

Aus dem Institut für Transfusionsmedizin der Medizinischen  
Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Neue Aspekte zur Sicherheit ungematchter  
Erythrozytentransfusionen im Notfall**

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

Vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

Von Said El Bali  
aus Kebdana (Marokko)

Datum der Promotion: 02.03.2018

# **Inhaltsverzeichnis**

<b>1. Abstracts</b> .....	2
1.1 Abstract, deutsch.....	2
1.2 Abstract, english .....	4
<b>2. Einleitung</b> .....	6
2.1 Arbeitshintergrund.....	6
2.2 Geschichte der Transfusionsmedizin .....	7
2.3 Blutgruppenantigene und Antikörper.....	9
2.4 Extravasale Immunhämolyse .....	11
2.5 Intravasale Immunhämolyse.....	12
2.6 Alloantikörper gegen Erythrozyten Antigene.....	13
2.7 Die meist klinisch relevanten Antigene und Alloantikörper .....	15
2.8 Häufigkeit der Alloimmunisierung .....	16
2.9 Beziehung zwischen Erythrozyten und Komplementaktivierung in vivo.....	17
2.10 Komplementaktivierung.....	18
2.11 Herstellung und Anwendung von EKs.....	19
2.12 Serologische Methoden zum Nachweis erythrozytärer Antigene und Antikörper .....	19
2.13 Notfall- und Massivtransfusionen.....	23
2.14 Risiken der Notfallbluttransfusion .....	24
2.15 Vorgehen beim Nachweis irregulärer Antikörper.....	24
<b>3. Fragestellung</b> .....	26
<b>4. Patienten und Methoden</b> .....	27
4.1 Dateneingabe.....	27
4.2 Lokale Versorgung mit Erythrozyten im Notfall .....	27
<b>5. Ergebnisse</b> .....	29
<b>6. Diskussion</b> .....	32
<b>7. Literaturverzeichnis</b> .....	38
<b>8. Anhang</b> .....	48

## 1. Abstracts

### 1.1 Abstract, deutsch

Erythrozytäre Alloantikörper können schwere hämolytische Transfusionsreaktionen (HTRs) mit lebensbedrohlichen Komplikationen verursachen. Deshalb werden vor einer Bluttransfusion verschiedene serologische Tests, einschließlich der Bestimmung der Blutgruppen AB0 und der Rhesusantigene, die Antikörpersuche und die serologische Verträglichkeitsprobe (Kreuzprobe) vorgenommen. Diese Untersuchungen sind zeitaufwändig und können zur Verzögerung einer notwendigen Transfusion führen. Bei Massivblutung steht eine sofortige Bluttransfusion im Vordergrund, um schwere oder tödliche hypoxische Organschäden zu vermeiden. Daher werden im Notfall ungematchte (ungekreuzte) AB0-kompatible Erythrozytenkonzentrate (EKs) ausgegeben und ohne Verzögerung ggf. auch transfundiert. Es wird vermutet, dass solche Notfalltransfusionen mit einem höheren hämolytischen Transfusionsrisiko als normale Transfusionen verbunden sind. Es gibt jedoch nur wenige Informationen bezüglich inkompatibler Bluttransfusionen bei einer Massivblutung.

In der vorgelegten Arbeit wurden retrospektiv die Daten notfallmäßig transfundierter Patienten mit ungematchten EKs zwischen den Jahren 2001 und 2015 in der Charité-Berlin Universitätsklinik am Campus Virchow Klinikum ausgewertet. Bei allen Patienten wurde primär mit der Transfusion begonnen bevor die Ergebnisse der regulären serologischen Untersuchungen vorlagen. Insgesamt wurden in der angegebene Zeit 6.109 Patienten mit 63.373 ungematchten EKs transfundiert ohne eine wesentliche Änderung des Protokolls der Notfallversorgung am Campus. Es kam von allen notfallmäßig transfundierten Patienten nur bei 19 zu einer serologisch inkompatiblen Transfusion. Die nachgewiesenen Alloantikörper für die serologische Inkompatibilität waren Anti-D (n=6), Anti-JK<sup>a</sup> (n=4), Anti-Kn (n=2), Anti-Lu<sup>a</sup> (n=1), Anti-Le<sup>a</sup> (n=1), Anti-Fy<sup>a</sup> (n=1), Anti-M (n=1), Anti-e (n=1), Anti-C plus Anti-D (n=1) und Anti-K plus Anti-Wra (n=1).

Nur bei einem von allen serologisch inkompatibel transfundierten Patienten ließen sich Zeichen einer milden Hämolyse feststellen. Dieser Patient mit einem nachweisbaren Alloantikörper der Spezifität Anti-D bekam 3 Rh(D)-positive EKs. Es ließen sich keine Hinweise auf HTRs bei allen anderen inkompatibel transfundierten

Patienten feststellen. Bei mindestens zwei anderen Patienten von den 19 Patienten ohne HTR wurde die Transfusion ohne Rücksicht auf die nachgewiesenen Alloantikörper fortgeführt.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie bestätigen nicht nur die Annahme, dass die Transfusion ungekreuzter ABO-kompatibler EKs mit hoher Sicherheit verbunden ist, sondern auch, dass die Transfusion inkompatibler Erythrozyten bei einer massiven Blutung nur selten eine HTR verursacht. Der Nachweis von Alloantikörpern darf daher zu keiner Verzögerung einer notwendigen Bluttransfusion bei nicht kontrollierbarer Blutung führen. Das Fehlen einer HTR durch inkompatible EKs bei massiver Blutung lässt sich möglicherweise durch eine Verdünnung des/der Antikörper(s) durch die massive Bluttransfusion per se und durch die Elimination des Antikörpers von der Zirkulation durch den Blutverlust einschließlich inkompatibler Erythrozyten erklären. Somit können bei persistierender Blutung weitere inkompatible EKs -wenn keine kompatiblen EKs verfügbar sind- bis zum Sistieren der Blutung transfundiert werden.

## 1.2 Abstract, english

Alloantibodies to red blood cells (RBCs) may cause haemolytic transfusion reactions (HTRs), leading to life-threatening complications. To avoid such reactions, various serological tests including ABO blood group, Rhesus (D) antigen, antibody screening, and crossmatching are usually required prior to RBC transfusion. However, these tests are laborious and time-consuming. In cases of massive bleeding, blood must be rapidly administered to prevent hypoxemia, which may result in organic damage or even death.

In emergency cases, the use of uncrossmatched ABO compatible RBCs is generally recommended, though it is believed to be associated with high risks of HTRs. However, there is little information regarding incompatible RBC transfusions under massive bleeding.

In the present study, we retrospectively analysed the data of all patients who required uncrossmatched blood transfusions at the Charité University Hospital Campus Virchow between 2001 and 2015. Transfusion was started prior to completion of regular serological testing. Without any significant change in the protocol of emergency transfusion 6.109 patients received a total of 63.373 uncrossmatched RBC units. Of these patients, 19 were initially transfused with serologically incompatible RBCs in the presence of recognisable alloantibodies to D (n = 6), JK<sup>a</sup> (n = 4), Kn (n = 2), Lu<sup>a</sup> (n = 1), Le<sup>a</sup> (n = 1), Fy<sup>a</sup> (n = 1), M (n = 1), e (n = 1), C plus D (n = 1), and K plus Wra (n = 1) antigens. Only one of these patients appeared to have developed signs of mild haemolysis following the transfusion of three Rh (D)-positive units. HTRs were not observed in the remaining 18 patients.

Most importantly, the transfusion of incompatible blood transfusion was continued in at least two cases where compatible RBCs were not available. Our results not only support the notion that uncrossmatched ABO compatible RBCs are highly safe in patients with massive bleeding, but also indicate that the transfusion of incompatible RBC rarely results in significant HTRs. Thus, the detection of alloantibodies should not result in a delay of blood delivery and/or transfusion in patients with haemorrhage as long as bleeding has not been stopped. The finding that incompatible RBC transfusion is not clinically significant in patients with uncontrolled bleeding may be explained by the fact that such alloantibodies are ultimately diluted by the massive

transfusion per se and/or, at least in part, neutralized by the loss of the transfused incompatible RBCs, which may have scavenged alloantibodies from the circulation.

## **2. Einleitung**

### **2.1 Arbeitshintergrund**

Inkompatible Erythrozytentransfusionen müssen vermieden werden, da sie schwerwiegende und lebensbedrohliche HTR verursachen können. Es ist daher vorgeschrieben, dass vor einer Bluttransfusion bei allen betroffenen Patienten eine Blutgruppenbestimmung, eine Antikörpersuche und eine serologische Verträglichkeitsprobe (Kreuzprobe) vorzunehmen sind. Diese Untersuchungen sind relativ zeitaufwändig und können ein bis zwei Stunden, bei Vorhandensein irregulärer Antikörper (Alloantikörper) länger dauern.

Eine Ausnahme von dieser Regelung stellen Notfalltransfusionen, die primär unter Berücksichtigung der AB0 Blutgruppen ohne weitere serologische Voruntersuchungen durchgeführt werden können, dar. In diesen Fällen kann durch die Ausgabe von EKs der Blutgruppe 0 eine HTR durch Isoagglutinine vermieden werden, aber nicht durch Alloantikörper, die im Rahmen einer primären Immunisierung durch Vortransfusion und/oder Schwangerschaft bestehen können (Immunantikörper). Deshalb werden Notfallbluttransfusionen mit einem bedeutsam größeren Risiko einer HTR als normale Bluttransfusionen eingestuft. Um dieses Risiko zu vermeiden oder zu minimieren, werden auch nach der Bereitstellung von Blutkonserven im Notfall die vorgeschriebenen serologischen Untersuchungen durchgeführt, auch wenn mit der Transfusion bereits begonnen worden oder diese schon beendet ist. Die Feststellung einer serologischen Inkompatibilität ist oft mit einer Herausforderung unbekanntes Maßes verbunden.

Die Antikörperspezifität und deren klinische Relevanz müssen festgestellt und ggf. antigenegative EKs gegen ungetestete und ausgegebene EKs ausgetauscht werden. Die Frage, ob eine inkompatible Transfusion -wenn keine kompatiblen EKs verfügbar sind- durchgeführt werden kann oder soll, ist bisher nicht eindeutig beantwortet.

In der Charité-Universitätsmedizin Berlin werden, wie in anderen Zentren weltweit, häufig Notfallbluttransfusionen durchgeführt. Die Inzidenz von HTR und das Outcome betroffener Patienten sind bisher nicht ausreichend untersucht, um die o.g. Frage zu beantworten. Die klinische Relevanz dieser Fragestellung ist von großer

Bedeutung bei einer Massivblutung und dementsprechend einer Massivbluttransfusion, da eine Verzögerung notwendiger Bluttransfusionen mit einem hohen Letalitätsrisiko verbunden ist.

Anhand der Analyse publizierter Daten und anhand der Erfahrung der Transfusionsmedizin Charité auf diesem Gebiet, kommen HTR bei der Transfusion von ungetesteten Erythrozyten der Blutgruppe 0 sehr selten und hier meistens nur in milder Form vor. Außerdem ist aus klinischer Sicht eine inkompatible Transfusion bei blutenden Patienten nicht vermeidbar, wenn keine kompatiblen Erythrozyten verfügbar sind. Bisher gibt es bei akuter Blutung mit lebensbedrohlicher Anämie keine Alternative zur Bluttransfusion mit Erythrozyten, die die Sauerstoffversorgung bei anämischer Hypoxie kompensieren kann. Die Vorbehalte gegen inkompatible Bluttransfusionen auch bei lebensbedrohlichem Blutverlust beruhen eher auf einer historischen und weniger auf einer klinischen Basis. Ein Umdenken in dieser Hinsicht ist notwendig.

## **2.2 Geschichte der Transfusionsmedizin**

Die Vorgeschichte der Bluttransfusion ist sowohl mit tiefen Rückschlägen als auch bleibenden Erfolgshöhen verbunden. Die Bedeutung des Blutes für Gesundheit, Leben und Sterben hat alle Menschen zu allen Zeiten bewegt. Das Menschenblut, vor allem von Gladiatoren und Märtyrern, wurde im Mittelalter zur Behandlung der Epilepsie und zur Verstärkung der körperlichen und seelischen Kraft stark geschätzt. So auch in der Legende des sterbenden Papstes Innozenz VIII, der 1492 sein Blut gegen das von drei 10-jährigen Knaben ausgetauscht bekam. Infolgedessen starben er und alle drei Knaben (1-3). Das Trinken und Essen von Tierblut wird bis heute in bestimmten Kulturen gepflegt. Viele Menschen und vor allem Kinder lecken ihr Blut bei kleinen Verletzungen ab. In Afrika gibt es einen Hirtenstamm (die Massai) bei dem frisches Blut aus der Halsvene von Rindern direkt angezapft und getrunken wird. Traditionell wird Blutwurst in vielen Ländern hergestellt und mit Genuss verzehrt. Blut ist auch ein Hauptbestandteil des Blutpuddings, der Blutsuppe, des Schwarzsauers und dient zur Bindung von verschiedenen Saucen in vielen regionalen Küchen moderner Länder (4). Die therapeutische Wirkung des Blutkonsums ist z.T. auf dessen hohe Eisenkonzentration zurückzuführen, vor allem bei Eisenmangelanämie.

Die Entdeckung des kleinen Blutkreislaufs durch den arabischen Arzt Ibn an-Nafis 1212 und dessen Bestätigung fast 200 Jahre später, 1628 durch den Engländer W. Harvey (1-3), war der Auslöser für die Idee der direkten Blutübertragung (Bluttransfusion). Im Februar 1666 kam es zu einer erfolgreichen Blutübertragung von Hund zu Hund in England (5). Nach weiteren Tierversuchen wurde die erste Blutübertragung bei einem Menschen am 15.06.1667 in Paris vorgenommen. Einem 15-jährigen Patienten wurde das Blut eines Lammes transfundiert.

Was damals geschah reflektiert fortlaufend das klassische Bild einer akuten HTR. Dr. Jean Denis, der für König Louis XIV arbeitete, beschrieb 1668 den Verlauf der Transfusionsunverträglichkeit (HTR) wie folgt: „Als das Blut begann in seine Venen zu treten spürte er die Hitze entlang des Armes und unter seiner Achsel. Sein Puls stieg an und unmittelbar danach beobachteten wir reichlich Schweiß an seinem Gesicht. Sein Puls war extrem unregelmäßig, er klagte über starke Schmerzen in seinen Nieren und fühlte sich nicht wohl im Magen. Er rang nach Luft und wurde erlöst, indem er in sich zusammensackte und in einen Tiefschlaf verfiel über die gesamte Nacht ohne einmal aufzuwachen. Als er aufwachte füllte er ein großes Glas Urin mit einer dunklen Farbe, als ob es mit Ruß vom Schornstein vermischt war“ (2). Dieses Ereignis und ähnliche spätere fatale Vorkommnisse im Tier- und Humanbereich spiegeln bis heute die Angst vor Fehlern bei Bluttransfusionen.

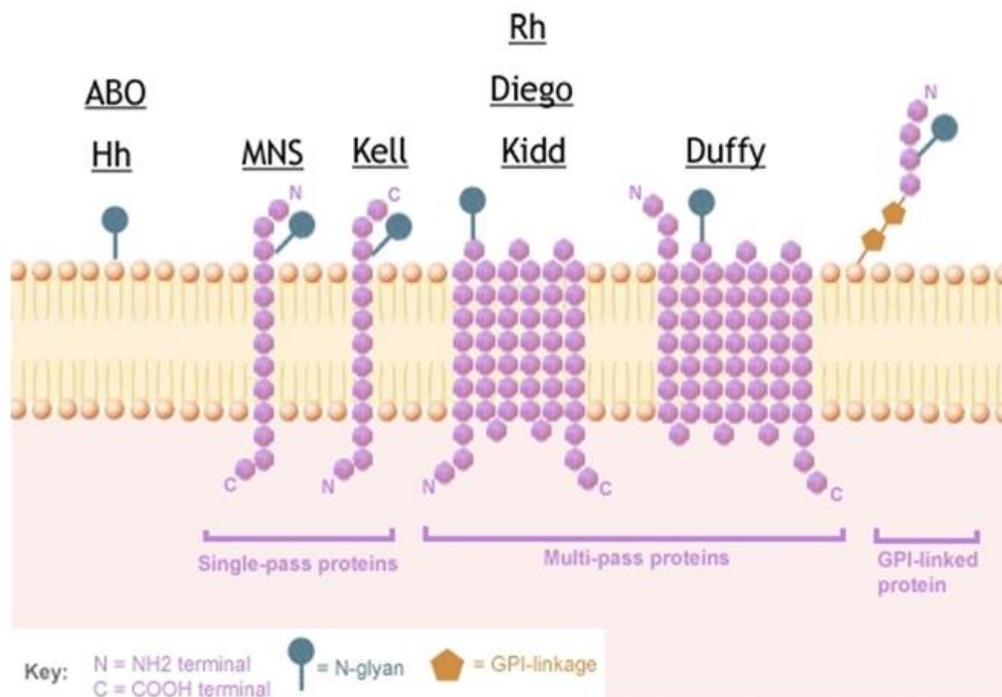
Am 23.11.1667 und am 10.12.1667 wurden weitere Blutübertragungen von Tieren zu Menschen mit tödlicher HTR in England bzw. Italien durchgeführt. Die Fehlschläge der vorgenommenen Bluttransfusionen hatten großes Aufsehen erregt, so dass der französische Gerichtshof am 17.04.1668 die Ausübung der Bluttransfusionen praktisch außer Kraft gesetzt hat (1-3, 6). Zu den beschriebenen Reaktionen dieser Bluttransfusionen zählten Schweißausbruch, Nasenblutung, Erbrechen, Fieber, Flankenschmerzen, Hämaturie und schließlich der Tod. Die Wiederaufnahme der Tierexperimente zur Blutübertragung Ende des 18. und Anfang des 19. Jahrhunderts zeigte, dass fremdartiges Blut nicht verträglich ist. Dies ermutigte zu dem Versuch, die Blutübertragung von Mensch zu Mensch zu wagen. Der Englische Physiologe und Geburtshelfer Blundell führte zunächst mit Erfolg eine direkte Blutübertragung bei einer ausgebluteten Frau nach der Geburt durch. Somit konnte zum ersten Mal der Tod durch den Blutverlust verhindert werden. Da dieser Erfolg nur bei einem Teil der Transfusionsbedürftigen zu verzeichnen war, kam es erneut zum Stopp der

Bluttransfusionen (1-3). Es war Karl Landsteiner, der die Haupteigenschaften der roten Blutzellen (Blutgruppen) im Jahr 1900 entdeckte (6). Diese revolutionäre Entdeckung prägt bis heute die gesamte Medizin in vielerlei Hinsicht: Immunologie, Hämatologie, Intensiv- und Transplantationsmedizin, aber auch Chirurgie und Traumatologie. Mit der AB0-Blutgruppen Entdeckung konnten nicht nur die früheren Misserfolge der bis dahin vorgenommen Bluttransfusionen erklärt werden, sondern auch der Beginn der modernen Transfusionsmedizin. Eine gewaltige Beschleunigung dieser Entwicklung wurde gekrönt durch den ersten und den zweiten Weltkrieg bzw. den entsprechenden Blutverbrauch in jener Zeit (7-9).

### **2.3 Blutgruppenantigene und Antikörper**

Nach der Entdeckung der AB0-Blutgruppen wurden schrittweise zahlreiche Blutgruppensysteme und Antigene entdeckt und charakterisiert. Inzwischen sind mehr als 700 Erythrozytenantigene bekannt geworden. Die bedeutsamsten Antigene bleiben jedoch die AB0-Blutgruppen (10-12). Die Antigene bestehen aus Glykoproteinen und/oder Glykolipiden oder Proteinen, die je nach Struktur vollständig (extramembranös), wie die AB0-Blutgruppen, oder nur zum Teil an der Zellmembran exprimiert sind (extramembranös und intramembranös), wie RH-antigene (Abbildung 1)

**Abbildung 1: Schematische Darstellung der Erythrozytenantigene und – Antikörper (12)**



Routinemäßig werden die Antigene durch spezifische Antikörper, die natürlicherweise wie die Isoagglutinine gegen die Blutgruppen A, B und AB, oder erst durch Antigenkontakt bzw. Immunreaktion (Immunantikörper) nach allogener Bluttransfusion oder bei einer Schwangerschaft durch fetomaternale Mikrotransfusionen entstehen nachgewiesen. Individuen mit der Blutgruppe A bilden innerhalb der ersten zwei Jahre nach der Geburt starke Antikörper gegen die Eigenschaft B, diejenigen mit der Eigenschaft B bilden Anti-A, diejenigen mit AB bilden keine Antikörper gegen diese Eigenschaften und die restlichen besitzen solche Eigenschaften und bilden Anti-A und Anti-B. Die Isoagglutinine gehören vorwiegend zur IgM-Klasse, die eine Komplementaktivierung bewirken, und zum Teil zur IgG und selten auch zur IgA-Klasse (10-14).

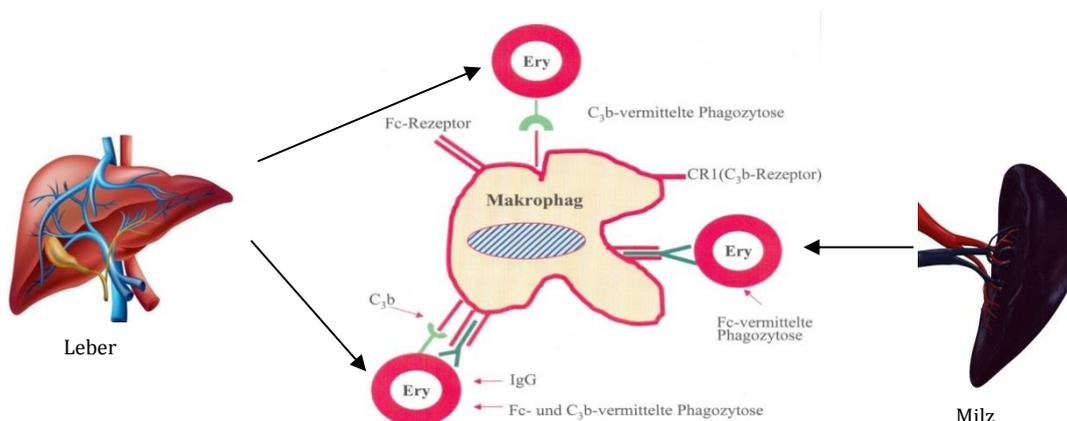
Die Immunantikörper gehören in der Regel zu IgG-Klasse (IgG<sub>1</sub> und IgG<sub>3</sub>) und können nur selten eine Komplementaktivierung in vitro bewirken (12, 14). Allerdings findet in vivo immer bei einer HTR eine Komplementaktivierung statt, auch wenn der ursächliche Antikörper in vitro kein Komplement aktiviert, z.B. Anti-D (15). Dennoch ist die generell akzeptierte Einteilung komplementaktivierender und nicht-

komplementaktivierender Antikörper von großer klinischer Bedeutung, da erstere Antikörper eher starke intravasale HTR verursachen und letztere Antikörper theoretisch eher und vorwiegend die extravasale Immunhämolyse. Eine scharfe Trennung ist jedoch häufig nicht möglich, da Hämolyse Rate und Charakter von verschiedenen Faktoren abhängig ist. Die Unterteilung der Immunhämolyse in extra- und intravasale ist von großer klinischer Bedeutung (14).

## 2.4 Extravasale Immunhämolyse

Bei der extravasalen Immunhämolyse werden die Erythrozyten je nach Antikörperkonzentration, Klasse, Subklasse und Komplementaktivierung der Vorstufen der Komplementkaskade ( $C_1$ - $C_3$ ) von Makrophagen in der Milz bzw. in der Leber phagozytiert. IgG-beladene Zellen werden in der Milz und stark beladene Zellen mit und ohne Komplementaktivierung eher in der Leber abgebaut (Abbildung 2-3).

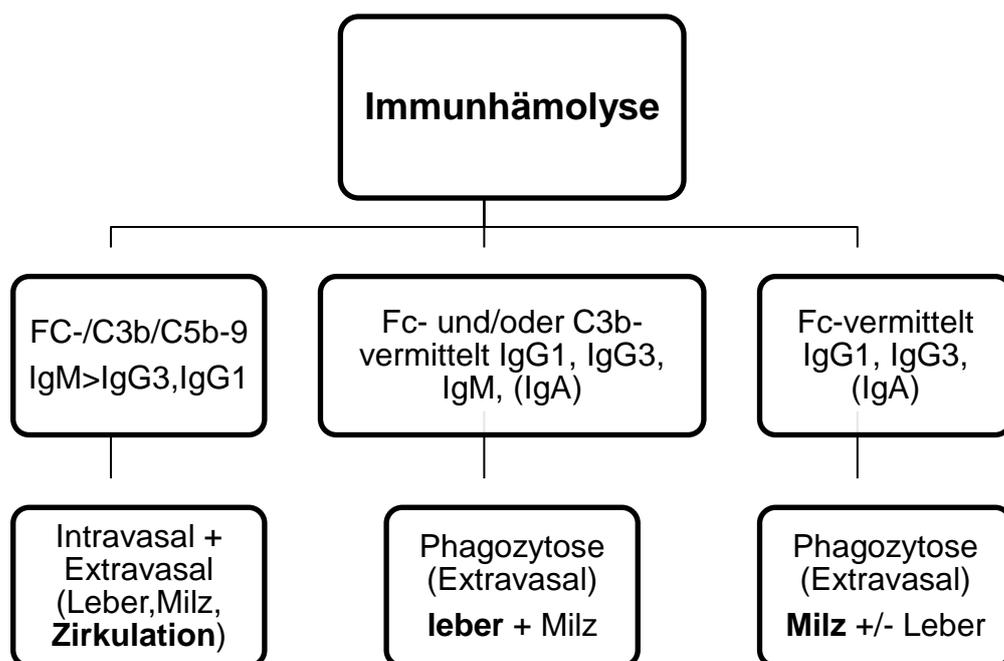
**Abbildung 2: Fc- und /oder C3b- vermittelte Immunphagozytose (Extravasale Immunhämolyse).** Während IgG- beladene Erythrozyten vorwiegend in der Milz phagozytiert werden, werden stark beladene Zellen mit IgG und/oder C3b in der Leber phagozytiert.



Der Abbau der beladenen Zellen hängt auch von der individuellen Kapazität der Makrophagen betroffener Patienten ab (12, 14). Daher können identische Antikörper,

z.B. Anti-D variable Hämolysebilder verursachen. Während sonst gesunde Individuen eine starke und lebensbedrohliche Hämolyse durch eine inkompatible Bluttransfusion entwickeln können, zeigen schwer kranke Patienten keine oder nur milde HTRs. Diesbezüglich liegen jedoch bisher keine Daten von publizierten Studien vor. Insgesamt bleibt die extravasale Immunhämolyse durch die o.g. Faktoren häufig limitiert, auch wenn die Hämolyse initial stark beginnt. Nach der akuten Phase mit umfangreicher Phagozytose nimmt die Kapazität der Makrophagen ab. Dieser Aspekt ist von großer klinischer Bedeutung bei Risikobluttransfusionen, z.B. Transfusionen serologisch inkompatibler Konserven (14). Auch hier beruhen diese Aussagen eher auf empirischer Beobachtung und nicht auf kontrollierten Studien.

**Abbildung 3: schematische Darstellung der Pathomechanismen extra- und intravasaler Immunhämolyse**

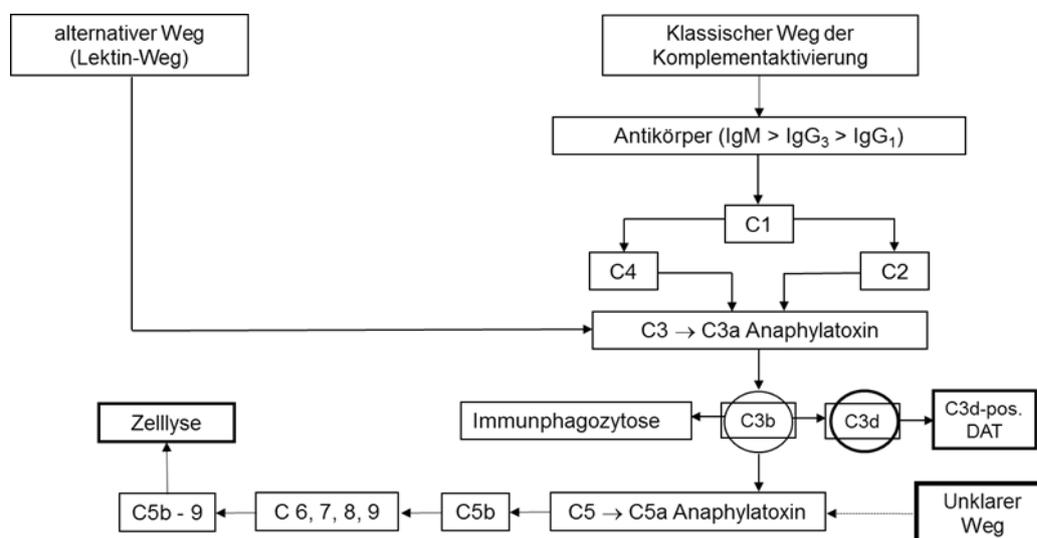


## 2.5 Intravasale Immunhämolyse

Charakteristisch für die Intravasale Immunhämolyse sind Zeichen des direkten Erythrozytenzerfalles in der Zirkulation und das Auftreten von Hämoglobinämie, Hämoglobinurie (Abbildung 4) und je nach Hämolysestärke Schock, Nierenversagen und Gerinnungsstörung. Diese Hämolyse ist abhängig von der Komplementaktivierung und setzt sich fort solange die Ursache der

Komplementaktivierung nicht gestoppt wird. Ein typisches Beispiel stellt die Fehltransfusion bei AB0-Inkompatibilität, aber auch bei starken Immunantikörpern dar. Hier aktivieren die ursächlichen Antikörper (IgM>IgG<sub>3</sub>>IgG<sub>1</sub>) die Komplementkaskade vollständig (C<sub>1</sub>-C<sub>9</sub>). Die Hämolyse wird verursacht durch die terminale Komplementkomponente C5b-9 (Membrane-Attack Complex). Diese Komplexe durchbohren die Zellmembran und die Erythrozyten verlieren sofort und vollständig ihre Integrität (14, 16). Sie können dann als Zelltrümmer nachgewiesen werden (Abbildung 4). Dies erklärt die Fehlschläge der Transfusionsversuche bis zur Entdeckung der AB0 Blutgruppen im Jahr 1900 bzw. den tödlichen Verlauf der Fehltransfusionen bis heute und macht die Vorgabe geltend, dass die Kompatibilität der Bluttransfusionen berücksichtigt werden muss (17-19).

**Abbildung 4: modifizierte Schematische Darstellung der Komplementaktivierung bzw. der intravasalen Immunhämolyse (14).** Im Rahmen einer intravasalen Immunhämolyse werden die Erythrozyten z.T. durch die Beladung mit C3b- Molekülen phagozytiert. Überlebende Erythrozyten tragen C3d Komponente und können im direkten Antiglobulintest (DAT) serologisch nachgewiesen werden.

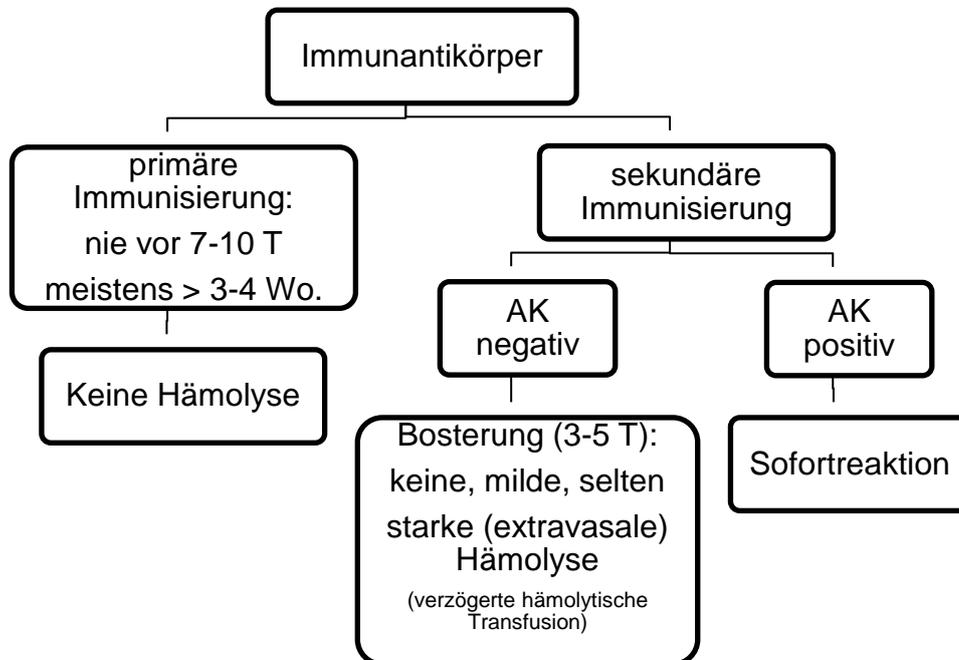


## 2.6 Alloantikörper gegen Erythrozyten Antigene

Außer den „natürlichen“ Antikörpern, die ohne erkennbare Ursache für die Immunisierung gebildet werden, wie die Blutgruppen Isoagglutinine, können weitere zahlreiche nicht klinisch relevante und klinisch relevante Antikörper nach

Antigenkontakt bei Schwangerschaften oder durch allogene Bluttransfusionen entstehen. Nach der primären Immunisierung, die klinisch nicht relevant ist, werden Immunantikörper gebildet (10-14). Diese gehören in der Regel zur IgG-Klasse und können schwere HTR-Reaktionen verursachen (Abbildung 5). Daher wird vor jeder neuen Erythrozytentransfusion ein Antikörpersuchtest durchgeführt, um solche Antikörper zu detektieren und ggf. kompatible Erythrozyten (antigen-negative) zu transfundieren (18). Im Gegensatz zu den natürlichen Antikörpern, werden Immunantikörper ohne neue Exposition zum ursächlichen Antigen nicht in ausreichender Menge weiter gebildet und können nach längerer Zeit mit den routinemäßig verwendeten Methoden nicht mehr nachgewiesen werden (14, 20). Auch solche Antikörper müssen vor jeder Erythrozytentransfusion berücksichtigt werden, da sie innerhalb von wenigen Tagen (in der Regel 1-3 Tage) in großer Menge nachgebildet werden (sekundäre Immunreaktion) und HTR verursachen können (Verzögerte HTR). Diese sind häufig mild und verlaufen ohne Komplikationen (14, 15, 21, 22). In seltenen Fällen können sekundäre Immunreaktionen (innerhalb von 1-9 Tagen nach Transfusion) jedoch auch schwere HTR verursachen (12, 14, 23).

**Abbildung 5: Immunisierung und HTR.** Nach der primären Immunisierung können die Antikörper (AK) für kurze oder lange Zeit nachweisbar bleiben und werden durch Antigenkontakt geboostert.



Während die primäre Immunisierung keine signifikante Hämolyse verursacht, kann eine sekundäre Immunisierung je nach Antikörperkonzentration keine oder milde und nur selten starke bei einem negativen Antikörpersuchtest (AK-neg) bzw. sofort starke Hämolyse, bei positivem Antikörpersuchtest (AK-pos) verursachen.

## 2.7 Die meist klinisch relevanten Antigene und Alloantikörper

Obwohl mehr als 700 erythrozytäre Antigene bekannt sind, bleiben bezüglich der HTR die Rhesus-, Kell-, Duffy- und Kidd-Antigene bzw. Antikörper am meisten relevant (Tabelle 1). Dies ist erklärbar durch die Immunogenität dieser Antigene und deren Verteilung in der Bevölkerung. Z.B. das D-Antigen ist stark immunogen und ca. 85 % der weißen Bevölkerung ist Rh(D)-positiv, deshalb werden relativ häufig Immunantikörper gegen dieses Antigen gebildet. Es muss jedoch betont werden, dass nicht alle Menschen durch den Antigenkontakt immunisiert werden. Andere Antigene sind schwach immunogen oder sie kommen sehr häufig oder sehr selten

vor > 98% bzw. < 2% (10-14). Während die Versorgung der Patienten mit Antikörpern gegen häufige Antigene durch den Mangel an antigen-negativen Erythrozytenkonzentraten schwierig ist, ist die Versorgung bei Antikörpern gegen seltene Antigene unproblematisch.

**Tabelle 1: klinische Bedeutung (Signifikanz) der meist bekanntesten Alloantikörper (10-14)**

Klinisch signifikant	Manchmal klinisch signifikant	Klinisch nicht signifikant, wenn nicht bei 37°C reaktiv	Klinisch generell nicht signifikant
<b>A und B</b>	At <sup>a</sup>	A <sub>1</sub>	Bg
<b>Rhesus</b>	Colton	H	Chido/Rogers
<b>Kell</b>	Cromer	Le <sup>a</sup>	Cost
<b>Kidd</b>	Dombrock	<b>Lutheran</b>	JMH
<b>Duffy</b>	Gerbich	<b>M, N</b>	Knops
<b>S, s, U</b>	Indian	P1	Lewis (Le <sup>b</sup> )
<b>P, PP<sub>1</sub>P<sup>k</sup></b>	Jr <sup>a</sup>	Sd <sup>a</sup>	Xg <sup>a</sup>
Diego	Yt		
H bei Bombay	LW		
Vel	Scianna		
Lan			

## 2.8 Häufigkeit der Alloimmunisierung

Die Prävalenz von Alloantikörpern in der Bevölkerung liegt bei ca. 1 % und bei hospitalisierten Patienten bei mehr als 8 % (11, 12, 24, 25). Die häufigsten Alloantikörper sind gegen wenige Antigene gerichtet (Tabelle 2)

Von diesen verursachen Anti-D, Anti-c, Anti-C, Anti-Kidd, Anti-K und Anti-Duffy die häufigsten und am meisten klinisch relevanten HTR (10-12). Es muss jedoch betont werden, dass diese Antikörper nicht immer und nicht bei allen Patienten zur HTR führen. Häufig ist die Hämolyse mild oder sogar nicht nachweisbar (serologische Transfusionsreaktionen). Letztere Form wird häufig beobachtet bei einer Boosterung des ursächlichen Alloantikörpers nach Transfusionen (Abbildung 5). Auf der anderen

Seite können Alloantikörper bei einer akuten HTR schwere Hämolyse mit Beteiligung der autologen Erythrozyten (sog. Bystander-reaction) verursachen. Dieses Phänomen ist möglicherweise durch die Komplementaktivierung zu erklären (15). Ein weiteres Epiphänomen der Alloimmunisierung ist die Bildung von Begleitautoantikörpern gegen Erythrozytenantigene. Solche Autoantikörper sind außer bei Patienten mit Sichelzellanämie serologisch und weniger klinisch bedeutsam. Deren Vorkommen kann zur Verzögerung bei der Versorgung, Fehldiagnose und Fehltransfusion führen (15, 23, 26, 27, 28).

**Tabelle 2: Die häufigsten Antikörper in der Praxis. (Winters 2001, Schonwille 2006, Tormey 2008)**

Spezifität	Häufigkeit unter den IgG-Antikörpern (%)
Anti-E	20 - 35
Anti-K (Kell)	15 - 25
Anti-D	9 - 33
Anti-Fy <sup>a</sup> (Duffy)	5 - 9
Anti-C	5 - 7
Anti-c	4 - 9
Anti-Jk <sup>a</sup> (Kidd)	3 - 8
Anti-S	2
Anti-e	1

**Rhesus- und Kell- Antikörper: 60 – 80% aller Antikörper**

## 2.9 Beziehung zwischen Erythrozyten und Komplementaktivierung in vivo

Die Bedeutung der Beziehung zwischen den Erythrozyten und dem Komplementsystem ist klinisch, serologisch und immunologisch hoch spannend und wegführend für das Verständnis der Immunhämolyse. Die Erythrozyten sind nicht nur ein „Opfer“ bei der Komplementaktivierung, sondern sie beteiligen sich aktiv dabei. An deren Zellmembran sind wichtige Komplementregulatoren exprimiert, die sowohl bei der Aktivierung, als auch bei der Inaktivierung der Komplementkaskade eine

Rolle spielen. Zu diesen gehört CD35 (CR1- bzw. C3b-Rezeptor), welcher bei der Bildung der C3 Konvertase, aber auch bei der Inaktivierung von C3b aktiv beteiligt ist. Durch die Inaktivierung von C3b entsteht ein C3dg Fragment, welches das Überleben betroffener Erythrozyten bewirkt (29-31). Während C3b-tragende Erythrozyten phagozytiert (Abbildung 4) oder durch weitere Komplementaktivierung in der Zirkulation hämolysiert werden, bleiben C3dg-tragende Zellen funktionsfähig in der Zirkulation. Die Tatsache, dass Erythrozyten C3b-Rezeptoren tragen, verleiht diesen Zellen die Fähigkeit C3b-Moleküle von der flüssigen Phase (Plasma) zu absorbieren und zu inaktivieren, z.B. bei der Aktivierung des Alternativweges der Komplementkaskade. Dies erklärt die relativ häufige C3d-Positivität im direkten coombs Test (Antiglobulintest) bei Patienten und weniger häufig auch bei gesunden Menschen ohne den Nachweis von spezifischen Antikörpern gegen Erythrozyten bzw. ohne Aktivierung des klassischen Weges der Komplementkaskade (14, 28).

Zwei weitere Moleküle CD55 und CD59 operieren auf der Ebene der terminalen Komplementkaskade (C8/C9) und erschweren die Formation von C5b-9 Komplex (Membrane-Attack Complex) welcher die Zellmembran durchbohrt (perforiert) und die Zellintegrität zerstört (Zelllyse bzw. intravasale Hämolyse).

Daher hämolysieren Erythrozyten von Patienten mit paroxysmaler nächtlicher Hämoglobinurie relativ leicht bei Komplementaktivierung, da auf diesen Zellen kein oder weniger CD55 und CD59 als auf normalen Zellen exprimiert sind (14, 29-31)

## **2.10 Komplementaktivierung**

Das Komplementsystem ist ein integraler und beständiger Bestandteil des gesamten Immunsystems. Die Komplementkaskade ist vergleichbar mit der Gerinnungskaskade. Es besteht aus 9 Molekülen und bisher mehr als 40 Kontrollproteinen, Enzymen und anderen Molekülen. Die Aktivierung kann über mindestens drei Wege laufen. Der klassische, der Lektin-Protein/Antikörper und der Alternativweg (Abbildung 4).

Während der erste Weg spezifisch durch Antikörper, zum Beispiel Isoagglutinine oder andere Antikörper gegen Erythrozyten angestoßen wird, werden die zwei anderen Wege eher unspezifisch durch verschiedene Antigene bzw. Zelloberflächen, z.B. Bakterien, Viren, und Medikamente bzw. Lektin stimuliert. Bei der Aktivierung

des klassischen Weges durch erythrozytäre Antikörper sind die Erythrozyten direkt betroffen (14, 29-31). Bei der Aktivierung der anderen Wege werden sie indirekt über C3b-Rezeptor involviert, d.h. sie sind primär „unschuldig“ bei der Aktivierung (15).

### **2.11 Herstellung und Anwendung von EKs**

EKs werden vorwiegend aus frischem Vollblut (450-500 ml) oder maschinell mittels Zellseparatoren (Erythrozytapherese) von gesunden Blutspenden hergestellt und bis zur Anwendung steril bei 4 +/- 2 °c gelagert (18). Die zugelassenen EKs sind leukozytendepletiert und enthalten nur geringfügig Thrombozyten, Plasma (<25ml) und Stabilisatoren (Citrat, Phosphat, Dextrose und Adenin).

Die Indikation für EK-Transfusionen ist immer gegeben bei Patienten mit Blutverlust und anämischer Hypoxie sowie bei Patienten mit klinisch relevanter Anämie ohne Aussicht auf eine spezifische Therapie, wie z.B. Eisen- und Vitamin B-12 Substitution bei Eisen oder Vitamin B12 Mangel. Bei bestimmten, immunkompromittierten Patienten müssen die EKs mit 30 Gy bestrahlt werden, um eine Graft-Versus-Host-Reaktion (GVHR) zu verhindern (19).

### **2.12 Serologische Methoden zum Nachweis erythrozytärer Antigene und Antikörper**

Erythrozytäre Antigene sind Zellmembranstrukturen, die aus Proteinen oder Glycoproteinen bestehen. Früher wurden die Antigene ausschließlich serologisch nachgewiesen und proteinchemisch charakterisiert. Inzwischen können die Antigene auch molekulargenetisch genauer differenziert und beschrieben werden. In der Praxis und routinemäßig bleiben jedoch die meisten serologischen Untersuchungen (32) im Vordergrund, da die klinische Relevanz der Antigen-Antikörperreaktion eher oder allein durch den Nachweis der Antikörper bestimmt wird. Eine molekulargenetische Bestimmung der Antikörperspezifität ist bisher nicht möglich.

Nach ihrem serologischen Reaktionsmuster mit Zellen werden erythrozytäre Antikörper in komplette und inkomplette Antikörper unterteilt. Erstere gehören meistens zur IgM-Klasse und bewirken direkt und ohne Hilfsmittel eine Zellagglutination von Zellen, die das korrespondierende Antigen exprimieren, zum

Beispiel Isoagglutinine und ABO-Antigene. Hingegen gehören inkomplette Antikörper meistens zur IgG-Klasse, die keine direkte Zellagglutination zeigen. Die Reaktion dieser Antikörper wird erst durch Hilfsmittel wie Albumin, LISS (low-ionic strength solution) Enzym, oder sekundäre Antihuman-Antikörper (Coombs Serum/ Antihumanglobulinserum) hervorgerufen. Der Nachweis solcher Antikörper dauert wesentlich länger als bei kompletten Antikörpern.

### Agglutinationstest

Hier werden die Erythrozyten, die das korrespondierende Antigen tragen in Anwesenheit kompletter Antikörper agglutiniert. Der Test kann auf Objektträgern oder Platten, in Röhrchen, Kapillaren, Mikrotiterplatten, Elisa-Strips oder „microtyping“- Kartensystemen durchgeführt werden, wobei eine Automatisierung der meisten Testverfahren möglich ist.

### Supplementtests

In Anwesenheit hochmolekularer Lösungen, z.B. 20-30 %igem Rinderalbumin (RA) oder Lösungen mit einer erniedrigten Ionenspannung, sog. LISS-Lösung (low ionic strength solution) können inkomplette Antikörper zur Agglutination antigenpositiver Erythrozyten führen. Im Unterschied zu den Standardagglutinationstests werden hier zu jedem Testansatz 1-2 Tropfen Supplementlösung oder LISS zugegeben.

### Enzymtest

Hierbei werden die Reaktionen der meisten Antigene mit ihren korrespondierenden Antikörpern (Autoantikörper und zahlreiche Alloantikörper [Rh, Le<sup>a</sup>, Jk<sup>a</sup>, Jk<sup>b</sup>, P<sub>1</sub>] durch proteolytische Behandlung (Fermentierung) von Erythrozyten verstärkt; selten werden Antigen-Antikörper-Reaktionen nur nach proteolytischer Vorbehandlung der Erythrozyten nachweisbar (z.B. mit bestimmten Autoantikörpern und Anti-E-Antikörpern). Es kommt auch vor, dass die Antigene durch die proteolytische Behandlung der Erythrozyten teilweise oder ganz zerstört werden, sodass die Reaktionen mit spezifischen Antikörpern abgeschwächt oder ganz aufgehoben sind.

### Antiglobulintest (Coombs-Test)

Dies ist ein Zweiphasentest. In der ersten Phase findet eine Sensibilisierung der Erythrozyten mit inkompletten Antikörpern statt und anschließend werden sie

gewaschen. In der zweiten Phase werden die Zellen sichtbar agglutiniert. Dies geschieht durch Zugabe eines gegen menschliche Immunglobuline und Komplementfaktor C3 gerichteten Antiserums (Antihumanglobulinserum, AHG). Als AHG kann z.B. ein polyspezifisches Antiserum gegen IgG, IgM, IgA und C3d oder monospezifische Antikörper gegen die einzelnen Komponenten verwendet werden.

### Kartentest

Der Kartentest ist geeignet für Antigenbestimmungen, Antikörperdifferenzierungen sowie den indirekten und direkten Antiglobulintest. Anhand von Dichtegradienten und Mikropartikeln in Mikrotitersäulen findet eine Trennung verschiedener Partikelgrößen statt. Die Mikropartikel befinden sich in NaCl-Lösung (sog. Leerkarten) oder in LISS-Lösung mit spezifischen Antikörpern. Durch Zentrifugation sedimentieren „unsensibilisierten“ Erythrozyten zum Boden der Säule, während „sensibilisierte“ (mit Antikörpern beladene) Erythrozyten sichtbare Agglutinationen oberhalb oder innerhalb der Partikelschicht bilden.

### Bestimmung der AB0 Blutgruppen

AB0 Blutgruppen sind genetisch determinierte Erythrozytenantigene. Isoagglutinine sind Blutgruppenspezifische Antikörper, die im Serum der meisten Menschen entsprechend der Landsteiner-Regel vorkommen. Für die Bestimmung der Blutgruppen werden staatlich geprüfte polyklonale oder monoklonale Anti-A, Anti-B und selten Anti-AB (Gemisch von Anti-A und Anti-B) verwendet, die zur Vermeidung von Verwechslungen blau (Anti-A) oder gelb (Anti-B) gefärbt oder farblos (Anti-AB) sind.

### Rhesus und andere Merkmale

Erythrozytenmerkmale (z.B. Rhesus, Kell, Duffy, MNSs u.s.w.) werden je nach verwendetem Antiserum im Agglutinationstest, im Supplementtest oder im indirekten Antiglobulintest nachgewiesen. Die Techniken unterscheiden sich nicht von den bereits angegebenen. Wegen der unterschiedlichen Reaktionsweisen der Antiseren sind die von den Herstellern angegebenen Reaktionsbedingungen genau einzuhalten.

### Molekulargenetische Blutgruppenbestimmung

Die Genotypisierung erythrozytärer Antigene ist in der Regel zur Ergänzung von nicht eindeutigen serologischen Ergebnissen angezeigt und/oder dann, wenn keine serologischen Untersuchungen möglich sind.

### Automatisierte Blutgruppenbestimmung

Durch die Verbesserung der Routinetauglichkeit dieser Geräte in den letzten Jahren haben immer mehr Laboratorien mit entsprechendem Umfang an immunhämatologischen Untersuchungen eine automatisierte Bearbeitung ihrer Proben eingeführt. Hierbei ist die Grundfunktionalität hinsichtlich der Basisuntersuchungen aller Automaten im Wesentlichen gleich.

### Antikörpersuchtest

Sind irreguläre komplette und/oder inkomplette erythrozytäre Antikörper in einem Serum vorhanden, so lässt sich dies in der Regel daran erkennen, dass mindestens eine von 2-3 Testzellen (Panelerythrozyten) im Agglutinationstest, Supplementtest und /oder indirekten Antiglobulintest reagiert. Die Panelzellen müssen die Mehrzahl der immunologisch und klinisch relevanten Antigene (Rhesus, Kell, Duffy, Kidd, MNSs, Lewis, P und Lutheran) tragen.

### Antikörperdifferenzierung

Man kann durch die Testung eines Serums gegen eine größere Anzahl von Panelzellen, die alle wesentlichen Erythrozytenantigene in bekannter Verteilung erhalten, die Spezifität der/des Antikörper(s) im Serum im Wege des Vergleiches des Reaktionsmusters mit dem Vorkommen bestimmter Merkmale ermitteln. Entsprechend den jeweils verschiedenen Reaktionsweisen von Antikörpern sind die Ansätze im Agglutinationstest, Supplementtest und im indirekten Antiglobulintest anzusetzen.

### Vorbereitung einer Bluttransfusion

Die Beachtung der Regeln für jede Bluttransfusion ist gesetzlich vorgeschrieben (17-19). Diese umfassen die klinische Indikation und alle erforderlichen serologischen Untersuchungen (Tabelle 3). Serologische Auffälligkeiten sind häufig mit Zeitaufwand

verbunden und können zur Verzögerung bei der Versorgung mit EKs führen (Tabelle 4).

### **Tabelle 3: Vorschriften vor und für Bluttransfusionen**

- Klinische Indikation
- Anforderungsschein mit Patientendaten (Name, Geburtsdatum, Vortransfusionen, bekannte Blutgruppe, bekannte Antikörper, Diagnose und Zeitpunkt der Transfusion)
- Blutgruppenbestimmung
- Antikörpersuchtest und ggf. Differenzierung
- Kompatible EKs aussuchen
- Serologische Verträglichkeitsprobe (Kreuzprobe)
- Konserve mit Patientendaten freigeben
- Konservenausgabe
- Transfusion
- Patientenüberwachung
- Transfusionseffekt dokumentieren

### **Tabelle 4: Nachweis irregulärer Antikörper (Alloantikörper) bei der Notfallversorgung mit EKs und mögliche Konsequenzen:**

- Feststellung der Antikörperspezifität ist häufig zeitaufwendig
- Suche und Bereitstellung kompatibler Erythrozyten ist mit Zeitaufwand verbunden
- Verzögerung bei der Bereitstellung oder keine Bereitstellung von EKs
- Keine oder Unterversorgung betroffene Patienten ( keine Transfusion trotz vitaler Indikation)
- Hohe Mortalität

## **2.13 Notfall- und Massivtransfusionen**

Bei lebensbedrohlicher Anämie können Bluttransfusionen notfallmäßig ohne serologische Voruntersuchungen (einschließlich Blutgruppenbestimmung, Antikörpersuche und Serologische-Verträglichkeitsprobe) durchgeführt werden (18,

19, 33). Eine AB0-Blutgruppen-Inkompatibilität bzw. eine akute HTR wird durch die Gabe von EKs der gleichen Blutgruppe und bei unbekannter Blutgruppe durch die Gabe von EKs der Blutgruppe 0 als „Universalkonserve“ verhindert. Bei Massivblutungen und Massivtransfusionen (mehr als 10 EKs innerhalb von 24 Stunden, Verlust des 1 bis 1,5 fachen des gesamten Blutvolumens oder die Transfusion von mehr als 150 ml/min) können sogar bei Bedarf, wie z.B. im Krieg, Vollblutkonserven der Blutgruppe 0 transfundiert werden. Diese sollten von Spendern mit niedrigem Isoagglutinintiter (Anti-A und Anti-B) stammen, um eine akute HTR zu vermeiden (34-38).

#### **2.14 Risiken der Notfallbluttransfusion**

Alle der bekannten transfusionsassoziierten Risiken, wie Blutverwechslung, Übertragung bestimmter Infektionen, Alloimmunisierung, Hypervolämie, Hypothermie und insbesondere verzögerte HTR sind bei einer Notfallversorgung erhöht (33, 39, 40).

#### **2.15 Vorgehen beim Nachweis irregulärer Antikörper**

Anamnestisch bekannte und/oder neu nachgewiesene irreguläre Antikörper stellen im Rahmen einer Massivblutung bzw. Massivtransfusion ein Kernproblem bei der Versorgung betroffener Patienten dar. Es wird allgemein empfohlen, alle klinisch relevanten Alloantikörper zu berücksichtigen. Dies ist jedoch nicht nur logistisch problematisch sondern auch klinisch. Je nach Antikörperspezifität kann die Verfügbarkeit antigen-negativer Konserven limitiert oder bei Einzelfällen sogar unmöglich bleiben, z.B. bei multiplen Antikörpern oder Antikörpern gegen ubiquitäre Antigene (mehr als 98% der Bevölkerung sind positiv). Theoretisch existieren einige Protokolle dazu, wie die Spezifität und klinische Relevanz der Antikörper festgestellt werden können (41, 42). Es gibt jedoch keine eindeutige Empfehlung, ob non-AB0 inkompatible Transfusion bei lebensbedrohlicher Blutung vorgenommen werden soll, wenn keine kompatiblen Konserven verfügbar sind (18, 19, 43-47). Diese Frage stellt den Kern der Aufgaben in dieser Arbeit dar.

Die Vorbereitung und Durchführung von Bluttransfusionen sind durch das Transfusionsgesetz, das Arzneimittelgesetz, die Richtlinien zur Gewinnung von Blut

und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie), sowie die Querschnittsleitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten, beide erstellt vom wissenschaftlichen Beirat der Bundesärztekammer und vom Paul-Ehrlich-Institut, in der gültigen Fassung geregelt (17-19).

Medizinische Einrichtungen, die Blutprodukte anwenden, sind gesetzlich verpflichtet, durch ein Qualitätsmanagement-System (QM-System) eindeutige Abläufe und Strukturen festzulegen. Hierzu zählen die Verantwortlichkeiten, Qualifikationen und Aufgaben ärztlicher und nichtärztlicher Mitarbeiter, sowie die Beschaffung, Lagerung, Abgabe und Anwendung von Blutprodukten (17-18).

### **3. Fragestellung**

Die serologischen Untersuchungen einschließlich Bestimmung der Blutgruppen, der Antikörpersuchtest und die serologische Verträglichkeitsprobe bilden grundsätzlich die notwendige Voraussetzung einer Transfusion von EKs. Diese Voruntersuchungen können jedoch nicht bei einer notfallmäßig erforderlichen Transfusion vorgenommen werden. Somit können verzögerte HTR nicht immer ausgeschlossen werden, da im Notfall nur die AB0 Blutgruppe bzw. deren Isoagglutinine, und wenn nicht bekannt, keine weiteren Alloantikörper berücksichtigt werden können. Die Inzidenz und die klinische Relevanz einer solchen Reaktion sind nicht genau bekannt. In der Charité Universitätsklinik Berlin werden am Campus Virchow Klinikum 700-1000 EKs pro Jahr notfallmäßig transfundiert.

Das Ziel dieser Arbeit ist das Vorkommen von HTR sowie von unvermeidbaren inkompatiblen Transfusionen und das Outcome betroffener Patienten zu untersuchen.

#### **4. Patienten und Methoden**

Grundlage dieser Arbeit bildeten handschriftlich dokumentierte und alle elektronisch gespeicherte Bluttransfusionen am Campus Virchow Klinikum zwischen den Jahren 2001 bis 2015.

Alle in dieser Zeit notfallmäßig transfundierten Patienten wurden identifiziert und deren Daten nach der Transfusion und während der stationären Behandlung retrospektiv analysiert (Stunden-Wochen). Von allen ausgewerteten Patienten lag eine lückenlose Dokumentation der immunhämatologischen Befunde vor. Diese umfasste die erhobenen Befunde vor der Transfusion und bei serologischen Auffälligkeiten nach der Transfusion. Bei einer serologischen Inkompatibilität (positive Kreuzprobe) wurden auch alle verfügbaren klinischen Parameter und alle untersuchten Hämolyseparameter (Laktatdehydrogenase, Kalium, Haptoglobin, ggf. Hämoglobin und Bilirubin) analysiert.

##### **4.1 Dateneingabe**

Alle eingehenden Anrufe in das Labor der Transfusionsmedizin im Virchow Klinikum zur Bestellung ungekreuzter EKs bei Notfall- oder Massivtransfusionen werden in einem Notfallbuch von den zuständigen MTLAs (Medizinisch-Technische Laboratoriumsassistenten) dokumentiert. Die Dokumentation erfolgt mit Namen, Geschlecht und Geburtsdatum des Patienten sowie mit Datum und Uhrzeit der Anforderung und die anfordernde Station bzw. Operationssaal. Die Ergebnisse der Antikörper-Suche, Antikörperdifferenzierung sowie der Kreuzprobe werden ebenfalls in dem Buch eingetragen.

Alle Patienten die im Zeitraum zwischen 2001-2015 in diesem Buch dokumentiert sind, wurden mit der SPSS-Software der Firma IBM erfasst. Die patientenbezogenen Daten wurden mittels der Software Excel von Microsoft Office ausgewertet.

##### **4.2 Lokale Versorgung mit Erythrozyten im Notfall**

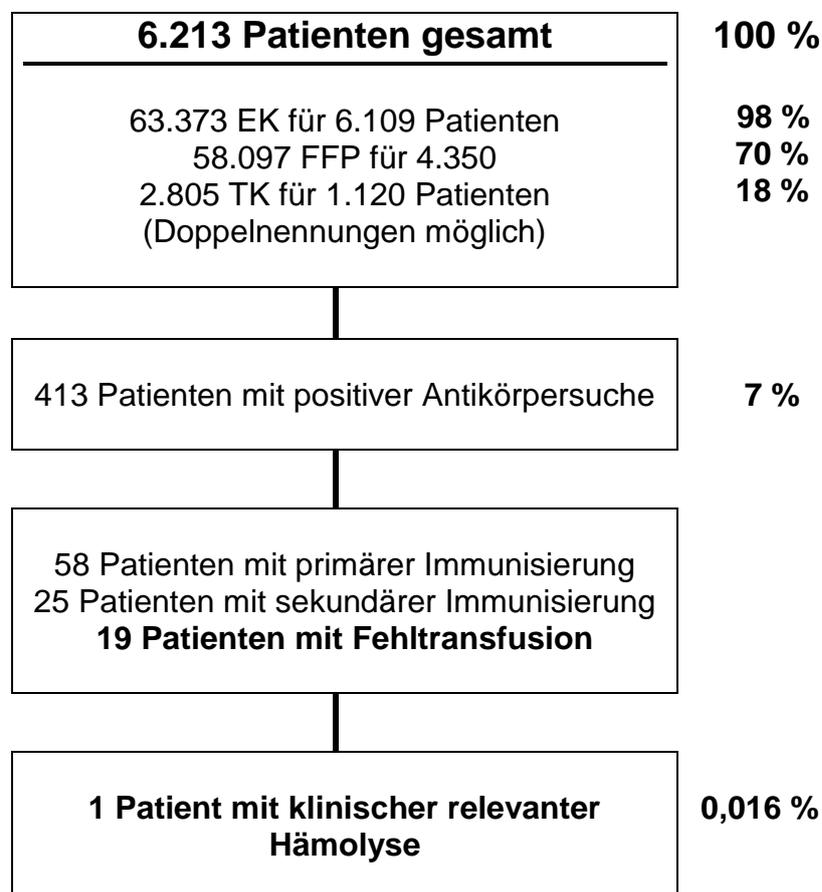
Grundsätzlich werden die Blutprodukte EKs, Thrombozytenkonzentrate und lyophilisiertes oder gefrorenes Plasma in der Blutbank gelagert. Es existieren in der

Charité zusätzlich Notfalldepots (4-8 EKs ohne Patientenzuordnung), im OP und der chirurgischen Rettungsstelle, in denen Bluttransfusionen notfallmäßig vorkommen, um im Notfall bei Bedarf sofort mit der Transfusion zu beginnen. Für die Weiterversorgung liegen für sofortige Ausgabe bzw. für die Versorgung von Patienten am Campus Virchow Klinikum immer mehr als 20 EKs der Blutgruppe 0 Rh(D)-negativ (primär für Kinder und gebärfähige Frauen), sowie mehr als 150-300 EKs der Blutgruppe 0 Rh(D)-positiv vor. Die Konserven werden per Notfalltelefon angefordert und ohne Verzögerung sofort ausgegeben. Sobald eine Blutprobe von den betroffenen Patienten ankommt, werden Kreuzproben mit dem Blut der ausgegebenen Konzentrate (abgetrennte Schlauchstücke von den jeweiligen Konserven) durchgeführt. Gleichzeitig werden parallel dazu, wie vorgeschrieben ist, komplette serologische Untersuchungen einschließlich Blutgruppenbestimmung, Antikörpersuchtest und ggf. Antikörperdifferenzieren vervollständigt und die Ergebnisse dokumentiert. Alle klinisch relevanten serologischen Auffälligkeiten werden sofort telefonisch mitgeteilt und dokumentiert. In der Regel werden bis dahin nicht transfundierte inkompatible EKs nicht transfundiert und die Transfusion mit kompatiblen EKs fortgeführt. Es kommt jedoch gelegentlich vor, dass die ausgegebenen inkompatiblen Erythrozyten bereits transfundiert waren. Auch hier sollen die Betroffenen Patienten nach Feststellung einer Inkompatibilität bei weiterem Bedarf nur kompatible EKs bekommen. Bei lebensbedrohlicher Blutung sollten, wenn keine kompatiblen EKs verfügbar sind, die nachgewiesenen Alloantikörper nicht berücksichtigt werden. In diesem Fall werden die transfundierenden Ärzte genau über Inkompatibilität informiert und die Transfusion fortgeführt, um eine sonst tödliche Ausblutung zu vermeiden.

## 5. Ergebnisse

Am Campus Virchow Klinikum werden seit 1994 jährlich zwischen 700 und 1200 EKs notfallmäßig ausgegeben und entsprechend der Vorgaben nachgekreuzt. Davon werden 30-40% auch transfundiert. Bisher wurde bei keinem der Patienten mit massivem Blutverlust eine akute HTR dokumentiert. In der Zeit von 2001 bis 2015 wurden 63.373 ungematchte EKs in 6.109 Fällen notfallmäßig angefordert. Die serologischen Untersuchungen waren bei 19 Patienten auffällig. Bei allen Patienten wurden die inkompatiblen Konserven auch transfundiert.

**Tabelle 5: Notfalltransfusionen zwischen 2001 und 2015**



**Tabelle 6: Nicht vermeidbare Bluttransfusionen mit inkompatiblen EKs am Campus Virchow Klinikum von 2001 bis 2015**

Jahr	Patient	AK	Inkompatible EKs	Hämolyse
2002	1 F.P.	D	2	Keine
	2 N.H.	K, WRa	2	Keine
2005	3 T.E.	Kn	2	Keine
2006	4 F.D.	M	10	Keine
	5 F.R.	Le <sup>a</sup>	1	Keine
	6 T.S.	D	2	Keine
2007	7 K.G.	JK <sup>a</sup>	Nicht bekannt	Keine
	8 A.S.	D	3	Verzögert und mild
2009	9 L.R.	D	6 D	Keine
	10 S.I.	C,D	5 CD, 3 D	Keine
	11 R.U.	Fy <sup>a</sup>	1 D	Keine
	12 G.M.	D	1 D	Keine
	13 S.K.	JK <sup>a</sup>	1	Keine
2010	14 H.H.	e	8 e	Keine
	15 J.V.	JK <sup>a</sup>	5 Jka +	Keine
2011	16 R.H.	JK <sup>a</sup>	20	Keine
	17 Z.R.	Lu <sup>a</sup>	2	Keine
2012	18 Z.A.	Kn	2	Keine
2015	19 B.R.	D	1	Keine

Abkürzungen: AK: Antikörper, EKs: Erythrozytenkonzentrate.

Im Jahr 2001 fanden keine inkompatiblen Transfusionen statt. Im Jahr 2002 bekam ein Patient 2 Rh (D)-inkompatible EKs ohne Folgen im Sinne einer hämolytischen Transfusionsreaktion. In den Jahren 2003 und 2004 gab es keine inkompatiblen Transfusionen bei massiver Blutung und Notfallversorgung. In dem folgenden Jahr 2006 wurden 3 Patienten inkompatibel transfundiert. Patient Nr. 3 bekam 10 ungetestete EKs. Theoretisch sind 22% EKs M-positiv (10). Hinweise auf HTRs ließen sich nicht feststellen. In der Regel sind Anti-M jedoch nicht klinisch relevant.

Ein weiterer Patient bekam ein inkompatibles Le<sup>a</sup>-positives EK ohne Komplikationen. Der dritte Patient bekam 2 Rh (D)-inkompatible EKs ohne den Hinweis auf eine HTR.

Im Jahr 2007 bekam ein Patient möglicherweise eine JK<sup>a</sup>-inkompatible Transfusion. In diesem Fall konnte die Zahl der transfundierten EKs nicht ermittelt werden. Ein weiterer Patient (Nr.7) bekam 3 Rh(D)-inkompatible EKs. Im Verlauf ließen sich bei diesem Patienten milde Hämolysezeichen feststellen (Bilirubin-Anstieg, LDH-Anstieg und niedrige Haptoglobinkonzentration), eine Akuität durch die Hämolyse bestand jedoch nicht. Dies ist der einzige Patient, bei dem diese verzögerte HTR klinisch diagnostiziert wurde. Das Jahr 2008 verlief vermutlich ohne Komplikationen im Rahmen der Notfallversorgung. Im Jahr 2009 wurden insgesamt 5 Patienten mit serologisch inkompatiblen EKs transfundiert. Bei 5 Patienten handelt es sich um klinisch relevante Antikörper (Patienten Nr. 9, 10, 11 und 12). Patient Nr.13 bekam eine inkompatible JK<sup>a</sup>- positive Konserve. Dieser Antikörper verursacht nur selten klinisch relevante Hämolyse. Im Jahr 2010 bekamen möglicherweise 2 Patienten inkompatible EKs. Im Jahr 2011 bekam ein Patient mit Anti-Jk<sup>a</sup> 20 EKs, ein anderer bekam 5-Jka positive EKs. Theoretisch sind von diesen Konserven 24% Jk<sup>a</sup> positiv (10). Dennoch hat dieser Patient keine nachweisbare Hämolyse entwickelt. Im Jahr 2012 bekam ein Patient 2 Kn-inkompatible EKs. Dieser Antikörper verursacht keine HTR. Im Jahr 2015 wurde ein Patient mit einer Rh(D)-positiven Konserve versorgt. Auch in diesem Fall verlief die Transfusion ohne Hinweis auf eine HTR.

## 6. Diskussion

Die Ergebnisse der vorliegenden retrospektiven Arbeit sind von großer klinischer Bedeutung. Sie zeigen neue Aspekte auf dem Gebiet der Transfusionsmedizin und bei der Versorgung mit Blutkonserven im Notfall. Historisch gewachsen sind inkompatible Bluttransfusionen kontraindiziert, da sie Hämolyse mit schwerwiegenden Komplikationen und sogar den Tod verursachen können (39, 40). Trotz hochmoderner und sensibler Techniken lassen sich bis heute Todesfälle durch HTR nicht vermeiden. Abgesehen von HTR durch Blutverwechslung am Krankenbett kommen HTR durch Alloantikörper in seltenen Fällen weiterhin vor. Die Inzidenz liegt bei 1:10.000 und die Letalität bei 1:1.000.000 (48-53). Allerdings ist die Inzidenz solcher Reaktionen bei Patienten mit Massivblutung und Massivtransfusionen unbekannt. Dennoch werden grundsätzlich Immunantikörper immer berücksichtigt. Diese Maßnahme kann zur Verzögerung einer notwendigen Bluttransfusion führen, da kompatible Konserven nicht immer in ausreichender Menge und rechtzeitig verfügbar sind. Eine der häufigsten Todesursache weltweit sind Unfälle und Körperverletzungen. Dabei ist der akute Blutverlust innerhalb der ersten 24 Stunden die häufigste Ursache der Mortalität. Es werden ca. 35-45% der verunglückten Patienten durch Bluttransfusionen gerettet. Bei einem Teil der Patienten gelingt keine Bluttransfusion rechtzeitig und Patienten können sterben durch den Blutverlust bzw. anämische Hypoxie (54-69). Daher ist das Risiko durch Blutverlust zu sterben bei Weitem größer als das Risiko einer Bluttransfusion mit ungematchten Erythrozyten der Blutgruppe 0. Nach o.g. Vorgaben müssen verschiedene serologische Untersuchungen zum Ausschluss einer Inkompatibilität durch Alloantikörper immer durchgeführt werden. Abgesehen davon, dass klinisch relevante Alloimmunisierung gegen Erythrozytenantigene relativ selten ist (< 1% bei nicht stationär behandelten Patienten und < 8% bei hospitalisierten Patienten), verursachen Alloantikörper nur sehr selten eine klinisch relevante Hämolyse (14, 15, 63, 64). In der Tat trat bei keinem der hier notfallmäßig mit ungematchtem Blut transfundierten Patienten eine schwere HTR auf. Es wurden zwischen 2001 und 2015 insgesamt für Patienten 63.373 EKs notfallmäßig angefordert. Die serologischen Untersuchungen ergaben den Nachweis von klinisch relevanten Alloantikörpern nur bei 19 der 6.109 transfundierten Patienten. Nur bei einem von diesen Patienten ließen sich lediglich Hinweise auf eine milde HTR feststellen.

Dieser Patient hatte insgesamt 3 Rh(D)-inkompatible EKs bekommen. Die Frage, ob die auffälligen Laborparameter (erhöhtes Bilirubin und Nachweis von freiem Hämoglobin ohne klinische Symptome einer Hämolyse) auf die Grunderkrankung mit Komplikationen oder auf eine Immunhämolyse zurückgeführt werden können, lässt sich nicht klären.

Bei den restlichen 18 Patienten mit Nachweis von Alloantikörpern ließen sich keine Hinweise auf HTR feststellen. Somit sind ungematchte ABO- kompatible Transfusionen im Notfall nicht, wie bisher vermutet, mit einem erhöhten Risiko einer HTR verbunden.

Dies lässt sich durch verschiedene Gegebenheiten erklären:

- 1.) Die Transfusionen werden primär bei blutenden Patienten durchgeführt. Je nach Menge des Blutverlustes bleiben keine oder nur ein Teil der transfundierten Erythrozyten in der Zirkulation.
- 2.) Darüber hinaus können die mit dem Blutverlust verlorenen inkompatiblen Erythrozyten (auch bei einer kurzen Dauer in der Zirkulation) mit dem/den Alloantikörper(n) reagieren und den Kreislauf verlassen bevor sie phagozytiert oder hämolysiert werden.
- 3.) Außerdem werden die vorhandenen Antikörper in der Zirkulation nicht nur verdünnt durch die inkompatible Transfusion sondern auch durch Begleittransfusionen, vor allem Plasma, aber auch durch den Blutverlust per se. Dieser Aspekt des Antikörperverlustes (Dilution und Deletion) durch inkompatible Transfusionen, Blutverlust und Massivtransfusionen wird bisher bei der Versorgung betroffener Patienten kaum beachtet.

Theoretisch können bei solchen Patienten unbedenklich inkompatible Bluttransfusionen, wenn keine kompatiblen EKs verfügbar sind, durchgeführt werden. Obwohl eine solche Empfehlung bisher allgemein nicht existiert (18, 19, 39-47), werden in der Charité seit 1994 und vermutlich (schriftlich bisher nicht festgelegt) in anderen Zentren in der Welt inkompatible Transfusionen bei einzelnen Patienten gewollt (z.B. wenn keine kompatiblen EKs verfügbar sind) oder ungewollt (z.B. wenn die Transfusion begonnen hat, bevor die Inkompatibilität festgestellt wurde) im Notfall praktiziert. Abgesehen von Minorinkompatibilitäten durch Isoagglutinine bei der Verwendung von Vollblut der Blutgruppe 0 im Notfall, wie dies im Krieg vorkommt

(65-70), sind Hinweise auf inkompatible Bluttransfusionen bei massiver Blutung rar und nur anekdotisch erwähnt.

In einer früheren Arbeit bekamen 377 Patienten ungematchte EKs und kein Patient entwickelte akute HTR. Bei 1% (n=6) der serologisch untersuchten Patienten (n=418) ließen sich klinisch relevante Alloantikörper feststellen. Bei vier Patienten waren die EKs zufällig kompatibel (Antigen-negativ) und bei zwei Patienten inkompatibel (Antigen-positiv). Die inkompatiblen Transfusionen waren durch Anti-C bei einer Schwangeren, die nur ein C-positives EK bekam, und durch Anti-Er<sup>a</sup> bei einem Patienten mit Aortenaneurysma. Die Transfusion verlief ohne HTR, in beiden Fällen. Eine milde verzögerte HTR ohne klinische Relevanz wurde nur bei einem Rh(D)-negativen Patienten, der mit Rh(D)-positiven EKs versorgt wurde, beobachtet (71).

In einer zweiten Arbeit sind 135 Patienten, die ungematchte EKs bekamen, beschrieben. Nur bei einem Patienten von 76 überlebenden Patienten ließ sich eine verzögerte HTR durch Anti-JK<sup>b</sup> feststellen (72).

In einer Übersichtsarbeit über Traumapatienten ist ein Patient beschrieben, der auch eine verzögerte HTR Reaktion entwickelte. Dieser Patient hatte jedoch nur vier EKs bekommen und keine massive Transfusion bei massiver Blutung (73).

Eine 77 jährige Patientin mit Hämoglobinkonzentration (Hb) von 6,7 g/dl und Alloantikörpern der Spezifitäten Anti-hr<sup>a</sup>, -E, und -S, bekam 2 Rh (D)-positive EKs. Die Hb stieg auf 10 g/dl und fiel erneut auf 5,1 g/dl ab, da sie offensichtlich Anti-D hatte. Es waren keine kompatiblen EKs verfügbar in den USA und sie bekam drei inkompatible EKs (D-, E-, S-, hr<sup>a</sup>-positiv). Der Hb-Wert stieg zunächst auf 8,6 g/dl und fiel erneut langsam auf 6,7 g/dl ab. Es kamen dann 2 EKs aus Südafrika an und die Transfusion dieser EKs führte zum HB – Anstieg bis auf 9,6 g/dl. Obwohl die Patientin keine Blutung hatte, zeigt dieser Fall, dass inkompatible Bluttransfusionen in bestimmten Situationen indiziert sind. Es muss jedoch betont werden, dass Anti-hr<sup>a</sup> keine schweren HTR, wie z.B. Anti-D verursacht (74). Wäre die Inkompatibilität durch Anti-D gewesen, hätte die Patientin vermutlich eine stärkere Hämolyse mit Komplikationen gehabt.

Bei einer zweiten Patientin mit Sichelzellanämie und Alloantikörpern der Spezifitäten nt-Fy<sup>a</sup>, -S und -Le<sup>b</sup> führten sogar kompatible Transfusionen zur Verstärkung der Hämolyse. Das Phänomen ist bei Patienten mit Sichelzellanämie bekannt und die

Hämolyse lässt sich durch Transfusionen bei solchen betroffenen Patienten nicht immer kompensieren (74, 75).

In einer früheren retrospektiven Studie, ließen sich klinisch relevante Alloantikörper bei 17 von 265 (6,4%) Notfalltransfusionen feststellen. Bei 7 Fällen fand eine Antigen-inkompatible Transfusion statt. Nur bei einer von diesen Patienten ließ sich eine milde verzögerte HTR feststellen (76).

In einer weiteren Studie bekamen 132 Patienten notfallmäßig 1570 EKs. Von diesen Patienten bekamen acht Patienten ungematchte EKs und starben bevor die serologischen Untersuchungen durchgeführt wurden. Insgesamt starben 45 Patienten (34%) und kein Todesfall war durch die Bluttransfusion bedingt. Bei zwei von den restlichen überlebenden ließen sich im Verlauf jeweils ein klinisch relevanter Antikörper feststellen: Anti-D als Folge einer primären Immunisierung und Anti-JK als Folge einer sekundären Immunisierung. Bei einem dritten Patienten ließen sich Anti-Le(a) und Anti-Le(b) im Verlauf feststellen (77).

In einer anderen Studie bekamen sieben von insgesamt 1407 Patienten 10 inkompatible EKs. Zwei von diesen Patienten starben unabhängig von der Transfusion innerhalb der ersten 24 Stunden. Bei keinem der so transfundierten Patienten wurde eine akute HTR beobachtet, und bei einem der Patienten ließ sich eine verzögerte serologische und keine HTR feststellen(78).

In zahlreichen anderen Arbeiten mit dem Thema der Transfusion von ungematchten EKs wurden weder akute noch verzögerte HTR beschrieben (79-92).

Zusammengefasst kommen offensichtlich schwerwiegende HTR bei massiver Blutung und Massivtransfusion nicht vor, solange die Blutgruppen AB0 berücksichtigt werden. Diese klinisch relevante Tatsache wurde in den bisherigen Protokollen für die Versorgung mit EKs kaum oder überhaupt nicht richtig dargestellt. In solchen Protokollen werden im Hinblick auf Transfusionen der Zeitfaktor, die Gerinnungsstörung und das Verhältnis der verwendeten Blutkomponente (EKs: fresh plasma: Trombozythenkonzentrate) mehrfach analysiert und betont ohne Anweisung auf das Vorgehen beim Nachweis von klinisch relevanten Alloantikörpern bzw. auf die Transfusion mit inkompatiblen EKs (93-120). Diskrete Hinweise auf die Indikation für inkompatible EKs durch Alloantikörper finden sich nur in Einzelarbeiten (64, 65, 74).

Ein zweiter Aspekt der relativen Seltenheit der HTR bei ungematchten Transfusionen im Notfall sind die Alloantikörper per se. Diese sind nicht nur selten, sondern liegen meistens in niedriger Konzentration vor und können deshalb nicht zur Zellphagozytose und/oder Komplementaktivierung führen. Das Phänomen wird sogar bei Patienten ohne Blutverlust beobachtet (14). Darüber hinaus ist die Phagozytosekapazität der betroffenen Patienten häufig limitiert. Durch Vorerkrankungen und Behandlung, z.B. konsumierende Vorerkrankungen, Chemotherapie, Hämodialyse, usw. Ferner scheint starker Blutverlust allein und/oder zusammen mit der massiven Bluttransfusion das Immunsystem, insbesondere Zellphagozytose und Komplementaktivierung stark zu beeinträchtigen oder gar zu paralysieren (14, 26).

Das Ziel dieser Diskussionspunkte ist nicht inkompatible Bluttransfusionen zu verharmlosen oder einfach zu bejahen, sondern ein Umdenken bei der Notfallversorgung mit EKs zu bewirken. Denn jede Verzögerung bei der Ausgabe der notwendigen Konserven und/oder der Transfusionsdurchführung ist bei einer massiven Blutung mit einem erhöhten Mortalitätsrisiko verbunden (93-120).

Die Ergebnisse dieser Arbeit werden schließlich von anderen Studien weitgehend bestätigt. Bereits im Korea-Krieg konnten Verletzte mit ungematchten Vollblutflaschen der Blutgruppe 0 von Spendern mit niedrigen Isoagglutinintitern erfolgreich und ohne akute HTR zu provozieren transfundiert werden. (66). Durch die Umstellung der Vollblutflaschen auf Beutel-EKs Anfang der 60er Jahre konnten EKs der Blutgruppe 0 als „Universalkonzentrate“ ohne schwerwiegende HTR, wie es relativ häufig vorkam bei der Verwendung von Vollbluteinheiten, bei allen Patienten und unabhängig von der AB0 Blutgruppe transfundiert werden. In der Tat konnten im Vietnamkrieg sogar Massivtransfusion mit EKs der Blutgruppe 0 bei Verletzten mit den verschiedenen Blutgruppen ohne HTR durchgeführt werden (67). Diese Praxis hat sich bis heute fortgeführt (79-97). Dennoch haben sich die Vorbehalte und die Angst vor HTR in der Praxis kaum verändert. Dies ist durch die Vorgeschichte der Bluttransfusion mit Vollblut und die Verwendung von 0 Blutkonserven als „Universalkonserven“ zu erklären. Diese Benennung stammt von Ottenberg in 1911, da die Isoagglutinine mit Erythrozyten der Blutgruppe nicht reagieren (9). Darauf beruhend wurden Vollbluteinheiten mit der Blutgruppe 0 als „Universal“ Konserven transfundiert. Solche Transfusionen führten jedoch oft zu akuten HTR und der Name

als Universalblut wurde erst durch die Einengung der Erythrozyten durch Zentrifugation oder Sedimentation bzw. der Herstellung von EKs restauriert. Diese enthalten in der Regel weniger als 25 ml Spenderplasma und können berechtigterweise und ohne Bedenken als Universalkonserven verwendet werden. Bei der Verwendung dieser Konserven und oder ABO-identischer Konserven können blutende Patienten ohne das Risiko einer akuten HTR zu entwickeln transfundiert werden. Die meisten bisher beobachteten verzögerten serologischen Transfusionsreaktion mit Nachweis von Alloantikörpern und eine Positivität im direkten Coombs-test sind klinisch nicht relevant. Auch die gelegentlich beobachteten verzögerten HTR sind in der Regel mild und erfordern keine Behandlungsmaßnahmen (72-78). Viel wichtiger ist es rechtzeitig adäquate Versorgung im Notfall zu gewährleisten, ohne Rücksicht auf das Vorliegen möglicher Alloantikörper bei den betroffenen blutenden Patienten. Schließlich nimmt das Risiko des akuten Blutverlustes nicht nur durch Trauma und Verletzungen zu, sondern auch durch die ständige Erweiterung und Intensivierung therapeutischer Maßnahmen, wie Antikoagulation, Kardiovaskuläre und allgemeine Chirurgie, aber auch Transplantationen zu.

## 7. Literaturverzeichnis

1. Martins e Silva J. From the discovery of the circulation of the blood to the first steps in hemorheology: part 1. *Rev Port Cardiol* 2009;28(11): 1245-1268.
2. Learoyd P. The history of blood transfusion prior to the 20th century--part 1. *Transfus Med* 2012;22(5): 308-314.
3. Greenwalt TJ. A short history of transfusion medicine. *Transfusion* 1997;37(5): 550-563.
4. Davidson A, Jaine T. The Oxford Companion to Food (2.ed.). In. Oxford reference: Oxford University Press; 2006.
5. Fastag E, Varon J, Sternbach G. Richard Lower: the origins of blood transfusion. *J Emerg Med* 2013;44(6): 1146-1150.
6. Schwarz HP, Dorner F. Karl Landsteiner and his major contributions to haematology. *Br J Haematol* 2003;121(4): 556-565.
7. Pinkerton PH. Canadian surgeons and the introduction of blood transfusion in war surgery. *Transfus Med Rev* 2008;22(1): 77-86.
8. Stansbury LG, Hess JR. Blood transfusion in World War I: the roles of Lawrence Bruce Robertson and Oswald Hope Robertson in the "most important medical advance of the war". *Transfus Med Rev* 2009;23(3): 232-236.
9. Boulton FE. Blood transfusion; additional historical aspects. Part 1. The birth of transfusion immunology. *Transfus Med* 2013;23(6): 375-381.
10. Daniels G, Poole J, de Silva M, Callaghan T, MacLennan S, Smith N. The clinical significance of blood group antibodies. *Transfus Med* 2002;12(5): 287-295.
11. Poole J, Daniels G. Blood group antibodies and their significance in transfusion medicine. *Transfus Med Rev* 2007;21(1): 58-71.
12. Klein HG, Anstee DJ. Mollison's Blood Transfusion in Clinical Medicine, 11<sup>th</sup> ed. 2014, Blackwell Publishing Ltd.
13. Flegel WA, Wagner FF. Blutgruppen: Alloantigene auf Erythrozyten. Aus: Transfusionsmedizin und Immunhämatologie, Springer Verlag: 133-167
14. Salama A, Welte M. Therapie mit Erythrozyten. Aus: Transfusionsmedizin und Immunhämatologie, Springer Verlag: 311-318
15. Salama A, Mueller-Eckhardt C. Delayed hemolytic transfusion reactions. Evidence for complement activation involving allogeneic and autologous red cells. *Transfusion* 1984;24(3): 188-193.

16. Berentsen S. Role of Complement in Autoimmune Hemolytic Anemia. *Transfus Med Hemother* 2015;42(5): 303-310.
17. Transfusionsgesetz.  
In Wikipedia: <https://de.wikipedia.org/wiki/Transfusionsgesetz>
18. Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie). In: *Deutscher Ärzteverlag*; 2010.
19. Querschnitts-Leitlinien (BÄK) zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten. In: Bundesärztekammer; 2014.
20. Schonewille H, Haak HL, van Zijl AM. RBC antibody persistence. *Transfusion* 2000;40(9): 1127-1131.
21. Ness PM, Shirey RS, Thoman SK, Buck SA. The differentiation of delayed serologic and delayed hemolytic transfusion reactions: incidence, long-term serologic findings, and clinical significance. *Transfusion* 1990;30(8): 688-693.
22. Beauregard P, Blajchman MA. Hemolytic and pseudo-hemolytic transfusion reactions: an overview of the hemolytic transfusion reactions and the clinical conditions that mimic them. *Transfus Med Rev* 1994;8(3): 184-199.
23. Sümniq A, Mayer B, Kiefel V, Greinacher A, Salama A. 'Chameleonic' Serological Findings Leading to Life-Threatening Hemolytic Transfusion Reactions. *Transfus Med Hemother* 2015;42(5): 340-343.
24. Körmöczi GF, Mayr WR. Responder individuality in red blood cell alloimmunization. *Transfus Med Hemother* 2014;41(6): 446-451.
25. Gehrie EA, Tormey CA. The Influence of Clinical and Biological Factors on Transfusion-Associated Non-ABO Antigen Alloimmunization: Responders, Hyper-Responders, and Non-Responders. *Transfus Med Hemother* 2014;41(6): 420-429.
26. Salama A, Berghöfer H, Mueller-Eckhardt C. Red blood cell transfusion in warm-type autoimmune haemolytic anaemia. *Lancet* 1992;340(8834-8835): 1515-1517.
27. Ahrens N, Pruss A, Mayer B, Genth R, Kiesewetter H, Salama A. Association between alloantibody specificity and autoantibodies to red blood cells. *Transfusion* 2008;48(1): 20-24.
28. Salama A. Clinically and/or Serologically Misleading Findings Surrounding Immune Haemolytic Anaemias. *Transfus Med Hemother* 2015;42(5): 311-315.

29. Yazdanbakhsh K. Controlling the complement system for prevention of red cell destruction. *Curr Opin Hematol* 2005;12(2): 117-122.
30. Ricklin D, Hajishengallis G, Yang K, Lambris JD. Complement: a key system for immune surveillance and homeostasis. *Nat Immunol* 2010;11(9): 785-797.
31. Stowell SR, Winkler AM, Maier CL, Arthur CM, Smith NH, Girard-Pierce KR, Cummings RD, Zimring JC, Hendrickson JE. Initiation and regulation of complement during hemolytic transfusion reactions. *Clin Dev Immunol* 2012;2012: 307093.
32. Salama A, Heymann G. Nachweis von erythrozytären Antigenen und Antikörpern, aus: *Transfusionsmedizin und Immunhämatologie*, Springer Verlag: 577-590.
33. Kretschmer V, Weippert-Kretschmer. Notfall- und Massivtransfusion. aus: *Transfusionsmedizin und Immunhämatologie*, Springer Verlag: 405-418.
34. Spinella PC. Warm fresh whole blood transfusion for severe hemorrhage: U.S. military and potential civilian applications. *Crit Care Med* 2008;36(7 Suppl): S340-345.
35. Yuan S, Ziman A, Anthony MA, Tsukahara E, Hopkins C, Lu Q, Goldfinger D. How do we provide blood products to trauma patients? *Transfusion* 2009;49(6): 1045-1049.
36. Nessen SC, Cronk DR, Edens J, Eastridge BJ, Little TR, Windsor J, Blackburne LH, Holcomb JB. US Army two-surgeon teams operating in remote Afghanistan--an evaluation of split-based Forward Surgical Team operations. *J Trauma* 2009;66(4 Suppl): S37-47.
37. Spinella PC, Perkins JG, Grathwohl KW, Beekley AC, Holcomb JB. Warm fresh whole blood is independently associated with improved survival for patients with combat-related traumatic injuries. *J Trauma* 2009;66(4 Suppl): S69-76.
38. Strandenes G, Berséus O, Cap AP, Hervig T, Reade M, Prat N, Sailliol A, Gonzales R, Simon CD, Ness P, Doughty HA, Spinella PC, Kristoffersen EK. Low titer group O whole blood in emergency situations. *Shock* 2014;41 Suppl 1: 70-75.
39. Serious Hazards of Transfusion. In: *Annual Report 2004: SHOT Steering Group*; 2005.

40. Vamvakas EC, Blajchman MA. Transfusion-related mortality: the ongoing risks of allogeneic blood transfusion and the available strategies for their prevention. *Blood* 2009;113(15): 3406-3417.
41. Nance ST, Arndt PA. Review: what to do when all RBCs are incompatible--serologic aspects. *Immunohematology* 2004;20(3): 147-160.
42. Shulman IA, Downes KA, Sazama K, Maffei LM. Pretransfusion compatibility testing for red blood cell administration. *Curr Opin Hematol* 2001;8(6): 397-404.
43. Chapman JF, Elliott C, Knowles SM, Milkins CE, Poole GD, Force WPotBCfSiHBTT. Guidelines for compatibility procedures in blood transfusion laboratories. *Transfus Med* 2004;14(1): 59-73.
44. Weinstein R. 2012 Clinical Practice Guide on Red Blood Cell Transfusion. In: *American Society of Hematology*; 2012.
45. Carson JL, Grossman BJ, Kleinman S, Tinmouth AT, Marques MB, Fung MK, Holcomb JB, Illoh O, Kaplan LJ, Katz LM, Rao SV, Roback JD, Shander A, Tobian AA, Weinstein R, Swinton McLaughlin LG, Djulbegovic B, AABB CTMCot. Red blood cell transfusion: a clinical practice guideline from the AABB\*. *Ann Intern Med* 2012;157(1): 49-58.
46. Fraga GP, Bansal V, Coimbra R. Transfusion of blood products in trauma: an update. *J Emerg Med* 2010;39(2): 253-260.
47. Guidelines for the Administration of Blood Products. In. 2nd ed: Australian and New Zealand Society of Blood Transfusion Ltd, Royal College of Nursing Australia; 2011.
48. Heddle NM, Soutar RL, O'Hoski PL, Singer J, McBride JA, Ali MA, Kelton JG. A prospective study to determine the frequency and clinical significance of alloimmunization post-transfusion. *Br J Haematol* 1995;91(4): 1000-1005.
49. Redman M, Regan F, Contreras M. A prospective study of the incidence of red cell allo-immunisation following transfusion. *Vox Sang* 1996;71(4): 216-220.
50. Pineda AA, Vamvakas EC, Gorden LD, Winters JL, Moore SB. Trends in the incidence of delayed hemolytic and delayed serologic transfusion reactions. *Transfusion* 1999;39(10): 1097-1103.
51. Schonewille H, van de Watering LM, Loomans DS, Brand A. Red blood cell alloantibodies after transfusion: factors influencing incidence and specificity. *Transfusion* 2006;46(2): 250-256.

52. Schonewille H, van de 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* 2006;46(4): 630-635.
53. Zalpuri S, Zwaginga JJ, le Cessie S, Elshuis J, Schonewille H, van der Bom JG. Red-blood-cell alloimmunization and number of red-blood-cell transfusions. *Vox Sang* 2012;102(2): 144-149.
54. Phillips TF, Soulier G, Wilson RF. Outcome of massive transfusion exceeding two blood volumes in trauma and emergency surgery. *J Trauma* 1987;27(8): 903-910.
55. Hoyt DB, Bulger EM, Knudson MM, Morris J, Ierardi R, Sugerman HJ, Shackford SR, Landercasper J, Winchell RJ, Jurkovich G. Death in the operating room: an analysis of a multi-center experience. *J Trauma* 1994;37(3): 426-432.
56. Sauaia A, Moore FA, Moore EE, Moser KS, Brennan R, Read RA, Pons PT. Epidemiology of trauma deaths: a reassessment. *J Trauma* 1995;38(2): 185-193.
57. Acosta JA, Yang JC, Winchell RJ, Simons RK, Fortlage DA, Hollingsworth-Fridlund P, Hoyt DB. Lethal injuries and time to death in a level I trauma center. *J Am Coll Surg* 1998;186(5): 528-533.
58. Kauvar DS, Lefering R, Wade CE. Impact of hemorrhage on trauma outcome: an overview of epidemiology, clinical presentations, and therapeutic considerations. *J Trauma* 2006;60(6 Suppl): S3-11.
59. Kashuk JL, Moore EE, Johnson JL, Haenel J, Wilson M, Moore JB, Cothren CC, Biffl WL, Banerjee A, Sauaia A. Postinjury life threatening coagulopathy: is 1:1 fresh frozen plasma:packed red blood cells the answer? *J Trauma* 2008;65(2): 261-270; discussion 270-261.
60. Moore FA, Nelson T, McKinley BA, Moore EE, Nathens AB, Rhee P, Puyana JC, Beilman GJ, Cohn SM, Group SS. Is there a role for aggressive use of fresh frozen plasma in massive transfusion of civilian trauma patients? *Am J Surg* 2008;196(6): 948-958; discussion 958-960.
61. Snyder CW, Weinberg JA, McGwin G, Melton SM, George RL, Reiff DA, Cross JM, Hubbard-Brown J, Rue LW, Kerby JD. The relationship of blood product

- ratio to mortality: survival benefit or survival bias? *J Trauma* 2009;66(2): 358-362; discussion 362-354.
62. The transfusion of blood and blood components in an emergency. Rapid Response Report NPSA/2010/017, October 2010.
  63. Kruskall MS, Mintz PD, Bergin JJ, Johnston MF, Klein HG, Miller JD, Rutman R, Silberstein L. Transfusion therapy in emergency medicine. *Ann Emerg Med* 1988;17(4): 327-335.
  64. Osterman JL, Arora S. Blood product transfusions and reactions. *Emerg Med Clin North Am* 2014;32(3): 727-738.
  65. Donaldson MD, Seaman MJ, Park GR. Massive blood transfusion. *Br J Anaesth* 1992;69(6): 621-630.
  66. Crosby WH, Akeroyd JH. Some immunohematologic results of large transfusions of group O blood in recipients of other blood groups; a study of battle casualties in Korea. *Blood* 1954;9(2): 103-116.
  67. Barnes A, Allen TE. Transfusions subsequent to administration of universal donor blood in Vietnam. *JAMA* 1968;204(8): 695-697.
  68. Sandler SG, Hermoni D. Blood transfusion therapy in the rear hospital during the Yom Kippur War (October 1973). *Mil Med* 1977;142(1): 49-53.
  69. Repine TB, Perkins JG, Kauvar DS, Blackburne L. The use of fresh whole blood in massive transfusion. *J Trauma* 2006;60(6 Suppl): S59-69.
  70. Boral LI, Henry JB. The type and screen: a safe alternative and supplement in selected surgical procedures. *Transfusion* 1977;17(2): 163-168.
  71. Schmidt PJ, Leparc GF, Samia CT. Use of Rh positive blood in emergency situations. *Surg Gynecol Obstet* 1988;167(3): 229-233.
  72. Unkle D, Smejkal R, Snyder R, Lessig M, Ross SE. Blood antibodies and uncrossmatched type O blood. *Heart Lung* 1991;20(3): 284-286.
  73. Murthi SB, Dutton RP, Edelman BB, Scalea TM, Hess JR. Transfusion medicine in trauma patients. *Expert Rev Hematol* 2008;1(1): 99-109.
  74. Meny G. Review: transfusing incompatible RBCs--clinical aspects. *Immunohematology* 2004;20(3): 161-166.
  75. Cullis JO, Win N, Dudley JM, Kaye T. Post-transfusion hyperhaemolysis in a patient with sickle cell disease: use of steroids and intravenous immunoglobulin to prevent further red cell destruction. *Vox Sang* 1995;69(4): 355-357.

76. Goodell PP, Uhl L, Mohammed M, Powers AA. Risk of hemolytic transfusion reactions following emergency-release RBC transfusion. *Am J Clin Pathol* 2010;134(2): 202-206.
77. Miraflor E, Yeung L, Strumwasser A, Liu TH, Victorino GP. Emergency uncrossmatched transfusion effect on blood type alloantibodies. *J Trauma Acute Care Surg* 2012;72(1): 48-52; discussion 52-43.
78. Mulay SB, Jaben EA, Johnson P, Badjie K, Stubbs JR. Risks and adverse outcomes associated with emergency-release red blood cell transfusion. *Transfusion* 2013;53(7): 1416-1420.
79. Oberman HA, Barnes BA, Friedman BA. The risk of abbreviating the major crossmatch in urgent or massive transfusion. *Transfusion* 1978;18(2): 137-141.
80. Blumberg N, Bove JR. Un-cross-matched blood for emergency transfusion. One year's experience in a civilian setting. *JAMA* 1978;240(19): 2057-2059.
81. Barnes A. Transfusion of universal donor and uncrossmatched blood. *Bibl Haematol* 1980(46): 132-142.
82. Gervin AS, Fischer RP. Resuscitation of trauma patients with type-specific uncrossmatched blood. *J Trauma* 1984;24(4): 327-331.
83. Schwab CW, Shayne JP, Turner J. Immediate trauma resuscitation with type O uncrossmatched blood: a two-year prospective experience. *J Trauma* 1986;26(10): 897-902.
84. Schwab CW, Civil I, Shayne JP. Saline-expanded group O uncrossmatched packed red blood cells as an initial resuscitation fluid in severe shock. *Ann Emerg Med* 1986;15(11): 1282-1287.
85. Lefebvre J, McLellan BA, Coovadia AS. Seven years experience with group O unmatched packed red blood cells in a regional trauma unit. *Ann Emerg Med* 1987;16(12): 1344-1349.
86. Saverimuttu J, Greenfield T, Rotenko I, Crozier J, Jalaludin B, Harvey M. Implications for urgent transfusion of uncrossmatched blood in the emergency department: The prevalence of clinically significant red cell antibodies within different patient groups. *Emerg Med (Fremantle)* 2003;15(3): 239-243.
87. Dutton RP, Shih D, Edelman BB, Hess J, Scalea TM. Safety of uncrossmatched type-O red cells for resuscitation from hemorrhagic shock. *J Trauma* 2005;59(6): 1445-1449.

88. Hess JR. Uncross-matched red blood cells save lives. *Hosp Med* 2005;66(2): 95-96.
89. Pfeiffer R, Tarkin IS, Rocos B, Pape HC. Patterns of mortality and causes of death in polytrauma patients-Has anything changed? *Injury. Int. J. Care Injured* 40 (2009) 907-911
90. Ball CG, Salomone JP, Shaz B, Dente CJ, Tallah C, Anderson K, Rozycki GS, Feliciano DV. Uncrossmatched blood transfusions for trauma patients in the emergency department: incidence, outcomes and recommendations. *Can J Surg* 2011;54(2): 111-115.
91. Thomas MJ. Uncross-matched blood is unnecessary. *Hosp Med* 2005;66(2): 96-98.
92. Boisen ML, Collins RA, Yazer MH, Waters JH. Pretransfusion testing and transfusion of uncrossmatched erythrocytes. *Anesthesiology* 2015;122(1): 191-195.
93. Stainsby D, MacLennan S, Hamilton PJ. Management of massive blood loss: a template guideline. *Br J Anaesth* 2000;85(3): 487-491.
94. Johansson PI, Hansen MB, Sørensen H. Transfusion practice in massively bleeding patients: time for a change? *Vox Sang* 2005;89(2): 92-96.
95. Shulman IA, Maffei LM, Downes KA. North American pretransfusion testing practices, 2001-2004: results from the College of American Pathologists Interlaboratory Comparison Program survey data, 2001-2004. *Arch Pathol Lab Med* 2005;129(8): 984-989.
96. Malone DL, Hess JR, Fingerhut A. Massive transfusion practices around the globe and a suggestion for a common massive transfusion protocol. *J Trauma* 2006;60(6 Suppl): S91-96.
97. Geeraedts LM, Kaasjager HA, van Vugt AB, Frölke JP. Exsanguination in trauma: A review of diagnostics and treatment options. *Injury* 2009;40(1): 11-20.
98. Spinella PC, Holcomb JB. Resuscitation and transfusion principles for traumatic hemorrhagic shock. *Blood Rev* 2009;23(6): 231-240.
99. Johansson PI, Ostrowski SR, Secher NH. Management of major blood loss: an update. *Acta Anaesthesiol Scand* 2010;54(9): 1039-1049.
100. Holcomb JB, Spinella PC. Optimal use of blood in trauma patients. *Biologicals* 2010;38(1): 72-77.

101. Callcut RA, Johannigman JA, Kadon KS, Hanseman DJ, Robinson BR. All massive transfusion criteria are not created equal: defining the predictive value of individual transfusion triggers to better determine who benefits from blood. *J Trauma* 2011;70(4): 794-801.
102. Cotton BA, Gunter OL, Isbell J, Au BK, Robertson AM, Morris JA, St Jacques P, Young PP. Damage control hematology: the impact of a trauma exsanguination protocol on survival and blood product utilization. *J Trauma* 2008;64(5): 1177-1182; discussion 1182-1173.
103. Johansson PI, Stensballe J. Effect of Haemostatic Control Resuscitation on mortality in massively bleeding patients: a before and after study. *Vox Sang* 2009;96(2): 111-118.
104. Riskin DJ, Tsai TC, Riskin L, Hernandez-Boussard T, Purtill M, Maggio PM, Spain DA, Brundage SI. Massive transfusion protocols: the role of aggressive resuscitation versus product ratio in mortality reduction. *J Am Coll Surg* 2009;209(2): 198-205.
105. Cotton BA, Au BK, Nunez TC, Gunter OL, Robertson AM, Young PP. Predefined massive transfusion protocols are associated with a reduction in organ failure and postinjury complications. *J Trauma* 2009;66(1): 41-48; discussion 48-49.
106. Perkins JG, Cap AP, Spinella PC, Shorr AF, Beekley AC, Grathwohl KW, Rentas FJ, Wade CE, Holcomb JB, Group sCSHR. Comparison of platelet transfusion as fresh whole blood versus apheresis platelets for massively transfused combat trauma patients (CME). *Transfusion* 2011;51(2): 242-252.
107. Cushing M, Shaz BH. Blood transfusion in trauma patients: unresolved questions. *Minerva Anesthesiol* 2011;77(3): 349-359.
108. Dzik WH, Blajchman MA, Fergusson D, Hameed M, Henry B, Kirkpatrick AW, Korogyi T, Logsetty S, Skeate RC, Stanworth S, MacAdams C, Muirhead B. Clinical review: Canadian National Advisory Committee on Blood and Blood Products--Massive transfusion consensus conference 2011: report of the panel. *Crit Care* 2011;15(6): 242.
109. Hayter MA, Pavenski K, Baker J. Massive transfusion in the trauma patient: Continuing Professional Development. *Can J Anaesth* 2012;59(12): 1130-1145.

110. Meißner A, Schlenke P. Massive Bleeding and Massive Transfusion. *Transfus Med Hemother* 2012;39(2): 73-84.
111. Johansson PI, Stensballe J, Ostrowski SR. Current management of massive hemorrhage in trauma. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med* 2012;20: 47.
112. Mstrategies for the patient with multiple trauma? *Injury* 2012;43(7): 1021-1028.
113. Pham HP, Shaz BH. Update on massive transfusion. *Br J Anaesth* 2013;111 Suppl 1: i71-82.
114. Mitra B, O'Reilly G, Cameron PA, Zatta A, Gruen RL. Effectiveness of massive transfusion protocols on mortality in trauma: a systematic review and meta-analysis. *ANZ J Surg* 2013;83(12): 918-923.
115. McDaniel LM, Etchill EW, Raval JS, Neal MD. State of the art: massive transfusion. *Transfus Med* 2014;24(3): 138-144.
116. Schöchli H, Schlimp CJ. Trauma bleeding management: the concept of goal-directed primary care. *Anesth Analg* 2014;119(5): 1064-1073.
117. Jacob M, Kumar P. The challenge in management of hemorrhagic shock in trauma. *Med J Armed Forces India* 2014;70(2): 163-169.
118. Waters JH. Role of the massive transfusion protocol in the management of haemorrhagic shock. *Br J Anaesth* 2014;113 Suppl 2: ii3-8.
119. Patil V, Shetmahajan M. Massive transfusion and massive transfusion protocol. *Indian J Anaesth* 2014;58(5): 590-595.
120. Ramakrishnan VT, Cattamanchi S. Transfusion practices in trauma. *Indian J Anaesth* 2015;59(4): 264-265.
121. Seghatchian J, Putter JS. Advances in transfusion science for shock-trauma: Optimising the clinical management of acute haemorrhage. *Transfus Apher Sci* 2015;53(3): 412-422.

## 8. Anhang

### Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Said El Bali, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Neue Aspekte zur Sicherheit ungematchter Erythrozytentransfusionen im Notfall“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -[www.icmje.org](http://www.icmje.org)) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der unterstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikation, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

## **Danksagung**

Ich möchte mich bei allen Personen, die mich besonders zum Gelingen dieser Arbeit unterstützt haben bedanken.

An erster Stelle möchte ich mich bei meinem Doktorvater, Prof. Dr. Abdulgabar Salama, für die Überlassung des Themas, für seine hervorragende Betreuung, für seine Kritik und ständige Motivation, die mir bei der Vollendung dieser Arbeit geholfen haben, bedanken.

Mein ganz herzlicher Dank gilt auch Herrn Dr. Schönfeld und Frau Dr. Ringel, die mich bei der Erstellung der elektronischen Datei und der Statistik mit wichtigen und wertvollen Ratschlägen unterstützt haben.

Ebenso danke ich hier auch meiner Familie, insbesondere meiner Frau, die mich entlastete und mir jederzeit zur Seite stand sowie meinen beiden Söhnen, die trotz ihres jungen Alters großes Verständnis für meine Arbeit hatten und mir Ruhe und Gelassenheit ermöglichten.

## **Tabellarischer Lebenslauf**

„Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten“.