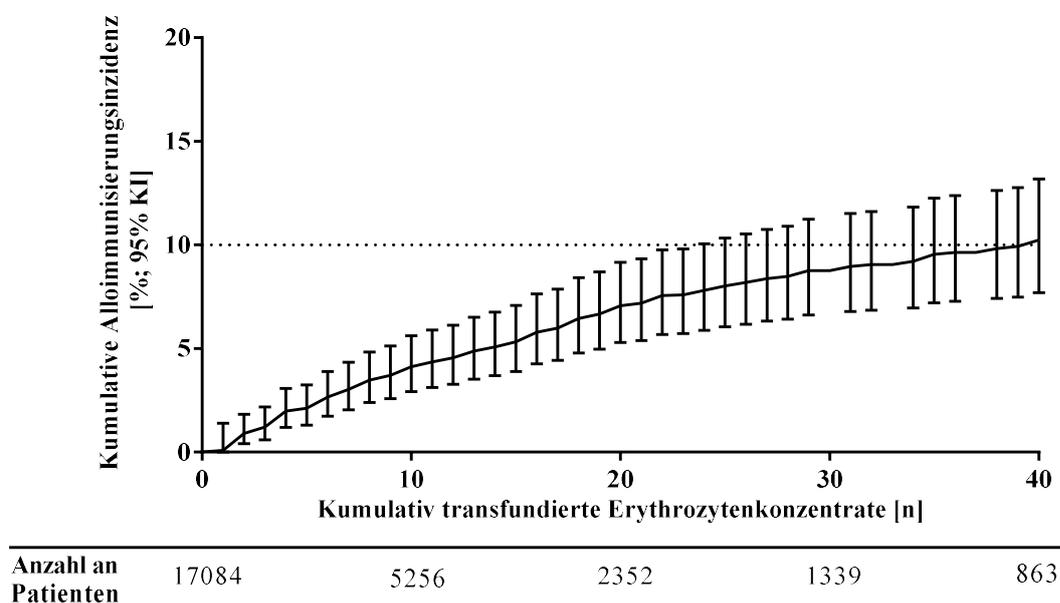


Abb. 7 Kumulative Inzidenz der Alloimmunisierung bei erwachsenen Patientinnen und Patienten [95% Konfidenzintervall (KI)] in Abhängigkeit von der Anzahl an Erythrozytenkonzentrate [n]

In Abb. 7 ist der Zusammenhang zwischen der Anzahl kumulativ transfundierter Erythrozytenkonzentrate und der Inzidenz der Alloimmunisierung dargestellt. Nach

Transfusion von zwei Erythrozytenkonzentraten bildeten 0,9 % der Erwachsenen einen Blutgruppenalloantikörper. Die Rate der immunisierten Patientinnen und Patienten nahm mit der Transfusion weiterer Erythrozytenkonzentrate zu. Nach 40 erfolgten Transfusionen konnte eine Abflachung der Kurve bei 10,24 % immunisierter Patientinnen und Patienten beobachtet werden (siehe Tabelle 16).

Tabelle 16 Kumulierte Alloimmunisierungsinzidenz [%] in der Erwachsenenkohorte bezogen auf die Anzahl [n] an transfundierten Erythrozytenkonzentraten.

<i>Erythrozytentransfusionen [n]</i>	<i>Alloimmunisierungsinzidenz [%]</i>	<i>Konfidenzintervalle [95 %]</i>
2	0,91	0,4–1,82
4	1,97	1,19–3,07
6	2,66	1,74–3,89
8	3,46	2,39–4,83
10	4,13	2,93–5,63
20	7,06	5,29–9,16
40	10,24	7,71–13,18

3.1.5. Transfusionscharakteristika

Im Beobachtungszeitraum wurde gemäß den Kriterien der vorliegenden Arbeit in der Kohorte der Erwachsenen der erste Antikörper-Suchtest sieben Tage nach der ersten Erythrozytentransfusion durchgeführt. Der letzte Antikörper-Suchtest erfolgte spätestens am 365. Tag. Bei einem Beobachtungszeitraum von 1993–2013 wurden bei negativen Antikörper-Suchtestergebnissen weitere Nachtestungen maximal bis 19 Jahre (Spalte [1] Maximum 7164 Tage) nach der ersten Transfusion durchgeführt.

Tabelle 17 Zeitspannen in der Kohorte der Erwachsenen

<i>Tage [d]</i>	<i>[1]</i>	<i>[2]</i>	<i>[3]</i>
Minimum	7	7	0
25%-Perzentile	33	14	0
Median	94	34	14
75%-Perzentile	258	99	121
Maximum	7164	365	7138

[1] Zeitspanne zwischen erster Transfusion und Nachtest 1

[2] Zeitspanne zwischen letzter Transfusion und Nachtest 1

[3] Zeitspanne zwischen erster und letzter Transfusion

Die *follow-up*-Periode der Nicht-Antikörperbildenden lag im Median bei 99 (Median, IQR 14–99) (Spalte [2]). Zwischen der ersten und letzten Transfusion lagen im Median 14 Tage (Spalte [3]).

Das Alter beim ersten positiven Antikörper-Suchtest lag im Median bei 72 Jahren, hier sind 50 % der Alloimmunisierungsreaktionen zu erwarten. Die *follow-up*-Periode der Antikörperbildenden lag im Median bei 52 Tagen (Median, IQR 16–138).

Tabelle 18 Zeitspannen in der Kohorte der Erwachsenen bei den Antikörperbildenden
n = 607 Patientinnen und Patienten

Tage [d], Jahre (a)	[1]	[2]
Minimum	16585 (46)	7 (0)
25%-Perzentile	22787 (63)	16 (0)
Median	26095 (72)	52 (0)
75%-Perzentile	28478 (79)	138 (0,4)
Maximum	34495 (95)	364 (~1)

[1] Alter bei erstem positiven Antikörper-Suchtest

[2] Zeitraum (letztes Transfusionsdatum und erster positiver Antikörper-Suchtest)

Tabelle 19 Zusammenfassung der Ergebnisse der Erwachsenenkohorte

<i>Charakteristika der Nicht-Antikörperbildenden</i>	<i>Personen-Anzahl [n]</i>
Transfundierte Personen gesamt (Nicht-Antikörperbildende und Antikörperbildende)	17084
Alter bei erster Transfusion in Jahren [a] (Median, IQR)	70 (61–77)
Männer	5198
Frauen	4070
Nicht ermittelbar	7816
Erythrozytenkonzentrate je Person (Median, IQR)	5 (2–12)
Transfusionsepisoden je Person (Median, IQR)	2 (1–5)
<i>follow-up</i> -Periode in Tagen [d] bei den Nicht-Antikörperbildenden (Median, IQR)	94 (33–258)
<i>Charakteristika der Antikörperbildenden</i>	<i>Personen-Anzahl [n]</i>
Antikörperbildende gesamt	607
Alloimmunisierungsinzidenz [%]	3,56
Alter beim ersten positiven Antikörper-Suchtest in Jahren [a] (Median, IQR)	72 (63–79)
Männer	142
Frauen	159
Nicht ermittelbar	306
Erythrozytenkonzentrate je Person (Median, IQR)	6 (3–13)
Transfusionsepisoden je Person (Median, IQR)	2 (1–5)
<i>follow-up</i> -Periode in Tagen [d] bei den Antikörperbildenden (Median, IQR)	52 (16–138)

3.2. Beobachtungsgruppe Neugeborene, Säuglinge, Kleinkinder (Geburt bis drittes Lebensjahr)

3.2.1. Patientencharakteristika

In der Fallkohorte der Neugeborenen und Kleinkinder wurden im oben genannten Zeitraum insgesamt $n = 1648$ Patientinnen und Patienten eingeschlossen, welche die Einschlusskriterien erfüllten.

Tabelle 20 Alter bei erster und letzter Transfusion in der Beobachtungsgruppe (Neugeborene und Kleinkinderkohorte 0–3-Jährige) im Untersuchungszeitraum von 1994–2013

	<i>Alter bei erster Transfusion in Tagen [d]</i>	<i>Alter bei letzter Transfusion in Tagen [d]</i>
Minimum	1	1
25%-Perzentile	6	28
Median	24	82
75%-Perzentile	141	255
Maximum	1094	1094

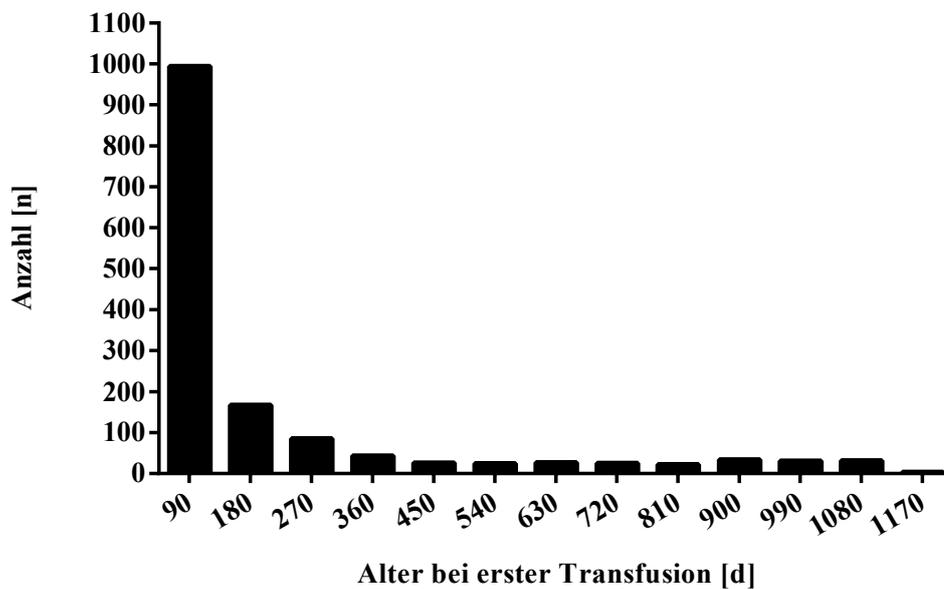


Abb. 8 Altersverteilung der Neugeborenen und Kleinkinder ($n = 1648$ Patientinnen und Patienten) bei der ersten Transfusion. Klassenbreite 90 Tage [d]

Das Durchschnittsalter vor der ersten Transfusion in der Beobachtungsgruppe lag bei 24 Lebenstagen (Median, IQR 0–90 Tage).

Tabelle 21 Geschlechterverteilung der Neugeborenen und Kleinkinder (n = 1648 Patientinnen und Patienten)

	<i>männlich</i>	<i>weiblich</i>	<i>nicht ermittelbar</i>
Anzahl [n]	582	491	575

Die Patientinnen und Patienten der Beobachtungsgruppe erhielten in zwei Transfusionsepisoden (Median) vier Erythrozytenkonzentrate (Median, IQR 2–7). Polytransfundierte Patientinnen und Patienten mit maximal 61 Transfusionsepisoden waren eine Ausnahme. Insgesamt erfolgten maximal 100 Erythrozytentransfusionen je Patient/in. Im Median erfolgten die Transfusionen in zwei Transfusionsepisoden (Median, IQR 1–5), vergleichbar mit der Kohorte der Erwachsenen.

Tabelle 22 Anzahl der Erythrozytenkonzentrate und der Transfusionsepisoden je Patient/in in der Beobachtungsgruppe (n = 1648 Patientinnen und Patienten)

	<i>Erythrozytenkonzentrate (je Patient/in) [n]</i>	<i>Transfusionsepisoden (je Patient/in) [n]</i>
Minimum	1	1
25%-Perzentile	2	1
Median	4	2
75%-Perzentile	7	5
Maximum	100	61

3.2.2. Inzidenz der Alloimmunisierung bei Neugeborenen und Kleinkindern

Im Beobachtungszeitraum wurde in der Kohorte der Neugeborenen und Kleinkinder bei einem Patienten und einer Patientin (0,12 %) nach Transfusion ein Alloantikörper nachgewiesen.

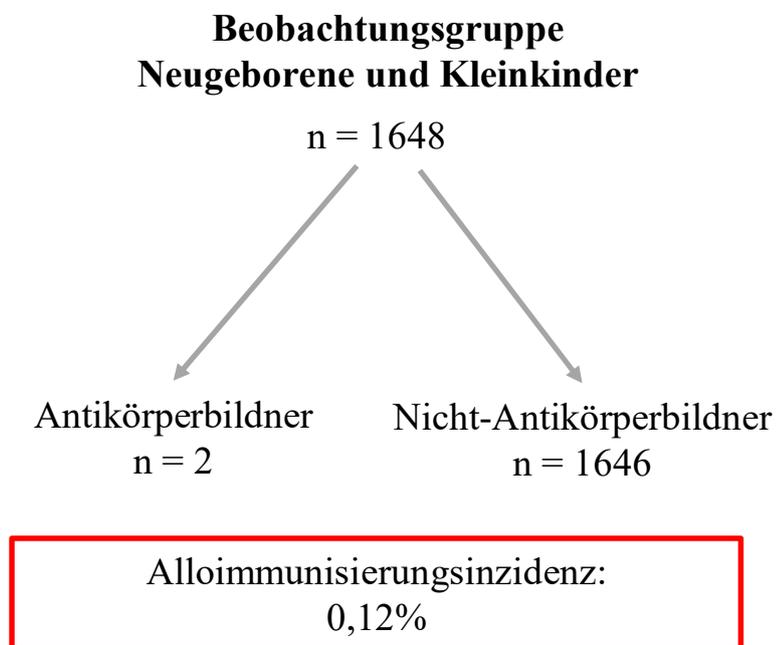


Abb. 9 Inzidenz der Alloimmunisierung bei Neugeborenen und Kleinkindern

In der Kohorte der Neugeborenen und Kleinkinder mit Alloimmunisierung lag eine gleichmäßige Verteilung der Geschlechter vor. Von n = 1648 untersuchten Neugeborenen und Kleinkindern kam es bei insgesamt einem Patienten und einer Patientin zu einer nachweisbaren Alloimmunisierungsreaktion.

Tabelle 23 Geschlechterverteilung bei den n = 2 Antikörperbildenden in der Kohorte der Neugeborenen und Kleinkinder

	<i>Anti-M</i>	<i>Anti-E</i>
Geschlecht	Mädchen	Junge

3.2.3. Häufigkeiten erythrozytärer Alloantikörper

In der Beobachtungsgruppe der Neugeborenen und Kleinkinder ließen sich nach Erythrozytentransfusion im Beobachtungszeitraum von 20 Jahren lediglich zwei Antikörperbildende nachweisen (siehe Tabelle 23, S. 49).

Tabelle 24 Transfusionscharakteristika der Neugeborenen und Kleinkinder mit Alloimmunisierung

	<i>Patient 1</i>	<i>Patient 2</i>
Erythrozytenkonzentrate [n]	1	4
Transfusionsepisoden [n]	1	3
Alter bei erster Transfusion [d]	10	464
Alter bei letzter Transfusion [d]	10	484
Alter bei erstem positivem Antikörper-Suchtest [d]	181	611
* <i>follow-up</i> -Periode[d]	171	127

**follow-up*-Periode [d] der Antikörperbildenden setzte sich zusammen aus der Zeitspanne Zeitpunkt der letzten Transfusion und dem Zeitpunkt des erstmaligen positiven Antikörper-Suchtest

Ein Mädchen im Alter von 181 Tagen bildete ein Blutgruppenalloantikörper der Spezifität Anti-M erstmalig 171 Tage (*follow-up*) nach einem Transfusionsereignis mit einer Erythrozyten-Einheit am elften Lebenstag. Dieser Antikörper reagierte stark in der Kochsalzphase des Antikörper-Identifikationstests und zeigte im indirekten Antihumanglobulin-Test nur Reaktivität mit homozygoten Testzellen.

Bei einem Jungen dieser Kohorte wurde im Alter von 611 Tagen ein Antikörper der Spezifität Anti-E nachgewiesen, nachdem ihm insgesamt vier Erythrozyteneinheiten in drei Transfusionsepisoden verabreicht worden waren. Die ersten zwei Erythrozytentransfusionen erhielt er im Alter von 464 Tagen, eine weitere im Alter von 480 Tagen und die letzte Transfusion im Alter von 484 Tagen. 127 Tage (~4 Monate) nach der letzten Transfusion gelang der Nachweis des oben genannten Blutgruppenalloantikörpers (*follow-up*-Periode > 100 Tage beziehungsweise 3 Monate).

3.2.4. Transfusionscharakteristika

Die Dauer zwischen erster Transfusion und letztem Antikörper-Suchtest lag im Median bei 96 Tagen (Median, IQR 39–209 Tage).

Tabelle 25 Zeitspannen der Neugeborenen- und Kleinkinderkohorte

Tage [d]	[1]	[2]	[3]
Minimum	7	7	0
25%-Perzentile	39	19	0
Median	96	50	14
75%-Perzentile	209	155	71
Maximum	1368	365	1067

[1] Zeitspanne zwischen erster Transfusion und Nachttest 1

[2] Zeitspanne zwischen letzter Transfusion und Nachttest 1

[3] Zeitspanne zwischen erster und letzter Transfusion

Der erste Nachttest nach der letzten Transfusion erfolgte in der Gruppe der Nicht-Antikörperbildenden spätestens am 365. Tag (Maximum [d] in der Spalte [2]). Die *follow-up*-Periode der Nicht-Antikörperbildenden lag im Median bei 50 Tagen (Median, IQR 19–155 Tage) (Range 7–365 Tage) (Spalte [2]). Bei circa 75 % der Patientinnen und Patienten lag im Median die Zeit zwischen der ersten und letzten Transfusion bei 14 Tagen (Median, IQR 0–71 Tage) (Spalte [3]).

Tabelle 26 Zusammenfassung der Ergebnisse der Neugeborenen und Kleinkinderkohorte

<i>Charakteristika der Nicht-Antikörperbildenden</i>	<i>Patientinnen/Patienten-Anzahl [n]</i>
Transfundierte Personen gesamt (Nicht-Antikörperbildende und Antikörperbildende)	1648
Alter bei erster Transfusion (Median, IQR)	24 (6–141)
Jungen	582
Mädchen	491
Nicht ermittelbar	575
Erythrozytenkonzentrate je Person (Median, IQR)	4 (2–7)
Transfusionsepisoden je Person (Median, IQR)	2 (1–5)
<i>follow-up</i> -Periode in Tagen [d] bei den Nicht-Antikörperbildenden (Median, IQR)	96 (39–209)
<i>Charakteristika der Antikörperbildenden</i>	<i>Patientinnen/Patienten-Anzahl [n]</i>
Antikörperbildende gesamt	2
Alloimmunisierungsinzidenz [%]	0,12

4. Diskussion

Zum Thema Alloimmunisierung gegen erythrozytäre Blutgruppenantigene nach Erythrozytentransfusion bei Neugeborenen und Kindern liegen bisher nur wenige Studien vor^{136,173,196,198,199}. Zudem ist die Anzahl untersuchter Patientinnen und Patienten in diesen Studien zu klein, um evidenzbasiert die Grundlage für Standards zur Minimierung der blutgruppenserologischen Untersuchungen bei Früh- und Neugeborenen anzupassen. In dieser großen, retrospektiven Kohorten-Studie mit Neugeborenen und Kleinkindern bis zum dritten Lebensjahr sowie einer Vergleichskohorte von Erwachsenen im Alter von ≥ 45 Jahren konnte in einem Beobachtungszeitraum von 20 Jahren vergleichend gezeigt werden, dass in den ersten Lebensmonaten von Neugeborenen beziehungsweise Kleinkindern eine Alloimmunisierung nach Erythrozytentransfusion nicht zu erwarten ist¹⁸¹. Dieses Ergebnis entspricht den Erkenntnissen der aktuell vorliegenden Literatur (siehe Tabelle 27 Vorhandene Studien zum Thema Alloimmunisierung bei Neugeborenen und Kleinkindern, S.90).

4.1. Studiendesign

Das Patientenkollektiv in der vorliegenden Arbeit setzt sich zusammen aus $n = 17084$ Patientinnen und Patienten der Vergleichskohorte und $n = 1648$ der Beobachtungsgruppe, welche auf ihre Bildung erythrozytärer Blutgruppenalloantikörper nach Erythrozytentransfusion untersucht und vergleichend gegenübergestellt wurden. Um vorab gebildete Antikörper verschiedener Genese weitestgehend ausschließen zu können, wurden nur Patientinnen und Patienten untersucht, bei denen bei Studieneinschluss kein Antikörper nachweisbar war. Ferner wurden durch die Wahl der Altersgruppe schwangerschaftsbedingte Immunisierungen weitgehend ausgeschlossen^{135,148,173,198}. Alle zuvor nicht-alloimmunisierten Patientinnen und Patienten zwischen 1994 und 2013, welche Erythrozytentransfusionen und Antikörper-Suchtests in der *follow-up*-Periode zwischen 7 und 365 Tagen nach Transfusion erhielten, wurden eingeschlossen. Die *follow-up*-Periode mit einem Mindestabstand von sieben Tagen zwischen erster Transfusion und erstem Nachtest (NACHTEST1) beruht auf verschiedenen Studien, die zeigen, dass das adaptive Immunsystem mindestens sieben Tage^{87,114,130} benötigt, um einen nachweisbaren Blutgruppenalloantikörper bei vorliegender Alloimmunisierung zu bilden. Der Beobachtungszeitraum wurde auf 20 Jahre festgelegt (1994–2013), sodass eine evidenzbasierte Änderung der prätransfusionellen Diagnostik in der

Transfusionspraxis bei Neugeborenen und Kleinkindern statistisch untermauert werden kann. Schonewille et al. (2000)¹⁵¹ haben die Alloimmunisierung bei Erwachsenen mit einem ebenfalls ausgedehnten Beobachtungszeitraum von 20 Jahren untersucht, allerdings mit einem nur kleinen Patientenkollektiv von n = 653 Patientinnen und Patienten. Die *follow-up*-Periode von 365 Tagen nach dem ersten Nachweis eines Antikörpers beziehungsweise nach der letzten Transfusion wurde gewählt, um mögliche Antikörper-Evaneszenzen mitzubersichtigen. In verschiedenen Studien wird von einer Antikörper-Evaneszenz von 10–37 %^{139,140,150,179} ausgegangen. In der Regel fällt der Titer bei evaneszenten Antikörpern im Median nach sieben Monaten unter die Nachweisgrenze. Die Evanescenz ist nicht von Alter, Geschlecht oder der Blutgruppenalloantikörper-Spezifität abhängig¹⁵⁰. Im Median wurden die Patientinnen und Patienten in der vorliegenden Arbeit am 34. Tag (Median, IQR 14–99 Tage) nach Transfusion mittels Antikörper-Suchtestverfahren untersucht. Somit ist zu erwarten, dass viele der gebildeten Antikörper nachgewiesen werden konnten. Einschränkend kommt allerdings hinzu, dass die Informationsquelle der vorliegenden Arbeit nur auf die vorliegenden Daten des Laborinformationssystems des UKGM am Standort Gießen beschränkt sind. Informationen über Transfusionen beziehungsweise Nachtestuntersuchungen, welche gegebenenfalls an anderen Einrichtungen der Krankenversorgung durchgeführt wurden, fehlen. Bei kurzstationärem Aufenthalt verringerte sich die Wahrscheinlichkeit, diese Patientinnen und Patienten nachzuuntersuchen. Dies ist auch zu erkennen an der *follow-up*-Periode der Patientinnen und Patienten mit Alloimmunisierung. Im Median benötigte ein Erwachsener nach Erhalt der Transfusion 52 Tage (Median, IQR 16–364 Tage)¹⁸¹ bis ein Blutgruppenalloantikörper nachgewiesen werden konnte. Ähnliche Ergebnisse liegen aus der Studie von Zalpuri et al. (2012)¹⁹⁸ vor, in der im Median nach 60 Tagen ein positiver Antikörper-Suchtest nach Erythrozytentransfusion vorliegt. Um in dieser Studie nicht das Risiko einzugehen, dass viele Blutgruppenalloantikörper unentdeckt bleiben, wurden weitere Nachtests (NACHTEST2) im Median 94 Tage (Median, IQR 33–258 Tage) nach Erhalt der Transfusion durchgeführt, die jedoch mit einem negativen Ergebnis einhergegangen sind (siehe Tabelle 18, S. 45). Die Studie von Schonewille et al. (2000) zeigt, dass die meisten der neugebildeten Blutgruppenalloantikörper im Median bis zu sieben Monate (etwa 210 Tage) nach Transfusion detektiert werden¹⁵⁰. Dieser Zeitraum wäre weitestgehend mit einer 75 %-Spannweite von 258 Tagen in der vorliegenden Studie abgedeckt.

In dieser Arbeit setzt sich das Patientenkollektiv der Erwachsenen zu 23,8 % aus Frauen und zu 30,4 % aus Männern zusammen mit einem Verhältnis von Frauen zu Männern von 1,2 zu 1. Fehlende Werte ohne mögliche Geschlechtszuteilung betragen 45,8 %. Bei einem Verhältnis von Frauen zu Männern von 1,2 waren Frauen gering überrepräsentiert^{149,198}. Aufgrund des retrospektiven Studiendesigns in der vorliegenden Arbeit, eines ausgedehnten Beobachtungszeitraums von insgesamt 20 Jahren und einer unzureichenden Dokumentation bei Transfusion, konnte die Zuordnung des Geschlechts nicht immer gelingen, wodurch ein hoher Anteil fehlender Werte entstand. Bei den Antikörperbildenden ist ein leichter Überschuss der weiblichen Patientinnen zu beobachten mit $n = 159$ gegenüber den Männern mit $n = 142$. Aktuelle Studien zeigen, dass keine Unterschiede zwischen Frauen und Männern in der Alloimmunisierungsinzidenz nach Erythrozytentransfusion vorliegen^{120,149,196}, wohingegen wenige Studien das weibliche Geschlecht als einen möglichen Risikofaktor für Alloimmunisierung ansehen^{10,10,83,91}. Aufgrund der aktuellen Studienlage wird die Alloimmunisierungsinzidenz der weiblichen und männlichen Patientinnen und Patienten in dieser Arbeit nicht gesondert betrachtet. Laut Schonewille et al. (2000)¹⁵⁰ sind Anti-D-Antikörper bei weiblichen Patientinnen, durch Rhesusinkompatibilitäten infolge vorausgegangener Schwangerschaften, häufiger als bei Männern. Viele Jahre nach den Schwangerschaften sind die Anti-D-Antikörper, trotz zuvor negativen Antikörper-Suchtests, zum Startpunkt der Studie nachweisbar gewesen. Informationen über vorangegangene Schwangerschaften fehlen in der vorliegenden Arbeit. Präformierte Antikörper und natürlich vorkommende, kältereaktive und/oder unspezifische Antikörper wurden hier ebenfalls ausgeschlossen. Durch das Ausschließen von Patientinnen und Patienten mit bereits präformierten Blutgruppenalloantikörpern könnten *Responder* in diesem Studiendesign unterrepräsentiert sein. Diese bilden mit größerer Wahrscheinlichkeit zusätzliche Antikörper. Somit ist das Ergebnis der vorliegenden Arbeit bezüglich der kumulativen Alloimmunisierungsrate von 10,24 % (95 % KI, 7,71 %–13,17 %)¹⁸¹ in der Kohorte der Erwachsenen möglicherweise unterrepräsentiert. Allerdings ist die Inzidenz der Alloimmunisierung insgesamt höher als in anderen Studien mit 2,8 %¹⁹⁶, 7,7 %⁵⁵ und 6,5 %¹⁹⁸ Alloimmunisierungsinzidenz. In der Arbeit von Evers et al. (2016)⁵⁵ wurden alle Patientinnen und Patienten mit einem Anti-D-Alloantikörper unabhängig von den Kriterien dieser vorliegenden Arbeit vorab ausgeschlossen. Dies wäre eine mögliche Erklärung für die niedrige Alloimmunisierungsinzidenz von lediglich 7,7 %. Anti-D-Alloantikörper machten in der

vorliegenden Studie 9,4 % aller nachgewiesenen erythrozytären Blutgruppenalloantikörper in der Erwachsenenkohorte aus ¹⁸¹.

4.2. Nachweis erythrozytärer Blutgruppenalloantikörper

Die Antikörper-Suchtestverfahren, welche am Institut für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie am UKGM, Standort Gießen, Anwendung fanden, haben sich im Beobachtungszeitraum der vorliegenden Arbeit geändert. Von 1994–2003 wurde der Antikörper-Suchtest mittels Gelkarten mit zwei Suchzellen durchgeführt. In den Jahren 2003–2012 kam eine automatisierte Auswertung über ein Festphasenverfahren mit drei Suchzellen zum Einsatz ¹⁵¹. 2012 wurde der Suchtest mit Gelzentrifugation mit drei Testzellen wieder eingeführt ¹⁵¹. Alle drei Testverfahren unserer Studie sind konform mit der deutschen Richtlinie für Hämotherapie ¹² und dem Transfusionsgesetz von 1998 ⁶⁶ und im Hinblick auf Spezifität und Sensitivität mit der Röhrchentechnik mit Albumin als Supplement ³⁷ vergleichbar. In Deutschland sind Spezifität und Sensitivität der Säulen- und Festphasentechniken besser ¹⁹⁰ als die vor 1994 verwendete Röhrchentechnik ¹⁹¹. Die Auswertung der Röhrchentechnik ist stark von der Erfahrung des Untersuchers abhängig, allerdings gelten in Großbritannien beide Testverfahren als gleichwertig ¹⁸⁶. Trotz unterschiedlich verwendeter Antikörper-Suchtestverfahren sind alle Testergebnisse gleich stark in ihrer Aussagekraft, womit kein Bias entstanden ist. Bei positivem Antikörper-Suchtest ist eine Kontrolle der Antikörper-Spezifität durch eine Antikörper-Identifizierung notwendig, die in unserer Studie seit 1994 mit elf Suchzellen durchgeführt wurde, wobei die Mindestanforderung bei Panels mit acht Suchzellen ^{149,195} liegt.

4.3. Erythrozytäre Alloantikörper in der Kontrollgruppe Erwachsene (45. bis 100. Lebensjahr)

Eine Fragestellung der Arbeit ist die Alloimmunisierungsinzidenz gegen erythrozytäre Blutgruppenantigene nach Transfusion, primär in einer Kohorte von mehr als 1000 Neugeborenen und Kleinkindern bis zum dritten Lebensjahr sowie bei Erwachsenen älter als 45 Jahre, die untersucht und miteinander verglichen wurden.

In der vorliegenden Arbeit wurden insgesamt $n = 17084$ Patientinnen und Patienten in der Kontrollgruppe der Erwachsenen (45–100-Jährige) untersucht. Im Vergleich zu den bisher vorliegenden Studien zum Thema erythrozytäre Alloimmunisierung nach Erythrozytentransfusion mit unter anderem $n = 3002$ und $n = 4500$ Patientinnen und Patienten^{10,196,198,198,199} ist die Studienpopulation der vorliegenden Arbeit deutlich größer. Im Median erhielt das Patientenkollektiv sechs Erythrozytenkonzentrate. Bei $n = 607$ Patientinnen und Patienten kam es zu einer Bildung erythrozytärer Blutgruppenalloantikörper nach Erythrozytentransfusion. Das entspricht einer Inzidenz von 3,6 %. In der Studie von Zalpuri et al. (2012)¹⁹⁸ mit $n = 3002$ untersuchten Patientinnen und Patienten konnte bei einer Gabe von sechs Erythrozytenkonzentraten im Median eine Alloimmunisierungsinzidenz von nur 1,8 % beobachtet werden. Die Inzidenz hängt maßgeblich von der Zusammensetzung des untersuchten Patientenkollektivs und vom Studiendesign ab. Wie oben bereits erwähnt, könnte die hier festgestellte höhere Inzidenz auf Anti-RhD-Antikörper zurückzuführen sein.

Die Verteilung der Spezifität der gebildeten transfusionsrelevanten Antikörper in anderen Arbeiten¹³² entspricht der Verteilung der verschiedenen Antikörper-Spezifitäten dieser Arbeit¹⁸¹ (mit $n = 138$ für Anti-E, $n = 120$ für Anti-K, $n = 99$ für multiple Antikörper und $n = 57$ für Anti-D). Sie ist abhängig von der Antigenfrequenz, Immunogenität und des Evaneszenzverhaltens des Antikörpers^{150,178,198}.

In dem untersuchten Patientenkollektiv der Erwachsenen konnten bei $n = 607$ Patientinnen und Patienten transfusionsrelevante erythrozytäre Blutgruppenalloantikörper durch einen positiven Antikörper-Suchtest und Antikörper-Identifizierung ermittelt werden. Das mediane Alter beim ersten positiven Antikörper-Suchtest lag bei 72 Jahren (Median, IQR 63–79 Jahre). Verglichen mit anderen Arbeiten lässt sich das mediane Alter, bei dem erythrozytäre Blutgruppenalloantikörper nach Erythrozytentransfusion nachweisbar werden, ungefähr auf den Zeitraum zwischen dem

59.–75. Lebensjahr begrenzen^{149,195,196,198}. Ein möglicher Erklärungsansatz könnte der mit dem steigenden Lebensalter statistisch erhöhte Bedarf an medizinischen Leistungen in dieser Altersgruppe aufgrund von Krankheit oder Krankenhausaufenthalten, gegebenenfalls mit operativen Eingriffen mit erhöhtem Bedarf oder Notwendigkeit von Erythrozyteneinheiten, sein¹⁶³. Häufig erhalten viele Patientinnen und Patienten in diesem Alter ihre erste Erythrozytentransfusion. Das Alter bei der ersten Erythrozytentransfusion in dieser Studienpopulation lag im Median bei 70 Jahren (Median, IQR 61–77 Jahre).

Andere Risikofaktoren¹⁰, die eine Alloimmunisierung nach Erythrozytentransfusion begünstigen können, sind ausgenommen von Alter und Geschlecht⁹¹ verschiedene vorliegende chronische Erkrankungen der Patienten und Patientinnen wie Hämoglobinopathien und Andere^{10,126}, der aktuelle Immunstatus beziehungsweise die Immunkompetenz^{56,73,78}, die Ethnie⁷⁶ und vorangegangene Operationen wie Splenektomien oder Stammzell- oder Organtransplantationen^{33,134} (siehe Kapitel 1.7 Alloimmunisierung, S. 19). In der vorliegenden Studie waren lediglich die Informationen zur anfordernden Station der Patientin oder des Patienten zum Zeitpunkt der Transfusion angegeben. Ein Rückschluss auf die vorliegende Erkrankung und/oder auf den Status des Immunsystems ließen sich hieraus nicht ziehen. Somit konnte in dieser Arbeit das Alloimmunisierungsverhalten nicht spezifisch und abhängig vom Status des Immunsystems oder der Grunderkrankung der jeweiligen Person zum Zeitpunkt der Transfusion untersucht werden.

Der Einfluss der Anzahl transfundierter Erythrozytentransfusionen beziehungsweise der Transfusionsepisoden auf die Alloimmunisierungsinzidenz konnte in der vorliegenden Arbeit untersucht werden. Im Median erhielten die Patientinnen und Patienten in diesem Kollektiv in zwei Transfusionsepisoden vier Erythrozytenkonzentrate. Im Median nach zwei Transfusionsepisoden, in denen insgesamt fünf Erythrozytenkonzentrate (Median) verabreicht wurden, konnten bei den Respondern transfusionsrelevante, erythrozytäre Blutgruppenalloantikörper nachgewiesen werden. Bis zur 40. Transfusion stieg die Alloimmunisierungsinzidenz an^{82,196} und näherte sich asymptotisch ihrem Maximum in der vorliegenden Arbeit kumulativ bei 10,24 % (siehe Abb. 7, S. 43)¹⁸¹. Nach der Gabe von zwei Erythrozytenkonzentraten ist bereits bei den meisten Respondern ein Blutgruppenalloantikörper nachweisbar. Dieses Phänomen wurde ebenfalls in der Studie

von Zalpuri et al. (2012) mit einer maximalen Alloimmunisierungsinzidenz von 6,5 % nach der 40. Erythrozytentransfusion beschrieben¹⁹⁸.

Die Zahl der chronisch transfundierten Patientinnen und Patienten war in dieser Studie gering. Ein/e Patient/in war eine Ausnahme mit der Verabreichung von 2208 Erythrozyteneinheiten in über 990 Transfusionsepisoden. Einige Studien zeigten einen Zusammenhang zwischen der Inzidenz und der Anzahl der Erythrozytentransfusionen^{121,140,185}. Die Studie von Zalpuri et al. (2014)¹⁹⁶ verglich Patientinnen und Patienten mit einer intensiven Transfusionshistorie mit denjenigen, die nicht intensiv transfundiert wurden und stellte keinen signifikanten Unterschied zwischen beiden Gruppen fest, welches auch den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit entspricht. Ähnliche Ergebnisse lieferten beispielsweise Studien von Cox et al. (1988) und anderen Autorinnen und Autoren^{40,156,184}. Daraus kann geschlossen werden, dass die Anzahl der (multiplen) Transfusionen nicht alleine als ausschlaggebender Risikofaktor für die Alloimmunisierung angesehen werden kann, sondern multifaktorielle Ursachen ausschlaggebend sind^{10,82} (siehe Kapitel 1.7 Alloimmunisierung, S. 19).

Hervorzuheben ist die mit $n = 99$ relativ hohe Zahl an multiplen vorliegenden Antikörpern in dieser Arbeit, was 16,2 % aller Alloantikörperbildenden entspricht¹⁸¹. Häufig zeigte sich eine Kombination aus Blutgruppenalloantikörpern des Rh-Systems beziehungsweise des Kell-Systems. Theorien für die Mehrfachantikörperbildung wurden publiziert¹⁵¹. Es gibt Studien, die eine Mehrfachbluttransfusion dafür verantwortlich machen⁸³. Wurde der erste Antikörper gebildet, ist die Wahrscheinlichkeit erhöht, weitere Antikörper zu bilden. Personen mit dieser Eigenschaft werden als *Responder* bezeichnet^{10,82}. In der vorliegenden Studie wurde in der Kohorte der Erwachsenen nach den Leitlinien für Hämotherapie²⁹ primär nach AB0- und RhD-kompatibel transfundiert⁶⁶. Das Risiko des Auftretens multipler Alloantikörper bei mehrfachtransfundierten Patientinnen und Patienten, zum Beispiel mit Hämoglobinopathien oder Immunsuppression¹⁹⁵, kann durch eine erweiterte Antigenberücksichtigung bei der Wahl der Erythrozytenkonzentrate³⁶ minimiert werden. Bei hohem Risiko für eine Alloimmunisierung (zum Beispiel Sichelzellanämie) können darüber hinaus Kell- und in ausgewählten Fällen Duffy- und Kidd-Merkmale berücksichtigt werden^{97,117}.

In der Arbeit von Eccles et al. (2015)⁵¹ wurde der Zusammenhang zwischen der Blutgruppe der Person und der Alloimmunisierungsinzidenz mit dem Ergebnis

aufgezeigt, dass RhD-negative Patientinnen und Patienten eine signifikant ($p < 0,0001$) höhere Alloimmunisierungsinzidenz aufweisen. In der vorliegenden Arbeit wurden Risikofaktoren der Alloimmunisierung bei Erwachsenen nicht untersucht, da dies nicht Teil der Fragestellung war.

4.4. Erythrozytäre Alloantikörper in der Beobachtungsgruppe Neugeborene und Kinder (bis zum dritten Lebensjahr)

In der vorliegenden Arbeit wurden über einen Beobachtungszeitraum von 20 Jahren insgesamt $n = 1648$ Neugeborene und Kleinkinder bis zum dritten Lebensjahr in die Untersuchung eingeschlossen. Von diesem Kollektiv konnte bei lediglich zwei Patientinnen und Patienten jeweils ein Blutgruppenalloantikörper nachgewiesen werden. Dies entspricht einer Alloimmunisierungsinzidenz von 0,12 %. Die vorliegenden Ergebnisse dieser Kohorte werden durch die wenigen vorhandenen Arbeiten mit geringen Fallzahlen bestätigt. Auch sie zeigen eine Alloimmunisierungsinzidenz < 1 % und eine fehlende Alloimmunisierung nach Erythrozytentransfusion bei Patientinnen und Patienten bis zum vierten Lebensmonat ^{61,102,102,127,168,168,169,173}. Die aktuellste Studie wurde im Juni 2020 ¹⁸¹ von der Arbeitsgruppe Tamai et al. ¹⁷³ in der Japan Society of Blood Transfusion and Cell Therapy veröffentlicht. Hierbei orientierten sich die Untersuchungen am Studiendesign der vorliegenden Arbeit ¹⁸¹. Untersucht wurde die erythrozytäre Alloimmunisierungsinzidenz nach Erythrozytentransfusionen über einen Beobachtungszeitraum von 14 Jahren (2001–2015) bei Neugeborenen < 1 Lebensmonat $n = 5253$ (A), Säuglingen von 1– < 12 Lebensmonaten $n = 4628$ (B), Kindern von 1– < 5 Jahren $n = 4035$ (C), 5–10-jährigen Kindern $n = 1708$ (E), jungen Adoleszenten von 10 bis < 15 Jahren $n = 1575$ (D) und Jugendlichen/jungen Erwachsenen von 15 bis < 20 Jahren $n = 1745$ (F). Die niedrige Alloimmunisierungsinzidenzen in der Gruppe der Neugeborenen (A) von 0 % und der Kleinkinder (B) von 0,46 % (ein alloimmunisierter Säugling [0,08 %] jünger als vier Monate und zehn Säuglinge [0,9 %] zwischen vier und < 12 Monaten) entsprechen den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit mit einer Alloimmunisierungsinzidenz von 0,12 % in der Fallkohorte Neugeborene und Kleinkinder bis zum dritten Lebensjahr ¹⁸¹. Karafin et al. (2018) ⁹¹ konnten ebenfalls eine Alloimmunisierungsinzidenz von lediglich 0,4 % bei $n = 251$ untersuchten Patientinnen und Patienten vor dem sechsten Lebensmonat aufzeigen. Es sind wenige Ausnahmen, die vor dem sechsten Lebensmonat eine Alloimmunisierung nach Erythrozytentransfusion

aufweisen (siehe Tabelle 27, S. 90 und Tabelle 28, S. 90). In der Literatur gibt es lediglich drei Fallberichte von Personen, die nach einer Erythrozytentransfusion Blutgruppenalloantikörper entwickelten: ein 18 Tage altes Kind mit Anti-E-, ein elf Wochen altes Kind ebenfalls mit Anti-E- und ein zwölf Wochen altes Kind mit Anti-K-Antikörpern^{47,105,159}.

Eine deutliche Geschlechterdifferenz konnte in der Beobachtungsgruppe der vorliegenden Arbeit nicht gezeigt werden. Insgesamt wurden $n = 582$ männliche (35,3 %) und $n = 491$ weibliche (29,8 %) Personen untersucht. Fehlende Werte ohne mögliche Geschlechtszuteilung lagen bei 34,9 %. Mit einem Verhältnis von Buben/Mädchen mit dem Faktor 1,2 zu 1 waren die Buben gering überrepräsentiert. Diese Fallkohorte wurde nach Kriterien gemäß der deutschen Richtlinien für Hämotherapie^{29,66} transfundiert. Im Vergleich zur Erwachsenenkohorte erhielt die Beobachtungsgruppe (Neugeborene und Kleinkinder) nur Erythrozytentransfusionen, welche zusätzlich RhD- und K-kompatibel waren, vergleichbar mit den bisher publizierten Arbeiten^{61,102,102,127,168,168,169,173}. Im Median erhielten die Patientinnen und Patienten in der vorliegenden Beobachtungsgruppe vier Erythrozytenkonzentrate (Median, IQR 2–7 Erythrozytenkonzentrate) in zwei Transfusionsepisoden, vergleichbar mit der Erwachsenenkohorte. Das Alter der Patientinnen und Patienten bei erster Transfusion lag im Median bei 24 Tagen (Median, IQR 6–141 Tagen). Der Altersgipfel (Alter bei erster Transfusion) lag in der Fallkohorte zwischen dem 0. und 90. Tag. In der Erwachsenenkohorte lag das Durchschnittsalter vor erster Transfusion bei 70 Jahren (Median, IQR 61–77 Jahre), mit den häufigsten positiven Antikörper-Suchtests (siehe Kapitel 4.3, S. 57) in diesem Kollektiv (erster positiver Nachtest nach Transfusion). In der hier untersuchten Kohorte von Neugeborenen und Kindern bis zum dritten Lebensjahr wurden bei zwei Patientinnen und Patienten (0,12 %) ein Alloantikörper nachgewiesen. Ein Anti-M-Blutgruppenalloantikörper wurde im Alter von 181 Tagen und ein weiterer Anti-E-Blutgruppenalloantikörper im Alter von 611 Tagen nachgewiesen¹⁸¹. In der vorliegenden Arbeit reagierte der Anti-M-Antikörper in der NaCl-Phase des Antikörper-Identifikationstests und zeigte im indirekten Antihumanglobulin-Test Reaktivität nur mit homozygoten Testzellen. Die Reaktivität im indirekten Antihumanglobulintest könnte auf einen Antikörper der IgG-Klasse deuten. Anti-M-Antikörper können zu hämolytischen Erkrankungen des Fetus und der Neugeborenen mit tödlichem Verlauf führen, auch wenn Antikörper der Klasse IgM vorherrschen und nur ein geringer Anteil der IgG-Klasse vorliegt¹⁹³. In der vorliegenden

Arbeit war der Anti-E-Antikörper 127 Tage nach Transfusion am 484. Lebenstag (16. Lebensmonat) und der Anti-M-Antikörper 171 Tage nach Transfusion am 181. Lebenstag nachweisbar. Anti-M-Antikörper werden bei Säuglingen häufiger als bei Erwachsenen nachgewiesen. Anti-E und Anti-M können auch bei Patientinnen und Patienten im Antikörper-Suchtest detektiert werden, die keine Transfusionen erhalten haben oder nie schwanger waren^{93,137}. Es wurde postuliert, dass natürlich vorkommende Anti-M-Antikörper bei Kleinkindern aufgrund einer Kreuzreaktivität zwischen bakteriellen Epitopen oder Umweltreizen auf dem M-Antigen induziert werden können⁹⁰. Die Studien von Marsh et al. (1978)¹⁰⁸ und Mollison et al. (1987)¹¹⁴ zeigten, dass Anti-E- und Anti-M-Antikörper im Kindesalter häufig natürlichen Ursprungs sind und durch Kreuzreaktivitäten mit (Darm-) Bakterien entstehen können. Es gibt allerdings Einzelfallberichte eines Anti-E-Antikörpers aufgrund multipler Erythrozytentransfusionen bei einem elf Wochen alten Neugeborenen⁴⁷.

Als eine der möglichen Ursachen für die fehlende Alloimmunisierung nach Erythrozytentransfusionen wird eine besondere Unreife des Immunsystems in den ersten Lebensmonaten von Kindern postpartal postuliert^{105,106,194}. Eine nekrotisierende Enterokolitis (NEC) bei Frühgeborenen wurde als Risikofaktor für eine höhere Alloimmunisierungswahrscheinlichkeit bei Neonaten angesehen¹²⁸. In diesem Zusammenhang könnte das Geburtsgewicht und die Geburtsreife des Kindes eine Rolle spielen, da beides die Reife des Immunsystems beeinträchtigt¹⁰⁵. Klinische Informationen über die Beobachtungsgruppe ließen sich in der vorliegenden retrospektiven Arbeit aus dem Laborinformationssystem nicht extrahieren. Zuvor publizierte kleine Fallserien bestätigen die Ergebnisse dieser Untersuchung¹⁶⁹. Auch die Verabreichung von nicht-leukozytendepletierten Erythrozytenkonzentraten an Frühgeborene war in einer amerikanischen Studie an Frühgeborenen nicht mit Alloimmunisierung assoziiert¹⁶⁸. In der vorliegenden Arbeit wurden seit 2001 nur leukozytendepletierte Erythrozytenkonzentrate verabreicht²⁹.

Die *follow-up*-Periode der Nicht-Antikörperbildenden liegt in der vorliegenden Studie im Median bei 50 Tagen (Median, IQR 19–155 Tage). Die Zeitspanne zwischen der ersten Transfusion und dem Antikörper-Suchtest liegt im Median bei 96 Tagen (Median, IQR 39–209 Tage). Dieser Nachbeobachtungszeitraum mit einer Spannweite von 75 % bei 209 Tagen (etwa sieben Monaten) ist hervorzuheben. In diesen ersten sechs Monaten wird das Immunsystem von Neugeborenen durch die Übertragung von mütterlichen

Erythrozyten auf den fetalen/neonatalen Kreislauf häufig mit nicht vererbten mütterlichen Erythrozyten-Antigenen konfrontiert^{154,187}. Mehrere Studien haben das Vorhandensein mütterlicher Erythrozyten im kindlichen Blutkreislauf von Neugeborenen beschrieben^{38,77}. Die berichtete Inzidenz variiert in aktuellen Arbeiten zwischen etwa 2–3 %^{38,77,173}. In einer älteren Studie wird eine Inzidenz von bis zu 58 %⁵⁸ berichtet. In einer neueren Untersuchung wurden mütterliche Erythrozyten bei drei von 73 Neugeborenen nachgewiesen²⁷. Das geschätzte Volumen der maternofetalen Mikrotransfusion bei der Geburt betrug 0,8, 15 sowie 101 µL. Über den Nachweis von Anti-D bei RhD-negativen-Kindern, die von RhD-positiven-Müttern geboren wurden, wird 1976 berichtet²⁶. Diese Ergebnisse wurden jedoch nie repliziert. Zusammengenommen scheint eine mütterlich-fetale Mikrotransfusion bei einem Teil aller Neugeborenen regelmäßig nachweisbar zu sein, ohne dass eine Alloimmunisierung gegen nicht vererbte mütterliche Erythrozytenantigene nachgewiesen werden konnte. Diese Beobachtung unterstreicht die Unfähigkeit des neonatalen Immunsystems, auf Erythrozytenalloantigene zu reagieren, die in den neonatalen Blutkreislauf gelangen. Die Ursache für dieses Phänomen ist noch nicht abschließend geklärt. Bei den Einzelfallberichten mit Blutgruppenalloantikörpern ist häufig ein Trigger in Form einer vorausgegangenen bakteriellen^{84,108} oder viralen Infektion zu beobachten, mit molekularem Mimikry zwischen den Epitopen der Bakterienoberflächen und Antigenen des Kell-, Duffy- oder Kidd-Systems^{2,75}. Aufgrund der fehlenden Krankengeschichte des vorliegenden Studienkollektivs war es nicht möglich, infektiologische Kofaktoren zu untersuchen. Dass Inflammation eine relevante Rolle im Alloimmunisierungsverhalten spielt, wurde zunächst von Sun et al. (2003)¹⁷⁰ und Dakic et al. (2004)⁴² am Mausmodell gezeigt. Die Studie von Calabro et al. (2016)³⁰ mit dem transgenen HOD-Mausmodell zeigen auf, dass die Induktion einer Alloantikörperbildung nach Erythrozytentransfusionen durch Präsentation des Antigens durch cDC2-Zellen eingeleitet wird. Dieser Zelltyp wird auch als *Bridging channel dendritic cell* (33D1+) bezeichnet³⁰. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass konventionelle DC2 DCs eine einzigartige Fähigkeit besitzen, Erythrozytenalloantigene an CD41-positive T-Zellen zu präsentieren. Interessanterweise unterscheidet sich die Zusammensetzung der DC-Populationen in der Milz junger Mäuse signifikant von der in adulten Mäusen⁵⁰. Die Kolonisation mit DCs von Mäusen erfolgt in verschiedenen Wellen; cDC2 DCs sind bei der Geburt nicht vorhanden und werden im Alter von etwa drei Wochen zur vorherrschenden Untergruppe, die bei erwachsenen Mäusen mit etwa fünf Wochen ihr höchstes Niveau erreichen¹⁷⁰. Bisher gibt es nur wenige Studien zu

immunologischen Veränderungen bei erythrozytärer Alloimmunisierung nach Erythrozytentransfusion beim Menschen. In der Arbeit von Molina-Aguilar et al. (2020)¹¹² wurden in einer Kohortenstudie die T- und B-Lymphozyten-Subpopulationen (CD3+, CD4+, CD8+) und das CD4/CD8-Verhältnis sowie regulatorische T-Lymphozyten (Treg) bei Patientinnen und Patienten mit verschiedenen hämatologischen Erkrankungen bestimmt, die mehrfach Erythrozyteneinheiten erhielten. Die Lymphozyten-Subpopulationen wurden mit Patientinnen und Patienten unter den gleichen Bedingungen (hämatologische Erkrankung, Alter, Geschlecht, Polytransfusion) verglichen, die keine erythrozytären Alloantikörper entwickelten. Bei alloimmunisierten Patientinnen und Patienten wurde in dieser Studie eine niedrigere Anzahl von CD4+-Lymphozyten, Treg-CD4+-Zellen und eine höhere Anzahl von B- und CD8+-Lymphozyten sowie eine Abnahme des CD4/CD8-Verhältnisses beobachtet, wie bereits im murinen Modell beschrieben^{1,128}. Weiterführende Untersuchungen auf dem Gebiet des menschlichen Immunsystems und der Pathophysiologie erythrozytärer Alloimmunisierung sind notwendig. Das noch unreife adaptive Immunsystem und die fehlende nötige T-Lymphozytenreaktion mit erythrozytären Antigenen wird als hauptverantwortlicher Faktor für die fehlende Alloimmunisierung nach Erythrozytentransfusion bei Neonaten und Säuglingen diskutiert¹⁰². Laut Debock et al. (1986) besteht ein Ungleichgewicht⁶¹ zwischen Th1-(CD4+) Zellen und Th2-Helferzellen zugunsten der Th2-Zellen in der Neonatalperiode, welches die Besiedlung mit symbiotischen Darmbakterien gewährleistet und eine Autoimmunreaktion in diesen Monaten unwahrscheinlich macht

5. Schlussfolgerung und Ausblick

Nach Transfusion von Erythrozytenkonzentraten können Blutgruppen-Alloantikörper entstehen, die bei Re-Exposition zu hämolytischen Transfusionsreaktionen führen. Die vorliegende Arbeit zeigte, dass Kinder innerhalb der ersten vier Lebensmonate nach Transfusion von Erythrozytenkonzentrate – im Gegensatz zu einer Kontrollgruppe von Erwachsenen – keine Alloantikörper bilden. Erythrozyten Antikörper werden in der Regel auch nach Mehrfachtransfusionen nicht innerhalb der ersten vier Lebensmonate gebildet^{61,102,112}.

Die *British Society for Haematology Guidelines on transfusion for fetuses, neonates and older children* empfehlen in ihrer Gesetzesausgabe von 2016¹¹⁹ keine Wiederholung des Antikörper-Screenings bei Neugeborenen auch in Fällen von großvolumigen Transfusionen, vorausgesetzt, der direkte Antihumanglobulin-Test ist negativ und es liegen keine nachweisbaren mütterlichen Anti-A- oder Anti-B-Antikörper vor. Die in den USA geltenden AABB-Standards für Blutbanken und Transfusionsdienste¹⁵ haben ähnliche Empfehlungen für die Testung von Säuglingen unter vier Monaten, mit der Ausnahme, dass kein direkter Antiglobulintest für die Erstuntersuchung erforderlich ist. Die Evidenz für diese Empfehlungen basiert auf kleinen Studien mit Stichprobengrößen zwischen 30 und 90 Patientinnen und Patienten^{61,102,127,168,169}. Im Gegensatz zu den beiden oben genannten Standards beschränken sich die deutschen Richtlinien für Hämotherapie²⁹ auf begrenzte serologische Prätransfusionsuntersuchungen für Säuglinge unter vier Wochen nach dem errechneten Geburtstermin. Nur bei kleinvolumigen Transfusionen innerhalb dieses Zeitrahmens kann gemäß der Richtlinien für Hämotherapie²⁹ auf wiederholte Antikörper-Suchtests oder serologische Verträglichkeitsproben vor Transfusion verzichtet werden.

Basierend auf dieser Studie und anderen kleinen Fallserien können in Übereinstimmung mit nationalen²⁹ und internationalen Standards^{15,25,119} prätransfusionelle Untersuchungen bei Säuglingen im Alter von weniger als vier Monaten entfallen, vorausgesetzt, mütterliche Blutgruppenalloantikörper sind nicht nachweisbar. Auf Basis der vorliegenden Studie¹⁸¹ könnte eine Anpassung der deutschen Transfusionsrichtlinien für Neugeborene und Kleinkinder an internationale Standards erfolgen, um unnötigerweise wiederholte diagnostische Blutentnahmen mit konsekutiver iatrogener Anämie zu vermeiden.

6. Zusammenfassung

Eine Alloimmunisierung bei Neugeborenen nach Erythrozytentransfusion ist ein seltenes Ereignis. Nationale und internationale Transfusionsrichtlinien empfehlen eine begrenzte Prätransfusionsstestung bei Neugeborenen unter dem vierten Lebensmonat. Die Evidenz für diese Empfehlungen beruhten auf kleinen Studien mit Stichprobengrößen zwischen 30 und 90 Säuglingen. Diese sind zu klein, um evidenzbasiert die Grundlage für Standards zur Minimierung der blutgruppenserologischen Untersuchungen bei Früh- und Neugeborenen anzupassen. Wir führten eine retrospektive Kohorten-Studie mit Neugeborenen und Kleinkindern bis zum dritten Lebensjahr sowie einer Vergleichskohorte von Erwachsenen im Alter von ≥ 45 Jahren durch, welche am Universitätsklinikum Giessen und Marburg, Standort Giessen transfundiert wurden. Eingeschlossen wurden alle nicht-alloimmunisierten Patientinnen und Patienten, die ihre erste Erythrozytentransfusion zwischen 1994 und 2013 erhielten und mindestens einem Antikörper-Suchtest zwischen 7 und 365 Tagen nach der Transfusion unterzogen wurden. Die Inzidenz der Alloimmunisierung in der Kontrollgruppe von $n = 17084$ Erwachsenen im Alter von ≥ 45 Jahren, die im Median fünf Erythrozytenkonzentrate erhielten (Median, IQR 2–12 Erythrozytenkonzentrate) betrug 3,6 % ($n = 607$ alloimmunisierte Patientinnen und Patienten). Nach Transfusion von 40 Erythrozytenkonzentraten lag die kumulative Inzidenz der Alloimmunisierung bei Erwachsenen bei 10,24 % (95 %CI, 7.71 %–13.17 %). Insgesamt erhielten $n = 1648$ Neugeborene und Kinder bis zum Alter von drei Jahren im Median vier Erythrozytenkonzentrate (Median, IQR 2–7 Erythrozytenkonzentrate) in einem Median von zwei Transfusionsepisoden (Median, IQR 1–5). Lediglich zwei Kinder entwickelten nach Transfusion einen Anti-M- bzw. einen Anti-E-Antikörper im Alter von 181 bzw. 611 Tagen. Nach unserem Wissen stellt diese Studie die größte longitudinale Kohortenstudie zur anti-erythrozytären Alloimmunisierung bei Neugeborenen und Kleinkindern dar. Basierend auf den Ergebnissen der vorliegenden Daten kann geschlossen werden, dass auf wiederholte prätransfusionsdiagnostische Tests bei Säuglingen im Alter von weniger als vier Lebensmonaten verzichtet werden kann, vorausgesetzt, mütterliche Blutgruppen-Antikörper sind bei der primären Untersuchung nicht nachweisbar. Ziel ist es, konsekutive Anämien und unnötige Kosten für weitere Testverfahren zu vermeiden¹⁸¹.

7. Summary

Transfusion-related alloimmunization in newborns is a rare event. National and international transfusion guidelines recommend limited pre-transfusion serologic testing in neonates under four months of age. The evidence for these recommendations is based on small studies with sample sizes of 30 to 90 newborns. A study size too small to lead to evidence-based adjustments to the basis for standards to minimise pre-transfusion testing in preterm and newborn infants.

We conducted a retrospective cohort study of newborns and infants up to three years of age and a comparison cohort of adults aged ≥ 45 years, who received red blood cell (RBC) transfusions at the University Medical Center, Justus-Liebig-University, Giessen, Germany. All non-alloimmunised patients who received their first RBC transfusion between 1994 and 2013 and underwent at least one follow-up antibody screening between 7- to 365-days post-transfusion, were included. The incidence of alloimmunisation in the control group of $n = 17084$ adults aged ≥ 45 years who received a median of five RBC units (median, IQR 2–12) was 3.6 % ($n = 607$ alloimmunised patients). After transfusion of 40 RBC units, the cumulative incidence of alloimmunisation in adults was 10.24 % (95 % CI, 7.71 %–13.17 %). Overall, $n = 1648$ neonates and children up to three years of age received a median of four RBC units (median, IQR 2–7 red cell concentrates) in a median of two transfusion episodes (median, IQR 1–5). Only two children developed anti-M and anti-E antibodies at 181 and 611 days of age, respectively. To our knowledge, this study represents the largest longitudinal cohort study of anti-red blood cell alloimmunisation in neonates and infants. Based on the results of this study, we conclude that repeated pretransfusion testing in infants aged less than four months can be omitted, provided maternal blood group antibodies are not detectable in the primary examination. The aim is to avoid consecutive anaemias and unnecessary costs for additional testing procedures¹⁸¹.

8. Abkürzungsverzeichnis

AHTR	Akute hämolytische Transfusionsreaktion
AIHA	Autoimmunhämolytische Anämie
APZ	Antigen-präsentierende-Zellen
ATR	Allergische Transfusionsreaktion
BÄK	Bundesärztekammer
BBS	Blutempfängersystem (Laborinformationssystem Standort Gießen)
cD	engl. <i>depletion of conventional dendritic cell</i> (dendritische Zellen)
CMV	Cytomegalievirus
DC/DZ	engl. <i>depletion of conventional DCs/DZ</i> (dendritische Zellen)
DCT	direkter Coombs-Test
D-Gal	D-Galactose
DGKJ	Deutsche Gesellschaft für Kinder- und Jugendmedizin
DGTI	Deutsche Gesellschaft für Transfusions- und Immunhämatologie
DHTR	engl. <i>Delayed haemolytic transfusion reaction</i> (Verspätete hämolytische Transfusionsreaktion)
DIC	engl. <i>Disseminated Intravascular Coagulation</i> (Disseminierte intravasale Koagulopathie)
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure bzw. Ethylendiamintetraacetat
FNHTR	febrile, nicht-hämolytische Transfusionsreaktion
GlcNAc	N-Acetylgalactosamin
GvHD	engl. <i>Graft-versus-Host-Disease</i> (Transplantat-gegen-Wirt-Reaktion)
HIV	engl. <i>Human Immunodeficiency Virus</i> (Humane Immundefizienz-Virus)
HLA	Humanes-Leukozyten-Antigen/Merkmal
HOD	HOD-Mäuse exprimieren H en egg lysozyme, O valbumin und das humane Blutgruppenantigen D uffy an Erythrozyten.
HTR	Hämolytische Transfusionsreaktion
ICT	indirekter Coombs-Test
Ig	Immunglobuline
IHN	Internationales Hämovigilanz Netzwerk
IQR	engl. <i>Interquartilrange</i>
ISBT	engl. <i>International Society of Blood Transfusion</i>
LISS:	engl. <i>low ionic strength solution</i>
LPS	Lipopolysaccharide
MDS	Myelodysplastisches Syndrom
MHC(-I-II)	engl. <i>Major-Histocompatibility Complex</i> , deutsch Moleküle des Haupthistokompatibilitätskomplexes

MHN	Morbus hämolyticus neonatorum
MTA	Medizinisch-technische/-r Assistent/in
NaCl	Natriumchlorid
NEC	Nekrotisierende Enterokolitis
PAMPS	engl. <i>Pathogen-associated molecular patterns</i> , deutsch Pathogen-assoziierte molekulare Muster
PEI	Paul-Ehrlich-Institut
PTTP	Posttransfusionelle Purpura
RBC	engl. <i>Red blood cell</i>
RES	Retikulo-endotheliales System
Rh	Rhesus
SCD	engl. <i>Sickle cell disease</i> , Sichelzellanämie
SHOT	Hämovigilanzsystem aus Großbritannien (engl. <i>Serious Hazards of Transfusion</i>)
SSW	Schwangerschaftswoche
TACO	engl. <i>Transfusion associated circulatory overload</i> (Transfusionsbedingte Volumenüberladung)
TLR	Toll-like-Rezeptor
TRALI	engl. <i>Transfusion related acute Lung Injury</i> (Transfusionsassoziierte Lungeninsuffizienz)
TTBI	engl. <i>Transfusion-transmitted bacterial infection</i> (Transfusionsbedingte bakterielle Infektionen)
TTVI	engl. <i>Transfusion-transmitted viral infection</i> (Transfusionsbedingte virale Infektion)
UKGM	Universitätsklinikum Gießen und Marburg
vWF	von-Willebrand-Faktor

9. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1 Schematische Darstellung der Erythrozytenmembran	3
Abb. 2 Studiendesign der Beobachtungs- und Vergleichskohorte.....	33
Abb. 3 Zeitspannen für Beobachtungs- und Vergleichskohorte	34
Abb. 4 Testprinzip der Gelsäule der Firma DiaMed.....	36
Abb. 5 Altersverteilung der Erwachsenenkohorte	39
Abb. 6 Inzidenz der Alloimmunisierung bei Erwachsenen.....	41
Abb. 7 Kumulative Inzidenz der Alloimmunisierung bei erwachsenen	43
Abb. 8 Altersverteilung der Neugeborenen und Kleinkinder	47
Abb. 9 Inzidenz der Alloimmunisierung bei Neugeborenen und Kleinkindern	49

10. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Einteilung der erythrozytären Antigene nach der <i>International Society of Blood Transfusion</i> (ISBT) in Blutgruppensysteme	4
Tabelle 2 Genetische Grundlagen des AB0-Systems.....	6
Tabelle 3 Übersicht über die intravasale und extravasale Hämolyse.....	17
Tabelle 4 Anzahl an registrierten und nach den Kriterien der IHN	18
Tabelle 5 Einflussfaktoren für eine Alloimmunisierung nach Erythrozytentransfusion.	21
Tabelle 6 Alloimmunisierungsinzidenz in Abhängigkeit der transfundierten Einheiten	22
Tabelle 7 Häufigkeiten alloimmunisierter Patientinnen und Patienten bei bestimmten Grunderkrankungen.....	23
Tabelle 8 Immunogenität von Blutgruppen-Antigenen	28
Tabelle 9 Evaneszenzverhalten verschiedener Antikörper-Spezifitäten	28
Tabelle 10 Alter bei erster und letzter Transfusion in der Vergleichskohorte	39
Tabelle 11 Geschlechterverteilung der Erwachsenenkohorte	40
Tabelle 12 Anzahl der Erythrozytenkonzentrate und der Transfusionsepisoden je Patient/in in der Erwachsenenkohorte.....	40
Tabelle 13 Geschlechterverteilung bei den Antikörperbildenden (n = 607) in der Kohorte der Erwachsenen	41
Tabelle 14 Häufigkeiten der Blutgruppenalloantikörper in der Kohorte der Erwachsenen	42
Tabelle 15 Anzahl der Erythrozytenkonzentrate und der Anzahl der Transfusionsepisoden bei erwachsenen Personen mit Alloimmunisierung ..	43

Tabelle 16 Kumulierte Alloimmunisierungsinzidenz [%] in der Erwachsenenkohorte bezogen auf die Anzahl [n] an transfundierten Erythrozytenkonzentraten...44	44
Tabelle 17 Zeitspannen in der Kohorte der Erwachsenen.....44	44
Tabelle 18 Zeitspannen in der Kohorte der Erwachsenen bei den Antikörperbildenden45	45
Tabelle 19 Zusammenfassung der Ergebnisse der Erwachsenenkohorte.....46	46
Tabelle 20 Alter bei erster und letzter Transfusion in der Beobachtungsgruppe.....47	47
Tabelle 21 Geschlechterverteilung der Neugeborenen und Kleinkinder48	48
Tabelle 22 Anzahl der Erythrozytenkonzentrate und der Transfusionsepisoden je Patient/in in der Beobachtungsgruppe.....48	48
Tabelle 23 Geschlechterverteilung bei den n = 2 Antikörperbildenden in der Kohorte der Neugeborenen und Kleinkinder49	49
Tabelle 24 Transfusionscharakteristika der Neugeborenen und Kleinkinder mit Alloimmunisierung.....50	50
Tabelle 25 Zeitspannen der Neugeborenen- und Kleinkinderkohorte51	51
Tabelle 26 Zusammenfassung der Ergebnisse der Neugeborenen und Kleinkinderkohorte.....52	52
Tabelle 27 Vorhandene Studien zum Thema Alloimmunisierung bei Neugeborenen und Kleinkindern.....90	90
Tabelle 28 Arbeiten zur Alloimmunisierung bei Neugeborenen und Kleinkindern bis zum vierten Lebensmonat90	90

11. Literaturverzeichnis

- [1] Adams B, Dubois A, Delbauve S et al., *Expansion of regulatory CD8+ CD25+ T cells after neonatal alloimmunization*, *Clinical and experimental immunology*, vol. 163, no. 3, pp. 354–361, 2011.
- [2] Albiero AL, Novaretti MC, Llacer PE et al., *Early primary immune response against erythrocytes: a case report*, *Transfusion medicine*, vol. 13, no. 2, pp. 93–97, 2003.
- [3] Allen FH, *Null types of the human erythrocyte blood groups. Philip Levine award lecture*, *American journal of clinical pathology*, vol. 66, no. 3, pp. 467–474, 1976.
- [4] Allen FH, Krabbe SM, Corcoran PA, *A new phenotype (McLeod) in the Kell blood-group system*, *Vox sanguinis*, vol. 6, pp. 555–560, 1961.
- [5] Allen FH, Diamond LK, Niedziela B., *A new blood group antigen.*, *Nature*, no. 167, 482., 1951.
- [6] Anno Fricke, *Weltmeister im Verbrauch von Blutkonserven: Deutschland führt beim Pro-Kopf-Verbrauch Bluttransfusionen je 1.000 Einwohner (2015)*, (zitiert am 03.06.2020), URL: <https://www.aerztezeitung.de/Wirtschaft/Weltmeister-im-Verbrauch-von-Blutkonserven-375971.html>.
- [7] Astarçioğlu MA, Kalçık M, Yesin M et al., *ABO blood types: impact on development of prosthetic mechanical valve thrombosis*, *Anatolian journal of cardiology*, vol. 16, no. 11, pp. 820–823, 2016.
- [8] Aygun B, Padmanabhan S, Paley C et al., *Clinical significance of RBC alloantibodies and autoantibodies in sickle cell patients who received transfusions*, *Transfusion*, vol. 42, no. 1, pp. 37–43, 2002.
- [9] Bartels CF, Zelinski T, Lockridge O, *Mutation at codon 322 in the human acetylcholinesterase (ACHE) gene accounts for YT blood group polymorphism*, *American journal of human genetics*, vol. 52, no. 5, pp. 928–936, 1993.
- [10] Bauer MP, Wiersum-Osselton J, Schipperus M et al., *Clinical predictors of alloimmunization after red blood cell transfusion*, *Transfusion*, vol. 47, no. 11, pp. 2066–2071, 2007.
- [11] Baumgartner JM, Nydam TL, Clarke JH et al., *Red blood cell supernatant potentiates LPS-induced proinflammatory cytokine response from peripheral blood mononuclear cells*, *Journal of interferon & cytokine research: the official journal of*

- the International Society for Interferon and Cytokine Research, vol. 29, no. 6, pp. 333–338, 2009.
- [12] Bein G, Klüter H. et al., *Richtlinie zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Richtlinie Hämotherapie)*, Bundesärztekammer (zitiert am 03.08.2018), URL: https://www.bundesaerztekammer.de/fileadmin/user_upload/downloads/pdf-Ordner/MuE/Richtlinie_Haemotherapie_2017.pdf.
- [13] Benedum J, *History of the development of blood transfusion: Anästhesiologie, Intensivmedizin, Notfallmedizin, Schmerztherapie AINS36 Suppl 2, S83-6*, 2001.
- [14] Benner R, van Oudenaren A, *Antibody formation in mouse bone marrow*, Cellular Immunology, vol. 19, no. 2, pp. 167–182, 1975.
- [15] Bethesda M, *AAB: Neonatal Transfusion Guidance*, (zitiert am 14.03.2021), URL: www.aabb.org.
- [16] Bio-Rad Medical Diagnostics GmbH, *Solidscreen II Strip: zum Nachweis von irregulären Antikörper*, Bio-Rad, 2016.
- [17] Blajchman MA, *The clinical benefits of the leukoreduction of blood products*, The Journal of trauma, vol. 60, 6 Suppl, S83-90, 2006.
- [18] Blumberg N, Heal JM, Gettings KF, *WBC reduction of RBC transfusions is associated with a decreased incidence of RBC alloimmunization*, Transfusion, vol. 43, no. 7, pp. 945–952, 2003.
- [19] Blundell J, *Some account of a Case of Obstinate Vomiting, in which an attempt was made to prolong Life by the Injection of Blood into the Veins*, Medico-chirurgical transactions, vol. 10, Pt 2, pp. 296–311, 1819.
- [20] Blutspendedienst SRK, *Transfusionsmedizinische Laboruntersuchungen an Patientenproben. Empfehlungen der SVTM und der B-CH SRK für Fachpersonen, Laboratorien und medizinische Institution zu immunhämatologischen und molekularen Untersuchungen an Patientenblutproben*, (zitiert am 24.10.2016), URL: <http://www.svtm-asmt.ch/p4.html>.
- [21] Boctor FN, Ali NM, Mohandas K et al., *Absence of D- alloimmunization in AIDS patients receiving D-mismatched RBCs*, Transfusion, vol. 43, no. 2, pp. 173–176, 2003.
- [22] Bolton-Maggs P, *Report, Summary and Supplement 2014 - on behalf of the Serious Hazards of Transfusion (SHOT) Steering Group. The 2014 Annual SHOT Report*

- (2015)., (zitiert am 15.10.2016), URL: <http://www.shotuk.org/shot-reports/report-summary-supplement-2014/>.
- [23] Bolton-Maggs P, Cohen H, *Serious Hazards of Transfusion (SHOT) haemovigilance and progress is improving transfusion safety*, British journal of haematology, vol. 163, no. 3, pp. 303–314, 2013.
- [24] Borland G, Ross JA, Guy K, *Forms and functions of CD44*, Immunology, vol. 93, no. 2, pp. 139–148, 1998.
- [25] Boulton F, *Transfusion guidelines for neonates and older children*, British J Haematol (British journal of haematology), vol. 124, no. 4, pp. 433–453, 2004.
- [26] Bowen FW, Renfield M, *The detection of anti-D in Rho (D)-negative infants born of Rho (D)-positive mothers*, Pediatric research, vol. 10, no. 4, pp. 213–215, 1976.
- [27] Brossard Y, Pons JC, Jrad I et al., *Maternal-fetal hemorrhage: a reappraisal*, Vox sanguinis, vol. 71, no. 2, pp. 103–107, 1996.
- [28] Brown KE, Anderson SM, Young NS, *Erythrocyte P antigen: cellular receptor for B19 parvovirus*, Science (New York, N.Y.), vol. 262, no. 5130, pp. 114–117, 1993.
- [29] Bundesärztekammer, *Querschnitts-Leitlinien (BÄK) zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten – Gesamtnovelle 2020*, (zitiert am 09.05.2021), URL: https://www.bundesaerztekammer.de/fileadmin/user_upload/downloads/pdf-Ordner/MuE/Querschnitts-Leitlinien__BAEK__zur_Therapie_mit_Blutkomponenten_und_Plasmaderivaten_-_Gesamtnovelle_2020.pdf.
- [30] Calabro S, Gallman A, Gowthaman U et al., *Bridging channel dendritic cells induce immunity to transfused red blood cells*, The Journal of experimental medicine, vol. 213, no. 6, pp. 887–896, 2016.
- [31] Cartron JP, Colin Y, *Structural and functional diversity of blood group antigens*, Transfusion clinique et biologique : journal de la Societe francaise de transfusion sanguine, vol. 8, no. 3, pp. 163–199, 2001.
- [32] Cartron JP, van Kim C, Colin Y, *Glycophorin C and related glycoproteins: structure, function, and regulation*, Seminars in Hematology, vol. 30, no. 2, pp. 152–168, 1993.
- [33] Casanueva M, Valdes MD, Ribera MC, *Lack of alloimmunization to D antigen in D-negative immunosuppressed liver transplant recipients*, Transfusion, vol. 34, no. 7, pp. 570–572, 1994.

- [34] Cheng MS, Lukomskyj L, *Lewis antibody following a massive blood transfusion*, *Vox sanguinis*, vol. 57, no. 2, pp. 155–156, 1989.
- [35] Chou ST, Jackson T, Vege S et al., *High prevalence of red blood cell alloimmunization in sickle cell disease despite transfusion from Rh-matched minority donors*, *Blood*, vol. 122, no. 6, pp. 1062–1071, 2013.
- [36] Chou ST, Liem RI, Thompson AA, *Challenges of alloimmunization in patients with haemoglobinopathies*, *British journal of haematology*, vol. 159, no. 4, pp. 394–404, 2012.
- [37] Cid J, Nogués N, Montero R et al., *Comparison of three microtube column agglutination systems for antibody screening: DG Gel, DiaMed-ID and Ortho BioVue*, *Transfusion medicine*, vol. 16, no. 2, pp. 131–136, 2006.
- [38] Cohen F, Zuelzer W, *Identification of blood group antigens by immunofluorescence and its application to the detection of the transplacental passage of erythrocytes in mother and child*, *Vox Sang*, vol. 9, pp. 75–78, 1964.
- [39] Coombs R, Mourant A, Race R, *A new test for the detection of weak and incomplete Rh agglutinins*, *British journal of experimental pathology*, vol. 26, pp. 255–266, 1945.
- [40] Cox JV, *Risk of Alloimmunization and Delayed Hemolytic Transfusion Reactions in Patients With Sickle Cell Disease*, *Archives of Internal Medicine*, vol. 148, no. 11, p. 2485, 1988.
- [41] Cutbush M, Parkin D, Mollison PL, *A new human blood group system.*, *Nature*, no. 165, 188-189, 1950.
- [42] Dakic A, Shao Q, D'Amico A et al., *Development of the dendritic cell system during mouse ontogeny*, *J. Immunol. (Journal of immunology (Baltimore, Md. 1950))*, vol. 172, no. 2, pp. 1018–1027, 2004.
- [43] Dean L, *Blood groups and red cell antigens, Chapter 5. The ABO blood group*, National Center for Biotechnology Information, Bethesda, Md., 2005.
- [44] Debock I, Flamand V, *Unbalanced Neonatal CD4(+) T-Cell Immunity*, *Frontiers in immunology*, vol. 5, p. 393, 2014.
- [45] Delaney M, Wendel S, Bercovitz RS et al., *Transfusion reactions: Prevention, diagnosis, and treatment*, *The Lancet*, 2016.
- [46] DePalma L, *Review: red cell alloantibody formation in the neonate and infant: considerations for current immunohematologic practice*, *Immunohematology*, vol. 8, no. 2, pp. 33–37, 1992.

- [47] DePalma L, Criss VR, Roseff SD et al., *Presence of the red cell alloantibody anti-E in an 11-week-old infant*, *Transfusion*, vol. 32, no. 2, pp. 177–179, 1992.
- [48] Dörner K, Battista HJ, *Klinische Chemie und Hämatologie*, Thieme, Stuttgart, 2006.
- [49] Dörner T, Radbruch A, *Selecting B cells and plasma cells to memory*, *The Journal of experimental medicine*, vol. 201, no. 4, pp. 497–499, 2005.
- [50] Dowling DJ, Levy O, *Ontogeny of early life immunity*, *Trends in immunology*, vol. 35, no. 7, pp. 299–310, 2014.
- [51] Eccles S, Crispin P, Vanniasinkam T, *Risk factors for alloimmunisation in the general patient population*, *Transfusion and Apheresis Science*, vol. 52, no. 1, pp. 60–64, 2015.
- [52] Eder AF, Spitalnik SL, *Blood Group Antigens as Receptors for Pathogens*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1997.
- [53] El Nemer W, Gane P, Colin Y et al., *The Lutheran blood group glycoproteins, the erythroid receptors for laminin, are adhesion molecules*, *The Journal of biological chemistry*, vol. 273, no. 27, pp. 16686–16693, 1998.
- [54] Ellis NA, Tippett P, Petty A et al., *PBDX is the XG blood group gene*, *Nature genetics*, vol. 8, no. 3, pp. 285–290, 1994.
- [55] Evers D, Middelburg RA, Haas M de et al., *Red-blood-cell alloimmunisation in relation to antigens' exposure and their immunogenicity: a cohort study*, *The Lancet Haematology*, vol. 3, no. 6, e284-e292, 2016.
- [56] Fasano RM, Booth GS, Miles M et al., *Red blood cell alloimmunization is influenced by recipient inflammatory state at time of transfusion in patients with sickle cell disease*, *British journal of haematology*, vol. 168, no. 2, pp. 291–300, 2015.
- [57] Ferguson AC, Cheung SS, *Modulation of immunoglobulin M and G synthesis by monocytes and T lymphocytes in the newborn infant*, *The Journal of pediatrics*, vol. 98, no. 3, pp. 385–391, 1981.
- [58] Fischer K, Müller V, *Zum Nachweis mütterlicher Erythrocyten im Neugeborenenblut (Immunfluoreszenztechnik)*, *Monatsschrift für Kinderheilkunde*, vol. 115, no. 4, pp. 147–148, 1967.
- [59] Flegel WA, Wagner FF, *Blutgruppen: Alloantigene auf Erythrozyten, in Transfusionsmedizin und Immunhämatologie: Grundlagen - Therapie - Methodik*,

- V. Kiefel and C. Mueller-Eckhardt, Eds., pp. 133–168, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2011.
- [60] Flommersfeld S, *Dienstanweisung für die klinische Anwendung von Blutprodukten und Plasmaderivaten*: (Qualitätsmanagementhandbuch gemäß § 15 Transfusionsgesetz), Universitätsklinikum Giessen und Marburg (UKGM) (zitiert am 03.08.2018), URL: https://www.ukgm.de/doc_uploads/public/793/3894_1.pdf.
- [61] Floss AM, Strauss RG, Goeken N et al., *Multiple transfusion fail to provoke antibodies against blood cell antigens in human infants*, *Transfusion*, vol. 26, no. 5, pp. 419–422, 1986.
- [62] Franchini M, Bonfanti C, *Evolutionary aspects of ABO blood group in humans*, *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, vol. 444, pp. 66–71, 2015.
- [63] Frattali EA, ed., *Blood group antigens as receptors for pathogens. Molecular biology and evolution of blood group and MHC antigens in primates*, Springer, Berlin, 1997.
- [64] Funk MB, Heiden M, Müller S et al 2020, *Hämovigilanz-Bericht des Paul-Ehrlich-Instituts 2018*: Auswertung der Meldungen von schwerwiegenden Reaktionen und Zwischenfällen nach §63i AMG, Bundesinstitut für Impfstoffe und biomedizinische Arzneimittel (zitiert am 15.07.2020).
- [65] Garratty G, *Blood group antigens as tumor markers, parasitic/bacterial/viral receptors, and their association with immunologically important proteins*, *Immunological investigations*, vol. 24, 1-2, pp. 213–232, 1995.
- [66] *Gesetz zur Regelung des Transfusionswesens (Transfusionsgesetz): Gesetzestext und Begründung der Bundesregierung vom 13.01.1998*, 1. Juli 1998 (BGBl. I, S. 1752).
- [67] Goudeva L, Heuff H, *TRALI und andere akute Transfusionsreaktionen*, (zitiert am 30.08.2020), URL: https://www.ai-online.info/abstracts/pdf/dacAbstracts/2010/06_Heuft.pdf.
- [68] Gubin AN, Njoroge JM, Wojda U et al., *Identification of the dombrock blood group glycoprotein as a polymorphic member of the ADP-ribosyltransferase gene family*, *Blood*, vol. 96, no. 7, pp. 2621–2627, 2000.
- [69] Guelsin GAS, Rodrigues C, Visentainer JEL et al., *Molecular matching for Rh and K reduces red blood cell alloimmunisation in patients with myelodysplastic syndrome*, *Blood Transfusion*, vol. 13, no. 1, pp. 53–58, 2015.

- [70] Gundrajukuppam DK, Vijaya SBK, Rajendran A et al., *Prevalence of Principal Rh Blood Group Antigens in Blood Donors at the Blood Bank of a Tertiary Care Hospital in Southern India*, Journal of clinical and diagnostic research: JCDR, vol. 10, no. 5, EC07-10, 2016.
- [71] Gunson HH, Stratton F, Phillips PK, *The primary Rho(D) immune response in male volunteers*, British journal of haematology, vol. 32, no. 3, pp. 317–329, 1976.
- [72] Harm SK, Yazer MH, Monis GF et al., *A centralized recipient database enhances the serologic safety of RBC transfusions for patients with sickle cell disease*, American journal of clinical pathology, vol. 141, no. 2, pp. 256–261, 2014.
- [73] Hart S, Cserti-Gazdewich CM, McCluskey SA, *Red cell transfusion and the immune system*, Anaesthesia, vol. 70, p. 38, 2015.
- [74] Haspel RL, Walsh L, Sloan SR, *Platelet transfusion in an infant leading to formation of anti-D: implications for immunoprophylaxis*, Transfusion, vol. 44, no. 5, pp. 747–749, 2004.
- [75] Hata JL, Johnson MS, Booth GS, *Neonatal alloimmunization: a rare case of multiple alloantibody formation in a patient with disseminated histoplasmosis*, Transfusion, vol. 53, no. 5, pp. 1140–1141, 2013.
- [76] Hauck-Dlimi B, Strobel J, Eckstein R et al., *Prevention and management of transfusion-induced alloimmunization: Current perspectives*, International Journal of Clinical Transfusion Medicine, p. 59, 2014.
- [77] Helderweirt G, *The Passage of fetal and maternal erythrocytes across the placenta*, Annales de la Societe belge de medecine tropicale, vol. 43, pp. 575–594, 1963.
- [78] Hendrickson JE, Desmarests M, Deshpande SS et al., *Recipient inflammation affects the frequency and magnitude of immunization to transfused red blood cells*, Transfusion, vol. 46, no. 9, pp. 1526–1536, 2006.
- [79] Hendrickson JE, Hod EA, Cadwell CM et al., *Rapid clearance of transfused murine red blood cells is associated with recipient cytokine storm and enhanced alloimmunogenicity*, Transfusion, vol. 51, no. 11, pp. 2445–2454, 2011.
- [80] Hendrickson JE, Roback JD, Hillyer CD et al., *Discrete Toll-like receptor agonists have differential effects on alloimmunization to transfused red blood cells*, Transfusion, vol. 48, no. 9, pp. 1869–1877, 2008.
- [81] Hermand P, Huet M, Callebaut I et al., *Binding sites of leukocyte beta 2 integrins (LFA-1, Mac-1) on the human ICAM-4/LW blood group protein*, The Journal of biological chemistry, vol. 275, no. 34, pp. 26002–26010, 2000.

- [82] Higgins JM, Sloan SR, *Stochastic modeling of human RBC alloimmunization: evidence for a distinct population of immunologic responders*, Blood, vol. 112, no. 6, pp. 2546–2553, 2008.
- [83] Hoeltge GA, Domen RE, Rybicki LA et al., *Multiple red cell transfusions and alloimmunization. Experience with 6996 antibodies detected in a total of 159,262 patients from 1985 to 1993*, Archives of pathology & laboratory medicine, vol. 119, no. 1, pp. 42–45, 1995.
- [84] Hudson KE, Lin E, Hendrickson JE, Lukacher AE, Zimring JC., *Regulation of primary alloantibody response through antecedent exposure to a microbial T-cell epitope.*, Blood, no. 115, 3989-96, 2010.
- [85] Ikin EW, Mourant AE, Pettenkofer HJ, Blumenthal G., *Discovery of the expected haemagglutinin, anti-Fyb.*, Nature, no. 168, 1077, 1951.
- [86] ISBT Central Office o, *Table of blood group systems v9.0*, International Society of Blood Transfusion (ISBT), URL:
<https://web.archive.org/web/20200708084355/https://www.isbtweb.org/working-parties/red-cell-immunogenetics-and-blood-group-terminology/>.
- [87] Issitt PD, *Applied blood serology*, Scientific Publications, 3rd ed. Miami, 16-7, 506-7, 1985.
- [88] Issitt PD, Combs MR, Bredehoeft SJ et al., *Lack of clinical significance of "enzyme-only" red cell alloantibodies*, Transfusion, vol. 33, no. 4, pp. 284–293, 1993.
- [89] Jung S, Unutmaz D, Wong P et al., *In vivo depletion of CD11c+ dendritic cells abrogates priming of CD8+ T cells by exogenous cell-associated antigens*, Immunity, vol. 17, no. 2, pp. 211–220, 2002.
- [90] Kao YS, Frank S, Jongh DS de, *Anti-M in children with acute bacterial infections*, Transfusion, vol. 18, no. 3, pp. 320–322, 1978.
- [91] Karafin MS, Westlake M, Hauser RG et al., *Risk factors for red blood cell alloimmunization in the Recipient Epidemiology and Donor Evaluation Study (REDS-III) database*, British journal of haematology, vol. 181, no. 5, pp. 672–681, 2018.
- [92] Kaus-Löchel K, *Blutgruppenbestimmung mit dem Tango der Firma Biotest, Standort Gießen: Arbeitsanweisung Methode AM-TL-133/D*, Zentrum für Transfusionsmedizin und Hämotherapie am UKGM, 20.05.2010.

- [93] Klein HG, Anstee DJ, Mollison PL, *Mollison's blood transfusion in clinical medicine*, Blackwell Pub, Malden, Mass, Oxford, 2005.
- [94] Kuhlmann WD, *Prinzip und Arbeitstechnik der Blutgruppenbestimmung mit der Geltechnik (DiaMED ID- Micro Typing System)*, Kurzanleitung Labor, pp. 1–6, 2010.
- [95] Landsteiner K, Levine P, *A new agglutinable factor differentiating individual human bloods.*, Proc. Soc. Exp. Biol. NY., vol. 1927, no. 24, 600-602.
- [96] Landsteiner K, Levine P, *Further observations on individual differences of human blood.*, Proc. Soc. Exp. Biol. NY., no. 24, 941-942., 1927.
- [97] Lasalle-Williams M, Nuss R, Le T et al., *Extended red blood cell antigen matching for transfusions in sickle cell disease: a review of a 14-year experience from a single center (CME)*, Transfusion, vol. 51, no. 8, pp. 1732–1739, 2011.
- [98] Levine P, Backer M, Wigod M, Ponder R., *A new human hereditary blood property (Cellano) present in 99.8% of all bloods.*, Science, no. 109, 464-466, 1949.
- [99] Levine P., *The Rh Factor-General Significance and Methods of Study.*, Bulletin of the New York Academy of Medicine, vol. 25, no. 4, pp. 244–249, 1949.
- [100] Liumbruno GM, Tognaccini A, Bonini R et al., *The role of the direct antiglobulin test in pre-transfusion investigations and the approach to selecting blood for transfusion in autoimmune haemolytic anaemia: results of a regional survey*, Blood Transfusion, vol. 6, no. 3, pp. 156–162, 2008.
- [101] Lucien N, Sidoux-Walter F, Olivès B et al., *Characterization of the gene encoding the human Kidd blood group/urea transporter protein. Evidence for splice site mutations in Jknull individuals*, The Journal of biological chemistry, vol. 273, no. 21, pp. 12973–12980, 1998.
- [102] Ludvigsen CW, Swanson JL, Thompson TR et al., *The failure of neonates to form red blood cell alloantibodies in response to multiple transfusions*, American journal of clinical pathology, vol. 87, no. 2, pp. 250–251, 1987.
- [103] Lynen Vereins zur Förderung der Forschung und Entwicklung in der Transfusionsmedizin e.V., *Transfusionsmedizin, Vorlesungsbegleitendes Skript*, (zitiert am 02.10.2020).
- [104] Makroo RN, Arora B, Bhatia A et al., *Clinical significance of antibody specificities to M, N and Lewis blood group system*, Asian Journal of Transfusion Science, vol. 8, no. 2, pp. 96–99, 2014.

- [105] Maniatis A, Theodoris H, Aravani K, *Neonatal immune response to red cell antigens*, Transfusion, vol. 33, no. 1, pp. 90–91, 1993.
- [106] Marchant A, Kollmann TR, *Understanding the ontogeny of the immune system to promote immune-mediated health for life*, Frontiers in immunology, vol. 6, p. 77, 2015.
- [107] Marini AM, Urrestarazu A, Beauwens R et al., *The Rh (Rhesus) blood group polypeptides are related to NH₄⁺ transporters*, Trends in biochemical sciences, vol. 22, no. 12, pp. 460–461, 1997.
- [108] Marsh WL, Nichols ME, Oyen R et al., *Naturally occurring anti-Kell stimulated by E. coli enterocolitis in a 20-day-old child*, Transfusion, vol. 18, no. 2, pp. 149–154, 1978.
- [109] Mathai JC, Mori S, Smith BL et al., *Functional analysis of aquaporin-1 deficient red cells. The Colton-null phenotype*, The Journal of biological chemistry, vol. 271, no. 3, pp. 1309–1313, 1996.
- [110] Mitra R, Mishra N, Rath GP, *Blood groups systems*, Indian journal of anaesthesia, vol. 58, no. 5, pp. 524–528, 2014.
- [111] Mojca Šimc PR, *Naturally occurring anti-E- red-cell antibodies in a 3- month old infant*, Zdrav Vestn, no. 79, pp. 864–869, Dezember 2010.
- [112] Molina-Aguilar R, Gómez-Ruiz S, Vela-Ojeda J et al., *Pathophysiology of Alloimmunization*, Transfusion medicine and hemotherapy: offzielles Organ der Deutschen Gesellschaft für Transfusionsmedizin und Immunhamatologie, vol. 47, no. 2, pp. 152–159, 2020.
- [113] Mollicone R, Candelier J, Reguigne I et al., *Molecular genetics of α -L-fucosyltransferase genes (H, Se, Le, FUT4, FUT5 and FUT6)*, Transfusion Clinique et Biologique, vol. 1, no. 2, pp. 91–97, 1994.
- [114] Mollison PL, Englefriet CP, Contreras M., *Blood transfusion in clinical medicine*, Great Britain: ALden press, vol. 1987, 8th ed. Oxford, pp. 617–630.
- [115] Moulds JM, Zimmerman PA, Doumbo OK et al., *Molecular identification of Knops blood group polymorphisms found in long homologous region D of complement receptor 1*, Blood, vol. 97, no. 9, pp. 2879–2885, 2001.
- [116] National Blood Authority, *Patient Blood Management Guidelines: Module 6 – Neonatal and Paediatrics*, Neonatal and Paediatrics. NBA, Canberra, Australia, vol. 2016, Module 6.

- [117] Natukunda B, *Red blood cell alloimmunization and antigen matching in sickle cell disease – the African perspective*, ISBT Science Series, vol. 7, no. 1, pp. 129–133, 2012.
- [118] Neal MD, Raval JS, Triulzi DJ et al., *Innate immune activation after transfusion of stored red blood cells*, Transfusion medicine reviews, vol. 27, no. 2, pp. 113–118, 2013.
- [119] New HV, Stanworth SJ, Gottstein R et al., *British Society for Haematology Guidelines on transfusion for fetuses, neonates and older children (Br J Haematol. 2016;175:784-828). Addendum August 2020*, British journal of haematology, vol. 191, no. 5, pp. 725–727, 2020.
- [120] Noor HMN, Ariffin N, Illuni HI et al., *Red cell immunization in multiply transfused Malay thalassemic patients*, The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health, vol. 37, no. 5, pp. 1015–1020, 2006.
- [121] Olujohungbe A, Hambleton I, Stephens L et al., *Red cell antibodies in patients with homozygous sickle cell disease: A comparison of patients in Jamaica and the United Kingdom*, British journal of haematology, vol. 113, no. 3, pp. 661–665, 2001.
- [122] Oriol R, Candelier JJ, Mollicone R, *Molecular genetics of H*, Vox sanguinis, 78 Suppl 2, pp. 105–108, 2000.
- [123] Oscar Pogo A, Chaudhuri A, *The duffy protein: A malarial and chemokine receptor*, Seminars in Hematology, vol. 37, no. 2, pp. 122–129, 2000.
- [124] Oskar Braun, *Infektionen verhindern: Separation der Komponenten aus einer Blutspende*, (zitiert am 19.02.2021), URL: <https://docplayer.org/20821574-Infektionen-verhindern-vor-der-nr-4-das-gefilterte-erykonzentrat-separation-der-komponenten-aus-einer-blutspende.html>.
- [125] Owen R, *Karl Landsteiner and the first human marker locus*, Genetics, vol. 155, no. 3, pp. 995–998, 2000.
- [126] Papay P, Hackner K, Vogelsang H et al., *High risk of transfusion-induced alloimmunization of patients with inflammatory bowel disease*, The American journal of medicine, vol. 125, no. 7, p. 717, 2012.
- [127] Pass MA, Johnson JD, Schulman IA et al., *Evaluation of a walking-donor blood transfusion program in an intensive care nursery*, The Journal of pediatrics, vol. 89, no. 4, pp. 646–651, 1976.

- [128] Patel RM, Knezevic A, Shenvi N et al., *Association of Red Blood Cell Transfusion, Anemia, and Necrotizing Enterocolitis in Very Low-Birth-Weight Infants*, JAMA, vol. 315, no. 9, pp. 889–897, 2016.
- [129] Paul-Ehrlich-Institut (PEI, Langen) Bundesinstitut für Impfstoffe und biomedizinische Arzneimittel, *Haemovigilanzbericht des Paul- Ehrlich Institutes: Auswertung der Meldungen von schwerwiegenden Reaktionen und Zwischenfällen*, (zitiert am 01.06.2020), URL: www.pei.de/haemovigilanzbericht.
- [130] Petz S, *Clinical practice of blood transfusion*, New York Churchill Livingstone, pp. 797–798, 1981.
- [131] Poole J, *Red cell antigens on band 3 and glycophorin A*, Blood reviews, vol. 14, no. 1, pp. 31–43, 2000.
- [132] Poole J, Daniels G, *Blood group antibodies and their significance in transfusion medicine*, Transfusion medicine reviews, vol. 21, no. 1, pp. 58–71, 2007.
- [133] Prokop, O., & Göhler, W., *Die menschlichen Blutgruppen*, Gustav Fischer Verlag GmbH, Stuttgart, 1998.
- [134] Ramsey G, Hahn LF, Cornell FW et al., *Low rate of Rhesus immunization from Rh-incompatible blood transfusions during liver and heart transplant surgery*, Transplantation, vol. 47, no. 6, pp. 993–995, 1989.
- [135] Ray WA, *Evaluating medication effects outside of clinical trials: new-user designs*, American journal of epidemiology, vol. 158, no. 9, pp. 915–920, 2003.
- [136] Redman M, Regan F, Contreras M, *A prospective study of the incidence of red cell allo-immunisation following transfusion*, Vox sanguinis, vol. 71, no. 4, pp. 216–220, 1996.
- [137] Reid ME, Nance SJ, *Red cell transfusion: A practical guide Chapter 14: Clinical and Laboratory Impact of Blood Group Antigens and Antibodies*, Humana Press, Totowa, N.J., 1998.
- [138] Reis KJ, Ayoub EM, Boyle MD, *Streptococcal Fc receptors. II. Comparison of the reactivity of a receptor from a group C streptococcus with staphylococcal protein A*, Journal of immunology, vol. 132, no. 6, pp. 3098–3102, 1984.
- [139] Reverberi R, *The persistence of red cell alloantibodies*, Blood Transfusion, Volume 6, Issue 4, 225-234, 2008.
- [140] Rosse WF, Gallagher D, Kinney TR et al., *Transfusion and alloimmunization in sickle cell disease. The Cooperative Study of Sickle Cell Disease*, Blood, vol. 76, no. 7, pp. 1431–1437, 1990.

- [141] Rubinstein P, Walker ME, Allen FH, *Detection of Duffy and Kidd antibodies by Groupamatic 360*, Revue française de transfusion et immuno-hématologie, vol. 21, no. 2, pp. 451–455, 1978.
- [142] Rump G, Braun R, Uli-Rüdiger J et al., *Transfusionsmedizin compact*, Georg Thieme, Stuttgart, New York, 2003.
- [143] Runkel B, Bein G, Sieben W et al., *Targeted antenatal anti-D prophylaxis for RhD-negative pregnant women: a systematic review*, BMC pregnancy and childbirth, vol. 20, no. 1, p. 83, 2020.
- [144] Rydberg L, *ABO-incompatibility in solid organ transplantation*, Transfusion medicine, vol. 11, no. 4, pp. 325–342, 2001.
- [145] Saji F, Samejima Y, Kamiura S et al., *Dynamics of immunoglobulins at the fetomaternal interface*, Reviews of reproduction, vol. 4, no. 2, pp. 81–89, 1999.
- [146] Sakhalkar VS, Roberts K, Hawthorne LM et al., *Allosensitization in patients receiving multiple blood transfusions*, Annals of the New York Academy of Sciences, vol. 1054, pp. 495–499, 2005.
- [147] Sallusto F, Geginat J, Lanzavecchia A, *Central memory and effector memory T cell subsets: function, generation, and maintenance*, Annual review of immunology, vol. 22, pp. 745–763, 2004.
- [148] Schneeweiss S, *A basic study design for expedited safety signal evaluation based on electronic healthcare data*, Pharmacoepidemiology and drug safety, vol. 19, no. 8, pp. 858–868, 2010.
- [149] Schonewille H, Brand A, *Alloimmunization to red blood cell antigens after universal leucodepletion. A regional multicentre retrospective study*, British journal of haematology, vol. 129, no. 1, pp. 151–156, 2005.
- [150] Schonewille H, Haak HL, van Zijl, A M, *RBC antibody persistence*, Transfusion, vol. 40, no. 9, pp. 1127–1131, 2000.
- [151] Schonewille H, Watering LM, Brand A, *Additional red blood cell alloantibodies after blood transfusions in a nonhematologic alloimmunized patient cohort: is it time to take precautionary measures?*, Transfusion, vol. 46, no. 4, pp. 630–635, 2006.
- [152] Schönhage K, *Particle Gel Immuno Assay (ID-PaGIA) zum Nachweis von anti-IgA Antikörpern: Humboldt-Universität zu Berlin, Medizinische Fakultät-Universitätsklinikum Charité, 2005.*

- [153] Sha Q, Redman CM, Lee S, *Endothelin-3-converting enzyme activity of the KEL1 and KEL6 phenotypes of the Kell blood group system*, The Journal of biological chemistry, vol. 281, no. 11, pp. 7180–7182, 2006.
- [154] Shaikh S, Sloan SR, *Clearance of maternal iso-hemagglutinins from infant circulation (CME)*, Transfusion, vol. 51, no. 5, pp. 938–942, 2011.
- [155] Shastry S, Lewis LE, Bhat SS, *A rare case of haemolytic disease of newborn with Bombay phenotype mother*, Asian Journal of Transfusion Science, vol. 7, no. 2, pp. 153–155, 2013.
- [156] Shukla JS, Chaudhary RK, *Red cell alloimmunization in multi-transfused chronic renal failure patients undergoing hemodialysis*, Indian journal of pathology & microbiology, vol. 42, no. 3, pp. 299–302, 1999.
- [157] Singer ST, Wu V, Mignacca R et al., *Alloimmunization and erythrocyte autoimmunization in transfusion-dependent thalassemia patients of predominantly asian descent*, Blood, vol. 96, no. 10, pp. 3369–3373, 2000.
- [158] Singleton BK, Frayne J, Anstee DJ, *Blood group phenotypes resulting from mutations in erythroid transcription factors*, Current Opinion in Hematology, vol. 19, no. 6, pp. 486–493, 2012.
- [159] Smith MR, Storey CG, *Allo-anti-E in an 18-day old-infant*, Transfusion, vol. 24, no. 6, p. 540, 1984.
- [160] Smith NH, Hod EA, Spitalnik SL et al., *Transfusion in the absence of inflammation induces antigen-specific tolerance to murine RBCs*, Blood, vol. 119, no. 6, pp. 1566–1569, 2012.
- [161] Spanos T, Karageorga M, Ladis V et al., *Red Cell Alloantibodies in Patients with Thalassemia*, Vox sanguinis, vol. 58, no. 1, pp. 50–55, 1990.
- [162] Spring FA, Holmes CH, Simpson KL et al., *The Oka blood group antigen is a marker for the M6 leukocyte activation antigen, the human homolog of OX-47 antigen, basigin and neurothelin, an immunoglobulin superfamily molecule that is widely expressed in human cells and tissues*, European journal of immunology, vol. 27, no. 4, pp. 891–897, 1997.
- [163] Statistisches Bundesamt Wiesbaden, *Gesundheit: Diagnosedaten der Patienten und Patientinnen in Krankenhäusern (einschl. Sterbe- und Stundenfälle)*, (zitiert am 07.11.2016), URL:
https://www.destatis.de/DE/Publikationen/Thematisch/Gesundheit/Krankenhaeuser/DiagnosedatenKrankenhaus2120621137004.pdf?__blob=publicationFile.

- [164] Storry JR, Castilho L, Daniels G et al., *International Society of Blood Transfusion Working Party on red cell immunogenetics and blood group terminology: Cancun report (2012)*, *Vox sanguinis*, vol. 107, no. 1, pp. 90–96, 2014.
- [165] Storry JR, Olsson ML, *The ABO blood group system revisited: a review and update*, *Immunohematology / American Red Cross*, vol. 25, no. 2, pp. 48–59, 2009.
- [166] Stowell SR, Girard-Pierce KR, Smith NH et al., *Transfusion of murine red blood cells expressing the human KEL glycoprotein induces clinically significant alloantibodies*, *Transfusion*, vol. 54, no. 1, pp. 179–189, 2014.
- [167] Stowell SR, Smith NH, Zimring JC et al., *Addition of ascorbic acid solution to stored murine red blood cells increases posttransfusion recovery and decreases microparticles and alloimmunization*, *Transfusion*, vol. 53, no. 10, pp. 2248–2257, 2013.
- [168] Strauss RG, Cordle DG, Quijana J et al., *Comparing alloimmunization in preterm infants after transfusion of fresh unmodified versus stored leukocyte-reduced red blood cells*, *Journal of pediatric hematology/oncology*, vol. 21, no. 3, pp. 224–230, 1999.
- [169] Strauss RG, Johnson K, Cress G et al., *Alloimmunization in preterm infants after repeated transfusions of WBC-reduced RBCs from the same donor*, *Transfusion*, vol. 40, no. 12, pp. 1463–1468, 2000.
- [170] Sun C-M, Fiette L, Tanguy M et al., *Ontogeny and innate properties of neonatal dendritic cells*, *Blood*, vol. 102, no. 2, pp. 585–591, 2003.
- [171] Tahhan HR, Holbrook CT, Braddy LR et al., *Antigen-matched donor blood in the transfusion management of patients with sickle cell disease*, *Transfusion*, vol. 34, no. 7, pp. 562–569, 1994.
- [172] Talano J-AM, Hillery CA, Gottschall JL et al., *Delayed hemolytic transfusion reaction/hyperhemolysis syndrome in children with sickle cell disease*, *Pediatrics*, vol. 111, 6 Pt 1, e661-5, 2003.
- [173] Tamai Y, Ohto H, Takahashi H et al., *Transfusion-Related Alloimmunization to Red Blood Cell Antigens in Japanese Pediatric Recipients*, 2020.
- [174] Tatari-Calderone Z, Tamouza R, Le Boudier GP et al., *The association of CD81 polymorphisms with alloimmunization in sickle cell disease*, *Clinical & developmental immunology*, vol. 2013, p. 937846, 2013.

- [175] Thompson AA, Cunningham MJ, Singer ST et al., *Red cell alloimmunization in a diverse population of transfused patients with thalassaemia*, British journal of haematology, vol. 153, no. 1, pp. 121–128, 2011.
- [176] Tormey CA, Fisk J, Stack G, *Red blood cell alloantibody frequency, specificity, and properties in a population of male military veterans*, Transfusion, vol. 48, no. 10, pp. 2069–2076, 2008.
- [177] Tormey CA, Hendrickson JE, *Irradiation of Red Blood Cells and Alloimmunization*, Laboratory medicine, vol. 48, no. 2, pp. 172–177, 2017.
- [178] Tormey CA, Stack G, *Immunogenicity of blood group antigens: a mathematical model corrected for antibody evanescence with exclusion of naturally occurring and pregnancy-related antibodies*, Blood, vol. 114, no. 19, pp. 4279–4282, 2009.
- [179] Tormey CA, Stack G, *The persistence and evanescence of blood group alloantibodies in men*, Transfusion, vol. 49, no. 3, pp. 505–512, 2009.
- [180] *TRIP annual report 2014 Hemovigilance Extended version: The TRIP annual report 2014, extended version, concerning hemovigilance reports in The Netherlands*, (zitiert am 06.10.2016), URL:
<https://www.tripnet.nl/pages/en/documents/TRIP2014Hemovigilancedefinitief.pdf>.
- [181] Türkmen T, Qiu D, Cooper N et al., *Red blood cell alloimmunization in neonates and children up to 3 years of age*, Transfusion, vol. 57, no. 11, pp. 2720–2726, 2017.
- [182] UKGM Gießen/Marburg, *Info für Blutspender*, (zitiert am 03.06.2020), URL:
https://www.ukgm.de/ugm_2/deu/umr_tra/7308.html.
- [183] Universitätsklinikum Würzburg, *Transfusionsmedizin: K-System*, <http://uk-wuerzburg.de> (zitiert am 07.01.2017), URL:
<http://www.transfusionsmedizin.ukw.de/studenten/hauptvorlesung/blutgruppen-erythrozyten-iii/k-system.html>.
- [184] van de Watering L, Hermans J, Witvliet M et al., *HLA and RBC immunization after filtered and buffy coat-depleted blood transfusion in cardiac surgery: a randomized controlled trial*, Transfusion, vol. 43, no. 6, pp. 765–771, 2003.
- [185] Vichinsky E, Neumayr L, Trimble S et al., *Transfusion complications in thalassemia patients: a report from the Centers for Disease Control and Prevention (CME)*, Transfusion, vol. 54, no. 4, pp. 972–981, 2014.
- [186] Voak D, *The status of new methods for the detection of red cell agglutination*, Transfusion, vol. 39, no. 10, pp. 1037–1040, 1999.

- [187] Waaijenborg S, Hahné SJM, Mollema L et al., *Waning of maternal antibodies against measles, mumps, rubella, and varicella in communities with contrasting vaccination coverage*, *The Journal of infectious diseases*, vol. 208, no. 1, pp. 10–16, 2013.
- [188] Wagner F, *Erythrozytentransfusion: prätransfusionelle Diagnostik - Teil 2*, *Transfusionsmedizin - Immunhämatologie, Hämotherapie, Immungenetik, Zelltherapie*, vol. 5, no. 02, 2015.
- [189] Walsh RJ, Montgomery C. A., *A new human isoagglutinin subdividing the MN blood groups.*, *Nature*, 160:504, 1947.
- [190] Weisbach V, Kohnhäuser T, Zimmermann R et al., *Comparison of the performance of microtube column systems and solid-phase systems and the tube low-ionic-strength solution additive indirect antiglobulin test in the detection of red cell alloantibodies*, *Transfusion medicine*, vol. 16, no. 4, pp. 276–284, 2006.
- [191] Winters JL, Richa EM, Bryant SC et al., *Polyethylene glycol antiglobulin tube versus gel microcolumn: influence on the incidence of delayed hemolytic transfusion reactions and delayed serologic transfusion reactions*, *Transfusion*, vol. 50, no. 7, pp. 1444–1452, 2010.
- [192] Yamamoto F, *Molecular genetics of the ABO histo-blood group system*, *Vox sanguinis*, vol. 69, no. 1, pp. 1–7, 1995.
- [193] Yasuda H, Ohto H, Nollet KE et al., *Hemolytic disease of the fetus and newborn with late-onset anemia due to anti-M: a case report and review of the Japanese literature*, *Transfusion medicine reviews*, vol. 28, no. 1, pp. 1–6, 2014.
- [194] Ygberg S, Nilsson A, *The developing immune system - from foetus to toddler*, *Acta Paediatrica*, vol. 101, no. 2, pp. 120–127, 2012.
- [195] Zalpuri S, Evers D, Zwaginga JJ et al., *Immunosuppressants and alloimmunization against red blood cell transfusions*, *Transfusion*, 2014.
- [196] Zalpuri S, Middelburg RA, Schonewille H et al., *Intensive red blood cell transfusions and risk of alloimmunization*, *Transfusion*, vol. 54, no. 2, pp. 278–284, 2014.
- [197] Zalpuri S, Schonewille H, Middelburg R et al., *Effect of storage of red blood cells on alloimmunization*, *Transfusion*, vol. 53, no. 11, pp. 2795–2800, 2013.
- [198] Zalpuri S, Zwaginga JJ, Le Cessie S et al., *Red-blood-cell alloimmunization and number of red-blood-cell transfusions*, *Vox sanguinis*, vol. 102, no. 2, pp. 144–149, 2012.

- [199] Zalpuri S, Zwaginga JJ, van der Bom, J G, *Risk Factors for Alloimmunisation after red blood Cell Transfusions (R-FACT): a case cohort study*, BMJ open, vol. 2, no. 3, 2012.

12. Anhang

Tabelle 27 Vorhandene Studien zum Thema Alloimmunisierung bei Neugeborenen und Kleinkindern bis zum vierten Lebensmonat, Fallreporte ¹⁸¹

<i>Autoren</i>	<i>Erscheinungsjahr</i>	<i>Alter zum Zeitpunkt eines positivem Antikörper-Suchtests</i>	<i>Vorangehende Transfusionen [n]</i>	<i>Grunderkrankung des Patientenkollektivs</i>	<i>Antikörper-Typ (Immunglobulintyp)</i>
Marsh WL ¹⁰⁸	1978	20 Tage	Keine Transfusionen	Escherichia coli (E. coli) Enterokolitis	Anti-A (IgM) Anti-K (IgM)
Smith MR ¹⁵⁹	1984	18 Tage	5	Gastroschisis	Anti-E (Enzyme Phase)
DePalma L ⁴⁷	1992	11 Wochen	31	Kongenital Herzerkrankung, Nekrotisierende Enterokolitis (NEC)	Anti-E im ICT
Maniatis A ¹⁰⁵	1993	12 Wochen	28	Frühgeborenes 30 SSW; Geburtsgewicht 1150g	Anti-K im ICT
Albiero AL ²	2003	44 Tage	1	Harnwegsinfektion, Interstitielle Pneumonie und Cytomegalie Virus (CMV)- Hepatitis	Anti-Jk(a) im ICT Anti-K (Enzyme Phase)
Haspel RL ⁷⁴	2004	13 Monate	2 Rhesus- D pos.	Hypoplastischer Linksherz- Syndrom	Anti-D im ICT
Hata JL ⁷⁵	2013	14 Tage	5	Disseminierte Histoplasmose Infektion	Anti-E, Anti- Jk(a), Anti-K im ICT

Tabelle 28 Arbeiten zur Alloimmunisierung bei Neugeborenen und Kleinkindern bis zum vierten Lebensmonat ¹⁸¹

<i>Autor</i>	<i>Erscheinungsjahr der Arbeit</i>	<i>Anzahl der untersuchten Fälle [n]</i>	<i>Untersuchte Altersgruppen</i>	<i>Anzahl der Erythrozyenkonzentrate bis positivem Antikörper-Suchtest im Median [n]</i>	<i>Anzahl an detektierten Antikörpern [n]</i>
Pass MA ¹²⁷	1976	78	0–11. Monat	Walking donor blood	0
Floss AM ⁶¹	1986	53	0–4. Monat	13	0
Ludvigsen CW ¹⁰²	1987	90	0–4. Monat	14,1	0
Strauss RG ¹⁶⁸	1999	35	0–6. Monat	5	0
Strauss RG ¹⁶⁹	2000	30	1–89. Tag	4	0
		5253	0–1. Monat	2	0
Tamai Y.et al ¹⁷³	2020	4628	0–12. Monat	4	Anti-E (2), Anti-D(1), Anti-Jk(a)(1)
		4035	12–60. Monat	3	Anti-E (3)

13. Publikationsverzeichnis

Vortrag

Red blood cell alloimmunization in neonates and children up to three years of age. 49. Jahrestagung der DGTI (Deutschen Gesellschaft für Transfusions- und Immunhämatologie)/ 24. DGI (Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Immunogenetik) e.V., Kongress in Nürnberg (September 2016), **Türkmen T**

Alloimmunisierung gegen Blutgruppenantigene bei Neugeborenen und Kinder bis zum dritten Lebensjahr. 112. Jahrestagung der DGKJ (Deutsche Gesellschaft für Kinder- und Jugendmedizin), Kongress in Hamburg (September 2016), **Türkmen T**

Paper

Türkmen T, Qiu D, Cooper N, Sachs UJ, Wößmann W, Schranz D, Zimmer KP, Ehrhardt H, Hackstein H, Bein G. Red blood cell alloimmunization in neonates and children up to 3 years of age. *Transfusion*. 2017 Nov;57(11):2720-2726. Epub 2017 Sep 6.

14. Ehrenwörtliche Erklärung

„Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, und dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren.

Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.“

Ort, Datum

Unterschrift

15. Danksagung

Ich danke allen, die zum erfolgreichen Abschluss meiner Arbeit beigetragen haben.

Mein herzlicher Dank gilt besonders Herrn Prof. Dr. Gregor Bein für die Überlassung des interessanten Themas dieser Doktorarbeit, für eine erfolgreiche Dissertation, für die engagierte Betreuung und seinen stets unermüdlichen, fachlichen Rat in allen Belangen.

Ebenfalls haben mich alle Mitarbeiter des Instituts für Transfusionsmedizin und Hämatologie in Gießen unterstützt. Ich möchte hier dankend die Transfusionsärztin Frau Dr. med. Nina Cooper nennen, die mir stets bei allen Fragen geholfen und zum erfolgreichen Abschluss meiner Arbeit beigetragen hat.

Frau Regina Adam und Frau Liane Rausch-Barnickel danke ich für die organisatorische Unterstützung.

Bei Herrn Dr. Dan Qiu bedanke ich mich ebenfalls namentlich für die geduldige Aufbereitung aller Daten und die Hilfestellung bei der statistischen Auswertung dieser Daten. Ohne seine Hilfe wäre die statistische Aufbereitung dieser Daten und somit die Entstehung dieser Arbeit nicht möglich gewesen.

Außerdem bedanke ich mich bei den Ärzten der verschiedenen Abteilungen für Kinderheilkunde des UKGM für die Zurverfügungstellung der Patientendaten und ihre Unterstützung bei klinischen Fragestellungen.

Abschließend möchte ich meine Familie, Freunde und meinen Ehemann dankend erwähnen für ihre ständige Unterstützung und ihre mich ständig motivierende Worte.