

AUS DEM LEHRSTUHL
FÜR ANÄSTHESIOLOGIE
PROF. DR. BERNHARD GRAF
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

DAS WASCHEN GELAGERTER ERYTHROZYTENKONZENTRATE MIT 3 GERÄTEN
ZUR MASCHINELLEN AUTOTRANSFUSION

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnmedizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Melanie Ingrid Frauendorf

2013

AUS DEM LEHRSTUHL
FÜR ANÄSTHESIOLOGIE
PROF. DR. BERNHARD GRAF
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

DAS WASCHEN GELAGERTER ERYTHROZYTENKONZENTRATE MIT 3 GERÄTEN
ZUR MASCHINELLEN AUTOTRANSFUSION

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnmedizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Melanie Ingrid Frauendorf

2013

Dekan:	Prof. Dr. Dr. Torsten E. Reichert
1. Berichterstatter:	Prof. Dr. Dr. Ernil Hansen
2. Berichterstatter:	PD Dr. Norbert Ahrens
Tag der mündlichen Prüfung:	15.01.2014

Meiner Familie gewidmet

Hinweis:

Die im nachfolgenden Text genannten Handelsnamen, Warenbezeichnungen und Gebrauchsbezeichnungen sind teilweise patent- und urheberrechtlich geschützt. Aus dem Fehlen eines besonderen Hinweises bzw. des Zeichens ® darf nicht geschlossen werden, dass kein Patent oder urheberrechtlicher Schutz besteht.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Die Transfusion von Erythrozytenkonzentraten	1
1.2	Problematik bei der Lagerung von Erythrozytenkonzentraten	2
1.3	Mögliche Nebenwirkungen beim Transfundieren gelagerter Erythrozyten- konzentrate	3
1.4	Gewaschene Erythrozytenkonzentrate	5
1.5	Maschinelle Autotransfusion.....	5
1.6	Herstellung eines gewaschenen Erythrozytenkonzentrates mittels MAT	7
2	Ziel der Arbeit	9
3	Material und Methodik	10
3.1	Studiendesign	10
3.2	Testblut.....	10
3.3	Autotransfusionsgeräte.....	11
3.3.1	Electa: Latham-Glocke.....	11
3.3.2	OrthoPAT: Dynamic Disk.....	14
3.3.3	C.A.T.S: kontinuierliches Autotransfusionssystem	17
3.4	Versuchsablauf	20
3.5	Messparameter	22
3.5.1	Probenentnahme	22
3.5.2	Laborbestimmungen.....	23
3.5.3	Auswertung	25
3.6	Statistik.....	26

4 Ergebnisse

27

4.1 Konservenblut	27
4.2 Konservenblutaufbereitung mit Electa	27
4.2.1 Erythrozytenausbeute	27
4.2.2 Produkthämatokrit	28
4.2.3 Elimination von Protein	29
4.2.4 Elimination von freiem Hämoglobin.....	29
4.2.5 Elimination von Kalium	30
4.2.6 Elimination von Citrat	31
4.2.7 Elimination von Imeron	32
4.3 Konservenblutaufbereitung mit C.A.T.S.....	32
4.3.1 Erythrozytenausbeute	32
4.3.2 Produkthämatokrit	33
4.3.3 Elimination von Protein	33
4.3.4 Elimination von freiem Hämoglobin.....	33
4.3.5 Elimination von Kalium	33
4.3.6 Elimination von Citrat	33
4.3.7 Elimination von Imeron	33
4.4 Konservenblutaufbereitung mit OrthoPAT	34
4.4.1 Erythrozytenausbeute	34
4.4.2 Produkthämatokrit	34
4.4.3 Elimination von Protein	34
4.4.4 Elimination von freiem Hämoglobin.....	34
4.4.5 Elimination von Kalium	34
4.4.6 Elimination von Citrat	35
4.4.7 Elimination von Imeron	35

5 Diskussion

35

5.1 Indikationen und Problematik beim Waschen von Erythrozytenkonzentraten	35
5.2 Besonderheit der Studie hinsichtlich der Berechnung der Eliminationsraten in Mengenangaben	36

5.3 Bewertung der Eliminationswerte der untersuchten Substanzen	36
5.4 Beurteilung der Auswaschleistung der drei Geräte	37
5.5 Beurteilung der Erythrozytenausbeute der drei Geräte	38
5.6 Problematik und Lösungsansatz für die klinische Anwendung	38
5.7 Relevanz und Auswirkung weiterer Substanzen für die Transfusion	39
5.8 Bedeutung der Versuchsergebnisse für den klinischen Alltag	40
 6 Zusammenfassung	 41
 7 Literaturverzeichnis	 43
 8 Anhang	 49
 Tabelle 2 (Studienprotokoll)	 49
Abkürzungsverzeichnis	50
Abbildungsverzeichnis	51
 9 Danksagung	 52

1 Einleitung

1.1 Die Transfusion von Erythrozytenkonzentraten

Die Bluttransfusion ermöglicht die Behandlung einer Reihe von Krankheiten, insbesondere bei Operationen, die mit einem erheblichen Blutverlust einhergehen. Blut wird heute fast ausschließlich in Form von Erythrozytenkonzentraten (EK) transfundiert, die hauptsächlich durch das Deutsche Rote Kreuz bereitgestellt werden. Die Transfusion von Blut und Blutkomponenten ist durch das Transfusionsgesetz (TFG) (1), die Transfusionsrichtlinien (2) und die Transfusionsleitlinien (3) geregelt. Auch wenn heute die Indikation für eine Bluttransfusion sehr sorgfältig und restriktiv gestellt wird, ist der Blutbedarf in Deutschland und auch weltweit weiter steigend. So wurden in der BRD im Jahr 2011 durch die Meldepflicht nach §21 TFG dem Paul-Ehrlich Institut (PEI) die Herstellung und der Verbrauch von mehr als vier Millionen EK gemeldet (Abb. 1).

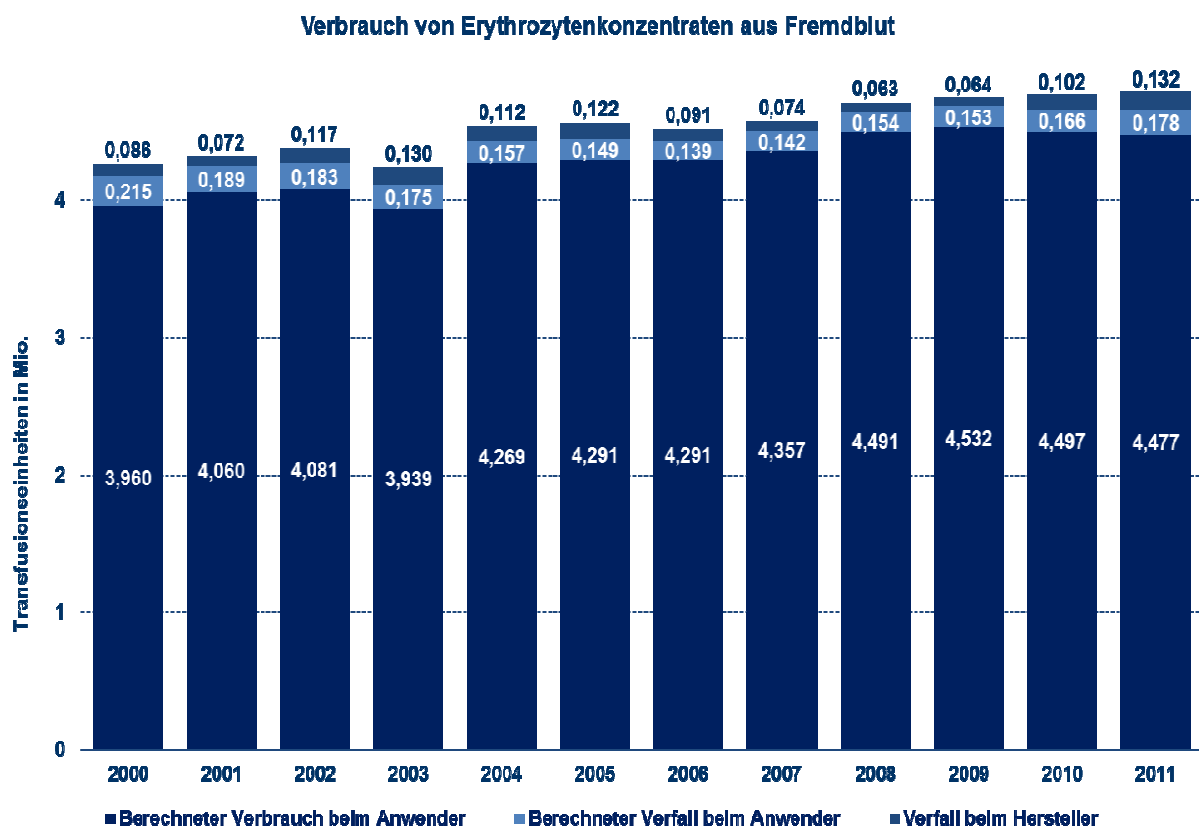


Abb. 1: EK-Verbrauch der BRD 2000-2011 (www.pei.de)

Dargestellt ist die Zahl der hergestellten EK. Nach Abzug des Verfalls beim Hersteller und beim Anwender ergibt sich die Zahl der transfundierten EK.

1.2 Problematik bei der Lagerung von Erythrozytenkonzentraten

In der vorliegenden Studie wurde mit gelagerten EK gearbeitet. EK werden entweder durch die Weiterverarbeitung von Vollblutspenden oder durch Aphereseverfahren erzeugt. Um das EK lagerfähig zu machen, wird eine Stabilisatorlösung zugefügt. Bei optimaler Lagerungstemperatur von $+4 \pm 2^\circ\text{C}$ sind EK je nach Herstellungsverfahren 28 - 49 Tage haltbar (2).

Folgende Qualitätsparameter müssen dabei erfüllt werden (2, 3):

- Der Hämatokritwert muss nach der Herstellung und am Ende der Haltbarkeit 0,50 - 0,70 l/l betragen
- Das Gesamthämoglobin muss nach der Herstellung und am Ende der Haltbarkeit bei $\geq 2,48$ mmol/Einheit liegen
- Die Hämolyse darf am Ende der Haltbarkeit nur weniger als 0,8% der Erythrozytenmasse betragen
- Außerdem muss das EK vor der Transfusion einer optischen Qualitätsprüfung unterzogen werden. Der Beutel muss steril sowie unversehrt sein und es darf visuell keine Koagelbildung oder Verfärbung sichtbar sein (2).

Die Lagerung von solchen EK ist jedoch nicht völlig unproblematisch. So müssen die EK in einem Kühlraum oder Kühlschrank stets bei $+4 \pm 2^\circ\text{C}$ gelagert werden, um Alterungs- und Stoffwechselprozesse in den Erythrozyten zu verhindern bzw. zu verlangsamen. Des Weiteren müssen dem EK einige Substanzen zugefügt werden, um eine gewisse Haltbarkeit zu gewährleisten. So wird beispielsweise die Antikoagulation durch Natriumcitrat erreicht, das zusammen mit Kalziumionen stabile Komplexe bildet und dadurch verhindert, dass die Gerinnung im EK einsetzt. Da reife Erythrozyten weder Zellkern, noch Mitochondrien zur Energiegewinnung besitzen, wird dem Konzentrat Glukose beigefügt, die für die aerobe Glykolyse benötigt wird und somit für die Energiegewinnung und damit die Lebensfähigkeit des Erythrozyten unabkömmlich ist. Phosphat funktioniert als Puffersubstanz. Mannitol und Sorbitol erhöhen die osmotische Widerstandsfähigkeit und vermindern die Spontanhämolyse. Diese Substanzen und noch einige andere werden dem EK in Form von Stabilisator- und Additivlösungen zugeführt [30].

Während der Lagerung treten diverse metabolische, morphologische und biochemische Veränderungen im EK auf. Es kann zu sogenannten Lagerungsschäden kommen [36, 38]. Die Zellvitalität in den EK nimmt ab. Die Glukose wird nach und nach zu Laktat verstoffwechselt,

wodurch der pH-Wert abfällt. Durch die permanente Kühlung wird unter anderem auch die Aktivität der Na^+K^+ -Pumpe vermindert, wodurch es zu einem Kaliumverlust der Erythrozyten kommt, damit zu einer verminderten osmotischen Resistenz und verstärkten Lyse der Erythrozyten. Die Menge an freiem Hämoglobin und die Kaliumkonzentration in der Konserve steigen an. Die ATP-Konzentration sinkt im Laufe der Lagerung, was einen negativen Einfluss auf die Überlebensrate der Erythrozyten nach der Transfusion hat. Des Weiteren verursacht die verminderte ATP-Konzentration einen Verlust von Membranlipiden und setzt so die Fähigkeit zur Deformierung der Erythrozyten herab [5]. Der pH-abhängige Abfall des 2,3-Diphosphoglyzerat verursacht eine Linksverschiebung der Sauerstoffbindungskurve mit erhöhter Affinität des Sauerstoffs zum Hämoglobin und erschwert somit die Sauerstoffabgabe an das Gewebe.

Zusätzlich entstehen bei der Lyse von roten und weißen Blutzellen Mikropartikel aus den Zellmembranen, die gerinnungsaktivierend wirken, die Mikrozirkulation stören und das Retikuloendotheliale System überladen können. Die Plastik-Blutbeutel enthalten zur Elastifizierung Weichmacher wie Diethyl-hexylphthalat (DEHP), die bis zu 40% des Kunststoffprodukts ausmachen und während der Lagerung in das Blut freigesetzt werden [27].

1.3 Mögliche Nebenwirkungen beim Transfundieren gelagerter EK

Bei stabilen Patienten, ohne gesundheitliche Beeinträchtigungen, wird eine adäquate Transfusion im Normalfall gut kompensiert. Bei Patienten mit beeinträchtigter Kompensationsfähigkeit können sich die genannten Stoffe und Verunreinigungen, die sich während der Lagerung angesammelt haben, im Falle einer Transfusion allerdings negativ auswirken. Die Kompensationsfähigkeit des Gesamtorganismus ist abhängig vom Alter des jeweiligen Patienten, seinen Vorerkrankungen und der Menge der transfundierten Konserven.

Kleinkinder, Säuglinge und besonders Frühgeborene stellen eine Risikogruppe dar [6, 23, 37]. Ihre Organsysteme sind noch nicht vollständig ausgereift, Blutvolumen und hämatologische Normwerte sind anders als bei Erwachsenen, und ihre Kompensationsfähigkeiten durch Elimination oder Verstoffwechselung sind noch eingeschränkt. In einer Studie von Swindell et al. [37] entwickelten alle 11 Neugeborenen, die während einer Herzoperation mit Herz-Lungen-Maschine bestrahltes Konservenblut erhalten hatten, eine Hyperkaliämie, vier von ihnen mit Werten über 6 mmol/l und zwei von ihnen mit Kammerflimmern. Auch Todesfälle von Kindern durch Elektrolytentgleisung nach der Transfusion gelagerter EK sind beschrie-

ben. Die Transfusion von EK wurde als Hauptgrund für einen Herzstillstand bei Neugeborenen identifiziert. Die Weichmacher der Transfusionsbeutel sind neurotoxisch und können die Entwicklung der Fortpflanzungsorgane stören [27].

Bei Niereninsuffizienz ist die Ausscheidung von Kaliumionen beeinträchtigt, die Kaliumkonzentration im Plasma steigt an und führt zu Arrhythmien bis hin zum Herzkreislaufstillstand. Das Risiko der gefährlichen Hyperkaliämie erhöht sich bei längerer Lagerungsdauer der EK, bei Bestrahlung der Konserven (gegen GvH), bei gleichzeitiger Hypokalzämie, Azidose oder Hypothermie und bei rascher Transfusion [33, 34, 39]. Bei Leberinsuffizienz ist die Verstoffwechselung der Kalziumionen der Stabilisatorlösung vermindert und es entsteht die Gefahr von Elektrolytentgleisungen wie Hyperkaliämie und Hypomagnesiämie [32]. Auch die Gerinnung wird durch den Kalziummangel beeinträchtigt, was die Blutungsneigung durch die verminderte Bildung von Gerinnungsfaktoren noch verstärkt. Bei Lebertransplantationen wurde die Transfusion von Fremdblutkonserven als starker, unabhängiger Prognosefaktor für die Entwicklung einer Hyperkaliämie beschrieben, die mit einer Inzidenz von 10,2% wiederum ein eigenständiger prognostischer Faktor für den Tod nach Lebertransplantation darstellt [9, 47].

In einer Studie über Traumapatienten trat eine Hyperkaliämie bei 38,5% der Transfunden auf und bei Gabe von über sieben Transfusionseinheiten war es ein unabhängiger, eigenständiger Risikofaktor [2]. Die diesbezüglichen Nebenwirkungen sind abhängig von der Menge des transfundierten Blutes und besonders gravierend bei einer Massivtransfusion [2, 33, 34]. Unter einer Massivtransfusion versteht man den Ersatz von mindestens einem Blutvolumen des Patienten durch Blut oder Blutkomponenten innerhalb von 24 Stunden bzw. die Gabe von mehr als zehn EK. Zu der Belastung durch lagerungsgeschädigte EK kommen bei der Massivtransfusion und insbesondere beim Trauma noch zusätzliche ungünstige Faktoren wie die Hypothermie, eine Vasokonstriktion mit Hypoperfusion und Hypoxie wichtiger Organe wie Herz, Leber und Nieren, und Azidose, die alle eine Hyperkaliämie und ihre kardialen Folgen wie Bradykardie und Arrhythmien verstärken können.

Das mit fortschreitender Lagerung durch Hämolyse freigesetzte Hämoglobin schädigt zusammen mit dem Erythrozytenstroma die Nieren. Des Weiteren führt es als starker NO-Fänger zu einer ausgeprägten Vasokonstriktion, die schon bei zehnfach geringeren Konzentra-

tionen als die 80 - 120 $\mu\text{mol/l}$ auftreten, die der maximal für EK erlaubten 0,8% Hämolyse entsprechen [10].

Deswegen ergeben sich konkrete klinische Indikationen für das Waschen von EK (Tab. 1) zur Elimination von Kalium, Citrat, Weichmachern, freiem Hämoglobin und Zelltrümmern.

<ul style="list-style-type: none"> • Massivtransfusion • Leberinsuffizienz • Niereninsuffizienz (Dialysepflicht) • Neugeborene und Säuglinge
--

Tabelle 1: Indikationen für ein intraoperatives Waschen von gelagerten EK

1.4 Gewaschene Erythrozytenkonzentrate

Ein Lösungsansatz für die beschriebene Problematik, vor allem bei Risikopatienten mit einschlägigen Vorerkrankungen bzw. bei Massivtransfusionen und bei Kindern ist das Waschen der EK vor der Transfusion und damit die Eliminierung aller unerwünschten Komponenten [7, 21, 23, 37, 45]. „Gewaschenes EK“ ist ein definiertes Blutprodukt (3), dessen Gabe bei nachgewiesenen allergischen Reaktionen, hauptsächlich auf Proteine, indiziert ist. Zur Entfernung der Plasmaproteine werden die EK mit isotonischer Lösung mehrmals gewaschen und danach in isotonischer Kochsalzlösung- oder Additivlösung resuspendiert, so dass der Proteingehalt weniger als 0,5 g/Einheit beträgt.

Bei der maschinellen Autotransfusion (MAT) wird autologes Wundblut durch Separation und Waschen von unerwünschten Bestandteilen befreit. Daher sollte ein möglicher Lösungsansatz darin bestehen, im Falle einer notwendig werdenden Gabe von homologen EK, diese mit einem Gerät zur MAT, das bereits im Operationssaal am Patienten eingesetzt ist, zu waschen.

1.5 Maschinelle Autotransfusion

Man unterscheidet bei der Gewinnung von autologen Blutprodukten die präoperativen, intraoperativen und postoperativen Methoden. Die Eigenblutspende, die vor einem geplanten operativen Eingriff größerer Art durchgeführt werden kann, und die Plasmapherese zählen zum präoperativen Verfahren. Hämodilution, MAT, Autotransfusion ohne Zellseparation und die intraoperative Plasmapherese gehören zu den intraoperativen Verfahren. Als postoperatives Verfahren ist die Drainageblutgewinnung mit und ohne Zellseparation bekannt [18]. Dabei

muss der MAT besondere Aufmerksamkeit geschenkt werden, da sie auch bei unerwartet hohem Blutverlust spontan eingesetzt werden kann.

Dank zahlreicher Studien und Versuche konnte sich diese Methode der Eigenblutaufbereitung fest in den medizinischen Operationsalltag integrieren. In früheren Studien war die Untersuchung der Qualität, Funktionsweise und Anwendung verschiedener Autotransfusionssysteme immer wieder zentraler Prüfgegenstand und hat immer mehr Erkenntnisse erbracht und den Fortschritt so vorangetrieben [19, 29, 41, 42].

Das Einsatzspektrum solcher Geräte ist hierbei mittlerweile sehr breit und erstreckt sich auf viele medizinische Bereiche. Eine der wichtigsten Indikationen zur MAT sind Eingriffe, bei denen ein größerer Blutverlust zu erwarten ist, so zum Beispiel in der Gefäßchirurgie [4]. Als „fremdblutsparende“ Maßnahme bietet sie vor allem hinsichtlich einiger Gefahren bei der Transfusion von homologem Blut erhebliche Vorteile. Das aufbereitete Blut weist keine Lagerungsschäden auf, steht schnell zur Verfügung und das Risiko einer Unverträglichkeitsreaktion beziehungsweise einer Infektion ist quasi nicht vorhanden [17]. Denn trotz intensiver Vorsichtsmaßnahmen besteht bei der Fremdbluttransfusion nach wie vor immer noch ein geringes Restrisiko sich mit HIV, Hepatitis, Toxoplasmose, Epstein-Barr-Virus oder Malaria zu infizieren. Transfusionsbedingte Störungen des Säure-Basen-Haushalts, der Gewebeoxygenierung oder Antikörperreaktionen können ebenfalls auftreten [46].

Außerdem kann es zu Transfusionsreaktionen und Unverträglichkeitsreaktionen kommen (Hämolyse, Verklumpung, Hypervolämie, Embolie). Auch der Vorrat an kompatiblen Blutkonserven ist häufig beschränkt und trotz aller Vorkehrungen kann es zu Verwechslungen kommen [46]. Am Rande sei erwähnt, dass die MAT es ermöglicht, Glaubensanhängern bestimmter Religionen, wie den Zeugen Jehovas, die jegliche Art von „Fremdblut“ aus Überzeugung verweigern, auch bei spontanen größeren Blutverlusten während einer Operation, mit autologem Blut auszukommen.

Die Aufbereitung von patienteneigenem Blut mit Hilfe von MAT und die im Anschluss daran stattfindende Retransfusion hat also in der modernen Medizin Fuß fassen können [17], während beispielsweise die direkte Retransfusion von ungewaschenem Wundblut aus gegenwärtiger Sicht der Transfusionsmedizin aufgrund damit verbundener Risiken abzulehnen ist [31].

Um die beschriebenen Vorteile der MAT auch in vollem Umfang und mit größtmöglicher Effizienz nutzen zu können, ist es wichtig, eine hohe Produktqualität des aufbereiteten Blutes zu gewährleisten. Im Zuge des Qualitätsmanagements wurden sogenannte Sollwerte festgelegt, die eine hochwertige Produktqualität garantieren sollen.

Dabei gelten folgende Sollwerte [14]:

- Hämatokrit (Hkt) > 50%
- Erythrozyten-Ausbeute > 80%
- Plasma-Elimination > 90%

1.6 Herstellung eines gewaschenen Erythrozytenkonzentrates mittels MAT

Die intraoperative Aufbereitung von Wundblut beginnt mit der Absaugung mittels eines sterilen chirurgischen Saugers und einer im Einmalset enthaltenen Saugleitung. Das Wundblut wird zunächst kurz hinter der Saugerspitze mit einer Heparin-Kochsalzlösung antikoaguliert und in einem Reservoir gesammelt [17]. In dem Reservoir befindet sich ein Filter, den das Blut passieren muss. Sobald in dem Reservoir eine ausreichende Menge Blut vorhanden ist, wird das Blut in eine Zentrifugenglocke weitergeleitet und dort zentrifugiert. Hier findet zunächst eine Trennung/Separation des Überstands von den Zellen durch Zentrifugation und Abpressen statt. Die Konzentration von gelösten Substanzen im Überstand bleibt dabei unverändert.

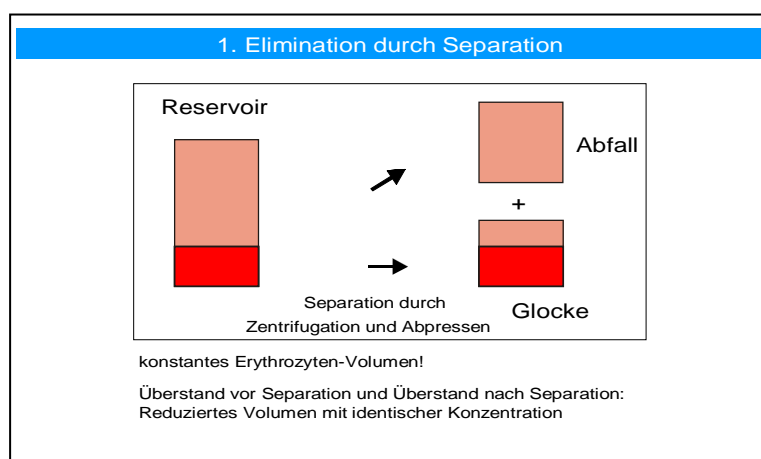


Abb. 2: Trennung durch Zentrifugation - Konzentrationen im Überstand ändern sich nicht

Anschließend findet eine weitere Elimination unerwünschter Bestandteile durch Waschen der Erythrozyten statt:

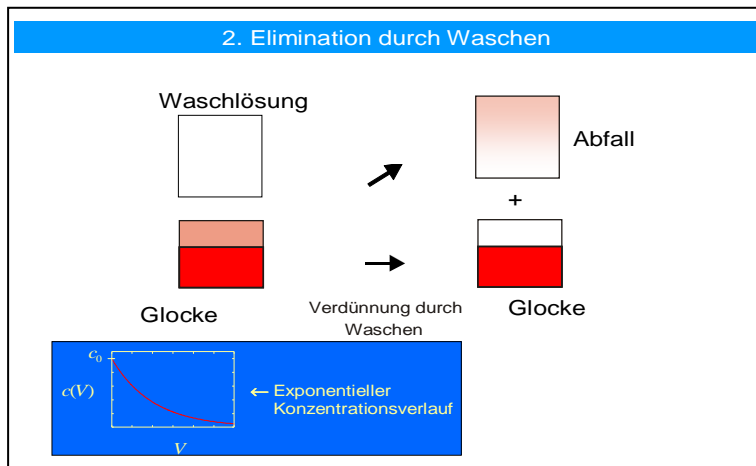


Abb. 3: Trennung durch Waschen - Substanzen im Überstand werden verdünnt

Die Abfallprodukte samt der Waschlösung werden in einen dafür vorgesehenen Abfallbeutel abgeleitet. Das produzierte EK wird in einem Retransfusionsbeutel gepumpt und über eine Infusion dem Patienten retransfundiert.

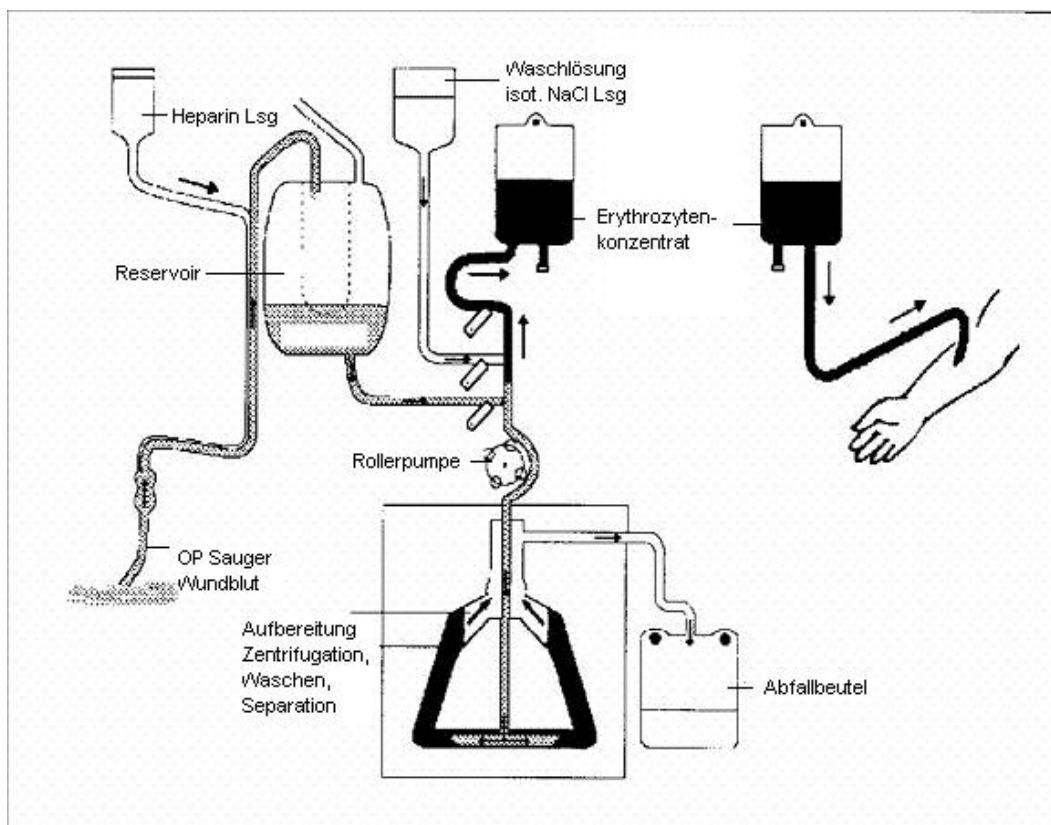


Abb. 4: Ablauf der maschinellen Aufbereitung von Wundblut unter OP-Bedingungen

2 Ziel der Arbeit

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Möglichkeit zu untersuchen, mit Geräten zur intraoperativen Autotransfusion Blutkonserven, speziell gelagerte EK, zu waschen. Die Studie sollte Informationen über den Einfluss von gerätespezifischen und prozessspezifischen Bedingungen für die klinische Anwendung liefern, um den intraoperativen Einsatz speziell bei Risikogruppen wie Kleinkindern, Patienten mit Nieren- oder Leberinsuffizienz und bei Massivtransfusion als effektive, kostengünstige Möglichkeit und unter erheblicher Zeitersparnis im Operationssaal nutzen zu können.

Für exakte und reproduzierbare Ergebnisse wurde ein experimenteller Aufbau gewählt, in dem unsichere Einflussgrößen wie das Reservoir oder geräteseitige Volumenangaben durch direkte Einleitung in die Zentrifugenkammer und Bestimmung der Blutvolumina in Messzylindern ersetzt werden. Um repräsentative Aussagen über Autotransfusionsgeräte treffen zu können, war es das Ziel, nicht nur einen spezifischen „Cell Saver“ zu testen, sondern die Aufbereitung mit drei verschiedenen Autotransfusionssystemen zu untersuchen, nämlich:

- C.A.T.S (Fresenius): Kontinuierlicher Aufbereitungsmodus
- Electa (Sorin): Latham-Glocke
- OrthoPAT (Haemonetics): Dynamic Disk

mit unterschiedlichem Aufbau und Funktionsweise ihrer Zentrifugationskammern.

In dieser Studie sollte die Eliminationsleistung nicht nur durch einen Konzentrationsvergleich, sondern durch Berechnung der Eliminationsrate, also aus einem Vergleich der Substanzmengen vor und nach dem Waschvorgang, angegeben werden. Neben der Elimination erschien es wichtig, durch parallele Bestimmung der Erythrozytenausbeute, immer auch den Verlust an Erythrozyten beim Waschvorgang im Auge zu behalten. Die Elimination sollte für mehrere, klinisch relevante Substanzen untersucht werden. Für eine exakte und reproduzierbare Messung war es das Ziel, klinisch stark schwankende Ausgangswerte durch definierte Substanzmengen zu ersetzen: statt wechselnder Hämolyserate die Zugabe von freiem Hb entsprechend % in Hämolyse, und statt unterschiedlicher Plasma-Restmengen die Zugabe von Imeron als Markersubstanz.

Da die Geräte für das Waschen von Wundblut und nicht von EK konstruiert sind, sollte der Einfluss des Ausgangs-Hämatokritwertes auf Eliminationsleistung und Erythrozytenausbeute untersucht werden, bzw. die Auswirkung einer Vorverdünnung des EK.

Schließlich war es die Absicht, die klinische Anwendung vorzubereiten. Dazu sollten insbesondere praktikable Lösungen für eine Umgehung des Reservoirs (Vakuum) und eine Vorverdünnung gefunden werden.

3 Material und Methodik

3.1 Studiendesign

Es handelt sich um eine experimentelle Studie, bei der in acht Versuchen nebeneinander drei Geräte zur MAT getestet wurden: das Gerät Electa der Firma Sorin, das Gerät OrthoPAT der Firma Haemonetics und das Gerät C.A.T.S der Firma Fresenius.

Die Versuchsbedingungen wurden bei jeder Testung vergleichbar gestaltet. Das Studienprotokoll findet sich im Anhang (Tab. 2).

Jedem der drei Geräte wurde einheitliches, sowohl unverdünntes als auch verdünntes Testblut (TB) angeboten. Ein Vergleich der einzelnen Geräte war nicht vorrangig das Ziel der Versuchsreihe. Vielmehr sollte jedes Gerät für sich hinsichtlich der Aufbereitung von gelagerten Blutkonserven getestet werden. Blutproben aus dem TB und den aufbereiteten EK wurden im Labor der Klinik für Anästhesiologie und des Instituts für Klinische Chemie des Universitätsklinikums Regensburg analysiert.

3.2 Testblut

Für jeden Versuch wurden jeweils sieben gelagerte, allogene EK der gleichen Blutgruppe nach Ablauf ihrer zulässigen Lagerzeit (ein bis drei Tage nach dem Verfallsdatum) vereinigt und gut durchmischt. Das Gesamtvolumen wurde in einem Messzylinder bestimmt und der Hkt mit Hilfe eines Blutgasanalysegerätes (Rapidpoint 400, Bayer) ermittelt. Aus diesem Gemisch von Blutkonserven wurden drei verschiedene Präparationen von TB mit unterschiedlichem Hkt hergestellt:

TB 1: Ein Drittel des TB blieb unverdünnt.

TB 2: Der Rest wurde 1+1 mit isotoner NaCl-Lösung verdünnt.

TB 3: Die Hälfte der 1:2-Verdünnung wurde 1+1 mit isotoner NaCl-Lösung weiter verdünnt, so dass eine 1:4 Verdünnung der ursprünglichen Erythrozytenkonzentratmischung vorlag.

Da für eine Bestimmung der Auswaschrates in dem TB gelöste Substanzen wie freies Hämoglobin, Eiweiß, Kalium oder Citrat in sehr variablen Ausgangskonzentrationen vorlagen, wurden den drei Testblutverdünnungen eine definierte Menge des Röntgenkontrastmittels Imeron (Bracco) als Marker zugesetzt. Für TB 1 waren das 306 mg Imeron (0,5 ml einer 0,6124 g/ml-Lösung), für TB 2 1 ml und für TB 3 2 ml, um im Überstand der Erythrozyten jeweils eine vergleichbare und gut messbare Marker-Konzentration von etwa 550 µg/ml zu erreichen [24].

3.3 Autotransfusionsgeräte

Zum Waschen der Blutkonserven in den drei Verdünnungen wurden die Autotransfusionsgeräte Electa, OrthoPAT und C.A.T.S verwendet, die sich in ihrem Funktionsprinzip unterscheiden.

3.3.1 Electa: Latham-Glocke



Abb. 5: Electa (Sorin)

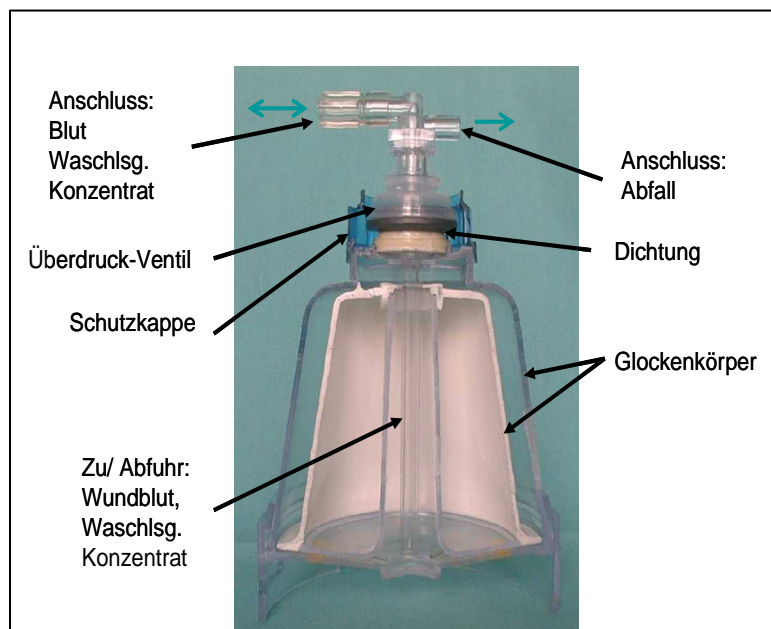


Abb. 6: Latham-Glocke

Das Autotransfusionsgerät Electa der Firma Sorin (Abb. 5) arbeitet diskontinuierlich und mit einer sogenannten Latham-Zentrifugenglocke (Abb. 6). Es besteht aus einer integrierten computergesteuerten Zentrifugeneinheit, die aus einem inneren, stationären und einem äußeren,

rotierenden Teil aufgebaut ist. Des Weiteren enthält es Rollerpumpen zur Beförderung von Blut aus dem Reservoir in die Zentrifugenglocke, einen „buffy-coat“-Sensor, einen Luftsensorm, einen Hämatokritsensor, einen Flüssigkeitsverlustsensor, einen Waschqualitätssensor und einen Überdrucksensor. In die Zentrifuge wird ein steriles Einmalsystem eingelegt, bestehend aus der Latham-Glocke, den zu- und abführenden Schläuchen, die in einer Kassette in die Rollerpumpe eingelegt werden, sowie einem Abfallbeutel und einem Transfusionsbeutel. Das Gerät kann mit Zentrifugenglocken unterschiedlicher Größe und mit unterschiedlichen Programmen betrieben werden und arbeitet halbautomatisch. Das Produkt hat einen Hkt von 50 - 60%.

Beim Füllvorgang wird die Zentrifuge in Rotation versetzt und das Blut mit Hilfe der Rollerpumpe vom Boden aus in die Glocke befördert (Abb. 7).

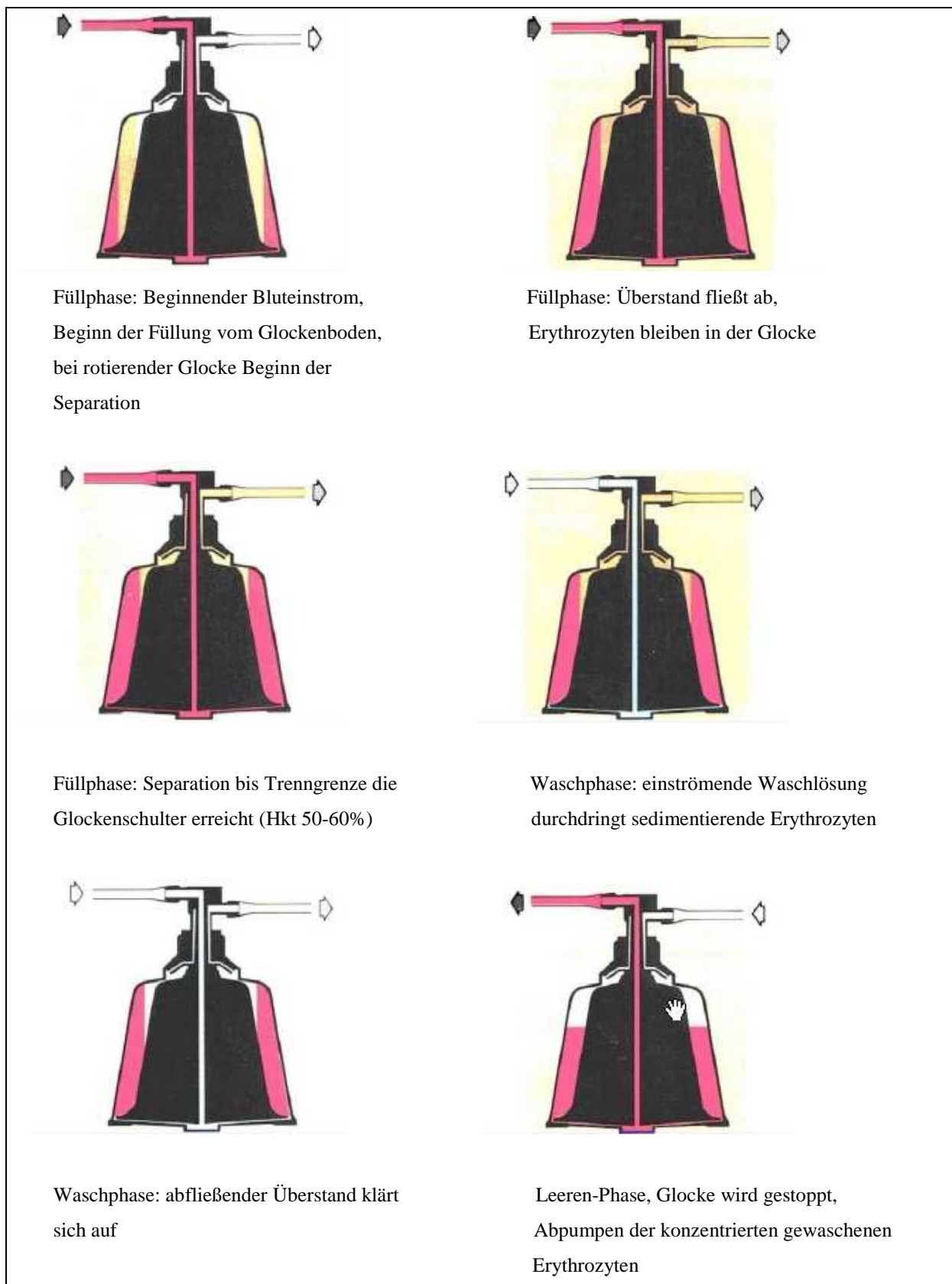


Abb. 7: Funktionsweise der Latham-Glocke (schematische Darstellung aus Bedienungsanleitung Electa, Sorin)

Die Erythrozyten sedimentieren an die Glockenwand, während sich der Überstand (Plasma) an der Glockeninnenseite sammelt und mit zunehmender Füllung über den zentralen Auslass in den Abfallbeutel abfließt. In dieser ersten „Separationsphase“ werden gelöste Substanzen entfernt, indem sie mit dem Überstand verworfen werden. Ihre Konzentration ändert sich dabei nicht. Die Füllphase endet, sobald ein Detektor erkennt, dass der buffy-coat, also die Trenngrenze zwischen Erythrozyten und Plasma, die obere Glockenschulter erreicht. Bei maximaler Füllmenge wird dann automatisch der Waschvorgang eingeleitet. Anschließend beginnt automatisch die Waschphase, in der statt weiteren Blutes nun isotonische Kochsalzlösung in die Glocke gepumpt wird. Die Kochsalzlösung durchströmt dabei das Erythrozytensediment und wäscht gelöste Substanzen wie Kalium oder freies Hämoglobin und andere Proteine aus, wodurch deren Konzentration sinkt. Dies ist auch an der zunehmenden Klarheit der in den Abfallbeutel abfließenden Flüssigkeit abzulesen. Nachdem ein voreingestelltes Volumen an Waschlösung verbraucht ist, stoppt die Zentrifuge und es beginnt automatisch der Prozess des Leerens, bei dem das gewaschene EK in den Retransfusionsbeutel gepumpt wird.

Für die vorliegende Studie wurden Latham-Zentrifugenglocken der Größe 175 ml (BT175, Sorin) verwendet und ein Waschvolumen von 1000 ml. Das Gerät wurde in einem halbautomatischen Modus und in dem Programm „Standard“ betrieben.

3.3.2 OrthoPAT: Dynamic Disk



Abb. 8: OrthoPAT (Haemonetics)



Abb. 9: Die dynamische Disk

Das Autotransfusionsgerät OrthoPAT der Firma Haemonetics (Abb. 8) ist ebenfalls ein diskontinuierlich arbeitendes System, d.h. mit einer getrennten Füll-, Wasch- und Leer-Phase. Im Gegensatz zur Latham-Glocke ist die Zentrifugenkammer beim OrthoPAT aber nicht starr und von konstantem Volumen, sondern eine „dynamische Disk“ (Abb. 9). Sie besteht aus einer oberen starren Kunststoffscheibe, welche die Zu- und Ableitungen enthält, und einer elastischen Silikonfolie, die sich durch Vakuum ausdehnen und einer Gussform anschmiegen kann (Abb. 10). Nicht eine Schlauchpumpe, sondern die Ausdehnung und elastische Rückdehnung der Silikonmembran bewirkt hier das Füllen und Entleeren der variablen Zentrifugenkammer mit Blut oder Waschlösung.

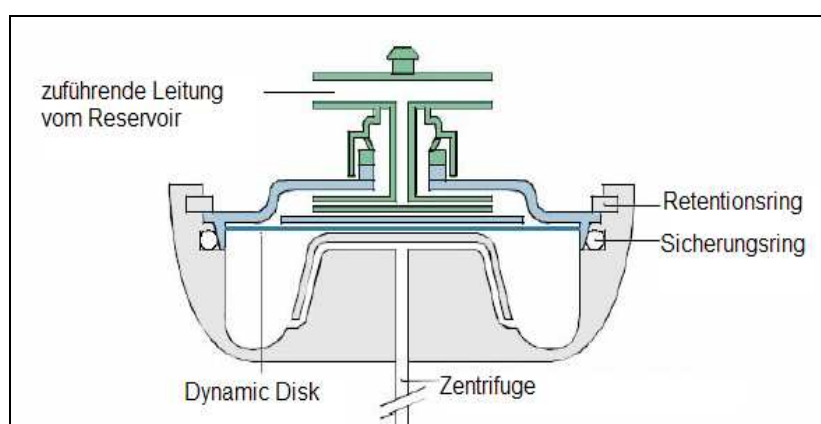


Abb. 10: Aufbau der dynamischen Disk (aus Betriebsanleitung OrthoPAT, Haemonetics)

Das Gerät OrthoPAT ist speziell für die automatische Aufarbeitung von Drainageblut nach orthopädischen Operationen konzipiert und daher durch die geringe Größe und die kurzen und dünnen Schläuche besonders für die Verarbeitung kleiner Blutvolumina geeignet. Das maximale Ausdehnungsvolumen der flexiblen Disk beträgt 100 ml. Das OrthoPAT-Gerät misst die Füllung des Sammelreservoirs und startet bei entsprechender Füllung automatisch mit der Aufbereitung.

Zum Füllen wird unterhalb der Silikonmembran ein Unterdruck angelegt und durch ihre Ausdehnung das Blut in die rotierende Kammer gesogen, bis diese mit 100 ml gefüllt ist (Abb. 11). Die Zentrifugalkraft trennt die Erythrozyten vom Überstand (Plasma). Nun lässt das Vakuum nach, die Silikonmembran zieht sich elastisch zusammen und der Überstand mit den gelösten Substanzen fließt in den Abfallbeutel ab (Separation). Dieses Abpressen des Überstandes stoppt, sobald ein Sensor am Auslass das Erythrozytensediment detektiert. Abhängig von der jeweiligen Diskfüllung wird entweder noch einmal Blut aus dem Reservoir entnommen oder der Waschvorgang wird gestartet. Dabei wird statt mit weiterem Blut die

Separationskammer nun mit Waschlösung aufgefüllt. Damit ist das Waschvolumen relativ gering und nicht vom Anwender beeinflussbar. Der Separationsvorgang steht für die Substanzelelimination ganz im Vordergrund, was mit einem hohen Produkthämatokrit von etwa 70% einhergeht. Das Waschvolumen ergibt sich als Differenz von 100 ml Diskvolumen und der Diskfüllung mit Erythrozyten. Nach weiterer Zentrifugation werden wiederum die Erythrozyten vom Überstand getrennt und dieser durch Retraktion der Membran in den Abfallbeutel entsorgt. Schließlich wird das verbleibende gewaschene EK in den Transfusionsbeutel übergeleitet.

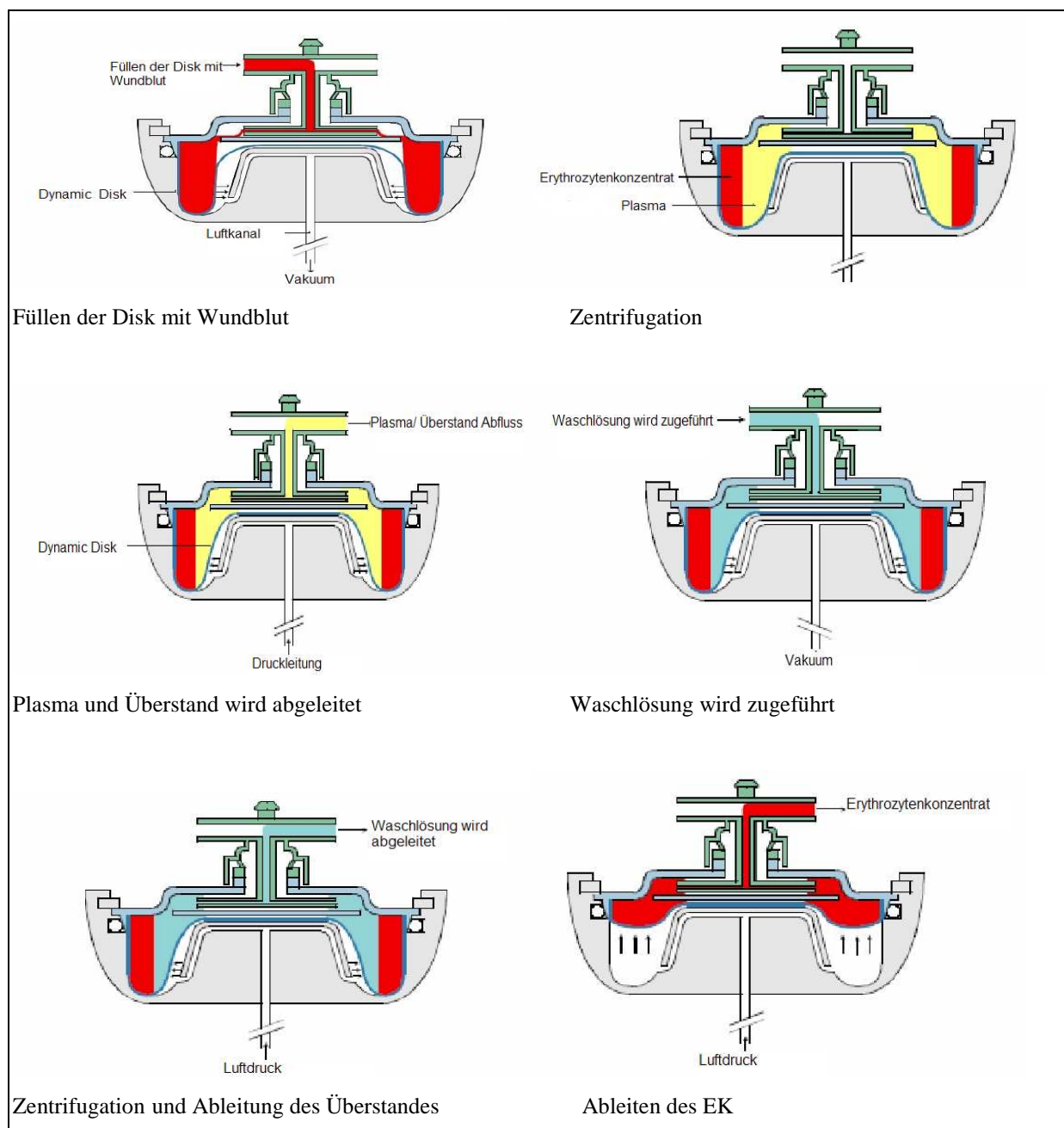


Abb. 11: Funktionsweise der dynamischen Disk (aus Betriebsanleitung OrthoPAT, Haemonetics)

3.3.3 C.A.T.S: kontinuierliches Autotransfusionssystem



Abb. 12: C.A.T.S (Fresenius)

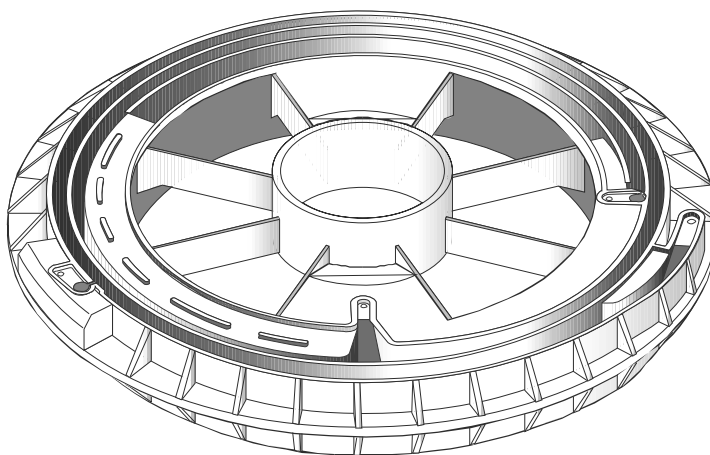


Abb. 13: Separationskammer von C.A.T.S (aus Betriebsanleitung C.A.T.S, Fresenius)

Das C.A.T.S Autotransfusionsgerät der Firma Fresenius (Abb. 12) arbeitet nach dem Elutriator-Prinzip. Das Blut durchläuft dabei eine rotierende, schneckenförmige Waschkammer (Abb. 13). Im Gegensatz zu den beiden vorher beschriebenen diskontinuierlich arbeitenden Geräten laufen hier die unterschiedlichen Aufbereitungsphasen zeitgleich an verschiedenen Stellen ab, woraus sich die kontinuierliche Arbeitsweise des Systems ergibt. Nachdem das System mit Blut gefüllt ist und sich eine gewisse Menge an Erythrozyten in einem Trog angesammelt hat, führt jedes weitere Einfüllen von Blut zu einem kontinuierlichen Abfließen von gewaschenem EK mit einem hohen Hkt von 60 - 70%. Blut, Waschlösung und Produkt werden dabei von drei getrennt geregelten Schlauchpumpen befördert. Es gibt drei verschiedene Programme, „High Quality Wash“, „Quality Wash“ und „Ultra Flow Wash“, die sich in Waschvolumen und -geschwindigkeit unterscheiden. Die zur Funktion notwendige Füllung

mit Erythrozyten kann erst am Ende der gesamten Aufarbeitung durch einen Leervorgang beendet werden.

Unter Rotation wird das Blut in die Doppelspirale der Waschkammer gepumpt, die Erythrozyten sedimentieren an die Außenwand und der Überstand (Plasma) fließt mit zunehmender Füllung ab (Abb. 14). Auf einer immer größer werdenden Kreisbahn fließen die Erythrozyten in einem Kanal, in dem sie an einer Stelle durch zufließende Waschlösung durchströmt und aufgewirbelt werden. Danach sammeln sie sich gewaschen wieder in dem Kanal, während Überstand und Waschlösung an einem Ablass an der Kanalinnenseite zum Abfallbeutel abfließen. Am Ende der Schnecke steuert ein Sensor am Bluttrog die Produktpumpe, die überschüssiges gewaschenes EK kontinuierlich in den Transfusionsbeutel pumpt.

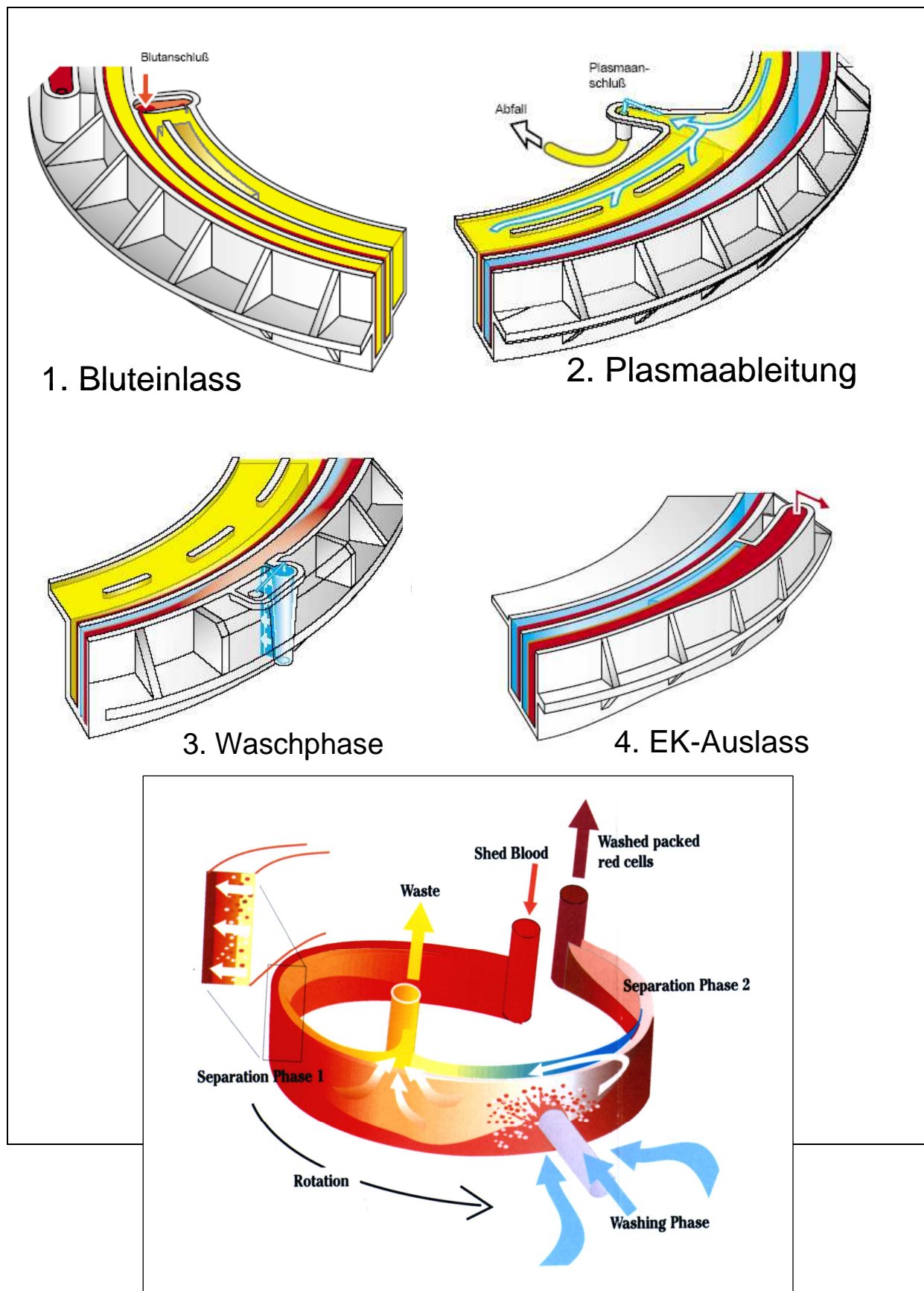


Abb. 14: Funktionsweise von C.A.T.S. (aus Betriebsanleitung C.A.T.S., Fresenius)

In der Studie wurde das Programm „Quality Wash“ mit einem Waschfaktor von 5 verwendet, d.h. dem Fünffachen des Blutvolumens an Kochsalzlösung als Waschvolumen.

3.4 Versuchsaufbau

Zu Beginn eines jeden Versuches wurden die drei Autotransfusionsgeräte herstellergerecht entsprechend ihrer jeweiligen Bedienungsanleitung aufgebaut, d.h. das „Wasch-Set“ eingelegt. Um die eingesetzten Blutvolumina verlässlich messen zu können, wurde in der Studie auf das Sammelreservoir sowie den Transfusionsbeutel bei allen drei Geräten verzichtet. Beim OrthoPAT wurde das Reservoir allerdings mit 400 ml Kochsalzlösung befüllt, um den Betrieb des Gerätes überhaupt zu ermöglichen („Dummy-Reservoir“). Zur genauen Bestimmung der Blutvolumina wurde das TB dem jeweiligen Gerät über die gekürzte Ansaugleitung aus einem Messzylinder angeboten und die hergestellten EK aus der gekürzten Produktleitung in einen entsprechenden Messzylinder geleitet (Abb. 15).

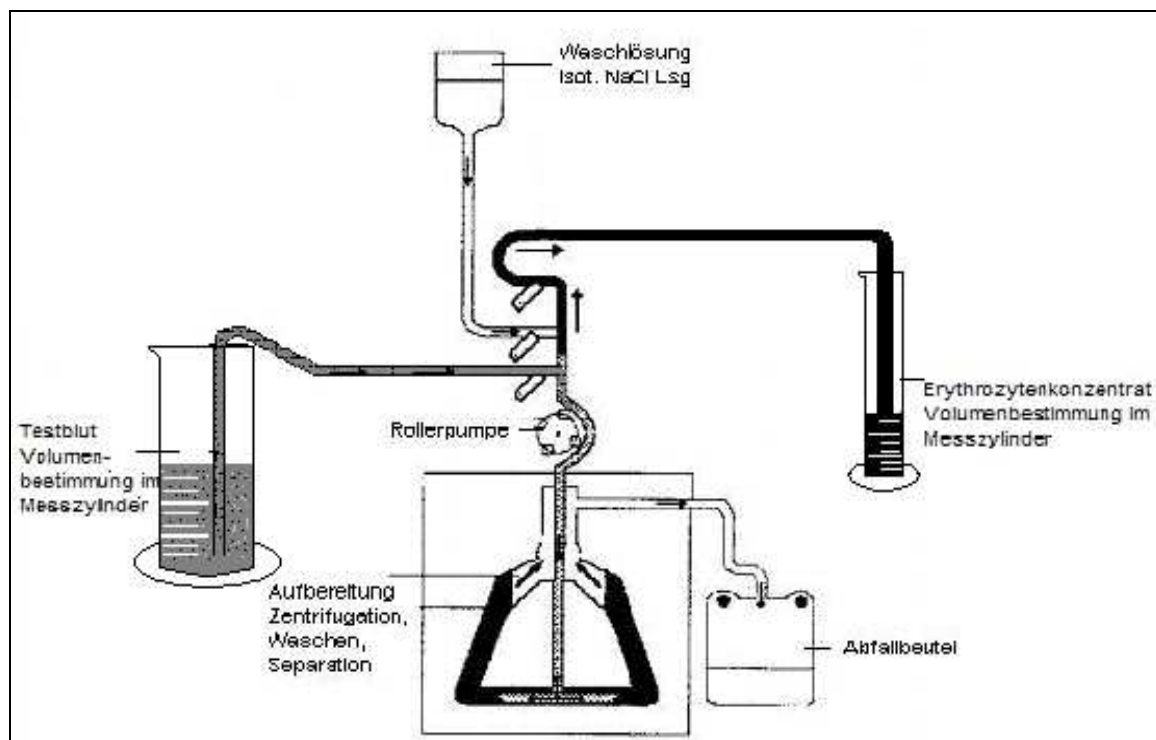


Abb. 15: Versuchsaufbau am Beispiel von Electa (unter Ausschluss des Reservoirs und Produktbeutels)

Wegen des Verlustes an Erythrozyten bei der ersten Füllung der Wasch- und Schlauchsysteme und weil die Funktion der Geräte im laufenden Betrieb am verlässlichsten beurteilt und miteinander verglichen werden kann, wurden die Einmalsysteme mit TB (TB 2) vorgefüllt, d.h. benetzt. Die diskontinuierlich arbeitenden Systeme Electa und OrthoPAT wurden anschließend wieder geleert, das kontinuierlich arbeitende C.A.T.S wurde gefüllt belassen, wie es für dessen Betrieb notwendig ist. Die Testblutpräparationen wurden bei allen drei Geräten in der Reihenfolge TB 2 - TB 1 - TB 3 verwendet (siehe Studienprotokoll im Anhang). Die Menge des angebotenen TB war so kalkuliert, dass sie bei dem diskontinuierlichen System Electa mit der 175 ml-Glocke mindestens für einen Aufbereitungsprozess (eine Glockenfüllung) ausreichend war. Die tatsächlich eingesaugte Blutmenge wurde dann anhand der Differenz von angebotener und im Zylinder als Rest verbliebener Menge errechnet. Den anderen Geräten wurde ebenfalls genau diese Menge an TB angeboten. Jede Versuchsreihe wurde mit dem Autotransfusionsgerät Electa begonnen, anschließend mit dem Gerät C.A.T.S fortgesetzt und schließlich mit dem Gerät OrthoPAT beendet.

Bei Electa fand die Benetzung des Systems statt, indem es mit 100 ml TB 2 vorgefüllt und anschließend zweimal geleert wurde. Um immer eine ausreichende Glockenfüllung zu gewährleisten, wurden von TB 2 stets 400 ml angeboten, von TB 1 200 ml und von TB 3 800 ml. Als zweites wurden die Versuche mit dem kontinuierlich arbeitenden Gerät C.A.T.S durchgeführt. Dabei wurde der Programmpunkt „Quality Wash“ ausgewählt. Bei diesem Gerät wurden als erstes die Leitungen mit 200 ml steriler Kochsalzlösung benetzt. Dann wurde vor jedem Durchlauf mit dem entsprechenden TB vorgefüllt, bis das erste Produkt in den dafür vorgesehenen Messzylinder entleert wurde. Die Durchläufe wurden durch Drücken der Start-Taste automatisch begonnen. Wieder wurde mit TB 2 begonnen, wobei hiervon 300 ml angeboten wurden. Dann wurde TB 1 vorgefüllt und anschließend 150 ml davon angeboten. Als letztes wurde TB 3 vorgefüllt und 600 ml angeboten. Von den daraus entstandenen Produkten wurde das Volumen abgemessen und jeweils eine Probe entnommen. Nach jedem der drei Durchläufe wurde jeweils zweimal geleert und auch von dieser weiteren Portion EK wurde das Volumen vermessen und eine Probe für die Laborbestimmung entnommen.

Als letztes Gerät wurde das diskontinuierlich arbeitende Gerät OrthoPAT getestet. Auch hier wurde das Gerät anfangs mit 100 ml TB 2 vorgefüllt. Danach wurden 300 ml TB 2 aus einem Messzylinder angeboten und abhängig vom Gerät abgewartet welches Gesamtvolumen in wie vielen Läufen benötigt wurde. Das letztendlich verwendete Volumen konnte dann wieder am

Messzylinder abgelesen werden. Als nächstes wurden 200 ml TB 1 angeboten und wie eben beschrieben verfahren. Anschließend wurden dem Gerät noch 600 ml von TB 3 angeboten und das während 3 - 5 Waschvorgängen verbrauchte Volumen abgelesen. Der Verarbeitungsprozess beinhaltet verschiedene Aktionen wie Füllen, Abpressen, Waschen und Produkt. Hierbei ist zu erwähnen, dass bei dem Lauf mit TB 3 die unterschiedlichsten Konstellationen, was die Reihenfolge von Füllen, Waschen und Produktentleerung betrifft, vertreten waren. So war es einmal der Fall, dass die unmittelbare Abfolge von Füllen, Waschen und Produktentleerung eintrat, beim nächsten Waschvorgang jedoch auf das erste Füllen ein zweites folgte und dann erst gewaschen wurde usw. Die genaue Reihenfolge der verschiedenen Aktionen wurde im Versuchsprotokoll vermerkt.

Von jedem der drei Ausgangsblutmengen wurde nach sorgfältiger Durchmischung eine Probe entnommen, welche der Blutgasanalyse und der Laboruntersuchung unterzogen wurde. Nach dem Aufbereitungsprozess erfolgte wiederum eine Volumenbestimmung des Produktes mittels Messzylinder, sowie Probenentnahmen für die Blutgasanalyse und Laborauswertung. Während des Füllvorganges wurde stets darauf geachtet, dass das Schlauchende immer vollständig im Testblut versinkt, um ein Ansaugen von Luft zu vermeiden. Das für einen Aufbereitungslauf tatsächlich verwendete Testblutvolumen wurde als Differenz von vorgelegtem Volumen und Restvolumen nach dem Einfüllen im Messzylinder bestimmt.

Im Versuchsaufbau der Studie wurde die Leitung zum Retransfusionsbeutel durchtrennt und das gewonnene EK stattdessen zur Probeentnahme und Volumenbestimmung in einen Messzylinder gesammelt. Nach jedem Durchlauf wurde noch einmal zusätzlich die „Leeren“ Taste betätigt, um sicher zu stellen, dass das in der Produktleitung verbliebene EK ebenfalls in den Messzylinder geleitet wurde. Dadurch war es möglich, die Qualität jedes EK der einzelnen Aufbereitungsvorgänge getrennt zu analysieren.

3.5 Messparameter

3.5.1 Probenentnahme

Bei jeder Probenentnahme wurden eine 4 ml EDTA Sarstedt-Monovette (No./REF 03.1397) und zwei 15 ml Serum-Monovetten (No./REF 03.1397) befüllt. Aus dem EDTA-Blut wurde mit Hilfe des Analysegerätes ADVIA 120 (Bayer) ein kleines Blutbild angefertigt. Vor der Entnahme wurde auf eine gute Durchmischung des Blutes geachtet, um Sedimentationsvorgänge zu vermeiden. Zudem wurden die Proben möglichst zeitnah ins Zentrallabor der Universitätsklinik Regensburg gebracht, um auch hier mögliche Fehlerquellen zu minimieren.

Die Serum-Monovetten wurden jeweils mit der Megafuge 1.0 R (Heraeus) fünf Minuten bei 4000 U/min (3100 g) und einer Temperatur von 5°C zentrifugiert und die Überstände mit Einwegpipettenspitzen in Eppendorf-Cups überführt und ebenfalls ins Labor zur Messung gebracht. Die Überstände zur Messung der Werte von Citrat und Imeron wurden zunächst eingefroren, um zu einem späteren Zeitpunkt im Labor der Anästhesiologie vermessen zu werden.

Zudem wurde mit dem Blutgasanalysegerät Rapidpoint 400 (Bayer) vorab eine Messung aller Proben durchgeführt, um den Hkt zu bestimmen und einen Überblick über die anderen Werte zu erhalten.

3.5.2 Laborbestimmungen

Aus dem TB und dem autologen gewaschenen Erythrozytenkonzentrat (AGEK) wurden jeweils folgende Parameter bestimmt:

- Hämatokrit
- Gesamteiweiß
- Hämoglobin
- Freies Hämoglobin
- Kalium
- Imeron
- Citrat

Aus der EDTA-Probe wurde mit dem Gerät ADVIA 120 (Bayer) ein kleines Blutbild erstellt. Der Hkt ist ein errechneter Wert. Mittels genormter Zentrifugation setzen sich die Erythrozyten vom Plasma ab und der Anteil an Erythrozyten am Gesamtblutvolumen kann bestimmt werden.

Die Bestimmung des Hämoglobins erfolgte in zwei Schritten. Zunächst wurden alle Erythrozyten lysiert und somit das Hämoglobin freigesetzt. Im zweiten Schritt wurde dann das im Hämoglobin enthaltene Hämeisen von Fe^{2+} zu Fe^{3+} oxidiert. Bei der anschließenden Bindung an das im ADVIA 120 HGB Reagenz enthaltene Cyanid entstand das Reaktionsprodukt. Aus dem Serumüberstand wurde die Konzentration an Gesamtprotein mit Hilfe des Analysegerätes ADVIA 1650 (Bayer) photometrisch bestimmt. Bei diesem Verfahren reagieren die Peptidbindungen der Proteine mit den im Biuret-Reagenz befindlichen Kupferionen zu einem violetten Komplex. Die Intensität des violetten Farbumschlags verhält sich linear zur Anzahl

der Peptidbindungen und damit der Masse an Protein. Gemessen wird der Anstieg der Absorption bei 546 nm.

Ebenfalls aus dem Überstand wurde das freie Hämoglobin mit dem Analysegerät BN ProSpec (Siemens) mittels Immunnephelometrie gemessen. Die Immunnephelometrie basiert auf der Wechselwirkung zwischen Antikörpern und Antigenen. Bei der Messung werden Antikörper verwendet, die hochspezifisch an das extrazellulär gelegene, freie Hämoglobin binden und es somit zur Bildung von Antigen-Antikörper-Komplexen kommt [22]. Zur Quantifizierung werden Lichtstrahlen durch die Küvette geschickt, die dann an den Komplexen gestreut werden. Das Streulicht wiederum wird durch ein Linsensystem auf einen Photodetektor fokussiert.

Die Kaliumkonzentration wurde mittels einer ionenselektiven Elektrode bestimmt

ADVIA 1650 (Bayer). Diese bestimmt potentiometrisch die Ionenaktivität der Kaliumionen, die dann vom Gerät als entsprechende Konzentration angegeben wird.

Imeron und Citrat wurden im Labor der Anästesiologie mittels High-performance liquid chromatographie (HPLC) (Agilent 1090 mit Agilent DAD-Detektor) vermessen [20]. Bei der HPLC handelt es sich um ein physikalisch-chemisches Trennverfahren, bei dem die zu untersuchende Substanz zusammen mit einem Laufmittel, der sogenannten mobilen Phase (auch „Elutionsmittel“ oder „Eluent“ genannt) durch eine Trennsäule gepumpt wird, welche die stationäre Phase enthält.

Die mobile Phase ist ein Lösungsmittel bzw. -gemisch, welches mit hohem Druck durch die Säule gepresst wird und somit die zu analysierende Probe, die am Säulenanfang aufgegeben wird, durch die Säule transportiert.

Die einzelnen Bestandteile der Probe wandern unterschiedlich schnell, weil sie durch Wechselwirkungen mit der stationären Phase unterschiedlich stark aufgehalten werden. Wechselwirkt ein Bestandteil der zu untersuchenden Substanz stark mit der stationären Phase, verbleibt er relativ lange in der Säule. Wechselwirkt er hingegen schwach mit der stationären Phase, verlässt er die Säule früher. Je nach Stärke dieser Wechselwirkungen erscheinen die Bestandteile der Substanz zu verschiedenen Zeiten (den Retentionszeiten) am Ende der Trennsäule, an dem sie dann mit einem geeigneten Detektor nachgewiesen werden können. Die Messwerte stellt man als Kurve dar und erhält dadurch das Chromatogramm. Die einzelnen Erhebungen nennt man Peaks. Die Zahlen oberhalb der Peaks sind die sog. Retentionszeiten (in Minuten). Das ist die Zeit vom Start der Analyse bis zur Detektion des Peaks. Man erkennt einen bestimmten Stoff an der Retentionszeit.

Die Fläche unter den Peaks ist proportional zu der Konzentration des Stoffs. Will man die Konzentration einer chemischen Substanz bestimmen, so kann man dies tun, indem man Standards dieser chemischen Substanz mit bekannten Konzentrationen herstellt und die Peak-Fläche der Standards mit den Peak-Flächen der Substanz in den Proben vergleicht

(Wikipedia/www.med4you.at).

Das zu messende Imeron und Citrat wurde zunächst in Eppendorfcups eingefroren, für die Messung aufgetaut und bei 13000 U/min zwei Minuten lang zentrifugiert. Von den Citratproben wurden je 20 µl Überstand in Microvials übertragen und 20 µl zur Messung injiziert. Hierbei wurde eine sterile 23,35%-ige Natriumcitratdihydrat-Stammlösung in einer externen Calibration im Bereich von 23,34 ppm (76,6 µmol/l) bis 233400 ppm (766 mmol/l) eingesetzt. Die Chromatographie erfolgte bei 210 nm. 0,3 ml/min Lösung wurde zunächst durch zwei Säulen geleitet und gradientenabhängig eluiert und anschließend gefiltert (Poren: 0,45 µm; RC 55, Schleicher & Schuell Corp., Dassel).

Bei der Messung von Imeron wurde eine Imeron-Medikamenten-Stammlösung in einer externen Calibration im Bereich von 1,2 bis 1224 µg/ml eingesetzt. Hier wurden lediglich 5 µl injiziert und bei 254 nm vermessen. Die Nachweisgrenze lag beim Imeron bei 0,7 µg/ml, welche durch die B.E.N. 2.0 Software (Universität Heidelberg) ermittelt wurde.

Die Quantifizierung von Citrat wurde durch externe Calibration mittels Natriumcitratdihydrat erreicht. Der Calibrationsbereich erstreckte sich von 76,6 µmol/l bis 766 mmol/l. Die Chromatographiebedingungen waren: ein Fluss von 0,3 ml/min über eine Säule von Phenomenex (Aqua C18, 125 A, 150x2 mm) und einer Vorsäule Phenomenex AJO-4288. Laufmittel war 0,25 % KH_2PO_4 und 2,5 mmol/l Tetrabutylammoniumhydrogensulfat in Aqua dest. mit konz. H_2PO_4 auf pH 2 titriert und 2 % Methanol. Die Detektion fand bei 210 nm statt.

3.5.3 Auswertung

Aus dem Probenmaterial wurden folgende Parameter berechnet:

- Produkt-Hämatokrit
- Erythrozytenausbeute
- Plasmaauswaschrage (Protein)
- Plasmaauswaschrage (freies Hb)
- Plasmaauswaschrage (Kalium)
- Plasmaauswaschrage (Citrat)
- Plasmaauswaschrage (Imeron)

$$\text{Erythrozytenausbeute in \%} = 100 \times (\text{Vol}_{\text{EK}} \times \text{Hkt}_{\text{EK}} / \text{Vol}_{\text{TB}} \times \text{Hkt}_{\text{TB}})$$

$$\text{Plasma Elimination in \%} = 100 - 100 \times (\text{Vol}_{\text{EK}\ddot{\text{U}}\text{bst}} \times \text{C}_{\text{EK}\ddot{\text{U}}\text{bst}} / \text{Vol}_{\text{TB}\ddot{\text{U}}\text{bst}} \times \text{C}_{\text{TB}\ddot{\text{U}}\text{bst}})$$

mit $\text{Vol}_{\ddot{\text{U}}\text{bst}} = \text{Vol} \times (1 - \text{Hkt}/100)$

Vol = Volumen

TB = Testblut

EK = gewaschenes Erythrozytenkonzentrat

Hkt = Hämatokrit

Übst = Überstand

C = Konzentration der jeweiligen Plasmasubstanz (deren Auswaschrage bestimmt wurde)

3.6 Statistik

Die Verwaltung der Studiendaten erfolgte mit dem Tabellenkalkulationsprogramm MS Excel 7.0 (Microsoft Inc., USA). Zur statistischen Auswertung wurde das Statistikprogramm SPSS (Statistical Program for the Social Sciences) für Windows 7.0 (SPSS Inc., USA) benutzt. Die quantitativen Variablen wurden als Mittelwert und Standardabweichung deskriptiv beschrieben. Zur Prüfung der Normalverteilung der Wertegruppen wurde der Kolmogorov-Smirnov-Test angewendet. Für abhängige/verbundene Stichproben wurde der Wilcoxon-Test herangezogen, welcher Werte aus den Stichproben zusammenführt und eine Rangliste nach Absolutwerten aufstellt. Allen Daten wird so eine Rangzahl zugeordnet. Anschließend trennt man die beiden Stichproben wieder und addiert die Rangzahlen in jeder Gruppe. Durch Einsatz in Formeln und Hinzuziehen von Tabellen ergibt sich die Signifikanz. Das Signifikanzniveau wurde durch den p-Wert dargestellt. P-Werte kleiner 0,05 wurden als signifikant beurteilt, p-Werte kleiner 0,01 als hoch signifikant, p-Werte größer 0,05 sind wurden als nicht signifikant interpretiert.

4 Ergebnisse

4.1 Konservenblut

Die vereinigten EK (TB 1) zeigten einen Hkt von $62,1 \pm 1,7$ (61 - 65) %, einen Proteingehalt von $12,2 \pm 1,6$ g/l, ein freies Hämoglobin von $6,4 \pm 2,4$ g/l (entsprechend einer Hämolyse von 1,1%), einen Kaliumgehalt von $70,3 \pm 10,5$ mmol/l und ein Citrat von etwa 425 mg/l (1,6 mmol/l).

4.2 Konservenblutaufbereitung mit Electa

Die experimentelle Aufbereitung wurde entsprechend dem Studienprotokoll aus Tab. 2 (Anhang) durchgeführt. Die Ergebnisse aller acht Versuchsreihen zeigten geringfügige Abweichungen, die jedoch in einem deutlichen Gesamtergebnis zusammengefasst werden konnten. Größere Unregelmäßigkeiten konnten ausgeschlossen werden.

4.2.1 Erythrozytenausbeute

Die Ausbeute beim ersten Befüllen der Electa mit 1:2 verdünntem TB 2 (400 ml; Hkt $32,3\% \pm 0,7$) belief sich im Durchschnitt auf 93,56% ($\pm 1,72$). Die Erythrozytenausbeute beim zweiten Lauf mit unverdünntem TB 1 (200 ml; Hkt $62,1\% \pm 1,7$) lag bei 95,09% ($\pm 1,72$). Beim dritten Lauf mit dem 1:4 verdünnten TB 3 (800 ml; Hkt $16,2\% \pm 0,6$) konnte durchschnittlich eine Ausbeute von 95,36 ($\pm 1,63$) erzielt werden. Bei dem Gerät Electa waren die Ergebnisse bezüglich der Ausbeute für das unverdünnte und das 1:4 verdünnte Testblut sehr ähnlich. Das 1:2 verdünnte TB ergab einen geringeren Ausbeutewert, lag aber trotzdem weit über dem geforderten Sollwert von mindestens 80%.

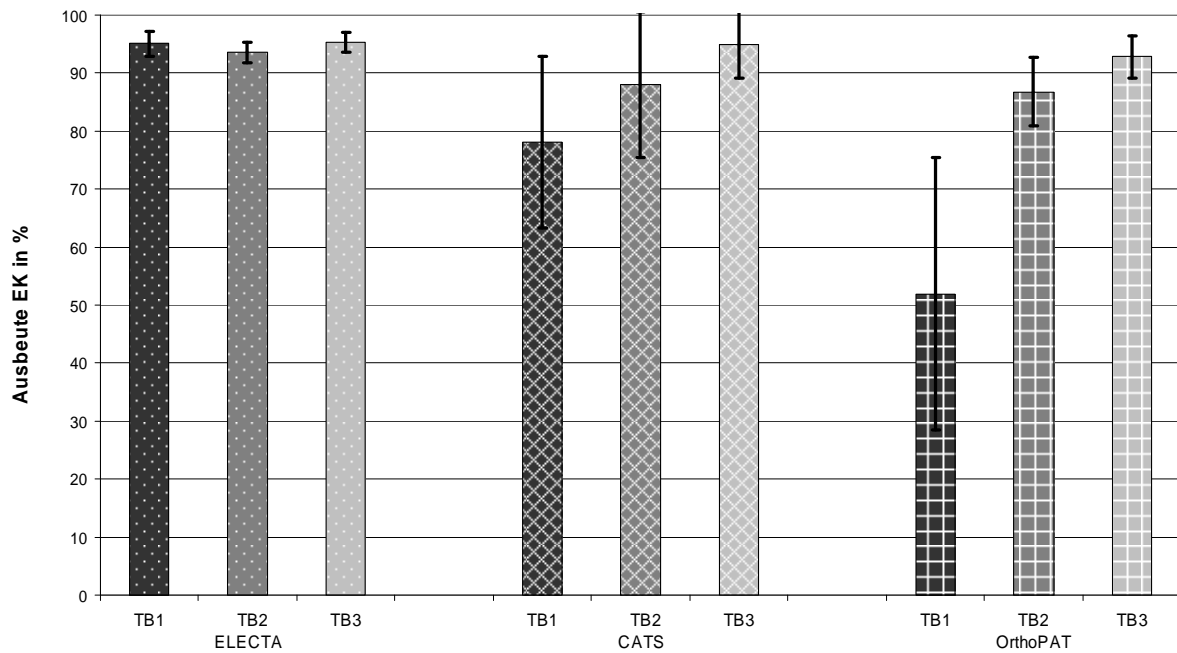


Abb. 16: Erythrozytenausbeute

4.2.2 Produkthämatokrit

Der Produkthämatokritwert lag im Durchschnitt mit TB 1 bei 56,06% \pm 1,59, mit TB 2 bei 54,38% \pm 0,83 und mit TB 3 bei 53,76% \pm 0,75.

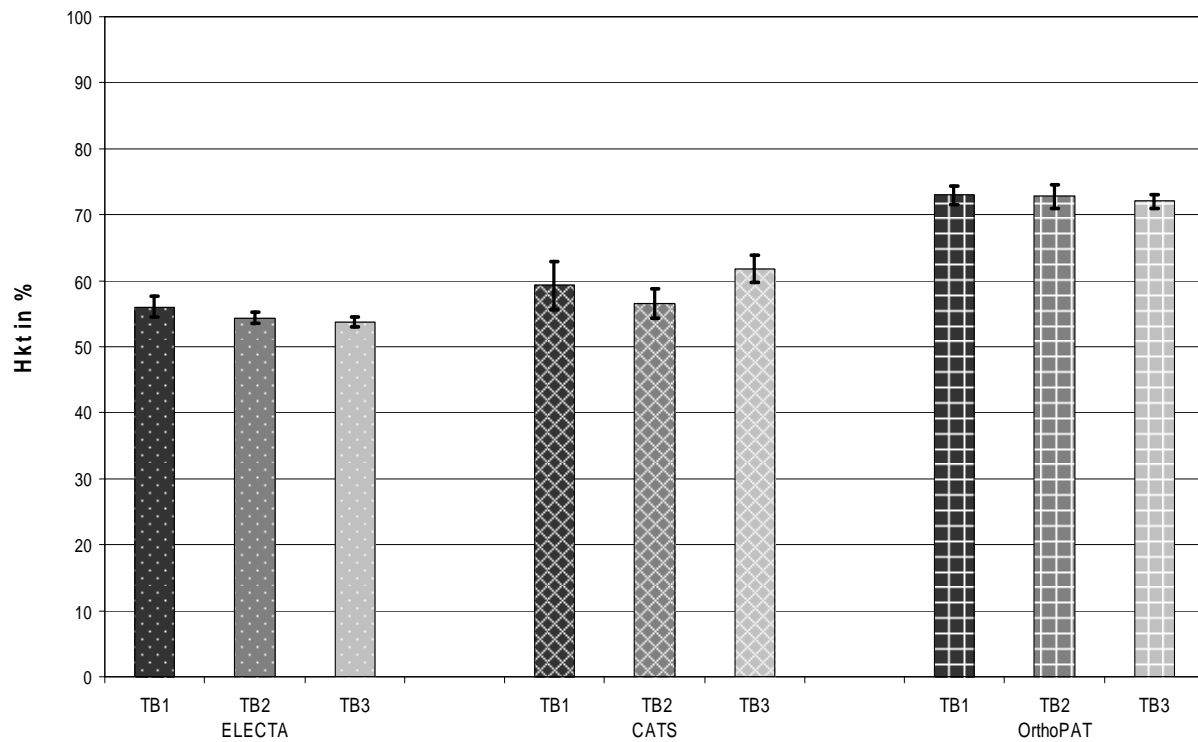


Abb. 17: Produkthämatokrit

4.2.3 Elimination von Protein

Die Eliminationswerte für Protein ergaben für TB 1 $79,67\% \pm 5,56$, für TB2 $89,11\% \pm 2,72$ und für TB 3 $93,34\% \pm 2,36$. Hier zeigte sich, dass die Ergebnisse für die Elimination von Protein mit steigender Verdünnung höher ausfielen. Lediglich TB 3 erfüllte den geforderten Plasmaeliminationswert von mindestens 90%.

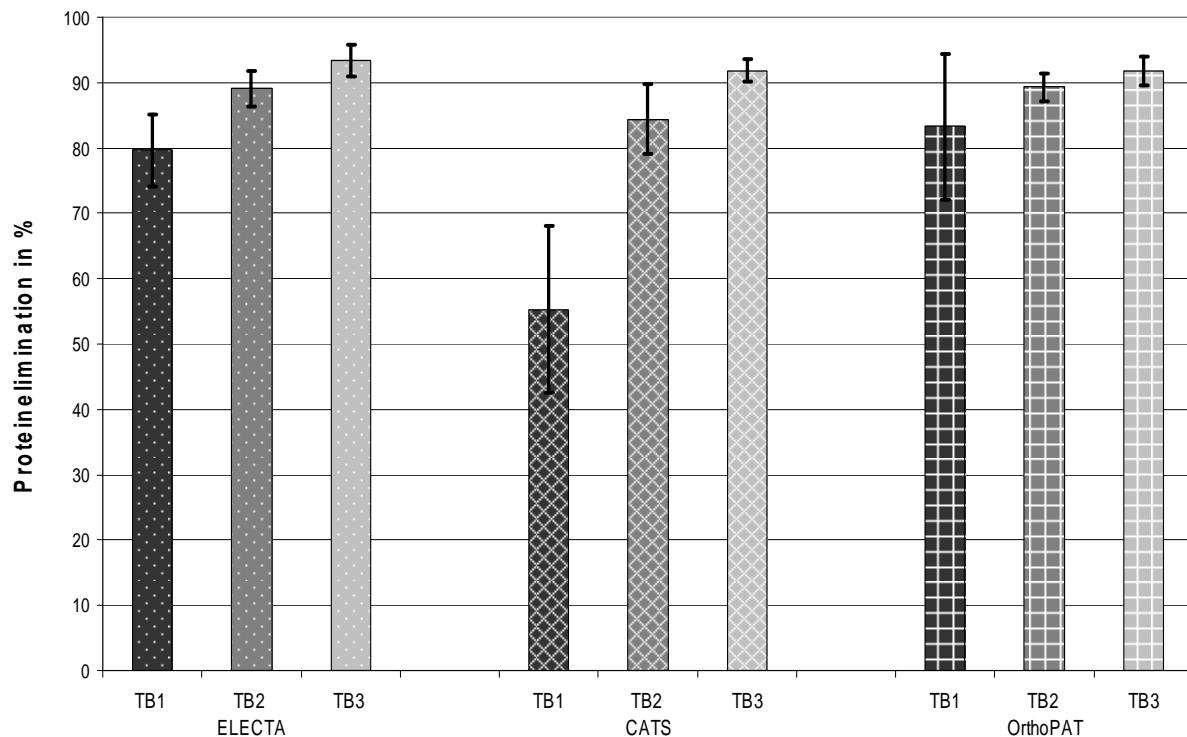


Abb. 18: Elimination von Protein

4.2.4 Elimination von freiem Hämoglobin

Dieser Trend setzte sich auch in den Eliminationswerten für das freie Hämoglobin fort, wobei hier insgesamt gesehen die niedrigsten Eliminationsergebnisse erzielt wurden. Im Durchschnitt lag der Wert für TB 1 bei $51,07\% \pm 9,27$, für TB 2 bei $75,24\% \pm 6,57$ und für TB 3 bei $81,56\% \pm 4,06$. Was die Elimination von freiem Hämoglobin betrifft, konnten keine Werte die geforderten 90% erreichen.

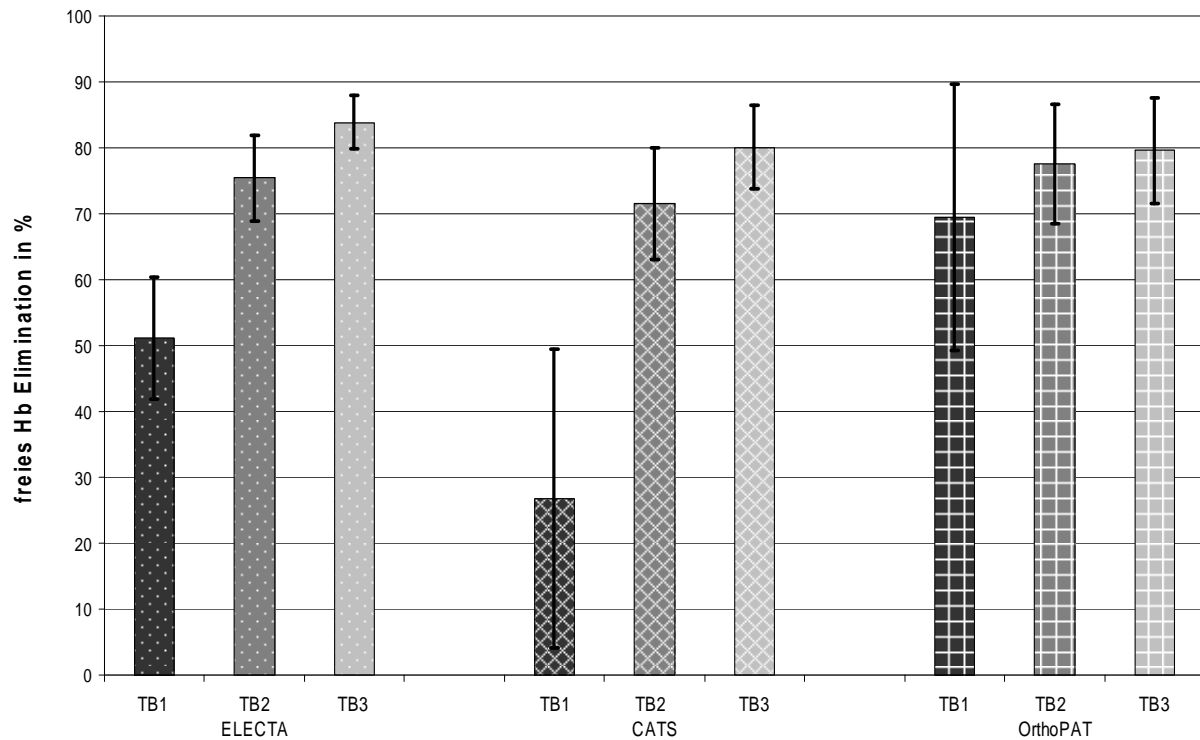


Abb. 19: Elimination von freiem Hämoglobin

4.2.5 Elimination von Kalium

Die Eliminationsrate für das Kalium belief sich für TB 1 durchschnittlich auf $95,03\% \pm 1,36$, für TB 2 auf $96,92\% \pm 0,55$ und für TB 3 auf $97,99\% \pm 0,36$. Die Kaliumelimination bei dem Gerät Electa war umso geringer ausgefallen, je konzentrierter das Testblut war, konnte aber stets die geforderten 90% übertreffen.

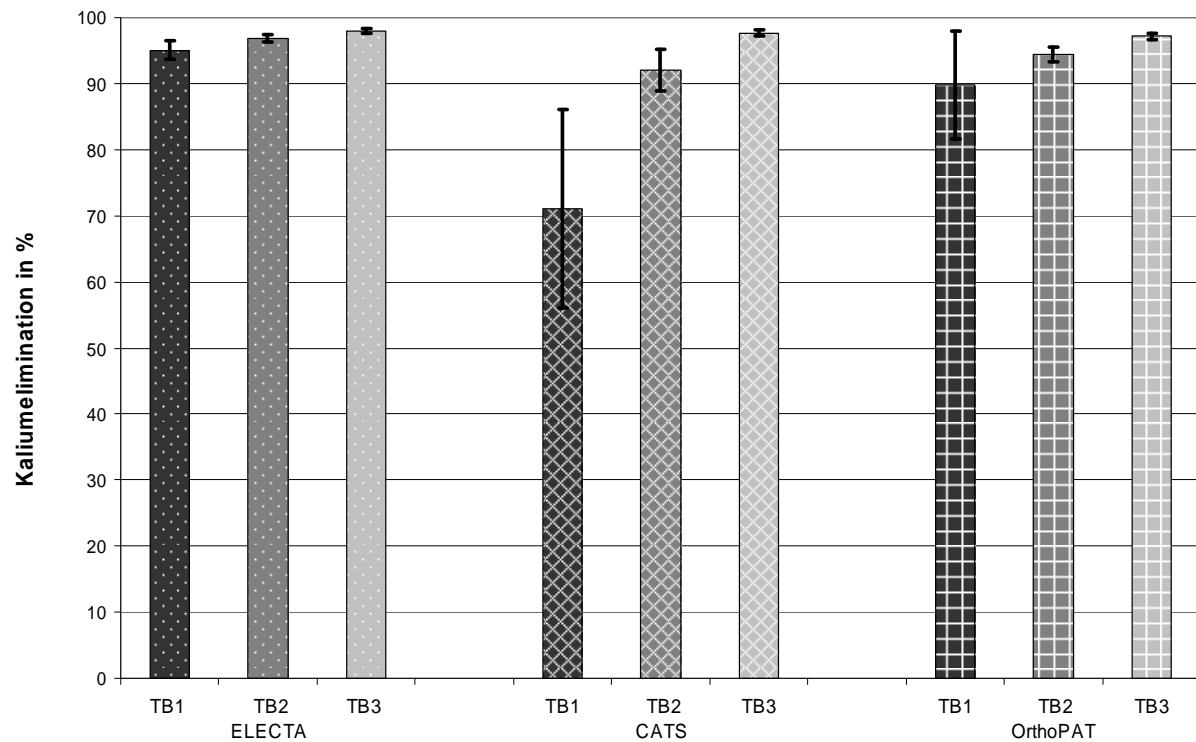


Abb. 20: Elimination von Kalium

4.2.6 Elimination von Citrat

Die Citratelimination lag mit TB 1 bei $43,27\% \pm 48,91$, mit TB 2 bei $66,69\% \pm 34,49$ und mit TB 3 bei $91,26\% \pm 7,26$ und damit konnte nur für TB 3 die 90%-Marke überschritten werden.

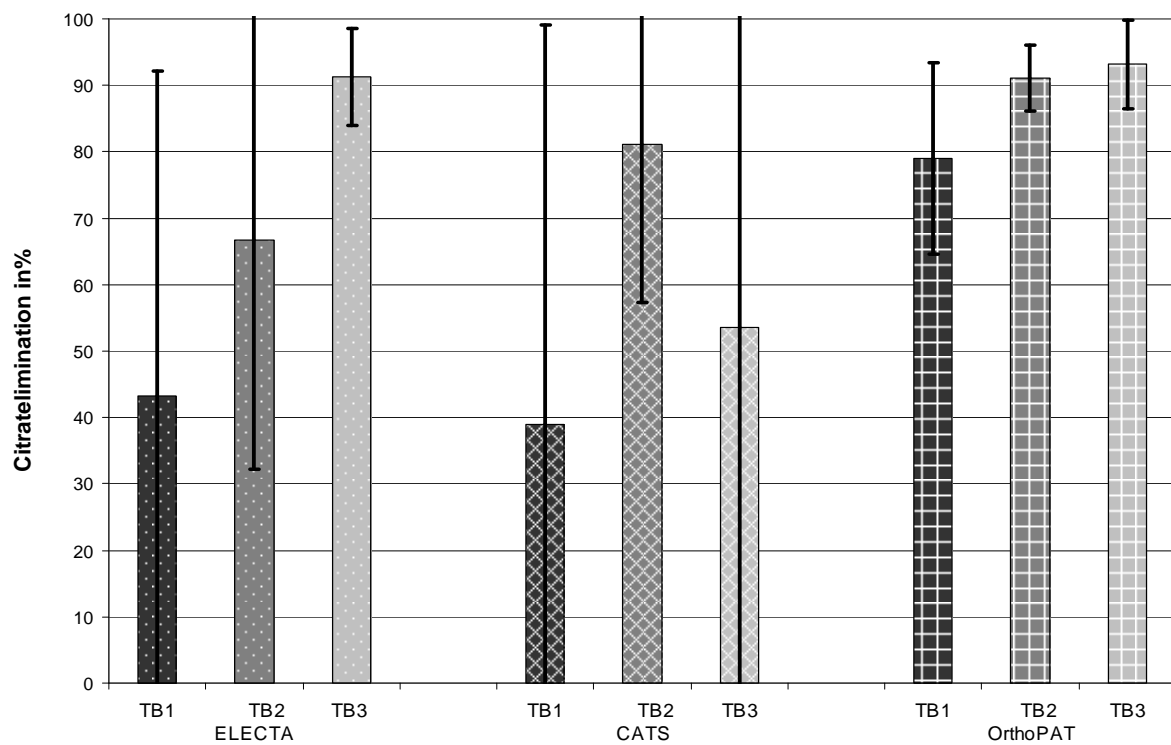


Abb. 21: Elimination von Citrat

4.2.7 Elimination von Imeron

Bei der Imeronelimination konnten insgesamt die höchsten Ergebnisse erzielt werden. So war der Wert für TB 1 $94,24\% \pm 2,77$, für TB 2 $98,17\% \pm 0,75$ und für TB 3 $99,34\% \pm 0,25$ und damit bei allen drei weit über 90%.

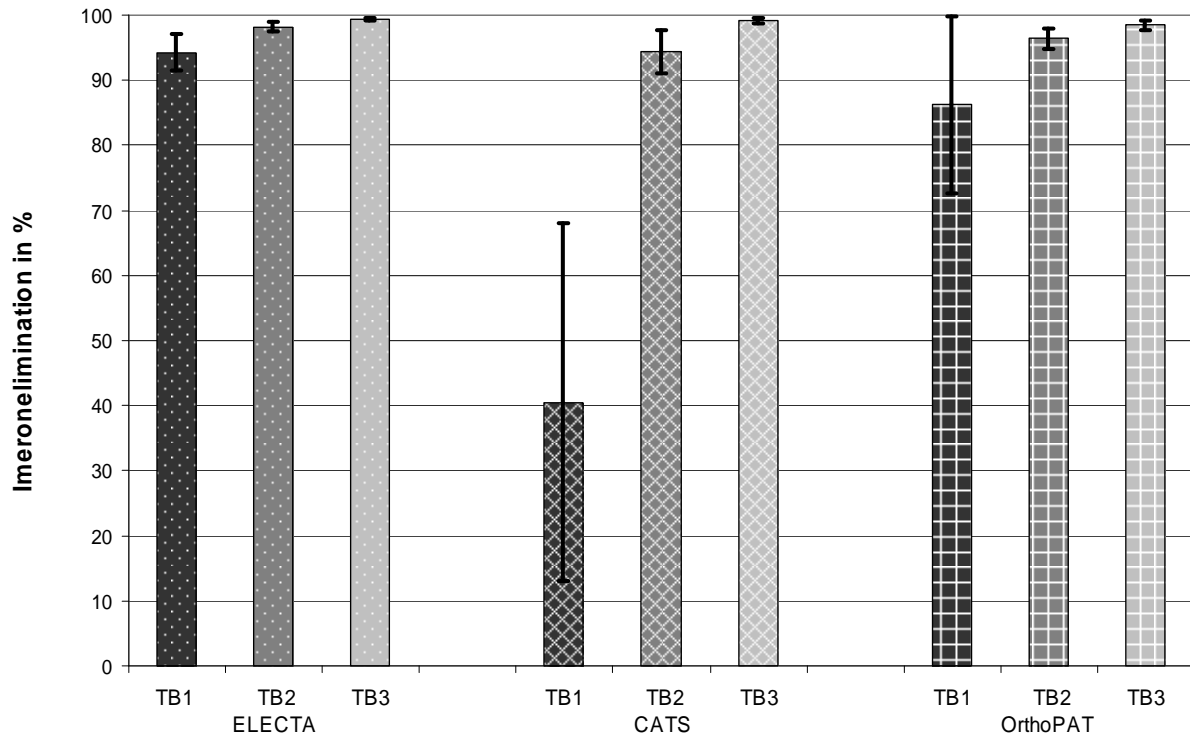


Abb. 22: Elimination von Imeron

4.3 Konservenblutaufbereitung mit C.A.T.S

Die experimentelle Aufbereitung mit dem Autotransfusionsgerät C.A.T.S konnte entsprechend dem Studienprotokoll (Tab. 2) durchgeführt werden. Für das C.A.T.S-System konnten die einzelnen Messparameter durch die Änderung der Verdünnung des TB beeinflusst werden.

4.3.1 Erythrozytenausbeute

Die Erythrozytenausbeute bei den drei Läufen mit dem C.A.T.S-Gerät lag mit TB 1 (unverdünntes TB), von dem jeweils 150 ml angeboten wurden (bei einem Anfangshämatokrit von durchschnittlich $62,1\% \pm 1,7$) im Durchschnitt bei $78,09\% \pm 14,79$, mit TB 2 (1:2 verdünntes TB, von dem 300 ml angeboten wurden, mit einem anfänglichen Durchschnittshämatokrit von $32,3\% \pm 0,7$) bei $88,05\% \pm 12,50$ und bei TB 3 (1:4 Verdünnung, von welcher 600 ml angeboten wurden, mit einem durchschnittlichen Anfangshämatokrit von $16,2\% \pm 0,6$) lag die Erythrozytenausbeute bei $94,96\% \pm 5,89$. Es zeigte sich also bei dem Gerät C.A.T.S, dass

höhere Werte für die Ausbeute mit dem verdünnten TB erreicht werden konnten als mit dem unverdünnten. Der Ausbeutewert für TB 1 lag damit knapp unter den geforderten 80%, während die beiden verdünnten Blutlösungen den geforderten Sollwert überstiegen.

4.3.2 Produkthämatokrit

Für TB 1 wurde als Produkthämatokritwert durchschnittlich $59,3\% \pm 3,7$ errechnet, für TB 2 $56,5\% \pm 2,2$ und für TB 3 $61,7\% \pm 5,9$.

4.3.3 Elimination von Protein

Die Proteinelimination war mit TB 1 $55,25\% \pm 12,74$, mit TB 2 $88,05\% \pm 12,50$ und mit TB 3 $91,85\% \pm 1,67$. Die Elimination war wieder umso höher, je stärker die Verdünnung war, aber nur TB 3 konnte die geforderten 90% erzielen.

4.3.4 Elimination von freiem Hämoglobin

Auch bei der Elimination von freiem Hämoglobin zeigte sich erneut, dass die Auswaschrates bei verdünntem TB höher lag. So betrug der Wert für TB 1 $26,78\% \pm 22,58$, für TB 2 $71,45\% \pm 8,46$ und für TB 3 $80,07\% \pm 6,28$. Auch bei C.A.T.S konnte der Sollwert für die Elimination von freiem Hämoglobin von mindestens 90% nicht erreicht werden.

4.3.5 Elimination von Kalium

Die Eliminationswerte für Kalium betrugen für TB 1 $70,99\% \pm 15,00$, für TB 2 $92,00\% \pm 3,15$ und für TB 3 $97,67\% \pm 0,39$. Hier konnten die beiden verdünnten Blutlösungen den Sollwert erfüllen.

4.3.6 Elimination von Citrat

Die Citratelimination bei den Durchläufen mit dem C.A.T.S-Gerät ergab Werte für TB 1 $38,98\% \pm 60,18$, für TB 2 $81,12\% \pm 23,78$ und für TB 3 $53,63\% \pm 103,64$. Alle drei Werte lagen unter den geforderten 90%.

4.3.7 Elimination von Imeron

Für TB 1 lag die Imeronauswaschrates bei $40,56\% \pm 27,50$, für TB 2 bei $94,42\% \pm 3,30$ und für TB 3 bei $99,13\% \pm 0,37$. Auch bei dem Gerät C.A.T.S erzielten die Imeronmessungen die höchsten Auswaschrates.

4.4 Konservenblutauflbereitung mit OrthoPAT

Das in der Versuchsreihe zuletzt getestete Gerät war das OrthoPAT. Auch dieses Gerät zur MAT zeigte unterschiedliche Messergebnisse bei den verschiedenen Verdünnungen.

4.4.1 Erythrozytenausbeute

Beim OrthoPAT war die Ausbeute für TB 1 $51,96\% \pm 23,55$ (200 ml TB 1 wurden angeboten, der Ausgangshämatokrit lag bei durchschnittlich $62,09\% \pm 1,85$). Die Erythrozytenausbeute lag für TB 2 bei $86,78\% \pm 5,92$ (hiervon wurden je 300 ml angeboten und der Anfangshämatokrit betrug im Durchschnitt $31,9\% \pm 0,61$) und für TB 3 bei $92,83\% \pm 3,71$ (von TB 3 wurden 600 ml angeboten und der anfängliche Durchschnittshämatokrit war $16,41\% \pm 0,47$). Hier zeigte sich also für das unverdünnte TB ein signifikant niedrigerer Wert für die Erythrozytenausbeute, während die Ausbeute der beiden verdünnten Blutlösungen über dem geforderten Sollwert von mindestens 80% lag.

4.4.2 Produkthämatokrit

Der Produkthämatokrit lag beim OrthoPAT hoch. Es konnte für TB 1 ein Produkthämatokrit von $73,0\% \pm 1,4$ gemessen werden. Für TB 2 wurde ein Durchschnittswert von $72,8\% \pm 1,76$ gemessen und für TB 3 $72,1\% \pm 1,0$.

4.4.3 Elimination von Protein

Die Auswaschrates für Protein wurde für TB 1 mit $83,32\% \pm 11,13$ gemessen, für TB 2 mit $89,32\% \pm 2,14$ und mit $91,81\% \pm 2,21$ für TB 3. Lediglich TB 3 erreichte den geforderten Sollwert von 90%.

4.4.4 Elimination von freiem Hämoglobin

Für TB 1 lagen die durchschnittlichen Eliminationswerte bei $69,47\% \pm 20,22$, für TB 2 bei $77,54\% \pm 9,01$ und für TB 3 bei $79,54\% \pm 7,93$. Es konnte beim OrthoPAT bei keiner der Blutlösungen ein Wert über 90% gemessen werden.

4.4.5 Elimination von Kalium

Die Auswaschrates für Kalium betrug für TB 1 im Durchschnitt $89,74\% \pm 8,19$, für TB 2 $94,48\% \pm 1,08$ und für TB 3 $97,14\% \pm 0,52$. Für die beiden verdünnten Blutlösungen konnte der Sollwert erreicht werden.

4.4.6 Elimination von Citrat

Die Eliminationswerte von Citrat stiegen mit der Verdünnung an und ergaben somit für TB 1 $79,03\% \pm 14,37$, für TB 2 $91,09\% \pm 5,03$ und für TB 3 $93,18\% \pm 6,67$. Auch hier konnten wieder TB 2 und TB 3 das geforderte Ziel von 90% erzielen.

4.4.7 Elimination von Imeron

Für Imeron konnten wieder die höchsten Auswaschraten erzielt werden. So wurde für TB 1 durchschnittlich ein Wert von $86,26\% \pm 13,61$ ermittelt, für TB 2 $96,40\% \pm 1,62$ und für TB 3 $98,48\% \pm 0,69$. Damit lagen aber wieder nur die verdünnten Blutlösungen über 90%.

5 DISKUSSION

5.1 Indikationen und Problematik beim Waschen von EK

Die Transfusionsrichtlinien [1] definieren bestimmte, wenige Indikationen für ein „gewaschenes Erythrozytenkonzentrat“, nämlich für die Transfusion bei Patienten mit einem IgA-Mangel oder Eiweißunverträglichkeiten, sowie für eine Massivtransfusion bei Neugeborenen, insbesondere mit bestrahltem Blut. Das Waschen der Erythrozyten reduziert die Kaliumkonzentration und das Auftreten anaphylaktischer Reaktionen gegen Plasmaproteine. Ein EK wird dabei durch intensives Waschen mit 0,9%iger Kochsalzlösung und Resuspension in steriler Kochsalzlösung oder Additivlösung zu einem Produkt mit der Bezeichnung „gewaschenes Erythrozytenkonzentrat“. Es ist das Ergebnis einer arbeits- und kostenaufwendigen Prozedur, und hat eine stark reduzierte Lagerbarkeit von 24 Stunden und einen Verlust von 10 - 20% der Erythrozyten zur Folge. Außerdem erhöht die ausgiebige Bearbeitung die Gefahr von Verwechslungen und bakterieller Kontamination [35]. In der klinischen Routine bedeutet es zudem eine Verzögerung der Transfusion um etwa sechs Stunden. Über die Veränderungen durch eine Lagerung nach dem Waschen in NaCl gibt es nur begrenzte Angaben. Es wurde ein Anstieg an freiem Hämoglobin, an Laktat und extrazellulärem Kalium, ein Absinken des pH-Wertes und ein erheblicher Verlust an 2,3-Diphosphoglyzerat (2,3-DPG) in einer 6-Stunden-Periode nach dem Waschen beschrieben [11, 43, 44].

Die Nutzung eines Gerätes, das zur intraoperativen MAT sowieso schon eingesetzt ist und das fast baugleich mit den Waschzentrifugen im Blutdepot ist, könnte eine kostengünstige Mög-

lichkeit sein, um patientennah Blutkonserven im Operationssaal zu waschen [8]. Das Risiko einer Verwechslung oder Kontamination sollte damit deutlich verringert sein und der Nachteil einer Qualitätsminderung nach dem Waschen minimiert.

5.2 Besonderheit der Studie hinsichtlich der Berechnung der Eliminationsraten in Mengenangaben

Die vorliegende Studie bestätigt frühere Berichte über die wirkungsvolle Verringerung der Konzentration von Kalium und freiem Hämoglobin in gewaschenen Konserven [21, 23, 40, 45] und liefert zusätzlich neue Informationen über den Einfluss von gerätespezifischen und prozessspezifischen Bedingungen. In dieser Studie wurden die Eliminationsraten aus den Mengen von Substanzen vor und nach dem Waschen errechnet, und nicht wie in früheren Untersuchungen aus den Konzentrationen [3, 8, 13, 25, 43]. Die Aufbereitung des Blutes in Autotransfusionsgeräten beruht nämlich auf zwei Prinzipien: der Zellseparation und dem Waschschrift. Bei ersterem wird ein erheblicher Anteil an Plasma und löslichen Bestandteilen nach Abtrennung von den Zellen mit dem Überstand verworfen, ohne dass sich an ihrer Konzentration etwas ändert. Erst im zweiten Schritt ändert sich mit Zugabe der Waschlösung auch die Konzentration. Deshalb unterschätzt ein bloßer Vergleich der Konzentrationen vor und nach der Aufbereitung die Elimination der Verunreinigungen, während die Belastung und Gefährdung des Patienten von der Gesamtmenge der Substanz und der Transfusionsgeschwindigkeit abhängt. Zusätzlich verfälscht und erschwert eine Berücksichtigung allein der Konzentrationen den Vergleich verschiedener Autotransfusionsgeräte, die sich im Produkt-Hämatokrit unterscheiden, und damit im Volumen des Überstandes als Verteilungsvolumen der Restkontamination. Aus diesen Gründen ist die Eliminationsrate berechnet aus den Substanzmengen geeigneter als Konzentrationsangaben und –vergleiche, um die Auswaschleistung von Autotransfusionsgeräten zu beschreiben [14].

5.3 Bewertung der Eliminationswerte der untersuchten Substanzen

In der vorliegenden Untersuchung wurden in den meisten Fällen Eliminationsraten von über 90% erreicht, wie es als Mindestanforderung für Qualitätskontrollen der MAT gefordert und verwendet wird [14]. Die höchsten und am besten reproduzierbaren Werte wurden für Imeron gemessen, einem Röntgenkontrastmittel, das als Marker für die Plasmaelimination dem TB zugefügt wurde. Im Gegensatz zu Kalium und freiem Hämoglobin wird die Konzentration dieser Markersubstanz nicht durch Hämolyse verfälscht, wie sie durch den Aufbereitungsvorgang oder bei der Probenabnahme und –verarbeitung eintreten kann. Tatsächlich ist davon

auszugehen, dass alle gelösten Substanzen in gleichem Maße zusammen mit dem Plasma entfernt werden, wenn sie nicht von Blutzellen absorbiert oder aufgenommen werden. Die beobachteten Unterschiede zwischen den verschiedenen Stoffen sind daher als Verfälschungen anzusehen, die durch andere Faktoren hervorgerufen werden, etwa den Methoden oder Bedingungen des Nachweises. Niedrige oder stark variierende Ausgangskonzentrationen, wie sie z.B. in gelagerten EK für Kalium, Gesamteiweiß oder freiem Hämoglobin vorliegen, erschweren und verfälschen die Messung einer Eliminationsrate durch Verschiebung in einen ungünstigen Messbereich und breite Streuung der Werte. Dies ist voraussichtlich die Ursache für die niedrigeren und ungenaueren Eliminationswerte von Eiweiß und freiem Hämoglobin im Vergleich zu Imeron. Ein anderer wichtiger Grund für falsch niedrige Ergebnisse ist die Neubildung der Verunreinigung gleichzeitig mit ihrer Elimination. Das bedeutsamste Beispiel für einen solchen „gemischten Parameter“ ist das freie Hämoglobin. Schon die geringste Hämolyse führt zu einem erheblichen Anstieg von extrazellulärem Hämoglobin, während Parameter wie das Gesamteiweiß davon so gut wie nicht beeinflusst werden. Im Produkt täuscht der höhere Hämoglobinwert eine falsch niedrige Auswaschrategie vor. Andere Faktoren sind für die vergleichsweise zu geringen Eliminationswerte für Citrat verantwortlich, nämlich z.B. Interferenzen mit anderen UV-absorbierenden Substanzen im Plasma bei der HPLC.

5.4 Beurteilung der Auswaschleistung der drei Geräte

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass mit dem Gerät Electa oder mit den anderen getesteten Autotransfusionsgeräten nach Vorverdünnung eine hohe Kaliumelimination erreicht wird, mit der mittlere Konzentrationen von extrazellulären Kaliumionen von 70,3 mmol/l in den Blutkonserven auf 2,8 mmol/l in den gewaschenen EK gesenkt werden. Die beobachtete Reduktion der Kaliumionenkonzentration von im Mittel 70,3 auf 2,8 mmol/l ist ausgeprägter als sie für C.A.T.S (von 16 auf 7 mmol/l) [23], Electa (von 48 auf 7 mmol/l) [40], oder C.A.T.S und Cell Saver (von 52 auf 4 mmol/l) [45] in der Literatur beschrieben ist. Aus den Ergebnissen kann berechnet werden, dass mit jedem EK nur eine Menge von 0,2 statt 6,7 mmol Kalium in der ungewaschenen Konserve einem Patienten transfundiert wird.

In der Literatur finden sich Studien, in denen das Waschen von Blutkonserven mit C.A.T.S, Electa, und Cell Saver (Haemonetics) untersucht wurde [23, 40, 45], aber die Ergebnisse sind wegen der Unterschiede in den Versuchsbedingungen und den Qualitätsparametern nur schwer vergleichbar. In der vorliegenden Untersuchung wurden drei Autotransfusionsgeräte, die auf unterschiedlichen technischen Grundlagen beruhen, unter identischen Bedingungen und mit demselben TB getestet, um einen direkten Vergleich zu ermöglichen. Für OrthoPAT

waren für diese Applikation keine Vordaten verfügbar. Die auffälligsten Unterschiede wurden bei der Aufarbeitung von unverdünntem Konservenblut beobachtet. Im Gegensatz zu dem auf der Latham-Glocke basierenden Gerät Electa zeigten die anderen beiden Systeme nur eine eingeschränkte Auswaschleistung unter diesen Bedingungen (Abb. 18-22). Es ist auffallend, dass es sich gerade um die Geräte handelt, die einen besonders hohen Produkt-Hämatokrit liefern. Und es ist festzuhalten, dass alle Autotransfusionsgeräte für einen viel geringeren Hämatokrit als den von Blutkonserven entwickelt und gebaut und optimiert worden sind. Sie sind auf die Verarbeitung von Wundblut mit einem Hämatokrit von 5 - 20% ausgerichtet und nicht auf einen Hkt von 60% wie der von EK. Die Ergebnisse dieser Studie legen nahe, dass eine Vorverdünnung die Waschqualität wesentlich verbessert. Dies ist vor allem relevant für C.A.T.S und OrthoPAT, deren Leistungseinschränkung damit einfach und effektiv überwunden werden kann. Nach einer Vorverdünnung waren keine Unterschiede zwischen den Geräten und gleichermaßen ausgezeichnete Auswaschraten zu verzeichnen.

5.5 Beurteilung der Erythrozytenausbeute der drei Geräte

Es genügt nicht, nur die Elimination der verschiedenen Substanzen zu betrachten, da das Auswaschen des Plasmas mit seinen Verunreinigungen nicht zu Lasten der Erythrozyten-Wiedergewinnung stattfinden sollte. Mit OrthoPAT war bei der Verarbeitung von unverdünntem Konservenblut die Plasmaauswaschraten akzeptabel, die Erythrozytenausbeute aber gegenüber Electa oder der Aufbereitung von vorverdünntem Blut deutlich vermindert (Abb. 16). Der erhöhte Erythrozytenverlust beim Waschen von unverdünntem Konservenblut mit C.A.T.S könnte mit dem für dieses Gerät ungewöhnlich niedrigem Hkt von nur 38,9% im Mittel, zumindest beim ersten Lauf, zu tun haben [21]. Auch in anderen Studien wurden beim Waschen von Blutkonserven geringere Ausbeutewerte als bei der Wundblutaufbereitung beschrieben [40, 45]. Wieder löst eine Vorverdünnung das Problem der beeinträchtigten Leistung. Die vorliegende Studie zeigt, dass nach einer Vorverdünnung des Konservenblutes auch mit C.A.T.S und OrthoPAT die Qualitätskriterien, nämlich eine Erythrozytenausbeute von über 80%, erreicht werden [14].

5.6 Problematik und Lösungsansatz für die klinische Anwendung

In der klinischen Praxis wird zum Waschen die Blutkonserve gewöhnlich einfach in das Reservoir gefüllt [21, 23, 37]. Dabei werden die Erythrozyten dem Vakuum ausgesetzt. Im Gegensatz zu frischem Spenderblut oder zu Wundblut [16], sind jedoch gelagerte Erythrozyten äußerst empfindlich gegenüber Vakuum und Absaugung [12, 15]. Um die Erythrozyten nicht

dem schädigenden Einfluss von Unterdruck und Luftbeimischung auszusetzen, d.h. um Hämolyse zu vermeiden, wurde in der vorliegenden Untersuchung das TB direkt in die Zentrifugenkammer des jeweiligen Gerätes gefüllt. Die gleiche Vorgehensweise ist auch für die klinische Anwendung zu empfehlen. Ein Y-Schlauchstück oder ein T-Konnektor kann eingesetzt werden, um Reservoir und Vakuum zu umgehen, wie es in Abb. 23 zu sehen ist. Solche Konnektoren und Schlauchstücke sind durch die Autotransfusionsgerätefirmen verfügbar, um Blutproben aus dem Reservoir für Qualitätskontrollen entnehmen zu können [15]. Zum Waschen von Konservenblut trennt eine Schlauchklemme die Verbindung zwischen Blutbeutel und Zentrifugenkammer vom Reservoir, in dem unter Vakuum weiter Wundblut gesammelt werden kann. Damit wird auch das Wundblut vom Konservenblut getrennt, was damit die Regel erfüllt, dass zum Arzneimittel „Blutkonserve“ nichts außer Kochsalzlösung oder Stabilisatorlösung zugemischt werden darf (Richtlinien 4.3.3).

Bei der klinischen Anwendung kann eine 1:2-Verdünnung einfach erreicht werden, indem in der Füllphase sowohl der Zulauf vom Blutbeutel als auch von einer Kochsalzlösung an einem Dreiwegehahn offen ist (Abb. 23). Das Waschen einer Blutkonserve benötigt 5 - 7 Minuten und gewöhnlich ist ein Autotransfusionsgerät voll ausreichend, um abwechselnd Konservenblut und Wundblut zu verarbeiten. Um eine Hyperkaliämie zu vermeiden, ist es nicht unbedingt notwendig, jeden Fremdblutbeutel vor der Transfusion zu waschen. Notfalls kann aber auch ein zweites Autotransfusionsgerät hinzugezogen werden.

5.7 Relevanz und Auswirkung weiterer Substanzen für die Transfusion

Nur wenige der Kontaminationen in gelagertem Konservenblut wurden in dieser oder anderen Studien untersucht. Viele weitere haben wichtige biologische Wirkungen und klinische Relevanz, die eine Transfusion zu einem negativen Prognosefaktor und einem unabhängigen Risikofaktor für Multiorganversagen und Immunmodulation machen [26]. Des Weiteren wurde gezeigt, dass der Überstand von gelagertem Konservenblut die Apoptose von neutrophilen Granulozyten hemmt und deren Zytotoxizität erhöht, und dass dies durch Waschen der Erythrozyten nach der Lagerung aufgehoben werden kann, jedoch nicht durch Leukozytenfilter [38]. Das gemessene freie Hämoglobin ist nicht repräsentativ für den Gehalt und das Auswaschen von anderen Substanzen wie Zytokinen und Mediatoren, die aus Leukozyten oder Blutplättchen freigesetzt werden und die sich während der Lagerung in Blutkonserven anreichern [28]. Nur die Plasmaauswaschrates, wie sie hier in einem optimalen Messbereich nach Zugabe einer Markersubstanz bestimmt wurde, ist repräsentativ für alle bekannten oder bisher

unbekannten löslichen Substanzen, die durch Lagerungsschäden in gelagerten EK auftreten. Zusätzlich kann das Waschen von Blutkonserven auch partikuläre Verunreinigungen reduzieren, wie extrazelluläre Mikrovesikel aus Zytolyse [45].

5.8 Bedeutung der Versuchsergebnisse für den klinischen Alltag

Die vorliegende Arbeit zeigt, dass ein Waschen von gelagerten Blutkonserven mittels Autotransfusionsgeräten eine sehr effiziente Elimination löslicher Verunreinigungen ermöglicht, v.a. nach einer Vorverdünnung. Damit kann dieses Vorgehen die Sicherheit einer Transfusion erhöhen, insbesondere bei kleinen Kindern, bei Patienten mit Nieren- oder Leberinsuffizienz, und bei Massivtransfusion. Beim Waschen von Konservenblut müssen nationale und regionale Bestimmungen berücksichtigt werden. Deshalb sollte das Verfahren unbedingt von einem Qualitätsmanagement der MAT begleitet sein, inklusive einer schriftlichen Festlegung der Vorgehensweise und von Qualitätskontrollen. Entsprechend sollte das Waschen von Blutkonserven auch dokumentiert werden. Die Ergebnisse dieser Arbeit können als weitere Validierung der Methode herangezogen werden.

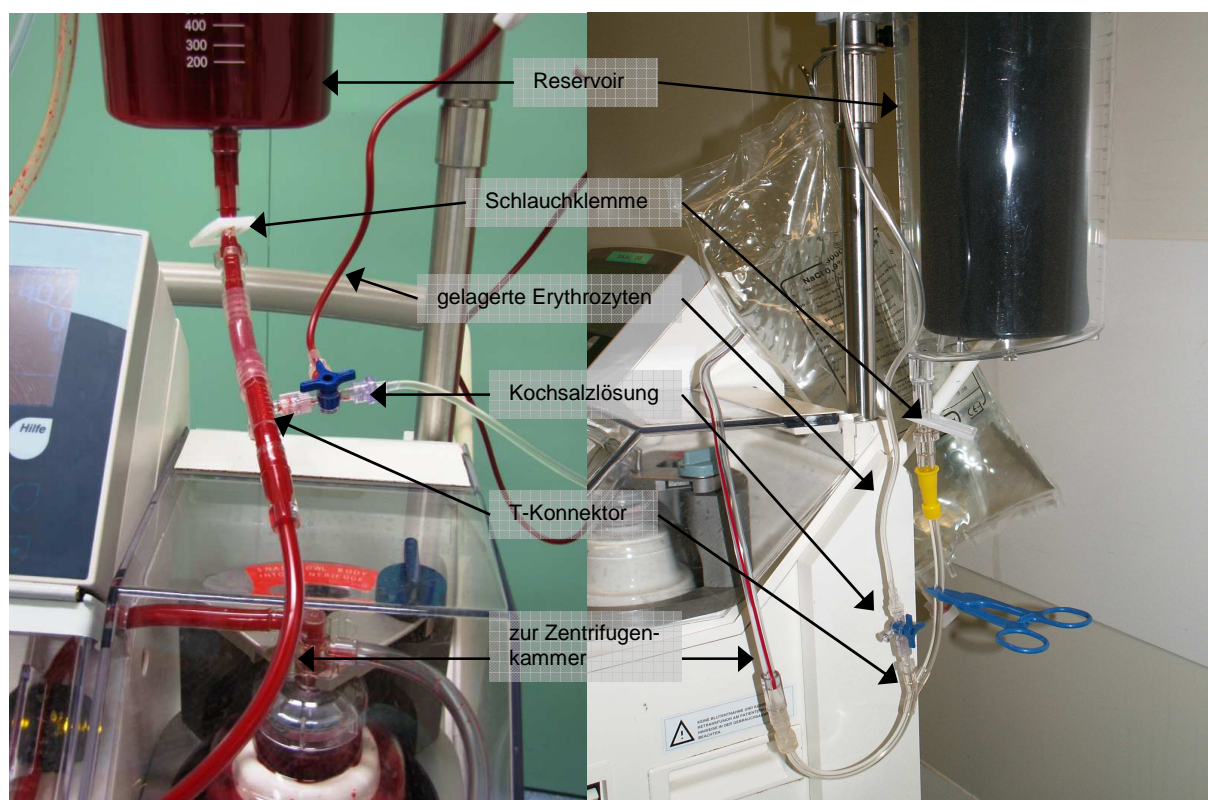


Abb. 23: klinische Umsetzung mit Schlauchklemmen und T-Konnektor

6 Zusammenfassung

Hintergrund:

Lagerungsschäden in Erythrozytenkonzentraten (EK) führen zu einer Anhäufung von Kaliumionen, freiem Hämoglobin, Zytokinen und anderen Substanzen, die Komplikationen vor allem bei Neugeborenen, massiv transfundierten Patienten mit Polytrauma oder Patienten mit Leber- oder Niereninsuffizienz hervorrufen können. Es existieren Berichte von Organversagen, Gerinnungsstörungen und kardiovaskulären Zwischenfällen einschließlich tödlichem Herzstillstand. Das Waschen von gelagerten EK verbessert deren Qualität. Deshalb wurde vorgeschlagen, Autotransfusionsgeräte für den intraoperativen Einsatz zum Waschen von EK einzusetzen. Diese Geräte wurden aber für verdünntes Wundblut entwickelt und es gibt nur wenige veröffentlichte Studien zu diesem Thema.

Studiendesign und Methodik:

In einer experimentellen Studie wurden drei Autotransfusionsgeräte: Electa (Sorin), C.A.T.S (Fresenius) und OrthoPAT (Haemonetics), die sich im Aufbau und in der Funktion ihrer Zentrifugationskammern unterscheiden, mit EK und zwei Verdünnungen davon gegen Ende ihrer Haltbarkeit untersucht. Dabei wurden die Eliminationsraten von Kalium, freiem Hämoglobin, Gesamtprotein, Citrat und Imeron (ein Röntgenkontrastmittel, das als externe Markersubstanz für Plasma dem Blut zugesetzt worden war) bestimmt, sowie die Erythrozytenausbeute.

Ergebnisse:

Die Produkthämatokritwerte lagen zwischen 54,8% und 72,6%. Für die Erythrozytenausbeute ergaben sich Werte zwischen 62,7% und 95,0%, wobei die niedrigsten bei der Aufbereitung von unverdünntem EK mit OrthoPAT erzielt wurden. Die Plasmaeliminationsraten erhöhten sich durch Vorverdünnung und reichten von 46,6 bis 99,5%, wobei die Messwerte für Imeron am höchsten waren. Die niedrigsten Auswaschraten wurden bei C.A.T.S mit unverdünntem EK beobachtet.

Schlussfolgerungen:

Autotransfusionsgeräte bieten eine praktische und kostengünstige Möglichkeit, um Blutkonserven intraoperativ zu waschen, um Hyperkaliämie und andere Störungen bei Massivtransfusionen, Patienten mit Leber- oder Niereninsuffizienz und pädiatrischen Patienten zu verhin-

dern. Eine Vorverdünnung verbessert die Eliminationsraten, vor allem bei Geräten, die einen hohen Produkthämatokrit erzeugen. Damit können potentiell schädliche Konzentrationen und Gesamtmengen von Kalium, Citrat, freiem Hämoglobin und anderen Substanzen (wie durch das Imeron dargestellt), die sich während der Lagerung von EK ansammeln, um mehr als 90% reduziert werden.

Technische Probleme wie die Exposition gegenüber hämolysierendem Vakuum im Reservoir, und rechtliche Aspekte, was die Zumischung zu dem lizenzierten Blutprodukt „EK“ angeht, können mit der Verwendung eines Y-Schlauchstücks oder T-Konnektors umgangen werden. Das Verfahren sollte außerdem durch Beachtung nationaler und regionaler Bestimmungen, schriftlicher Niederlegung der Vorgehensweise, sowie der Anwendung eines Qualitätsmanagements kontrolliert werden.

7 LITERATURVERZEICHNIS

Transfusionsgesetz (TFG) (1), die Transfusionsrichtlinien (2) des Wissenschaftlichen Beirats der Bundesärztekammer und des Paul-Ehrlich-Instituts. Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie). Köln: Deutscher Ärzte-Verlag, 2005

und die Transfusionsleitlinien (3) der Bundesärztekammer zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten.

- [1] AABB. Standards for blood banks and transfusion services. 27th ed: AABB, 2011.
- [2] Aboudara MC, Hurst FP, Abbott KC, Perkins RM. Hyperkalemia after packed red blood cell transfusion in trauma patients. J Trauma 2008;**64**: 86-91.
- [3] Bansal I, Calhoun BW, Joseph C, Pothiwala M, Baron BW. A comparative study of reducing the extracellular potassium concentration in red blood cells by washing and by reduction of additive solution. Transfusion 2007;**47**: 248-50.
- [4] Bender AW, Zimmermann R. Maschinelle Autotransfusion (MAT)- medizinisches Verfahren und rechtliche Einordnung Transfusionsmedizin- Immunhämatologie, Hämotherapie, Immungenetik, Zelltherapie 2012;**02**: 34-40.
- [5] Berezina TL, Zaets SB, Morgan C, Spillert CR, Kamiyama M, Spolarics Z, Deitch EA, Machiedo GW. Influence of storage on red blood cell rheological properties. J Surg Res 2002;**102**: 6-12.
- [6] Bhananker SM, Ramamoorthy C, Geiduschek JM, Posner KL, Domino KB, Haberkern CM, Campos JS, Morray JP. Anesthesia-related cardiac arrest in children: update from the Pediatric Perioperative Cardiac Arrest Registry. Anesth Analg 2007;**105**: 344-50.

- [7] Biffl WL, Moore EE, Offner PJ, Ciesla DJ, Gonzalez RJ, Silliman CC. Plasma from aged stored red blood cells delays neutrophil apoptosis and primes for cytotoxicity: abrogation by poststorage washing but not prestorage leukoreduction. *J Trauma* 2001;**50**: 426-32.
- [8] Burman JF, Westlake AS, Davidson SJ, Rutherford LC, Rayner AS, Wright AM, Morgan CJ, Pepper JR. Study of five cell salvage machines in coronary artery surgery. *Transfus Med* 2002;**12**: 173-9.
- [9] Dawwas MF, Lewsey JD, Watson CJ, Gimson AE. The impact of serum potassium concentration on mortality after liver transplantation: a cohort multicenter study. *Transplantation* 2009;**88**: 402-10.
- [10] Donadee C, Raat NJ, Kanias T, Tejero J, Lee JS, Kelley EE, Zhao X, Liu C, Reynolds H, Azarov I, Frizzell S, Meyer EM, Donnenberg AD, Qu L, Triulzi D, Kim-Shapiro DB, Gladwin MT. Nitric oxide scavenging by red blood cell microparticles and cell-free hemoglobin as a mechanism for the red cell storage lesion. *Circulation* 2011;**124**: 465-76.
- [11] Grabmer C, Holmberg J, Popovsky M, Amann E, Schonitzer D, Falaize S, Hanske H, Pages E, Nussbaumer W. Up to 21-day banked red blood cells collected by apheresis and stored for 14 days after automated wash at different times of storage. *Vox Sang* 2006;**90**: 40-4.
- [12] Gregoretti S. Suction-induced hemolysis at various vacuum pressures: implications for intraoperative blood salvage. *Transfusion* 1996;**36**: 57-60.
- [13] Gueye PM, Bertrand F, Duportail G, Lessinger JM. Extracellular haemoglobin, oxidative stress and quality of red blood cells relative to perioperative blood salvage. *Clin Chem Lab Med* 2010;**48**: 677-83.
- [14] Hansen E, Altmeyden J. Proposal for internal quality management in intra- and postoperative blood salvage. *Infus Ther Transfus Med* 2002;**29**: 147-50.

-
- [15] Hansen E, Bechmann V, Altmeyden J, Last M, Roth G. Quality management in blood salvage: Implementation of quality assurance and variables affecting product quality. *Transfus Med Hemother* 2004;**31**: 221-7.
- [16] Hansen E, Kling J, Roth G. [The myth of limitation of negative pressure for suction in blood salvage]. *Anästhesi Intensivmed* 2006;**47**: 118-22.
- [17] Hansen E, Seyfried. Maschinelle Autotransfusion. *Anaesthesist* 2011;**60**: 381-390.
- [18] Henn-Beilharz A, Krier C. Wege zur Einsparung von Fremdblut. Konzepte der autologen Bluttransfusion. *Anaesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 1991;**26**: 61-75.
- [19] Holleufer RF, von Bormann B. Continuous autotransfusion system vs Dideco autotransfusion system, first clinical results with a new continuous operating autotransfusion device in vascular surgery. *Br J Anaesth* 1995;**74**: 64.
- [20] Khaskhali MH, Bhanger MI, Khand FD. Simultaneous determination of oxalic and citric acids in urine by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B Biomed Appl* 1996;**675**: 147-51.
- [21] Knichwitz G, Zahl M, Van Aken H, Semjonow A, Booke M. Intraoperative washing of long-stored packed red blood cells by using an autotransfusion device prevents hyperkalemia. *Anesth Analg* 2002;**95**: 324-5, table of contents.
- [22] Lammers M, Gressner AM. Immunonephelometric quantification of free haemoglobin. *J Clin Chem Clin Biochem* 1987;**25**: 363-7.
- [23] Liu J, Ji B, Feng Z, Zhao J, Li C, Li B, Long C. The effect of preprocessing stored red blood cells on neonates undergoing corrective cardiac surgery. *ASAIO J* 2007;**53**: 680-3.

- [24] Lorusso V, Taroni P, Alvino S, Spinazzi A. Pharmacokinetics and safety of iomeprol in healthy volunteers and in patients with renal impairment or end-stage renal disease requiring hemodialysis. *Invest Radiol* 2001;**36**: 309-16.
- [25] Melo A, Serrick CJ, Scholz M, Singh O, Noel D. Quality of red blood cells using the Dideco Electa autotransfusion device. *J Extra Corpor Technol* 2005;**37**: 58-9.
- [26] Moore FA, Moore EE, Sauaia A. Blood transfusion. An independent risk factor for postinjury multiple organ failure. *Arch Surg* 1997;**132**: 620-4; discussion 4-5.
- [27] Münch F., Schumacher R., Demuth M., Kasten W., Göen T., Müller J., Harig F., Weisbach V., Weyand M.. Weichmacherexposition über Blutproduktgabe in der Herzchirurgie. *Kardiotechnik* 2011;**1**: 8-14.
- [28] Nielsen HJ, Reimert CM, Pedersen AN, Brunner N, Edvardsen L, Dybkjaer E, Kehlet H, Skov PS. Time-dependent, spontaneous release of white cell- and platelet-derived bioactive substances from stored human blood. *Transfusion* 1996;**36**: 960-5.
- [29] Platow K, Geiger P, Bartl A, Mehrkens HH, Junker K. In vitro Vergleich gängiger Autotransfusionssysteme 10. Informationstagung über Eigenbluttransfusion Abstraktband München 12. April 1997.
- [30] Rensing H. Lagerungsabhängige Beeinflussung der Sauerstofftransportkapazität von Erythrozytenkonzentraten. *Anaesthesist* 2001;**50**: 9-15.
- [31] Rosolski T, Mauermann K, Frick U, Hergert M. Autotransfusionssysteme liefern Blut unzureichender Qualität. *Anaesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 2000;**35**: 21-24.
- [32] Scott VL, De Wolf AM, Kang Y, Altura BT, Virji MA, Cook DR, Altura BM. Ionized hypomagnesemia in patients undergoing orthotopic liver transplantation: a complication of citrate intoxication. *Liver Transpl Surg* 1996;**2**: 343-7.

-
- [33] Sihler KC, Napolitano LM. Complications of massive transfusion. *Chest* 2010;**137**: 209-20.
- [34] Smith HM, Farrow SJ, Ackerman JD, Stubbs JR, Sprung J. Cardiac arrests associated with hyperkalemia during red blood cell transfusion: a case series. *Anesth Analg* 2008;**106**: 1062-9, table of contents.
- [35] Strauss RG. Routinely washing irradiated red cells before transfusion seems unwarranted. *Transfusion* 1990;**30**: 675-7.
- [36] Sumpelmann R, Schurholz T, Thorns E, Hausdorfer J. Acid-base, electrolyte and metabolite concentrations in packed red blood cells for major transfusion in infants. *Paediatr Anaesth* 2001;**11**: 169-73.
- [37] Swindell CG, Barker TA, McGuirk SP, Jones TJ, Barron DJ, Brawn WJ, Horsburgh A, Willetts RG. Washing of irradiated red blood cells prevents hyperkalaemia during cardiopulmonary bypass in neonates and infants undergoing surgery for complex congenital heart disease. *Eur J Cardiothorac Surg* 2007;**31**: 659-64.
- [38] Tinmouth A, Fergusson D, Yee IC, Hebert PC. Clinical consequences of red cell storage in the critically ill. *Transfusion* 2006;**46**: 2014-27.
- [39] Tsukamoto S, Maruyama K, Nakagawa H, Iwase Y, Kitamura A, Hayashida M. Fatal hyperkalemia due to rapid red cell transfusion in a critically ill patient. *J Nihon Med Sch* 2009;**76**: 258-64.
- [40] de Vroeghe R, Wildevuur WR, Muradin JA, Graves D, van Oeveren W. Washing of stored red blood cells by an autotransfusion device before transfusion. *Vox Sang* 2007;**92**: 130-5.
- [41] Walpoth BH, Walpoth BN, Eggensperger N, Neidhart P, Lanz M, Althaus U, Spaeth PJ, Kurt G, Zender R.
Qualitative assessment of blood washing with the continuous autologous transfusion system (CATS). *Int J Artif Organs* 1998 Mar;**21**(3):183.

- [42] Waters JH, Potter P, Hobson DF. A comparison of red cell recovery between two different methods of red cell washing. *Anesth Analg* 2003;**97**: 1578-1581.
- [43] Weisbach V, Riego W, Strasser E, Zingsem J, Ringwald J, Zimmermann R, Eckstein R.. The in vitro quality of washed, prestorage leucocyte-depleted red blood cell concentrates. *Vox Sang* 2004;**87**: 19-26.
- [44] Weiskopf RB, Schnapp S, Rouine-Rapp K, Bostrom A, Toy P. Extracellular potassium concentrations in red blood cell suspensions after irradiation and washing. *Transfusion* 2005;**45**: 1295-301.
- [45] Westphal-Varghese B, Erren M, Westphal M, Van Aken H, Ertmer C, Lange M, Booke M. Processing of stored packed red blood cells using autotransfusion devices decreases potassium and microaggregates: a prospective, randomized, single-blinded in vitro study. *Transfus Med* 2007;**17**: 89-95.
- [46] Williamson LM, Lowe S, Cohen H. Serious hazards of transfusion (SHOT) initiative: analysis of annual reports. *British Medical Journal* 1999;**319**(7201): 16-19.
- [47] Xia VW, Ghobrial RM, Du B, Chen T, Hu KQ, Hiatt JR, Busuttil RW, Steadman RH. Predictors of hyperkalemia in the prereperfusion, early postreperfusion, and late postreperfusion periods during adult liver transplantation. *Anesth Analg* 2007;**105**: 780-5.

8 ANHANG

Studienprotokoll

Konservenwaschung

Versuch

Datum:

Proben#	Testblut			Messung	AGEK
1	TB1=unverdünnt	+ 500µl Imeron		Hct,Prot,fHb,K,Citrat,Imer.	
2	TB2=TB1 1:1verd	+1000µl Imeron		Hct,Prot,fHb,K,Citrat,Imer.	
3	TB3=TB2 1:1 verd	+2000µl Imeron		Hct,Prot,fHb,K,Citrat,Imer.	
1.ELECTA (175ml Glocke)					
	100ml TB2 vorfüllen (2x leeren)				
4	+400ml TB2	-Rest ...ml	=ml	Hct,Prot,fHb,K,Citrat,Imer.ml
W4	Waschprobe			fHb	
	leeren				
5	+200ml TB1	-Rest ...ml	=ml	Hct,Prot,fHb,K,Citrat,Imer.ml
W5	Waschprobe			fHb	
	leeren				
6	+800ml TB3	-Rest ...ml	=ml	Hct,Prot,fHb,K,Citrat,Imer.ml
W6	Waschprobe			fHb	
	leeren				
2.CATS (quality wash)					
	300ml TB2 vorfüllen (bis 1.Produkt)ml (Stop, Rest verwerfen)				
7	+300ml TB2	start	Wasch-ml:	Hct,Prot,fHb,K,Citrat,Imer.ml
W7	Waschprobe			fHb	
8	2xLeeren			Hct,Prot,fHb,K,Citrat,Imerml
	TB1 vorfüllen (bis 1.Produkt)ml (Stop, Rest verwerfen)				
9	+150ml TB1	start	Wasch-ml:	Hct,Prot,fHb,K,Citrat,Imer.ml
W9	Waschprobe			fHb	
10	2xLeeren			Hct,Prot,fHb,K,Citrat,Imer.ml
	TB3 vorfüllen (bis 1.Produkt)ml (Stop, Rest verwerfen)				
11	+600ml TB3	start	Wasch-ml:	Hct,Prot,fHb,K,Citrat,Imer.ml
W11	Waschprobe			fHb	
12	2xLeeren			Hct,Prot,fHb,K,Citrat,Imer.ml
3.OrthoPAT					
	100ml TB2 vorfüllen				
13	+300ml TB2	start		Hct,Prot,fHb,K,Citrat,Imer.ml
W13	Waschprobe			fHb	
	3 Läufe	TB2 weg	Rest:...ml=		
14	+200ml TB1	start		Hct,Prot,fHb,K,Citrat,Imer.ml
W14	Waschprobe			fHb	
	2 Läufe	TB1 weg	Rest:...ml=		
15	+600ml TB3	start		Hct,Prot,fHb,K,Citrat,Imer.ml
W15	Waschprobe			fHb	
	Läufe:	TB3 weg wenn <100ml	Rest:...ml=		

Tabelle 2: Studienprotokoll Konservenwaschen

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AGEK	autologes gewaschenes Erythrozytenkonzentrat
ATP	Adenosintriphosphat
C.A.T.S	Continuous Auto Transfusion System
DEHP	Diethyl-hexylphthalat
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EK	Erythrozytenkonzentrat
Hb	Hämoglobin
GvH	Graft-versus-Host-Reaktion
HIV	Human Immunodeficiency Virus
Hkt	Hämatokrit
HPLC	High-performance liquid chromatography
IgA	Immunglobulin A
MAT	maschinelle Autotransfusion
NaCl	Natrium- Chlorid
NO	Stickstoffmonoxid
PEI	Paul Ehrlich Institut
Tab.	Tabelle
TB	Testblut
TGF	Transfusionsgesetz

Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1 EK-Verbrauch der BRD 2000 – 2010
- Abb. 2 Trennung durch Zentrifugation
- Abb. 3 Trennung durch Waschen
- Abb. 4 Ablauf der maschinellen Aufbereitung von Wundblut unter OP-Bedingungen
- Abb. 5 Electa
- Abb. 6 Latham-Glocke
- Abb. 7 Funktionsweise der Latham-Glocke
- Abb. 8 OrthoPAT
- Abb. 9 Die dynamische Disk
- Abb. 10 Aufbau der dynamischen Disk
- Abb. 11 Funktionsweise der dynamischen Disk
- Abb. 12 C.A.T.S
- Abb. 13 Separationskammer von C.A.T.S
- Abb. 14 Funktionsweise von C.A.T.S
- Abb. 15 Versuchsablauf am Beispiel von Electa
- Abb. 16 Erythrozytenausbeute
- Abb. 17 Produkthämatokrit
- Abb. 18 Elimination von Protein
- Abb. 19 Elimination von freiem Hämoglobin
- Abb. 20 Elimination von Kalium
- Abb. 21 Elimination von Citrat
- Abb. 22 Elimination von Imeron
- Abb. 23 klinische Umsetzung mit Schlauchklemmen und T-Konnektor

Danksagung

Mein herzlichster Dank gilt Prof. Dr. Dr. Ernil Hansen für die freundliche Überlassung des Themas, die großartige Unterstützung, Betreuung und Motivation bei der Verwirklichung meiner Promotionsarbeit und die interessanten Einblicke in das Fachgebiet der Transfusionsmedizin.

Danken möchte ich vor allem auch Ruth Spaeth und Dr. rer. nat. Michael Gruber vom Forschungslabor der Klinik für Anästhesiologie für die Unterstützung bei der Vor- und Nachbereitung meiner Versuche und das Gelingen der Umsetzung.

Weiterhin möchte ich mich beim Zentrallabor des Universitätsklinikums Regensburg für die zuverlässige Messung der Blutproben bedanken.

Auch den Firmen Fresenius, Haemonetics und Sorin sei gedankt für die großzügige Bereitstellung von Materialien für die Versuchsdurchführung.

Ganz außerordentlich möchte ich mich bei meinem lieben Mann, meinen Eltern, meiner Schwester und meinen Freunden bedanken, die mich unterstützt haben und immer an mich geglaubt haben und zu guter letzt bei meinem Sonnenschein Nils, der in der letzten anstrengenden Phase das ein oder andere Mal auf Mamas ungeteilte Aufmerksamkeit verzichten musste.