

AUS DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

PD DR. MICHAEL PAWLIK
ANÄSTHESIOLOGIE

**EVALUATION DER KONTAMINATION VON INTRAOPERATIV GEWONNENEN
AUTOLOGEN ERYTHROZYTENKONZENTRATEN DURCH CHIRURGISCHEM
RAUCH**

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnmedizin

der Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Patricia Fiedler

2022

AUS DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG
PD DR. MICHAEL PAWLIK
ANÄSTHESIOLOGIE

**EVALUATION DER KONTAMINATION VON INTRAOPERATIV GEWONNENEN
AUTOLOGEN ERYTHROZYTENKONZENTRATEN DURCH CHIRURGISCHEN
RAUCH**

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnmedizin

der Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Patricia Fiedler

2022

Dekan: Prof. Dr. Dirk Hellwig
1. Berichterstatter: PD Dr. Michael Pawlik
2. Berichterstatter: Prof. Dr. Hans-Stefan Hofmann
Tag der mündlichen Prüfung: 28.10.2022

Inhaltsverzeichnis

1	<u>Einleitung</u>	4
1.1	Geschichte und Entwicklung der maschinellen Autotransfusion	4
1.2	Prinzip der maschinellen Autotransfusion (MAT)	6
1.3	Stellenwert der maschinellen Autotransfusion	7
1.4	Qualitätsmanagement in der maschinellen Autotransfusion	10
1.5	Chirurgischer Rauch	12
1.5.1	Elektrochirurgische Geräte	13
1.5.2	Eigenschaften der Indikatorsubstanz Toluol	14
1.5.3	Auswirkungen des chirurgischen Rauches auf Wundblut	16
1.6	Funktionsweise von Autotransfusionsgeräten	17
1.6.1	Sammeln des Wundblutes	17
1.6.2	Diskontinuierliche maschinelle Autotransfusion (Latham-Glocke)	18
2	<u>Ziel der Arbeit</u>	23
3	<u>Material und Methoden</u>	25
3.1	Experimentelle Studie	25
3.1.1	Funktionsweise des Gaschromatographen (GC)	29
3.1.2	Kalibration GC und interner Standard (IS) für die Indikatorsubstanz Toluol	30
3.2	Experimentelle Studie Toluol	34
3.2.1	Vorversuche	34
3.2.2	Durchführung der Versuchsreihen	37
3.2.3	Probenentnahme und -verarbeitung	39
3.2.4	Verhalten von Toluol im Wundblut	39
3.2.5	Berechnung der Eliminationsrate	40

3.3 Experimentelle Rauchexposition Wundblut	41
3.3.1 Vorversuche	41
3.3.2 Nachweis potentieller Schadstoffe anhand von Retentionszeiten	43
3.3.3 Durchführung der Versuchsreihen	43
3.3.4 Waschen des kontaminierten Wundblutes	46
3.3.5 Versuchsreihen mit gekühltem Reservoir	47
3.3.6 Probencharakteristik	47
3.4 Klinische Studie	49
3.4.1 Probenentnahme und -verarbeitung in der Herz-Thoraxchirurgie	49
3.5 Statistik	51
4 Ergebnisse	51
4.1 Experimentelle Studie Toluol	51
4.1.1 Vorversuche Indikatorsubstanz Toluol	51
4.1.2 Elimination der Indikatorsubstanz Toluol durch MAT	54
4.1.3 Eliminationsrate von Toluol durch MAT	60
4.1.4 Verhalten Toluol im Wundblut	63
4.2 Experimentelle Rauchexposition Wundblut	64
4.2.1 Vorversuche Rauch	64
4.2.2 Identifikationsversuch potentieller Schadstoffe in Rauchgasen anhand der Retentionszeiten	65
4.2.3 Ergebnisse der Versuchsreihen Rauch	67
4.2.4 Vergleich der Features im gekühlten und ungekühlten Reservoir	68
4.2.5 Elimination prominenter Features mit MAT	69
4.3 Klinische Studie	71
5 Diskussion	72
5.1 Toluol als Indikatorsubstanz und seine Elimination	72

5.1.1 Probenverarbeitung und Validierung	72
5.1.2 Elimination von Toluol	73
5.1.3 Einfluss des verwendeten Waschprogramms und der Glockengröße	74
5.2 Experimentelle Rauchexposition Wundblut	74
5.3 Klinische Studie	76
5.4 Einschränkungen der Studie	77
<u>6 Zusammenfassung</u>	<u>79</u>
<u>7 Literaturverzeichnis</u>	<u>81</u>
<u>8 Abbildungsverzeichnis</u>	<u>85</u>
<u>9 Tabellenverzeichnis</u>	<u>87</u>
<u>10 Formelverzeichnis</u>	<u>89</u>
<u>11 Abkürzungsverzeichnis</u>	<u>90</u>
<u>Erklärung zum Promotionsverfahren</u>	
<u>Danksagung</u>	

1 Einleitung

1.1 Geschichte und Entwicklung der maschinellen Autotransfusion

Die Bluttransfusion von einem Menschen zu einem anderen wurde erstmals im Jahr 1818 durch den Gynäkologen James Blundell durchgeführt. Basierend auf dieser Idee, wurden zehn Frauen mit postpartaler Hämorrhagie transfundiert. Ohne das Wissen über die AB0-Typisierung der Blutgruppen, konnte er fünf dieser Frauen am Leben erhalten.¹ Basierend auf Blundells Innovation wurde die allogene Transfusion gängige Praxis. Der Erfolg dieses Verfahrens war zu jener Zeit jedoch sowohl vom Können des behandelnden Arztes, als auch der Verfügbarkeit eines passenden Spenders abhängig. Beide Voraussetzungen waren vor allem im ländlichen Raum oft nicht gegeben. Im Jahr 1874 retransfundierte William Highmore bei einer postpartalen Hämorrhagie das warme, defibrinierte Blut der Frau und bewahrte sie damit vor dem Verbluten. Das Konzept der Autotransfusion war geboren.¹

Über viele Jahrzehnte wurde Blut in Lappen, Saugkolben und Saugleitungen gesammelt. Das Blut wurde mit Citrat und Hämodilution antikoaguliert, Seihtücher und feine Gaze wurden als Filter verwendet. John Duncan wurde 1886 die erste autologe Transfusion von intraoperativ gesammeltem Wundblut zugeschrieben. Duncan konnte ca. 100 mL Blut eines amputierten Beines sammeln, mit Natriumphosphat antikoagulieren und intravenös retransfundieren.¹

Eines der bedeutendsten Ereignisse im Jahr 1968 war die erstmalige Verwendung eines neuen Geräts, beschrieben in einem Bericht von Wilson und Taswell. Damit waren das Sammeln, das Waschen und die Retransfusion des Blutes gleichzeitig möglich.

Das Blut aus dem Absauger oder auch die Blut-Kochsalzmischung von der Spülung des Operationsgebietes wurden in eine kontinuierlich laufende Zentrifuge gegeben, die die Erythrozyten heraustrennte. Die Erythrozyten wurden gewaschen und schließlich mit entsprechender Kochsalzlösung 0,9 % oder Ringerlaktat dem Patienten retransfundiert.¹

Bereits 1969 haben Klebanoff und Kollegen ein relativ günstiges Autotransfusionssystem mit sterilen Wegwerfssets entwickelt, welches kompakt, leise und selbst bei hohen Flussraten zuverlässig Erythrozyten wusch.²

Ein modifiziertes Gerät (Bentley Autotransfusion System), welches gleichzeitig Blut aus dem Operationsgebiet ansaugt, filtert und retransfundiert, wurde später in die Klinik eingeführt und durch die Autoren als sicher, einfach und effektiv eingestuft.²

Die Vorteile von gewaschenem Wundblut konnten tierexperimentell gezeigt werden. Dabei stellte sich heraus, dass es zu einem geringeren Verbrauch von Gerinnungsfaktoren kommt, da gewaschene Blut im Vergleich zu ungewaschenem Blut signifikant weniger Fibrinsspaltprodukte enthält.³

Gleichzeitig wurde ein anderer technischer Aspekt adressiert, die Antikoagulation. Diese entwickelte sich rasch von der systemischen Antikoagulation mit Heparin, via lokalen Heparinantikoagulation, zur Citratantikoagulation.³

Ein weiterer wichtiger Beitrag kam von Bennett und Kollegen, welche 1972 ein neues Ansauggerät beschrieben. Dieses war in der Lage Blut, welches aus dem Operationsgebiet aufgesaugt wurde, gleichzeitig zu antikoagulieren, um es zur sofortigen Retransfusion verfügbar zu machen.⁴

Somit wurde der Grundstein für praktische und effiziente Methoden der Blutrückgewinnung bzw. -verarbeitung gelegt. Allerdings fehlte noch das Verständnis für die klinische Bedeutung und die Sicherheit der maschinellen Autotransfusion.

Die Zahl der Anwendungen stieg mit der Einführung des „Bentley Autotransfusionssystems“ in der Traumachirurgie, der Gefäßchirurgie und weiteren Feldern der Notfallchirurgie.

Innerhalb von 7 Jahren, nach erstmaliger Beschreibung, wurde die Verwendung des Bentley Systems in vielen Publikationen beschrieben und eine Reihe signifikanter Komplikationen in Zusammenhang mit dem Sammeln und Retransfundieren des Wundblutes festgestellt.^{2,5,6}

Die Komplikationen beinhalteten Hämoglobinurie, Lungenversagen, disseminierte intravasale Koagulopathie und Luftembolien.

Die Infusion korpuskulärer Bestandteile, lysierter Erythrozyten, Gewebesäfte und anderer Fremdstoffe in den Kreislauf wurden als mögliche Ursache gesehen.

Trotz der angesprochenen Komplikationen wurde das Bentleysystem nur langsam verlassen, da es für die Verarbeitung kleinerer Mengen Blut geeignet war.⁷

In den 80er Jahren standen alternative Autotranfusionssysteme zur Verfügung. Eine Vollblutretransfusion erfolgte mit dem Sorenson-Autotransfusionssystem (Abbott, Wiesbaden) oder dem sogenannten Solcotrans (Solco, Basel, Birsfelden, Schweiz). Beide Verfahren bargen nicht die Gefahr einer Luftembolie oder einer erhöhten Hämolyserate. Die „intraoperative maschinelle Autotransfusion“ konnte mit dem Cell Saver (Haemonetics, München) oder Autotrans (Dideco, Mirandola, Italien) durchgeführt werden. Dieses System schloss eine Zellseparierung und einen Waschvorgang ein. Die Antikoagulanzien, überschüssige Flüssigkeit, Hämolyseprodukte und Produkte des traumatisierten Gewebes konnten dabei zuverlässig eliminiert werden. Der Erfolg der Anwendung intraoperativer Autotransfusion, auch bei massiven Blutungen, war vielfach belegt.^{8,9}

Aufgrund von HIV-Kontamination in Fremdblut in den 80 er Jahren wurde der maschinellen Autotransfusion eine zunehmende Bedeutung als Fremdblutalternative beigemessen.¹⁰

In der Mitte der 2000er wurde die maschinelle Autotransfusion aufgrund der effektiven Reduktion des intraoperativen Blutverlustes fester Bestandteil des Patient Blood Managements. Patient Blood Management beinhaltet verschiedene Maßnahmenbündel zur Behandlung von Anämie und Reduktion des intraoperativen Blutverlusts. Bedingt durch den technischen Fortschritt ist das Verfahren sehr sicher und unverzichtbar bei größeren operativen Eingriffen.^{11,12}

1.2 Prinzip der maschinellen Autotransfusion (MAT)

Das Prinzip der maschinellen intraoperativen Autotransfusion besteht darin, die roten Blutzellen aus dem Wundblut durch Zentrifugation zu separieren und in einem anschließenden Waschvorgang hämolytisches Plasma und andere Kontaminationen einschließlich der Waschlösung zu eliminieren. In der folgenden Abbildung 1 wird das Prinzip der MAT dargestellt.

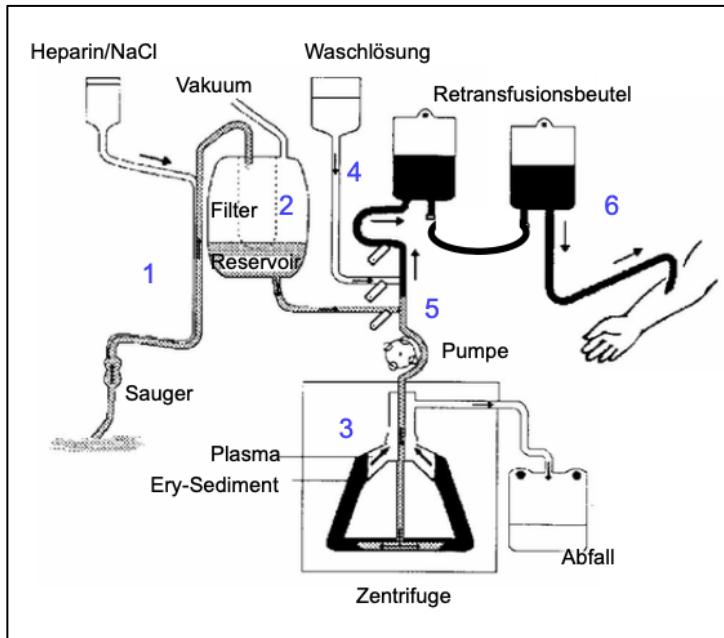


Abbildung 1: Prinzip der MAT, 1= Wundblut sammeln, 2= Filtration, 3= Separation, 4= Waschen, 5= Glockenentleerung, 6= Retransfusion

Das Wundblut wird steril aus dem Operationsgebiet mit einem Sauger in ein Reservoir abgesaugt und gesammelt (1). Dabei wird durch Zufluss einer Antikoagulationslösung, vorzugsweise Heparin, das Wundblut antikoaguliert. Das Reservoir beinhaltet einen Filter mit einer Porengröße von 40-170 µm, welcher Knochensplitter, Gewebereste, Zellaggregate und Koagel zurückhält (2). Wenn sich genügend Wundblut für eine Aufbereitung im Reservoir angesammelt hat, beginnt die Blutaufbereitung. Diese erfolgt in zwei Schritten, nämlich der Zellseparation und dem anschließenden Zellwaschen. Bei der Zellseparation wird das hämolytische Plasma aus der Zentrifugenglocke gedrückt und verworfen (3). Beim Zellwaschen strömt eine Waschlösung (Natriumchlorid-Lösung 0,9 %) durch das Zellsediment, wäscht das verbliebene Plasma aus und verdünnt es (4).¹³ Abschließend erfolgt die Entleerung der Zentrifugenglocke (5) und das aufbereitete Erythrozytenkonzentrat (EK) steht dem Patienten zur Retransfusion zur Verfügung (6).¹³

1.3 Stellenwert der maschinellen Autotransfusion

Der MAT kommt aufgrund ihrer effektiven wie auch sicheren Methode ein besonders hoher Stellenwert unter den bluterhaltenden Maßnahmen zu.¹³ Sie gewährleistet eine kosteneffiziente, ressourcenschonende und rasche Bereitstellung von mindestens 50 % des Blutverlustes und weist eine hohe Verfügbarkeit auf.¹³ Sie findet in den

Bereichen Herz- und Gefäßchirurgie, Abdominal- und Transplantationschirurgie, Orthopädie und Unfallchirurgie, bei Massivblutungen und mit vorausgegangener Blutbestrahlung auch in der Tumorchirurgie Anwendung.^{12,13} Zudem ermöglicht sie Eingriffe mit erhöhtem Blutverlust bei Zeugen Jehovas, da diese jegliche Fremdbluttransfusionen ablehnen. Bei der maschinellen Autotransfusion werden autologe, gewaschene, ungelagerte Erythrozyten von uneingeschränkter Funktionsfähigkeit und Vitalität, ohne immunologische Reaktionen und Lagerungsschäden für eine optimale Hämotherapie bereitgestellt. Durch den weiter steigenden Bedarf an Bluttransfusionen, den hohen Kosten und Engpässen sowie erheblichen Nebenwirkungen und fraglicher Wirksamkeit sind bluterhaltende Maßnahmen von großer Bedeutung.^{14,15}

In Tabelle 1 werden die Nebenwirkungen von Fremdbluttransfusionen aufgeführt.

Nebenwirkungen von Fremdbluttransfusionen¹³
Infektionsübertragung
hämolytische Reaktion (Verwechslung)
nichthämolytische Reaktion (Unverträglichkeit)
Alloimmunisierung (Antikörperinduktion)
akutes Lungenversagen (TRALI)
Immunsuppression (TRIM, mit Tumorprogression und postoperativer Infektionen)
Mikrochimärismus und GvH
Lagerungsschäden (Störung von Mikrozirkulation und Sauerstoffabgabe)
Hemmung der Erythropoese (Suppression von Epo und Knochenmark)
„Outcome“-Verschlechterung (Letalität, Sepsis, MOF, LOS, Mobilisierung, Myokardinfarkt, Niereninsuffizienz usw.)

Tabelle 1: Nebenwirkungen von Fremdbluttransfusionen, Epo= Erythropoetin, GvH= „graft versus host“, LOS= „length of stay“, MOF= „multiple organ failure“, TRALI= “transfusion-related acute lung injury”, TRIM= “transfusion-related immunmodulation”

Das Risiko der Verwechslung ist bei der maschinellen Autotransfusion gering. Solange der Transfusionsbeutel und das Reservoir mit dem Patienten verbunden sind, kann es zu keiner Verwechslung des MAT-Blutes kommen. Im Fall einer Diskonnektion, wie sie bei der Tumorchirurgie für die Blutbestrahlung notwendig ist, ist ein AB0-Bedside-Test, sowohl des Patienten als auch mit dem MAT-Blut laut Hämotherapie-Richtlinien 4.5.6 notwendig.¹² In Studien konnten im Wundblut vereinzelt Luft- und Hautkeime geringer Pathogenität und Anzahl nachgewiesen werden.^{16,17} Dies ist von geringer klinischer Relevanz, weil das Blut nicht gelagert wird und damit keine signifikante Vermehrung dieser Keime stattfindet. Gerinnungsstörungen sind nur experimentell bei unzureichender Glockenfüllung oder unverhältnismäßig hohen Waschvolumina durch verminderte Auswaschraten und Zellaktivierungen auslösbar.¹⁸ Durch schlechte Sammeltechnik und Antikoagulation kann eine verminderte Effizienz der Bluteinsparung, z.B. durch den Verlust von Wundblut in Tupfern, Tüchern oder Koagel resultieren. Aufgrund nicht exakter Vorhersage des zu erwartenden Blutverlusts und der möglichen Notwendigkeit allogenen Blutes, ist es angemessen, das Zellrückgewinnungsgerät im „stand - by“ Modus einzurichten. Dies beinhaltet die Bereitstellung von Reservoir, Doppelklemmungsaugleitung und Antikoagulationslösung, um Zeit und Kosten zu sparen.¹³

Zu den wichtigsten Indikationsbereichen der MAT zählt die Herzchirurgie. In dieser Studie wird ausschließlich dieses Anwendungsgebiet thematisiert. In der Herzchirurgie ist die MAT ein Routineverfahren und die Reduktion des Transfusionsbedarfs ist durch zahlreiche Studien belegt.¹⁹⁻²¹ In einer Metaanalyse durch Wang et al. konnte mit 31 inkludierten Studien eine signifikante Reduktion des Fremdblutexpositionsrisikos und des Fremdbluttransfusionsvolumens gezeigt werden.²² Laut den Leitlinien der amerikanischen Fachgesellschaft für Herz-Thoraxchirurgie wird die Anwendung der MAT mit dem Evidenzgrad A empfohlen.²³

In einer weiteren Untersuchung führte die Anwendung der MAT zu einer deutlichen Reduktion proinflammatorischer Zytokine.²⁴ Ein weiteres Indiz für die hohe Qualität von MAT-Blut konnte in einer Studie von Salaria et al. gezeigt werden.²⁵ Dort wurde eine signifikant höhere Elastizität der Zellmembran der durch MAT gewonnenen Erythrozyten im Vergleich zu allogenen Erythrozytenkonzentraten nachgewiesen. Des Weiteren weisen autologe Erythrozyten ein höheres 24-Stunden-Überleben und

höheren Gehalt an 2,3-Diphosphoglycerat als allogene Erythrozyten auf.^{26,27} Die MAT erhöht vor allem nicht den Verbrauch von Fresh frozen Plasma (FFP) und Erythrozyten.¹³

Zu den weiteren Anwendungsgebieten zählen die Orthopädie, pädiatrische Chirurgie und Massivtransfusionen sowie die Geburtshilfe und Tumorchirurgie.

Die wichtigsten Vorteile der MAT sind zum einen die nicht vorhandenen Komplikationen allogener Transfusionen wie Transfusionsreaktionen, Induktion irregulärer Antikörper und der Immunmodulation und zum anderen der Wegfall von Lagerungsschäden mit Beeinträchtigung der Mikrozirkulation und Gewebeoxygenierung.¹³ Die folgende Tabelle 2 fasst die wichtigsten Vorteile der MAT zusammen.

Wichtigste Vorteile der maschinellen Autotransfusion¹³
rasche Verfügbarkeit → parallel zum Blutverlust
effiziente Bluterhaltung → Entlastung der Blutressourcen
hohe Sicherheit → vermeidet Transfusionsrisiken
Kosteneffizienz → Blutverlustabhängiger Einsatz
reduzierte Anämie → liberaler Transfusionstrigger
hohe Blutqualität → gewaschene, frische Erythrozyten

Tabelle 2: Vorteile der maschinellen Autotransfusion

So kann mit MAT-Blut eine Blutungsanämie präventiv behoben werden, da laut den aktuellen Querschnittsleitlinien Hämotherapie ein weniger restriktiver Transfusionstrigger als bei allogenen Erythrozytenkonzentraten verwendet werden darf.²⁸ 9 % aller Transfusionen in Deutschland erfolgen mittlerweile mit MAT-Blut, sodass die maschinelle Autotransfusion einen wesentlichen Beitrag zur Blutversorgung bei Operationen leistet.¹³ Eine strikte Kontraindikation für die Anwendung der MAT besteht jedoch bei bakteriell kontaminierten Operationsgebieten.²⁹

1.4 Qualitätsmanagement in der maschinellen Autotransfusion

Um die Qualität und Sicherheit von autologem Blut gewährleisten zu können, ist die Anwendung von Qualitätsmanagement (QM) dringend erforderlich. Für die

Qualitätssicherung sind zum einen die Produktqualität und zum anderen die Prozessqualität, welche die Plasmaeliminationsrate und die Erythrozytenausbeute umfasst, von Bedeutung. Als Produktkontrolle werden einmal pro MAT-Anwendung der Hämatokrit (HKT) und das Gesamtvolumen des aufbereiteten Blutes bestimmt, um mögliche Fehlfunktionen wie z.B. Sensorstörungen zu entdecken.

Die Plasmaeliminationsrate von Albumin bzw. Gesamteiweiß umfasst die Entfernung aller im Plasma gelösten Stoffe und Kontaminationen wie Elastase und andere Proteasen, Zytokine, aktivierte Gerinnungsfaktoren und unter anderem auch die von Schadstoffen.¹³ Daher ist sie ein wichtiges Hilfsmittel zur Sicherstellung einer hohen Produktqualität. Mindestens einmal pro Monat bzw. bei 5 % aller Einsätze ist bei MAT-Geräten die Eliminationsrate von Gesamteiweiß oder Albumin (Sollwert > 90 % des Ausgangswertes) als Qualitätskontrolle zu bestimmen.²⁹ Die Eliminationsrate wird wie folgt (Gleichung 1) berechnet:³⁰

Eliminationsrate (%) =

$$\left(\frac{1 - \text{Volumen des Zellüberstands im Produkt} * \text{Konzentration der Markersubstanz darin}}{\text{Volumen des Zellüberstands im Ausgangsmaterial} * \text{Konzentration der Markersubstanz darin}} \right) * 100$$

Gleichung 1: Eliminationsrate von Gesamteiweiß oder Albumin (Markersubstanz)

Das Volumen des Zellüberstands ergibt sich dabei (Gleichung 2) aus den gemessenen Volumina (von Produkt bzw. Wundblut) und den entsprechenden HKT-Werten:²

$$\text{Volumen Überstand} = \text{Volumen} * (1 - \text{HKT})$$

Gleichung 2: Volumen Zellüberstand

Sinnvoll für die Prozesskontrolle ist nicht nur wie gefordert den HKT-Wert zu bestimmen, sondern daraus zusammen mit den Volumina die Erythrozytenausbeute, um die Effizienz des MAT-Gerätes zu überprüfen.³⁰ Diese errechnet sich nach Gleichung 3 aus dem Vergleich der Erythrozytenmasse von Produkt und dem dafür verwendeten Wundblut. Die Erythrozytenausbeute soll über 80 % liegen.³⁰

$$\text{Erythrozytenausbeute (\%)} = \left(\frac{\text{Volumen Produkt} * \text{HKT des Produkts}}{\text{Volumen Wundblut} * \text{HKT des dazu aufbereiteten Wundbluts}} \right) * 100$$

Gleichung 3: Erythrozytenausbeute

Durch die entsprechenden Qualitätskontrollen kann eine Gefährdung von Patienten erkannt bzw. vermieden werden.

1.5 Chirurgischer Rauch

Durch elektrochirurgische Verfahren in der medizinischen Behandlung ist die Exposition gegenüber chirurgischen Rauchgasen intensiviert worden. Chirurgische Rauchgase stellen eine Mischung sowohl aus gas- und dampfförmigen als auch aus flüssigen und festen Substanzen dar, welche eine hohe Anzahl an lokalen, systemischen, reversiblen und irreversiblen Gefahrenarten aufweisen kann. Des Weiteren ist erwiesen, dass chirurgische Rauchgase biologisch aktive Bestandteile wie z.B. Zellen, Zellreste und Viren beinhalten können.³¹ Die Freisetzung und Zusammensetzung der Rauchgase ist abhängig von der Art des Eingriffs, dem Behandlungsverfahren und dem zu operierenden Gewebe.

Seit vielen Jahren können in chirurgischen Verfahren mittels elektrochirurgischer Geräte, durch Einwirken von Hitze oder Ultraschall, Gewebe schonend zertrennt oder Blutungen gestillt werden.³²

Zwar unterliegt die quantitative Zusammensetzung chirurgischen Rauches großen Schwankungen, es ist jedoch möglich, eine Aussage über die qualitative Zusammensetzung zu treffen.³³

Hauptbestandteil des Rauches ist, physiologisch bedingt, Wasserdampf (bis zu 95 %). Dieser wirkt wie ein Transportmedium für andere Komponenten.³³ Die Größe der im Rauch entstehenden Partikel reichen von über 200 µm bis zu weniger als 10 nm. Der mittlere Partikeldurchmesser ist unter anderem abhängig von der Intensität der Energieeinwirkung.³¹ Dabei werden angegeben:³⁴

- Elektrokauter: mittlerer Partikeldurchmesser $d < 0,1 \mu\text{m}$
- Laser (Gewebeabtragung): mittlerer Partikeldurchmesser d ca. $0,3 \mu\text{m}$
- Ultraschallscalpell: mittlerer Partikeldurchmesser d ca. $0,35 - 6 \mu\text{m}$

Ein sehr großer Teil der Rauchpartikel wird eingeatmet und kann sich in der Peripherie der Lunge ablagnern.³¹

Weitere Bestandteile im Rauch sind organische Stoffe, z.B. aromatische Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Toluol, Ethylenbenzol und Xylol, Cyanwasserstoff (HCN), Formaldehyd und polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe.³²⁻³⁴

Zu den anorganischen Komponenten, welche bei jedem Verbrennungsprozess und somit auch bei elektrochirurgischen Verfahren entstehen, zählen Kohlenmonoxid und Kohlendioxid, Schwefel- und Stickstoffoxide sowie Ammoniak. Diese Stoffe verursachen Atemwegsreizungen oder Gewebehypoxien.³¹

Bei denen im Aerosol frei werdenden biologischen Substanzen kann es sich um intakte Zellen, Zellfragmente, Blutzellen und virale DNA-Fragmente handeln.³¹

1.5.1 Elektrochirurgische Geräte

Hochfrequente Ströme (> 300 kHz) von wenigen Watt bis hin zu mehreren hundert Watt werden bei elektrochirurgischen Eingriffen verwendet. Dabei fließt die elektrische Energie über monopolare Elektroden zu. Am Patienten ist an geeigneter Stelle eine großflächige Neutralelektrode angebracht, über die der Strom abfließen kann. Bei bipolaren Elektroden erfolgt der Stromfluss zwischen eng beieinanderliegenden Polen. In Abhängigkeit von der Stromstärke, Spannung, Frequenz und Form der Elektrode führt die thermische Energie zur Austrocknung des Gewebes, Koagulation und zur Schneidwirkung. Die Schneidwirkung entsteht mit Hilfe kleinflächiger Elektroden, an welchen durch explosionsartiges Verdampfen der Zellflüssigkeiten an der Schnittstelle das Gewebe getrennt und an den Schnittkanten koaguliert wird.³¹

Verschiedene Gefahrenstoffe konnten durch Messungen in unmittelbarer Nähe (ca. 2 cm) der elektrochirurgischen Eingriffsstelle von Hollmann et al. nachgewiesen werden (Tabelle 3).³⁵ Die gemessenen Gefahrenstoffkonzentrationen stellen obere Konzentrationswerte (Worst-Case-Werte) einer möglichen Exposition dar, da sich die chirurgischen Rauchgase noch nicht in der Umgebungsluft verdünnen konnten.³⁵

CAS-Nr.	Stoff	Formel	Nachweisgrenze [ppmV]	Konzentration [ppmV]
100-80-1	1-Methyl-3-vinylbenzol	C_9H_{10}	0,3	12
106-99-0	1,3-Butadien	C_4H_6	0,016	1,5
107-12-0	Propionitril	C_3H_5N	1,1	18
108-88-3	Toluol	C_7H_8	0,2	17
556-64-9	Thiocyanäure-methylether	CH_3SCN	0,4	22
592-76-7	1-Hepten	C_7H_{14}	0,1	8,5
74-85-1	Ethylen	C_2H_4	0,00007	0,065
7664-41-7	Ammoniak	NH_3	0,00007	0,12
872-05-9	1-Decen	$C_{10}H_{20}$	0,8	190
98-01-1	2-Furaldehyd	$C_5H_4O_2$	0,2	24
115-11-7	Methylpropen	C_4H_8	0,02	7,2

Tabelle 3: Rauchgasbestandteile bei der Elektrokauterisation und deren berechnete Konzentration, CAS= Chemical Abstracts Service – Erfassungsnummer, ppmV= volumenbezogene parts per million

1.5.2 Eigenschaften der Indikatorsubstanz Toluol

Toluol (Synonym: Toluene, Methylbenzol, Methacid oder Phenylmethan), als Bestandteil von chirurgischen Rauchgasen, ist eine farblose, süßlich – scharf riechende, flüchtige Flüssigkeit.³⁶ Die nachfolgende Tabelle 4 listet die chemischen Eigenschaften von Toluol auf.

	Eigenschaften
Molare Masse	92,13 g·mol ⁻¹
Dichte	0,865 g/mL
Umwandlungsfaktor	1 ppm = 3,76 mg·m ⁻³
Siedepunkt	110,6°C
Schmelzpunkt	-95°C
Summenformel	C_7H_8

Tabelle 4: Eigenschaften Toluol³⁶

Toluol ist ubiquitär verbreitet. Die Aufnahme erfolgt überwiegend über die Atmung oder die Haut. Bei einer Ganzkörperradiographie von Mäusen mit C14 markiertem

Toluol wurde eine Verteilung und Anreicherung von Toluol insbesondere im Fettgewebe, Knochenmark, den Spinalnerven, Rückenmark und der weißen Substanz des Gehirns, sowie im Blut, in Leber und Niere festgestellt.^{36,37}

Toluol zeigt geringe orale Toxizität. Die Letale Dosis LD_{50} im Tierversuchsmodell liegt zwischen 2000 bis 7000 mg·kg⁻¹ KG (Körpergewicht).³⁶

Beim Menschen bewirkt die orale Exposition ein brennendes Gefühl im Oropharynx, Bauchschmerzen, Schwächegefühl sowie Übelkeit und Erbrechen. Zu den weiteren Symptomen gehören Schwindel, Kopfschmerzen und Engegefühl in der Brust. Bei schwerer Exposition kann es zu Benommenheit bis hin zu Bewusstlosigkeit, Tremor, flacher und schneller Atmung, Lähmung sowie ventrikulären Herzrhythmusstörungen führen.³⁶ Die meisten dieser Symptome weisen auf eine Intoxikation des zentralen Nervensystems hin. Bei einer akuten Inhalation von Toluol treten die gleichen Vergiftungserscheinungen auf, die im Zusammenhang bei der oralen Vergiftung beschrieben werden. Die Dämpfe können bei einer Konzentration ≥ 200 ppm zu Reizzungen der Konjunktiva sowie zu tränenden Augen führen. Zudem bemerkte von Oettingen et al. verlangsamte Pupillenreflexe und eine Weitstellung der Pupillen bei einer Exposition ≥ 200 ppm.³⁸ Bei der Anwendung auf Ratten, wurde eine leichte Irritation der Konjunktiva, jedoch keine Verletzung der Hornhaut festgestellt.

Auf der Haut kann es aufgrund der entfettenden Wirkung des Toluols zu Reizzungen und Schädigungen kommen. So konnte bei wiederholter Anwendung auf der Haut von Hasen eine Reizung im Bereich der Ohren und dem Körper der Tiere festgestellt werden.³⁶

Toluol kann Auswirkungen auf Bestandteile im Blut haben. So wurde in einem Tierversuch an weiblichen Ratten, welche einer Toluolexposition von 100 - 300 ppm ausgesetzt waren, eine reduzierte Anzahl an Leukozyten und ein niedrigerer Hämatokrit- sowie ein niedrigerer mittlerer Hämoglobinspiegel beobachtet.^{39,40}

Toluol wird größtenteils über den Respirations- und Gastrointestinaltrakt und zu einem kleinen Teil über die Haut absorbiert. In einer Studie an Freiwilligen konnten Astrand et al. im arteriellen Blut innerhalb von 10 Sekunden nach Luftexposition von 100 und 200 ppm Toluol nachweisen. Der Toluolspiegel stieg in den ersten Minuten schnell an und befand sich nach 20 – 30 Minuten im Gleichgewicht. Dabei wurde ein Toluolspiegel von 1 bzw. 2 µg ml⁻¹ im Blut der Testpersonen festgestellt.⁴¹ Es konnte

weder im „*in vitro*“ – Modell noch bei Menschen oder in Tierversuchen eine Kanzerogenität von Toluol nachgewiesen werden.⁴² Das National Toxicology Program (NTP) berichtet, dass nicht-neoplastische oder neoplastische Schädigungen an Mäusen und Ratten nicht signifikant erhöht sind.⁴³ Die Elimination von Toluol erfolgt in drei Phasen. Initial wird es über die Lunge (2 – 9 Minuten), dann im Blut (22 – 120 Minuten) und anschließend wieder über die Lunge (3 – 90 Stunden) eliminiert.³⁷ Tierexperimentell zeigte reines Toluol kein genotoxisches Potenzial.³⁶

1.5.3 Auswirkungen des chirurgischen Rauches auf Wundblut

Um eine erhöhte Exposition des Personals während chirurgischer Eingriffe zu vermeiden, wird der entstandene Rauch intraoperativ abgesaugt. Bei der Anwendung von MAT gelangt der Rauch über die Saugleitung in das Reservoir. Dort besteht die Gefahr einer Durchmischung des Wundblutes mit den oben genannten Schadstoffen. Eine mögliche Gefährdung des Patienten durch eine Retransfusion dieses Wundblutes wurde bisher nicht weitergehend untersucht. Zudem ist unklar, ob diese Schadstoffe durch die MAT-Geräte ausreichend entfernt werden. Die nachfolgende Abbildung 2 zeigt das intraoperative Absaugen von chirurgischem Rauch mittels eines MAT-Saugers.



Abbildung 2: Intraoperatives Absaugen von chirurgischem Rauch mittels MAT-Sauger

1.6 Funktionsweise von Autotransfusionsgeräten

Grundsätzlich wird zwischen zwei verschiedenen Systemen der maschinellen Autotransfusion differenziert, welche sich durch die Art ihrer Blutseparationssysteme (diskontinuierliche und kontinuierliche Systeme) unterscheiden. Diskontinuierliche Systeme umfassen die Glockenzentrifuge (z.B. Latham-Glocke) bei den Autotransfusionsgeräten XTRA von Liva Nova (Mirandola, Italien), Cell Saver Elite von Haemonetics (Braintree, USA) sowie autoLog von Medtronic (Dublin, Irland). Die Durchflusszentrifuge beim Autotransfusiongerät C.A.T.S Plus von Fresenius (Bad Homburg, Deutschland) stellt ein kontinuierliches System dar. Der Ablauf bei der maschinellen Autotransfusion wird in den folgenden Abschnitten erläutert.

1.6.1 Sammeln des Wundblutes

Das Wundblut wird abhängig vom Einsatz der MAT entweder aus dem Operationsfeld, bzw. dem extrakorporalen Kreislauf oder beim postoperativen Einsatz, den Drainageanschlüssen entnommen. Es wird antikoaguliert in einem, zuvor mit mindestens 200 mL Antikoagulationslösung gespültem, Reservoir gesammelt. Das Reservoir enthält einen Filter mit einer Porengröße von 40 – 170 µm, um feste Bestandteile herauszufiltern und das gesammelte Blut zu entschäumen. Um einen Aufbereitungsprozess beginnen zu können, muss im Reservoir, je nach Wundbluthämatokrit, die drei- bis vierfache Menge des Glockenvolumens an Wundblut gesammelt werden, um eine ausreichende Füllung der verwendeten Latham-Glocke zu erreichen. Meist wird eine Heparin-Natriumchlorid-Lösung in einer Dosierung von 25.000 – 30.000 IE in 1000 mL Natriumchlorid-Lösung 0,9 % (NaCl), zur Antikoagulation verwendet.⁴⁴ Bei Patienten mit einer heparininduzierten Thrombozytopenie Typ II kann zur Antikoagulation Zitrat oder eine „Acid-citrate-dextrose“-Lösung (ACD) verwendet werden.

Zum Absaugen des Wundblutes aus dem Operationsgebiet, wird ein Vakuum verwendet.⁴⁴ Der Aufbau des Reservoirs wird in der nachfolgenden Abbildung 3 gezeigt.

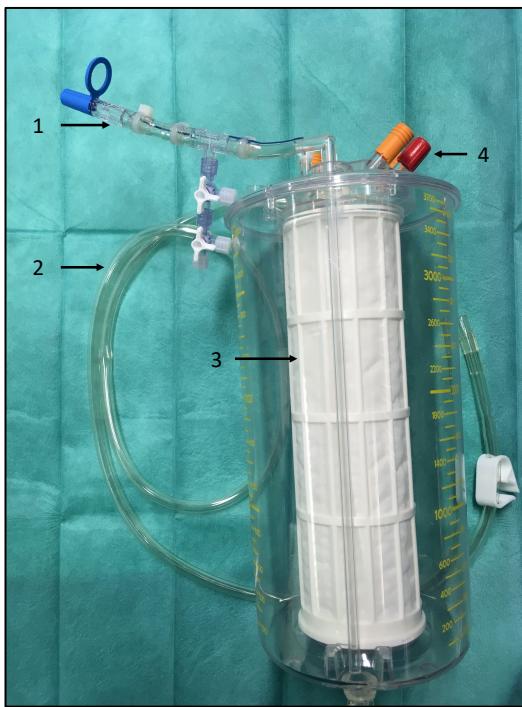


Abbildung 3: Reservoir, 1 = Probenentnahme,
2 = Vakuumschlauch, 3 = Filter, 4 = Anschluss Saugleitung

1.6.2 Diskontinuierliche maschinelle Autotransfusion (Latham-Glocke)

Bei dem diskontinuierlichen System erfolgt das Füllen, Waschen und Leeren der Latham-Zentrifugenglocke nicht simultan, sondern in drei aufeinanderfolgenden Phasen.

In der folgenden Abbildung 4 wird der Aufbau der Latham-Glocke gezeigt.

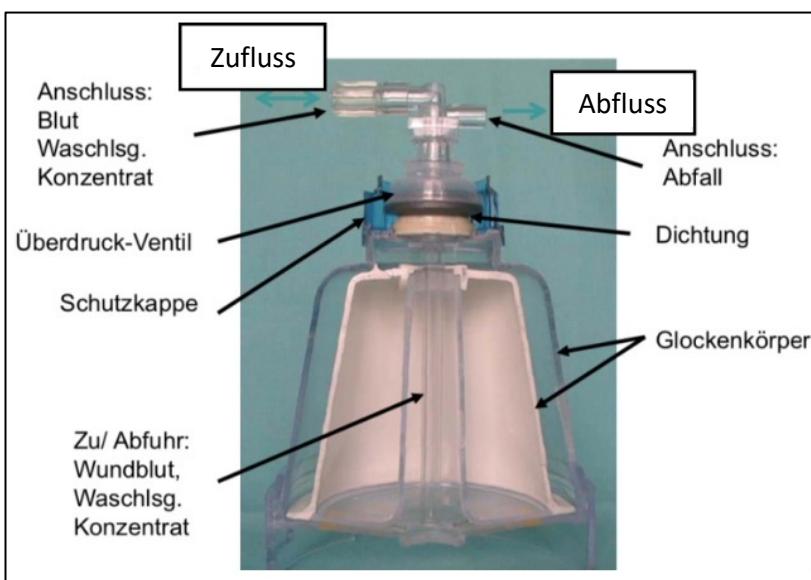


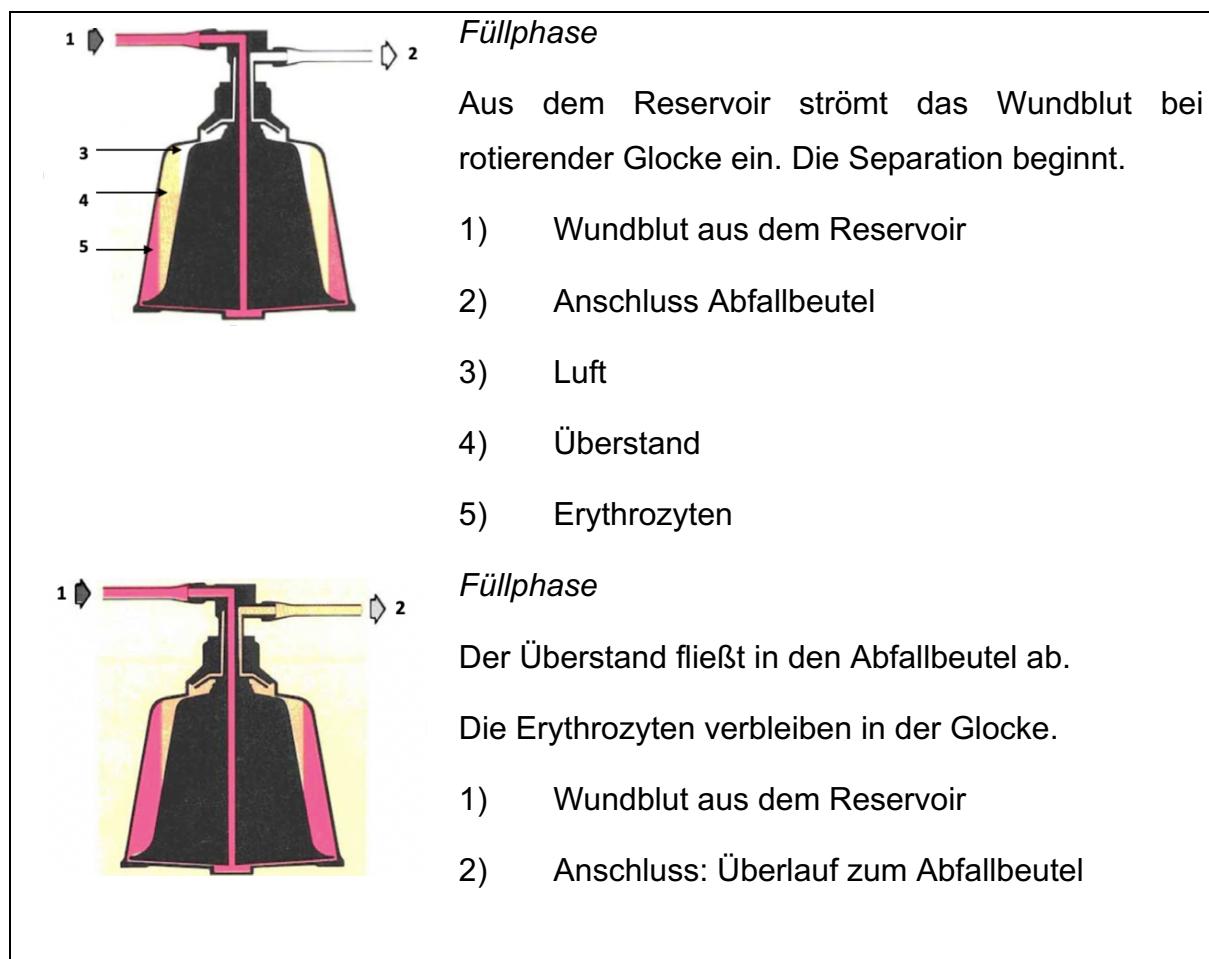
Abbildung 4: Querschnitt einer Latham-Glocke

Das Wundblut wird aus dem Operationsfeld abgesaugt und - mit Antikoagulantien behandelt - in einem Reservoir gesammelt. Die Aufbereitung beginnt mit der Anreicherung der Erythrozyten in der Glocke (Phase I: Füllphase). Dabei wird das Blutgemisch mit Hilfe einer Rollenpumpe aus dem Reservoir in die mit mehreren tausend Umdrehungen rotierende Latham-Glocke gepumpt und durch eine Röhre entlang der Rotationsachse radial zum Boden geleitet. Somit beginnt die erste Phase der Elimination gelöster Verunreinigungen. Die Blutbestandteile werden durch die einwirkende Zentrifugalkraft entsprechend ihrer spezifischen Masse getrennt. Die auf Teilchen wirkende Zentrifugalkraft steigt mit der Dichte und dem Volumen. Auf Erythrozyten, welche eine Dichte von $1,089 - 1,097 \frac{\text{g}}{\text{ml}}$ besitzen, wirkt demnach eine größere Kraft als auf das Plasma mit einer Dichte von $1,025 - 1,029 \frac{\text{g}}{\text{ml}}$. Die Erythrozyten werden somit vom Plasma getrennt. Mit einer Dichte von $1,065 \frac{\text{g}}{\text{ml}}$ sammelt sich der „buffy coat“, eine Schicht aus Thrombozyten und Leukozyten, welche die Trenngrenze zwischen Erythrozyten und Plasma bildet.⁴⁴ Die schwereren Erythrozyten sammeln sich durch die Rotation an der äußeren Gefäßwand, während unerwünschte Blutkomponenten sowie weitere Stoffe aufgrund ihres geringeren Gewichts durch das Zellsediment und die sich konisch nach oben hin verjüngender Form aufwärts wandern und ausfließen.

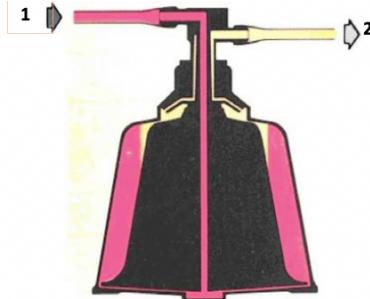
Während der Separation sammeln sich die Erythrozyten als schwerste Teilchen auf Grund ihrer größeren Dichte am Rand der Glocke an. Die Blutzellenschicht wird dicker und verdrängt den Überstand aus Plasma und „buffy coat“ zunächst in die Mitte der Glocke und schließlich aus der Glocke hinaus in den Abfallbeutel. Die Erythrozyten bleiben in der Glocke und der Füllvorgang ist beendet, sobald ein Detektor erkennt, dass der „buffy coat“ die obere Glockenschulter erreicht hat und mit Erythrozyten gefüllt ist. Dem schließt sich bei ausreichender Füllmenge automatisch der Waschvorgang an, bei welchem eine durch den Füllkanal einströmende Waschlösung in die rotierende Glocke gepumpt wird (Phase II: Waschphase). Die zweite Phase der Elimination gelöster Verunreinigungen beginnt und die Waschlösung durchströmt die Erythrozyten, wäscht dabei das Plasma mit den Kontaminationen in den Abfallbeutel und reduziert den verbliebenen Überstand. Durch den Waschvorgang kommt es zu einer Reduktion potenziell gefährdender Stoffe, dem Anteil der Antikoagulationslösung und freiem Hämoglobin auf ein Zwanzigstel bis zu einem Hundertstel.¹³ Dies entspricht

einer Elimination der Verunreinigungen von 95 - 99 %. Als Waschlösung wird vor allem NaCl-Lösung 0,9% empfohlen, da diese die Erythrozyten nicht schädigt. Wichtig ist, dass die Glocke ausreichend bis zur Glockenschulter mit Erythrozyten gefüllt ist, um eine optimale Auswaschrate zu erhalten. Bei unzureichend gefüllten Glocken, kann die Waschlösung die Erythrozyten nicht mehr durchströmen, sondern nur umströmen, was eine ausreichende Elimination der Abfallprodukte nicht gewährleistet. Durch ein voreingestelltes Volumen an Waschlösung, wird die Glocke nach Erreichen dessen angehalten und geleert (Phase III: Entleerungsphase). Mit Abschluss dieser letzten Phase ist der Aufbereitungsprozess beendet. Das gewaschene Erythrozytenkonzentrat wird in einen Retransfusionsbeutel gepumpt.

Die folgende Abbildung 5 stellt die Funktionsweise der Latham-Glocke schematisch dar.^{13,44}



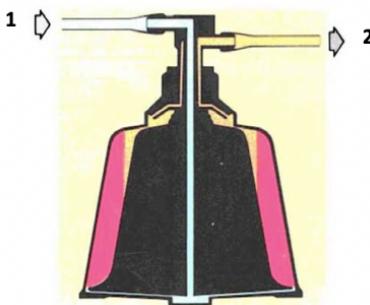
Füllphase – Abschluss



Die Separation erfolgt solange, bis die Trengrenze die Schulter der Glocke erreicht ist.

- 1) Wundblut aus dem Reservoir
- 2) Anschluss: Überstand zum Abfallbeutel

Waschphase

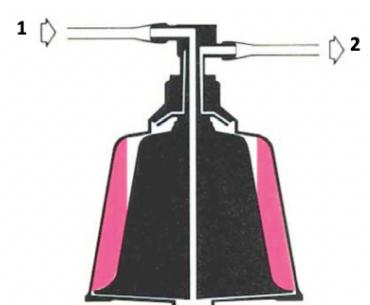


Anstelle des Wundblutes wird Kochsalzlösung als Waschlösung in die Glocke gepumpt und durchströmt die sedimentierten Erythrozyten.

Das Restplasma und die im Plasma gelösten Substanzen werden ausgewaschen.

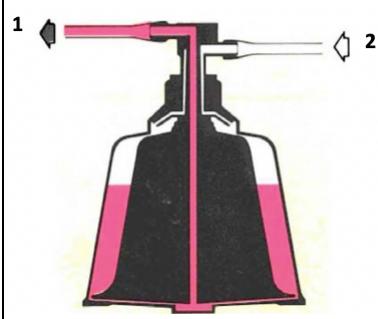
- 1) Kochsalzlösung aus dem Beutel für Waschlösung
- 2) Anschluss: Überstand + Waschlösung zum Abfallbeutel

Waschphase – Abschluss



Der abfließende Überstand klärt sich durch weiterhin andauernde Reduktion der Abfallstoffe auf.

- 1) Kochsalzlösung aus dem Beutel für Waschlösung
- 2) Anschluss: aufgeklärter Überstand zum Abfallbeutel



Entleerungsphase

Die rotierende Glocke wird gestoppt und die gewaschenen, konzentrierten Erythrozyten werden aus der Glocke in den Retransfusionsbeutel abgepumpt.

- 1) Anschluss: Erythrozytenkonzentrat zum Retransfusionsbeutel
- 2) Anschluss: Luft aus dem Abfallbeutel

Abbildung 5: Schematische Darstellung des Aufbereitungsprozesses mit einer Latham-Glocke

2 Ziel der Arbeit

Ausgangspunkt dieser Arbeit ist die Annahme, dass es bei den intraoperativ gewonnenen autologen Erythrozytenkonzentraten zu einer Kontamination durch chirurgischen Rauch kommt. Zur Überprüfung dieser Hypothese mussten zum einen Schadstoffe, die in chirurgischen Rauchgasen im Wundblut enthalten sind, nachgewiesen werden. Zum anderen sollte überprüft werden, ob sich einzelne Schadstoffe durch maschinelle Autotransfusion eliminieren lassen.

Zur Evaluation potenzieller Kontamination durch chirurgischen Rauch wurde ein in-vitro-Modell erstellt. Dabei wurde das in Rauchgasen bereits nachgewiesene Toluol als Indikatorsubstanz verwendet. In Vorversuchen erfolgte die Überprüfung der Gaschromatographie als geeignete Nachweismethode sowie die entsprechende Kalibration.

Ziel der Versuchsreihen mit Toluol war die Ermittlung der kleinstmöglichen Menge an Toluol, die dem Wundblut hinzugegeben werden muss, sodass ein Nachweis mittels des Gaschromatographen (GC) auch im gereinigten Produkt valide erfolgen konnte. Zur möglichst realitätsnahen Darstellung, wurde Testblut aus abgelaufen Erythrozytenkonzentraten und FFP hergestellt und mit NaCl-Lösung 0,9 % auf einen Hämatokritwert von 20 % verdünnt. Ziel der Versuchsreihen war es, die Eliminationsrate von Toluol durch das maschinelle Autotransfusionsgerät XTRA zu berechnen, sowie die verbliebene Menge Toluol im gewaschenen Wundblut (Produkt) zu quantifizieren.

Zur Simulation der klinischen Bedingungen wurde in einem weiteren experimentellen Modell mit Schweinehaut chirurgischer Rauch erzeugt und in ein MAT-Reservoir überführt. Ziel war es, die dabei entstandenen Verbrennungsprodukte mit dem GC zu ermitteln. Des Weiteren sollte überprüft werden, ob die erzeugten Schadstoffe durch die MAT reduziert bzw. eliminiert werden können.

In einem klinischen Versuchsabschnitt sollten der Nachweis und eine Quantifizierung einer möglichen Schadstoffbelastung des Wundblutes bei herzchirurgischen Eingriffen überprüft werden. Aus diesen Ergebnissen soll eine Empfehlung hinsichtlich des Umgangs mit chirurgischem Rauch im Operationssaal gegeben werden, um sowohl für den Patienten als auch für das OP-Personal größtmögliche

Sicherheit zu gewährleisten. Abbildung 6 fasst die drei Teiluntersuchungen und das Ziel der Arbeit zusammen.

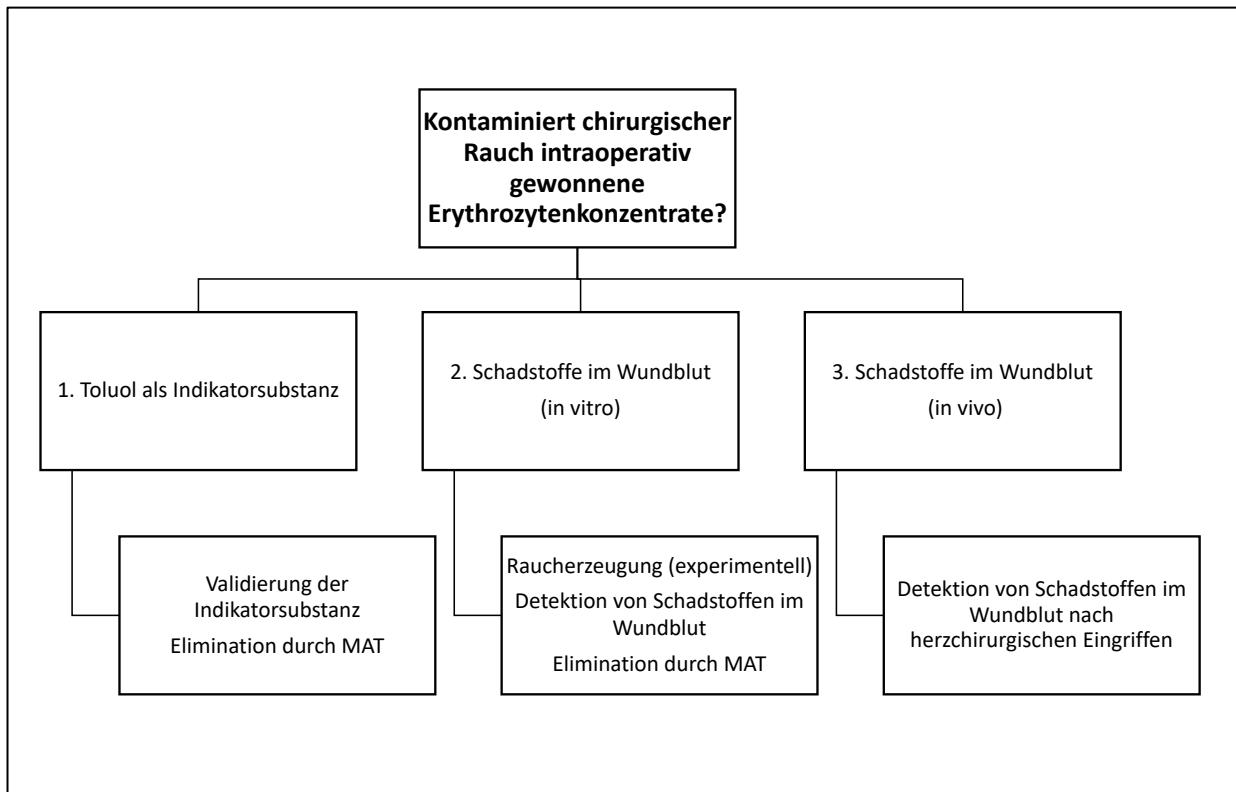


Abbildung 6: Ziele der Arbeit

3 Material und Methoden

3.1 Experimentelle Studie

Die experimentelle Studie gliedert sich in zwei Versuchsteile. Für die Durchführung wurde in beiden Versuchsteilen das MAT-Gerät XTRA der Firma Liva Nova (Mirandola, Italien) mit einer 175 mL-Glocke mit dem Programm P_{opt} verwendet. Dieses optimierte Programm wurde für eine effizientere Plasmaelimination, bei gleichzeitig höherem Produkthämatokrit entwickelt.

Die Wundblutproben sind im Labor (Leiter: Dr. M. Gruber) der Klinik für Anästhesiologie (Direktor: Prof. Dr. B. Graf) des Universitätsklinikums Regensburg aus abgelaufenen Erythrozytenkonzentraten und FFP hergestellt, verarbeitet und analysiert worden.

Im ersten Versuchsteil wurde die Elimination des Schadstoffes Toluol aus dem Wundblut untersucht. Dabei wurden fünf Versuchsreihen mit einer unterschiedlichen Anzahl an Durchläufen und zusätzlichen Spüldurchläufen durchgeführt (Tabelle 5) und Proben entnommen. Ein Spüldurchlauf umfasst das Durchspülen des Schlauchsystems und der Latham-Glocke mit NaCl-Lösung 0,9 %.

Versuchsreihe Toluol Nr.	Durchlauf insgesamt [n]	Durchlauf ohne Spülen [n=]	Durchlauf Spülen mit NaCl [n]
1	5	4	1
2	5	4	1
3	6	3	3
4	6	3	3
5	6	3	3*

Tabelle 5: *Spüldurchläufe, keine Probenentnahme

Abbildung 7 zeigt den Versuchsablauf eines MAT-Zyklus nach Zugabe der Indikatorsubstanz Toluol.

Als Edukt wird das vor Versuchsbeginn hergestellte rekonstruierte Wundblut mit einer definierten zugegebenen Menge an Toluol bezeichnet. Als Produkt wird das nach der MAT gewaschene Erythrozytenkonzentrat bezeichnet. Im Abfall befinden sich Blutplasma, Waschlösung und weitere Kontaminationen.

Die verschiedenen Entnahmestellen der Proben, sowie deren Anzahl ($n=x$) sind farblich gekennzeichnet.

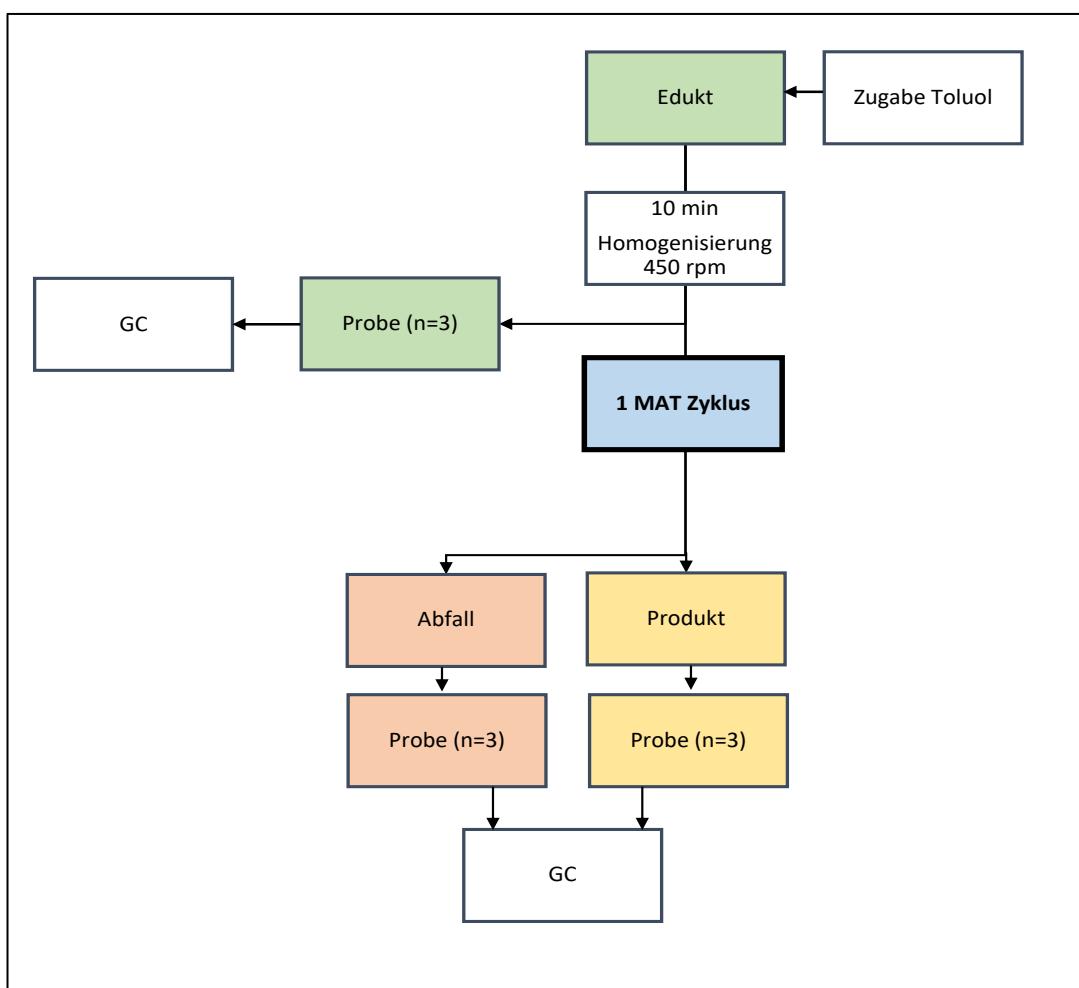


Abbildung 7: Toluol als Indikatorsubstanz, MAT= maschinelle Autotransfusion, GC= Gaschromatograph

Im zweiten Versuchsteil wurde chirurgischer Rauch mit einem Elektrokauter (Valleylab Force FX, Monopolar Cut 300W) auf einer Schweinehaut erzeugt und in einem Reservoir zusammen mit dem Wundblut gesammelt. Insgesamt wurden dabei fünf Versuchsreihen mit mehreren Durchläufen (Tabelle 6) durchgeführt und Proben entnommen.

Versuchsreihe Nr.	Durchlauf insgesamt [n]	Durchlauf ohne Waschen [n]	Durchlauf mit Waschen [n] *
1	3	3	0
2	4	3	1
3	4	3	1
4	4	3	1
5	4	3	1

Tabelle 6: *Reservoirinhalt wurde mit MAT- Gerät XTRA gewaschen

Für jede Versuchsreihe wurde jeweils eine Latham-Glocke verwendet.

Das zweite experimentelle Versuchsmodell ist in der nachfolgenden Abbildung 8 dargestellt. Die Reihenfolge ist in dieser Abbildung des Versuchsmodells durchnummeriert.

Als Edukt (1.) wird das vor Versuchsbeginn hergestellte rekonstruierte Wundblut bezeichnet. Das Primingvolumen (2.) beschreibt das Volumen, welches initial vom Edukt entnommen und in das Reservoir (4.) mit Hilfe eines chirurgischen Saugers überführt wurde. Das Kauterisieren der Schweinehaut (3.) erfolgte mit einem monopolaren chirurgischen Elektromesser. Es wurde zu unterschiedlichen Zeitpunkten (t) eine definierte Menge an Wundblut der kauterisierten Schweinehaut (3.) zugeführt und anschließend Proben aus dem Reservoir entnommen (grau gekennzeichnet). In einem abschließenden MAT-Zyklus (5.) wurde der Reservoirinhalt aufbereitet und Proben entnommen. Die Probenentnahmestellen sowie deren Anzahl ($n=x$) sind farblich gekennzeichnet.

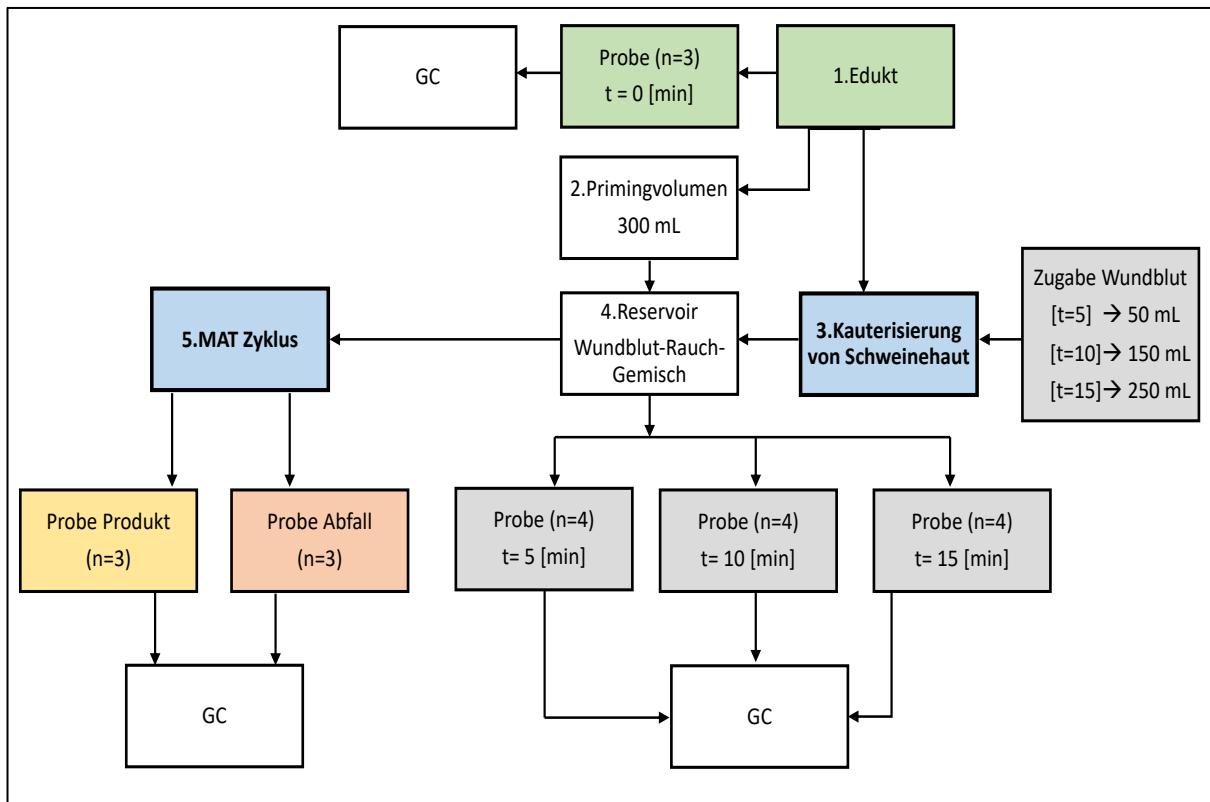


Abbildung 8: Schadstoffe im Wundblut *in vitro*

3.1.1 Funktionsweise des Gaschromatographen (GC)

Für alle Versuchsreihen der klinischen und experimentellen Studie, erfolgte die Verarbeitung und Auswertung der Proben im GC Agilent Technologies 7820 A GC System.

Die Gaschromatografie ist ein Verfahren zur Trennung eines Stoffgemisches in seine einzelnen Bestandteile. Um die Komponenten eines Stoffgemisches mit Hilfe eines GC zu trennen und zu identifizieren, sind drei Hauptschritte nötig.⁴⁵

1. Injektion einer Probe in den GC (Einlass)
2. Trennung der Probe in einzelne Komponenten (Säule, Ofen)
3. Detektion der Zusammensetzung der Probe (Detektor)

Im Inneren eines temperaturgesteuerten Ofens befinden sich die GC-Säulen. Ein Ende einer Säule befindet sich am Einlass, das andere Ende einer Säule befindet sich am Detektor. Die Säulen variieren in ihrem Durchmesser, der Länge und der Innenbeschichtung. Dabei ist jede Säule für die Verwendung unterschiedlicher Substanzen konzipiert.

Während die injizierte Probe die Säule durchläuft, wird sie in einzelne Substanzen getrennt.

Das Vorhandensein von Substanzen wird durch den Detektor erkannt, wenn diese die Säule verlassen.

Beim Eindringen einer Substanz in den Detektor wird ein elektrisches Signal im Verhältnis zu der erkannten Substanzmenge erzeugt. Dieses wird an ein Datenanalysesystem gesendet – Agilent OpenLAB CDS ChemStation Edition – wo es als Peak in einem Chromatogramm dargestellt wird.

Für jede Analyseart muss eine besondere Methode entwickelt werden, da jeder Probentyp im GC unterschiedlich reagiert und z.B. höhere Ofentemperaturen einen geringeren Gasdruck oder einen anderen Detektor erfordert. Eine Methode bezeichnet eine Gruppe von Einstellungen, welche für die Analyse von einer bestimmten Probe notwendig ist.

Bei der vorliegenden Arbeit wurde ein Flammenionisationsdetektor mit einer 30 m x 0,53 mm langen Säule (DB624) der Firma J&W Scientific und als Trägergas Helium verwendet.⁴⁵

3.1.2 Kalibration GC und Interner Standard (IS) für die Indikatorsubstanz Toluol

Für die Durchführung der Vorversuche und Versuchsreihen, wurde vorab eine Kalibration des GC durchgeführt. Dazu wurde zunächst ein Interner Standard angesetzt, welcher für alle Vorversuche und Versuchsreihen verwendet wurde.

Jede Woche wurde während der experimentellen Arbeiten im Labor ein neuer IS aus Methoxyethanol und Xylol (1) für die Auswertung der Wundblutproben im GC hergestellt. Zur Herstellung wurden 10 mL Methoxyethanol in ein verschließbares 10 mL-Reagenzglas mittels einer Einmalspritze abgefüllt. Dann wurde zunächst das Leergewicht eines weiteren 10 mL-Reagenzglases mit Hilfe einer Präzisionswaage ermittelt. Danach wurde das Gewicht des mit Methoxyethanol gefüllten Reagenzglas (= Leergewicht Reagenzglas + Methoxyethanol) ermittelt. Es folgte die Zugabe von 50 µL Xylol mittels einer 100 µL-Hamiltonspritze in das Reagenzglas mit Methoxyethanol und eine Bestimmung des Gewichts (= Leergewicht Reagenzglas + Methoxyethanol + Xylol). Als Probenmedium für die Kalibration des GC wurde Wasser verwendet. Für die Durchführung der Vorversuche und Versuchsreihen wurde rekonstruiertes Wundblut als Probenmedium verwendet. Zudem wurde eine analytische Stammlösung (2) hergestellt.

Dabei wurde zunächst 10 mL Methoxyethanol in ein verschließbares 10 mL Reagenzglas mittels einer Einmalspritze gegeben. Diesem wurden dann 50 µL Toluol, mit einer 100 µL-Hamiltonspritze aufgezogen, hinzugegeben.

Nach Fertigstellung des IS und der analytischen Stammlösung, wurden sieben Kalibrationsmischungen (A-G) hergestellt und in jeweils 20 mL-Headspacegläser gefüllt. Die nachfolgende Tabelle 7 zeigt die Zusammensetzung und Volumina der Mischungen, die für die Kalibration verwendet wurden.

Kalibration	Probenmedium	Toluol/ Methoxy- ethanol	Methoxy- ethanol	Xylool/ Methoxy- ethanol
	Wasser	(2)		(1)
	µL	µL	µL	µL
A	1500	1	49	10
B	1500	5	45	10
C	1500	10	40	10
D	1500	25	25	10
E	1500	50	0	10
F	1500	10	0	0
G	1500	0	0	10

Tabelle 7: Kalibationsmischung für die Kalibration GC, (1)= Interner Standard, (2)= analytische Stammlösung

Die Mischungen (A-G) wurden dann für 20 Minuten in ein Wasserbad bei 37 °C gestellt und geschüttelt. Jede Mischung wurde nacheinander aus dem Wasserbad entnommen und ein Probenvolumen von 50 µL mittels einer 100 µL-Hamiltonspritze in den GC injiziert. Der Durchlauf einer Probe dauerte 14 Minuten. Für jede Probeninjektion wurde dieselbe Hamiltonspritze verwendet. Nach Applikation der Probe wurde die Hamiltonspritze fünfmal mit Raumluft auf- und abgezogen und somit zur Aufnahme für eine neue Probe vorbereitet. Während die Proben im GC verarbeitet wurden, wurde die Hamiltonspritze warm gelagert. Nachdem alle Proben zur Kalibration im GC verarbeitet wurden, erfolgte eine Auswertung. Die nachfolgende Tabelle 8 führt die Menge der Indikatorsubstanz Toluol auf.

			Toluol	Xylol1	Xylol2	Xylol3
Kalibration	Zielgas [nmol]	Standard [nmol]	Amount [nmol]	Amount [nmol]		
A	47,6	382,6	28	337	330	383
B	238	382,6	213	351	338	383
C	476	382,6	400	342	334	383
D	1190	382,6	905	331	329	383
E	2379	382,6	2164	347	338	383
F	476	0	0	0	0	0
G	0	382,6	0	346	334	383

Tabelle 8: Kalibration Menge an Toluol

Es wurde den Proben der IS Xylol und Methoxyethanol hinzugegeben und in vorheriger Kalibrierung die Retentionszeiten der Stoffe ermittelt, bei welchem sich im GC Peaks zeigen.

Nach der Kalibration des GC, wurde eine Nachweisgrenze für die Menge an Toluol festgelegt, die mit Hilfe des GC noch quantifizierbar ist. Bei einem avisierten Probenvolumen von 1,5 mL (V) Testblut in einem 20 mL-Headspaceglas, ergab sich für die angenommene Nachweisgrenze eine erforderliche Stoffmenge (n) von 45 nmol Toluol. Dies entspricht einer Konzentration (c) von 30 nmol/mL (Gleichung 4).

$$c = \frac{n}{V} = \frac{45 \text{ nmol}}{1,5 \text{ mL}} = 30 \frac{\text{nmol}}{\text{mL}}$$

Gleichung 4: Berechnung Konzentration (c) Toluol

Unter der Annahme einer höchstmöglichen Elimination des Toluols von 99 % durch die MAT, ist eine um den Faktor 100 höhere Konzentration von Toluol im Testblut erforderlich. Im Testblut müssen also 3000 nmol/mL Toluol vorhanden sein (Gleichung 5).

Dies bedeutet:

$$30 \frac{\text{nmol}}{\text{mL}} * 100 = 3000 \frac{\text{nmol}}{\text{mL}} = 3000 \frac{\mu\text{mol}}{\text{L}} = 3 \frac{\text{mmol}}{\text{L}}$$

Gleichung 5: Konzentration Toluol im Testblut bei einer angenommenen Elimination von 99%

Ausgehend von 3 mmol/L Toluol ergibt sich durch die oben aufgeführten molaren Masse (M) (Tabelle 4) die benötigte Massenkonzentration (β). Die Berechnung der Massenkonzentration ist in der nachfolgenden Gleichung 6 aufgeführt.

$$\beta = c * M$$

$$\beta = 3 \frac{\text{mmol}}{\text{L}} * 92 \frac{\text{mg}}{\text{mmol}} = 276 \frac{\text{mg}}{\text{L}}$$

Gleichung 6: Massenkonzentration Toluol

Aus der errechneten Masse an Toluol für 1 L Testblut (C) und der Dichte (ρ) von Toluol ergibt sich das benötigte Volumen von Toluol was mit Testblut auf 1 L Gesamtvolumen aufgefüllt werden muss (Gleichung 7).

$$V = \frac{276 \text{ mg}}{0,865 \text{ mg}/\mu\text{L}} = 319 \mu\text{L}$$

Gleichung 7: Volumen Toluol auf einen Liter Wundblut

Umgerechnet auf ein angenommenes Testblutvolumen von insgesamt 1,5 L die mit Toluol versetzt werden müssen, werden also mindestens 0,41 mL Toluol benötigt. Tatsächlich wurde für die Vorversuche 1 mL Toluol pro Liter Testblutvolumen verwendet.

3.2 Experimentelle Studie Toluol

Für den experimentellen Studienabschnitt mit Toluol wurde rekonstruiertes Wundblut verwendet. In den vorangegangenen Vorversuchen wurden abgelaufene EKs und FFPs aus dem Blutdepot des Instituts für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin verwendet. Dies wurde von der Ethikkommission der Universität Regensburg (Nummer 17-522-101) genehmigt. Für die Versuchsreihen wurde Wundblut aus Konserven (1:1 EK und FFP) rekonstruiert. Nach sorgfältiger Durchmischung wurde der Hämatokrit (EK+FFP) mit Hilfe einer Hämatokritzentrifuge (ALC centrifuge 4203®, Cologno Monzese, Italien) ermittelt. Um die klinische Situation zu simulieren, wurde das rekonstruierte Blut mit NaCl-Lösung 0,9 % auf einen Hämatokritwert (EK+FFP+NaCl) von 20 % verdünnt.

Dieser wird wie folgt ermittelt (Gleichung 8):

1. Bestimmung des Zellvolumens im Ausgangsmaterial

$$\text{Zellvolumen [mL]} = (\text{EK+FFP [mL]}) \cdot (\text{Hkt [%]} \text{ EK+FFP})$$

Gleichung 8: Zellvolumen im Ausgangsmaterial

2. Bestimmung des Gesamtvolumens im Ausgangsmaterial (EK+FFP+NaCl)

(Gleichung 9):

$$\text{Gesamtvolumen [mL]} = \frac{100 \% [\text{Hkt}] \cdot \text{Zellvolumen [mL]}}{20 \% [\text{Ziel-Hkt}]}$$

Gleichung 9: Bestimmung Gesamtvolumen im Ausgangsmaterial

Aus der Differenz des ermittelten Gesamtvolumens und des Ausgangsvolumens lässt sich das Volumen an NaCl-Lösung bestimmen, welches hinzugegeben werden muss, um einen Ziel-Hämatokrit von 20 % zu erzielen. Das Gesamtvolumen des Edukts wurde auf 1000 mL festgelegt.

3.2.1 Vorversuche

In den Vorversuchen wurde nach Zugabe des Toluols zum rekonstruierten Wundblut (Edukt) für eine Dauer von fünf Minuten in einem verschließbaren Becherglas bei 250 rpm mit einem Magnetrührer homogenisiert. Für die folgenden Versuchsreihen wurde die Dauer der Homogenisierung auf eine Dauer von zehn Minuten bei 450 rpm optimiert. Daraufhin wurden 5 mL des Edukts entnommen und zu je 1,5 mL auf drei luftdicht verschließbare 20 mL Headspacegläser verteilt. Der Rest wurde verworfen.

In die Headspacegläser wurden vorher 10 µL der Stammlösung (IS) und 50 µL Methoxyethanol appliziert.

Unmittelbar nach der ersten Probenentnahme, wurde mit der Aufbereitung begonnen. Das Wundblut wurde während des gesamten Aufbereitungsprozesses ununterbrochen durchmischt und die Leitung, welche üblicherweise am Reservoir angeschlossen ist, direkt in das Becherglas mit dem rekonstruierten Wundblut geführt. Die Öffnung des Becherglases wurde mit einem Parafilm abgedeckt. Die nachfolgende Abbildung 9 zeigt den Aufbau des rekonstruierten Wundblutes im Becherglas.



Abbildung 9: Rekonstruiertes Wundblut, 1= Parafilm, 2= Wundblut + Toluol, 3= Magnetrührer, 4= Leitung zum MAT Gerät

Die Saugleitung im Wundblut wurde immer in Richtung Boden des Becherglases platziert.

Die Latham-Glocke wurde nach jedem Aufbereitungsprozess drei Mal mittels einer im Gerät hinterlegten Programmoption geleert. Nach jedem Aufbereitungsdurchlauf wurde der gesamte Inhalt aus dem Produktbeutel und dem Abfallbeutel in separate Messzylinder überführt, durch fünfmaliges manuelles Schwenken der Messzylinder noch einmal homogenisiert und die Volumina dokumentiert. Es folgte die Probenentnahme, wie oben beschrieben, von jeweils 5 mL des Produkts und des

Abfalls. Die verarbeiteten Volumina, welche das MAT-Gerät ermittelt hat, wurden ebenfalls dokumentiert.

Die nachfolgende Tabelle 9 zeigt die Übersicht der Vorversuche.

Vorversuch Nr.	Durchlauf insgesamt [n]	Zugabe Toluol [μL]	Probenanzahl insgesamt [n]	Besondere Maßnahmen
1	1	1000	9	-
2	2	1000	18	2 MAT-Zyklen mit 2 Glockensets
3	1	1000	9	Proben doppelt gemessen
4	1	50	9	Zugabe Toluol reduziert

Tabelle 9: Übersicht Vorversuche Toluol

Bei der Durchführung des ersten und zweiten Vorversuchs wurde das Wundblut aus abgelaufenen EKs und NaCl-Lösung 0,9 % rekonstruiert. Im dritten und vierten Vorversuch wurde das Wundblut aus abgelaufenen EKs, FFP und NaCl-Lösung 0,9 % rekonstruiert. Bei allen Vorversuchen wurde das Testblut auf einen Hämatokritwert von 20 % verdünnt. Die Probenanzahl für alle Vorversuche wurde auf n=9 festgelegt. Diese umfasst jeweils drei Proben aus dem Edukt, drei Proben aus dem Produkt und drei Proben aus dem Abfall. Die Verweildauer der Proben im Wasserbad wurde auf 20 Minuten bei einer Temperatur von 37 °C festgelegt. Im Vorversuch Nr. 2 wurden zwei MAT Zyklen durchgeführt. Dabei wurde für jeden Zyklus neues Testblut rekonstruiert und ein neues Glockenset verwendet.

Im dritten Vorversuch wurden die Proben (n=9) zweimal im GC gemessen und ausgewertet. Die Zeitspanne zwischen der ersten Messung und der zweiten Messung der Proben im GC betrug 120 Minuten. Bei der Messung der Proben im GC wurde immer mit denen des Edukts begonnen, dann folgten die Proben aus Abfall und dann aus dem Produkt. Im vierten Vorversuch wurde die Menge an Toluol auf 50 μL reduziert. Vor Beginn der Versuchsreihen wurde erneut eine Kalibration des GC durchgeführt.

3.2.2 Durchführung der Versuchsreihen

Für die Versuchsreihen wurde das Wundblut aus abgelaufenen EKs und FFPs im Verhältnis 1:1 rekonstruiert und wie in den Vorversuchen auf einen Hämatokritwert von 20 % mit NaCl-Lösung 0,9 % verdünnt. Der Aufbereitungsprozess mit dem MAT-Gerät XTRA und die Probenentnahme wurde wie in den Vorversuchen durchgeführt. Jede Versuchsreihe beinhaltete mehrere Durchläufe. Bei jeder Versuchsreihe wurde die Menge an Toluol pro Aufbereitungsdurchlauf erhöht, sodass im ersten Durchlauf 5 µL, im zweiten 15 µL und im dritten Durchlauf 50 µL Toluol hinzugegeben wurden (Tabelle 10).

Versuchsreihe Nr.	Durchlauf insgesamt [n]	Zugabe Toluol [µL]	Durchlauf Spülen mit NaCl-Lösung 0,9 % [n]
1	5	5	-
		15	-
		50	1
		0	-
2	5	5	-
		15	-
		50	1
		0	-
3	6	5	1
		15	1
		50	1
4	6	5	1
		15	1
		50	1
5	5	5	1
		15	1
		50	0

Tabelle 10: Übersicht der Versuchsreihen Toluol

In den ersten beiden Versuchsreihen wurde nach der Aufbereitung mit 50 µL Toluolzugabe eine Spülung des Schlauchsystems und der Latham-Glocke mit 500 mL NaCl-Lösung 0,9 % durchgeführt. Anschließend erfolgte ein weiterer Durchlauf ohne Zugabe von Toluol (0 µL) mit einem aus abgelaufenen EKs und

NaCl-Lösung rekonstruierten Wundblut. Nach diesem Durchlauf wurden Proben aus Edukt, Produkt und Abfallgefäß entnommen. Für die folgenden Versuchsreihen, wurde nach jedem Aufbereitungsdurchlauf ein Spülvorgang mit NaCl – Lösung 0,9 % durchgeführt und die Volumina dokumentiert. Die nachfolgende Abbildung 10 zeigt den Versuchsaufbau.



Abbildung 10: Versuchsaufbau XTRA, 1= Produktbeutel, 2= Waschlösung NaCl 0,9 %, 3= Wundblut, 4= Abfallbeutel, 5= Latham- Glocke

Insgesamt wurden in jedem Durchlauf neun Proben, drei aus dem Edukt, drei aus dem Produktgefäß und drei aus dem Abfallgefäß entnommen. In den Versuchsreihen 1 und 2, wurde jeweils eine Probe des Edukts, des Produkts und des Abfalls, ohne Zugabe des internen Standards (IS) hergestellt.

In der Versuchsreihe 3 wurden nach jedem Spülvorgang mit NaCl-Lösung zusätzlich eine Probe aus dem Produktbeutel und eine Probe aus dem Abfallbeutel entnommen, wodurch sich hier eine Gesamtanzahl von elf Proben pro Durchlauf ergab. In den Versuchsreihen 4 und 5 wurden keine Proben des Spülvorgangs entnommen.

3.2.3 Probenentnahme und -verarbeitung

Die Blutproben wurden nach der Entnahme für 20 Minuten bei 37 °C in ein Wasserbad gestellt und währenddessen leicht geschwenkt. Jede Probe wurde mit einer 100 µL-Hamiltonspritze in den GC appliziert. Für alle Proben wurde dieselbe Hamiltonspritze verwendet. Um eine Kontamination durch eine vorherige Probe zu verhindern und eine einheitliche Probenaufnahme sicherzustellen, wurde die Hamiltonspritze vor jeder Probenaufnahme fünf Mal vollständig auf- und abgezogen. Zudem wurde sie zwischen den einzelnen Proben aufgewärmt gelagert, um ein Kondensieren von Toluol an kalten Spritzeninnenseiten zu verhindern. Danach wurden 50 µL aus dem Headspaceprobengefäß aufgenommen und in den GC appliziert. Die Proben wurden nacheinander aus dem Wasserbad entnommen. Erst nach vollständigem Durchlauf einer Probe im GC, wurde die nächste Probe aus dem Wasserbad entnommen und verarbeitet. Ein Durchlauf im GC dauerte 14 Minuten. Die Reihenfolge der Probenauswertung begann mit der kleinsten Menge an Toluolzugabe (5 µL).

3.2.4 Verhalten von Toluol im Wundblut

Um zu untersuchen, ob Toluol an Bestandteilen des Wundblutes gebunden bleibt, wurde ein weiterer Versuch (n=2) zuzüglich der Versuchsreihen durchgeführt. Dazu wurde wieder aus abgelaufenen EKs und FFP (1:1) Wundblut rekonstruiert und mit NaCl-Lösung 0,9 % auf einen Hämatokritwert von 20 % verdünnt. Es wurden sechs Verdünnungsreihen (A-F) mit einem Gesamtvolumen von jeweils 10 mL in verschließbaren Glasröhrchen hergestellt. Diesen wurde jeweils 50 µL einer Konzentration von 94 nmol/µL Toluol hinzugegeben. Aus jeder Verdünnungsreihe sind dann drei Proben zu je 1,5 mL für die Auswertung im GC entnommen und in 20 mL Headspacegläsern abgefüllt und luftdicht verschlossen worden. Insgesamt wurden 18 Proben hergestellt und im GC gemessen. Die Zusammensetzung der Verdünnungsreihen zeigt sich wie folgt:

- A 10 mL Wasser + 50 µL Toluol Verdünnung
- B 9 mL Wasser + 1 mL Wundblut + 50 µL Toluol Verdünnung
- C 7 mL Wasser + 3 mL Wundblut + 50 µL Toluol Verdünnung
- D 4 mL Wasser + 6 mL Wundblut + 50 µL Toluol Verdünnung

E 1 mL Wasser + 9 mL Wundblut + 50 µL Toluol Verdünnung

F 10 mL Wundblut + 50 µL Toluol Verdünnung

Der Versuch wurde ein zweites Mal wiederholt und dabei das Volumen in den einzelnen Verdünnungsreihen (A-F) jeweils um den Faktor 10 erhöht. Die Menge an zugegebenem Toluol mit einer Konzentration von 940 nmol/µL blieb bei 50 µL.

Die Probenansätze (A-F) in beiden Versuchen, wurden vor Probenentnahme jeweils 5 Minuten durch Rühren homogenisiert. Von den Probenansätzen wurden jeweils 1,5 mL entnommen und mit 50 µL Methoxyethanol und 10 µL Internem Standard in einem 20 mL-Headspaceglas gegeben und anschließend ins Wärmebad bei 37 °C und leichtem Schütteln für 20 Minuten gestellt. Danach wurden den Proben jeweils 50 µL aus dem Gasraum entnommen und in den GC injiziert.

3.2.5 Berechnung der Eliminationsrate

Die Eliminationsrate beschreibt die Entfernung aller plasmatisch gelösten Substanzen im Wundblut. Diese umfasst auch die Elimination potenzieller Schadstoffe wie z.B. das in den Versuchsreihen verwendete Toluol (Gleichung 10).

$$\text{Eliminationsrate} = 100 - 100 \cdot \frac{\text{Toluol} \left[\frac{\text{nmol}}{\text{L}} \right] \text{EK} \cdot \text{EK Vol} [\text{mL}] \cdot (1 - \text{Hkt} [\%] \text{EK} / 100)}{\text{Toluol} \left[\frac{\text{nmol}}{\text{L}} \right] \text{Edukt} \cdot \text{aufbereitetes Edukt} [\text{mL}] \cdot (1 - \text{Hkt} [\%] \text{Edukt} / 100)}$$

Gleichung 10: Eliminationsrate Toluol

EK Vol = Volumen des Erythrozytenkonzentrates (Produkt)

Hkt [%] EK = Hämatokrit im Erythrozytenkonzentrat (Produkt)

Hkt [%] Edukt = Hämatokrit im Wundblut (Edukt)

Toluol EK = Konzentration an Toluol im Erythrozytenkonzentrat (Produkt)

Toluol Edukt = Konzentration an Toluol im Wundblut (Edukt)

Aufbereitetes Edukt = Volumen des Wundblutes, welches vom MAT Gerät verarbeitet wurde

3.3 Experimentelle Rauchexposition Wundblut

Im zweiten experimentellen Versuchsteil wurde mit einem monopolaren Elektroskalpell durch das Schneiden in eine Schweinehaut Rauch erzeugt. Während des Vorgangs wurde der entstandene Rauch mit einem chirurgischen Sauger über eine Saugleitung in ein mit rekonstruiertem Wundblut vorgefüllten MAT-Reservoir überführt. Zu definierten Zeitpunkten wurden dann Proben aus dem Reservoir entnommen und mittels GC untersucht.

3.3.1 Vorversuche

Es wurden drei Vorversuche durchgeführt. Der Versuchsaufbau erfolgte mit abgelaufenen Erythrozytenkonzentraten, welche mit NaCl-Lösung 0,9 % auf einen Hämatokritwert von 20 % verdünnt wurden. Bei der Probenvorbereitung wurden verschiedene Zusammensetzungen der Proben zu definierten Zeitpunkten 5 Minuten, 10 Minuten und 15 Minuten untersucht.

Da laut Literatur Xylol nachweislich in chirurgischen Rauchgasen enthalten ist, wurde dies bei der Durchführung der Versuchsreihen nicht den Proben beigefügt.⁴⁶ Des Weiteren wurde eine Probe nur mit H₂O im GC untersucht, da es in den Wundblutproben ohne Zugabe von weiteren Stoffen (Leerproben) zu Peaks bei der Auswertung im GC gekommen war. Bei den Probenmessungen mit H₂O traten diese Peaks nicht auf. Somit konnte eine Kontamination der GC Säule ausgeschlossen werden. Mutmaßlich handelt es sich bei den Stoffen um im Blut gelöste Substanzen.

Im Rahmen der Vorversuche wurde zudem untersucht, welche Blutvolumina erforderlich sind, um eine möglichst optimale Mischung von Blut und Rauch zu ermöglichen. Hierfür wurden Volumina von 19-300 mL zu den drei definierten Zeitpunkten (5 Minuten -10 Minuten -15 Minuten) verwendet (Tabelle 11). Des Weiteren wurde auch das Primingvolumen für die initiale Benetzung des Schlauchsystems von 100 mL auf 300 mL gesteigert. Die Volumina sind entsprechend gesteigert worden, um eine gute Durchmischung des Wundblutes mit dem Rauch im Reservoir erzielen zu können. Zudem sollte ein ausreichendes Füllvolumen für die Glocke des MAT-Gerätes zur Verfügung gestellt werden, um in den Versuchsreihen zusätzlich ein Waschen des Reservoirinhaltes durchführen zu können. Die elektrische Leistung des Elektrokauters wurde von den im

Operationssaal üblichen 30 Watt auf 60 Watt gesteigert, um eine ausreichende Rauchentwicklung für den experimentellen Versuchsaufbau zu erzeugen.

Die Länge der Saugleitung vom Sauger zum Reservoir wurde auf 60 cm festgelegt. Die Vorversuche wurden mit einem Wundblut aus NaCl-Lösung 0,9 % und EKs hergestellt. Bei den Versuchsreihen wurde, wie auch im ersten experimentellen Versuch, das rekonstruierte Wundblut mit EKs, FFPs und NaCl-Lösung erstellt. Die nachfolgende Tabelle 11 fasst den Aufbau der Vorversuche (VV) noch einmal zusammen.

VV Nr.	Kauterzeit [min]	Kauterstärke [Watt]	Probenanzahl total [n]	Priming- volumen [mL]	Kauterisiertes Volumen insgesamt [mL]	Zugabe WB [mL]
1			12		249	
	5	30	4	100	-	70
	10	30	4	0	-	60
	15	30	4	0	-	19
2			16		626	
	5	60	4+1*	200	-	40
	10	60	4+1*	0	-	150
	15	60	4+1*	0	-	236
			1**			
3			16		694	
	5	60	5	200	-	57
	10	60	5	0	-	137
	15	60	5	0	-	300
			1***			

Tabelle 11: Vorversuche Rauch, Primingvolumen= initial vom rekonstruierten Wundblut eingesaugtes Volumen vor Beginn des Kauterisierens, kauterisiertes Volumen= Volumen, welches während der Kauterzeit pro Versuch verarbeitet wurde, Zugabe WB= Zugabe rekonstruiertes Wundblut, 1*= nicht kauterisiertes Wundblut (Leerprobe), 1**= nicht kauterisiertes Wundblut (Leerprobe) + Methoxyethanol, 1***= Wasserprobe

3.3.2 Nachweis potentieller Schadstoffe anhand von Retentionszeiten

In einem weiteren Vorversuch wurde eine Analyse der Retentionszeiten im GC von weiteren potentiellen Schadstoffen in chirurgischen Rauchgasen untersucht. Dazu wurden unterschiedliche Substanzen mit Wasser verdünnt (1:1000) und ein Probenvolumen von 1,5 mL in ein 20 mL-Headspacegefäß überführt. Die Proben wurden für 20 Minuten ins Wärmebad bei 37 °C gestellt und geschüttelt. Anschließend wurden 10 µL mit einer Hamiltonspritze aufgenommen und in den GC injiziert. Die untersuchten Substanzen umfassen:

- Ethanol
- Methanol
- Ethylacetat
- Diethylether
- Acetonitril

3.3.3 Durchführung der Versuchsreihen

Bei diesem Versuchsteil wurden insgesamt fünf Versuchsreihen durchgeführt. Drei Versuchsreihen wurden unter Raumtemperatur durchgeführt, bei zwei weiteren war das Reservoir gekühlt. Das im Reservoir gesammelte Wundblut wurde bei vier Versuchsreihen (zweimal Raumtemperatur; zweimal Kühlung) mittels dem MAT-Gerät XTRA gewaschen. Das für die Versuche verwendete Wundblut wurde wie im Abschnitt Experimentelle Studie Toluol beschrieben hergestellt. Nach Herstellung des Wundbluts wurden 5 mL des Edukts entnommen und davon jeweils 1,5 mL auf drei Headspacegläser verteilt. Diese drei Proben waren die Leerproben. Verwendet wurde gefrorene Schweinehaut, welche vor Versuchsbeginn im Wasserbad bei 37 °C auf Raumtemperatur erwärmt wurde. Die nachfolgende Abbildung 11 veranschaulicht den Versuchsaufbau.

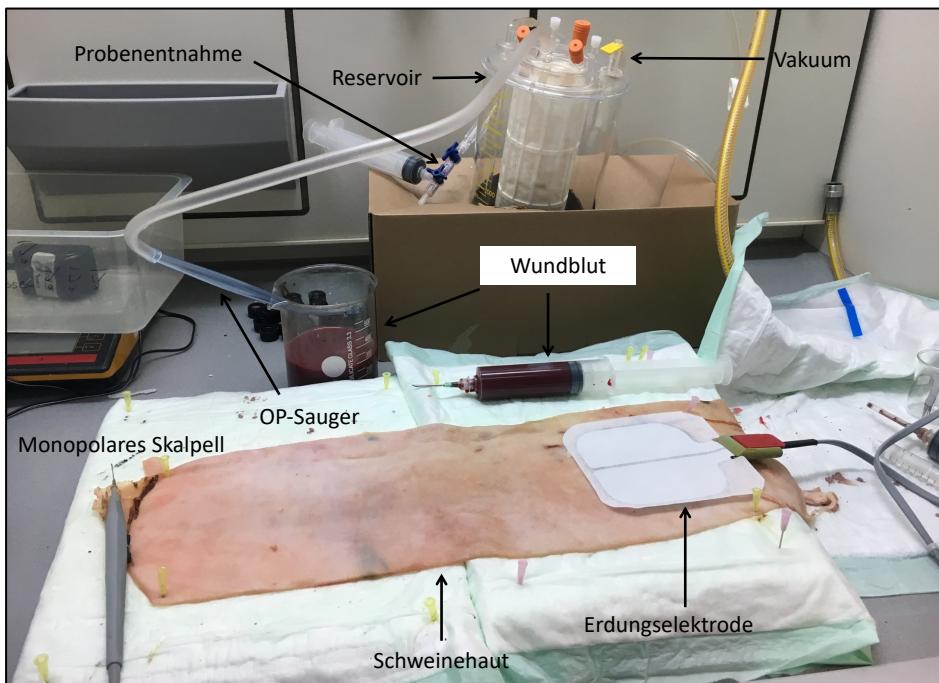


Abbildung 11: Versuchsaufbau Schweinehaut

Die Schweinehaut wurde auf Styropor fixiert und die Neutralelektrode des monopolaren chirurgischen Skalpells angeschlossen. Zur Verbesserung der Leitfähigkeit wurde die Elektrode mit NaCl-Lösung 0,9 % benetzt. An das Reservoir wurden eine Saugleitung zum chirurgischen Sauger und ein Probenentnahmeset (Y Stück) angeschlossen. Von dem hergestellten Wundblut wurden vor Versuchsbeginn 300 mL als Primingvolumen entnommen und in das Reservoir eingesaugt. Dadurch erfolgte eine initiale Benetzung des gesamten Schlauchsystems, mit dem Ziel einer besseren Durchmischung des Wundblutes mit dem eingesaugten Rauch. Mit dem monopolaren Messer wurde die Rauchexposition für fünf Minuten, zehn Minuten und 15 Minuten simuliert. Dabei wurden kontinuierlich Schnitte in der Schweinehaut erzeugt. Die verwendete elektrische Leistung betrug 60 Watt. Während des Kauterisierens der Schweinehaut wurde pro Zeitabschnitt ein definiertes Volumen an Wundblut mittels einer 50 mL-Spritze sowohl auf die Saugerspitze, als auch auf die Schnittflächen der Schweinehaut appliziert. Bei fünf Minuten wurden 50 mL, bei zehn Minuten 150 mL und bei 15 Minuten 250 mL Wundblut hinzugegeben. Nach den jeweiligen Zeitabschnitten wurde das Vakuum unterbrochen, um das Absaugen zu beenden und Proben aus dem Reservoir entnehmen zu können. Vor der Probenentnahme wurde das gesamte Reservoir zur besseren Homogenisierung des Blut-Rauch-Gemisches mehrmals geschwenkt. Über das Probenentnahmeset (Y-Stück) am Reservoir wurde mit Hilfe einer 50 mL-Spritze

entlüftet und anschließend durch dreifaches Aspirieren nochmals homogenisiert. Anschließend erfolgte die Probenentnahme mit einer 20 mL-Spritze über das Y-Stück. Die Probe wurde danach in ein 20 mL-Zentrifugenrörchen überführt. Daraus wurden dann jeweils 1,5 mL in ein Headspaceglas gefüllt. Die Proben wurden für 20 Minuten bei 37 °C im Wärmebad geschüttelt. Anschließend erfolgte die Probenuntersuchung im GC. Die Probenuntersuchung wurde analog den Versuchsreihen mit Toluol (Probenentnahme und -verarbeitung) durchgeführt. Das Kauterisieren der Schweinehaut erfolgte auf einer Fläche von ca. 17x18 cm pro Versuch (Abbildung 12).



Abbildung 12: Fläche der kauterisierten Schweinehaut

Für jede Versuchsreihe wurde ein neues Reservoir, eine neue Saugleitung (60 cm) mit Sauger und eine neue Erdungselektrode verwendet. Das Probenentnahmeset (Y -Stück), die 50 mL-Spritze zur Applikation von Wundblut und die 20 mL-Spritze zur Probenentnahme wurden nach jedem Versuch gespült und dann wiederverwendet. Für jeden Versuch wurde dasselbe monopolare chirurgische Skalpell verwendet (Abbildung 13). Nach jedem Zeitabschnitt wurde dieses gereinigt.



Abbildung 13: Monopolares Skalpell

3.3.4 Waschen des kontaminierten Wundblutes

Bei vier der fünf Versuchsreihen wurde nach Beendigung der Rauchexposition und anschließender Probenentnahme das im Reservoir verbliebene Wundblut mit dem MAT-Gerät XTRA im Programm P_{opt} aufbereitet. Nach der Aufbereitung wurden die Volumina aus dem Produktbeutel und dem Abfallbeutel jeweils in ein Becherglas umgefüllt und noch einmal manuell gemessen. Es wurden drei Proben zu je 1,5 mL aus dem Produkt und drei Proben zu je 1,5 mL aus dem Abfall in Headspacegläser entnommen und diese ins Wärmebad für 20 Minuten bei 37 °C gestellt und geschüttelt. Anschließend erfolgte die Auswertung der Proben, wie oben beschrieben, im GC.

Die folgende Abbildung 14 zeigt den Anschluss des Reservoirs an das MAT-Gerät XTRA.

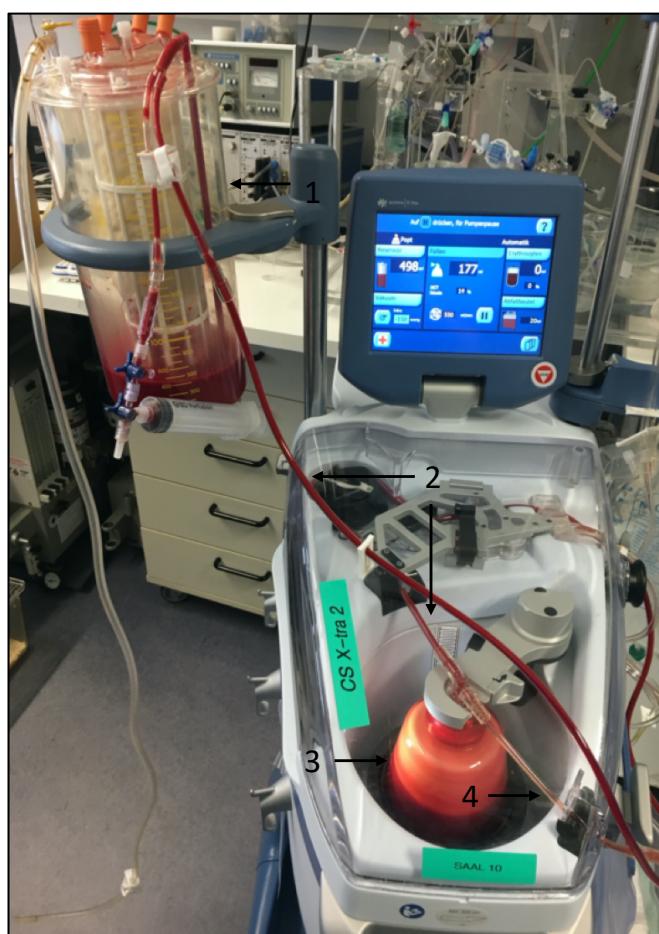


Abbildung 14: Reservoir MAT-Gerät XTRA, 1= Reservoir: Wundblut + Rauch, 2= Zufuhr, 3= Latham-Glocke, 4= Abfuhr

3.3.5 Versuchsreihen mit gekühltem Reservoir

Bei zwei Versuchsreihen wurde das Reservoir in einem Behältnis mit Eis auf eine Temperatur von ca. 6 °C heruntergekühlt. Danach erfolgte der Anschluss des Reservoirs an das MAT-Gerät XTRA und ein Waschvorgang wurde durchgeführt. Die nachfolgende Abbildung 15 zeigt das Reservoir im Eisbehältnis. Dabei ist die Rauchentwicklung im Reservoir sichtbar.



Abbildung 15: Reservoir gekühlt, Rauch im Reservoir sichtbar

3.3.6 Probencharakteristik

Bei den Versuchsreihen wurden alle Proben ohne IS untersucht. Eine Probe pro Zeitabschnitt war mit Methoxyethanol versehen und eine Probe pro Zeitabschnitt war eine Leerprobe. Die Leerproben wurden vor dem Kauterisieren der Schweinhaut aus dem rekonstruierten Wundblut entnommen. In die Proben ohne Methoxyethanol wurden stattdessen 60 µL Wasser hinzugegeben, um gleiche Probenvolumina zu erhalten.

In Tabelle 12 ist die Zusammensetzung der einzelnen Proben einer Versuchsreihe dargestellt.

Versuchs-reihe Nr.	Zeit-punkt [t in min]	Probenanzahl total [n]	Probe Methoxyethanol [n]	Probe WB ohne Zusatz [n]	Leerprobe [n]
1		15			
1	5	5	1	3	1
1	10	5	1	3	1
1	15	5	1	3	1
2		15			
2	5	5	0	4	1
2	10	5	0	4	1
2	15	5	0	4	1
3		15			
3	5	5	0	4	1
3	10	5	0	4	1
3	15	5	0	4	1
4		12			
4	5	4	0	3	1
4	10	4	0	3	1
4	15	4	0	3	1
5		12			
5	5	4	0	3	1
5	10	4	0	3	1
5	15	4	0	3	1

Tabelle 12: Probenzusammensetzung, Leerprobe = Wundblut vor Rauchexposition, Probe WB ohne Zusatz = Wundblut nach Rauchexposition, ohne Zusätze; Probe Methoxyethanol = Wundblut nach Rauchexposition, mit Methoxyethanol; Zeitpunkt (t) = Rauchexposition in Minuten

3.4 Klinische Studie

Bei der klinisch prospektiven Studie wurde die Menge an chirurgischen Rauchgasprodukten im Wundblut aus dem Reservoir bei sechs Herzoperationen unter Verwendung eines monopolaren Elektroskalpells bestimmt.

Die Patienten wurden vor dem operativen Eingriff über die Teilnahme an der Studie aufgeklärt und das schriftliche Einverständnis entsprechend den Vorgaben der Ethikkommission (Nr.17-522-101) eingeholt.

3.4.1 Probenentnahme und -verarbeitung in der Herz-Thoraxchirurgie

Die Probenentnahme erfolgte bei drei Aortenklappen- und Mitralklappenersatz-Operationen sowie bei drei Aortokoronaren-Bypass-Operationen in der Klinik und Poliklinik für Herz-, Thorax- und Herznaher Gefäßchirurgie des Universitätsklinikums Regensburg. Dabei wurde das MAT-Gerät Cell Saver Elite (Haemonetics, Braintree, USA) verwendet.

Die folgende Abbildung 16 zeigt den Aufbau des klinischen Versuchsteils.

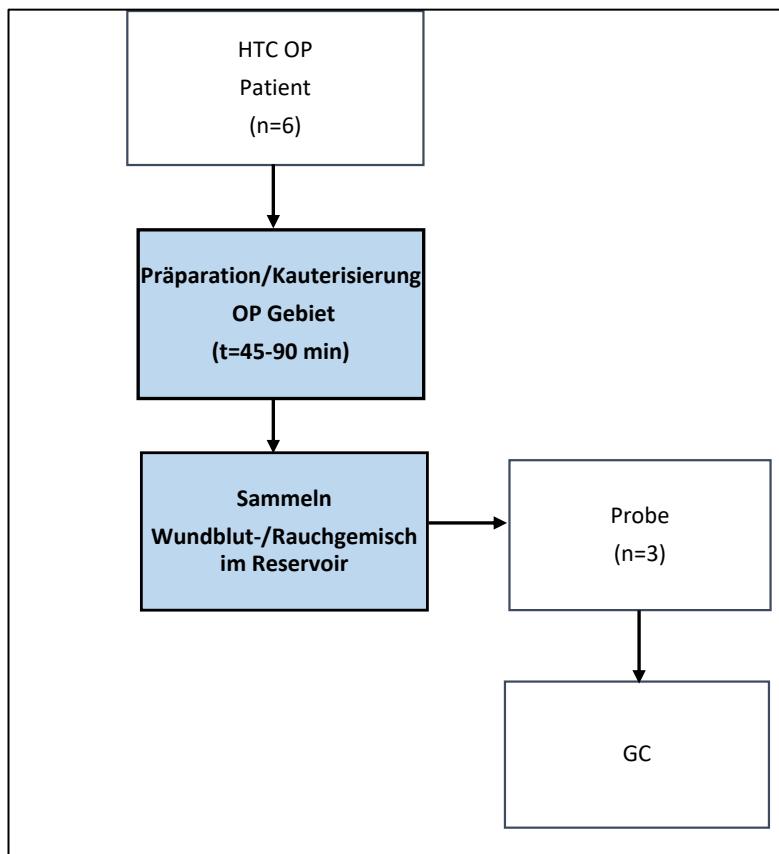


Abbildung 16: Schadstoffe im Wundblut *in vivo*

Das Probenvolumen im Reservoir entstand während der Präparationsphase vom Hautschnitt bis zum Beginn der Herz-Lungen-Maschine. Dies ist die Phase mit der höchsten Rauchentstehung. Die Proben wurden nach Beginn der extrakorporalen Zirkulation entnommen. Die Präparationszeit, also die Zeitspanne von Hautschnitt bis Anschluss an die Herz-Lungen-Maschine, variierte bei den einzelnen Operationen zwischen 45 – 90 Minuten.

Dabei wurde das Reservoir leicht geschwenkt und mittels einer 50 mL-Spritze nach erfolgter Entlüftung und Durchmischung durch mehrfache Aspiration des Wundblutes, 20 mL des Wundblutgemisches entnommen und luftdicht verschlossen. Das Gesamtvolumen im Reservoir wurde dokumentiert. Es erfolgte kein Waschvorgang des Wundblutes. Die Verarbeitung der Proben erfolgte direkt im Anschluss im Labor. Pro Patienten wurden drei Proben zu je 1,5 mL in Headspacegläser gefüllt und für 20 Minuten bei 37 °C in das Wasserbad (Firma GFL®) gestellt und geschüttelt. Bei den untersuchten sechs Patienten ergab sich eine Anzahl von insgesamt 18 Proben. Die Untersuchung der Proben im GC erfolgte auf gleiche Weise wie die Verarbeitung in den Toluol- und Schweinehautversuchsreihen (Probenentnahme und -verarbeitung). In der untenstehenden Tabelle 13 sind die klinisch durchgeführten Operationen aufgeführt.

Patient Nr.	Geschlecht	Alter [Jahre]	Art des Eingriffs	Präpara-tionszeit [min]	Strom-stärke Elektro-skalpell [Watt]	Reservoir-volumen zum Entnahmzeitpunkt [mL]
1	m	67	AKE, ACB	62	30	370
2	m	77	AKE	45	30	200
3	m	72	ACB	55	30	80
4	m	69	ACB	90	30	270
5	m	67	ACB	62	30	120
6	m	60	ACB, MKE	80	30	70

Tabelle 13: Herzoperationen, AKE= Aortenklappenersatz, ACB= Aortokoronarer Bypass, MKE= Mitralklappenersatz, Präparationszeit= Hautschnitt bis Beginn extrakorporale Zirkulation, m= männlich

3.5 Statistik

Die Datenaufbereitung erfolgte mittels Microsoft Excel® (2021 Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA). Für die statistische Auswertung wurde das Programm SPSS® 25.0.0.0 (IBM, Armonk, USA) verwendet. Die normalverteilten Ergebnisse sind als Mittelwerte und 95 % Konfidenzintervall (CI) bzw. Standardabweichung (SD) dargestellt. Nicht normalverteilte Daten sind als Mediane mit 25 % und 75 % Percentilen, Minimal- und Maximalwerten, Ausreißern (Kreise) und Extremwerten (Asterisks) in Boxen visualisiert.

Im Falle der Normalverteilung wurden zwei Gruppen mittels t-Test verglichen. Bei höherer Anzahl an Gruppen wurde die einfaktorielle Varianzanalyse mit Post-Hoc Bonferroni (bei Varianzhomogenität) bzw. Dunnett T3 (bei Varianzinhomogenität) eingesetzt. Nicht normalverteilte Gruppen wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test (bei zwei Gruppen) bzw. dem Kruskal-Wallis 1-way ANOVA und anschließendem paarweisen Vergleich (bei mehr als zwei Gruppen) verglichen. Ein $p < 0,05$ wurde als signifikant betrachtet.

Normalverteilte Messergebnisse in zwei voneinander abhängigen Gruppen wurden mittels gepaartem t-Test verglichen.

4 Ergebnisse

4.1 Experimentelle Studie Toluol

4.1.1 Vorversuche Indikatorsubstanz Toluol

In Vorversuchen wurde zunächst eine Abschätzung der Menge an Toluol ermittelt, die in einem 1,5 mL-Headspaceglas vorhanden sein muss, um im GC quantifizierbar zu sein. Die angenommene absolute Nachweisgrenze betrug 45 nmol in einem 1,5 mL-Headspaceglas. Daraus ergibt sich, dass in 1,5 mL Blut 30 nmol/mL Toluol an minimaler Konzentration vorhanden sein müssen, um eine Nachweisbarkeit im GC zu erzielen.

Mit der Annahme, dass selbst wenn 99 % des Schadstoffes Toluol aus dem Wundblut eliminiert werden sollten, eine Detektion des Toluols möglich ist. Daraus folgt, dass im Wundblut die 100-fache Konzentration an Toluol vorhanden sein muss.

Im Wundblut müssen also mindestens 3 mmol/L an Toluol vorhanden sein, was einem Volumen von 480 µL Toluol in 1,5 L Wundblut entspricht. Aus dieser abgeschätzten minimalen Menge wurde für die Vorversuche initial eine Menge von 1 mL Toluol auf 1000 mL rekonstruiertem Wundblut festgelegt. Das entspricht 9,4 mmol/L Toluol in Wundblut (bzw. 14100 nmol/1,5 mL).

Tabelle 14 und Tabelle 15 geben einen Überblick über die im GC ermittelten Mengen von Toluol im Edukt, Abfall und Produkt. Die in Tabelle 14 aufgeführten Werte zeigen die Ergebnisse der Messung nach dem die Proben mindestens 20 Minuten bei 37 °C im Wärmebad geschüttelt und dann ins GC injiziert wurden. Dabei zeigt sich, dass im Edukt die größte Menge an Toluol wiederzufinden ist. In den Produkt- und Abfallproben findet sich eine geringere Toluolmenge wieder.

Zugabe Toluol 1mL/L	Toluol Soll [nmol]	Toluol Ist [nmol]	Relative Wiederfindung [%]	Mittelwerte Absolut [nmol]
Vor MAT				
Edukt	14100	14400	102	
Edukt	14100	14220	101	
Edukt	14100	12860	91	
Nach MAT				
Abfall		3560		3380
Abfall		3540		
Abfall		3040		
Produkt		4320		4550
Produkt		4520		
Produkt		4810		

Tabelle 14: Vorversuch Indikatorsubstanz Toluol, Messbeginn nach 20 Minuten im Wärmebad

Die in der Tabelle 14 gefundene relative Wiederfindung von Toluol im Edukt ergibt einen Mittelwert von $98,1 \pm 6\%$. Im Mittel fand sich in den Produkt- und Abfallproben 7930 nmol Toluol bei einem Messbeginn nach 20 Minuten. Die daraus resultierende Differenz der Toluolmenge im Edukt zu den Mengen in Produkt und Abfall betrug 6170 nmol.

Die folgende Tabelle 15 zeigt die Ergebnisse derselben Proben, welche nach einer Dauer von 120 Minuten im Wärmebad ein zweites Mal im GC gemessen wurden.

Auch hier findet sich die größte Menge an Toluol im Edukt wieder. Die wiedergefundene Menge des Toluols in den Produkt- und Abfallproben war auch hier geringer als im Edukt.

Zugabe Toluol 1mL/L	Toluol Soll [nmol]	Toluol Ist [nmol]	Relative Wiederfindung [%]	Mittelwerte Absolut [nmol]
Vor MAT				
Edukt	14100	13870	98	
Edukt	14100	13720	97	
Edukt	14100	13540	96	
Nach MAT				
Abfall		3700		3543
Abfall		3530		
Abfall		3400		
Produkt		4810		5080
Produkt		5150		
Produkt		5280		

Tabelle 15: Vorversuch Indikatorsubstanz Toluol, Messbeginn nach 120 Minuten im Wärmebad

Die in der Tabelle 15 gefundenen relativen Wiederfindungen von Toluol im Edukt ergeben einen Mittelwert von $97 \pm 1\%$. Im Mittel fand sich auch nach 120 Minuten in den Produkt- und Abfallproben insgesamt eine Toluolmenge von 8623 nmol. Die daraus resultierende Differenz der Toluolmenge im Edukt zu den wiedergefundenen Toluolmengen in Produkt und Abfall betrug 5477 nmol.

Die nachfolgende Tabelle 16 zeigt die Ergebnisse der Proben aus dem letzten Vorversuch Nr. 4, bei welchem Toluol in einer Menge von 50 μL dem Testblut hinzugegeben wurde. Es zeigte sich auch hier die höchste Wiederfindungsmenge an Toluol im Edukt. Dementsprechend fanden sich in den Abfall- und Produktproben geringere Mengen an Toluol wieder.

Zugabe Toluol 50 µL/L	Toluol Soll [nmol]	Toluol Ist [nmol]	Relative Wiederfindung [%]	Mittelwerte Absolut [nmol]
Vor MAT				
Edukt	705	540	76	
Edukt	705	510	72	
Edukt	705	550	78	
Nach MAT				
Abfall		100		120
Abfall		120		
Abfall		140		
Produkt		110		110
Produkt		110		
Produkt		110		

Tabelle 16: Vorversuch Zugabe 50 µL Toluol, Messbeginn nach 20 Minuten im Wärmebad

Die relativen Wiederfindungen von Toluol im Edukt ergeben einen Mittelwert von $75 \pm 3\%$. Im Mittel fanden sich 230 nmol Toluol in den Produkt- und Abfallproben. Die daraus resultierende Differenz der Toluolmenge im Edukt zu den Mengen in Produkt und Abfall betrug 475 nmol.

4.1.2 Elimination der Indikatorsubstanz Toluol durch MAT

Die nachfolgende Abbildung 17 stellt in einem gruppierten Boxplot die Eliminationskompetenz der MAT für die Stoffmengen in den jeweiligen Kompartimenten Edukt, Produkt und Abfall dar. In Abhängigkeit der steigenden Toluolzugabe zum Edukt, konnte auch mehr Toluol im Abfall sowie im Produkt nachgewiesen werden.

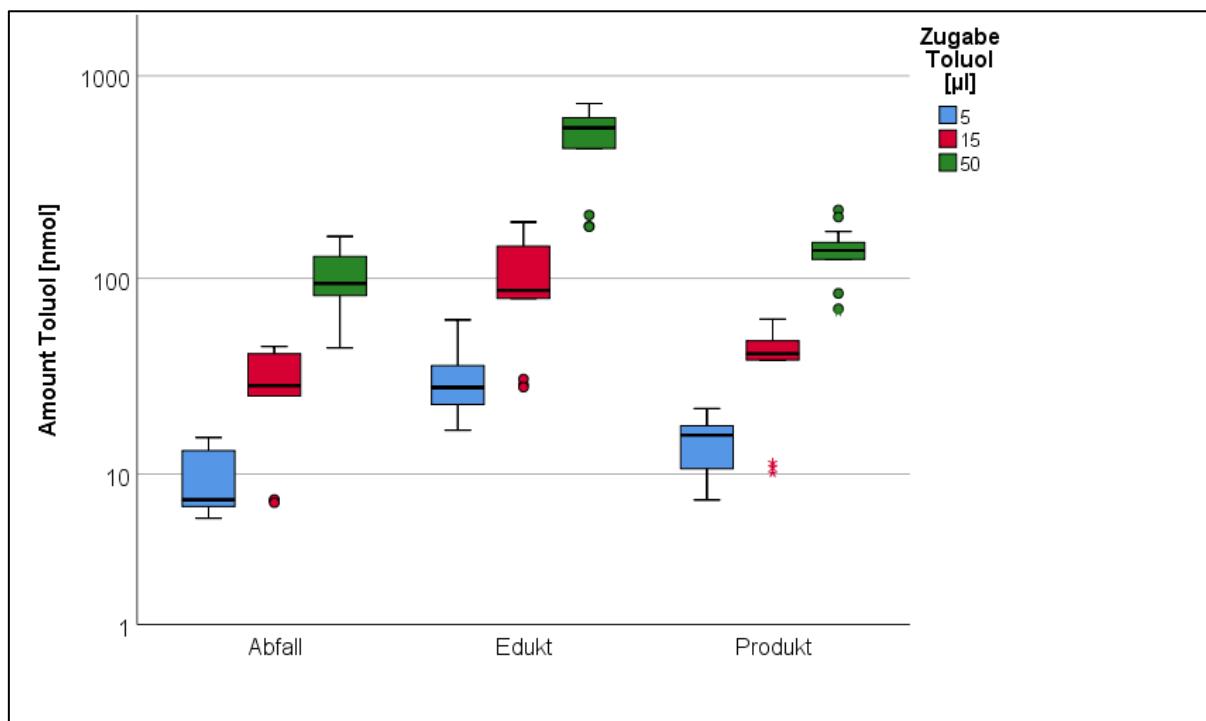


Abbildung 17: Wiederfindung Indikatorsubstanz Toluol nach MAT-Aufbereitung, * =Extremwerte, ● =Ausreißer, Absolutmengen [nmol] in je 1.5 mL Matrix

Ausgehend von den ermittelten absoluten Stoffmengen (=Amount Toluol [nmol] in 1.5 mL Matrix), konnte nun die Stoffmenge von Toluol in Abhängigkeit zum Volumen des jeweiligen Kompartiments ermittelt werden. Die Berechnung ergab für alle drei Zugabemengen die höchste Toluolmenge im Edukt und die niedrigste Menge im Produkt (Tabelle 17). Des Weiteren zeigten sich im Vergleich der Volumina zwischen der manuellen Volumenbestimmung und der automatischen Volumenanzeige des MAT-Geräts XTRA Differenzen. Für die manuelle Volumenbestimmung im Edukt ergab sich im Mittel ein Volumen von 542 ± 42 mL, für die automatische Volumenanzeige des Autotransfusionsgerätes im Mittel ein Volumen von 548 ± 31 mL. Die Produktvolumina ergaben im Mittel bei der manuellen Volumenbestimmung ein Volumen von 163 ± 11 mL und bei der automatischen Volumenanzeige 172 ± 15 mL. Das Volumen des Abfalls betrug im Mittel bei der manuellen Volumenbestimmung 1377 ± 13 mL und bei der automatischen Volumenanzeige 1416 ± 24 mL.

Kompartiment	Zugabe Toluol [µL]	Mean Amount Toluol [nmol/1,5 mL]	MW Volumen Hand [mL]	MW Volumen MAT [mL]	Stoffmenge Toluol je Kompartiment Hand [nmol]	Stoffmenge Toluol je Kompartiment MAT [nmol]
Edukt	50	490	508	517	166000	168900
Abfall		103	1368	1389	94000	95400
Produkt		137	168	190	15300	17400
Edukt	15	100	545	549	36300	36600
Abfall		28	1392	1421	26000	26500
Produkt		39	170	165	4400	4300
Edukt	5	32	572	579	12200	12300
Abfall		9	1372	1437	8200	8600
Produkt		15	150	162	1500	1600

Tabelle 17: Volumenbezogene Absolutmengen Toluol je Kompartiment in je 1,5 mL Matrix, angegeben sind Mittelwerte (MW), Hand = Volumen manuell gemessen, MAT = Volumen durch MAT-Gerät gemessen

Nach Spülung der Glocke und der Zuleitungen konnten geringe Restmengen von Toluol nachgewiesen werden. Bei den Versuchsreihen mit 5 µL konnte kein Toluol nach Spülung mit NaCl-Lösung 0.9 % ermittelt werden. Bei den Versuchsreihen mit 15 µL und 50 µL konnte Toluol im Abfall und im Produkt gemessen werden. Die höchsten Mengen an Toluol waren hierbei im Abfall zu finden. Die nachfolgende Tabelle 18 fasst die Ergebnisse der Spüldurchläufe noch einmal zusammen.

Spüldurchlauf mit NaCl-Lösung 0,9 %	nach MAT mit Toluol	Mean Amount Toluol [nmol/1,5 mL]	MW Volumen MAT [mL]	Stoffmenge Toluol je Kompartiment MAT [nmol]
Wasch Produkt	50	5	177	590
	15	1	175	117
	5	0	175	0
Wasch Abfall	50	6	363	1452
	15	2	365	487
	5	0	346	0

Tabelle 18: Volumenbezogene Absolutmengen Toluol nach Spülung mit NaCl-Lösung 0,9 %, angegeben sind Mittelwerte (MW), Volumen MAT = Volumen durch MAT-Gerät gemessen

Es zeigte sich, dass Toluol in den Waschproben kaum nachweisbar war. In der letzten Versuchsreihe wurde daraufhin auf eine Auswertung der Proben des Spülvorgangs verzichtet.

Der nachfolgend dargestellte gruppierte Boxplot (Abbildung 18) fasst die Ergebnisse der wiedergefundenen Stoffmengen der einzelnen Kompartimente noch einmal zusammen. Die Kompartimente Wasch-Abfall und Wasch-Produkt zeigen jeweils die wiedergefundene residuelle Menge von Toluol nach einem Spüldurchlauf mit NaCl-Lösung 0,9 %.

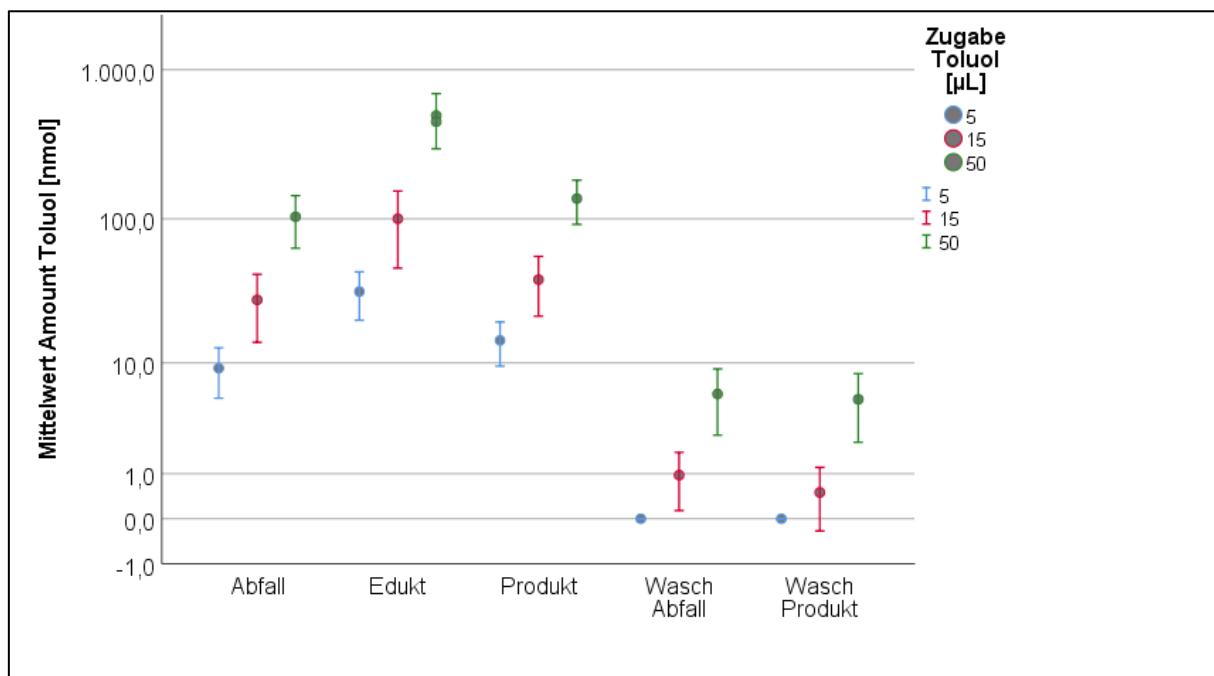


Abbildung 18: Wiederfindung Indikatorsubstanz Toluol: Wasch Abfall, Wasch Produkt = Proben nach Spül durchlauf mit NaCl-Lösung 0,9 %

Die folgende Abbildung 19 stellt die prozentuale Wiederfindung aller Versuchsreihen der Indikatorsubstanz Toluol in den Kompartimenten Abfall und Produkt dar.

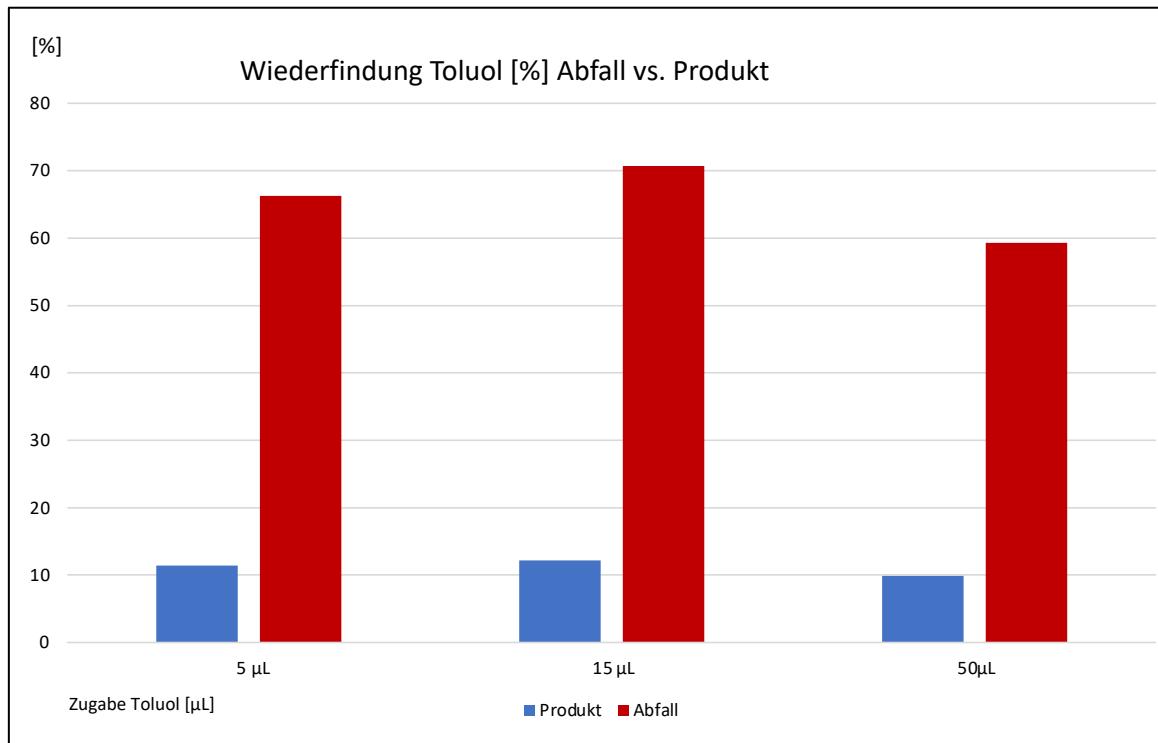


Abbildung 19: Wiederfindungsmenge Toluol [%] in Produkt und Abfall nach MAT, manuelle Volumenbestimmung

Die mittlere Wiederfindungsmenge für Toluol im Produkt betrug $12 \pm 3\%$. Für die Wiederfindungsmenge von Toluol ergab sich im Abfall ein mittlerer Wert von $66 \pm 12\%$. Es befand sich mehr Toluol im Abfall als im Produkt. Die Wiederfindungsmengen beziehen sich auf die Werte, die manuell gemessen wurden. Vergleicht man die gesamte Wiederfindungsmenge von Toluol aller Kompartimente (Edukt, Abfall, Produkt) der manuellen Volumenbestimmung mit der automatischen Volumenanzeige des MAT-Geräts XTRA (Abbildung 20) zeigt sich für die Toluolzugabe 15 μL und 50 μL kein signifikanter Unterschied.

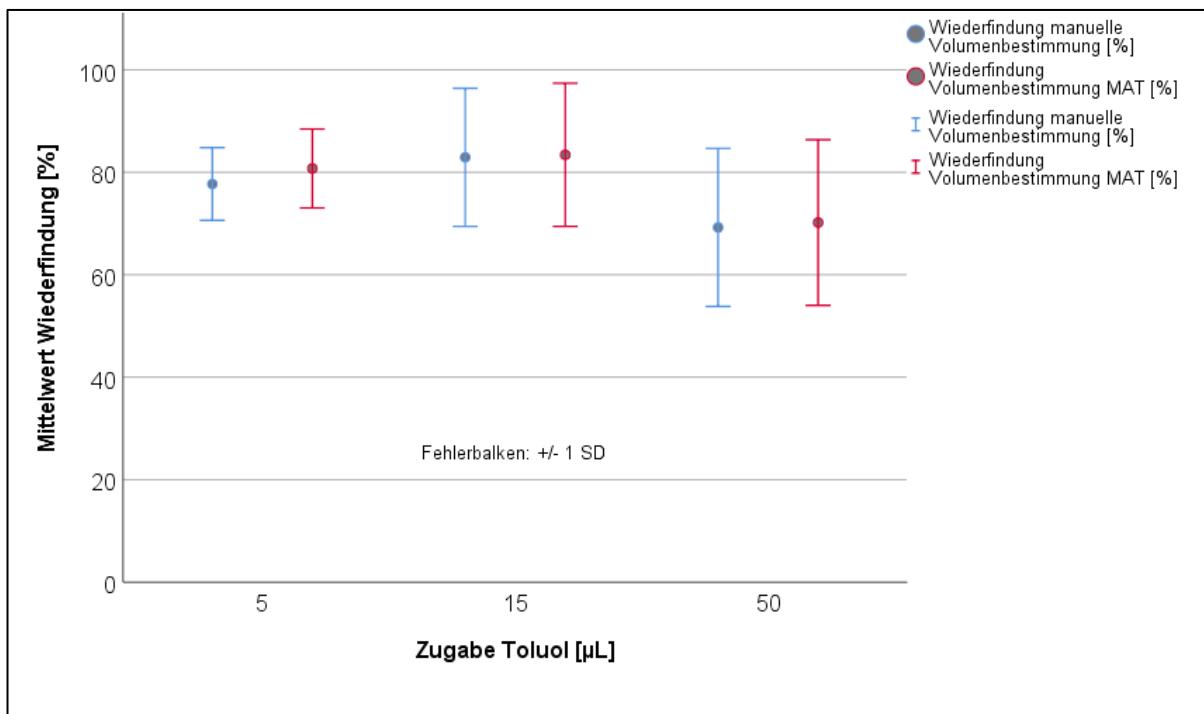


Abbildung 20: Wiederfindungsrate insgesamt, Vergleich manuelle Messung vs. Messung MAT-Gerät XTRA, angegeben sind Mittelwerte

Bei der Zugabe von 5 µL Toluol ergibt sich bei der manuellen Volumenbestimmung eine mittlere Wiederfindung von 77,7 %. Bei der automatischen Volumenbestimmung durch die MAT ergibt sich eine mittlere Wiederfindung von 80,7 %. Diese unterscheidet sich im gepaarten t-Test signifikant von der Wiederfindungsmenge zu der manuellen Volumenbestimmung ($p = 0,004$).

4.1.3 Eliminationsrate von Toluol durch MAT

Tabelle 19 zeigt die Ergebnisse der Eliminationsraten nach maschineller Autotransfusion mit dem Gerät XTRA für die Versuchsreihen der Indikatorsubstanz Toluol. Die Angaben beziehen sich auf manuell gemessene Volumenwerte.

Versuch Nr.	Zugabe Toluol [μ L]	Aufbereit. WB Vol. [mL]	Hkt. WB [%]	Toluol [nmol/L]	EK Vol. [mL]	Hkt. EK [%]	Toluol [nmol/L]	Eliminationsrate Toluol [%]
		Edukt	Edukt	Edukt	Produkt	Produkt	Produkt	
1	5	701	17	24480	145	74	11900	97
	15	602	20	75970	151	46	30950	93
	50	617	19	279300	151	62	114120	95
2	5	622	18	24090	155	54	14180	92
	15	588	12	84120	158	47	38900	92,5
	50	524	18	239260	163	51	123900	90
3	5	498	20	13680	147	52	7920	90
	15	458	20	16280	176	46	7230	88
	50	388	20	288300	174	57	97360	92
4	5	494	20	15490	152	58	11660	88
	15	546	20	53990	177	63	30130	92
	50	517	20	109350	172	56	49370	92
5	5	603	20	12140	150	63	5090	95
	15	564	20	58460	174	62	27640	93
	50	536	20	202830	174	47	89870	90
MW		551	19	99850	161	56	44015	92
SD		77	2	101108	12	8	41465	2,5

Tabelle 19: Eliminationsrate Toluol durch MAT-Gerät XTRA, MW= Mittelwert, SD= Standardabweichung, aufbereitet. WB Vol.= Wundblutvolumen, welches durch MAT-Gerät verarbeitet wurde, Hkt. WB= Hämatokritwert im Wundblut, EK Vol.= Volumen Erythrozytenkonzentrat, Hkt. EK= Hämatokritwert im Erythrozytenkonzentrat, Edukt= rekonstruiertes Wundblut, Produkt= aufbereitetes Erythrozytenkonzentrat

Im Mittel wurde ein Produktvolumen von $161 \text{ mL} \pm 12 \text{ mL}$ und ein Hämatokrit von $56 \pm 8 \%$ von dem Gerät XTRA produziert. Die Eliminationsrate der Indikatorsubstanz Toluol lag insgesamt zwischen 88 % und 97 % mit einem Mittelwert von $92 \pm 2,5 \%$.

In Abbildung 21 ist die Eliminationsrate in Abhängigkeit der Konzentration der zugegebenen Indikatorsubstanz Toluol dargestellt.

Bei Zugabe von 5 µL Toluol lag die Eliminationsrate im Mittel bei $92 \pm 4\%$, bei der Zugabe von 15 µL und 50 µL Toluol lag die Eliminationsrate jeweils im Mittel bei $92 \pm 2\%$.

Die Elimination der Indikatorsubstanz Toluol ist nicht konzentrationsabhängig.

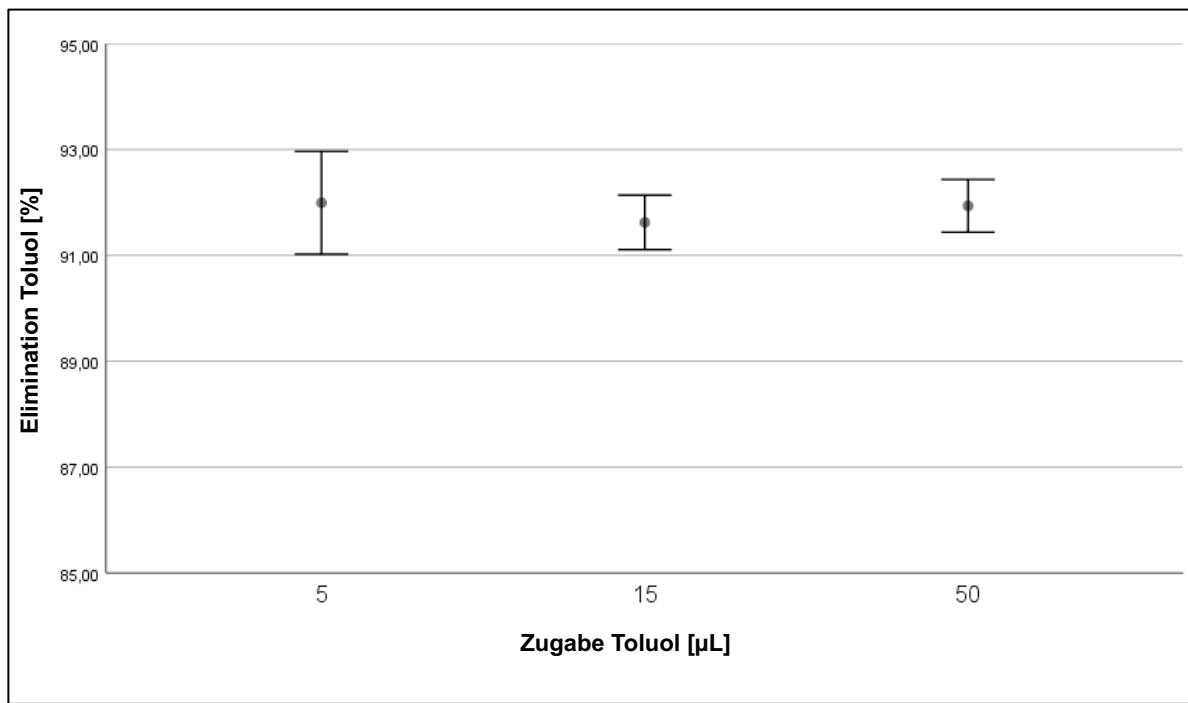


Abbildung 21: Konzentrationsabhängigkeit Toluol ($n=5$ je Gruppe). Auf der X-Achse ist die Zugabe von Toluol in µL angegeben. Auf der Y-Achse ist die Elimination von Toluol in % abgebildet.

4.1.4 Verhalten Toluol im Wundblut

Die Ergebnisse des Zwischenversuchs, bei dem untersucht worden ist, ob Toluol an Bestandteilen des Blutes gebunden bleibt, sind in Abbildung 22 grafisch dargestellt. Dabei korreliert die Wiederfindung der Indikatorsubstanz Toluol mit dem prozentualen Wundblutanteil. Je höher der Anteil an Wundblut, desto mehr Toluol war nachweisbar.

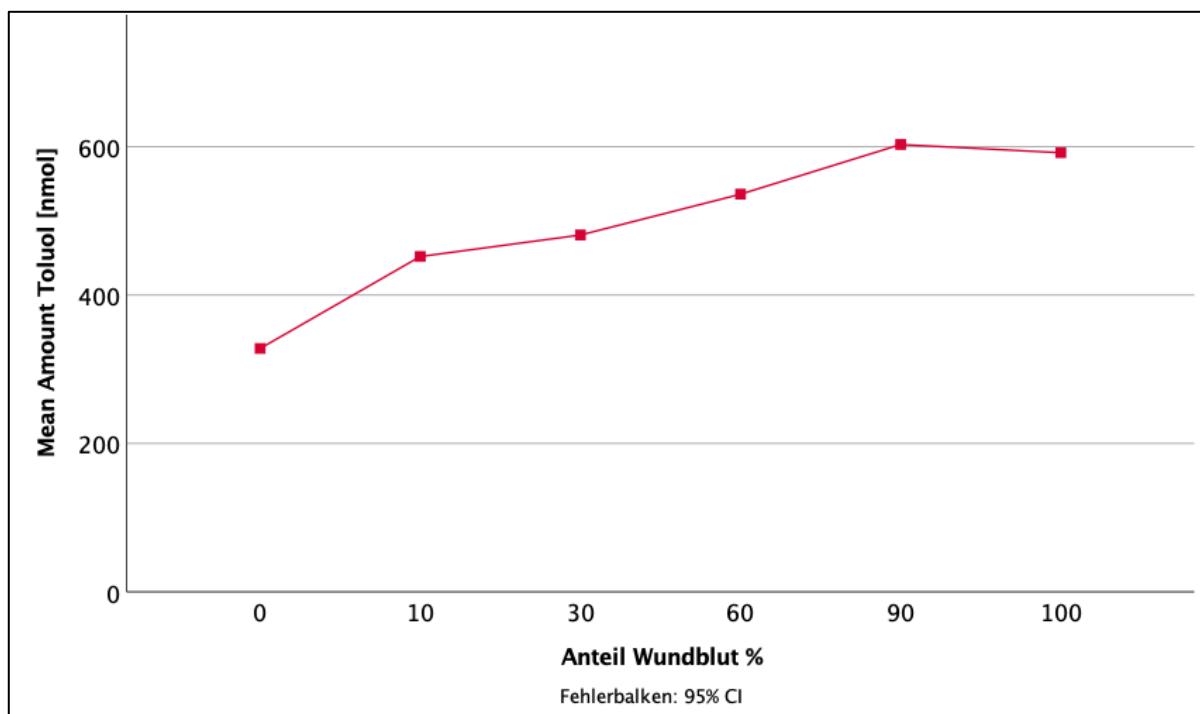


Abbildung 22: Wiederfindung Toluol [nmol] in 1,5 mL Matrix bei steigendem Anteil an Wundblut [%]

Toluol bleibt nicht an Bestandteilen des Wundblutes gebunden. Die untersuchte Probenmatrix bestand aus Wundblut, Wasser und Toluol.

4.2 Experimentelle Rauchexposition Wundblut

Die aus den kauterisierten Wundblutproben im GC generierten Peaks, werden in den nachfolgenden Ergebnissen als Feature bezeichnet.

4.2.1 Vorversuche Rauch

In den Vorversuchen konnte kein Feature, welches eindeutig dem Schadstoff Toluol zuzuordnen ist, identifiziert werden. In den kauterisierten Wundblutproben konnten andere Features im GC detektiert werden (Abbildung 23).

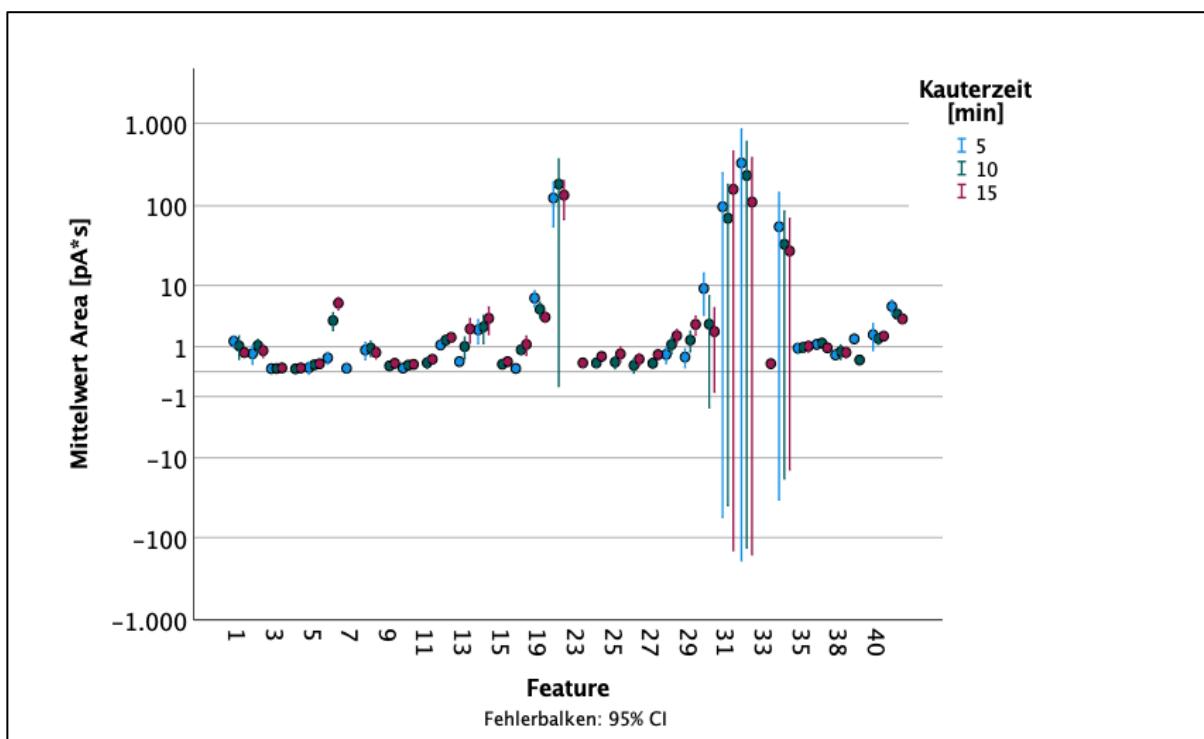


Abbildung 23: Vorversuch Rauchprodukte nach Kauterisierung. Auf der X-Achse ist die Anzahl (1-40) der erkannten Features nach den Zeitabschnitten 5 Minuten, 10 Minuten und 15 Minuten aufgeführt. Auf der Y-Achse ist die Peakfläche der Features [pA^* s] angegeben.

Von den abgebildeten Features sind nur wenige prominent. Einige Features nehmen mit zunehmender Kauterzeit ab (Abbildung 24). Diese Features können somit keine Produkte aus dem Rauch sein.

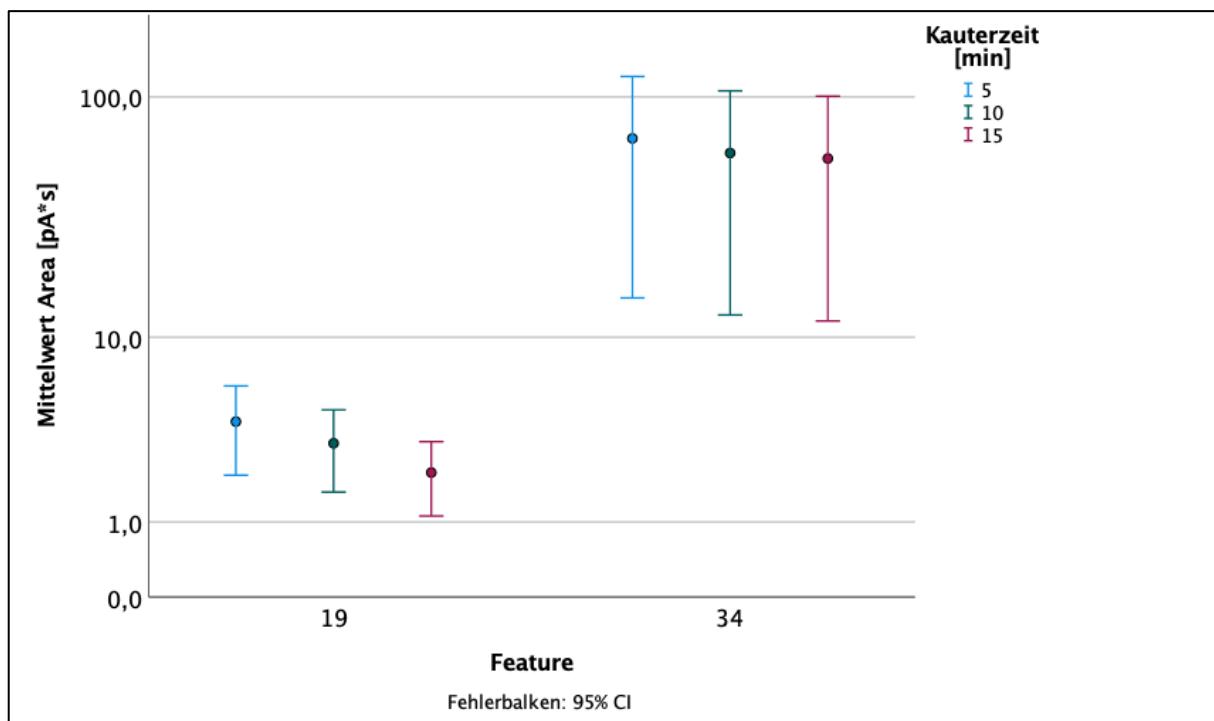


Abbildung 24: Abnehmende Peakflächen bei zwei Features (Nr. 19 und Nr. 34) bei steigender Kauterzeit

4.2.2 Identifikationsversuch potentieller Schadstoffe in Rauchgasen anhand der Retentionszeiten

Bei den bekannten Substanzen, die potentiell in chirurgischen Rauchgasen enthalten sein können, wurden folgende Retentionszeiten im GC ermittelt (Tabelle 20).

Substanz	Retentionszeit [min]
Toluol	5.44
Methoxyethanol	3.65
Xylol (-para, -meta, -ortho)	6.78 6.88 7.21
Ethanol	1.85
Methanol	1.54
Ethylacetat	3.06
Diethylether	1.93
Aceton	2.06
Acetonitril	2.20

Tabelle 20: Identifikation potenzieller Schadstoffe im GC

Ein Abgleich der hier ermittelten Retentionszeiten der bekannten Substanzen mit den Retentionszeiten der Wundblutproben der kauterisierten Schweinehaut ergab keine Übereinstimmung.

Die nachfolgende Abbildung zeigt einen Ausschnitt eines Chromatogramms von einer Wundblutprobe, welche vorher 15 Minuten kauterisiert worden ist (Abbildung 25).

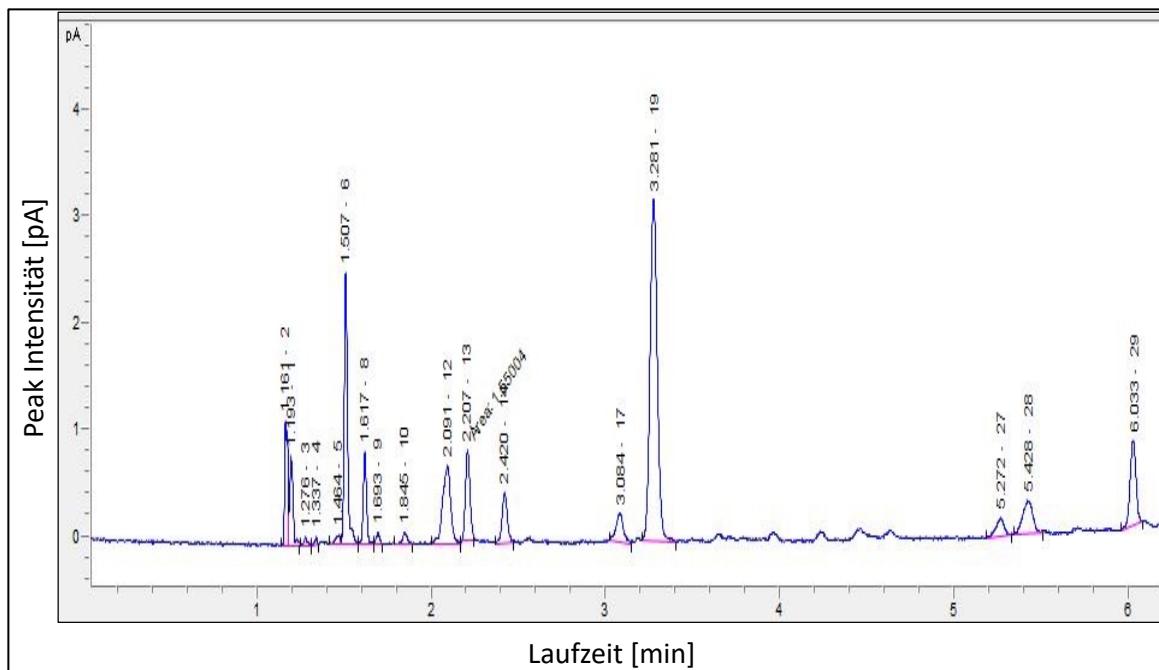


Abbildung 25: Chromatogramm einer Wundblutprobe von kauterisierter Schweinehaut. Die Retentionszeit [min] und die Feature-Nummer sind auf jedem Peak angegeben.

Auf der X-Achse ist die Laufzeit bzw. Retentionszeit in Minuten aufgeführt. Auf der Y-Achse wird die Intensität der Peaks ins Picoampere (pA) angegeben. Das Chromatogramm zeigt einen Ausschnitt, in welchem mehrere Features vom GC detektiert worden sind.

4.2.3 Ergebnisse der Versuchsreihen Rauch

Bei der Kauterisierung von Schweinehaut in einem Zeitraum von 0 – 15 Minuten mit 60 Watt, konnten im GC Features detektiert werden. Die nachfolgende Abbildung 26 zeigt die Anzahl und Peakfläche der Features, die in den Versuchsreihen durch den GC detektiert werden konnten.

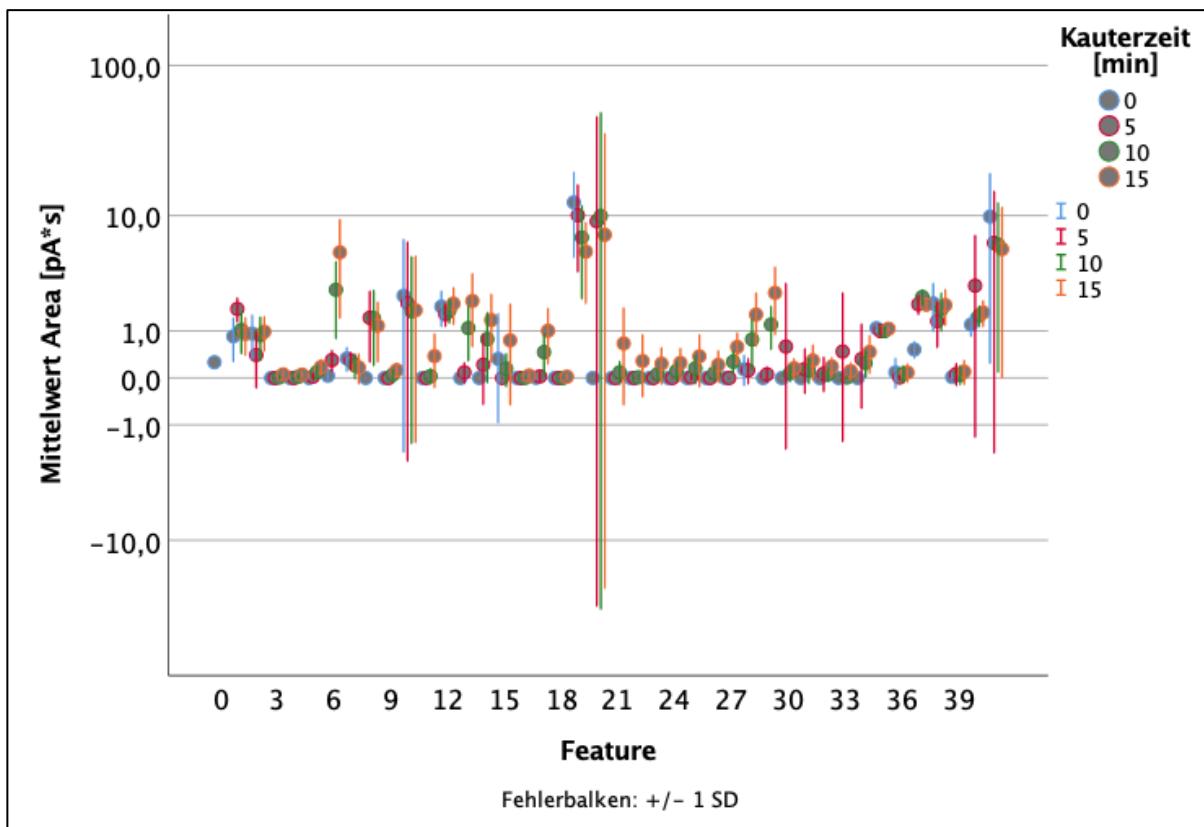


Abbildung 26: Anzahl und Peakflächen der Features [pA^*s]

Von diesen insgesamt ermittelten Features, sind nur wenige prominent. Es konnten insgesamt acht Features in den Wundblutproben im GC ermittelt werden, welche mit steigender Kauterzeit an Intensität zugenommen haben. Das nachfolgende Liniendiagramm (Abbildung 27) stellt die acht prominenten Features aller Wundblutproben der Versuchsreihen dar, bei welchen das Reservoir nicht gekühlt worden ist.

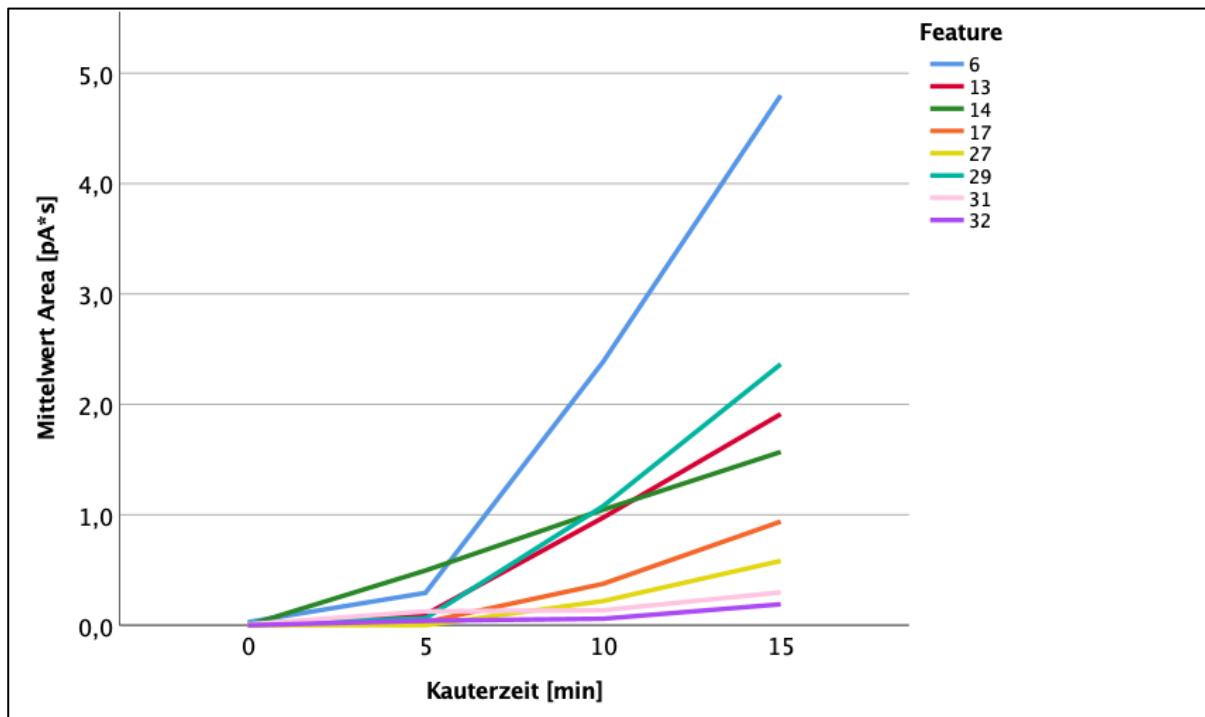


Abbildung 27: Prominente Features, Reservoir ungekühlt. Auf der Y-Achse sind die Mittelwerte der Featureflächen [pA^*s] in Relation zu auf der X-Achse aufgeführter Kauterzeit angegeben. Die Peakflächen von jedem der acht Features steigt mit der Kauterzeit [min]

4.2.4 Vergleich der Features im gekühlten und ungekühlten Reservoir

Der Vergleich der prominenten Features der gekühlten Wundblutproben mit denen bei Raumtemperatur ergab eine höhere Intensität aller Features im gekühlten Reservoir (Abbildung 28).

Eine Auswertung mittels Mann-Whitney-U Test ermittelte dabei für Feature 6 eine Signifikanz von $p = 0,018$ und für Feature 27 eine Signifikanz von $p = 0,004$.

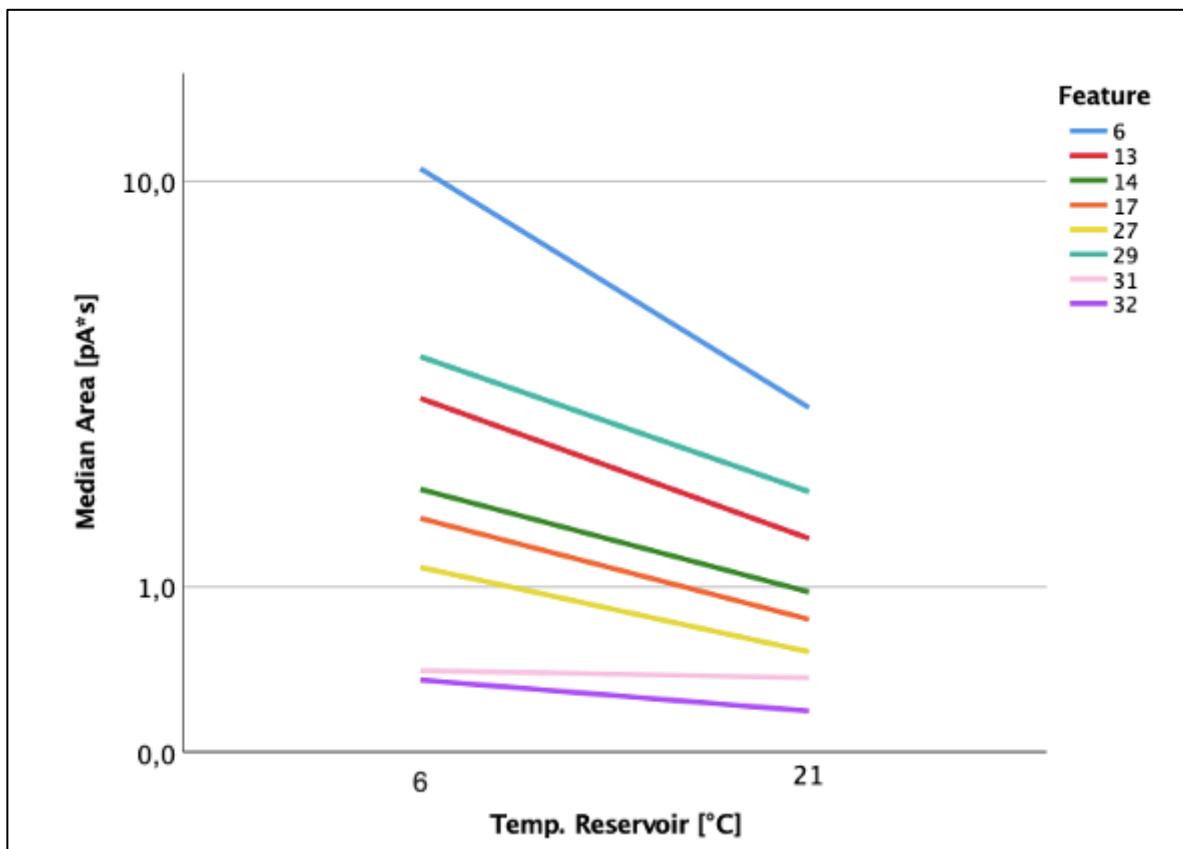


Abbildung 28: Vergleich der Features im Reservoir gekühlt vs. ungekühlt. Auf der X-Achse ist die Temperatur des Reservoirs [°C] angegeben. Auf der Y-Achse wird die mediane Featurefläche [pA*s] dargestellt.

4.2.5 Elimination prominenter Features mit MAT

Tabelle 21 zeigt die Änderung der gemittelten Flächen [pA*s] der 8 prominenten Features (6, 13, 14, 17, 27, 29, 31 und 32) nach dem jeweiligen Kauterzeitabschnitt im Edukt. Die Flächenänderung berechnete sich aus dem für die jeweilige Kauterzeit verwendeten Wundblutvolumina. Es zeigte sich ein Anstieg aller acht nachgewiesenen Features mit zunehmender Kauterzeit.

	Kauterzeit [min]	MW Featurflächen [pA*s/1,5 mL]	MW Volumen Hand [mL]	Änderung der Featureflächen im Gesamtvolumen des Edukts
Edukt 5 min	5	9	350	2100
Edukt 10 min	10	27	500	9000
Edukt 15 min	15	59	750	29500

Tabelle 21: Zeitabhängige Änderungen der gemittelten Featureflächen der 8 prominenten Features.

Ausgehend von den Ergebnissen der Flächenänderung nach 15 Minuten Kauterzeit (=Edukt 15 min), wurde nach dem Waschvorgang des Edukts mittels MAT, die Eliminationsrate berechnet. Diese betrug 97,9 %. Im Abfall konnten 58,9 % der Features wiedergefunden werden (Tabelle 22).

	MW Featurflächen [pA*s/1,5 mL]	MW Volumen Hand [mL]	Änderung der Featureflächen im Gesamtvolumen des Kompartiments	Anteil im Kompartiment	Eliminationsrate
Edukt		535	21043	100%	
Produkt	5.35	123	439	2.08 %	97.9 %
Abfall	13.74	1353	12393	58.9 %	

Tabelle 22: Eliminationsrate bei Aufbereitung des Edukts

4.3 Klinische Studie

Die Ergebnisse der klinischen Proben, welche bei herzchirurgischen Eingriffen entnommen wurden, sind in Abbildung 29 aufgeführt.

Dabei finden sich insgesamt nur wenige prominente Features im Vergleich zum experimentellen Ansatz mit Schweinehaut. Die Retentionszeiten der wenigen prominenten Features, die in den *in vivo* Proben detektiert wurden, stimmen nicht mit denen der prominenten Features der experimentellen Rauchexposition überein.

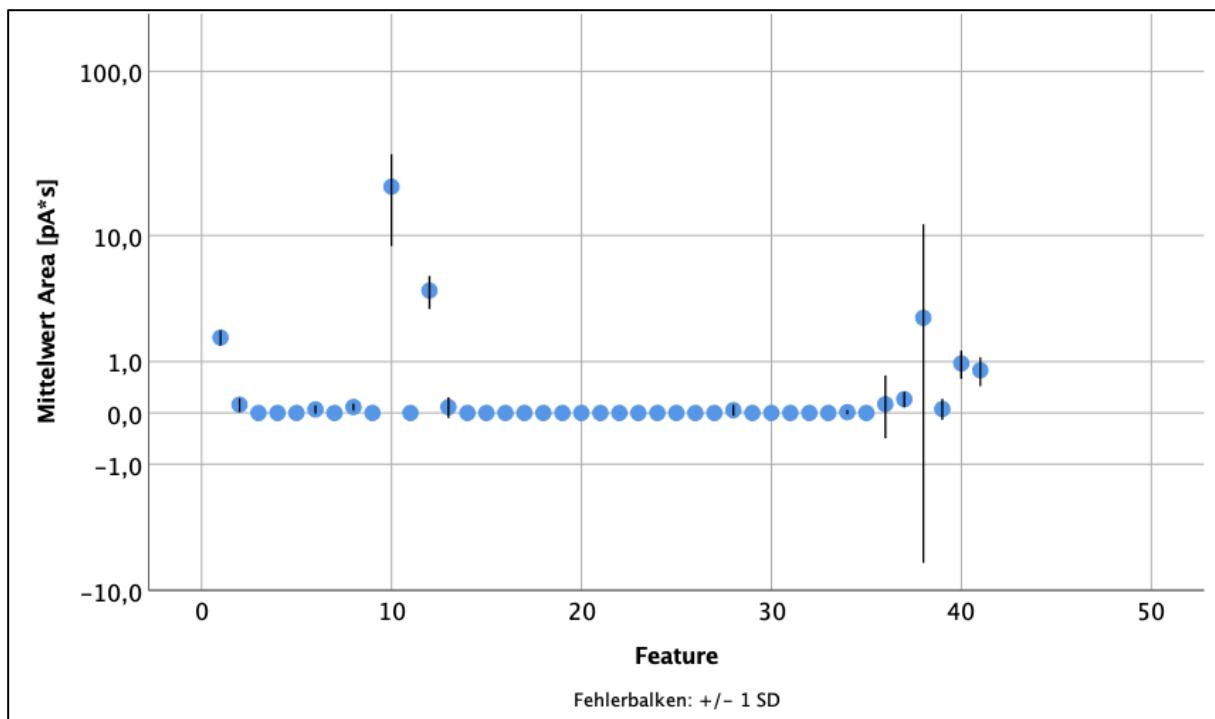


Abbildung 29: Features im klinischen Wundblut nach Kauterisieren im OP. Die X-Achse stellt die Anzahl der ermittelten Features dar. Auf der Y-Achse ist die Peakfläche der Features in pA^*s angegeben. Insgesamt wurden 18 Proben im GC gemessen.

5 Diskussion

Inwieweit toxische Bestandteile des chirurgischen Rauchs das Wundblut kontaminieren und somit eine mögliche Gefahr für den Patienten darstellen, wenn das durch die MAT aufbereitete Wundblut retransfundiert wird, wurde in dieser Arbeit untersucht. Um diese Fragestellung zu beantworten, wurde die Elimination von einem im Rauch vorhandenen Schadstoff, nämlich Toluol, durch die maschinelle Autotransfusion untersucht. Im nächsten Schritt erfolgte die Exposition von rekonstruiertem Wundblut mit Rauch durch das Kauterisieren von Schweinehaut. Auch hier wurde das gewaschene Wundblut auf residuelle Schadstoffe untersucht und eine Eliminationsrate berechnet. Abschließend wurde das Wundblut aus MAT-Reservoirn nach herzchirurgischen Eingriffen auf eine mögliche Schadstoffanreicherung untersucht.

5.1 Toluol als Indikatorsubstanz und seine Elimination

Für diese Arbeit wurde Toluol als Indikatorsubstanz ausgewählt. Toluol ist gut quantifizierbar und trotz seiner Toxizität sicher anwendbar. Zudem wurde es laut Literatur in chirurgischem Rauch nachgewiesen.⁴⁶

5.1.1 Probenverarbeitung und Validierung

In den Vorversuchen wurden definierte Mengen von Toluol festgelegt, um es in den Versuchen auch bei hohen Eliminationsraten zuverlässig nachweisen zu können. In Vorversuchen wurde initial 1 mL Toluol verwendet. Nach sicherem Nachweis wurde diese Menge sukzessive reduziert und dann auf die im Methodenteil beschriebenen Mengen festgelegt. Klinisch kann schon eine geringe Dosis an Schadstoffen zu potentiellen Schäden führen. Daher wurde unter anderem die geringste nachweisbare Menge für die Versuche gewählt. Diese sind möglicherweise noch deutlich höher als die im klinischen Umfeld vorhandenen Mengen. Die mittlere Wiederfindung von Toluol im Edukt betrug $98,1 \pm 6\%$ (Tabelle 14) und bestätigte sowohl die gewählten Mengen als auch die Gaschromatographie als geeignete Nachweismethode. Eine Differenz der Toluolmenge im Edukt zu den addierten Mengen von Produkt und Abfall ist möglichweise auf eine Haftung des Toluols an den Schlauch- bzw. Glockenwänden zurückzuführen oder auf einen Übergang von Toluol in die Gasphase. Dieses gasförmige Toluol ist am ehesten im kleinen Totraum des Eduktbecherglases verblieben welches, um ein Entweichen zu verhindern, mit

Parafilm verschlossen wurde. Eine weitere Ursache könnte auch eine initial unzureichende Homogenisierung gewesen sein. Trotz optimierter Homogenisierung war jedoch weiterhin ein Verlust von Toluol messbar. Für die Versuchsreihen war diese geringe Differenz aufgrund der konstant gemessenen Ergebnisse bzw. Toluolverteilung in Produkt und Abfall nicht relevant. Erwartungsgemäß fand sich das meiste Toluol im Edukt, das wenigste im Produkt. Hinsichtlich der Probenverarbeitung wurde untersucht, ob eine Messung von Toluol in den Proben auch nach einer Lagerzeit über 120 Minuten möglich ist. In Tabelle 15 wird ersichtlich, dass Toluol zuverlässig auch nach einer längeren Lagerzeit gemessen werden kann.

Um die Versuche mit einer Glocke pro Versuchsreihe durchführen zu können, wurde überprüft, ob sich eine Kontamination von Toluol in Glocke und Schlauchsystem nach dem Spülen mit NaCl-Lösung findet. In Tabelle 18 wird ersichtlich, dass nur eine geringe Kontamination vorliegt und somit eine Glocke pro Versuchsreihe verwendet werden konnte. Um residuelles Toluol in den Schläuchen bzw. der Glocke möglichst zu entfernen, wurde nach jedem Versuch ein Waschen der Schläuche und der Glocke mit NaCl Lösung durchgeführt.

5.1.2 Elimination von Toluol

Um die Elimination von Toluol mit anderen plasmatisch gelösten Substanzen wie zum Beispiel Eiweiß oder Kalium vergleichen zu können, musste ausgeschlossen werden, dass Toluol an den Erythrozyten haftet. Abbildung 22 zeigt, dass Toluol nicht an den Erythrozyten haftet und die Berechnung der Elimination somit analog zu den anderen Substanzen erfolgen konnte. Der Eliminationsmechanismus wird durch die Wiederfindung von Toluol im Abfall (Abbildung 19) bestätigt. Toluol wurde mit einer durchschnittlichen Eliminationsrate von $92 \pm 2,5\%$ aus dem Wundblut entfernt. Dies entspricht der im QM geforderten Eliminationsrate von über 90 %.¹² Wie in Abbildung 21 dargestellt ist die Elimination von Toluol konzentrationsunabhängig und somit vergleichbar mit der Elimination anderer Substanzen wie z.B. Kalium oder Fett.⁴⁷

Die zur Berechnung der Eliminationsrate verwendeten Volumina wurden zum einen von den Sensoren des Autotransfusionsgeräts ermittelt und angezeigt. Zum anderen wurden diese Volumina mit einem Messzylinder manuell nachgemessen. Es zeigte sich eine Differenz zwischen manuell gemessenen und durch MAT-Gerät

angezeigten Volumina. Diese Differenz wurde bereits in Studien mit dem Autotransfusionsgerät XTRA nachgewiesen.⁴⁷ Für den klinischen Alltag ist diese Differenz allerdings von untergeordneter Bedeutung.

5.1.3 Einfluss des verwendeten Waschprogramms und der Glockengröße

In Studien mit dem Autotransfusionsgerät XTRA wurde die Eliminationsrate zum einen durch die verwendete Glocke und zum anderen durch das verwendete Programm beeinflusst.⁴⁸ Bei der Verwendung einer 225 mL-Glocke ist die Eliminationsrate beispielsweise geringer als bei der in dieser Arbeit verwendeten 175 mL-Glocke. Diese Glocke führt zu einer effizienten Elimination sowohl bei einem Hämatokritwert von 10 % als auch bei dem für die Experimente verwendeten Hämatokritwert von 20 %. Ein Testbluthämatokrit von 20 % entspricht dem üblichen Wundbluthämatokrit bei herzchirurgischen Eingriffen. Für die Experimente wurde das Programm P_{opt} verwendet. Dieses Programm wurde für eine hohe Erythrozytenausbeute sowie effiziente Plasmaelimination konzipiert. Möglicherweise führt die Verwendung eines Notfallprogramms zu einer erniedrigten Elimination von Toluol. Für andere plasmatisch gelöste Substanzen wurde dies in einer Studie von Seyfried et al. bei Verwendung des Notfallprogramms beschrieben.⁴⁸

5.2 Experimentelle Rauchexposition Wundblut

Für den zweiten Versuchsteil wurde Schweinehaut verwendet und Rauch mittels eines Elektrokauters erzeugt. Schweinehaut wird aufgrund ihrer Eigenschaften häufig in Studien zur Simulation menschlicher Haut verwendet.⁴⁹ Bei zwei Versuchen wurde das Reservoir mit Eis auf ca. 6 °C gekühlt. Dies führte zu einer höheren Intensität der nachgewiesenen Features, bedingt durch eine bessere Löslichkeit der Gase in Flüssigkeit bei niedrigen Temperaturen, was auf eine Herkunft der Substanzen aus dem Rauch schließen lässt. Der Wechsel des Aggregatzustandes von flüssig zu fest des Reservoirinhaltens wurde vermieden. Für die klinische Beurteilung ist dies allerdings von untergeordneter Bedeutung, da die im Operationssaal übliche Raumtemperatur 20 °C beträgt. Für das Kauterisieren wurde bewusst die hohe Stromstärke von 60 Watt gewählt, um eine möglichst große Menge Rauch zu erzeugen und mögliche Schadstoffe im Reservoir sowie im Produkt besser detektieren zu können.

In einer Studie von Hui et al. wurde eine Stromstärke von 40 Watt verwendet. Dadurch konnte eine ausreichende Menge chirurgischen Rauchs erzeugt werden.⁵⁰ Die höchste Konzentration an chirurgischem Rauch fand sich über der Inzisionsstelle. Bei den Versuchen mit Schweinehaut wurde der Rauch direkt über der Inzisionsstelle abgesaugt. Die Ergebnisse der Studie von Hui et al. lassen nun den Schluss zu, dass während der Versuche die höchste Konzentration von chirurgischem Rauch in das Reservoir gesaugt wurde und somit eine repräsentative Menge erfasst werden konnte.⁵⁰ Insgesamt wurde 15 Minuten am Stück kauterisiert und an drei Zeitpunkten Proben entnommen, um einen möglichen Anstieg der Kontamination bzw. mögliche Spitzen abzubilden. Zudem wurde Wundblut ins Operationsgebiet geträufelt, um eine intraoperative Blutung zu simulieren. Außerdem wurde ein „Priming“ des Reservoirs mit Blut durchgeführt, um eine bessere Durchmischung des Rauchs mit dem Wundblut zu gewährleisten. Die Messungen wurden zu verschiedenen Zeitpunkten durchgeführt, da je nach Eingriff die Höhe der Rauchpartikel variieren kann.

In einer Studie von Ragde und Kollegen konnte gezeigt werden, dass es je nach Eingriff zu unterschiedlichen Zeitpunkten zu einem Anstieg der Partikelkonzentration kommen kann.⁵¹ Daher kann ein möglicher Anstieg der Kontamination bei längerer Kauterzeit nicht ausgeschlossen werden. Je nach Eingriff kann es aber auch schon zu Expositionsspitzen zu Beginn der Operation kommen.⁵¹

Eine Arbeit von Andreasson und Kollegen konnte im chirurgischen Rauch während Peritonektomien polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe nachweisen. In dieser Studie wurde ein Zusammenhang zwischen erhöhtem Blutverlust und einem Anstieg der polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffe nachgewiesen. Als mögliche Ursache wurde ein Verbrennen der Blutbestandteile mit entsprechend erhöhter Freisetzung der polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffe diskutiert.⁵² Die Freisetzung von Schadstoffen unterscheidet sich auch von Gewebe zu Gewebe. Beim Verbrennen von Muskelgewebe werden z.B. vermehrt Aldehyde und Ketone freigesetzt, beim Kauterisieren von Leber- bzw. Fettgewebe hingegen Kohlenmonoxid und Cyanide. Beim Kauterisieren von Haut kommt es zur vermehrten Freisetzung von Xylol, Benzolen und Toluol. In der Studie wurde nur Hautgewebe verwendet. Dadurch sind durchaus nicht alle Schadstoffe, die bei chirurgischen Eingriffen freigesetzt werden können vorhanden. Zudem wurde deswegen auf die Verwendung von Xylol als Internen Standard bei den Versuchsreihen mit

Schweinehaut verzichtet.⁵³ Die maschinelle Autotransfusion kommt insbesondere bei hohen Blutverlusten zum Einsatz.⁵⁴ Dies steigert möglicherweise das Risiko einer erhöhten Rauchkontamination des Wundblutes im Reservoir, da bei starker Blutung mehr Blut durch den Elektrokauter verbrannt wird und dieses Blut anschließend ins Reservoir gesaugt wird. Dieser Fall kann im experimentellen Setting nur begrenzt simuliert werden.

Eine zuverlässige Elimination der Schadstoffe ist daher von hoher Bedeutung. In Abschnitt 4.2.5 wurde die Eliminationsrate der Schadstoffe nach einer Rauchexposition von 15 Minuten berechnet. Es zeigte sich eine hohe Eliminationsrate der gefundenen Features von 97,9 %. Dies ist vergleichbar mit den bisher beschriebenen Eliminationsraten von Protein mit der im Versuch verwendeten 175 mL-Glocke und dem Programm P_{opt} .⁴⁸ Eine Verwendung des Notfallprogramms könnte zu einer reduzierten Eliminationsrate von Rauchbestandteilen führen. Für die 175 mL-Glocke wurde eine Proteineliminationsrate von über 95 % bei der Verwendung eines Notfallprogramms ermittelt.⁴⁸ Bei einer starken Blutung muss daher zwischen der potentiellen Schadstoffelimination und der schnelleren Blutaufbereitung abgewogen werden.

Eine Identifikation der im Versuch freigesetzten Substanzen mittels Gaschromatographen war nicht möglich. Ein Vergleich der Retentionszeiten mit den in Tabelle 20 aufgeführten Substanzen erbrachte keine Übereinstimmung, womit diese Substanzen ausgeschlossen werden konnten. Die fehlende positive Identifikation von Substanzen ist eine methodenimmanente Limitation dieser Studie.

5.3 Klinische Studie

In der klinischen Studie zeigten sich nur wenige prominente Features in den aus dem Reservoir entnommenen Wundblutproben bei herzchirurgischen Eingriffen. Aufgrund der wenigen bzw. kaum vorhandenen Features wurde auf eine Probenentnahme aus dem aufbereiteten Wundblut verzichtet bzw. zum Teil wurde das Blut im OP nicht mehr aufbereitet. In einer Studie von Hulme und Kollegen wurden ebenfalls Proben bei herzchirurgischen Eingriffen entnommen. Es zeigte sich eine Kontamination des aufbereiteten Wundblutes mit Zyaniden. Laut den Autoren könnten Zyanide trotz der geringen Dosis klinische Konsequenzen im Sinne von neurologischen oder kardiovaskulären Störungen verursachen. Benzole konnten im aufbereiteten Wundblut nicht nachgewiesen werden.⁵⁶ Eine Vergleichbarkeit zur aktuellen Studie

ist aufgrund von fehlenden Proben präoperativ nicht möglich. Die Ergebnisse lassen jedoch den Schluss zu, dass es trotz des Waschvorganges zu einer Kontamination des autologen Blutes mit toxischen Substanzen kommen kann. Trotz einer effektiven Reduktion von toxischen Substanzen kann die maschinelle Autotransfusion diese nicht vollständig eliminieren. Wie hoch die Mengen toxischer Substanzen im autologen Blut sind und inwieweit diese zu einer relevanten Schädigung des Patienten führt, muss in weiteren Studien eruiert werden.

Die Menge an eingesaugtem Rauch kann zudem sehr stark variieren, da die OP-Sauger für die Entfernung von Flüssigkeiten entwickelt wurden. Aufgrund der begrenzten Sogleistung durchströmt der Rauch den Sauger langsamer als bei speziellen Absauggeräten. Dies könnte zu einer erhöhten Durchmischung von Rauch und Wundblut beitragen und dadurch zu einer vermehrten Kontamination des Wundblutes führen.⁵⁵

Aufgrund der noch residuellen Kontamination und der noch bestehenden Unklarheit hinsichtlich möglicher Konsequenzen für den Patienten, sollte ein Einsaugen von chirurgischem Rauch in das Reservoir vermieden werden. Spezielle Absauger können chirurgischen Rauch zudem effizienter aus dem Operationsgebiet absaugen.^{51,55}

5.4 Einschränkungen der Studie

Die Auswertung der Proben aller Experimente erfolgte mit einem Gaschromatographen mit Flammenionisationsdetektor. Die prominenten Features, die im experimentellen Versuchsteil mit Schweinehaut und in der klinischen Studie bei Herz-Thorax-Operationen detektiert wurden, konnten nicht identifiziert werden, es konnten nur einige potentielle Produkte ausgeschlossen werden.

Dies war für diese Studie allerdings nicht relevant, da unabhängig von der Identifikation eine mögliche Kontamination von Wundblut durch Rauchgasprodukte gezeigt werden konnte. Diese Kontamination wurde durch das Waschen des Blutes mittels MAT reduziert.

Bei dem Kauterisieren der Schweinehaut, wurde eine starke Rauchexposition provoziert. Zudem wurde mit einer doppelt so hohen Leistung des monopolaren Kauters experimentiert. Dies wird jedoch im klinischen Setting nicht bzw. gegebenenfalls nur bei Vorkommen starker intraoperativer Blutungen erreicht.

Nicht jede klinische Situation war im experimentellen Modell abbildbar. Aufgrund der geringen Patientenanzahl in der klinischen Studie konnte noch keine statistisch belastbare Aussage über die Schadstoffbelastung des Wundblutes getroffen werden. Weitere Studien mit höherer Patientenanzahl, bei verschiedenen Operationen und spezifischeren Detektionsmethoden sind daher erforderlich.

6 Zusammenfassung

Chirurgischer Rauch ist eine bekannte Gefahr für das OP-Personal und möglicherweise auch für den Patienten. In chirurgischem Rauch sind eine Vielzahl toxischer Substanzen, Krebszellen und auch Viruspartikel enthalten.

Um den chirurgischen Rauch aus dem Operationsgebiet zu entfernen, werden standardmäßig chirurgische Absauger verwendet. Diese werden normalerweise für das Absaugen von Blut aus dem Operationsgebiet verwendet.

Bei der Anwendung von maschineller Autotransfusion zur Reduktion des intraoperativen Blutverlustes, wird der chirurgische Rauch zusammen mit dem Wundblut in ein Reservoir eingesaugt. Das Wundblut wird dem Patienten nach der Aufbereitung mit der maschinellen Autotransfusion wieder retransfundiert.

Gegenstand dieser Studie ist die Evaluation der Kontamination dieses Blutes durch chirurgischen Rauch.

Es wurden zwei experimentelle Versuchsreihen und eine klinische Studie durchgeführt. Im ersten experimentellen Teil wurden der in chirurgischen Rauchgasen vorkommende Schadstoff Toluol rekonstruiertem Wundblut, bestehend aus Erythrozytenkonzentraten und FFP, zugeführt. Im zweiten experimentellen Teil wurde mit einem monopolaren Elektrokauter Schweinehaut mit einer Leistung von 60 Watt kauterisiert.

In der klinischen Studie wurden Wundblutproben aus dem Reservoir von sechs Patienten, im Rahmen von herzchirurgischen Eingriffen, gesammelt und mittels GC/FID analysiert.

Das Autotransfusionsgerät XTRA war in der Lage 92 % des im Wundblut enthaltenen Toluols zu eliminieren. Die detektierten Features des zweiten experimentellen Versuchsteils, wurden zu 97,9 % eliminiert.

In der klinischen Studie wurden nur kleine Mengen an potentiellen Kontaminationen festgestellt.

Zusammenfassend konnte eine Kontamination von Wundblut durch chirurgischen Rauch sowohl experimentell, als auch klinisch nachgewiesen werden. Das Autotransfusionsgerät XTRA ist dazu in der Lage, die Kontamination von Wundblut durch chirurgischen Rauch zu reduzieren. Das Risiko für den Patienten, selbst durch

residuelle kleine Mengen an Rauchgasprodukten im Produkt der MAT, muss in weiteren Studien untersucht werden. Das Einsaugen von chirurgischem Rauch in das Reservoir der MAT sollte trotz der hohen Eliminationsraten weiterhin vermieden werden.

7 Literaturverzeichnis

1. Pineda AA, Valbonesi M. Intraoperative blood salvage. *Baillieres Clin Haematol* 1990;3: 385-403.
2. Klebanoff G. Early clinical experience with a disposable unit for the intraoperative salvage and reinfusion of blood loss (intraoperative autotransfusion). *Am J Surg* 1970;120: 718-22.
3. Kingsley JR, Valeri CR, Peters H, Cole BC, Fouty WJ, Herman CM. Citrate anticoagulation and on-line cell washing in intraoperative autotransfusion in the baboon. *Surg Forum* 1973;24: 258-60.
4. Bennett SH, Hoye RC, Riggle GC. Intraoperative autotransfusion. Preliminary report of a new blood suction device for anticoagulation of autologous blood. *Am J Surg* 1972;123: 257-60.
5. Rakower SR, Worth MH, Jr. Autotransfusion: perspective and critical problems. *J Trauma* 1973;13: 573-4.
6. Duncan SE, Edwards WH, Dale WA. Caution regarding autotransfusion. *Surgery* 1974;76: 1024-30.
7. Stillman RM, Wrezlewicz WW, Stanczewski B, Chapa L, Fox MJ, Sawyer PN. Proceedings: Serious haematological abnormalities following intra-operative autotransfusion in the dog. *Br J Surg* 1976;63: 161.
8. Keeling MM, Gray LA, Jr., Brink MA, Hillerich VK, Bland KI. Intraoperative autotransfusion. Experience in 725 consecutive cases. *Ann Surg* 1983;197: 536-41.
9. Paravicini D, Frisch R, Stinnesbeck B, Lawin P. [Intraoperative autotransfusion in extensive orthopedic interventions]. *Z Orthop Ihre Grenzgeb* 1983;121: 278-82.
10. Centers for Disease C. Possible transfusion-associated acquired immune deficiency syndrome (AIDS) - California. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1982;31: 652-4.
11. Klein AA, Bailey CR, Charlton AJ, Evans E, Guckian-Fisher M, McCrossan R, Nimmo AF, Payne S, Shreeve K, Smith J, Torella F. Association of Anaesthetists guidelines: cell salvage for peri-operative blood conservation 2018. *Anaesthesia* 2018;73: 1141-50.
12. Seyfried T, Hansen E. [Cell salvage : Scientific evidence, clinical practice and legal framework]. *Anaesthetist* 2019;68: 69-82.
13. Hansen E, Seyfried T. [Cell salvage]. *Anaesthetist* 2011;60: 381-9.
14. Gombotz H, Hofmann A. [Patient Blood Management : three pillar strategy to improve outcome through avoidance of allogeneic blood products]. *Anaesthetist* 2013;62: 519-27.
15. Shander A, Hofmann A, Gombotz H, Theusinger OM, Spahn DR. Estimating the cost of blood: past, present, and future directions. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2007;21: 271-89.
16. Bland LA, Villarino ME, Arduino MJ, McAllister SK, Gordon SM, Uyeda CT, Valdon C, Potts D, Jarvis WR, Favero MS. Bacteriologic and endotoxin analysis of salvaged blood used in autologous transfusions during cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992;103: 582-8.
17. Kang Y, Aggarwal S, Paschke AW, Freeman JA, Martin LK. Bacteriologic study of autotransfusion during liver transplantation. *Transplant Proc* 1989;21: 3538.

18. Tawes RL, Jr., Duvall TB. Is the "salvaged-cell syndrome" myth or reality? *Am J Surg* 1996;172: 172-4.
19. Cote CL, Yip AM, MacLeod JB, O'Reilly B, Murray J, Ouzounian M, Brown CD, Forgie R, Pelletier MP, Hassan A. Efficacy of intraoperative cell salvage in decreasing perioperative blood transfusion rates in first-time cardiac surgery patients: a retrospective study. *Can J Surg* 2016;59: 330-6.
20. Vonk AB, Meesters MI, Garnier RP, Romijn JW, van Barneveld LJ, Heymans MW, Jansen EK, Boer C. Intraoperative cell salvage is associated with reduced postoperative blood loss and transfusion requirements in cardiac surgery: a cohort study. *Transfusion* 2013;53: 2782-9.
21. Al-Mandhari S, Maddali MM, Al-Bahrani MJ. Cell salvage during coronary artery bypass surgery and allogenic blood exposure. *Asian Cardiovasc Thorac Ann* 2015;23: 913-6.
22. Wang G, Bainbridge D, Martin J, Cheng D. The efficacy of an intraoperative cell saver during cardiac surgery: a meta-analysis of randomized trials. *Anesth Analg* 2009;109: 320-30.
23. Society of Thoracic Surgeons Blood Conservation Guideline Task F, Ferraris VA, Brown JR, Despotis GJ, Hammon JW, Reece TB, Saha SP, Song HK, Clough ER, Society of Cardiovascular Anesthesiologists Special Task Force on Blood T, Shore-Lesserson LJ, Goodnough LT, Mazer CD, Shander A, Stafford-Smith M, Waters J, International Consortium for Evidence Based P, Baker RA, Dickinson TA, FitzGerald DJ, Likosky DS, Shann KG. 2011 update to the Society of Thoracic Surgeons and the Society of Cardiovascular Anesthesiologists blood conservation clinical practice guidelines. *Ann Thorac Surg* 2011;91: 944-82.
24. Gabel J, Westerberg M, Bengtsson A, Jeppsson A. Cell salvage of cardiotomy suction blood improves the balance between pro- and anti-inflammatory cytokines after cardiac surgery. *Eur J Cardiothorac Surg* 2013;44: 506-11.
25. Salaria ON, Barodka VM, Hogue CW, Berkowitz DE, Ness PM, Wasey JO, Frank SM. Impaired red blood cell deformability after transfusion of stored allogeneic blood but not autologous salvaged blood in cardiac surgery patients. *Anesth Analg* 2014;118: 1179-87.
26. Colwell CW, Jr., Beutler E, West C, Hardwick ME, Morris BA. Erythrocyte viability in blood salvaged during total joint arthroplasty with cement. *J Bone Joint Surg Am* 2002;84-A: 23-5.
27. Scott AV, Nagababu E, Johnson DJ, Kebaish KM, Lipsitz JA, Dwyer IM, Zuckerberg GS, Barodka VM, Berkowitz DE, Frank SM. 2,3-Diphosphoglycerate Concentrations in Autologous Salvaged Versus Stored Red Blood Cells and in Surgical Patients After Transfusion. *Anesth Analg* 2016;122: 616-23.
28. Bundesärztekammer. Querschnitts-Leitlinien (BÄK) zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten. <http://www.bundesaerztekammer.de/aerzte/medizin-ethik/wissenschaftlicher-beirat/veroeffentlichungen/haemotherapie-transfusionsmedizin/querschnittsleitlinie/2020>.
29. Bundesärztekammer. Richtlinie zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten. <http://www.bundesaerztekammer.de/aerzte/medizin-ethik/wissenschaftlicher-beirat/veroeffentlichungen/haemotherapie-transfusionsmedizin/richtlinie/2017>.
30. Hansen E, Dietrich G, Kasper S, Leidinger W, Singbartl G, Wollinsky K. Vorschläge zum internen Qualitätsmanagement bei der Retransfusion von

- intra-oder postoperativ gewonnenem Wund-Drainageblut.
Anästhesiologie&Intensivmedizin 2002;02/2002 Sonderdruck: 1-4.
31. Eickmann U, Falcy M, Fokuhl I, Ruegger M, Bloch M. Chirurgische Rauchgase. Arbeitsmed.Sozialmed.Umweltmed. 2010;46: 14-23.
 32. Andreasson SN, Anundi H, Sahlberg B, Ericsson CG, Walinder R, Enlund G, Pahlman L, Mahteme H. Peritonectomy with high voltage electrocautery generates higher levels of ultrafine smoke particles. Eur J Surg Oncol 2009;35: 780-4.
 33. Al Sahaf OS, Vega-Carrascal I, Cunningham FO, McGrath JP, Bloomfield FJ. Chemical composition of smoke produced by high-frequency electrosurgery. Ir J Med Sci 2007;176: 229-32.
 34. Alp E, Bijl D, Bleichrodt RP, Hansson B, Voss A. Surgical smoke and infection control. J Hosp Infect 2006;62: 1-5.
 35. Hollmann R, Hort CE, Kammer E, Naegele M, Sigrist MW, Meuli-Simmen C. Smoke in the operating theater: an unregarded source of danger. Plast Reconstr Surg 2004;114: 458-63.
 36. Von Burg R. Toluene. J Appl Toxicol 1993;13: 441-6.
 37. Schröder K, Sagunski H, Heinzow B. Richtwerte für Toluol und gesundheitliche Bewertung von C7-C8-Alkylbenzolen in der Innenraumluft. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz 2016;59: 1522-39.
 38. Von Oettingen WF, Neal P, Donahue D. The Toxicity and Potential Dangers of Toluene with Special Reference to its Maximal Permissible Concentration. US Public Health Service 1942;Publication No. 279.
 39. Bruckner JV, Peterson RG. Evaluation of toluene and acetone inhalant abuse. I. Pharmacology and pharmacodynamics. Toxicol Appl Pharmacol 1981;61: 27-38.
 40. Horiguchi S, Inoue K. Effects of toluene on the wheel-turning activity and peripheral blood findings in mice—an approach to the maximum allowable concentration of toluene. Journal of Toxicology Science 1977;2: 363-72.
 41. Astrand I, Ehrner S, Kilbom A, Oeveum P. Toluene exposure. I. Concentration in alveolar air and blood at rest and during exercise. Work Environ. Health 1972;9: 119-30.
 42. ATSDR. Toxicological Profile for Toluene. Agency for Toxic Substances and Disease Registry 1990.
 43. NTP Toxicology and Carcinogenesis Studies of Toluene (CAS No.108-88-3) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Inhalation Studies). Natl Toxicol Program Tech Rep Ser 1990;371: 1-253.
 44. Sorin. Die maschinelle Autotransfusion Grundlagen und Anwendungen 2014: 36ff.
 45. Agilent TI. Agilent 7890A Gaschromatograf Bedienungshandbuch 2010;3. Ausgabe.
 46. Dobrogowski M, Wesolowski W, Kucharska M, Sapota A, Pomorski LS. Chemical composition of surgical smoke formed in the abdominal cavity during laparoscopic cholecystectomy--assessment of the risk to the patient. Int J Occup Med Environ Health 2014;27: 314-25.
 47. Seyfried TF, Gruber M, Breu A, Aumeier C, Zech N, Hansen E. Fat removal during cell salvage: an optimized program for a discontinuous autotransfusion device. Transfusion 2016;56(1): 153-9.
 48. Seyfried TF, Gruber M, Streithoff F, Mandle RJ, Pawlik MT, Busse H, Hansen E. The impact of bowl size, program setup, and blood hematocrit on the

- performance of a discontinuous autotransfusion system. *Transfusion* 2017;57: 589-98.
- 49. Hwang JH, Jeong H, Lee N, Hur S, Lee N, Han JJ, Jang HW, Choi WK, Nam KT, Lim KM. Ex Vivo Live Full-Thickness Porcine Skin Model as a Versatile In Vitro Testing Method for Skin Barrier Research. *Int J Mol Sci* 2021;22.
 - 50. Hui Y, Yan J. Effect of electrosurgery in the operating room on surgeons' blood indices: a simulation model and experiment on rabbits. *J Int Med Res* 2018;46: 5245-56.
 - 51. Ragde SF, Jorgensen RB, Foreland S. Characterisation of Exposure to Ultrafine Particles from Surgical Smoke by Use of a Fast Mobility Particle Sizer. *Ann Occup Hyg* 2016;60: 860-74.
 - 52. Naslund Andreasson S, Mahteme H, Sahlberg B, Anundi H. Polycyclic aromatic hydrocarbons in electrocautery smoke during peritonectomy procedures. *J Environ Public Health* 2012;2012: 929053.
 - 53. Watters DA, Foran P, McKinley S, Campbell G. Clearing the air on surgical plume. *ANZ J Surg* 2021.
 - 54. Meybohm P, Chorapoikayil S, Wessels A, Herrmann E, Zacharowski K, Spahn DR. Washed cell salvage in surgical patients: A review and meta-analysis of prospective randomized trials under PRISMA. *Medicine (Baltimore)* 2016;95: 44-90.
 - 55. Ball K. Protecting Patients From Surgical Smoke. *AORN J* 2018;108: 680-4.
 - 56. Hulme KR, van den Burg J. Does diathermy smoke contaminate processed salvaged blood in cardiac surgery? *Perfusion* 2017;32: 656-60

8 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Prinzip der MAT.....	7
Abbildung 2: Intraoperatives Absaugen von chirurgischem Rauch mittels MAT-Sauger.....	16
Abbildung 3: Reservoir.....	18
Abbildung 4: Querschnitt einer Latham-Glocke.....	18
Abbildung 5: Schematische Darstellung des Aufbereitungsprozesses mit einer Latham Glocke.....	22
Abbildung 6: Ziele der Arbeit.....	24
Abbildung 7: Toluol als Indikatorsubstanz.....	26
Abbildung 8: Schadstoffe im Wundblut in vitro.....	28
Abbildung 9: Rekonstruiertes Wundblut.....	35
Abbildung 10: Versuchsaufbau XTRA.....	38
Abbildung 11: Versuchsaufbau Schweinehaut.....	44
Abbildung 12: Fläche der kauterisierten Schweinehaut.....	45
Abbildung 13: Monopolares Skalpell.....	45
Abbildung 14: Reservoir MAT-Gerät XTRA.....	46
Abbildung 15: Reservoir gekühlt, Rauch im Reservoir sichtbar.....	47
Abbildung 16: Schadstoffe im Wundblut in vivo.....	49
Abbildung 17: Wiederfindung Indikatorsubstanz Toluol nach MAT-Aufbereitung	55
Abbildung 18: Wiederfindung Indikatorsubstanz Toluol.....	58
Abbildung 19: Wiederfindungsmenge Toluol [%] in Produkt und Abfall nach MAT, manuelle Volumenbestimmung.....	59
Abbildung 20: Wiederfindungsrate insgesamt, Vergleich manuelle Messung vs. Messung MAT-Gerät XTRA.....	60
Abbildung 21: Konzentrationsabhängigkeit Toluol (n=5 je Gruppe).....	62

Abbildung 22: Wiederfindung Toluol [nmol] in 1,5 mL Matrix bei steigendem Anteil an Wundblut [%].....	63
Abbildung 23: Vorversuch Rauchprodukte nach Kauterisierung	64
Abbildung 24: Abnehmende Peakflächen bei zwei Features (Nr. 19 und Nr. 34) bei steigender Kauterzeit.....	65
Abbildung 25: Chromatogramm einer Wundblutprobe von kauterisierter Schweinehaut.....	66
Abbildung 26: Anzahl und Peakflächen der Features.....	67
Abbildung 27: Prominente Features, Reservoir ungekühlt.....	68
Abbildung 28: Vergleich der Features im Reservoir gekühlt vs. ungekühlt.....	69
Abbildung 29: Features im klinischen Wundblut nach Kauterisieren im OP	71

9 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Nebenwirkungen von Fremdbluttransfusionen	8
Tabelle 2: Vorteile der maschinellen Autotransfusion	10
Tabelle 3: Rauchgasbestandteile bei der Elektrokauterisation und deren berechnete Konzentration	14
Tabelle 4: Eigenschaften Toluol	14
Tabelle 5: *Spüldurchläufe, keine Probenentnahme	25
Tabelle 6: *Reservoirinhalt wurde mit MAT- Gerät XTRA gewaschen	27
Tabelle 7: Kalibrationsmischung für die Kalibration GC	31
Tabelle 8: Kalibration Menge an Toluol	32
Tabelle 9: Übersicht Vorversuche Toluol	36
Tabelle 10: Übersicht der Versuchsreihen Toluol	37
Tabelle 11: Vorversuche Rauch	42
Tabelle 12: Probenzusammensetzung	48
Tabelle 13: Herzoperationen	50
Tabelle 14: Vorversuch Indikatorsubstanz Toluol, Messbeginn nach 20 Minuten im Wärmebad	52
Tabelle 15: Vorversuch Indikatorsubstanz Toluol, Messbeginn nach 120 Minuten im Wärmebad	53
Tabelle 16: Vorversuch Zugabe 50 µL Toluol, Messbeginn nach 20 Minuten im Wärmebad	54
Tabelle 17: Volumenbezogene Absolutmengen Toluol je Kompartiment in je 1,5 mL Matrix	56
Tabelle 18: Volumenbezogene Absolutmengen Toluol nach Spülung mit NaCl-Lösung 0,9 %	57
Tabelle 19: Eliminationsrate Toluol durch MAT-Gerät XTRA	61
Tabelle 20: Identifikation potenzieller Schadstoffe im GC	65

Tabelle 21: zeitabhängige Änderungen der gemittelten Featureflächen der 8 prominenten Features.....	70
Tabelle 22: Eliminationsrate bei Aufbereitung des Edukts.....	70

10 Formelverzeichnis

Gleichung 1: Eliminationsrate von Gesamteiweiß oder Albumin (Markersubstanz) ..	11
Gleichung 2: Volumen Zellüberstand	11
Gleichung 3: Erythrozytenausbeute	11
Gleichung 4: Berechnung Konzentration (c) Toluol	32
Gleichung 5: Konzentration Toluol im Testblut bei einer angenommenen Elimination von 99%	33
Gleichung 6: Massenkonzentration Toluol	33
Gleichung 7: Volumen Toluol auf ein Liter Wundblut.....	33
Gleichung 8: Zellvolumen im Ausgangsmaterial.....	34
Gleichung 9: Bestimmung Gesamtvolumen im Ausgangsmaterial	34
Gleichung 10: Eliminationsrate Toluol	40

11 Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius	mL	Milliliter
Abb.....	Abbildung	mm.....	Millimeter
ca	zirka	mmol/L.....	Millimol pro Liter
cm	Zentimeter	MOF.....	multiple organ failure
d.h.	dass heißt	NaCl.....	Natriumchlorid
EK	Erythrozytenkonzentrat	nmol.....	Nanomol
Epo.....	Erythropoetin	pA	Picoampere
FFP.....	"fresh frozen Plasma", gefrorenes Frischplasma	pA*s	Picoampere pro Sekunde
GC.....	Gaschromatograph	ppm.....	"parts per million"
GvH.....	Graft versus Host	QM.....	Qualitätsmanagement
h.....	Stunde	rpm.....	"revolutions per minute", Umdrehung pro Minute
H ₂ O	Wasser	Tab	Tabelle
HKT	Hämatokrit	TRALI	transfusionsassoziierte Lungeninsuffizienz
IE.....	Internationale Einheit	TRIM.....	transfusionsassoziierte Immunmodulation
IS.....	Interner Standard	Waschlsg	Waschlösung
kHz.....	Kilohertz	z.B.	zum Beispiel
L.....	Liter	µg	Mikrogramm
LOS.....	length of stay	µL	Mikroliter
m.....	Meter	µm.....	Mikrometer
MAT	maschinelle Autotransfusion		
mg	Milligramm		

Erklärung zum Promotionsverfahren

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe der Quelle gekennzeichnet. Insbesondere habe ich nicht die entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- bzw. Beratungsdiensten (Promotionsberater oder andere Personen) in Anspruch genommen. Niemand hat von mir unmittelbar oder mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeit erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen. Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Potsdam, den

Patricia Fiedler

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich von Herzen allen Personen danken, die mich bei der Anfertigung dieser Dissertation unterstützt haben.

Mein Dank gilt Herrn PD Dr. Timo Seyfried und Herrn PD Dr. Michael Pawlik für die freundliche Überlassung des Themas und die konstruktive Zusammenarbeit.

Besonders möchte ich mich bei Herrn Dr. Michael Gruber und Herrn Simon Tümmeler für die exzellente Betreuung und Unterstützung bei der Umsetzung der gesamten Arbeit bedanken:

Herrn Dr. Michael Gruber für den äußerst hilfreichen und wertvollen Beistand bei der Auswertung der vorliegenden Arbeit und die dabei entgegengebrachte Geduld über die Jahre.

Herrn Simon Tümmeler für die Hilfe bei der Ausarbeitung und Durchführung der praktischen Versuche.

Und dem gesamten Team des Forschungslabors Anästhesiologie für die freundliche Einweisung und Einarbeitung in die Arbeitsmethoden.

Sehr dankbar bin ich meiner Familie und meinen Freunden für die Motivation, die moralische Unterstützung und vor allem, dass sie immer für mich da sind und mir während des Studiums und der Promotionszeit stetigen Rückhalt gegeben haben. Insbesondere danke ich auch meiner Schwester und Jan-Kristof für die Durchsicht dieser Arbeit.

Abschließend danke ich meinem Freund, der mir immer mit Rat und positivem Zuspruch zur Seite steht und mich bei der Erstellung dieser Dissertation maßgeblich unterstützt hat. Ihm widme ich diese Arbeit.