UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Aus dem Institut für Transfusionsmedizin des Universitätsklinikums
Hamburg-Eppendorf
Direktor: Prof. Dr. med. P. Kühnl

Qualität von Leukozyten-depletierten Erythrozyten-Konzentraten in Abhängigkeit von der Ausgabe- und Rücknahmehäufigkeit ins Depot

Dissertation
Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin dem
Fachbereich Medizin der Universität Hamburg
vorgelegt von

Dinah Julia Hillmann, geb. Spindler
aus Frankfurt am Main

Hamburg
2010

Angenommen von der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 31.08.2010

Veröffentlicht mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. P. Kühnl

Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: Prof. Dr. U. Budde

Prüfungsausschuss, dritte/r Gutachter/in: PD Dr. E. Horn

Qualität von Leukozyten-depletierten Erythrozyten-Konzentraten in Abhängigkeit von der Ausgabe- und Rücknahmehäufigkeit ins Depot

INHALTSVERZEICHNIS

1 Aufgabenstellung 1

2 Einleitung 1

2.1 Aufbau und Funktion von Erythrozyten *2*

2.2 Konservierung von Blut und Blutbestandteilen *5*

2.3 Verhalten und Veränderungen von Erythrozytenkonzentraten während der Lagerung *9*

3 Material und Methoden 14

3.1 Leukozyten-depletierte Erythrozyten-Konzentrate in additiver Lösung (EKSF) *14*

3.2 Sterile Probenentnahme zur Untersuchung *16*

3.3 Temperaturmessung *16*

3.3.1 Methodenentwicklung und Validierung 17

3.3.1.1 Oberflächentemperatur im Vergleich zum Beutelinhalt 17

3.3.1.2 Temperaturverlauf bei Lagerung bei Raumtemperatur 17

3.3.1.3 Genauigkeit des verwendeten Thermometers 18

3.3.2 Temperaturmessung zurückgenommener Konserven 18

3.4 Vitalitätsanalytik *19*

3.4.1 Konzentration „Freies“ Hämoglobin (fHb) 20

3.4.2 pH- Bestimmung 21

3.4.3 Extraerythrozytäre Natrium (Na^+) - und Kalium (K^+) - Konzentration 21

3.4.4 Intraerythrozytäre 2,3-Diphosphoglycerat (2,3-DPG) - Konzentration 22

3.4.5 Intraerythrozytäre Adenosintriphosphat (ATP)-Konzentration . 23

3.4.6 Hämatokrit (HKT) 25

4 Ergebnisse 25

4.1 Analyse von Daten aus regelmäßigen Qualitätskontrollen (Zeitraum 2001-2006) *25*

4.1.1 Extrazelluläre Kaliumkonzentration 27

4.1.2 Hämolyserate 28

4.1.3 pH-Wert 29

4.1.4 Korrelationen zwischen Qualitätsparametern 30

4.1.4.1 Abhängigkeit der Hämolyserate von der extrazellulären Kaliumkonzentration 30

4.1.4.2 Abhängigkeit der Hämolyserate vom pH-Wert 32

4.1.4.3 Abhängigkeit der extrazellulären Kaliumkonzentration vom pH-Wert 33

4.2 Temperaturmessung an und in EKSF *34*

4.2.1 Oberflächentemperatur im Vergleich zum Beutelinhalt 34

4.2.2 Temperaturverlauf bei Lagerung bei Raumtemperatur 36

4.2.3 Genauigkeit des verwendeten Thermoelement-Thermometers 37

4.3 Konservenqualität in Abhängigkeit von der Temperatur, dem Alter und der Rücknahmehäufigkeit *38*

4.3.1 Temperaturabhängige Veränderungen der Vitalitätsparameter nach einmaliger Ausgabe und Rücknahme 38

4.3.1.1 Hämolyserate 39

4.3.1.2 pH-Wert 40

4.3.1.3 Extrazelluläre Kaliumkonzentration 40

4.3.1.4 Extrazelluläre Natriumkonzentration 41

4.3.1.5 Intrazelluläre 2,3-DPG-Konzentration 42

4.3.1.6 Intrazelluläre ATP-Konzentration 43

4.3.1.7 Hämatokrit 44

4.3.1.8 Korrelation zwischen ATP und extrazellulärer Kaliumkonzentration 45

4.3.2 Altersabhängige Veränderungen der Vitalitätsparameter nach einmaliger Rücknahme 46
4.3.2.1 Extrazelluläre Kalium-Konzentration 46
4.3.2.2 Intrazelluläre 2,3-DPG-Konzentration 47
4.3.2.3 pH-Wert 48
4.3.3 Temperaturverteilung der zurückgenommenen Erythrozyten-Konzentrate 49
4.3.4 Veränderung der Vitalitätsparameter in Abhängigkeit von der Ausgabe-/Rücknahmehäufigkeit 50

5 Diskussion 52

5.1 Diskussion der Analyse der Daten aus den regelmäßigen Qualitätskontrollen (Zeitraum 2001 – 2006) *52*

5.2 Diskussion zur Temperaturmessung an und in EKSF *54*

5.3 Diskussion zur Konservenqualität in Abhängigkeit von der Temperatur, dem Alter und der Rücknahmehäufigkeit *55*

6 Zusammenfassung 60

7 Literaturverzeichnis 63

8 Abbildungsverzeichnis 71

9 Tabellenverzeichnis 72

10 Anhang 73

11 Danksagung 88

12 Lebenslauf 89

13 Eidesstattliche Erklärung 90

1 Aufgabenstellung

Die Arbeit soll die Frage beantworten, welche Auswirkungen Konservenalter, Rücknahmehäufigkeit in das Depot und Temperaturveränderungen auf Leukozyten-depletierte Erythrozytenkonzentrate in additiver Lösung haben.
Dazu sollen zum einen vorliegende Daten aus langjährigen Qualitätskontrolluntersuchungen ausgewertet werden. Darüber hinaus ist ein Verfahren zu entwickeln, mit dem zuverlässig durch Bestimmung der Außentemperatur des Beutels auf die Temperatur seines Inhalts geschlossen werden kann. Damit sollen die Temperaturen von Erythrozyten-Konzentraten gemessen und in Beziehung zu den gleichzeitig erhobenen Vitalitäts- und Qualitätsparametern bei der Konservenrücknahme gesetzt werden.

2 Einleitung

Ein Teilgebiet der modernen Transfusionsmedizin sind Techniken und Verfahren, die sich mit dem Gewinnen und Haltbarmachen von Blutkomponenten befassen. Die getrennte Lagerung von verschiedenen Blutkomponenten bei unterschiedlichen Bedingungen (Raumtemperatur, gekühlt oder tiefgefroren) eröffnet die Möglichkeit, stets Produkte von hoher Qualität zur Verfügung stellen zu können. Hierzu ist jedoch eine Abstimmung der einzelnen Schritte wie der Blutgewinnung, Komponentenherstellung, Lagerung und Qualitätssicherung notwendig.

Die Sicherung der Bereitstellung von Blutprodukten wird durch die große Nachfrage im klinischen Alltag vorangetrieben. Moderne Hochleistungsmedizin ist ohne eine klinisch orientierte Transfusionsmedizin nicht möglich. Jedoch wird der Patient wie bei jedem anderen verabreichten Arzneimittels auch mit den Risiken von Blutkonserven konfrontiert, das sind z.B. unerwünschte Immunreaktionen oder Infektionen.

Erythrozytenkonzentrate sind die am häufigsten transfundierten Blutkomponenten. Sie werden hauptsächlich intra- und postoperativ bei akutem Blutverlust sowie bei chronischen Anämien eingesetzt [1;73]. Daher ist die Kontrolle und Sicherung ihrer Qualität von großer Bedeutung.

Heute werden Erythrozytenkonzentrate hauptsächlich aus Vollblutentnahmen gewonnen. Daneben besteht aber noch die Möglichkeit, sie mittels Cytapherese herzustellen. Bei der Gewinnung aus antikoaguliertem Vollblut wird dieses zunächst zentrifugiert und buffy-coat sowie Plasma werden mit Separatoren abgetrennt. Das Erythrozyten-Sediment wird (falls nicht bereits das Vollblut zur Leukozyten-Depletion gefiltert wurde) filtriert und in ca. 80-100 ml additiver Lösung aufgeschwemmt, wobei Additivlösungen unterschiedlicher Zusammensetzung bekannt sind. Dies dient der Verbesserung der Lagerbarkeit der Erythrozyten. Das so entstandene Erythrozytenkonzentrat kann bei 4 ± 2 °C für 42 bis 49 Tage in Abhängigkeit von der eingesetzten Additivlösung gelagert werden [21].
Erythrozytenkonzentrate enthalten typischerweise 50-60 g Hämoglobin [66], in Europa ist festgelegt, dass sie mindestens ca. 40 g pro Einheit enthalten [17]. Dies entspricht 8-10% des Erythrozytenvolumens eines 70 kg schweren Menschen. Ein Erythrozytenkonzentrat würde bei einem erwachsenen Menschen den Hämoglobingehalt um 1,0 bis 1,5 g/dl sowie den Hämatokrit um 3 bis 5% erhöhen. Man geht heute davon aus, dass transfundierte Erythrozyten eine mittlere Überlebenszeit von ca. 60 Tagen haben [15;21;49].

Der Transport von Erythrozyten-Konzentraten ist bei Einhaltung von Temperaturen zwischen 1-10 °C möglich [1;15;17]. Eine Rücknahme von ausgegebenen Erythrozyten-Konzentraten ist nur bei Einhaltung entsprechender Lagerungs- und Transportbedingungen möglich.

2.1 Aufbau und Funktion von Erythrozyten

Erythrozyten sind auf den Transport des Sauerstoffs zum Gewebe und den Abtransport von CO_2 zur Lunge spezialisiert. Anders als andere „Zellen“ haben sie keinen Kern, keine intrazellulären Membranen und keine Kompartimente wie Mitochondrien. Ebenso haben sie die Fähigkeit zur Zellteilung verloren. Ihre Überlebensrate in vivo beträgt im Mittel 120 Tage. Stoffwechselmöglichkeiten wie membrangebundene Biosynthesen, Energiegewinnung durch oxidative Phosphorylierung und sauerstoffverbrauchende Stoffwechselprozesse sind nicht vorhanden [7;8;27;44].

Erythrozyten gewinnen ihre Energie durch anaerobe Glycolyse (Embden-Meyerhof-Weg), dessen Endprodukte Lactat und H^+-Ionen sind. Aus 1 mol Glucose werden unter

Verbrauch von 2 mol Adenosintriphosphat (ATP) 4 mol ATP gebildet, welches einer positiven Energiebilanz von 2 mol entspricht [7;48]. Das gebildete ATP wird unter anderem für aktive Ionen-Transporte gebraucht. Erythrozyten besitzen aber auch eine aktive membranständige Na/K-ATPase, die eine hohe intrazelluläre Kaliumionen- (K^+) und eine niedrige intrazelluläre Natriumionen- (Na^+) Konzentration aufrechterhält.
Ferner nutzten Erythrozyten das ATP zur Aufrechterhaltung ihrer Form und zur Synthese von Gluthation. Dieses schützt Hämoglobin, Enzyme und Membranproteine der Erythrozyten vor Oxidation, die wegen des besonders hohen Sauerstoffpartialdrucks in den Erythrozyten, leicht erfolgen kann [44;60].

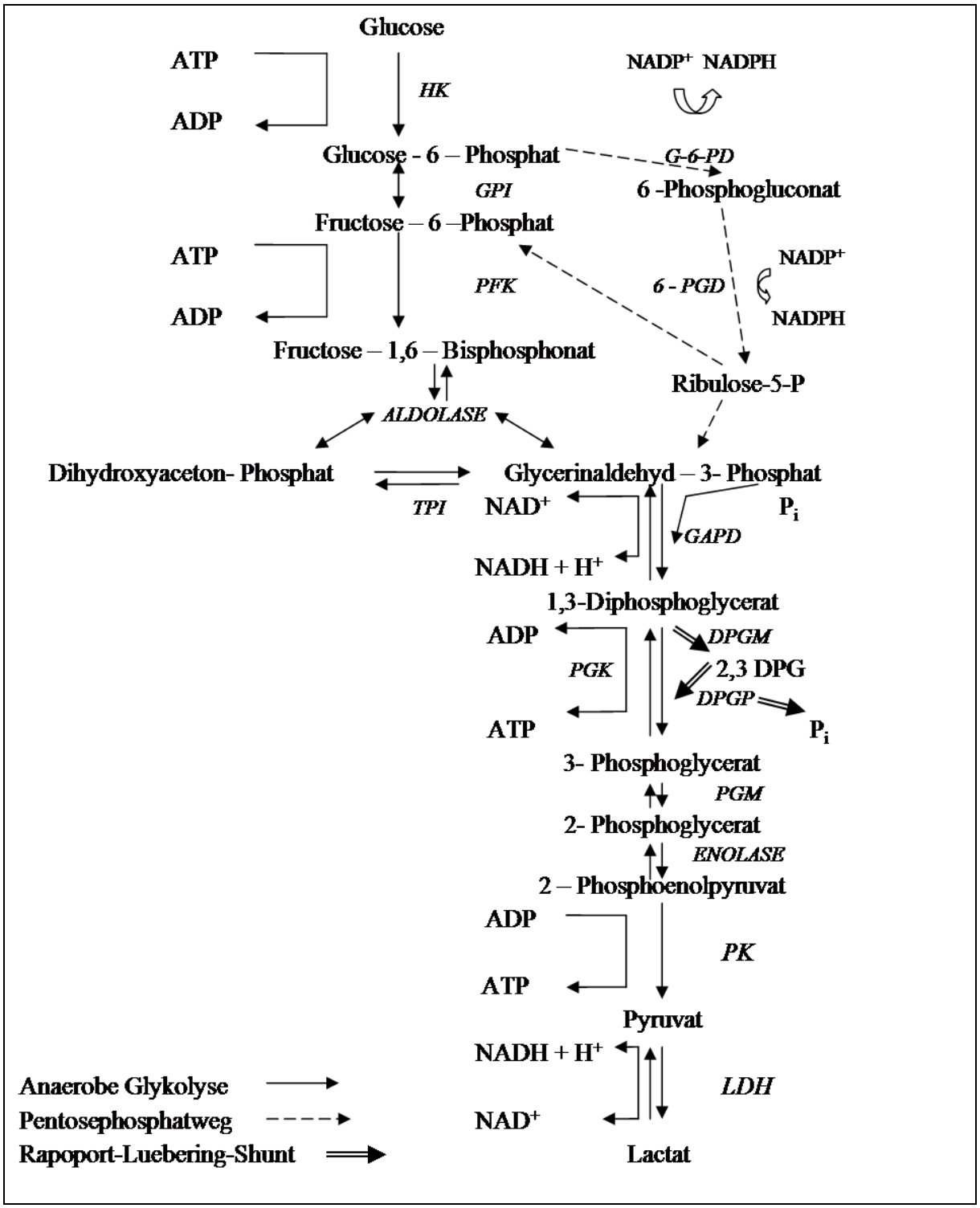


Abb. 1: Glykolyse, Pentosephosphatweg und Rapoport-Luebering-Shunt der Erythrozyten [8]. Die beteiligten Enzyme (bzw. ihre Abkürzungen) sind kursiv dargestellt.

Während der größte Anteil (90%) von Glucose direkt über die anaerobe Glycolyse verstoffwechselt wird, wird ein Teil (10%) über den Pentosephosphatweg (Dickens-Horecker-Shunt) abgebaut [48]. Hierbei werden NADPH, CO_2 und Ribulose-5-Phosphat gebildet.

Der Pentosephosphatweg dient vor allem der Bereitstellung von NADPH. Das Nukleotid wirkt an der Aufrechterhaltung des Gluthationspiegels und an der Entgiftung von Peroxiden mit. Ribulose-5-Phosphat wird durch eine Isomerase zu Pentose Ribose-5-Phosphat umgewandelt [44]. Diese wird zur Synthese von Phosphoribosylpyrophosphat (PRPP) benötigt, mit dem Erythrozyten Nukleotide bilden und ihren ATP-Spiegel aufrecht erhalten können [44]. Dieser Vorgang funktioniert auch, wenn nicht ausreichend ATP zur Verfügung steht [8].

$$\text{ADENIN} + \text{PRPP} \xrightarrow{1} \text{AMP} + \text{PP} \xrightarrow{2} \text{ADP} \xrightarrow{3} \text{ATP}$$

Enzyme:
1: Adenin-Phosphoribosylpyrophosphattransferase
2: Adenylatkinase
3: Phosphorylierung in der Glykolyse

Abb. 2: ATP-Regeneration [7]

Während der anaeroben Glycolyse wird über den Rapoport-Luebering Shunt 2,3-DPG gebildet. In anderen Zellen ist dies ausschließlich ein Zwischenprodukt der Glycolyse. Im Erythrozyten wird es in besonders großen Mengen produziert [8]. 2,3-DPG interagiert mit Hämoglobin und beeinflusst dessen Sauerstoffaffinität. Eine niedrige 2,3-DPG Konzentration führt zu einer erhöhten Sauerstoffaffinität des Hämoglobins, was einerseits eine erleichterte Sauerstoffaufnahme in der Lunge bewirkt, andererseits aber eine erschwerte Sauerstoffabgabe im Gewebe zur Folge hat [68]. Dies ist vor allem klinisch bedeutsam.

2.2 Konservierung von Blut und Blutbestandteilen

Erythrozytenkonzentrate (EK) werden bei ca. 4 ± 2 °C gelagert. Die niedrige Lagerungstemperatur reduziert den Vorgang der anaeroben Glycolyse ca. um das 40-fache, jedoch bleiben die Erythrozyten prinzipiell trotzdem metabolisch aktiv und verbrauchen Energie [37]. Daher werden die EK mit verschiedenen Stabilisatoren und additiven Lösungen versetzt. Diese Lösungen enthalten in der Regel Glucose, durch

deren Abbau Energie zur Verfügung gestellt wird. Die vitalen Erythrozytenfunktionen werden aufrechterhalten und die Lebensdauer verlängert [1;14;61].

Bei den verwendeten Stabilisatoren handelt es sich um gerinnungshemmende Flüssigkeiten, welche weitgehend die natürlichen Eigenschaften der Erythrozyten erhalten [14]. Die Zusammensetzung beeinflusst die Haltbarkeit und Qualität der Blutkonserve [16]. Die Entwicklung und der Einsatz von Stabilisatoren stellten einen wichtigen Meilenstein in der Geschichte der Transfusionsmedizin dar, denn durch ihre Verwendung konnten Blutkonserven über längere Zeit gelagert werden. Der erste in diesem Zusammenhang zu nennende Stabilisator für Vollblut war der ACD-Stabilisator. Die Lagerungszeit einer solchen Konserve betrug 21 Tage. Die Bestandteile des in Deutschland derzeit meist verwendeten Stabilisators (CPD) sind Natriumcitrat, Phosphat, Glucose und Zitronensäure.

Das Natriumcitrat verhindert die Blutgerinnung aufgrund seiner hohen Bindungsfähigkeit für ionisiertes Calzium [1;10;21;60;61]. In geringen Mengen ist es unbedenklich und wird in der Leber abgebaut. Bei der heute üblichen Komponententherapie wird es wegen der Abtrennung des Plasmas und des Buffy-Coats praktisch quantitativ von den Erythrozyten abgetrennt. Citrat-bedingte Nebenwirkungen bei EK sind deshalb nur bei Massivtransfusionen in Erwägung zu ziehen [60].
Ferner verhindert Natriumcitrat eine intraerythrozytäre Calziumakkumulation während der Lagerung, welches sich positiv auf die Erythrozytenverformbarkeit und deren 24 h Überlebensrate auswirkt [28]. Ein weiterer Effekt von Natriumcitrat ist, dass der 2,3-DPG Spiegel besser erhalten werden kann [39].
Zur Aufrechterhaltung des Zellstoffwechsels wird Glucose verwendet. Diese geht als Substrat in die anaerobe Glykolyse ein und dient als Energielieferant [1;21;37], siehe auch Abb.1.

Der Einsatz von Zitronensäure verhindert ein Karamellisieren der Glucose während des Sterilisationsprozesses durch Hitze [7;21;60]. Gleichzeitig kommt es durch die Zitronensäure zu einem Abfall des pH-Wertes, welches zu Schäden an den Erythrozyten führen kann. Ein zu niedriger pH-Wert blockiert die azidoseempfindliche Hexokinase als Schlüsselenzym der Glykolyse und kann somit zu einer Erschwerung der Bereitstellung von ATP bzw. 2,3-DPG führen [1;21;61].

Aus diesem Grunde wurde der CPD-(Citrat-Phosphat-„Dextrose“(=Glucose))-Stabilisator entwickelt. Neben den oben beschriebenen Inhaltsstoffen enthält er weniger Zitrat und zusätzlich Natriumphosphat als Puffersubstanz als das ACD. Der Phosphatpuffer verhindert ein zu großes Absinken des pH-Wertes. Außerdem wird die Hexokinase und Phosphofruktokinase stimuliert. Die Folge ist eine vermehrte ATP-Synthese, ein länger aufrechterhaltener ATP-Spiegel sowie eine Verlangsamung des 2,3-DPG Abfalls [7;11;21;48]. Aufgrund des langsameren 2,3-DPG-Abfalls wird die ungünstige Linksverschiebung der Sauerstoffdissoziationskurve im Sinne des Valdis-Kennedy-Effekts reduziert [21].
Der pH-Wert einer CPD-Konserve liegt initial bei ca. 7,2 und reduziert sich während der Lagerung auf ca. 6,8. Dies kommt der Lagerung zu gute, da in einem leicht sauren Milieu mit einem pH von 7,2-6,8 der ATP-Gehalt stabil bleibt [21]. Mit CPD war früher eine Vollblutkonserve 21 Tage lagerbar.
Die CPD-Lösung ist heute der verbreiteteste Primärstabilisator bei der Vollblutenthnahme [38;60].

Blutkonserven mit Heparin als Antikoagulanz sind heutzutage eine absolute Rarität. Sie werden nur in den Fällen eingesetzt, in denen die Citratwirkung auf jeden Fall vermieden werden muss, wie z.B. bei intrauterinen Transfusionen und Blutaustausch Neugeborener. Heparin kann durch Protaminsulfat sofort neutralisiert werden. Wegen der Unreife der Leber und Isocitrat Dehydrogenasemangel sind Früh- und Neugeborene durch Citratintoxikation und Ca^{2+} Abfall gefährdet. Heparin hat darüber hinaus prinzipiell den Vorteil, dass es den pH-Wert nicht beeinflusst. Die zeitlich stark begrenzte und von Konserve zu Konserve deutlich variierende gerinnungshemmende Wirkung des Heparins schränkt seinen Einsatzbereich jedoch stark ein. Eine Heparinkonserve sollte daher nicht mehr als 24 h gelagert werden [21;61].

Zur Prüfung von Stabilisatoren und Additivlösungen wird die prozentuale Überlebensrate transfundierter Erythrozyten 24 h nach Transfusion gemessen. Erythrozyten werden mit dem Isotop ^{51}Cr radioaktiv markiert und der Abfall der Radioaktivität im zeitlichen Ablauf gemessen [21;30;60]. Die prozentuale Überlebensrate der Erythrozyten liegt bei den heute üblichen Erythrozytenkonzentraten bei 80 % [21;45;66].

Um eine Blutkonservierung länger als 21 Tage und eine bessere Überlebensfähigkeit der Erythrozyten zu erreichen, wurden additive Lösungen entwickelt. Es handelt sich hierbei um eiweißfreie Elektrolytmedien. Die Konservierungsdauer konnte dadurch erheblich gesteigert werden. Ursache hierfür ist die Förderung der ATP-Synthese und eine bessere Lebensfähigkeit der Erythrozyten.

Wie bereits beschrieben wird zunächst Vollblut entnommen und mit einem Stabilisator an der Blutgerinnung gehindert. Anschließend erfolgt eine Zentrifugation, an die sich die Abtrennung von Plasma und buffy-coat anschließt. Aus dem gewonnenen buffy-coat können Thrombozyten gewonnen werden. Das entstandene EK wird in einer additiven Lösung resuspendiert [60]. Mit diesem Verfahren wird ein Restplasmagehalt von weniger als 20 ml pro EK erreicht. Die additive Lösung übernimmt die nutriven Funktionen des Plasmas, sie ist Teil des Erythrozytenkonzentrats [60;63]. Der Hämatokrit liegt bei diesen Erythrozytenkonzentraten bei ca. 60%.

Durch den Zusatz von Natriumchlorid, Adenin und Glucose (SAG= Saline-Adenin-Glucose) konnte eine Lagerungszeit von 42 Tagen erreicht werden, sowie im Vergleich zu Vollblut eine Mikroaggregatbildung verhindert werden [29;48].

Die Purinbase Adenin diffundiert in das Zellinnere und steigert über den Pentose-Phosphatweg die ATP-Synthese [7;29;47]. Dieser Vorgang funktioniert auch bei vorliegender Blockierung der Hexokinase [61]. Ferner verbindet sich Adenin mit Phosphoribosyl-Pyrophosphat und bildet Adenosin-Monophosphat, welches zu ATP umgewandelt werden kann [37]. Der Gehalt an 2,3-DPG konnte während der Lagerung durch den Zusatz von Adenin nicht verbessert werden. Jedoch kommt es nach der Transfusion zu einer besseren in-vivo-Regeneration von sowohl ATP als auch 2,3-DPG [11;31;80].

Durch eine Zugabe von Mannit wird eine Schwellung der Erythrozyten während der Lagerung verhindert und die Hämolyserate reduziert [29;60;63]. Mannit dient ferner als Radikalfänger. Der genaue Wirkmechanismus ist jedoch nicht bekannt [12;29]. Die additive Lösung mit Mannit wird als „SAG-M“ bezeichnet und vor allem in Europa verwendet.

Es existieren verschiedene additive Lösungen. Je nach Zusammensetzung kann die Lagerungsdauer bis auf 49 Tage ausgedehnt werden. Ein Beispiel hierfür ist das in den USA verbreitete ADSOL. Die Glucose- und Mannit Konzentrationen sind hierbei höher [48]. Eine in Deutschland geläufige Additivlösung für 49 Tage Lagerung ist PAGGS-M.

Neben Stabilisatoren und additiven Lösungen nehmen auch die Behältnisse für die Erythrozytenkonzentrate Einfluss auf die Konservierbarkeit. Aus PVC-Beuteln können Weichmacher wie DEHP (Di-2-ethylhexyl-phthalat) in das Erythrozytenkonzentrat gelangen. Diese haben interessanter Weise einen stabilisierenden Effekt und wirken sich positiv auf die Hämolyserate im Sinne einer Verringerung aus [34]. Eine erhöhte Toxizität der Weichmacher ist aber bei Massivtransfusionen und Risikopatienten zu bedenken [36;37;57].

2.3 Verhalten und Veränderungen von Erythrozytenkonzentraten während der Lagerung

Im Blutkreislauf werden Erythrozyten kontinuierlich mit Plasma umspült, ausreichend mit Glucose versorgt, der pH-Wert wird reguliert und die Temperatur konstant bei 37 °C gehalten. Werden Erythrozyten jedoch als gesonderte Einheit gelagert, so kommt es zu Veränderungen, welche als „storage lesions“ bezeichnet werden. Die Erythrozyten erleiden Veränderungen in ihrer Morphologie und ihrem Stoffwechsel.

Es wird angenommen, dass für die mechanische Flexibilität der Erythrozyten die biochemische Zusammensetzung der Membran entscheidend ist. Lipidverluste während der Lagerung können die Zellmembran verändern, Proteindefekte im Zytoskelett können zu einer Sphärozytose führen und einen Anstieg der Rigidität der Zellen zur Folge haben. Diese Veränderungen gehen mit einem ATP Verlust einher [19;51]. Werden Adenin und Inosin zugesetzt, so können unter geeigneten Bedingungen Erythrozyten wieder ihre diskoide Form annehmen. Schäden bis zu einem gewissen Ausmaß sind somit reversibel und die regenerierten Erythrozyten können normale in-vivo Überlebenszeiten aufweisen [59;60;68].
Ferner kommt es während der Lagerung aufgrund von Stoffwechselstörungen zu einem Anstieg von Lactat, einer vermehrten Freisetzung von Hämoglobin und veränderten Ionenkonzentrationen. Auf einige dieser Parameter wird im Folgenden näher eingegangen.

pH-Veränderung während der Lagerung:

Der pH-Wert von venösem Nativblut liegt bei ca. 7,35 [66]. Erythrozytenkonzentrate mit additiver Lösung bei einer Temperatur von 4 °C haben zu Beginn der Lagerung einen an Normwerte grenzenden pH [42]. Im Rahmen des Eythrozytenstoffwechsels führt die Glykolyse mit Bildung von Lactat und H^+-Ionen zu einer Senkung des pH während der Lagerung [7;61]. Die Hexokinase als eines der Schlüsselenzyme der Glycolyse ist sehr azidoseempfindlich. Sinkt der pH unter 6,8 so kommt es zu einer Blockierung des Enzyms. Die Folge ist eine verminderte Bereitstellung von ATP und 2,3-DPG aus der energetischen Verwertung von Glucose [21]. Während einer 42-tägigen Lagerung mit CPD/SAG-M kann der pH Wert der Erythrozytenkonzentrate auf Werte von bis zu 6,85 absinken [68].

Der 2,3-DPG-Spiegel reagiert sensibel auf pH Schwankungen. Bereits bei pH-Werten von 7,2 -7,3 kommt es zu einer Aktivierung der Bisphosphoglyceratphosphatase und zu einem schnellen Verbrauch von 2,3-DPG [37;38;41;46]. Somit kann in Konserven mit niedrigeren pH-Werten die ATP Konzentration noch normal sein, während der 2,3-DPG Gehalt bereits signifikant reduziert ist.
Der pH-Wert wird ebenfalls durch Veränderungen der Umgebungstemperatur beeinflusst. Wird eine Erythrozytenkonserve ohne Stabilisator auf 4 °C heruntergekühlt, so resultiert daraus eine pH-Wert Steigerung um 0,6. Der entstehende leicht basische pH stimuliert die Hexokinase und Phosphofructokinase, welches den Abbau von Glucose fördert und ATP verbraucht [7;21]. Im Gegenzug erfolgt ein pH-Abfall, wenn eine vormals gekühlte Konserve auf 25 °C für 24 h erwärmt wird. Ursache hierfür ist der beschleunigte Stoffwechselkatabolismus [59].

Veränderungen im ATP Haushalt

Der ATP-Gehalt steht in unmittelbarem Zusammenhang mit der Verformbarkeit der Erythrozyten und dem Gasaustausch an der Erythrozytenmembran [28]. ATP ist u. a. für die Aufrechterhaltung der membranständigen Na^+/ K^+-Pumpe erforderlich. Verschiedene Studien weisen auf den engen Zusammenhang zwischen dem ATP-Gehalt und der 24-h-Wiederfindungsrate bei Erythrozytenkonzentraten hin [62;80].

Mit fortschreitender Lagerung der Konserven vermindert sich der ATP-Gehalt der Erythrozyten. Der Umwandlungsvorgang von ADP zu ATP ist energieabhängig und bedarf der Energiebereitstellung aus der Glycolyse. Wird diese aufgrund eines niedrigen pH-Werts blockiert, so ist die Gewinnung von ATP gestört [21;80]. Durch den Zusatz von Adenin können die Erythrozyten ATP alternativ über die Resynthese von AMP über Phosphoribosylpyrophosphat (PRPP) Energie gewinnen und somit den ATP-Gehalt während der Lagerung und eingeschränkter Glykolyse aufrechterhalten [7;61]. Trotzdem ist der ATP-Gehalt am Ende der Lagerungsdauer niedriger als am Anfang. Einheitliche Untergrenzen für den ATP-Gehalt am Ende der Lagerungszeit gibt es nicht. Werte von 1,5-2,0 µmol/gHb [26;59] bzw. 50% vom Ausgangswert [1] werden in der Literatur diskutiert.

Veränderungen Natrium- und Kalium-Konzentrationen

Während der Lagerung von Erythrozytenkonzentraten kommt es zu einer erhöhten extrazellulären Kalium- und intrazellulären Natrium-Konzentration [47;75].

Dies kann zwei Ursachen haben. Zum einen führt die Lagerung von Erythrozytenkonzentraten bei 4 °C zu einer Verlangsamung der $Na^{+/}K^{+}$-ATPase [18;37;80]. Die Folge ist ein Austreten von Kalium aus dem Zellinnern und ein Hineindiffundieren von Natrium [7]. Im Zellinneren führt die erhöhte Natriumkonzentration zu einer verminderten osmotischen Resistenz der Erythrozyten. Dieser Effekt ist reversibel und soll sich nicht signifikant auf die 24-h-Wiederfindungsrate auswirken. Der erhöhte externe Kaliumwert kann bei Massivtransfusionen zu Nebenwirkungen führen, so dass manche Autoren empfehlen, bei Neugeborenen bevorzugt nur Konserven, die nicht älter als 72 h sind, einzusetzen [61;75].

Zum anderen kann ein erhöhter extrazellulärer Kaliumgehalt ein Anzeichen von Hämolyse sein. Die Hämolyserate kann durch die Verwendung von hypotonen Lösungen beeinflusst werden. Diese bewirken einen Wassereinstrom, der zu einer Zunahme der Zellwandspannung führt, was als Ursache für die Verringerung des Membranproteinverlust vermutet wird [20]. Die Folge davon soll ein geringerer Kaliumverlust sein [25].

Veränderungen des Stoffwechsels aufgrund von Temperaturschwankungen

Die Kühlung von Erythrozyten bei 4 °C führt zu einer Verminderung der Stoffwechselaktivität. Steigt die Lagerungstemperatur, so hat dies biochemische Veränderungen zur Folge [61;63].
Bei höheren Temperaturen „altert“ das EK schneller. Eine vormals gekühlte Konserve, die erwärmt wurde, weist eine stark beschleunigte Stoffwechselaktivität der Erythrozyten auf. Es wird mehr Glucose verbraucht, die Lactat-Produktion ist gesteigert und der pH-Wert sinkt [59]. Manche Studien empfehlen eine Reduzierung der Haltbarkeit bei weiterer Lagerung [53;60]. Es wird in der Literatur aber auch diskutiert, ob eine Exposition bei Raumtemperatur für weniger als 2 h einen signifikanten Einfluss auf die Qualität von Konserven hat [59].

Veränderungen des freien Hämoglobins und der Hämolyserate

Während der Lagerung kommt es zur allmählich fortschreitenden Hämolyse von Erythrozyten. Die Folge ist eine erhöhte Konzentration von extrazellulärem „freiem“ Hämoglobin. Die genauen Gründe können vielfältig sein und sind immer noch Gegenstand der Forschung [7].

Eine mögliche Ursache scheint das Anschwellen und die Lyse der Erythrozyten aufgrund eines osmotischen Ungleichgewichts zu sein. Diesem Effekt kann durch Lösungen, welche zum osmotischen Gleichgewicht beitragen (z.B. Mannit) entgegengewirkt werden [7;38]. Zum anderen führen Faktoren wie aufgebrauchte Energiereserven und die Aktivität von proteolytischen Enzymen zu einer Alterung von Erythrozyten und nachfolgend zu deren Hämolyse [48].

Es hat sich gezeigt, dass die Weichmacher in den Kunststoff-Beuteln (PVC) sich günstig auf die Verringerung der Hämolyserate auswirken [1;24]. Daher werden heutzutage hauptsächlich Beutel aus diesem Material für die Lagerung von Erythrozytenkonzentraten verwendet [36;57].
Am Ende der Lagerung muss die Hämolyserate von Erythrozytenkonzentraten in Deutschland weniger als 0,8 % der Erythrozytenmasse betragen [15].

Veränderungen der 2,3-DPG Konzentration

2,3-DPG ist für die Fähigkeit der Erythrozyten verantwortlich, den Sauerstoff an das Gewebe abzugeben. Es lagert sich an Hämoglobin an und setzt dessen Sauerstoffaffinität herab. Ein Abfall von 2,3-DPG führt zu einer Linksverschiebung der Sauerstoffdissoziationskurve und damit zu einer erschwerten Sauerstoffabgabe der Erythrozyten im Gewebe [33;44;60].

2,3-DPG ist ein sensibler Parameter bei der Konservierung von Erythrozytenkonzentraten. Zum einen unterscheiden sich bereits anfänglich 2,3-DPG-Konzentrationen spenderabhängig, zum anderen hat der Zeitraum von der Entnahme des Vollbluts bis zur Kühlung des Erythrozytenkonzentrates nach der Herstellung Einfluss auf den anfänglichen 2,3-DPG Gehalt [37;40;47;65]. Ebenso verhält es sich mit dem Abfall der 2,3-DPG Konzentration während der Lagerung, dieser ist nicht linear [47]. Unabhängig vom Ausgangswert kommt es bei Erythrozytenkonzentraten zu einem signifikanten 2,3-DPG Abfall bereits nach einer Woche Lagerung. Nach 2 Wochen ist der Gehalt fast vollständig aufgebraucht. Dieser Abfall ist eng mit einem fallenden pH-Wert verbunden [37;38]. Additive Substanzen, die den pH-Wert erhalten, werden aus diesem Grund verwandt [41;80].

Letztlich ist die klinische Bedeutung des 2,3-DPG-Abfalls schwer zu erfassen, da Erythrozyten mit sehr niedrigen 2,3-DPG-Gehalt sich nach einer Transfusion auch wieder erholen [38;77]. 48 h post transfusionem ist ein ursprünglicher 2,3-DPG-Gehalt wieder fast vollständig hergestellt [1;27;31]. Liegt eine besondere klinische Situation vor, so wird die Gabe von möglichst frischen Erythrozytenkonzentraten empfohlen. Dies mag bei intrauterinen und Austauschtransfusionen bei Neugeborenen noch einigermaßen einfach zu bewerkstelligen sein, stößt wegen des Umfangs bei Massivtransfusionen in der Praxis jedoch häufig an Grenzen.

3 Material und Methoden

3.1 Leukozyten-depletierte Erythrozyten-Konzentrate in additiver Lösung (EKSF)

In der vorliegenden Arbeit wurden Erythrozyten-Konzentrate in additiver Lösung des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf (EKSF SAG-M UKE [im Folgenden kurz EKSF genannt]) untersucht. Die Herstellung der EKSF Konserven erfolgte am Tag der Blutentnahme (bzw. am Folgetag) aus Vollblutkonserven. Eine Vollblutkonserve enthielt ca. 450 ml Vollblut und 63 ml CPD als Ausgangsstabilisator in einem PVC Beutel. Zur Gewinnung des Erythrozyten-Konzentrates wurde ein vierfach T/B-Inline-Filter-Beutelsystem (Fa. Fresenius HemoCare, Bad Homburg, Art. Nr. T 2979/ T2933) verwendet.

Abb. 3: T/B-Inline-Filter-Beutelsystem (Photo: J. Hiller, 2006)

Die Vollblutkonserve wurde unter folgenden Bedingungen in einer Blutkonservenzentrifuge (Typ Hettich Roto Silenta/RP) zentrifugiert: 4000 g, Anlaufzeit 5 min, Plateauzeit 11 min, Temperatur 24 °C, Bremsstufe 3.

Das entstandene Erythrozyten-Sediment wurde vom buffy-coat und Plasma durch einen halbautomatischen Separator (Fa. Biotrans, Dreieich, Art. Nr. 739050) getrennt und das Sediment in den EKSF-Zielbeutel mit 80 ml additiver Lösung (SAG-M) übergeleitet. Das so entstandene Zwischenprodukt EK-S SAG-M (UKE) wurde mittels Trennversiegeln und Filtration durch Schwerkraft zur Leukozyten-Depletion in das Endprodukt EKSF SAG-M (UKE) überführt.

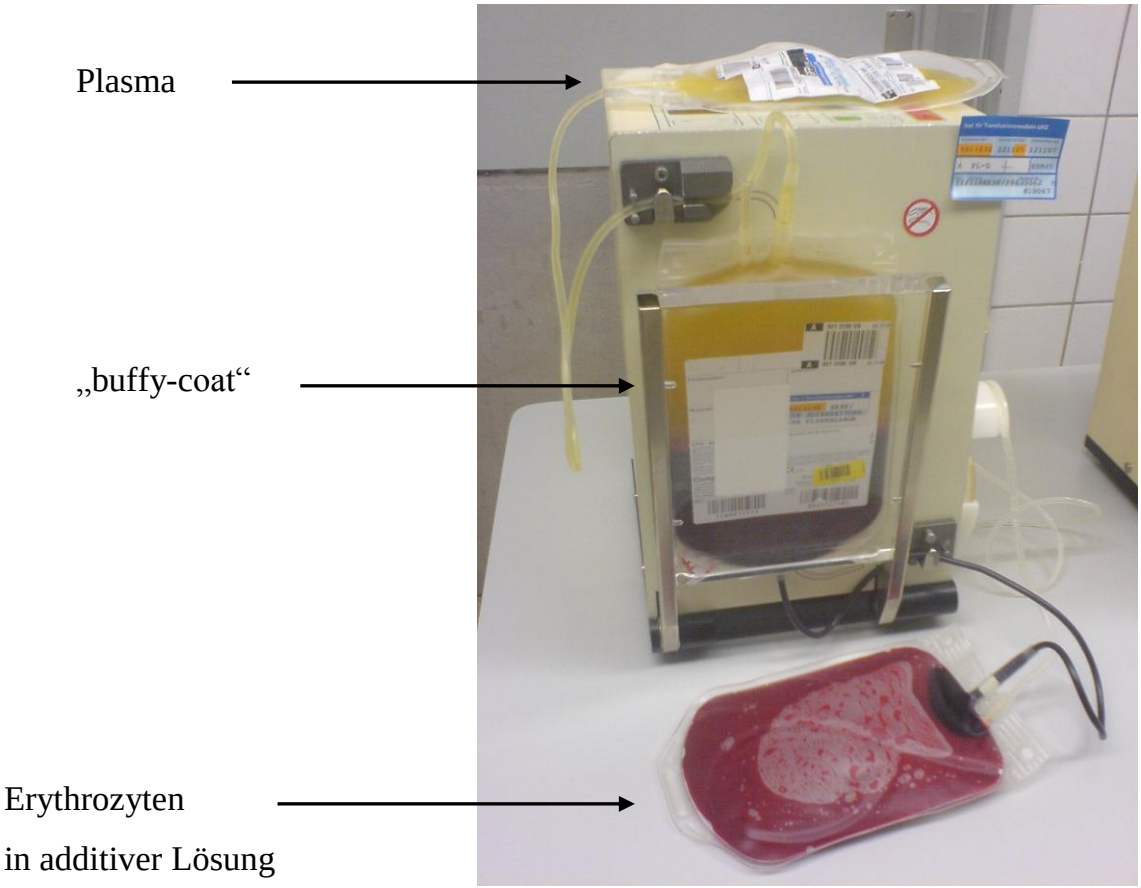


Abb. 4: Erythrozytenauftrennung (Photo: J. Hiller, 2006)

Das EKSF hat typischerweise ein Nettovolumen von 215-320 ml. Bei korrekter Lagerung von +4 ± 2 °C beträgt die Haltbarkeit dieses zugelassenen Arzneimittels 42 Tage. Die Farbe ist nach Durchmischen tiefrot und weist keine Gerinnsel oder Hämolyse auf.

3.2 Sterile Probenentnahme zur Untersuchung

Zur Untersuchung wurden Proben von ca. 20 ml entnommen. Der Vorgang gestaltete sich folgendermaßen:
Die Konserven wurden zunächst gewogen, um sicherzustellen, dass deren Gewicht im Normbereich lag (215-320 ml) und auch nach der Probenentnahme ein Mindestfüllvolumen von 215 ml nicht unterschritten wurde. Daraufhin erfolgte das sorgfältige Durchmischen des Blutbeutels. Mithilfe eines sterile Schlauchverbindungen erzeugenden Gerätes (Fa. Terumo, Frankfurt a.M., TSCD SC-201 A) wurde die Konserve mit einem sterilen Leerbeutel (Fa. Fresenius HemoCare, Bad Homburg; Compoflex, Art. Nr. P4158) verbunden. Die Naht wurde zunächst visuell überprüft und vorsichtig auf Zug belastet. Daraufhin wurde das Lumen geöffnet. Der Beutelinhalt durchlief zweimal beide Beutel, anschließend wurde der Präparatebeutel in den Probenziehungsbeutel entlüftet. Unter Kontrolle durch eine Waage (Fa. Mettler, Kirchheim, PM 4800 Delta Range) wurden ca. 20 ml Erythrozyten-Konzentrat in den Leerbeutel abgefüllt. Daraufhin wurde mit einem Handschweißgerät (Fa. Fresenius HemoCare, Bad Homburg, Art.: NPBI Composeal) die EKSF Konserve so abgetrennt, dass sich die vom Schlauchschweißgerät erzeugte Naht am Schlauch des konnektierten, ursprünglich leeren Beutels befand. Abschließend wurde die Konserve nochmals visuell kontrolliert und das Füllvolumen durch Auswiegen überprüft.

3.3 Temperaturmessung

In der vorliegenden Arbeit wurden Erythrozytenkonzentrate auf ihre Temperatur hin untersucht, die nicht transfundiert von den anfordernden Stationen des UKE zurückkamen. Dazu musste zunächst eine zuverlässige Messmethode entwickelt werden, die die Temperatur des Konserveninhalts zum Zeitpunkt der Rücknahme widerspiegelte.
Es wurden daher zunächst Versuche durchgeführt, um das Verhalten bei verschiedenen Temperaturen und in unterschiedlichen Situationen zu untersuchen. Ziel war es, eine Messmethode zu etablieren, die durch Messung der Außentemperatur an der Konserve

Rückschlüsse auf die Innentemperatur der Konserve zulässt und deren Ergebnisse reproduzierbar sind.

3.3.1 Methodenentwicklung und Validierung

3.3.1.1 Oberflächentemperatur im Vergleich zum Beutelinhalt

Zunächst wurde das EK aus dem Kühlschrank (Fa. Bosch, Gerlingen, Model Kirsch, Solltemperatur 4° ± 2 °C) entnommen und der Beutelinhalt durch leichtes Schwenken gemischt. Die Außentemperatur der Blutkonserve wurde mit der weiter unten (Abschnitt 3.3.2) beschriebenen Methode gemessen. Danach wurde sie mittels eines Anstechdorns eröffnet und der Inhalt in einen Becher entleert. Das Thermoelement-Thermometer (Fa. Elpro-Buchs-AG, Buchs, 2425-2T, Art.Nr. 57551) wurde mit einer Halterung fixiert (vgl. Abb. 4), und es folgte die Temperaturmessung des Beutelinhalts für 2 min.

Diese Messung wurde an 50 Blutkonserven, aufgeteilt in 10 Versuchsreihen, durchgeführt. Bei jeder Versuchsreihe mit jeweils 5 Konserven wurden diese zuvor unterschiedlich lange bei Raumtemperatur gelagert. Die ersten Messungen wurden direkt nach Entnahme aus dem Kühlschrank vorgenommen, die letzten Konserven befanden sich vor der Messung für 35 min bei Raumtemperatur. Die Ergebnisse sind in Abschnitt 4.2.1 wiedergegeben.

3.3.1.2 Temperaturverlauf bei Lagerung bei Raumtemperatur

Im Folgenden wurde der Temperaturverlauf bei 3 Erythrozytenkonzentraten bei Lagerung bei Raumtemperatur näher untersucht.

Die 1. untersuchte Konserve wurde mittels eines Dorns eröffnet und der Fühler in die Konserve eingeführt. Die Messung erfolgte im Konservenbeutel selbst.

Die 2. Konserve wurde eröffnet und der Beutelinhalt in einen Plastikbecher entleert. Das Thermometer wurde in den Becher gehalten und die Temperatur ebenfalls registriert.

Auch die 3. Konserve wurde eröffnet und der Beutelinhalt ebenfalls in einen Plastikbecher entleert. Das Thermoelement wurde jedoch mit einer Halterung fixiert, so

dass die Temperaturmessung in der Mitte des Bechers ohne Kontakt zu den Becherwänden erfolgte.

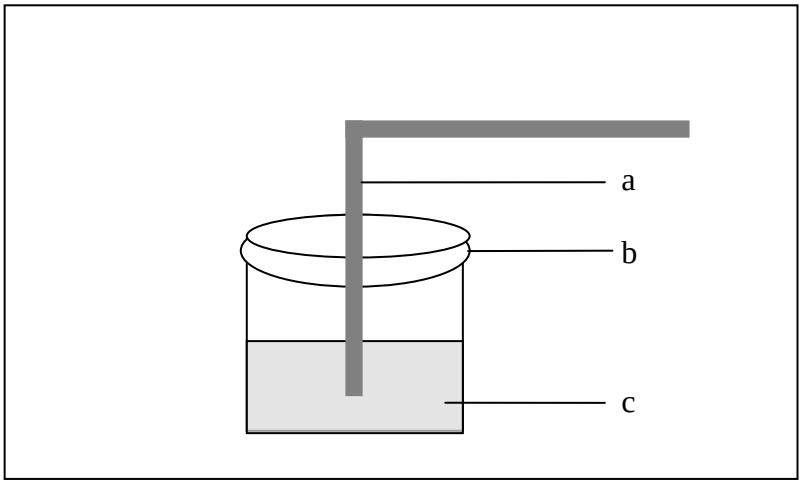


Abb. 5: Versuchsaufbau Messung im Becher mit Halterung
a: - Thermoelement, b: – Styropor®-Halterung, c: - Erythrozytenkonzentrat

Die Temperatur wurde nach 1 min, nach 3 min und danach alle weiteren 3 min abgelesen. Ab 30 min erfolgte die Messung im Intervall von 10 min. Die letzte Messung erfolgte nach 60 min. Die Ergebnisse sind in Abschnitt 4.2.2 dargestellt.

3.3.1.3 Genauigkeit des verwendeten Thermometers

Das in den Versuchen verwendete elektrische Thermometer (Fa. Elpro-Buchs-AG, Buchs, Schweiz, 2425-2T, Art.Nr. 57551) wurde in einer Kontrollmessung auf seine Richtigkeit hin überprüft. Zu diesem Zweck wurden in 2 unterschiedlichen Temperaturbereichen (Raumtemperatur: ca. 21 °C, Kühlschrank: ca. 2 °C) zu je 5 verschiedenen Zeitpunkten sowohl mit dem Thermoelement-Thermometer als auch mit einem kalibrierten Thermometer (Fa. Amarell GmbH, Kreuzwertheim, Bestell-Nr. 16102500, vom Landesamt für Meß- und Eichwesen Thüringen geeichtes Flüssigkeits-Glasthermometer, Meßbereich -50 °C bis +50 °C, Meßunsicherheit 0,3 °C (= 2fache Standardabweichung)) Temperaturmessungen vorgenommen. Die Ergebnisse finden sich in Abschnitt 4.2.3.

3.3.2 Temperaturmessung zurückgenommener Konserven

Die Temperatur der von den Stationen zur Blutbank zurücktransportierten Erythrozytenkonzentrate wurde unmittelbar nach deren Eingang untersucht. Die Zeit zwischen Konservenrücknahme und Temperaturmessung wurde auf ≤ 2 min festgelegt.

Um eine einheitlichen Temperaturmessung zu gewährleisten, wurde der in Abb. 6 dargestellte Versuchsaufbau benutzt.

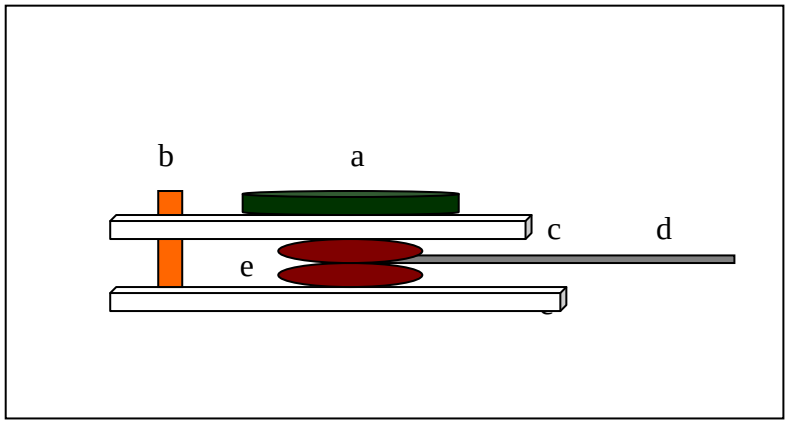


Abb. 6: Temperaturmessungsaufbau, a: 2 kg Gewicht; b: Adjustierungsbolzen; c: Holzbrett; d: Thermometerfühler; e: gefaltete Konserve

Das EK wurde mit der etikettierten Seite nach unten auf ein Holzbrett (Maße 33,5 cm x 20 cm x 1,5 cm) gelegt. Der Fühler des Thermometers (Fa. Elpro-Buchs-AG, Buchs, 2425-2T, Art.Nr. 57551) wurde mittig auf die Blutkonserve gelegt und die Konserve darüber gefaltet. Danach wurde ein weiteres Holzbrett (Maße: 26,2 cm x 20 cm x 1,3 cm) auf die gefaltete Konserve aufgelegt. Damit die Lage des oberen Holzbrettes reproduzierbar und eindeutig ist, waren Adjustierungsbolzen am unteren Brett angebracht. Ein standardisierter Anpreßdruck wurde mit einem 2 kg Gewicht erzeugt. Direkt nach dem Einbringen der Konserve erfolgte die Temperaturmessung, die mit dem nach exakt 2 min erfassten Wert beendet wurde.
Dieses Verfahren wurde bei allen Messungen der Konserven Außentemperatur in dieser Arbeit angewandt.

3.4 Vitalitätsanalytik

Während der Lagerung, bedingt durch Stoffwechselprozesse der Erythrozyten, kommt es zu qualitativen Veränderungen des Erythrozytenkonzentrates. Um Aussagen über die Art und das Ausmaß der Veränderungen zu treffen, wurden bekannte und weiter unten im Detail beschriebene Testverfahren ausgewählt [64;67;69].
Die in dieser Arbeit zu bestimmenden Qualitätsparameter waren das „freie“ Hämoglobin (fHb) im Überstand, der Hämatokrit (HKT), der pH-Wert, die

extraerythrozytären Konzentrationen von Natrium- (Na^+) und Kaliumionen (K^+) sowie 2,3-Diphosphoglycerat (2,3-DPG) und Adenosintriphosphat (ATP) als Metabolitparameter.

3.4.1 Konzentration „Freies“ Hämoglobin (fHb)

Prinzip

Hämoglobin und die Hämoglobinderivate (Oxy-Hämoglobin, Carbomonoxy-Hämoglobin, Hämiglobin, Sulf-Hämoglobin und Hämo-Albumin, mit Ausnahme von Verdoglobin) werden in Hämoglobin-Cyanid überführt und die Extinktionen im Spektral-Photometer (Fa. Lange, Berlin, LS 500, Nr. 720 213) bei den Wellenlängen von 546 nm und 680 nm gemessen. Die im Folgenden beschriebene Vorgehensweise stellt eine Modifikation der von R. Richterich beschriebenen Methode dar [56].

Arbeitsanleitung zellfreier Überstand

Das Erythrozyten-Konzentrat wurde in einem Serumröhrchen (Fa. Nunc, Rochester, Art. Nr. 348 224) zunächst bei 4000 g für 10 min bei 4 °C zentrifugiert. Der so gewonnene Überstand wurde in ein Eppendorfgefäß überführt (Fa. Nunc International, Rochester, Art. Nr. 342800 0015) und anschließend nochmals in einer Eppendorf-Zentrifuge (Fa. Eppendorf, Hamburg, Centrifuge, Art. Nr. 5415C) für 7,5 min bei 8000 g zentrifugiert.

Arbeitsanleitung fHb-Messung

In eine Halbmikroküvette wurde, ohne evtl. noch vorhandenes Sediment aufzuwirbeln, 250 µl zellfreier Überstand sowie 250 µl Merko-Test-Reagenz (Fa. Merck, Darmstadt, Art. Nr. 9405) pipettiert, mit einem Plastikspatel vermischt und für 5 min bei Raumtemperatur stehengelassen. Danach erfolgte die Messung der Extinktionen bei 546 nm und 680 nm mit dem Spektralphotometer gegen die Mercko-Test-Lösung.
Die Hb-Konzentration wurde anschließend nach folgender Formel berechnet:
Hb-Konzentration (mg/dl) = (E 546 nm – E 680 nm) × 298 mg/dl

Der Umrechnungsfaktor von 298 mg/dl wurde durch Anpassung einer Ausgleichgeraden nach der Methode der minimalen Fehlerquadratsumme an eine Messreihe erhalten, in der durch Zugabe gleicher Volumina von entsprechend

verdünnten Standard-Hämoglobin-Lösungen (Fa. Merck, Darmstadt, Art. Nr. 3298) 10 verschiedene Hämoglobinkonzentrationen im Bereich von 0 bis 250 mg/dl eingestellt worden waren. Die Messung bei 680 nm diente der Trübungskorrektur. Die Methode ist linear im Bereich von 5 bis 250 mg/dl.
Die pipettierten Serien wurden in Doppelbestimmung sowie mit einer Präzisionskontrolle durchgeführt.

3.4.2 pH- Bestimmung

Prinzip

Der pH-Wert wurde mit Hilfe eines pH-Meters ermittelt. Hierfür wird eine dünnwandige Glaselektrode, die mit einer Lösung von bekanntem und konstantem pH-Wert gefüllt ist, in die EKSF Probelösung eingetaucht. Es entsteht eine Potentialdifferenz an der Glasmembran durch den pH-Unterschied zwischen der Messlösung und dem in der Glaselektrode enthaltenen Puffer [54]. Dieses elektrochemische Potential wird gemessen und angezeigt.

Arbeitsanleitung

Das pH-Meter (Fa. WTW, Weilheim, pH196, Art. Nr. 78580098) wurde einmal pro Woche nach Herstellerangaben kalibriert. Dies erfolgte mit zwei Pufferlösungen von pH = 4 (Pufferlösung 1) und pH = 7 (Pufferlösung 2).
Zur pH-Bestimmung wurden 2-3ml EKSF Konzentrat sowie 2-3 ml Pufferlösung als Kontrolle verwendet. Die Messreihenfolge lautete: Pufferlösung 1, Probe, Pufferlösung 2 für jeweils 2 min und wurde zweimal durchgeführt. Anschließend wurde aus beiden Messergebnissen der Mittelwert berechnet.

3.4.3 Extraerythrozytäre Natrium (Na^+) - und Kalium (K^+) - Konzentration

Für die Bestimmung der extraerythrozytären Konzentration von Natrium- und Kaliumionen wurde zellfreier Überstand eingesetzt (s.o. Arbeitsanleitung zellfreier Überstand). Die Messung erfolgte flammenphotometrisch in einem externen Labor (Drs. Fenner, Hamburg). Bis zur Messung wurden die Überstände bei < - 40 °C tiefgefroren aufbewahrt.

3.4.4 Intraerythrozytäre 2,3-Diphosphoglycerat (2,3-DPG) - Konzentration

Prinzip

2,3-DPG wird durch eine mit Glykolat-2-Phosphat aktivierte Nebenaktivität der Phosphoglycerat-Mutase (PGM) zu Phosphoglycerat (PG) und einem Phosphatsäurerest (Pi) gespalten (Reaktion 1). Bei dieser Reaktion können sowohl 2-PG als auch 3-PG entstehen. Eventuell entstandenes 2-PG wird durch PGM zu 3-PG isomerisiert (Reaktion 2). 3-PG und ATP werden mit Hilfe von Phosphoglycerat-Kinase zu 1,3 DPG und ADP umgesetzt (Reaktion 3). 1,3-DPG wird reduziert zu Glycerinaldehyd-3-Phosphat, indem die reduzierte Form von Nicotinsäureamid-adenin-dinucleotid (NADH) oxidiert wird (Reaktion 4). Glycerinaldehyd-3-Phosphat wird mit Hilfe der Triosephosphat-Isomerase (TIM) zu Dihydroxyaceton-Phosphat umgewandelt (Reaktion 5), welches unter Verbrauch eines weiteren Moles NADH durch die Glycerin-3-Phosphat-Dehydrogenase (GDH) oxidiert wird. Hierbei entsteht Glycerin-3-Phosphat (Reaktion 6).

Bei dem Test werden pro mmol 2,3-DPG 2 Mole NADH oxidiert.

(1) 2,3-DPG $\xrightarrow{\text{PGM (Glykolat-2-Phosphat*)}}$ PG + Pi

(2) 2-PG $\xrightarrow{\text{PGM}}$ 3-PG

(3) 3-PG + ATP $\xrightarrow{\text{PGK}}$ 1,3-DPG + ADP

(4) 1,3-DPG + NADH + H+ $\xrightarrow{\text{GAP-DH}}$ Glycerinaldehyd-3-P + NAD+ + Pi

(5) Glycerinaldehyd-3-P $\xrightarrow{\text{TIM}}$ Dihydroxyaceton-P

(6) Dihydroxyaceton-P + NADH + H+ $\xrightarrow{\text{GDH}}$ Glycerin-3-P + NAD+

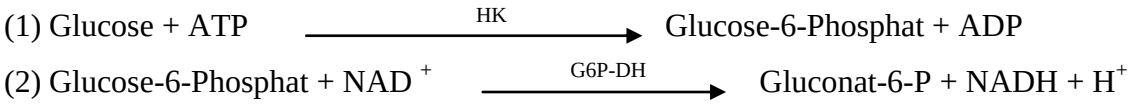
Arbeitsanleitung

Zur Bestimmung von 2,3-DPG im Erythrozytenkonzentrat wurde ein UV-Test (Fa. Roche, Mannheim, Best.Nr. 148 334) herangezogen. Es wurde zunächst 1 ml EK in ein Serumröhrchen (Fa. Nunc, Rochester, Art. Nr. 348 224) mit 5 ml eisgekühlter Perchlorsäure (Konzentration 0,6 mol/l) pipettiert. Die Mischung wurde bei 3500 Umdrehungen für 15 min bei 4 °C zentrifugiert. 4 ml des klaren Überstandes wurden in einem Serumröhrchen mit 0,5 ml Kaliumkarbonat (Konzentration 2,5 mol/l) neutralisiert und für 60 min in einem Eisbad gelagert. Der Perchlorat-Niederschlag wurde durch Zentrifugieren abgefiltert und 0,1 ml des Überstandes zum Test eingesetzt.

Die 0,1 ml Überstand wurden mit den Testlösungen in eine Mikroküvette pipettiert und nach 5 min zunächst E_1, sowie am Ende der Reaktion nach ca. 35 min E_2 bei einer Wellenlänge von 340 nm abgelesen.
Die Untersuchung erfolgte als Doppelbestimmung, zu Kontrollzwecken wurde eine Vergleichsprobe mitgeführt.
Die Berechung der 2,3-DPG Konzentration erfolgte folgendermaßen:
$\Delta E = (E_1\text{-}E_2)$ Probe – $(E_1\text{-}E_2)$ Leerwert
Nach Herstellerangaben ergibt sich bei 340 nm ein Umrechnungsfaktor von 11,70, so dass zur Berechnung für die 2,3-DPG Konzentration (g/l) folgende Formel benutzt wurde:
$C = 11{,}70 \times \Delta E$ 340nm [g/l]
Zu Vergleichszwecken wurde mit der Hämoglobin-Konzentration auf das Gramm Hämoglobin normiert.

3.4.5 Intraerythrozytäre Adenosintriphosphat (ATP)-Konzentration

Prinzip
Es handelt sich um eine enzymatisch katalysierte Zwei-Stufen-Reaktion. Dabei wird zunächst Glucose durch das Enzym Hexokinase in Anwesenheit von Adenosintriphosphat (ATP) zu Glucose-6-Phosphat (G-6-P) umgewandelt. Hierbei entsteht Adenosindiphosphat (ADP).
Im nächsten Schritt katalysiert das Enzym Glucose-6-Phosphat Dehydrogenase (G6P-DH) die Oxidation von G-6-P durch Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NAD^+) zu Gluconat-6-Phosphat. Das bei dieser Reaktion anfallende Nicotinamid-adenindinucleotid (NADH) wird photometrisch bei einer Wellenlänge von 340 nm bestimmt und ist proportional zum enthaltenen ATP.



Um Suspensionen unterschiedlichen Hämatokrits bezüglich des intrazellulären ATP-Gehaltes miteinander vergleichen zu können, wurde die ATP-Konzentration auf den Deziliter Erythrozyten normiert.

Arbeitsanleitung

Die enzymatische ATP-Bestimmung wurde mit Hilfe einer Testkombination (ATP Hexocinase, Fa. Rolf Greiner BioChemica, Flach, Bestell-Nr. G 10785) vorgenommen.
500 µl Erythrozytenkonzentrat wurde mit 500 µl gut gekühlter Trichloressigsäure 12 % (Fa. Rolf Greiner BioChemica, Flach, Art.Nr. 10025 1103) in einem Serumröhrchen (Fa. Nunc, Rochester, Art. Nr. 348 224) vermischt und für 5 min in ein Eisbad gestellt. Anschließend wurde die Probe für 10 min mit 3000 Umdrehungen bei 4 °C zentrifugiert. Der dabei entstandene proteinfreie Überstand wurde sofort zum Test eingesetzt, da ATP in Proben instabil ist.
In eine Küvette wurden 125 µl proteinfreier Überstand mit 1200 µl Reagenz 1 (enthaltene Komponenten-Konzentrationen: TRIS-Puffer (pH 7,8): 0,1 mol/l, Mg^{2+}: 4 mmol/l, Glucose 20 mmol/l, NAD: 2,1 mmol/l) pipettiert, gemischt und bei Raumtemperatur für 3-5 min inkubiert.
Die Extinktion (E_1) wurde gegen den Reagenzienleerwert (125 µl aqua dest., 1200 µl Reagenz 1) bei einer Wellenlänge von 340 nm abgelesen.
Im Folgenden wurden zur Probe und zum Reagenzienleerwert jeweils 300 µl Reagenz 2 (enthaltene Konzentrationen: $Mg\ 2^{+}$ (pH 7,0): 4 mmol/l, Hexokinase (HK) ≥ 7,5 kU/l, G6P-DH ≥ 7,5 kU/l) hinzugefügt. Nach weiterem Mischen und 15 min Inkubationszeit bei Raumtemperatur wurde die Extinktion (E_2) bei 340 nm gemessen.

Zur Kontrolle und um die Richtigkeit des Tests zu überprüfen wurde bei der Bestimmung eine ATP Standard-Probe (ATP-Konzentration: 100 µmol/dl) mitgeführt. Alle Proben erfolgten in Doppelbestimmung.
Die Berechung des ATP-Gehaltes wurde auf folgende Weise durchgeführt:

$E = E_2 – E_1$

Zur Berechnung der ATP-Konzentration (µmol/dl) wird E mit dem Faktor 412,7 multipliziert. Der Faktor 412,7 ergab sich folgendermaßen: 412,7 = (1625 × 2 × 100) / (6,3 × 125 × 1). Dabei stellten der Wert 1625 das Flüssigkeitsvolumen der Küvette in µl, 2 den Verdünnungsfaktor, 6,3 die millimolare Extinktion von NADH bei 340nm, 125 das Probenvolumen in µl, 1 die Küvettenschichtdicke in cm und der Wert 100 die Umrechnung der Konzentration pro 1 ml in die Konzentration pro dl dar.

3.4.6 Hämatokrit (HKT)

Zur Hämatokrit-Bestimmung wurden ca. 20 µl EKSF unmittelbar nach Probenentnahme in eine Glaskapillare eingefüllt. Durch Zentrifugation (Fa. Hettich, Tübingen, Typ 2010) wurden die Zellen vom Überstand separiert und daraufhin der Hämatokrit ermittelt. Der Test erfolgte ebenfalls in Doppelbestimmung, aus den 2 Messwerten wurde der Mittelwert bestimmt.

4 Ergebnisse

4.1 Analyse von Daten aus regelmäßigen Qualitätskontrollen (Zeitraum 2001-2006)

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Auswertung von regelmäßigen Qualitätskontrollen des Instituts aus dem Zeitraum 2001-2006 vorgestellt. Insgesamt 1189 Konserven wurden untersucht, nachdem ihre zulässige Laufzeit (42 Tage) überschritten war.

Für die folgende Betrachtung wurden diese in 7 Gruppen aufgeteilt.

Gruppe 1 (n_1 = 149): Konserven, die während ihrer Lagerungsdauer nicht für Patienten reserviert worden waren und nicht ausgegeben wurden, sondern danach ungenutzt am Ende der Laufzeit verfielen.

Gruppe 2 (n_2= 170): Konserven, die ein oder mehrmalig für Patienten reserviert worden waren, jedoch nicht ausgegeben wurden und danach am Ende der Laufzeit verfielen.

Gruppe 3 (n_3 = 318): Konserven, die einmal ausgegeben und ungebraucht zurückgenommen worden waren und danach am Ende der Laufzeit verfielen.

Gruppe 4 (n_4 = 185): Konserven die zweimal ausgegeben und zurückgenommen worden waren und danach am Ende der Laufzeit verfielen.

Gruppe 5 (n_5 = 247): Konserven, die dreimal ausgegeben und zurückgenommen worden waren und danach am Ende der Laufzeit verfielen.

Gruppe 6 (n_6 = 88): Konserven, die viermal ausgegeben und zurückgenommen worden waren und danach am Ende der Laufzeit verfielen.

Gruppe 7 (n_7 = 32): Konserven, die fünfmal ausgegeben und zurückgenommen worden waren und danach am Ende der Laufzeit verfielen.

Alle untersuchten Konserven waren über 42 Tage alt, das Durchschnittsalter der Konserven betrug zum Zeitpunkt der Untersuchung 44 Tage.
Die Ergebnisse (Mittelwerte und Standardabweichungen) sind in den Tabellen 1-4 und den Abbildungen 7-9 dargestellt. Vereinzelt kam es vor, dass ein Messwert zum Zeitpunkt der Datenerfassung noch nicht vorlag bzw. dass ein Messwert sich als offensichtliche Fehlmessung herausstellte (in diesem Fall wurde er ignoriert). Die exakten n-Werte sind für jeden einzelnen Parameter Tab. # 8 im Anhang zu entnehmen.

Parameter	**Einheit**	**Gruppe 1**	**Gruppe 2**	**Gruppe 3**	**Gruppe 4**	**Gruppe 5**	**Gruppe 6**	**Gruppe 7**
Ausgabe-häufigkeit		**0x res; 0x**	**0x**	**1x**	**2x**	**3x**	**4x**	**5x**
	n	149	170	318	185	247	88	32
Alter	d	44 ± 1	44 ± 1	44 ± 1	44 ± 1	43 ± 1	44 ± 1	44 ± 1
Masse	g	282 ± 19	279 ± 19	283 ± 18	282 ± 18	281 ± 18	282 ± 16	282 ± 20
Volumen	ml	264 ± 17	261 ± 18	265 ± 17	264 ± 16	263 ± 17	264 ± 15	264 ± 19
K^+ (extra)	mmol/l	55,3 ± 5,7	55,1 ± 6,3	57,0 ± 5,5	57,2 ± 6,5	57,2 ± 6,1	58,7 ± 5,9	57,8 ± 7,0
HR	%	0,22 ± 0,10	0,24 ± 0,13	0,19 ± 0,07	0,17 ± 0,08	0,16 ± 0,06	0,16 ± 0,07	0,15 ± 0,04
pH	[-]	6,57 ± 0,08	6,30 ± 0,05	6,56 ± 0,05	6,56 ± 0,06	6,55 ± 0,06	6,55 ± 0,07	6,54 ± 0,06
f(Hb)	mg/dl	127,0 ± 66,8	134,2 ± 80,7	106,1 ± 45,0	98,4 ± 50,9	89,3 ± 38,1	92,5 ± 43,2	85,3 ± 28,6
HKT	l/l	0,65 ± 0,03	0,65 ± 0,03	0,65 ± 0,03	0,65 ± 0,03	0,65 ± 0,03	0,65 ± 0,03	0,65 ± 0,03

Tab. 1: Mittelwerte und Standardabweichungen der verschiedenen Gruppen nach Ablauf der Haltbarkeit

Die im Institut für medizinische Mikrobiologie, Virologie und Hygiene des UKE durchgeführten Sterilitätsuntersuchungen ergaben, dass von den untersuchten 1189 Konserven keine unsteril war.

4.1.1 Extrazelluläre Kaliumkonzentration

In Tab. 2 sind die Mittelwerte, Standardabweichungen, Maximum- und Minimum-Werte, der Median und die einzelnen n-Werte der 7 Gruppen des Vitalitätsparameters extrazelluläre Kaliumkonzentration wiedergegeben.

	K^+ extrazellulär (mmol/L)						
	Gruppe 1	**Gruppe 2**	**Gruppe 3**	**Gruppe 4**	**Gruppe 5**	**Gruppe 6**	**Gruppe 7**
Ausgabe-häufigkeit	***0x res; 0x***	***0x***	***1x***	***2x***	***3x***	***4x***	***5x***
n	143	148	302	176	216	88	31
Mittelwert	55,3	55,1	57,0	57,2	57,2	58,7	57,8
St.abwg.	5,7	6,3	5,5	6,5	6,1	5,9	7,0
Vk (%)	10	11	10	11	11	10	12
Maximum	69,8	75,1	73,5	77,4	71,2	70,7	68,2
Minimum	36,7	39,3	39,4	35,6	29,2	33,7	32,2
Median	55,9	55,2	57,1	57,3	57,7	59,3	58,1

Tab. 2: Extrazelluläre Kaliumkonzentration

In Abb. 7 sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der ermittelten extrazellulären Kaliumkonzentration dargestellt.

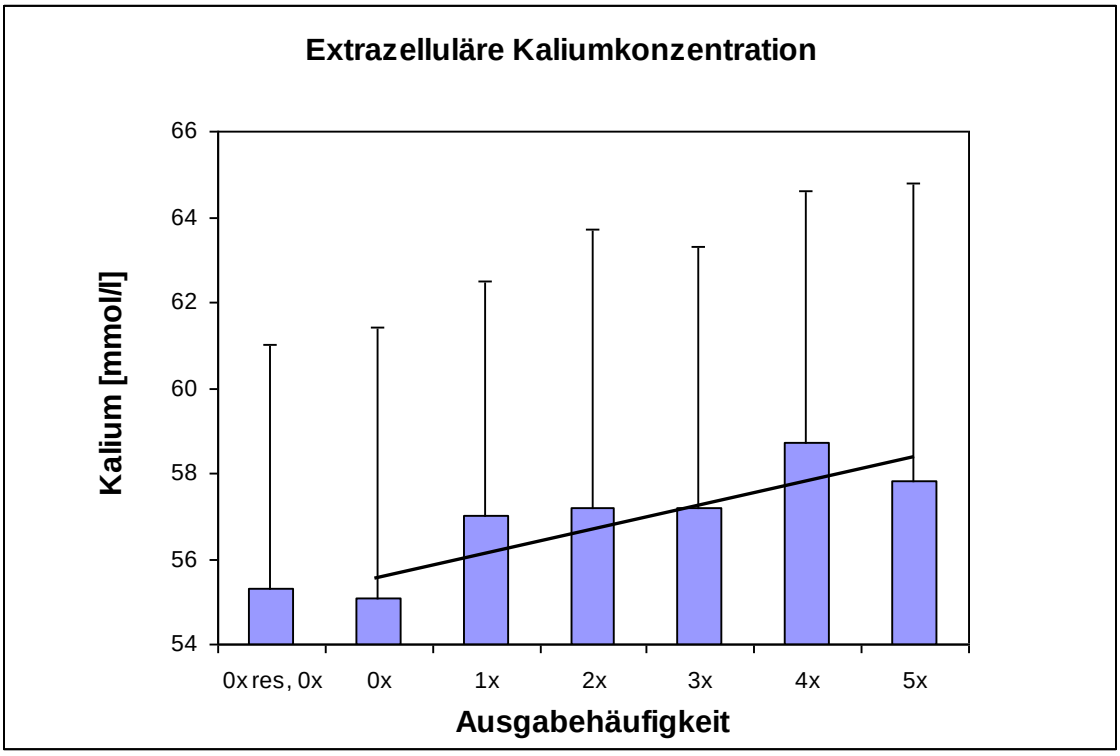


Abb. 7: Mittelwerte und Standardabweichungen der extrazellulären Kaliumkonzentration.

4.1.2 Hämolyserate

In Tab. 3 sind die Mittelwerte, Standardabweichungen, Maximum- und Minimumwerte, der Median und die einzelnen n-Werte der 7 Gruppen bezüglich der Hämolyserate der Erythrozytenkonzentrate dargestellt.

	Hämolyserate (%)						
	Gruppe 1	**Gruppe 2**	**Gruppe 3**	**Gruppe 4**	**Gruppe 5**	**Gruppe 6**	**Gruppe 7**
Ausgabe-häufigkeit	***0x res; 0x***	***res; 0x***	***1x***	***2x***	***3x***	***4x***	***5x***
n	149	170	318	185	247	88	32
Mittelwert	0,22	0,24	0,19	0,17	0,16	0,16	0,15
St.abwg.	0,1	0,13	0,07	0,08	0,06	0,07	0,04
Vk (%)	45	54	37	47	38	44	27
Maximum	0,68	1,03	0,50	0,60	0,47	0,48	0,25
Minimum	0,10	0,08	0,07	0,07	0,07	0,07	0,06
Median	0,19	0,20	0,17	0,15	0,14	0,14	0,15

Tab. 3: Hämolyserate

In Abb. 8 sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der ermittelten Hämolyseraten pro Gruppe dargestellt.

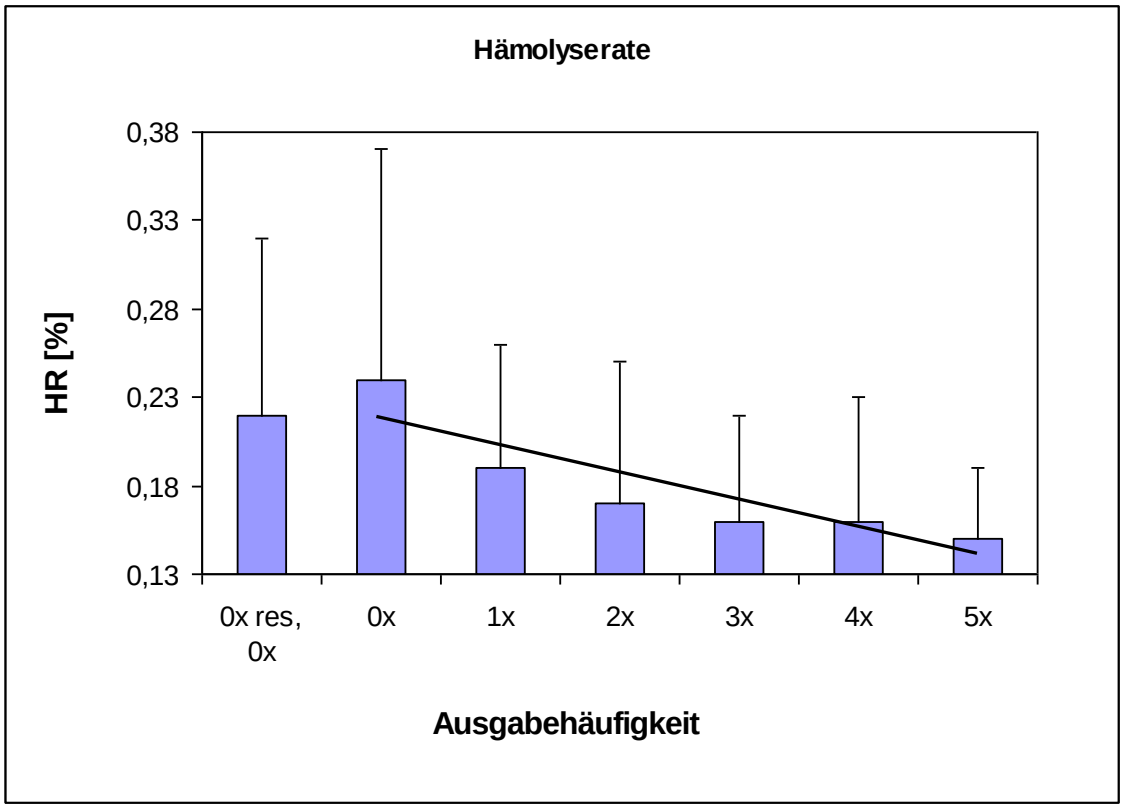


Abb. 8: Mittelwerte und Standardabweichungen der Hämolyserate

4.1.3 pH-Wert

Tab. 4 gibt die Mittelwerte, Standardabweichungen, Maximum- und Minimumwerte, den Median und die einzelnen n-Werte der 7 Gruppen bezüglich des pH-Wertes wieder.

	pH [-]						
	Gruppe 1	**Gruppe 2**	**Gruppe 3**	**Gruppe 4**	**Gruppe 5**	**Gruppe 6**	**Gruppe 7**
Ausgabe-häufigkeit	***0x res; 0x***	***0x***	***1x***	***2x***	***3x***	***4x***	***5x***
n	96	79	173	101	142	63	20
Mittelwert	6,57	6,50	6,56	6,56	6,55	6,55	6,54
St.abwg.	0,08	0,05	0,05	0,06	0,06	0,07	0,06
Vk (%)	1	1	1	1	1	1	1
Maximum	6,69	6,67	6,68	6,72	6,71	6,68	6,66
Minimum	6,06	6,43	6,41	6,34	6,4	6,33	6,41
Median	6,58	6,58	6,55	6,56	6,56	6,56	6,56

Tab. 4: pH-Wert

Abb. 9 zeigt die Mittelwerte und Standardabweichungen der ermittelten pH-Werte innerhalb der einzelnen Gruppen.

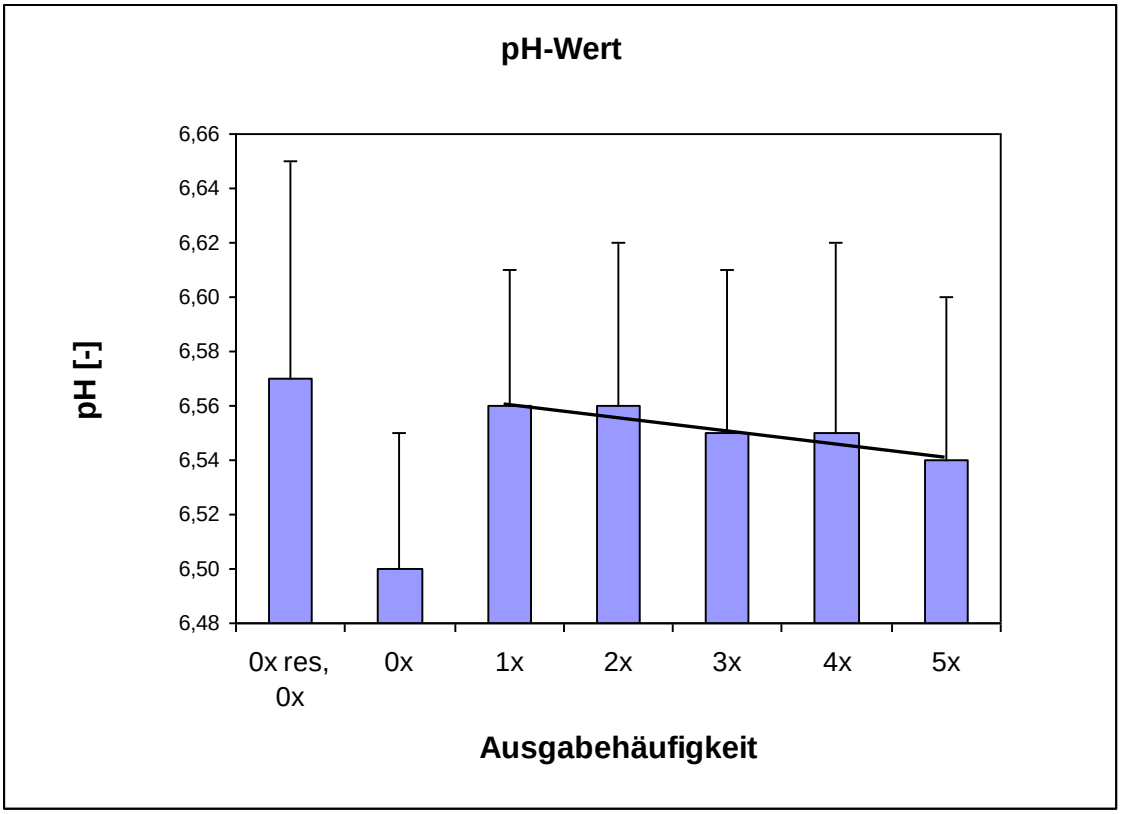


Abb. 9: Mittelwerte und Standardabweichungen des pH-Wertes

4.1.4 Korrelationen zwischen Qualitätsparametern

Im folgenden Kapitel wurden Zusammenhänge zwischen einzelnen Vitalitätsparametern untersucht und eventuell auftretende Verstärkungseffekte einzelner Gruppen nachgeprüft. Hierfür wurde eine Korrelationsanalyse durchgeführt, die aufzeigt, ob ein linearer Zusammenhang zwischen einzelnen Variablen besteht. Der Korrelationskoeffizient (r) gibt Aufschluss über eine mögliche Abhängigkeit zweier normalverteilter Variablen. Er kann Werte zwischen +1 und -1 annehmen. Je näher dieser Wert bei 1 oder -1 liegt, umso größer ist der Zusammenhang. Bei r = 0 liegt kein linearer Zusammenhang vor.
Die Zuordnung in den Gruppen erfolgte anhand des Merkmals Ausgabehäufigkeit. Innerhalb der jeweiligen Gruppen wurden die Variablen anhand von Ähnlichkeitsmerkmalen zusammengefasst [4].

Die Gruppenbildung gestaltete sich wie folgt:

Gruppe 1: Die Konserve wurde einmal ausgegeben und zurückgenommen, n_1= 23
Gruppe 2: Die Konserve wurde dreimal ausgegeben und zurückgenommen, n_2= 27
Gruppe 3: Die Konserve wurde fünfmal ausgegeben und zurückgenommen, n_3= 12

4.1.4.1 Abhängigkeit der Hämolyserate von der extrazellulären Kaliumkonzentration

Die extrazelluläre Kaliumkonzentration wurde in Beziehung zur Hämolyserate gesetzt. Die Korrelationskoeffizienten betrugen r_1= 0,62, r_2= 0,37, r_3= 0,60. Die hier vorliegende Ausprägung der Werte lässt nicht auf eine deutliche Abhängigkeit beider Größen schließen. Tendenziell könnte jedoch ein Zusammenhang zwischen den Werten bestehen. Eine vergrößerte Hämolyserate könnte zu einer erhöhten extrazellulären Kaliumkonzentration führen. Es kommt jedoch nicht zu einem Verstärkungseffekt aufgrund einer Mehrfachausgabe.

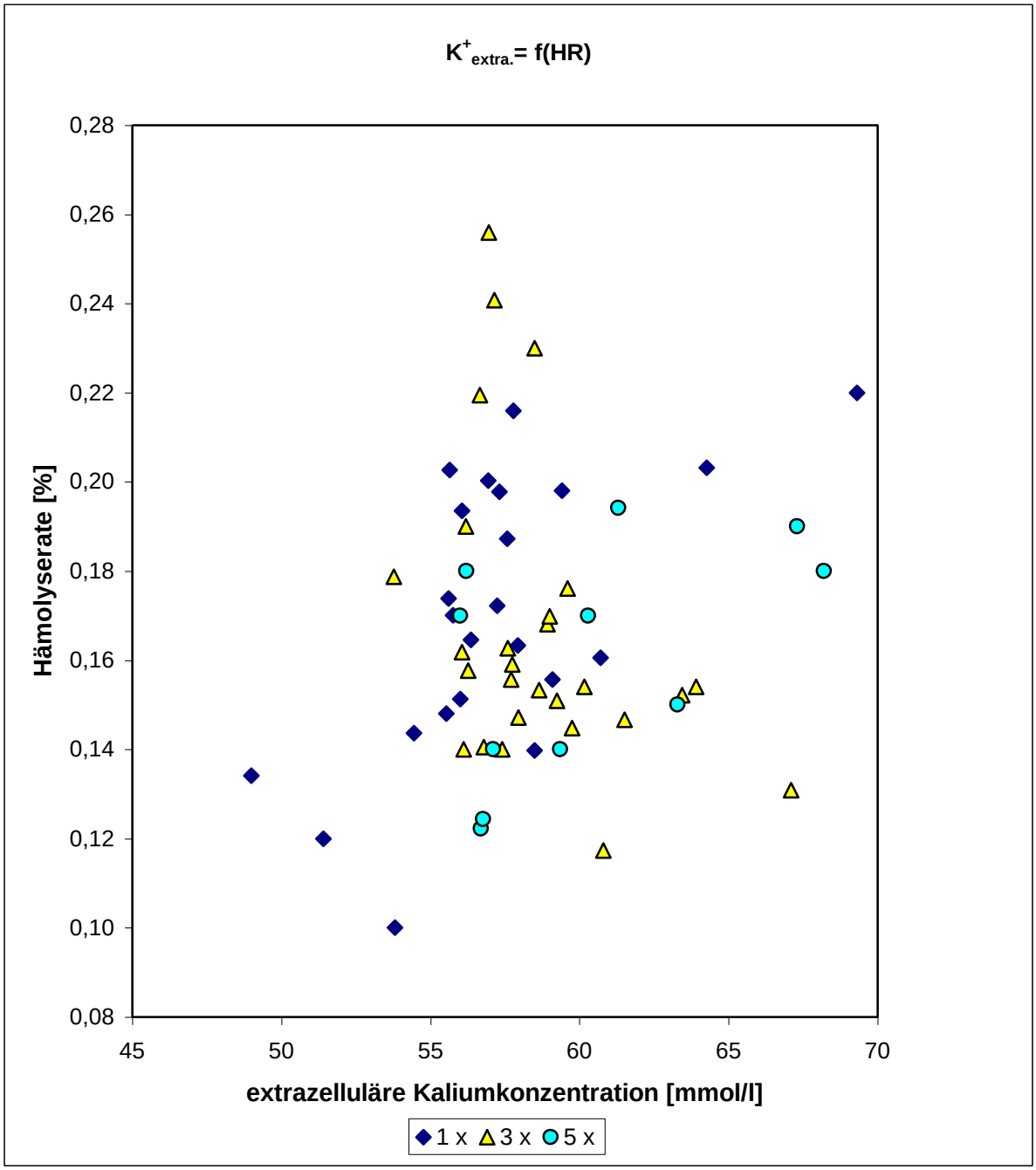


Abb. 10: *Keine Korrelation zwischen extrazellulärer Kaliumkonzentration und Hämolyserate: Eine deutliche Abhängigkeit lässt sich nicht feststellen, tendenziell könnte jedoch ein Zusammenhang bestehen. Die Mehrfachausgabe (3x, 5x) führt nicht zu einer Verstärkung bei <u>beiden</u> Parametern.*

4.1.4.2 Abhängigkeit der Hämolyserate vom pH-Wert

Der pH-Wert wurde zur Hämolyserate in Beziehung gesetzt. Die Korrelationskoeffizienten betrugen r_1= 0,06, r_2= 0,29, r_3= 0,13. Ein Zusammenhang zwischen beiden Größen ist somit unwahrscheinlich.

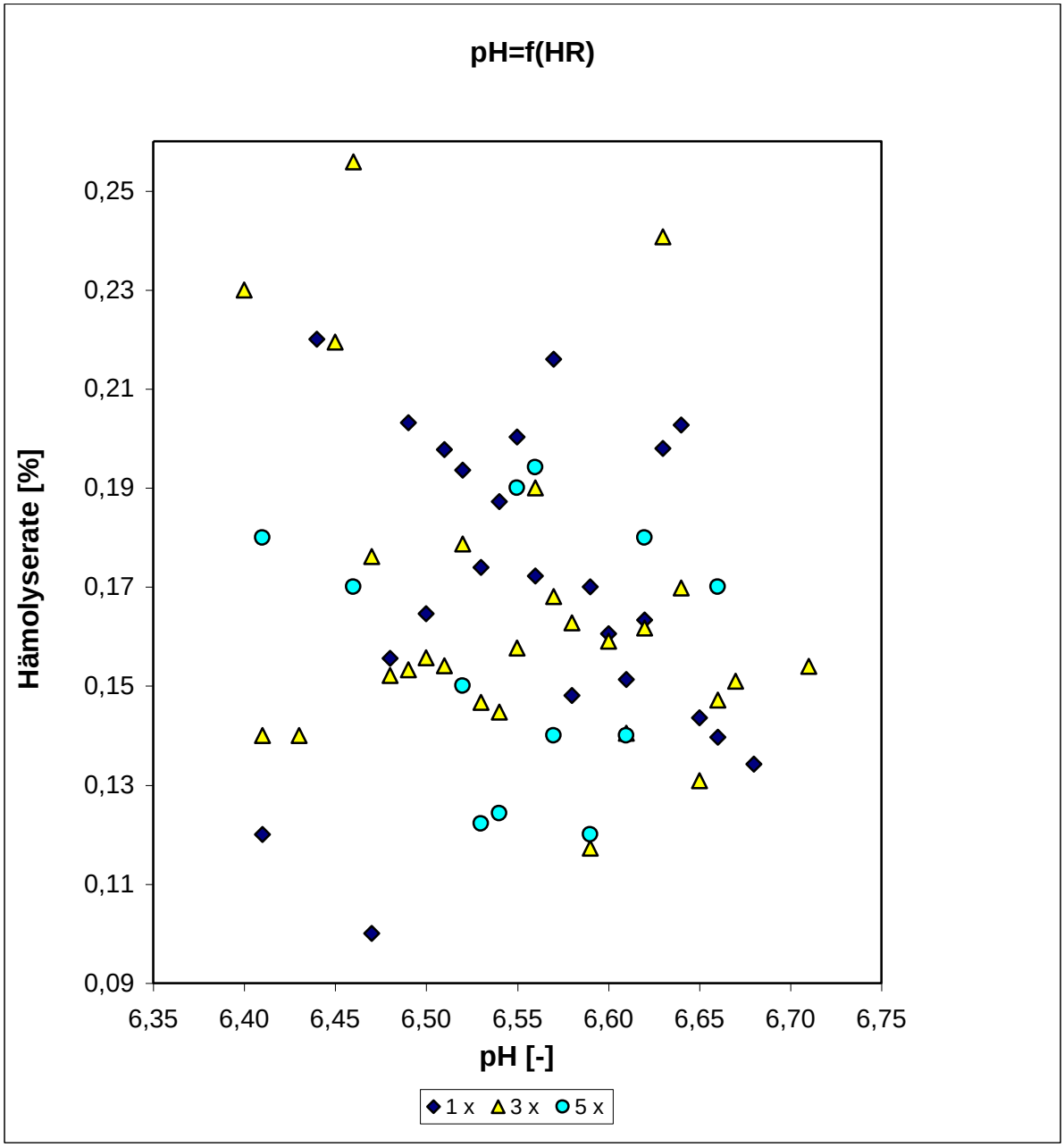


Abb. 11: Keine Korrelation zwischen der Hämolyserate und dem pH-Wert: Es treten ebenfalls keine Verstärkungseffekte aufgrund einer Mehrfachausgabe auf.

4.1.4.3 *Abhängigkeit der extrazellulären Kaliumkonzentration vom pH-Wert*

Der pH-Wert wurde zur extrazellulären Kaliumkonzentration in Beziehung gesetzt. Der Korrelationskoeffizient betrug r_1= 0,28, r_2= 0,29, r_3= 0,09. Ein Zusammenhang zwischen beiden Größen ist somit ebenfalls unwahrscheinlich.

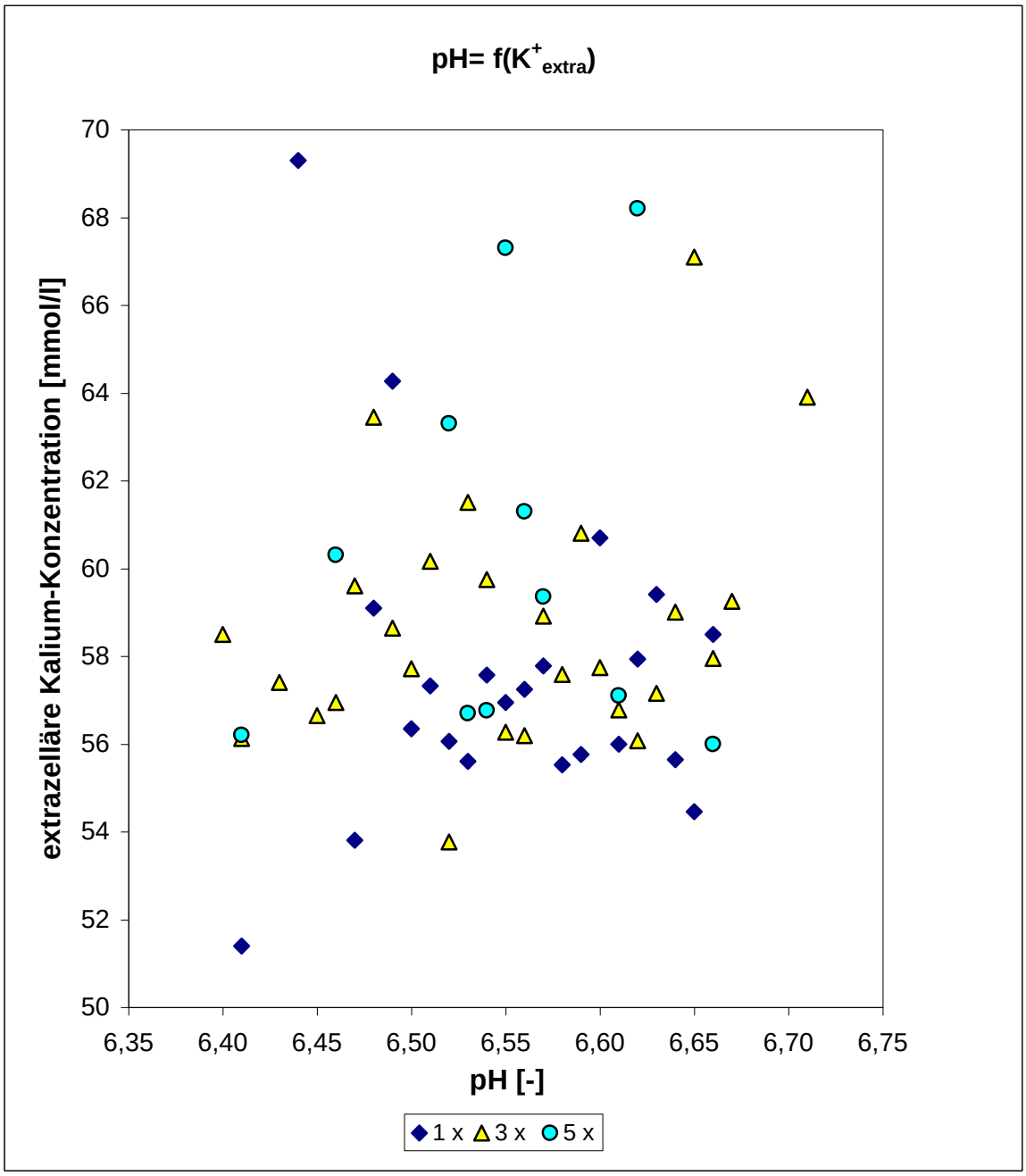


Abb. 12: *Keine Korrelation zwischen der extrazellulären Kaliumkonzentration und dem pH-Wert. Die Variablen stehen in keinem direkten Abhängigkeitsverhältnis zueinander. Ein Verstärkungseffekt aufgrund einer Mehrfachausgabe tritt nicht auf.*

4.2 Temperaturmessung an und in EKSF

4.2.1 Oberflächentemperatur im Vergleich zum Beutelinhalt

In Tab. 5 sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der Temperaturen im entleerten Beutelinhalt im Vergleich zur Beuteloberfläche dargestellt. Die angegebenen Werte stellen jeweils Mittelwerte dar, die an 5 Präparaten erhoben wurden. Die Einzelwerte finden sich in Tab. #1 im Anhang.

	0 min	**1 min**	**2 min**	**5 min**	**10 min**
T_a (°C)	**6,4** ± 0,7	**7,8** ± 0,7	**8,2** ± 0,7	**10,5** ± 0,8	**10,8** ± 0,9
T_i (°C)	**6,0** ± 0,6	**6,3** ± 0,5	**8,0** ± 0,7	**10,0** ± 1,5	**10,4** ± 1,1
T Δ (°C)	**-0,4** ± 0,4	**-1,5** ± 0,9	**-0,2** ± 0,8	**-0,5** ± 1,0	**-0,4** ± 0,9

	15 min	**20 min**	**25 min**	**30 min**	**35 min**
T_a (°C)	**12,3** ± 1,4	**12,0** ± 0,7	**12,1** ± 1,0	**12,9** ± 1,1	**13,4** ± 1,6
T_i (°C)	**12,1** ± 1,4	**11,9** ± 0,7	**12,6** ± 1,3	**12,8** ± 1,3	**13,6** ± 1,3
T Δ (°C)	**-0,2** ± 0,3	**-0,1** ± 0,3	**0,4** ± 0,6	**-0,1** ± 0,5	**0,2** ± 0,4

Tab. 5: Mittelwerte und Standardabweichungen der Temperaturen gemessen an der Beuteloberfläche im Vergleich zur Temperatur im entleerten Beutelinhalt, (n = 50)

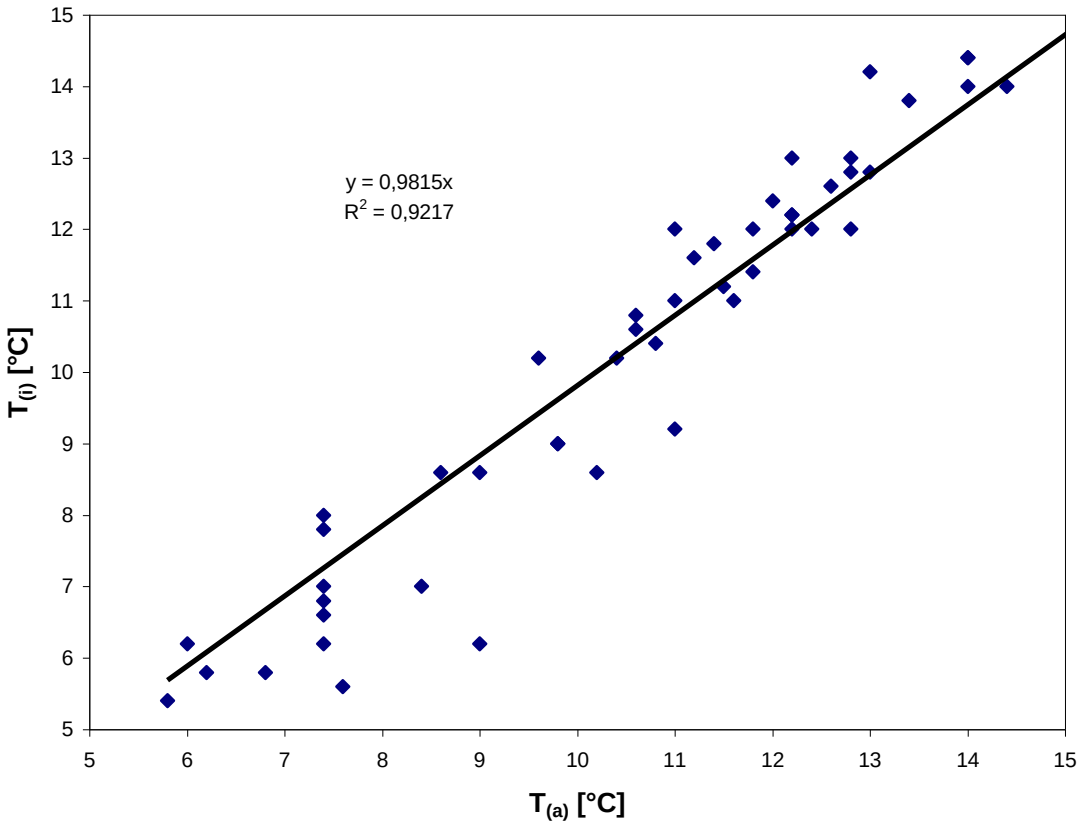


Abb. 13: Zusammenhang zwischen der Temperatur an der Beuteloberfläche im Vergleich zur Temperatur des Beutelinhaltes gemessen nach Entleerung, n= 50

Es besteht ein ausgezeichneter Zusammenhang zwischen beiden Temperaturen. Durchschnittlich war der Konserveninhalt im Inneren um 0,29 °C kälter als von außen gemessen. Die Innentemperatur gleicht sich der gemessenen Oberflächentemperatur immer mehr an, je wärmer die Konserve wird. Konserven, die aus dem Kühlschrank genommen und sofort gemessen wurden, waren außen maximal 1 °C wärmer als der Beutelinhalt.

4.2.2 Temperaturverlauf bei Lagerung bei Raumtemperatur

Die Erwärmungskinetik unbewegter EK zeigt Abb. 14 Die einzelnen Messwerte finden sich in Tab. #2 im Anhang.

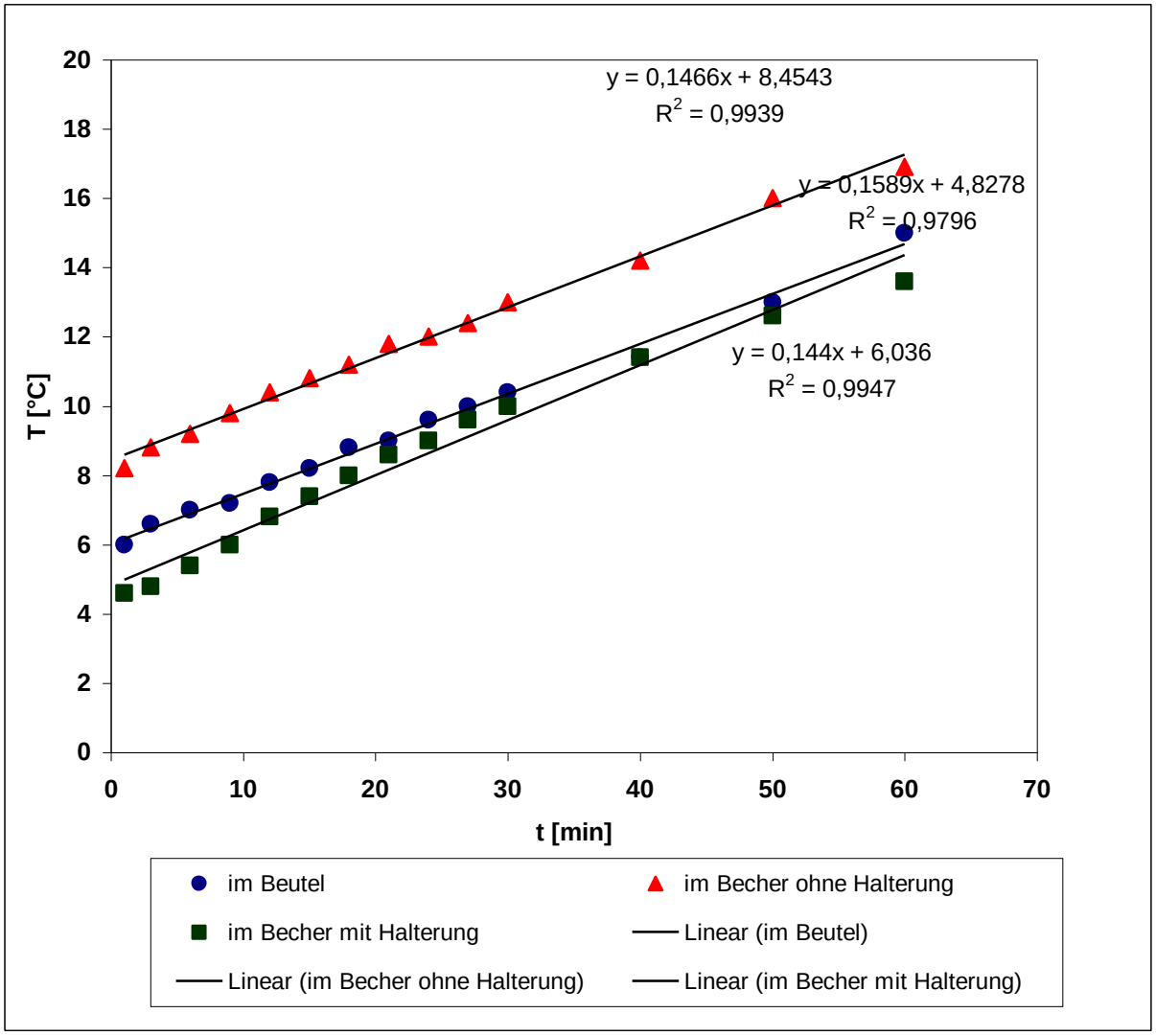


Abb. 14: Vergleich des Temperaturverlaufs von Konserven bei Lagerung bei Raumtemperatur in Abhängigkeit von der Messart

Die Temperatur der initial auf 4 °C gekühlten EK steigt nahezu linear an, nachdem sie bei Raumtemperatur gelagert wurden. Die verschiedenen Messmethoden haben nur einen geringen Einfluss auf den Temperaturverlauf. Es zeigt sich, dass sowohl die Messung im Beutel selbst sowie nach Entleerung des Beutels in einen Plastikbecher bei Verwendung der in Abschnitt 3.3.1.2 beschriebenen Halterung zu ähnlichen Ergebnissen führt. Nach 10 min ist die Temperatur um ca. 1,5 °C angestiegen und nach ca. 30 min bei Raumtemperatur wird der kritische Wert von 10 °C überschritten. Dies

ist ohne Verwendung der Halterung vermutlich wegen Boden-Kontakt mit dem Becher schon nach 10 min der Fall. Die Messart wirkt sich auch auf die gemessene Anfangstemperatur aus. Die Richtigkeit (im Vergleich zur Messung im Beutelinneren) ist bei Verwendung der Halterung für den Thermometer-Messfühler insgesamt gut.

Für die eigenen Untersuchungen ergibt sich daraus, dass eine Konserve, die 2 min nach der Rücknahme gemessen wurde, zum Messzeitpunkt nur um ca. 0,3 °C wärmer ist als zum Zeitpunkt der Rücknahme.

4.2.3 Genauigkeit des verwendeten Thermoelement-Thermometers

Zu 5 verschiedenen Zeitpunkten wurden Messungen mit beiden Thermometern in 2 Temperaturbereichen vorgenommen. Die Ergebnisse im Einzelnen finden sich in Tab. #4 im Anhang.

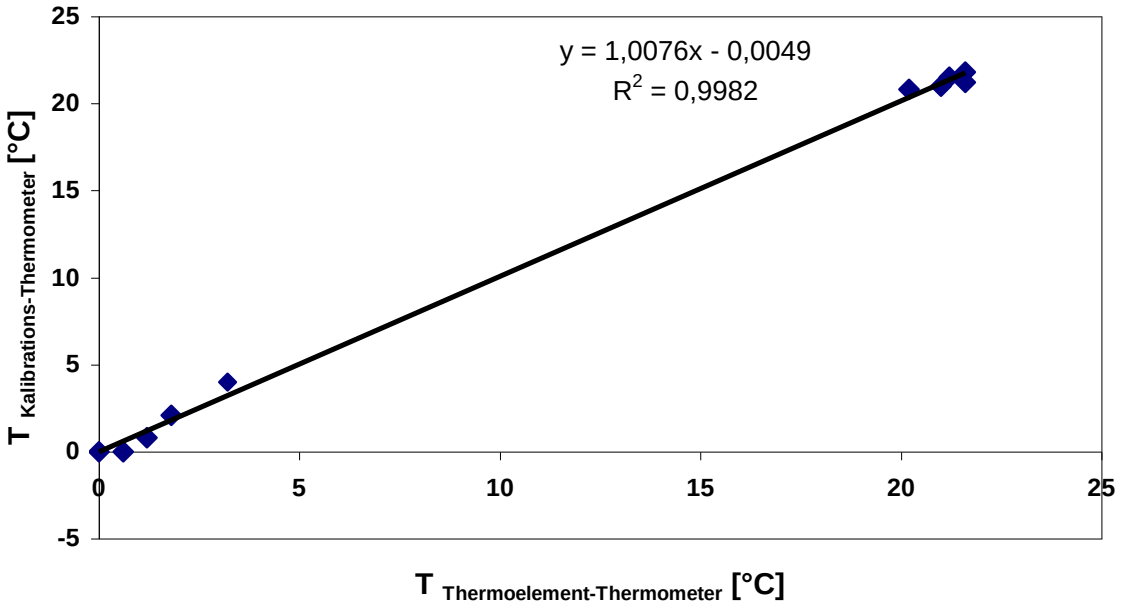


Abb. 15: Richtigkeit des verwendeten Thermoelement-Thermometer verglichen mit einem kalibrierten Flüssigkeits-Thermometer

Die Korrelation zwischen den mit dem verwendeten Thermoelement-Thermometer gemessenen Werten im Vergleich zu den mit dem kalibrierten Thermometer erhaltenen ist hoch. Das Quadrat des Korrelationskoeffizienten unterscheidet sich praktisch nicht von 1, die Steigung der Ausgleichsgeraden ist von 1 praktisch nicht verschieden und auch der Schnittpunkt mit der Ordinate liegt im Koordinatenursprung. Der

Zusammenhang ist sowohl unterhalb von 5 °C als auch oberhalb von 20 °C ausgezeichnet. Es gibt keine systematischen Abweichungen nach oben oder unten.

4.3 Konservenqualität in Abhängigkeit von der Temperatur, dem Alter und der Rücknahmehäufigkeit

4.3.1 Temperaturabhängige Veränderungen der Vitalitätsparameter nach einmaliger Ausgabe und Rücknahme

Im Folgenden wurden die Vitalitätsparameter von 79 einmal zurückgenommenen Konserven in Beziehung zu ihrer Rücknahme-Temperatur gesetzt. Die untersuchten Konserven hatten die Blutbank einmal verlassen und waren nach Nichtgebrauch wieder zurückgenommen worden. Die Temperaturmessung erfolgte an der Beuteloberfläche mit der in Kapitel 3.3.2 beschriebenen Methode nach 2 min. Ziel war es festzustellen, ob eine Abhängigkeit zwischen der Rücknahmetemperatur und den verschiedenen Vitalitätsparametern besteht. Die Ergebnisse im Einzelnen finden sich in Tab. #5 im Anhang.

4.3.1.1 Hämolyserate

In der folgenden Abbildung wurde die Hämolyserate der Erythrozytenkonzentrate gegen die Rücknahmetemperatur in Beziehung gesetzt. Der Korrelationskoeffizient betrug r = 0,01. Es besteht also mit Sicherheit kein Zusammenhang zwischen beiden Größen.

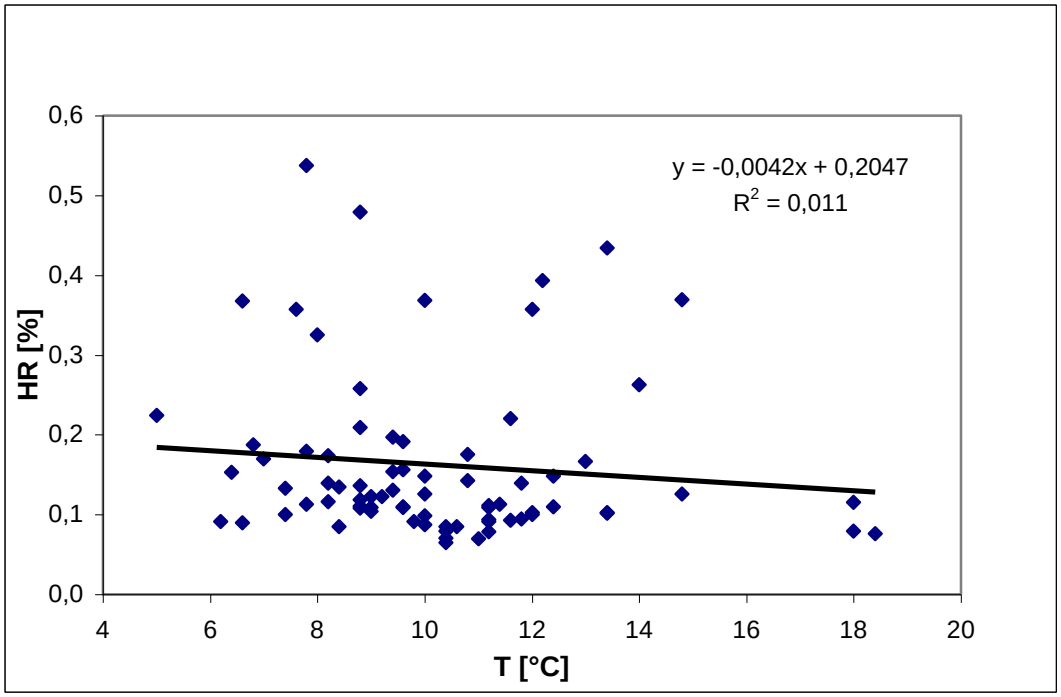


Abb. 16: Keine Abhängigkeit der Hämolyserate von der Konserventemperatur (n=78)

4.3.1.2 pH-Wert

Die Beziehung der Rücknahmetemperatur zum pH-Wert der Erythrozytenkonzentrate ist in Abb. 17 dargestellt. Auch hier zeigte sich keine signifikante Korrelation.

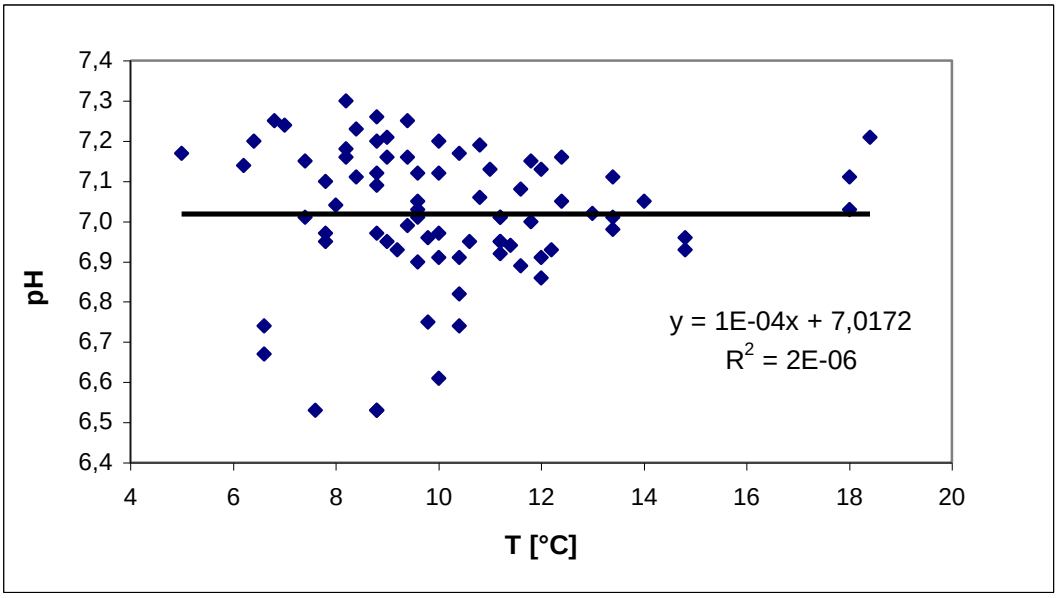


Abb. 17: Keine Abhängigkeit des pH-Wertes von der Konserventemperatur (n=78)

4.3.1.3 Extrazelluläre Kaliumkonzentration

Auch die extrazelluläre Kaliumkonzentration wurde in Beziehung zur Rücknahmetemperatur gesetzt. Der Korrelationskoeffizient betrug r = 0,03. Es besteht ebenfalls kein Zusammenhang zwischen beiden Größen.

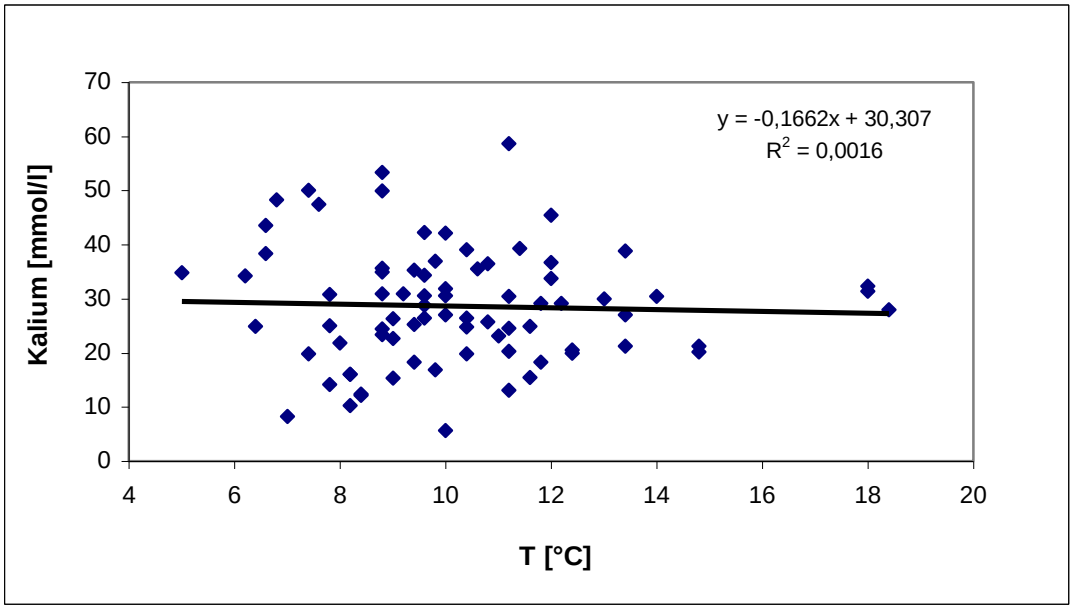


Abb. 18: Keine Abhängigkeit der extrazellulären Kaliumkonzentration von der Konserventemperatur (n=78)

4.3.1.4 Extrazelluläre Natriumkonzentration

In der folgenden Abbildung wurde die extrazelluläre Natriumkonzentration in Beziehung zur Rücknahmetemperatur gesetzt. Der Korrelationskoeffizient betrug r = 0,21. Ein Zusammenhang zwischen beiden Größen konnte somit auch hier nicht nachgewiesen werden.

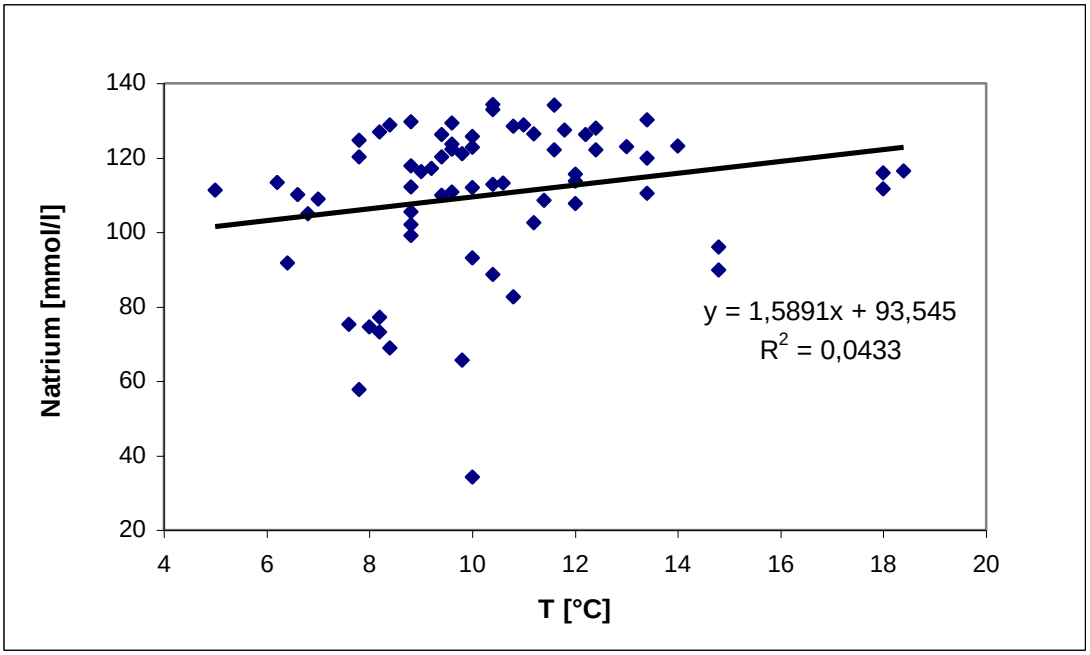


Abb. 19: Keine Abhängigkeit der extrazellulären Natriumkonzentration von der Konserventemperatur (n=69)

4.3.1.5 Intrazelluläre 2,3-DPG-Konzentration

In der folgenden Abbildung wurde die 2,3-DPG-Konzentration zur Rücknahmetemperatur in Beziehung gesetzt. Der Korrelationskoeffizient betrug r = 0,05. Es besteht kein Zusammenhang zwischen beiden Größen.

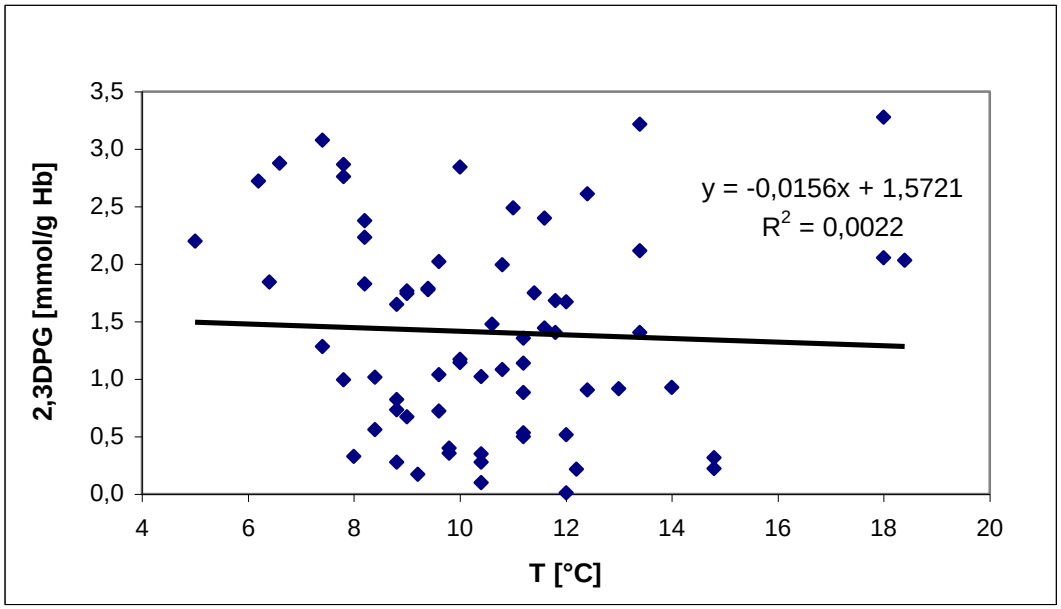


Abb. 20: Keine Abhängigkeit der 2,3-DPG Konzentration von der Konserventemperatur (n=68)

4.3.1.6 Intrazelluläre ATP-Konzentration

In der nächsten Abbildung wurde der ATP-Gehalt der Erythrozytenkonzentrate in Beziehung zur Rücknahmetemperatur gesetzt. Der Korrelationskoeffizient betrug r = 0,36. Es deutet sich im Unterschied zu den anderen bisher berichteten Ergebnissen ein gewisser Trend an, jedoch kann damit ein signifikanter Zusammenhang nicht nachgewiesen werden.

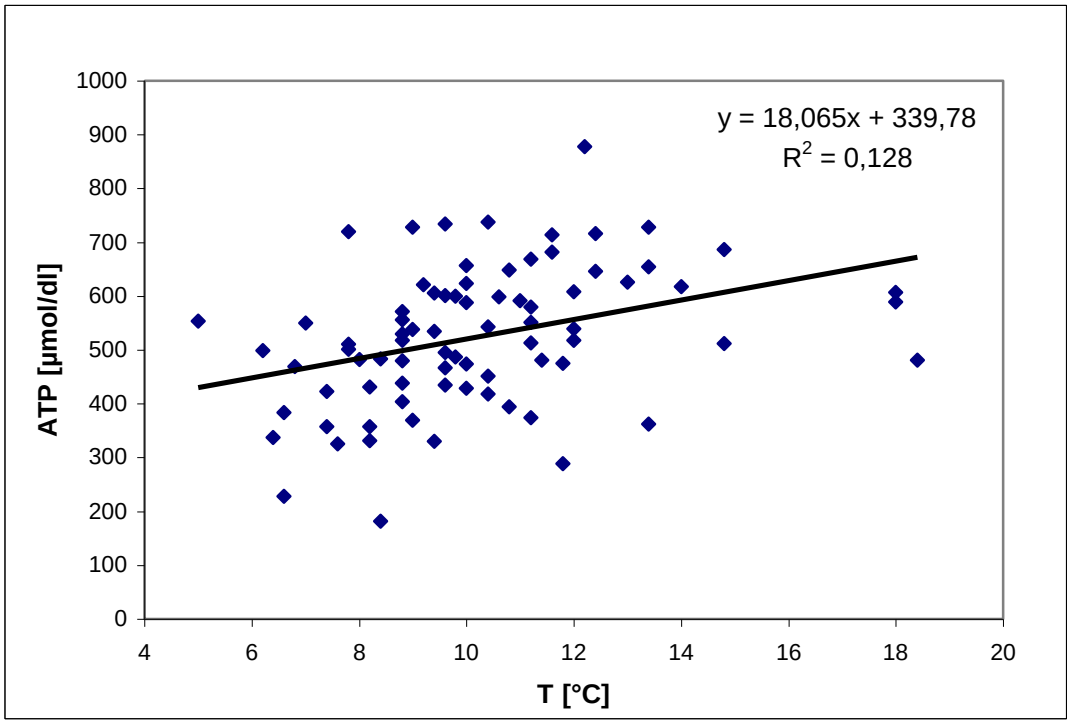


Abb. 21: Mögliche Abhängigkeit des ATP-Gehalts von der Konserventemperatur (n=78)

4.3.1.7 Hämatokrit

In Abb. 22 wurde der Hämatokrit der Erythrozytenkonzentrate zur Rücknahmetemperatur in Beziehung gesetzt. Der Korrelationskoeffizient betrug r = 0,09. Es besteht kein Zusammenhang zwischen beiden Größen.

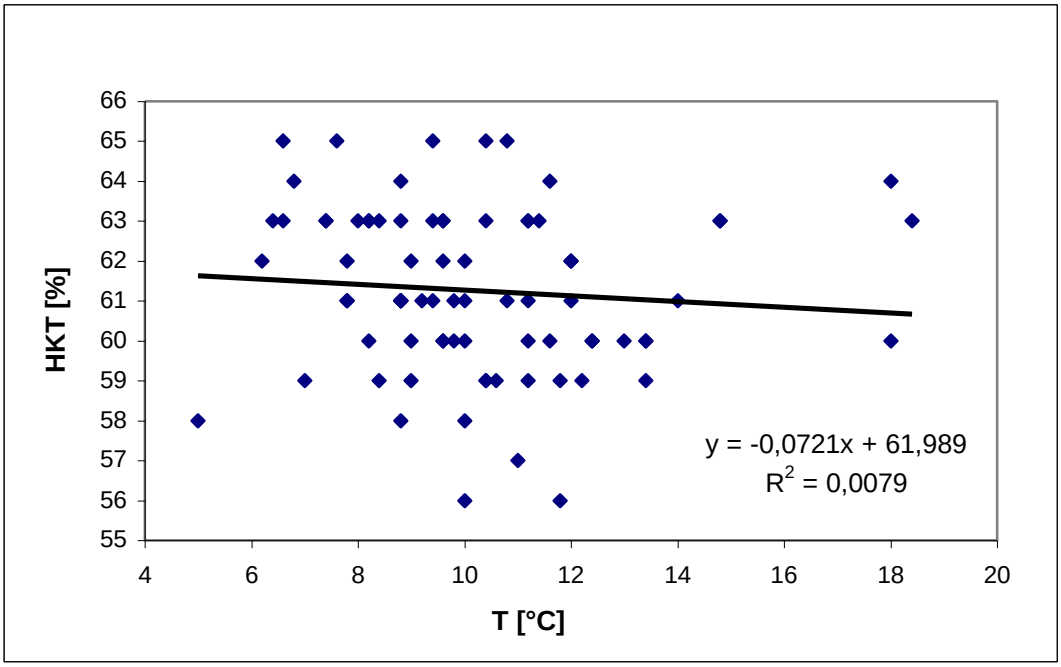


Abb. 22: Keine Abhängigkeit des Hämatokrits von der Konserventemperatur (n=79)

4.3.1.8 Korrelation zwischen ATP und extrazellulärer Kaliumkonzentration

Abb. 23 zeigt die Beziehung zwischen der extrazellulären Kaliumkonzentration und dem ATP-Gehalt. Der Korrelationskoeffizient betrug r = 0,14. Ein Zusammenhang zwischen beiden Größen konnte somit nicht nachgewiesen werden.

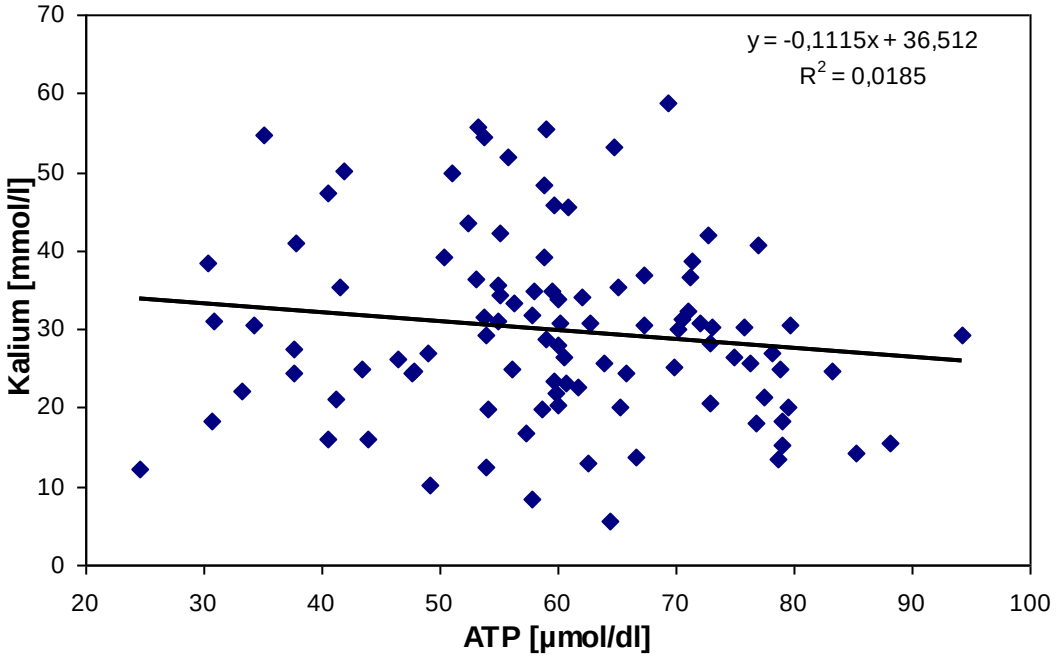


Abb. 23: Keine Korrelation zwischen ATP und extrazellulärem Kalium nach einmaliger Ausgabe und Rücknahme, (n = 79)

4.3.2 Altersabhängige Veränderungen der Vitalitätsparameter nach einmaliger Rücknahme

4.3.2.1 Extrazelluläre Kalium-Konzentration

Im Folgenden wird der Zusammenhang zwischen der extrazellulären Kaliumkonzentration und dem Alter der einmal ausgegeben und wieder zurückgenommenen Konserven dargestellt. Der Korrelationskoeffizient beträgt r = 0,71, ein Zusammenhang ist somit wahrscheinlich. Mit zunehmendem Alter der Konserve steigt die extrazelluläre Kaliumkonzentration an.

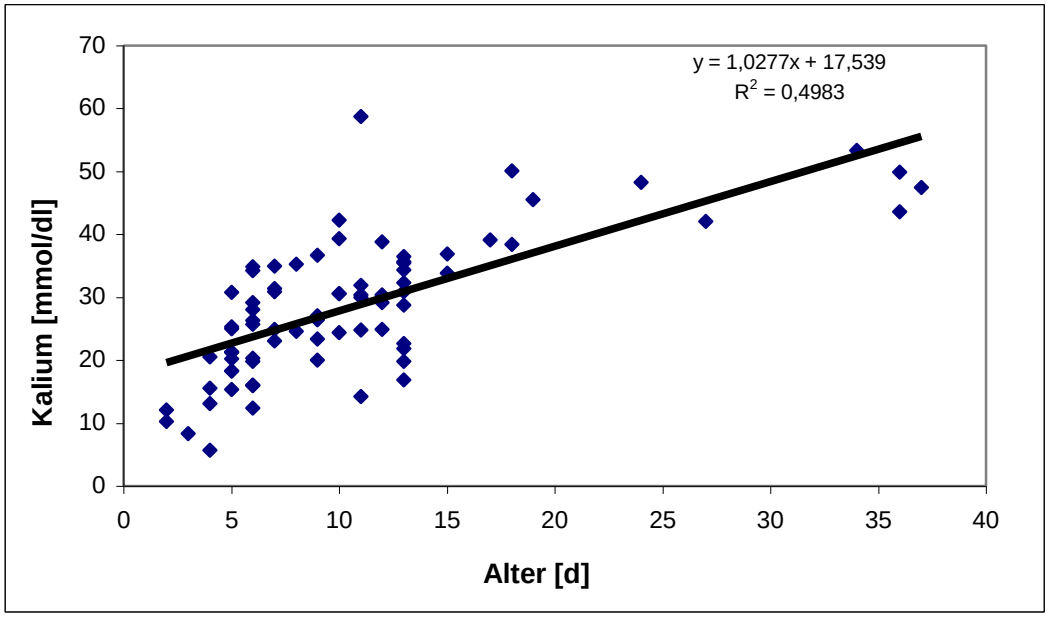


Abb. 24: Abhängigkeit der extrazellulären Kaliumkonzentration vom Konservenalter (n= 79)

4.3.2.2 Intrazelluläre 2,3-DPG-Konzentration

In Abb. 25 ist der Zusammenhang zwischen dem Alter der einmal ausgegebenen und zurückgenommenen Konserven und der 2,3-DPG-Konzentration dargestellt. Der Korrelationskoeffizient betrug r = 0,5. Es zeigte sich ein deutlicher Abfall der 2,3-DPG-Konzentration bereits innerhalb der ersten 2 Wochen.

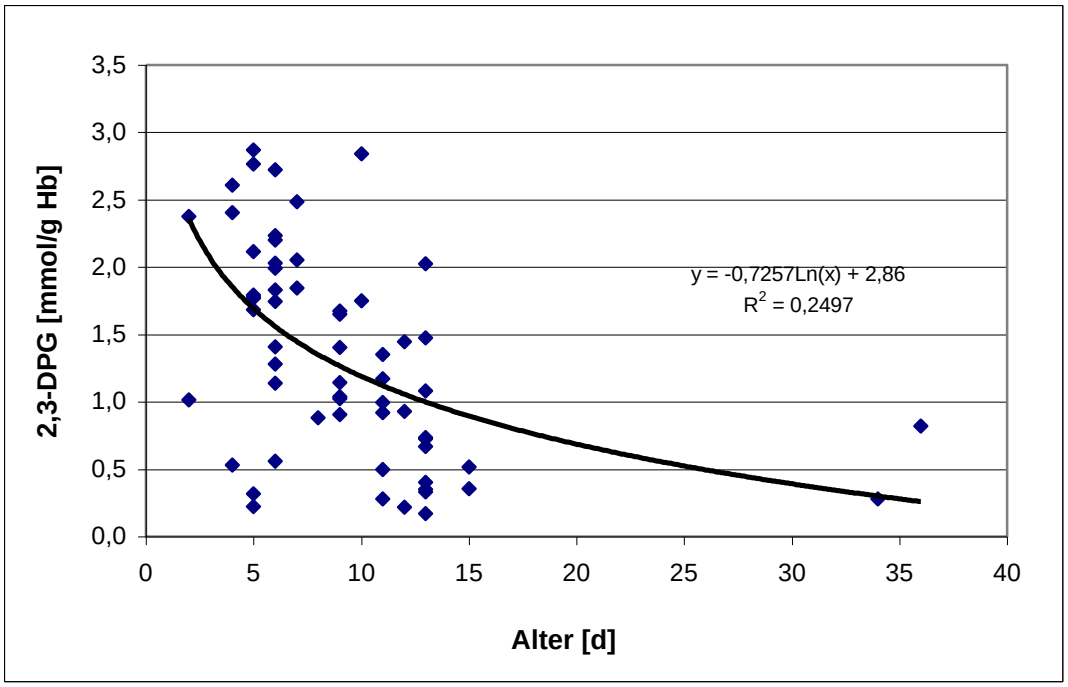


Abb. 25: Abhängigkeit der 2,3-DPG Konzentration vom Konservenalter (n= 63)

4.3.2.3 pH-Wert

Im Folgenden wurde der pH-Wert der einmal zurückgenommenen Konserven in Beziehung zum Konservenalter gesetzt. Mit zunehmendem Konservenalter sinkt der pH-Wert.

Der Korrelationskoeffizient betrug r = 0,78. Es konnte ein deutlicher Zusammenhang nachgewiesen werden.

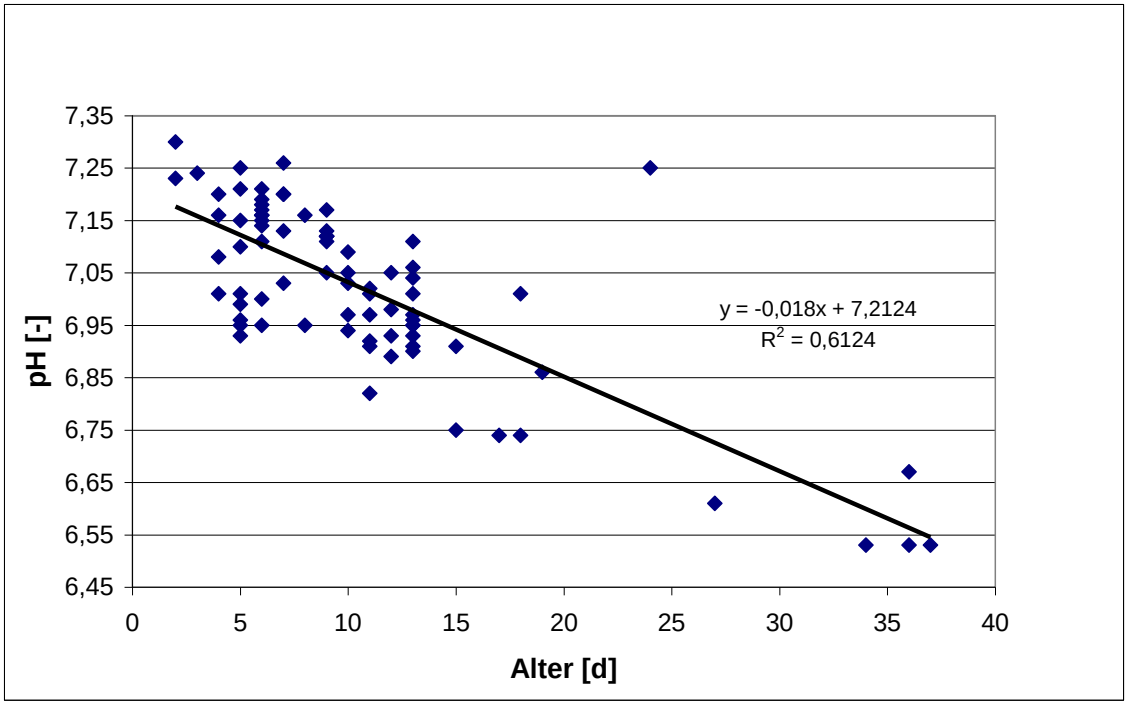


Abb. 26: Abhängigkeit des pH-Wertes vom Konservenalter (n= 79)

4.3.3 Temperaturverteilung der zurückgenommenen Erythrozyten-Konzentrate

In Abb. 27 sind die Häufigkeiten der Rücknahmetemperaturen graphisch dargestellt. Die Durchschnittstemperatur aller untersuchten 101 Konserven betrug 10,3 °C. Die Temperatur von 74% der zurückgenommenen Erythrozyten-Konzentrate war ≤ 10 °C, (exakt ≤ 10,44 °C).

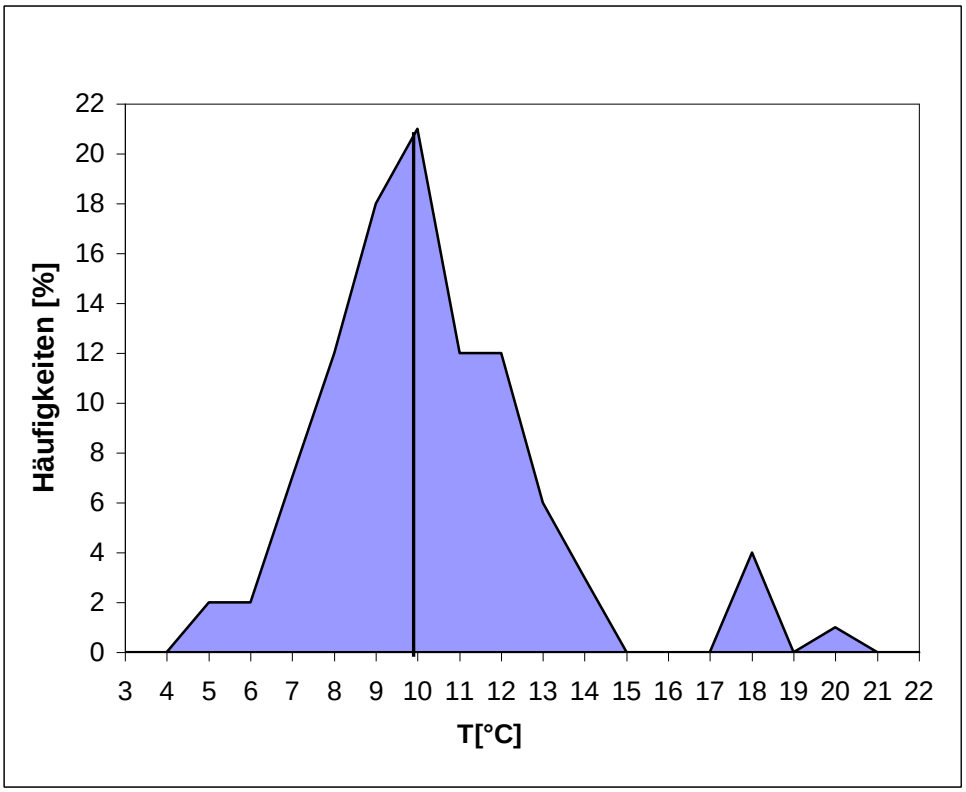


Abb. 27: 72% der gemessenen Rücknahmetemperaturen waren ≤ 10 °C, (n = 100)

4.3.4 Veränderung der Vitalitätsparameter in Abhängigkeit von der Ausgabe-/Rücknahmehäufigkeit

Die folgenden Tabellen zeigen die Mittelwerte, Standardabweichungen, Minima und Maxima gegliedert nach den Ausgabe-/ Rücknahmehäufigkeiten. Die Ergebnisse im Einzelnen finden sich im Anhang in den Tab. #5, #6 und #7.

	Alter	m	T	HKT	HR	pH	2,3-DPG	ATP	K (extra)	Na(extra)	f(Hb)
	d	g	°C	%	%	[-]	mmol/g Hb	µmol/dl	mmol/l	mmol/l	mg/dl
Mittelwert	11	321	10,2	61	0,16	7,02	1,41	61,39	28,6	110,0	81,58
Median	9	318	9,8	61	0,12	7,03	1,35	60,25	28,0	114,7	59,05
Stdev %	7	17	2,6	2	0,10	0,17	0,88	13,52	10,8	20,4	53,82
Minimum	2	278	5,0	56	0,07	6,53	0,01	24,56	5,7	34,2	29,30
Maximum	37	360	18,4	65	0,54	7,30	3,28	94,30	58,7	134,4	285,70
VK %	69	5	25	3	64	2	63	22	38	19	66
n	79	79	79	79	77	79	67	79	79	68	77

Tab. 6: Mittelwerte und Standardabweichungen von 1 x zurückgenommenen EKSF.

	Alter	m	T	HKT	HR	pH	2,3-DPG	ATP	K (extra)	Na(extra)	f(Hb)
	d	g	°C	%	%	[-]	mmol/g Hb	µmol/dl	mmol/l	mmol/l	mg/dl
Mittelwert	14	325	10,8	61	0,22	6,97	1,11	52,66	32,5	96,0	113,12
Median	10	328	9,8	60	0,22	7,00	0,42	53,65	31,0	98,8	106,48
Stdev %	9	16	3,7	2	0,11	0,21	1,02	17,12	13,4	22,9	63,17
Minimum	6	297	5,2	58	0,08	6,53	0,12	30,85	13,6	52,8	35,60
Maximum	41	356	20,2	66	0,54	7,22	3,35	78,62	55,8	128,2	283,55
VK %	65	5	34	4	51	3	92	33	41	24	56
n	17	17	17	17	16	17	15	17	17	17	16

Tab. 7: Mittelwerte und Standardabweichungen von 2 x zurückgenommenen EKSF.

	Alter	m	T	HKT	HR	pH	2,3-DPG	ATP	K (extra)	Na(extra)	f(Hb)
	d	g	°C	%	%	[-]	mmol/g Hb	µmol/dl	mmol/l	mmol/l	mg/dl
Mittelwert	23	312	10,6	61	0,24	6,83	0,68	56,13	40,5	114,9	114,34
Median	27	320	11,4	62	0,26	6,81	0,55	55,71	45,9	113,4	131,00
Stdev %	8	17	1,8	2	0,10	0,14	0,56	6,16	14,5	10,5	39,29
Minimum	13	292	8,4	58	0,11	6,66	0,09	47,67	24,4	102,5	59,53
Maximum	30	331	12,6	63	0,35	7,04	1,55	63,97	54,6	131,4	150,10
VK %	37	6	17	4	41	2	82	11	36	9	34
n	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Tab. 8: Mittelwerte und Standardabweichungen von 3 x zurückgenommenen EKSF.

In der Abb. 28 sind die Veränderungen der Vitalitätsparameter in Abhängigkeit von der Rücknahmehäufigkeit dargestellt. Die Darstellung ist relativ zum 100%-Wert (= 1 × zurück, n = 67-79 je nach Parameter, gewählt).

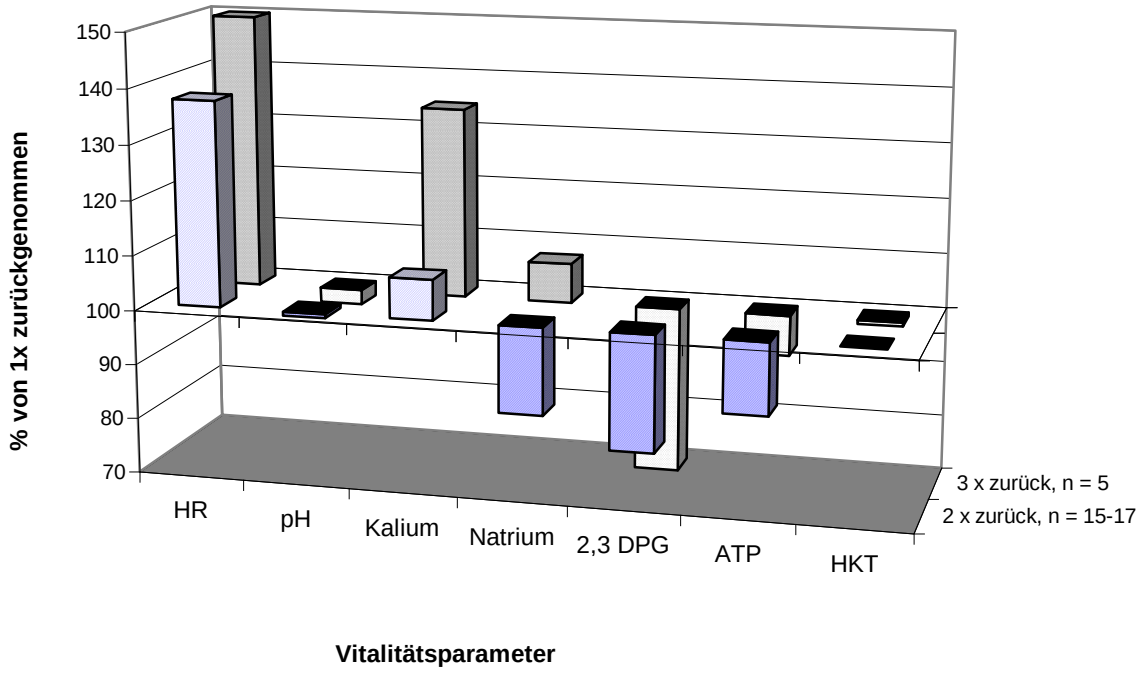


Abb. 28: *Veränderung der verschiedenen Qualitätsparameter in Abhängigkeit von der Häufigkeit, mit der die EK im Vergleich zur einmaligen Rücknahme zurückgenommen wurden. Zu beachten ist, dass der Umfang der Gruppen variierte.*

Mit zunehmender Rücknahmehäufigkeit steigen die Hämolyserate und der extrazelluläre Kaliumgehalt an. Der pH-Wert und die 2,3-DPG Konzentration sinken. Ein einheitlicher Trend konnte bei der extrazellulären Natriumkonzentration nicht nachgewiesen werden. Der ATP-Gehalt lag nach mehrmaliger Ausgabe unter dem ursprünglichen Gehalt. Die zweimalige Rücknahme war interessanter Weise mit einer größeren Abnahme verbunden als die dreimalige. Beim Hämatokrit war in diesem Stichprobenumfang keine signifikante Veränderung zu beobachten.

5 Diskussion

Während der Lagerung verändern Erythrozyten-Konzentrate (EK) ihre Beschaffenheit. Verschiedene In-vitro-Parameter wurden herangezogen um die daraus resultierenden Veränderungen in ihrer biologischen Wertigkeit abzuschätzen. Die stets gemachte Annahme bei der Beurteilung der in vivo Verweilzeit ist, dass funktionsfähige Erythrozyten auch nach der Transfusion länger im Organismus überleben.

Außerdem gibt es nur wenige festgelegte und international akzeptierte Qualitätskriterien für Erythrozytenkonzentrate. Variable Einflussgrößen im Herstellungsprozess in den einzelnen Ländern und sogar zwischen einzelnen Zentren eines Landes erschweren den Vergleich von Daten, die an Erythrozytenkonzentraten in verschiedenen Studien erhoben wurden.

Die vorliegende Untersuchung zeigt Daten, anhand derer der Einfluss des Konservenalters, der Ausgabe-/ Rücknahmehäufigkeit und der Temperatur auf die In-vitro-Qualität der Blutkonserven deutlich wird.
Dazu wurden zum einen Daten aus regelmäßigen Qualitätskontrollen analysiert. Zum anderen wurde die Rücknahmetemperatur bei Ankunft im Institut für Transfusionsmedizin gemessen und deren mögliche Konsequenz auf die Konservenqualität untersucht.

5.1 Diskussion der Analyse der Daten aus den regelmäßigen Qualitätskontrollen (Zeitraum 2001 – 2006)

Im ersten Teil dieser Arbeit wurden die im Rahmen der regelmäßigen Qualitätskontrollen erhobenen Daten von 1189 Konserven, deren Verfallsdatum überschritten war, analysiert. Es wurden also nicht eigens für die Qualitätskontrolle hergestellte Präparate ausgewertet, sondern es handelte sich um Konserven aus dem „Routinebetrieb“. Die Konserven waren zum Untersuchungszeitpunkt vom Alter her vergleichbar jedoch unterschieden sie sich in der Ausgabe- und Rücknahmehäufigkeit (Tab. 1). Das Ziel dieser Auswertung war es festzustellen, ob es eine Korrelation zwischen der Ausgabehäufigkeit und den erhobenen Qualitätsparametern gibt. Die

untersuchten In-vitro-Daten entsprachen den festgelegten Parametern im Rahmen der regelmäßigen Qualitätskontrolle.

Die Hämolyserate ist eines der wenigen international festgelegten Qualitätskriterien für Erythrozyten-Konzentrate. Sie darf am Ende der Lagerungsdauer einen Wert von 0,8 % nicht überschreiten [15;17].
Bei den im ersten Teil der Arbeit untersuchten 1189 Blutkonserven lag die durchschnittliche Hämolyserate mit 0,18% weit unter den geforderten 0,8%. Lediglich bei einer Blutkonserve (entspricht 0,1%) wurde mit 1,03% ein Wert größer als 0,8% gemessen. In anderen vergleichbaren Studien wurden höhere Werte von 0,56 ± 0,4% [81] und 0,56 ± 0,21% [36] gefunden.
Ferner zeigte sich ein deutlicher Zusammenhang zwischen der Ausgabehäufigkeit und der Hämolyserate. Jedoch anders als vielleicht vermutet sank mit zunehmender Ausgabehäufigkeit die Hämolyserate (vgl. Tab. 1, Abb. 6). Durchschnittlich war die Hämolyserate bei einer 5mal zurückgenommenen Konserve um 30% niedriger als bei einer niemals ausgegebenen Konserve. Andere Studien haben ebenfalls diesen Effekt im Zusammenhang mit der Positionierung und Bewegung von Blutkonserven beschrieben [13;18;36;42]. Ein schlechterer Gasaustausch und weniger Kontakt mit der Nährlösung für „bodennahe“ Erythrozyten wurden als Ursache für eine ausgeprägte Schädigung bei nicht bewegten, senkrecht stehenden Blutkonserven angenommen. Aufgrund der Bewegung bei der Ausgabe und Rücknahme, des Durchmischens beim Transport und des Erwärmens nach Verlassen des Kühlraumes werden alle Erythrozyten wieder gleichmäßig mit Nährlösung umspült und der Stoffwechsel aktiviert. Dies wirkt sich nicht nur positiv auf die Vitalität der Erythrozyten, sondern auch auf ihre Verformbarkeit aus. Eine frühere Studie weist in diesem Zusammenhang auf die essentielle Bedeutung von Bewegung und Vermischung für die optimale Lagerung von Erythrozytenkonzentrate hin [43].

Der fallende pH-Wert mit steigender Ausgabehäufigkeit bestätigt die gefundenen Ergebnisse. Durch Bewegung kommen mehr Erythrozyten mit der Nährlösung in Kontakt und durch die Erwärmung wird mehr Glycolyse betrieben, so dass vermehrt saure Stoffwechselprodukte anfallen. Die Ansammlung von Lactat bewirkt einen zunehmenden pH-Wert Abfall. Der vorgeschriebene pH-Bereich von 6,2 - 6,8 am Ende einer 42 tägigen Lagerung wurde wiederum nur von 1 der über 1000 untersuchten

Konserven unterschritten. Durchschnittlich lag der pH-Wert am Ende der Lagerung bei 6,55 ± 0,06% (vgl. Tab. 1, Abb. 9). Werte in ähnlichen Bereichen von 6,47 ± 0,05% und 6,52 ± 0,03% wurden in anderen Studien gefunden [45;81]. Auffällig ist der niedrige pH-Wert der nicht ausgegebenen Konserven (Gruppe 2): Er korrespondiert mit einer relativ hohen Hämolyserate (Abb. 8) und einer relativ niedrigen Konzentration an extrazellulärem Kalium (Abb. 7).

Mit zunehmender Ausgabehäufigkeit steigt die extrazelluläre Kaliumkonzentration tendenziell leicht an (Tab. 2, Abb. 7), insgesamt unterscheiden sich die Mittelwerte in den einzelnen Gruppen aber nur minimal. Eine vermehrte Hämolyse als Ursache für den extrazellulären Kaliumanstieg erscheint möglich, ein signifikanter Zusammenhang konnte in der Korrelationsanalyse allerdings nicht nachgewiesen werden (Abb. 10). Mit zunehmender Ausgabehäufigkeit fällt die Hämolyserate sogar ab. (Abb. 8). Es liegt also nahe anzunehmen, dass der Anstieg des Kaliums nicht durch einen vorzeitigen Zelltod hervorgerufen wird. Diese Ergebnisse finden sich in einer Studie von Heidenreich bestätigt [32].

In den untersuchten Konserven wurden extrazelluläre Kalium Konzentrationen von 32,2 bis zu 75,1 mmol/l gefunden. Der Durchschnittswert betrug 56,9 ± 6,1 mmol/l. Damit entsprechen die Werte in etwa auch den in anderen Studien erhobenen Daten von 50,0 ± 4,7 mmol/l und 48,1 ± 3,7 mmol/l [6;20;26;66].

Die Länge der Lagerungsdauer und die Rücknahmehäufigkeit führte zu einer Veränderung der In-vitro-Charakteristika. Diese wiesen den bekannten Verlauf auf. In der gängigen Literatur gibt es sowohl Studien, die auf ähnliche Ergebnisse hinweisen [35;50;72;76] als auch Studien, die eine deutliche Verschlechterung der Blutkonserven nach 3-wöchiger Lagerung diskutieren [3;23;71].

5.2 Diskussion zur Temperaturmessung an und in EKSF

In der vorliegenden Arbeit wurden Leukozyten-depletierte Erythrozyten-Konzentrate bei der Rücknahme von peripheren Stationen in den Verantwortungsbereich des transfusionsmedizinischen Institutes auf ihre Temperatur hin untersucht. Dazu wurden zuvor umfassende Temperaturmessversuche durchgeführt, um eine zuverlässige Messmethode zu etablieren. Deren Ziel war es, eine hohe Reproduzierbarkeit sowie eine hohe Richtigkeit zu erreichen.

Nach einer Standardisierung des Messverfahrens wurden bei 50 EK die Aussen- und Innentemperatur gemessen und miteinander verglichen: die Konserven waren im Durchschnitt im Inneren 0,29 °C kälter als von aussen gemessen.
Ferner wurde der Temperaturverlauf nach Unterbrechung der Kühlkette mit anschließender Lagerung bei Raumtemperatur näher untersucht. Ziel war es, den Erwärmungsverlauf der Konserven prognostizieren zu können und eventuelle Temperatur Veränderungen bis zum Messzeitpunkt zu erfassen. Die Temperaturen der zurückgenommenen Blutkonserven wurden innerhalb von 2 min nach dem Eintreffen in der Blutbank gemessen. Aus dem ermittelten Temperatur-Zeit-Verlauf kann geschlossen werden, dass zu diesem Zeitpunkt die Konserven um ca. 0,3 °C wärmer waren als nach ihrer Ankunft. Nach 30 min Lagerung bei Raumtemperatur überschritten die Konserven den kritischen Wert von 10 °C (vgl. Abb. 14). Diese Untersuchungsergebnisse werden durch die Literatur bestätigt [2].
Berücksichtigt man, dass die Konserven im Inneren 0,29 °C kälter sind als von aussen gemessen, und eine Erwärmung um ca. 0,3 °C zum Messzeitpunkt vorliegt, so heben sich beide Effekte auf. Es kann in dieser Arbeit also davon ausgegangen werden, dass die von aussen nach 2 min gemessene Temperatur der Innentemperatur des Erythrozyten-Konzentrates beim Eintreffen in der Blutbank entspricht.

5.3 Diskussion zur Konservenqualität in Abhängigkeit von der Temperatur, dem Alter und der Rücknahmehäufigkeit

Zunächst soll auf die temperaturabhängigen Veränderungen von Vitalitätsparametern bei einmaliger Ausgabe und Rücknahme eingegangen werden.
Die gemessene durchschnittliche Rücknahmetemperatur bei allen untersuchten Konserven betrug 10,3 °C ± 2,8 °C und liegt somit an der oberen Grenze der zulässigen Transporttemperatur von 10 °C [1;15;17]. Die kälteste zurückgenommene Konserve wurde mit 5,0 °C, die wärmste mit 20,2 °C gemessen (Tab. 6-8). 74% der zurückgenommenen Konserven wurden mit der zulässigen Temperatur von bis zu 10 °C (exakt ≤ 10,44) zurückgegeben (Abb. 27).
Die Untersuchung zeigte jedoch, dass eine erhöhte Rücknahmetemperatur nicht zu einer Verschlechterung führte. Bei sämtlichen Vitalitätsparametern fand sich kein Zusammenhang zwischen der Temperatur und den Vitalitätsparametern (vgl. Abb. 16-22).

Die Hämolyserate veränderte sich nicht mit steigender Rücknahmetemperatur. Die Werte der zurückgenommenen Konserven lagen mit 0,16 ± 0,1% weit unter den national und international als Standard geforderten 0,8%. Dieses Ergebnis wird in einer Studie von Weisbach et al., in der Konserven bei 25 °C für 24 Stunden erwärmt wurden, bestätigt [78]. Auch in der vorliegenden Untersuchung kam es nicht zu einer Erhöhung der Hämolyserate, die gemessenen Werte lagen bei 0,2 ± 0,1%. Eine Temperatur-Erhöhung hat somit keine unmittelbare Auswirkung auf die Hämolyserate (vgl. Abb. 16).

Der pH-Wert (Abb. 17), die extrazelluläre Kalium- (Abb. 18) und Natriumkonzentration (Abb. 19) und der Hämatokrit (Abb. 22) der untersuchten Konserven standen ebenfalls in keinem Zusammenhang zur gemessenen Temperatur. Die Werte lagen im Normbereich und waren unauffällig. Anders als in einer Studie von Högman wurde bei den hier untersuchten Konserven mit höheren Rücknahmetemperaturen kein 2,3-DPG-Abfall beobachtet [37].

Obwohl immer noch weit entfernt von jeder Signifikanz, so zeigte der ATP-Gehalt einen gewissen Zusammenhang zur Konserventemperatur: mit steigender Temperatur, stieg er leicht an (Abb. 21). In der Literatur wird in diesem Zusammenhang auf die Bedeutung der Dauer der Kühlkettenunterbrechung hingewiesen. Viele Publikationen weisen auf eine Beschleunigung des Alterungsprozesses durch eine Unterbrechung der Kühlung hin. So zeigten 2 Untersuchungen, dass es bei einer Erwärmung über 2 h bei Raumtemperatur es zu einer gesteigerten Stoffwechselaktivität der Erythrozyten kommt, welche mit einem starken ATP-Abfall einhergeht, und sich die Laufzeit um ungefähr 1/3 bzw. 12 Tage verkürzt [53;60]. Der ATP-Gehalt soll sich jedoch wieder bis zum Ende der Lagerungsdauer erholen können. Auf der anderen Seite liegen Ergebnisse vor, dass eine Lagerung von Konserven bei einer Temperatur, die über 10 °C, aber unter Raumtemperatur liegt, für weniger als 2 h keinen signifikanten Einfluss auf die In-vitro-Qualität von Erythrozytenkonserven haben soll [2;59]. Dies kann durch die vorliegenden Untersuchungen bestätigt werden.

Bei den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Messungen konnte zwar festgestellt werden, wenn eine Konserve bei Rücknahme zu warm war aber nicht wie lange diese Erwärmung bereits angedauert hat oder ob bei der Rücknahme von „kühlen“ Konserven nicht zwischenzeitlich eine Erwärmung stattgefunden hat. Viele Faktoren wie die

genaue Art des Transports und jahreszeitlich möglicherweise erhöhte Außentemperaturen und deren Auswirkungen könnten durch weitere Untersuchungen geklärt werden. Die Zeitdauer der Erwärmung und Häufigkeit sollte dabei ebenfalls erfasst werden. Mehrmalige kurze Kühlkettenunterbrechungen sind von einmaligen langen Unterbrechungen abzugrenzen, da deren Wirkung zumindest von einem Untersucher als weniger kritisch eingestuft wurde [59].

Die eigenen Untersuchungen bestätigen die altersabhängigen Veränderungen der Vitalitätsparameter, wie sie in der Literatur beschriebenen wurden. Das durchschnittliche Konservenalter bei der ersten Rücknahme lag bei 11 Tagen (Tab. 6), bei der 2. Rücknahme waren sie im Durchschnitt 14 Tage (Tab. 7) und bei der 3. Rücknahme 23 Tage alt (Tab. 8).

Der extrazelluläre Kaliumgehalt stieg mit zunehmendem Konservenalter an. Durchschnittlich lag die extrazelluläre Kaliumkonzentration bei einer 11 Tage alten Konserve bei 28,6 ± 10,8 mmol/l, was den Werten in der Literatur von 22,0 ± 8,0 mmol/l entspricht [6;45;47;64]. Maximal wurde ein Wert von 58,7 mmol/l und minimal von 5,7 mmol/l gemessen (vgl. Tab. #5).

Die 2,3-DPG-Konzentration zeigte den typischen Verlauf, bereits nach wenigen Tagen war sie stark abgesunken. Eine 11 Tage alte Konserve wies durchschnittlich eine 2,3-DPG-Konzentration von 1,41 mmol/g Hb auf. Konserven, die 23 Tage alt waren, wiesen nur noch die Hälfte der 2,3-DPG-Konzentration auf wie die 11 Tage alten (Tab. 6-8). Dieser Effekt ist in der Literatur bekannt und seine Relevanz wird diskutiert [22;31;39;41;66]. Dieser 2,3-DPG-Abfall ist aber reversibel und es stellt sich 48 h nach der Transfusion wieder eine normale Konzentration ein. Bei Risikopatienten mit begrenzten Myokardreserven oder Koronarinsuffizienz wird dies als bedenkenswürdiger Faktor diskutiert [9;60].

Beim pH-Wert ergab sich ebenfalls ein erwartungsgemäßer Verlauf. Mit zunehmendem Konservenalter sank der pH-Wert. Der durchschnittliche pH-Wert nach 11 Tagen lag bei 7,02. ± 0,17 Maximal wurde ein pH-Wert von 7,30 und minimal von 6,53 gemessen. Die Werte liegen im zulässigen Bereich. In der Literatur sind Werte von 6,81 ± 0,03 und 6,89 ± 0,07zu finden [45;77].

Es bestätigte sich erwartungsgemäß, dass Erythrozyten-Konzentrate, die nicht älter als 2 Wochen sind, hinsichtlich der erhobenen In-vitro-Kriterien im Vergleich besser sind als solche am Ende der Haltbarkeit nach 6 Wochen. Dies ist ebenfalls in der Literatur so zu finden [45;71]. Die Veränderungen von In-vitro-Vitalitätsparametern und deren klinische Relevanz sind aber seit jeher Gegenstand der Forschung [5;52;70;74;79].

Ein weiterer Teil der Untersuchungen befasste sich mit den Veränderungen der In-vitro-Charakteristika aufgrund einer Mehrfachausgabe- und –Rücknahme von Erythrozyten-Konzentraten.

Hierbei zeigte sich (nicht ganz überraschend), dass Konserven, die mehrfach zurückgenommen worden waren, durchschnittlich älter waren als Konserven, die nur einmal zurückgenommen wurden. So war eine 3mal zurückgenommene Konserve zum Untersuchungszeitpunkt mit durchschnittlich 23 Tagen ca. doppelt so alt wie eine nur einmal zurückgenommene Konserve mit 11 Tagen. Die 2mal zurückgenommenen Konserven waren durchschnittlich 14 Tage alt. Es ist also darauf hinzuweisen, dass die Parameter „Konservenalter“ und „Ausgabehäufigkeit“ in dieser Untersuchung nicht strikt voneinander zu trennen waren.

Prinzipiell zeigt sich aber, dass die Hämolyserate mit zunehmender Rücknahmehäufigkeit ansteigt. Während die Differenz zwischen einer einmal zurückgenommenen (0,16%) und einer zweimal zurückgenommenen (0,22%) Konserve relativ groß ist, steigt bei einer weiteren Rücknahme die Hämolyserate nur noch minimal auf 0,24% an. Dies ist überraschend, da die ein- und zweimal ausgegebenen Konserven vom Alter nah beieinander lagen (11 bzw. 14 Tage), wohingegen dreimal ausgegebene EK im Mittel 23 Tage alt waren (Tab. 6-8; Abb. 28).
Die steigende Hämolyserate könnte ein Hinweis darauf sein, dass eine Veränderung der Konserve erfolgt ist. Ein direkter Zusammenhang zwischen einer mit der Ausgabe verbundenen Erwärmung und einer steigenden Hämolyserate konnte jedoch sowohl in dieser als auch in anderen Studien nicht nachgewiesen werden [78;81].
Hämolyseraten von 0,24 ± 0,1% bei 23 Tage alten EK entsprechen Berichten aus der Literatur mit 0,27 ± 0,09% [45;55]. Die darin beschriebenen EK waren jedoch

zwischenzeitlich nicht ausgegeben worden und befanden sich stets gleichmäßigen Depotbedingungen- und Temperaturen ausgesetzt.
Eine Verringerung der Hämolyserate aufgrund einer häufigeren Konservendurchmischung (wie in der Literatur beschrieben [36;43]) konnte nicht nachgewiesen werden. Das mag daran liegen, dass in der vorliegenden Untersuchung keine gezielte Durchmischung vorgenommen worden war, sondern lediglich von einer eher zufälligen Agitation beim Transport ausgegangen werden kann.

Der pH-Wert sinkt bei Mehrfachrücknahmen ebenfalls. Er ist stark temperaturabhängig, und kommt es aufgrund einer Kühlkettenunterbrechung zu einer Erwärmung der Konserve, so wird der Stoffwechsel der Erythrozyten beschleunigt und vermehrt Lactat produziert [1]. Der pH-Wert könnte daher ebenfalls ein Indikator für eine Veränderung aufgrund von Mehrfachrücknahmen sein. Jedoch müssen auch bei diesem Parameter altersabhängige Veränderungen berücksichtigt werden. Ein Absinken des pH-Wertes mit zunehmender Lagerungsdauer ist bekanntl und bewegt sich mit einem Wert von 6,83 ± 0,14 bei einem Alter von 23 Tagen durchaus im bekannten Normbereich [45;47;55].

Der extrazelluläre Kaliumgehalt steigt ebenfalls mit zunehmender Rücknahmehäufigkeit an. Ist der Anstieg zwischen der einmaligen und zweimaligen Rücknahme (bei einem Unterschied von 3 Tagen) noch relativ gering, so steigt die extrazelluläre Kaliumkonzentration nach dreimaliger Rücknahme (und weiteren 9 Tagen) deutlich an. Mit Werten von durchschnittlich 40,5 ± 14,5 mmol/l liegt sie über den in der Literatur beschriebenen Werten mit 22,0 ± 8,0 mmol/l [6;26;45], allerdings könnten sich die EK in ihrer Zusammensetzung und den Additivlösungen von den hier untersuchten unterscheiden. In einer anderen Studie wird beschrieben, dass es aufgrund einer Erwärmung und Durchmischung zu einer Aktivierung der Na/K-Pumpe kommt und daraufhin der extrazellulären Kaliumspiegel wieder gesenkt wird [59]. Ein solcher Effekt konnte in der vorliegenden Untersuchung nicht beobachtet werden, die dazu aber auch nicht ausgelegt war.

Erwartungsgemäß sinkt ebenfalls die 2,3-DPG-Konzentration mit zunehmendem Alter und Rücknahmehäufigkeit. Nach dreimaliger Konservenrücknahme konnte durchschnittlich nur noch eine Konzentration von 0,68 ± 0,56 mmol/g Hb nachgewiesen

werden. Dies entspricht den in der Literatur diskutierten Werten von beispielsweise 0,47 ± 0,37 mmol/g Hb [37;45].

Der ATP-Gehalt wird vielfach – aber nicht unumstritten - als wichtigster In-vitro-Parameter für die Überlebensrate der Erythrozyten nach der Transfusion gewertet, wird ebenfalls durch eine Mehrfachrücknahme (und zunehmendes Alter) beeinträchtigt. Nach zweimaliger Ausgabe lag er unter dem Wert nach einmaliger Ausgabe, er erholte sich aber nach dreimaliger wieder etwas, ohne jedoch sein ursprüngliches Niveau zu erreichen. Zu diesem positiven Effekt werden in der Literatur eine mögliche Erwärmung, sowie das Durchmischen der Konserve diskutiert [18;43]. Dieser Effekt wurde interessanterweise durch ein Wiederansteigen des extrazellulären Natriumgehaltes begleitet (Abb. 28).
Insgesamt bleibt also festzuhalten, dass die verschiedenen Parameter durchaus unterschiedliche Verläufe zeigten und Veränderungen nicht stets in dieselbe Richtung erfolgten.

6 Zusammenfassung

Erythrozytenkonzentrate stellen eines der wichtigsten lebensrettenden Arzneimittel dar. Deshalb müssen sie einerseits zu jeder Zeit in ausreichender Menge bereitgehalten werden und andererseits muss ein Qualitätsstandard, der die Sicherheit der Transfusion garantiert, eingehalten werden. Beide Faktoren stellen auch unter ökonomischen Gesichtspunkten eine Herausforderung dar. So stellten Rossi und Simon kürzlich fest, dass die Kosten für ein Erythrozytenkonzentrat Anfang 2000 noch bei ca. 100 $ lagen, in der Zwischenzeit aber bereits um 50 % gestiegen seien [58].

Nicht zuletzt kommt deshalb dem verantwortungsvollen Umgang mit dem Arzneimittel „Erythrozyten-Konzentrat“ eine hohe Bedeutung zu. Dazu gehört auch die Abwägung, ob Konserven, die das Blutdepot verlassen haben, wieder in dieses zurückgenommen werden können, wenn sie nicht zur Transfusion verwendet wurden. Ziel dieser Arbeit ist war deshalb, durch die vorgenommenen Untersuchungen und Auswertungen die Daten zu ermitteln, die als Entscheidungsgrundlage dafür dienen können.

1. Dazu wurde eine Analyse der Daten der Qualitätskontrollen an EK aus den Jahren 2001 bis 2006 vorgenommen. Sie waren während ihrer Lagerung mehrfach ausgegeben bzw. zurückgenommen worden und hatten das Ende ihrer Laufzeit (42 Tage) überschritten. Die Ergebnisse bestätigen die bekannte Tatsache, dass die extrazelluläre Kalium-Konzentration mit zunehmender Ausgabehäufigkeit ansteigt. Maximal wurde eine extrazelluläre Kalium-Konzentration von 77,4 mmol/l (Tab. 2, Abb. 7) gemessen. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die Hämolyserate mit zunehmender Ausgabehäufigkeit sogar geringfügig sank (Tab. 3, Abb. 8).
   Der pH-Wert sank ebenfalls geringfügig mit zunehmender Ausgabehäufigkeit. Allerdings war er bei den EK, die bei der Reservierung bewegt, aber niemals das Depot verlassen hatten, am Ende der Laufzeit überraschender Weise am niedrigsten (Tab. 4, Abb. 9).
   Es fanden sich zwar Hinweise auf eine mögliche Korrelation zwischen der extrazellulären Kalium-Konzentration und der Hämolyserate (Abb.10), zwischen dem pH und der Hämolyserate (Abb. 11) bzw. dem pH und der extrazellulären Kalium-Konzentration aber nicht (Abb. 12).
   Festzustellen ist also, dass die Mehrfachausgabe nicht zu einem kritischen Qualitätsverlust bei diesen In-vitro-Parametern führte.

2. Darüber hinaus wurde eine detaillierte Untersuchung an 101 EK durchgeführt. Diese wurden nach ihrer Rücknahme in das transfusionsmedizinische Institut auf ihre Temperatur und verschiedene Vitalitätsparameter hin untersucht. Dazu war eine Messmethode etabliert worden, welche die Bestimmung der Konserventemperatur anhand der Messung an der Beuteloberfläche ermöglichte (Abb. 13). Dabei stellte sich heraus, dass der Konserveninhalt um ca. 0,3 °C kühler war als die Temperatur an der Beutelaußenseite. Es zeigte sich weiterhin, dass EK nach ca. 30 min bei Raumtemperatur die kritische Grenze von 10 °C überschreiten (Abb. 14).

   Die Durchschnittstemperatur der einmal zurückgenommenen Konserven betrug an der Beutelaußenseite gemessen 10,2 °C (Tab #5), was nach eigenen Untersuchungen einer Temperatur des Inhalts von 9,9 °C entspricht. Die Hämolyserate, der pH-Wert, die extrazelluläre Kalium- und

Natriumkonzentration sowie der 2,3-DPG Gehalt zeigten keine temperaturabhängigen Veränderungen. Bei höheren Rücknahmetemperaturen könnte über einen geringfügig höheren ATP-Gehalt diskutiert werden.

Die untersuchten Vitalitätsparameter bei einmal ausgegeben EK wiesen grundsätzlich den bekannten Verlauf auf. So stieg die extrazelluläre Kaliumkonzentration gegen Ende der Lagerungsfähigkeit bei einer 37 Tage alten Konserve auf 58,7 mmol/l an. Der 2,3-DPG Gehalt fiel bereits in den ersten 2 Wochen signifikant. Auch der pH-Wert fiel mit zunehmendem Konservenalter. Im Extremfall wies eine 37 Tage alte Konserve einen pH-Wert von 6,53 auf (Tab #5).

Mit zunehmender Rücknahmehäufigkeit steigen die Hämolyserate und die extrazelluläre Kaliumkonzentration an. Dreimal ausgegebene EK wiesen eine durchschnittliche Hämolyserate von 0,24% und einen extrazellulären Kaliumgehalt von 40,5 mmol/l (n = 5) auf. Der pH-Wert liegt im Mittel bei einem Wert von 6,83. Ebenfalls nimmt die 2,3-DPG Konzentration deutlich ab, so dass nur noch durchschnittlich ein Wert von 0,68 mmol/g Hb erreicht wird. Der ATP-Gehalt ist niedriger als bei einmal ausgegebenen EK, aber dreimal zurückgenommene EK weisen durchschnittlich mit 56,13 µmol/dl Erythrozyt einen höheren Gehalt als zweimal zurückgenommene auf. Es sei hier aber nochmals auf die kleine Stichprobengröße von n = 5 bei dreimal zurückgenommen Konserven hingewiesen.

Eine kritische Veränderung der EK aufgrund einer Mehrfachausgabe und – Rücknahme konnte durch die Untersuchungen nicht nachgewiesen werden. Vielmehr sind die gefundenen Veränderungen auf das damit einhergehende höhere Konservenalter und mögliche Erwärmungen bzw. Bewegungen beim Transport zu erklären. Offen bleibt aber die Frage nach der mikrobiologischen Sicherheit (Keimwachstum), wenn die Mehrfachausgabe mit einem erhöhten Risiko von Temperaturerhöhungen einhergeht. Allerdings wurde im Untersuchungsgut von 1189 EK im Zeitraum 2001-2006 keine einzige bestätigt positiv getestete Konserve gefunden.

7 Literaturverzeichnis

(1) American Association of Blood Banks (2002) Technical Manual, M.E. Brecher, editor, 14 ed., Bethesda, USA

(2) American Association of Blood Banks (1996) Technical Manual, V. Vengelen-Tyler, editor, 12 ed., Bethesda, USA

(3) AuBuchon J., Dumont L., Herschel L., Roger J., Beddard R., Taylor H., Whitley P., Sawyer S., Graminske S., Martinson K., Dora R., Heldke S., Adamson J., Rose L. (2008) Automated collection of double red blood cell units with a variable-volume separation chamber. Transfusion 48: 147-152

(4) Backhaus K., Erichson B., Plinke W., Weiber B. (2006) Multivariate Analysemethoden, 11 ed., Springer, Berlin

(5) Basran S., Frumento R., Cohen A., Lee S., Yuling D., Nishanian E., Kaplan H., Stafford-Smith M., Bennett-Guerrero E. (2006) The association between duration of storage of transfused red blood cells and morbidity and mortality after Reoperative Cardiac Surgery. Anasth & Analg 103: 15-20

(6) Bennett-Guerrero E., Verldman T.H., Doctor A., Telen M.J., Ortel T.L., Reid T.S., Mulherin M.A., Zhu H., Buck R.D., Califf R.M., McMahon T.J. (2007) Evolution of adverse changes in stored RBCs. Proc Natl Acad Sci 104: 17063-17068

(7) Beutler E. (1989) Erythrocyte Metabolism and Its Relation to the Liquid Preservation of Blood. In: L.D. Petz, editor. Clinical Practice of Transfusion Medicine, 2 ed., Elsevier, Philadelphia, 271-291

(8) Beutler E. (1996) Red cell metabolism. In: E.C. Rossi, T.L. Simon, G.S. Ross, S.A. Gould, editors. Principles of Transfusion Medicine, 2 ed., Williams & Wilkins, Baltimore, 37-41

(9) Beutler E. (2000) Back to the future in RBC preservation. Transfusion 40: 893-895

(10) Beutler E. (1996) Liquid preservation of red cells. In: E.C. Rossi, editor. Principles of Transfusion Medicine, 2 ed., Williams & Wilkins, Baltimore, 47-56

(11) Beutler E., Duron O. (1966) The preservation of red cell ATP: the effect of Phosphate. Transfusion 6: 124-129

(12) Beutler E., Kuhl W. (1988) Volume control of erythrocytes during storage - the role of mannitol. Transfusion 28: 353-357

(13) Beutler E., West C. (1983) Storage of red cell concentrates in CPD-A2 for 42 and 49 days. J Lab Clin Med 102: 53-62

(14) Boss N. (1993) Roche Lexikon, N. Boss, editor, Urban & Schwarzenberg, München

(15) Bundesärztekammer und Paul-Ehrlich-Institut (2005) Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten, Deutscher Ärzte-Verlag, Köln

(16) Calhoun L. (1989) Blood product preparation and administration. In: L.D. Petz, S.N. Swisher, editors. Clinical Practice of Transfusion Medicine, 2 ed., 239-251

(17) Council of Europe (2007) Guide to Preparation Use and Quality Assurance of Blood Components. Recommendation No. R (95) 15, 13 ed., Council of Europe Publishing, Strasbourg

(18) Dern R.J., Wiorkowski J.J., Matsuda T. (1970) Studies on the preservation of human blood: V. The effect of mixing anticoagulated blood during storage on the poststorage erythrocyte survival. J Lab Clin Med 75: 37-42

(19) Dreger P., Schmitz N. (1996) Bildung, Aufbau, Funktion und Kinetik hämatopoetischer Zellen. In: C. Mueller-Eckhardt, editor. Transfusionsmedizin, Springer, Berlin, 26-43

(20) Dumaswala U.J., Rugg N., Greenwalt T.J. (1994) Studies in red blood cell preservation: 9. The role of glutamine in red cell preservation. Vox Sang 67: 255-259

(21) Eckstein R. (2005) Immunhämatologie und Transfusionsmedizin, 5 ed., Urban & Fischer, München

(22) Elfath M.D. (2006) Is it time to focus on preserving the functionality of red blood cells during storage? Transfusion 46: 1469-1470

(23) Gorman Koch C., Li L., Sessler D., Figueroa P., Hoeltge G., Mihaljevic T., Blackstone E. (2008) Duration of red-cell storage and complications after cardiac surgery. N Engl J Med 358: 1229-1239

(24) Greenwalt T.J., McGuinness C.G., Dumaswala U.J. (1991) Studies in red blood cell preservation: 4. Plasma vesicle hemoglobin exceeds free hemoglobin. Vox Sang 61: 14-17

(25) Greenwalt T.J., Rugg N., Dumaswala U.J. (1997) The effect of hypotonicity, glutamine and glycine on red cell preservation. Transfusion 37: 269-275

(26) Greenwalt T.J., Zehner Sostok C, Dumaswala U.J. (1990) Studies in red blood cell preservations: 1. Effects of the other formed elements. Vox Sang 58: 85-89

(27) Hamasaki N., Yamamoto M. (2000) Red blood cell function and blood storage. Vox Sang 79: 191-197

(28) Haradin A.R, Weed R.I., Reed C.F. (1969) Changes in physical properties of stored erythocytes. Transfusion 9: 229-237

(29) Heaton W.A. (1995) The quality of red blood cells. In: C.J. van Oss, editor. Transfusion Immunology and Medicine, Marcel Dekker Inc., New York, 371-390

(30) Heaton W.A. (1992) Evaluation of posttransfusion recovery and survival of transfused red cells. Trans Med Rev 6: 153-169

(31) Heaton W.A., Keegan T., Holme S. (1989) In vivo regeneration of red cell 2,3-diphosphoglycerate following transfusion of DPG-depleted AS-1, AS-3 and CPDA-1 red cells. B J Haematol 71: 131-136

(32) Heidenreich D. (2003) Untersuchung der In-vitro-Qualität klinisch genutzter, aber nicht transfundierter Human-Erythrozytenkonzentrate verschiedener Hersteller am Ende der Lagerungsdauer. Med. Dissertation Friedrich-Alexander-Universität Nürnberg

(33) Hempel V. (1982) Klinische Transfusionsmedizin. In: W. Schneider, R. Schorer, editors. Klinische Transfusionsmedizin, Edition Medizin, Weinheim, 111-134

(34) Hess J.R., Greenwalt T.J. (2002) Storage of red blood cells: New approaches. Trans Med Rev 16: 283-295

(35) Ho J., Sibbald W., Chin-Yee I. (2003) Effects of storage on efficacy of red cell transfusion: When is it not safe? Crit Care Med 31: 687-695

(36) Högman A.B., Eriksson L., Ericson A., Reppucci A.J. (1991) Storage of saline-adenine-glucose-mannitol- suspended red cells in a new plastic container: Polyvinylchloride plasticized with butyryl-n-trihexyl-citrate. Transfusion 31: 26-29

(37) Högman C.F. (1998) Preparation and preservation of red cells. Vox Sang 74: 177-187

(38) Högman C.F. (1999) Liquid-stored red blood cells for transfusion. Vox Sang 76: 67-77

(39) Högman C.F., Eriksson L., Gong J., Högman A.B., Vikholm K., Debrauwere J., Payrat J.M., Stewart M. (1993) Half-strength citrate CPD combined with a new additive solution for improved storage of red blood cells suitable for clinical use. Vox Sang 65: 271-278

(40) Högman C.F., Knutson F., Lööf H. (1999) Storage of whole blood before separation: The effect of temperature on red cell 2,3-DPG and the accumulation of lactate. Transfusion 39: 492-497

(41) Högman C.F., Löf H., Meryman H.T. (2006) Storage of red blood cells with improved maintenance of 2,3-bisphosphoglycerate. Transfusion 46: 1543-1552

(42) Högman C.F., Meryman H.T. (1999) Storage parameters affecting red blood cell survival and function after transfusion. Trans Med Rev 13: 275-296

(43) Högman C.F., Verdier C.-H.de, Ericson A., Eriksson L., Sandhagen B., Schuler S. (1987) Studies on the mechanism of human red cell loss of viability during storage at +4°C in vitro: III. Effects of mixing during storage. Vox Sang 53: 84-88

(44) Löffler G. (1999) Basiswissen Biochemie, G. Löffler, editor, 3 ed., Springer, Berlin

(45) Luten M., Roerdinkholder-Stoelwinder B., Schaap N., Grip W.de, Bos H., Bosman J. (2008) Survival of red blood cells after transfusion: A comparison between red cell concentrates of different storage periods. Transfusion 48: 1478-1485

(46) Mansouri Taleghani B., Langer R., Grossmann R., Opitz A., Halbsguth U., Buchleister A., .Schuler S., Bachthaler R., Wiebecke D. (2001) Verbesserung der biochemischen und rheologischen Qualität von Vollblut und Erythrozyenkonzentraten durch Leukozytendepletion vor Lagerung. Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther 35: 11-19

(47) Moroff G., Dende F. (1983) Characterization of biochemical changes occuring during storage of red cells. Transfusion 23: 484-489

(48) Napier J.A. (1995) Handbook of Blood Transfusion Therapy, J.A.F. Napier, editor, 2 ed., Wiley, Chichester, UK

(49) Petrides M. (2001) Blood bank math. In: M. Petrides, G. Stack, editors. Practical Guide to Transfusion Medicine, AABB Press, Bethesda, 341-393

(50) Physioklin. (2010) Alter von Erythrozyten-Konzentraten [Online im Internet]. http://www.physioklin.de/index.php?option=com_content&task=view&id=76&Itemid=23 [Stand: 18.10.2009, 12.24 Uhr]

(51) Pindur G., Seiffge D., Franke R.P., Seyfert U.T., Jung F. (2001) Qualität von Erythrozytenkonzentraten in Additivlösungen - Evaluierung mit Hilfe hämorheologischer Messmethoden. Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther 36: 6-10

(52) Raat N.J, Berends F., Verhoeven A., de Korte D., Ince C. (2005) The age of stored red blood cell concentrates at the time of transfusion. Transfus Med 15: 419-423

(53) Reid T.J., Babcock J.G., Derse-Anthony C.P., Hill H.R., Lippert L.E., Hess J.R. (1999) The viability of autologous human red cells stored in additive solution 5 and exposed to 25 °C for 24 hours. Transfusion 39: 991-997

(54) Reininger G., Schubert V. (2000) Potentiometrische pH-Messung. Med. Dissertation, Universität Paderborn

(55) Relevy H., Koshkaryev A., Manny N., Yedgar S., Barshtein G. (2008) Blood banking-induced alteration of red blood cell flow properties. Transfusion 48: 136-146

(56) Richterich R. (1971) Klinische Chemie, R. Richterich, editor, Karger, Basel

(57) Rock G., Tocchi M., Ganz P.R., Tackaberry E.S. (1984) Incorporation of plasticizer into red cells during storage. Transfusion 24: 493-498

(58) Rossi E.C., Simon T.L. (2009) Transfusion in the new millenium. In: T.L. Simon, E.L. Snyder, B.G. Solheim, C.P. Stowell, R.G. Strauss, M. Petrides, editors. Rossi's Principles of Transfusion Medicine, 4 ed., AABB, Bethesda, 1-13

(59) Ruddell J.P., Lippert L.E., Babcock J.G., Hess J.R. (1998) Effect of 24-hour storage at 25 °C on the in vitro storage characteristics of CPDA-1 packed red cells. Transfusion 38: 424-428

(60) Sachs U., Bux J. (2003) Gewinnung, Herstellung und Lagerung von Blut und Blutkomponenten. In: C. Mueller-Eckhardt, editor. Transfusionsmedizin, 3 ed., Springer, Berlin, 253-269

(61) Schneider W. (1982) Konserviertes Blut. In: W. Schneider, R. Schorer, editors. Klinische Transfusionsmedzin, 1 ed., Edition Medizin, Weinheim, 1-19

(62) Scott K.L., Lecak J., Acker J.P. (2005) Biopreservation of red blood cells: Past, present and future. Trans Med Rev 19: 127-142

(63) Simon T.L., Marcus C.S, Myhre B.A., Nelson E.J. (1987) Effects of AS-3 nutrient-additive solution on 42 and 49 days of storage of red cells. Transfusion 27: 178-182

(64) Sipurzynski-Budraß S., Helmberg W., Lanzer G. (2001) Bestimmung der Lagerungsparameter von Erythrozytenkonzentraten mit einem Mulitparameter-Elektroden-Mess-System (AVL Omni (R)). Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther 35: 51-54

(65) Solheim B.G., Bergerud U.E., Kjeldsen-Kragh J., Brosstad F., Mollnes T.E., Högman C.F., Eriksson L., Schutz R. (1998) Improved blood preservation with 0.5CPD erythro-sol. coagulation factor VIII activity and erythrocyte quality after delayed separation of blood. Vox Sang 74: 168-175

(66) Solheim B.G., Hess J.R. (2009) Red cell metabolism and preservation. In: T.L. Simon, E.L. Snyder, B.G. Solheim, C.P. Stowell, R.G. Strauss, M. Petrides, editors. Rossi's Principles of Transfusion Medicine, 4 ed., AABB Press, Chichester, 54-65

(67) Sputtek A. (1990) Hydroxylstärke: Synthese, Eigenschaften und Anwendung als Schutzadditiv in der Kryobiologie. Med. Dissertation. Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen

(68) Stangl W. (1996) Bildung, Aufbau, Funktion und Kinetik hämatopoetischer Zellen. In: C. Mueller-Eckhardt, editor. Transfusionsmedizin, 2 ed., Springer, Berlin, 211-228

(69) Tapernon K., Zander R., Niehoff D., Sibrowski W. (2001) Qualitätskontrolle der Hämolyserate von Erythrozytenkonzentraten: Ringversuch zur Bestimmung von freiem Hämoglobin. Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther 35: 45-50

(70) Tinmouth A., Schuler S., Fergusson D., Chin Yee I., Hérbert C. (2006) Clinical conseqences of red cell storage in the critically ill. Transfusion 46: 2014-2027

(71) Valeri C.R. (2002) Status report on the quality of liquid and frozen red blood cells. Vox Sang 83: 193-196

(72) Vamvakas E.C., Carven J.H. (2000) Length of storage of transfused red cells and postoperative morbidity in patients undergoing coronary artery bybass graft surgery. Transfusion 40: 101-109

(73) Wallis J.P. (2008) Red cell tranfsusion triggers. Transfus Apheresis Sci 39: 151-154

(74) Walsh T., McArdle F., McLellan S:, Maciver C., Maginnis M., Prescott R., McClelland D. (2004) Does the storage time of transfused red blood cells influence regional or global indexes of tissue oxygenation in anemic critically ill patients? Crit Care Med 32: 364-371

(75) Walther-Wenke G., Oehler M., Böcker W. (2001) Extrazelluläres Kalium in filtrierten und bestrahlten Erythrozytenkonzentraten - Messwerte und ihre Bedeutung. Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther 36: 20-24

(76) Watering L.v., Brand A. (2008) Effects of storage of red cells. Transfus Med 35: 359-367

(77) Watering L.v., Lorinser J., Versteegh M., Westendord R., Brand A. (2006) Effects of storage time of red blood cell transfusions on the prognosis of coronary artery bypass graft patients. Transfusion 46: 1712-1718

(78) Weisbach V., Wanke C., Zingsem J., Zimmermann R., Eckstein R. (1999) Cytokine generation in whole blood, leukocyte-depleted and temporarily warmed red blood cell concentrates. Vox Sang 76: 100-106

(79) Winslow R.M., Intaglietta M. (2008) Red cell age and loss of function: advance or SNO-job? Transfusion 48: 411-414

(80) Young J.A., Rudmann S.V. (1995) Blood component preservation and storage. In: S.V. Rudmann, editor. Textbook of Blood Banking and Transfusion Medicine, Saunders, Philadelphia, 262-279

(81) Zimmermann R., Heidenreich D., Weisbach V., Zingsem J., Neidhardt B., Eckstein R. (2003) In vitro quality control of red blood cell concentrates outdated in clinical practice. Transfus Clin Biol 10: 275-283

8 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: *Glykolyse, Pentosephosphatweg und Rapoport-Luebering-Shunt der Erythrozyten [8]. Die beteiligten Enzyme (bzw. ihre Abkürzungen) sind kursiv dargestellt.* 4
Abb. 2: *ATP-Regeneration [7]* 5
Abb. 3: *T/B-Inline-Filter-Beutelsystem (Photo: J. Hiller, 2006)* 14
Abb. 4: *Erythrozytenauftrennung (Photo: J. Hiller, 2006)* 15
Abb. 5: *Versuchsaufbau Messung im Becher mit Halterung* 18
Abb. 6: *Temperaturmessungsaufbau, a: 2 kg Gewicht; b: Adjustierungsbolzen; c: Holzbrett; d: Thermometerfühler; e: gefaltete Konserve* 19
Abb. 7: *Mittelwerte und Standardabweichungen der extrazellulären Kaliumkonzentration.* 27
Abb. 8: *Mittelwerte und Standardabweichungen der Hämolyserate* 28
Abb. 9: *Mittelwerte und Standardabweichungen des pH-Wertes* 29
Abb. 10: *Keine Korrelation zwischen extrazellulärer Kaliumkonzentration und Hämolyserate: Eine deutliche Abhängigkeit lässt sich nicht feststellen, tendenziell könnte jedoch ein Zusammenhang bestehen. Die Mehrfachausgabe (3x, 5x) führt nicht zu einer Verstärkung bei beiden Parametern.* 31
Abb. 11: *Keine Korrelation zwischen der Hämolyserate und dem pH-Wert: Es treten ebenfalls keine Verstärkungseffekte aufgrund einer Mehrfachausgabe auf.* 32
Abb. 12: *Keine Korrelation zwischen der extrazellulären Kaliumkonzentration und dem pH-Wert. Die Variablen stehen in keinem direkten Abhängigkeitsverhältnis zueinander. Ein Verstärkungseffekt aufgrund einer Mehrfachausgabe tritt nicht auf.* 33
Abb. 13: *Zusammenhang zwischen der Temperatur an der Beuteloberfläche im Vergleich zur Temperatur des Beutelinhaltes gemessen nach Entleerung, n= 50* 35
Abb. 14: *Vergleich des Temperaturverlaufs von Konserven bei Lagerung bei Raumtemperatur in Abhängigkeit von der Messart* 36
Abb. 15: *Richtigkeit des verwendeten Thermoelement-Thermometer verglichen mit einem kalibrierten Flüssigkeits-Thermometer* 37
Abb. 16: *Keine Abhängigkeit der Hämolyserate von der Konserventemperatur (n=78)* 39
Abb. 17: *Keine Abhängigkeit des pH-Wertes von der Konserventemperatur (n=78)* 40
Abb. 18: *Keine Abhängigkeit der extrazellulären Kaliumkonzentration von der Konserventemperatur (n=78)* 40
Abb. 19: *Keine Abhängigkeit der extrazellulären Natriumkonzentration von der Konserventemperatur (n=69)* 41
Abb. 20: *Keine Abhängigkeit der 2,3-DPG Konzentration von der Konserventemperatur (n=68)* 42
Abb. 21: *Mögliche Abhängigkeit des ATP-Gehalts von der Konserventemperatur (n=78)* 43
Abb. 22: *Keine Abhängigkeit des Hämatokrits von der Konserventemperatur (n=79)* 44
Abb. 23: *Keine Korrelation zwischen ATP und extrazellulärem Kalium nach einmaliger Ausgabe und Rücknahme, (n = 79)* 45
Abb. 24: *Abhängigkeit der extrazellulären Kaliumkonzentration vom Konservenalter (n= 79)* 46
Abb. 25: *Abhängigkeit der 2,3-DPG Konzentration vom Konservenalter (n= 63)* 47
Abb. 26: *Abhängigkeit des pH-Wertes vom Konservenalter (n= 79)* 48
Abb. 27: *72% der gemessenen Rücknahmetemperaturen waren ≤ 10 °C, (n = 100)* 49
Abb. 28: *Veränderung der verschiedenen Qualitätsparameter in Abhängigkeit von der Häufigkeit, mit der die EK im Vergleich zur einmaligen Rücknahme zurückgenommen wurden. Zu beachten ist, dass der Umfang der Gruppen variierte.* 51

9 Tabellenverzeichnis

Tab. 2: *Extrazelluläre Kaliumkonzentration* *27*
Tab. 3: *Hämolyserate* *28*
Tab. 4: *pH-Wert* *29*
Tab. 5: *Mittelwerte und Standardabweichungen der Temperaturen gemessen an der Beuteloberfläche im Vergleich zur Temperatur im entleerten Beutelinhalt,* ..... *(n = 50)* *34*
Tab. 6: *Mittelwerte und Standardabweichungen von 1 x zurückgenommenen EKSF* *50*
Tab. 7: *Mittelwerte und Standardabweichungen von 2 x zurückgenommenen EKSF* *50*
Tab. 8: *Mittelwerte und Standardabweichungen von 3 x zurückgenommenen EKSF* *50*

10 Anhang

Tab. #1: ***Temperaturen außen (T_a) und innen (T_i)***

n	Kons. Nr.	m (g)	Lagerung (min)	T_a(C°)	T_i(C°)	Δ (C°)
1	9276155	301	0	6,0	6,2	0,2
2	9263849	324	0	7,4	7,0	-0,4
3	9266801	330	0	5,8	5,4	-0,4
4	9268582	315	0	6,8	5,8	-1,0
5	9266537	320	0	6,2	5,8	-0,4
6	9256272	275	1	7,4	6,2	-1,2
7	9254830	322	1	9,0	6,2	-2,8
8	9251885	320	1	7,4	6,8	-0,6
9	9257197	309	1	7,4	6,6	-0,8
10	9252545	295	1	7,6	5,6	-2,0
11	9274671	317	2	9,0	8,6	-0,4
12	9263914	335	2	8,6	8,6	0,0
13	9265844	301	2	8,4	7,0	-1,4
14	9276155	318	2	7,4	8,0	0,6
15	9260985	319	2	7,4	7,8	0,4
16	9258872	332	5	10,2	8,6	-1,6
17	9259748	314	5	11,0	12,0	1,0
18	9257700	315	5	11,5	11,2	-0,3
19	9258583	341	5	9,8	9,0	-0,8
20	9285109	323	5	9,8	9,0	-0,8
21	9267816	317	10	11,0	9,2	-1,8
22	9261991	261	10	10,4	10,2	-0,2
23	9255639	336	10	10,8	10,4	-0,4
24	9256124	321	10	9,6	10,2	0,6
25	9259474	332	10	12,2	12,2	0,0
26	9255969	312	15	11,6	11,0	-0,6
27	9256322	269	15	14,4	14,0	-0,4
28	9257965	328	15	12,6	12,6	0,0
29	9261496	348	15	12,2	12,2	0,0
30	9272535	336	15	10,6	10,6	0,0
31	9256348	226	20	12,8	12,8	0,0
32	9263005	330	20	12,0	12,4	0,4
33	9260357	317	20	12,2	12,0	-0,2
34	9263013	312	20	11,8	11,4	-0,4
35	9269507	304	20	11,0	11,0	0,0
36	9282484	243	25	13,0	12,8	-0,2
37	9266073	310	25	13,0	14,2	1,2
38	9280215	338	25	12,2	13,0	0,8
39	9265257	310	25	11,8	12,0	0,2
40	9271610	335	25	10,6	10,8	0,2
41	9256322	345	30	12,4	12,0	-0,4
42	9271339	321	30	14,0	14,4	0,4
43	9260571	290	30	14,0	14,0	0,0
44	9267931	312	30	12,8	12,0	-0,8
45	9272212	312	30	11,4	11,8	0,4
46	9253709	320	35	13,4	13,8	0,4
47	9260506	325	35	14,0	14,4	0,4

n	Kons. Nr.	m (g)	Lagerung (min)	T_a(C°)	T_i(C°)	Δ (C°)
48	9282542	332	35	15,6	15,0	-0,6
49	9267642	340	35	12,8	13,0	0,2
50	9278391	320	35	11,2	11,6	0,4

Tab. #2: Erwärmungskinetik bei Raumtemperatur

Messzeit	Temperatur [C°]		
	Konserve 1	Konserve 2	Konserve 3
min	im Beutel	im Becher ohne Halterung	im Becher mit Halterung
1	6,0	8,2	4,6
3	6,6	8,8	4,8
6	7,0	9,2	5,4
9	7,2	9,8	6,0
12	7,8	10,4	6,8
15	8,2	10,8	7,4
18	8,8	11,2	8,0
21	9,0	11,8	8,6
24	9,6	12,0	9,0
27	10,0	12,4	9,6
30	10,4	13,0	10,0
40	11,4	14,2	11,4
50	13,0	16,0	12,6
60	15,0	16,9	13,6

Tab. #3: Messwerte Reproduzierbarkeitsprüfung

Nr.	Gruppe	Kons. Nr.	Tag 1	Tag 2	Tag 3
1	1	9015223	7,8	5,8	6,5
2	1	9035700	7,0	5,8	6,0
3	2	9016007	5,8	5,8	5,8
4	2	9016296	5,8	5,8	5,8
5	2	9023730	5,8	5,8	5,8
6	3	9026659	5,4	5,2	5,6
7	3	9032897	4,8	5,4	5,2
t_{KS}			4,5	5,0	4,5

Tab. #4: Vergleich des Thermoelement-Thermometers mit dem kalibrierten Thermometer, Messung jeweils nach 13 min

Ort	T_{Thermo}	T_{Kal}	Ort	T_{Thermo}	T_{Kal}
Raum	20,2	20,8	Kühlschrank	1,2	0,8
Raum	21,0	21,0	Kühlschrank	0,0	0,0
Raum	21,6	21,2	Kühlschrank	1,8	2,1
Raum	21,2	21,5	Kühlschrank	3,2	4,0
Raum	21,6	21,8	Kühlschrank	0,6	0,0

Tab. #5: EKSF einmalige Ausgabe und Rücknahme (n = 67 – 79)

Lfd.-Nr.	Kons. Nr.	Herstellung	Untersuchung	Alter	m	T	HKT	HR	pH	2,3-DPG	ATP	K (extra)	Na (extra)	f(Hb)	Rücknahmen
				d	g	C°	%	%	[-]	mmol/g Hb	µmol/dl Ery	mmol/l	mmol/l	mg/dl	
3	9047804	06.05.2005	10.05.2005	4	317	11,2	61	0,08	7,01	0,53	62,52	13,1	n.b.	37,33	1
4	9045832	04.05.2005	10.05.2005	6	290	11,2	60	0,09	6,95	1,14	60,05	20,3	n.b.	44,41	1
5	9046384	04.05.2005	10.05.2005	6	306	11,8	59	0,09	7,00	1,41	53,86	29,2	n.b.	44,33	1
6	9043365	02.05.2005	10.05.2005	8	302	11,2	63	0,11	6,95	0,88	47,87	24,6	n.b.	59,95	1
7	9048083	06.05.2005	12.05.2005	6	339	9,0	62	0,11	7,16	1,74	46,43	26,3	n.b.	58,17	1
8	9047374	06.05.2005	12.05.2005	6	335	7,4	63	0,10	7,15	1,28	54,06	19,8	n.b.	54,77	1
9	9042631	29.04.2005	12.05.2005	13	313	9,6	62	0,11	7,01	0,72	59,02	28,8	n.b.	55,17	1
10	9043126	29.04.2005	12.05.2005	13	311	9,0	60	0,10	6,95	0,67	61,70	22,7	n.b.	49,74	1
11	9042615	29.04.2005	12.05.2005	13	336	8,8	63	0,11	6,97	0,73	54,89	35,7	n.b.	58,05	1
12	9043167	29.04.2005	17.05.2005	18	328	6,6	63	0,09	6,74	2,88	30,33	38,4	n.b.	51,27	1
13	9043175	29.04.2005	17.05.2005	18	330	7,4	63	0,13	7,01	3,08	41,89	50,1	n.b.	66,88	1
16	9285487	22.02.2006	07.03.2006	13	359	10,8	65	0,14	7,06	1,08	53,03	36,5	82,7	84,53	1
17	9285909	22.02.2006	07.03.2006	13	310	9,8	61	0,09	6,96	0,40	57,37	16,9	65,6	45,10	1
18	9285966	22.02.2006	07.03.2006	13	278	10,4	59	0,09	6,91	0,35	58,60	19,8	88,7	38,02	1
21	9294646	07.03.2006	09.03.2006	2	342	8,4	63	0,08	7,23	1,02	24,56	12,1	128,8	49,04	1
22	9294786	07.03.2006	09.03.2006	2	306	8,2	60	0,12	7,3	2,38	49,11	10,3	126,9	55,25	1
23	9290156	28.02.2006	09.03.2006	9	313	10,0	60	0,15	7,12	1,14	48,90	27,0	93,1	70,42	1
24	9292731	03.03.2006	09.03.2006	6	300	8,4	59	0,13	7,11	0,56	53,86	12,4	68,9	61,97	1
25	9292897	03.03.2006	09.03.2006	6	343	8,2	63	0,14	7,16	1,83	40,44	16,1	73,2	72,99	1
26	9295973	08.03.2006	13.03.2006	5	305	14,8	63	0,13	6,96	0,32	77,38	21,3	96,0	60,67	1
27	9296104	08.03.2006	13.03.2006	5	336	14,8	63	0,37	6,93	0,22	65,21	20,2	89,8	201,50	1
30	9295692	08.03.2006	14.03.2006	6	317	8,2	63	0,17	7,18	2,23	43,95	16,0	77,2	91,48	1
32	9293598	06.03.2006	15.03.2006	9	314	8,8	61	0,21	7,12	1,65	59,64	23,4	117,8	101,35	1
36	9300013	14.03.2006	17.03.2006	3	285	7,0	59	0,17	7,24	n.b.	57,78	8,3	109,0	73,63	1
37	9274820	08.02.2006	17.03.2006	37	341	7,6	65	0,36	6,53	n.b.	40,44	47,4	75,2	194,80	1
38	9275678	09.02.2006	17.03.2006	36	339	6,6	65	0,37	6,67	n.b.	52,41	43,6	110,1	220,60	1

Lfd.-Nr.	Kons. Nr.	Herstellung	Untersuchung	Alter	m	T	HKT	HR	pH	2,3-DPG	ATP	K (extra)	Na (extra)	f(Hb)	Rücknahmen
				d	g	C°	%	%	[-]	mmol/g Hb	µmol/dl Ery	mmol/l	mmol/l	mg/dl	
39	9284894	21.02.2006	17.03.2006	24	319	6,8	64	0,19	7,25	n.b.	58,81	48,3	104,9	102,05	1
40	9297771	10.03.2006	17.03.2006	7	319	8,8	58	0,14	7,26	n.b.	60,25	30,9	99,1	63,52	1
41	9296930	09.03.2006	17.03.2006	8	349	9,4	61	0,15	7,16	n.b.	41,48	35,3	110,0	81,17	1
42	9298373	10.03.2006	17.03.2006	7	344	8,8	61	0,11	7,20	n.b.	57,98	34,9	102,0	56,28	1
43	9299009	13.03.2006	17.03.2006	4	325	10,0	58	0,37	7,20	n.b.	64,38	5,7	34,2	165,95	1
44	9294620	07.03.2006	20.03.2006	13	337	8,0	63	0,33	7,04	0,33	59,84	21,8	74,6	173,05	1
45	9298910	13.03.2006	20.03.2006	7	341	6,4	63	0,15	7,20	1,84	43,33	24,9	91,8	84,37	1
47	9300179	14.03.2006	20.03.2006	6	297	5,0	58	0,22	7,17	2,20	59,43	34,8	111,3	98,83	1
48	9300161	14.03.2006	20.03.2006	6	332	6,2	62	0,09	7,14	2,72	62,11	34,2	113,4	48,18	1
49	9302282	16.03.2006	21.03.2006	5	332	9,4	63	0,13	7,25	1,78	79,03	18,3	120,3	73,24	1
50	9302258	16.03.2006	21.03.2006	5	303	9,0	59	0,12	7,21	1,77	79,03	15,3	116,3	54,92	1
51	9300997	15.03.2006	24.03.2006	9	304	13,4	59	0,10	7,11	1,41	78,21	27,0	119,9	45,07	1
52	9301409	15.03.2006	24.03.2006	9	313	12,4	60	0,15	7,05	0,91	79,44	20,0	128,0	68,51	1
53	9301029	15.03.2006	24.03.2006	9	330	12,0	62	0,36	7,13	1,67	71,19	36,7	113,7	177,60	1
54	9303926	17.03.2006	28.03.2006	11	314	7,8	61	0,11	6,97	0,99	85,22	14,2	57,7	56,11	1
57	9301714	15.03.2006	28.03.2006	13	315	9,2	61	0,12	6,93	0,17	72,02	30,9	117,2	59,85	1
58	9302084	15.03.2006	28.03.2006	13	304	10,6	59	0,09	6,95	1,48	65,00	35,5	113,3	38,18	1
59	9309386	24.03.2006	28.03.2006	4	317	12,4	60	0,11	7,16	2,61	72,84	20,5	122,2	51,68	1
60	9394636	12.07.2006	31.07.2006	19	313	12,0	61	0,10	6,86	0,01	60,87	45,5	107,7	47,31	1
61	9386962	04.07.2006	31.07.2006	27	318	10,0	62	0,10	6,61	n.b.	72,64	42,1	112,1	48,81	1
62	9396748	14.07.2006	31.07.2006	17	329	10,4	63	0,08	6,74	0,10	50,35	39,1	112,8	40,97	1
63	9399825	19.07.2006	31.07.2006	12	308	13,4	60	0,10	6,98	3,21	71,40	38,8	110,4	46,79	1
64	9399908	19.07.2006	31.07.2006	12	305	11,6	60	0,09	6,89	1,45	78,83	24,9	122,2	42,84	1
65	9400573	20.07.2006	31.07.2006	11	322	11,2	63	0,09	6,92	0,50	69,33	58,7	102,6	48,18	1
66	9401183	21.07.2006	31.07.2006	10	338	11,4	63	0,11	6,94	1,75	58,81	39,3	108,5	59,05	1
68	9396987	17.07.2006	01.08.2006	15	326	12,0	62	0,10	6,91	0,51	60,05	33,8	115,6	50,58	1
69	9403445	25.07.2006	01.08.2006	7	341	18,0	64	0,08	7,03	2,05	70,57	31,4	115,9	41,35	1
70	9404591	26.07.2006	01.08.2006	6	334	18,4	63	0,08	7,21	2,03	60,05	28,0	116,5	40,63	1
71	9404815	19.07.2006	01.08.2006	13	311	18,0	60	0,12	7,11	3,28	70,98	32,3	111,7	56,23	1
72	9381005	26.06.2006	01.08.2006	36	319	8,8	64	0,26	6,53	0,82	50,97	49,9	105,5	141,30	1

Lfd.-Nr.	Kons. Nr.	Herstellung	Untersuchung	Alter	m	T	HKT	HR	pH	2,3-DPG	ATP	K (extra)	Na (extra)	f(Hb)	Rücknahmen
				d	g	C°	%	%	[-]	mmol/g Hb	µmol/dl Ery	mmol/l	mmol/l	mg/dl	
73	9405267	27.07.2006	02.08.2006	6	319	10,8	61	0,18	7,19	1,99	76,35	25,7	128,5	86,89	1
74	9404799	26.07.2006	02.08.2006	7	285	11,0	57	0,07	7,13	2,49	60,67	23,1	128,9	29,30	1
75	9402967	25.07.2006	03.08.2006	9	351	10,4	65	0,07	7,17	1,02	60,46	26,4	132,9	41,56	1
76	9402793	25.07.2006	03.08.2006	9	334	9,6	63	0,11	7,12	1,04	74,91	26,5	129,4	58,53	1
78	9402421	24.07.2006	04.08.2006	11	322	11,2	59	0,11	7,01	1,35	75,73	30,4	126,4	52,00	1
79	9401951	24.07.2006	04.08.2006	11	313	10,4	59	0,07	6,82	0,28	83,16	24,8	134,4	30,41	1
82	9403015	25.07.2006	04.08.2006	10	296	10,0	56	0,13	6,97	2,84	67,27	30,6	122,8	52,38	1
83	9401936	24.07.2006	04.08.2006	11	337	10,0	61	0,09	6,91	1,17	57,78	31,9	125,7	44,65	1
84	9409970	02.08.2006	07.08.2006	5	313	13,4	60	0,43	7,01	2,11	41,27	21,2	130,3	206,40	1
87	9410994	03.08.2006	07.08.2006	4	346	11,6	64	0,22	7,08	2,40	88,11	15,5	134,1	123,45	1
89	9388711	05.07.2006	08.08.2006	34	312	8,8	61	0,48	6,53	0,28	64,79	53,3	112,2	234,75	1
92	9404005	26.07.2006	10.08.2006	15	318	9,8	60	n.b.	6,75	0,35	67,27	36,9	121,2	n.b.	1
93	9405887	28.07.2006	10.08.2006	13	318	9,6	60	n.b.	6,90	2,02	55,10	34,3	122,3	n.b.	1
94	9416454	09.08.2006	14.08.2006	5	287	11,8	56	0,14	7,15	1,68	30,75	18,3	127,5	60,36	1
95	9412826	04.08.2006	14.08.2006	10	345	9,6	63	0,19	7,05	n.b.	55,10	42,3	110,9	103,90	1
96	9412115	04.08.2006	14.08.2006	10	316	8,8	61	0,12	7,09	n.b.	65,83	24,4	129,7	57,47	1
97	9412313	04.08.2006	14.08.2006	10	308	9,6	60	0,16	7,03	n.b.	79,65	30,6	123,7	70,69	1
98	9411455	03.08.2006	15.08.2006	12	313	14,0	61	0,26	7,05	0,93	73,05	30,4	123,1	130,90	1
99	9410986	03.08.2006	15.08.2006	12	308	12,2	59	0,39	6,93	0,22	94,30	29,2	126,2	174,56	1
100	9412149	04.08.2006	15.08.2006	11	317	13,0	60	0,17	7,02	0,92	70,16	30,0	123,0	77,82	1
101	9428913	24.08.2006	29.08.2006	5	360	9,4	65	0,20	6,99	1,79	69,75	25,3	126,3	113,20	1
102	9428723	24.08.2006	29.08.2006	5	330	7,8	61	0,18	6,95	2,87	56,13	25,0	124,7	82,89	1
103	9428848	24.08.2006	29.08.2006	5	333	7,8	62	0,54	7,10	2,76	62,73	30,8	120,2	285,70	1
			Mittelwert	**11**	**321**	**10,2**	**61**	**0,16**	**7,02**	**1,41**	**61,39**	**28,6**	**110,0**	**81,58**	
			Median	9	318	9,8	61	0,12	7,03	1,35	60,25	28,0	114,7	59,05	
			Stdev %	7	17	2,6	2	0,10	0,17	0,88	13,52	10,8	20,4	53,82	
			Minimum	2	278	5,0	56	0,07	6,53	0,01	24,56	5,7	34,2	29,30	
			Maximum	37	360	18,4	65	0,54	7,30	3,28	94,30	58,7	134,4	285,70	
			VK %	69	5	25	3	64	2	63	22	38	19	66	
			n	79	79	79	79	77	79	67	79	79	68	77	79

Tab. #6: EKSF zweimalige Ausgabe und Rücknahme (n = 15 – 17)

Lfd.-Nr.	Kons. Nr.	Herstellung	Untersuchung	Alter	m	T	HKT	c (Hb)	HR	pH	2,3-DPG	ATP	K (extra)	Na (extra)	f(Hb)	Rücknahmen
				d	g	C°	%	g/dl	%	[-]	mmol/g Hb	µmol/dl Ery	mmol/l	mmol/l	mg/dl	
15	9272790	07.02.2006	06.03.2006	27	332	11,4	62	19,7	0,20	6,73	0,30	54,89	31,0	59,0	104,60	2
20	9288556	27.02.2006	09.03.2006	10	327	12,0	62	19,6	0,25	6,77	0,42	35,08	54,8	98,8	128,25	2
28	9293143	03.03.2006	13.03.2006	10	315	20,2	63	19,1	0,29	7,07	1,74	37,56	27,4	83,4	147,25	2
29	9292152	02.03.2006	14.03.2006	12	333	18,0	63	20,0	0,27	7,17	1,46	34,25	30,5	109,2	146,10	2
31	9289950	28.02.2006	14.03.2006	14	334	9,2	63	19,4	0,54	6,97	0,33	56,33	33,4	109,2	283,55	2
33	9293283	06.03.2006	15.03.2006	9	306	9,8	60	17,8	0,13	7,03	0,38	33,22	22,1	86,8	58,24	2
34	9296781	09.03.2006	17.03.2006	8	356	8,2	66	21,4	0,29	7,20	n.b.	37,76	41,0	84,6	184,70	2
35	9296203	08.03.2006	17.03.2006	9	345	6,8	64	20,7	0,25	7,20	n.b.	37,56	24,5	82,3	146,45	2
46	9299215	13.03.2006	20.03.2006	7	297	5,2	58	17,8	0,08	7,16	1,16	66,65	13,7	99,1	35,60	2
55	9301219	15.03.2006	28.03.2006	13	318	9,4	60	18,8	0,21	6,95	0,22	78,62	13,6	52,8	96,77	2
56	9301391	15.03.2006	28.03.2006	13	306	9,2	58	18,1	0,28	6,88	0,12	76,76	18,0	65,7	118,55	2
67	9394057	12.07.2006	01.08.2006	20	340	10,4	61	19,8	0,21	6,94	1,92	53,24	55,8	95,8	107,35	2
77	9380262	23.06.2006	03.08.2006	41	306	9,6	60	17,5	0,14	6,53	0,38	59,02	55,5	111,6	59,62	2
80	9405424	27.07.2006	04.08.2006	8	329	9,8	59	19,5	0,08	7,06	2,37	30,85	31,0	123,6	36,41	2
81	9406356	28.07.2006	04.08.2006	7	328	10,0	60	20,4	0,10	7,00	2,35	72,84	28,2	128,2	50,88	2
88	9409210	02.08.2006	08.08.2006	6	338	12,2	60	18,7	0,23	7,22	3,35	53,65	31,6	120,6	105,60	2
91	9399189	19.07.2006	10.08.2006	22	307	12,8	60	19,0	n.b.	6,60	0,22	76,97	40,7	121,9	n.b.	2
			Mittelwert	**14**	**325**	**10,8**	**61**	**19,3**	**0,22**	**6,97**	**1,11**	**52,66**	**32,5**	**96,0**	**113,12**	
			Median	10	328	9,8	60	19,4	0,22	7,00	0,42	53,65	31,0	98,8	106,48	
			Stdev %	9	16	3,7	2	1,1	0,11	0,21	1,02	17,12	13,4	22,9	63,17	
			Minimum	6	297	5,2	58	17,5	0,08	6,53	0,12	30,85	13,6	52,8	35,60	
			Maximum	41	356	20,2	66	21,4	0,54	7,22	3,35	78,62	55,8	128,2	283,55	
			VK %	65	5	34	4	6	51	3	92	33	41	24	56	
			n	17	17	17	17	17	16	17	15	17	17	17	16	17

Tab. #7: EKSF dreimalige Ausgabe und Rücknahme (n = 5)

Lfd.-Nr.	Kons. Nr.	Herstellung	Untersuchung	Alter	m	T	HKT	c (Hb)	HR	pH	2,3-DPG	ATP	K (extra)	Na (extra)	f(Hb)	Rücknahmen
				d	g	C°	%	g/dl	%	[-]	mmol/g Hb	µmol/dl Ery	mmol/l	mmol/l	mg/dl	
14	9272592	07.02.2006	06.03.2006	27	320	11,4	63	19,0	0,26	6,76	0,35	55,71	52,0	102,5	131,00	3
19	9272790	07.02.2006	09.03.2006	30	295	8,4	62	19,8	0,11	7,04	0,87	47,67	24,4	115,7	59,53	3
85	9402371	24.07.2006	07.08.2006	14	331	11,6	58	19,5	0,31	6,88	1,55	59,64	45,9	113,4	143,90	3
86	9403163	25.07.2006	07.08.2006	13	292	12,6	58	18,0	0,35	6,81	0,09	63,97	25,7	131,4	150,10	3
90	9391442	10.07.2006	08.08.2006	29	321	9,0	62	19,9	0,17	6,66	0,55	53,65	54,6	111,6	87,15	3
			Mittelwert	**23**	**312**	**10,6**	**61**	**19,2**	**0,24**	**6,83**	**0,68**	**56,13**	**40,5**	**114,9**	**114,34**	
			Median	27	320	11,4	62	19,5	0,26	6,81	0,55	55,71	45,9	113,4	131,00	
			Stdev %	8	17	1,8	2	0,8	0,10	0,14	0,56	6,16	14,5	10,5	39,29	
			Minimum	13	292	8,4	58	18,0	0,11	6,66	0,09	47,67	24,4	102,5	59,53	
			Maximum	30	331	12,6	63	19,9	0,35	7,04	1,55	63,97	54,6	131,4	150,10	
			VK %	37	6	17	4	4	41	2	82	11	36	9	34	
			n	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Tab. #8: ***EKSF: Daten der regelmäßigen Qualitätskontrollen aus den Jahren 2001-2006 (Gruppe 1 = 0 x ausgegeben, 0 x reserviert)***
(exemplarisch sind die Ergebnisse für jedes 11. untersuchte EK aufgeführt)

Lfd. Nr.	Kons. Nr.	Entnahme	Untersuchung	Alter	m	V	HKT	f(Hb)	HR	Kalium	pH	RES
				d	g	ml	l/l	mg/dl	%	mmol/l	[-]	
1	940 8410	29.08.2001	12.10.2001	44	285	267	0,66	116,2	0,20	46,5	6,50	0x
12	942 1280	14.09.2001	29.10.2001	45	258	242	0,62	217,7	0,47	54,6	6,58	0x
23	944 1353	11.10.2001	26.11.2001	46	303	284	0,65	118,9	0,21	55,4	6,06	0x
34	946 4207	06.11.2001	19.12.2001	43	278	260	0,66	65,9	0,11	55,1	6,49	0x
45	909 9359	10.04.2002	23.05.2002	43	277	259	0,65	77,0	0,14	58,3	6,49	0x
56	926 9762	23.10.2002	05.12.2002	43	256	240	0,61	79,8	0,16	51,6	6,55	0x
67	937 1071	18.02.2003	02.04.2003	43	265	248	0,65	113,2	0,19	53,2	6,68	0x
78	944 1031	07.05.2003	19.06.2003	43	274	257	0,64	108,7	0,20	56,7	6,59	0x
89	922 6671	19.04.2004	02.06.2004	44	249	233	0,57	67,8	0,17	44,6	entfällt	0x
100	927 8367	18.06.2004	02.08.2004	45	282	264	0,62	145,4	0,30	53,7	entfällt	0x
111	941 8336	07.12.2004	19.01.2005	43	317	297	0,64	124,6	0,23	50,0	entfällt	0x
122	949 0392	01.03.2005	14.04.2005	44	255	239	0,61	67,7	0,14	41,3	entfällt	0x
133	916 3395	21.09.2005	03.11.2005	43	292	273	0,67	132,4	0,22	w.b.	entfällt	0x
144	926 8467	31.01.2006	15.03.2006	43	288	270	0,72	150,7	0,20	w.b.	entfällt	0x
			Mittelwert	**44**	**282**	**264**	**0,65**	**127,0**	**0,22**	**55,3**	**6,57**	
			St.abwg.	1,0	18,6	17,4	0,03	66,8	0,10	5,7	0,08	
			Vk (%)	2	7	7	5,3	52,6	46,0	10,3	1,2	
			Maximum	47	354	331	0,74	460,3	0,68	69,8	6,69	
			Minimum	42	246	230	0,54	43,5	0,10	36,7	6,06	
			Median	43	282	264	0,65	110,4	0,19	55,9	6,58	
			n	149	149	149	149	149	149	143	96	

Tab. #9: ***EKSF: Daten der regelmäßigen Qualitätskontrollen aus den Jahren 2001-2006 (Gruppe 2 = 0 x ausgegeben, reserviert)***
(exemplarisch sind die Ergebnisse für jedes 11. untersuchte EK aufgeführt)

Lfd. Nr.	Kons. Nr.	Entnahme	Untersuchung	Alter	m	V	HKT	f(Hb)	HR	Kalium	pH	RES
				d	g	ml	l/l	mg/dl	%	mmol/l	[-]	
1	939 9973	21.08.2001	04.10.2001	44	263	246	0,65	91,6	0,16	58,1	6,54	1x
12	908 7487	26.03.2002	08.05.2002	43	281	263	0,60	48,1	0,10	44,8	6,50	1x
23	928 0009	01.11.2002	16.12.2002	45	266	249	0,67	281,7	0,47	54,9	6,61	1x
34	908 6380	24.10.2003	08.12.2003	45	276	258	0,69	170,2	0,26	57,2	6,56	1x
45	938 3456	26.10.2004	08.12.2004	43	270	253	0,64	223,6	0,39	50,2	entfällt	1x
56	910 2989	12.07.2005	24.08.2005	43	309	289	0,68	101,3	0,16	61,4	entfällt	1x
67	916 2827	20.09.2005	03.11.2005	44	284	266	0,66	93,2	0,16	42,1	entfällt	1x
78	938 9438	07.08.2001	20.09.2001	44	262	245	0,64	145,7	0,28	63,1	6,64	2x
89	922 7422	03.09.2002	16.10.2002	43	287	269	0,70	101,1	0,15	68,2	6,48	2x
100	914 8693	14.01.2004	27.02.2004	44	304	285	0,75	136,9	0,15	66,2	6,59	2x
111	932 6125	17.08.2004	29.09.2004	43	252	236	0,60	92,3	0,20	51,8	entfällt	2x
122	911 6534	27.07.2005	08.09.2005	43	287	269	0,65	160,1	0,28	56,5	entfällt	2x
133	911 5767	26.04.2002	10.06.2002	45	303	284	0,67	115,9	0,19	68,6	6,57	4x
144	912 6954	12.12.2003	26.01.2004	45	271	254	0,67	124,9	0,21	54,5	6,66	4x
155	909 5902	01.07.2005	15.08.2005	45	265	248	0,65	90,7	0,17	62,0	entfällt	3x
166	921 6615	25.11.2005	09.01.2006	45	268	251	0,62	104,9	0,22	w.b	entfällt	5x
			Mittelwert	**44**	**279**	**261**	**0,65**	**134,2**	**0,24**	**55,1**	**6,50**	
			St.abwg.	1	19	18	0,03	80,7	0,13	6,3	0,05	
			Vk (%)	2	7	7	5,2	60,1	55,2	11,4	0,7	
			Maximum	46	335	314	0,75	605,7	1,03	75,1	6,67	
			Minimum	43	233	218	0,58	43,4	0,08	39,3	6,43	
			Median	43	277	259	0,65	111,9	0,20	55,2	6,58	
			n	170	170	170	170	170	170	148	79	

Tab. #10: EKSF: Daten der regelmäßigen Qualitätskontrollen aus den Jahren 2001-2006 (Gruppe 3 = 1 x ausgegeben)
(exemplarisch sind die Ergebnisse für jedes 11. untersuchte EK aufgeführt)

Lfd. Nr.	Kons. Nr.	Entnahme	Untersuchung	Alter	m	V	HKT	f(Hb)	HR	Kalium	pH	RES
				d	g	ml	l/l	mg/dl	%	mmol/l	[-]	
1	938 9370	07.08.2001	20.09.2001	44	291	272	0,67	148,5	0,25	57,2	n.b	2x
12	942 7659	21.09.2001	05.11.2001	45	297	278	0,70	130,6	0,19	64,1	6,63	3x
23	943 5157	02.10.2001	14.11.2001	43	275	257	0,66	57,9	0,10	58,7	6,61	3x
34	943 9498	09.10.2001	23.11.2001	45	237	222	0,60	90,8	0,20	48,4	6,52	1x
45	949 7876	13.12.2001	24.01.2002	42	267	250	0,61	94,7	0,20	57,3	6,55	3x
56	904 2052	01.02.2002	18.03.2002	45	297	278	0,70	119,4	0,18	60,4	6,62	1x
67	911 1220	23.04.2002	05.06.2002	43	268	251	0,62	154,1	0,32	55,6	6,54	1x
78	918 5620	17.07.2002	29.08.2002	43	283	265	0,68	117,0	0,19	53,2	6,50	3x
89	924 8808	27.09.2002	11.11.2002	45	275	257	0,66	147,3	0,26	64,7	6,55	2x
100	931 4113	12.12.2002	23.01.2003	42	374	350	0,68	64,6	0,11	46,0	6,57	2x
111	934 9234	24.01.2003	10.03.2003	45	287	269	0,67	104,5	0,18	56,2	6,48	1x
122	941 8773	11.04.2003	26.05.2003	45	277	259	0,64	75,2	0,14	57,5	6,59	1x
133	946 6616	05.06.2003	18.07.2003	43	295	276	0,66	203,8	0,37	62,9	6,57	2x
144	901 6734	04.08.2003	17.09.2003	44	275	257	0,64	170,3	0,31	49,0	6,55	2x
155	908 1613	20.10.2003	02.12.2003	43	293	274	0,71	91,2	0,12	57,0	6,58	1x
166	911 5098	27.11.2003	09.01.2004	43	272	255	0,70	112,9	0,17	58,4	6,57	5x
166	915 2141	19.01.2004	03.03.2004	44	276	258	0,66	150,7	0,26	58,0	entfällt	3x
177	919 1321	03.03.2004	15.04.2004	43	343	321	0,65	228,6	0,40	54,6	entfällt	3x
188	923 4048	27.04.2004	10.06.2004	44	309	289	0,65	90,2	0,16	62,9	entfällt	2x
199	927 3723	15.06.2004	29.07.2004	44	289	271	0,64	151,0	0,28	61,1	entfällt	3x
210	932 2447	12.08.2004	23.09.2004	42	301	282	0,65	77,0	0,14	59,3	entfällt	2x
221	934 2619	06.09.2004	20.10.2004	44	287	269	0,63	98,1	0,18	54,6	entfällt	2x
232	935 9746	27.09.2004	09.11.2004	43	282	264	0,66	145,1	0,25	66,3	entfällt	2x
243	943 3897	23.12.2004	04.02.2005	43	304	285	0,68	83,5	0,13	54,1	entfällt	3x
254	948 6085	23.02.2005	07.04.2005	43	295	276	0,64	59,5	0,11	60,0	entfällt	1x
265	904 0122	27.04.2005	09.06.2005	43	275	257	0,61	78,4	0,16	50,3	entfällt	1x
276	909 4387	26.05.2005	08.07.2005	43	301	282	0,69	200,7	0,31	69,5	entfällt	3x
287	912 8554	10.08.2005	22.09.2005	43	271	254	0,63	71,1	0,14	53,8	entfällt	1x

Lfd. Nr.	Kons. Nr.	Entnahme	Untersuchung	Alter	m	V	HKT	f(Hb)	HR	Kalium	pH	RES
				d	g	ml	l/l	mg/dl	%	mmol/l	[-]	
298	923 7983	22.12.2005	03.02.2006	43	274	257	0,64	108,7	0,19	w.b.	entfällt	4x
			Mittelwert	**44**	**283**	**265**	**0,65**	**106,1**	**0,19**	**57,0**	**6,56**	
			St.abwg.	1	18	17	0,03	45,0	0,07	5,5	0,05	
			Vk (%)	2,3	6,5	6,5	4,9	42,4	39,8	9,6	0,7	
			Maximum	47	374	350	0,73	298,3	0,50	73,5	6,68	
			Minimum	42	234	219	0,56	37,2	0,07	39,4	6,41	
			Median	43	281	263	0,65	95,3	0,17	57,1	6,55	
			n	318	318	318	318	318	318	302	173	

Tab. #11: EKSF: Daten der regelmäßigen Qualitätskontrollen aus den Jahren 2001-2006 (Gruppe 4 = 2 x ausgegeben)
(exemplarisch sind die Ergebnisse für jedes 11. untersuchte EK aufgeführt)

Lfd. Nr.	Kons. Nr.	Entnahme	Untersuchung	Alter	m	V	HKT	f(Hb)	HR	Kalium	pH	RES
				d	g	ml	l/l	mg/dl	%	mmol/l	[-]	
1	940 3940	24.08.2001	05.10.2001	42	301	282	0,67	166,2	0,27	65,4	6,53	7x
12	943 6866	05.10.2001	19.11.2001	45	297	278	0,70	363,4	0,51	59,0	6,66	3x
23	945 3945	24.10.2001	06.12.2001	43	293	274	0,69	111,5	0,16	55,2	6,55	3x
34	902 3292	16.01.2002	27.02.2002	42	270	253	0,61	45,4	0,09	50,5	6,56	2x
45	911 7177	29.04.2002	12.06.2002	44	314	294	0,70	65,4	0,10	67,4	6,63	2x
56	921 5278	20.08.2002	02.10.2002	43	280	262	0,68	75,1	0,12	58,2	6,51	3x
67	933 7940	14.01.2003	26.02.2003	43	254	238	0,61	58,1	0,12	48,5	6,43	2x
78	945 4687	22.05.2003	04.07.2003	43	291	272	0,66	213,1	0,37	55,3	6,56	4x
89	907 5573	13.10.2003	25.11.2003	43	301	282	0,67	236,2	0,40	59,5	6,54	4x
100	914 9972	15.01.2004	27.02.2004	43	306	287	0,72	92,8	0,11	56,2	6,55	3x
111	921 5443	02.04.2004	17.05.2004	45	287	269	0,65	111,5	0,19	57,5	entfällt	4x
122	933 6694	30.08.2004	13.10.2004	44	289	271	0,66	95,7	0,15	46,6	entfällt	4x
133	938 6707	28.10.2004	10.12.2004	43	287	269	0,64	119,9	0,22	67,2	entfällt	3x
144	948 3033	18.02.2005	05.04.2005	46	280	262	0,64	105,5	0,20	55,7	entfällt	7x
155	904 3670	02.05.2005	14.06.2005	43	293	274	0,66	87,0	0,15	65,6	entfällt	2x
166	910 6055	14.07.2005	26.08.2005	43	303	284	0,67	144,0	0,24	64,1	entfällt	5x
177	921 5328	24.11.2005	06.01.2006	43	281	263	0,64	61,5	0,11	w.b	entfällt	2x
188	925 7528	17.01.2006	01.03.2006	43	290	272	0,67	130,4	0,22	w.b.	entfällt	7x
			Mittelwert	**44**	**282**	**264**	**0,65**	**98,4**	**0,17**	**57,2**	**6,56**	
			St.abwg.	1	18	16	0,03	50,9	0,08	6,5	0,06	
			Vk (%)	2,3	6,3	6,3	5,0	51,7	45,0	11,4	0,9	
			Maximum	46	336	315	0,76	375,9	0,60	77,4	6,72	
			Minimum	42	241	226	0,56	35,9	0,07	35,6	6,34	
			Median	43	280	262	0,65	87,8	0,15	57,3	6,56	
			n	185	185	185	185	185	185	176	101	

Tab. #12: EKSF: Daten der regelmäßigen Qualitätskontrollen aus den Jahren 2001-2006 (Gruppe 5 = 3 x ausgegeben)
(exemplarisch sind die Ergebnisse für jedes 11. untersuchte EK aufgeführt)

Lfd. Nr.	Kons. Nr.	Entnahme	Untersuchung	Alter	m	V	HKT	f(Hb)	HR	Kalium	pH	RES
				d	g	ml	l/l	mg/dl	%	mmol/l	[-]	
1	940 2132	22.08.2001	03.10.2001	42	284	266	0,65	46,2	0,08	52,6	6,58	3x
12	942 9671	26.09.2001	09.11.2001	44	285	267	0,66	81,3	0,13	61,2	6,51	5x
23	943 6957	05.10.2001	19.11.2001	45	292	273	0,68	84,9	0,14	64,8	6,54	7x
34	948 6481	29.11.2001	10.01.2002	42	279	261	0,66	111,0	0,19	58,8	6,60	3x
45	902 4993	17.01.2002	01.03.2002	43	278	260	0,67	208,5	0,32	55,1	6,56	4x
56	912 3894	08.05.2002	19.06.2002	42	298	279	0,69	113,9	0,18	60,7	6,48	6x
67	922 1771	27.08.2002	10.10.2002	44	270	253	0,66	61,0	0,11	55,6	6,55	6x
78	929 9637	25.11.2002	06.01.2003	42	270	253	0,66	64,2	0,11	56,4	6,61	7x
89	934 3617	20.01.2003	04.03.2003	43	250	234	0,63	64,6	0,12	48,4	6,50	3x
100	939 0873	12.03.2003	25.04.2003	44	295	276	0,62	75,4	0,15	49,2	6,53	3x
111	946 0122	28.05.2003	11.07.2003	44	296	277	0,67	142,8	0,24	65,6	6,54	5x
122	903 4109	22.08.2003	06.10.2003	45	271	254	0,64	61,0	0,12	58,4	6,48	5x
133	911 1295	24.11.2003	07.01.2004	44	287	269	0,71	66,8	0,09	62,6	6,49	6x
144	915 5417	21.01.2004	04.03.2004	43	267	250	0,64	98,0	0,19	60,3	entfällt	7x
155	927 6056	16.06.2004	29.07.2004	43	293	274	0,63	133,5	0,25	53,2	entfällt	4x
166	934 2874	06.09.2004	20.10.2004	44	247	231	0,60	87,7	0,19	46,7	entfällt	7x
177	945 5288	19.01.2005	04.03.2005	44	273	256	0,62	90,2	0,18	57,0	entfällt	6x
188	902 5321	12.04.2005	26.05.2005	44	285	267	0,61	71,6	0,15	59,6	entfällt	7x
199	911 9025	29.07.2005	12.09.2005	45	280	262	0,66	74,6	0,13	58,4	entfällt	6x
210	916 8055	27.09.2005	09.11.2005	43	264	247	0,60	52,1	0,11	51,9	entfällt	5x
221	918 9879	26.10.2005	08.12.2005	43	274	257	0,63	45,0	0,09	w.b.	entfällt	3x
232	921 5401	24.11.2005	06.01.2006	43	315	295	0,69	76,2	0,11	w.b	entfällt	3x
243	924 8063	06.01.2006	20.02.2006	45	291	272	0,65	71,4	0,13	w.b.	entfällt	7x
			Mittelwert	**43**	**281**	**263**	**0,65**	**89,3**	**0,16**	**57,2**	**6,55**	
			St.abwg.	1	18	17	0,03	38,1	0,06	6,1	0,06	
			Vk (%)	2,4	6,4	6,4	5,1	42,7	40,1	10,6	0,9	
			Maximum	46	352	330	0,73	313,3	0,47	71,2	6,71	
			Minimum	42	221	207	0,57	36,5	0,07	29,2	6,40	
			Median	43	280	262	0,65	81,2	0,14	57,7	6,56	
			n	247	247	247	247	247	247	216	142	

Tab. #13: EKSF: Daten der regelmäßigen Qualitätskontrollen aus den Jahren 2001-2006 (Gruppe 6 = 4 x ausgegeben)
(exemplarisch sind die Ergebnisse für jedes 11. untersuchte EK aufgeführt)

Lfd. Nr.	Kons. Nr.	Entnahme	Untersuchung	Alter	m	V	HKT	f(Hb)	HR	Kalium	pH	RES
				d	g	ml	l/l	mg/dl	%	mmol/l	[-]	
1	938 3928	31.07.2001	12.09.2001	43	251	235	0,64	61,3	0,11	57,2	n.b.	7x
12	945 4703	24.10.2001	06.12.2001	43	264	247	0,61	70,3	0,15	50,6	6,56	6x
23	904 6111	06.02.2002	22.03.2002	44	257	241	0,63	43,1	0,09	49,4	6,55	6x
34	9125063	10.05.2002	24.06.2002	45	295	276	0,67	79,1	0,13	64,5	6,49	6x
45	922 5632	02.09.2002	16.10.2002	44	272	255	0,67	94,7	0,16	61,4	6,54	6x
56	941 0705	03.04.2003	19.05.2003	46	288	270	0,65	92,6	0,16	62,7	6,53	7x
67	920 8059	24.03.2004	07.05.2004	44	293	274	0,67	119,0	0,19	56,0	entfällt	6x
78	935 7823	23.09.2004	04.11.2004	42	277	259	0,62	100,5	0,20	53,6	entfällt	6x
88	916 0367	16.09.2005	01.11.2005	46	262	245	0,61	48,6	0,10	58,6	entfällt	6x
			Mittelwert	44	282	264	0,65	92,5	0,16	58,7	6,55	
			St.abwg.	1	16	15	0,03	43,2	0,07	5,9	0,07	
			Vk (%)	3	6	6	4,91	46,7	42,26	10,1	1,04	
			Maximum	47	318	298	0,73	277,6	0,48	70,7	6,68	
			Minimum	42	247	231	0,58	41,8	0,07	33,7	6,33	
			Median	43	282	264	0,65	80,9	0,14	59,3	6,56	
			n	88	88	88	88	88	88	88	63	

Tab. #14: EKSF: Daten der regelmäßigen Qualitätskontrollen aus den Jahren 2001-2006 (Gruppe 7 = 5 x ausgegeben)
(exemplarisch sind die Ergebnisse für jedes 3. untersuchte EK aufgeführt)

Lfd. Nr.	Kons. Nr.	Entnahme	Untersuchung	Alter	m	V	HKT	f(Hb)	HR	Kalium	pH	RES
				d	g	ml	l/l	mg/dl	%	mmol/l	[-]	
1	939 6854	16.08.2001	27.09.2001	42	286	268	0,67	76,9	0,13	60,1	n.b.	5x
4	944 6832	17.10.2001	29.11.2001	43	288	270	0,67	115,7	0,19	58,6	6,56	7x
7	945 1204	22.10.2001	05.12.2001	44	267	250	0,63	55,8	0,11	58,0	6,54	6x
10	900 5752	21.12.2001	01.02.2002	42	274	257	0,63	87,4	0,17	60,3	6,46	6x
13	904 3464	05.02.2002	20.03.2002	43	268	251	0,66	69,2	0,12	51,7	6,53	7x
16	908 8998	27.03.2002	10.05.2002	44	252	236	0,60	78,0	0,17	56,0	6,66	6x
19	921 9361	23.08.2002	07.10.2002	45	287	269	0,68	103,9	0,17	65,0	6,54	5x
22	921 3216	31.03.2004	13.05.2004	43	288	270	0,63	79,4	0,15	55,2	entfällt	5x
25	925 5050	24.05.2004	06.07.2004	43	292	273	0,64	112,2	0,20	61,1	entfällt	5x
28	901 9845	06.04.2005	20.05.2005	44	267	250	0,61	68,6	0,14	57,0	entfällt	5x
31	909 3972	30.06.2005	15.08.2005	46	298	279	0,67	97,9	0,16	66,0	entfällt	6x
			Mittelwert	44	282	264	0,65	85,3	0,15	57,8	6,54	
			St.abwg.	1	20	19	0,03	28,6	0,04	7,0	0,06	
			Vk (%)	3	7	7	4,8	33,5	29,8	12,1	0,9	
			Maximum	46	323	302	0,70	162,4	0,25	68,2	6,66	
			Minimum	42	234	219	0,59	42,0	0,06	32,2	6,41	
			Median	43	285	267	0,65	78,9	0,15	58,1	6,54	
			n	32	32	32	32	32	32	31	20	

11 Danksagung

Zum Schluss meiner Arbeit möchte ich allen, die bei der Verwirklichung der Dissertation geholfen und mich unterstützt haben, meinen Dank aussprechen.

Bei Herrn Prof. Dr. med P. Kühnl, Direktor der Abteilung für Transfusionsmedizin und Transplantationsimmunologie des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf, möchte ich mich für die Überlassung des Themas und Förderung der Arbeit herzlich bedanken. Besonders möchte ich mich außerdem für seine immerwährende, interessierte Begleitung und die vielen anregenden Gespräche bedanken.

Ferner danke ich ganz besonders Herrn Dr. med. A. Sputtek für die kontinuierliche und verlässliche wissenschaftliche Unterstützung sowie seine Motivation und geduldige Hilfe während der Arbeit.

Des Weiteren möchte ich mich bei den MTLA's Frau M.-L. Reckhaus und Frau E. Merle sehr herzlich für ihre kompetente Anleitung bei der Durchführung der Untersuchungen sowie ihre freundliche Unterstützung und Engagement bedanken.

Mein Dank gilt außerdem sehr herzlich meinen Eltern, die mir das Studium und die Durchführung der Dissertation erst ermöglichten und die mich immer unterstützt haben. Ebenso danke ich meinem Ehemann für seine liebevolle Hilfe und immerwährendes Verständnis.

12 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name:	Dinah Julia Hillmann, geb. Spindler
geb. am:	28.07.1978
Geburtsort:	Frankfurt am Main
Familienstand:	verheiratet, 1 Kind

Schulischer Bildungsweg:

1985 - 1989	Besuch der Theodor-Heuss Grundschule, Bad Soden a.Ts.
1989 - 1997	Besuch des Bischof-Neumann Gymnasiums Abschluß: Allgemeine Hochschulreife

Studium:

1997 – 2003	Studium der Betriebswirtschaftlehre an der Universität Passau Abschluss: Diplom-Kauffrau
1999 – 2000	Erasmus Stipendium an der Corvinius Universität Budapest
2003 – 2005	Zahnmedizinstudium an der Ludwig-Maximilian Universität München
2004	Naturwissenschaftliche Vorprüfung
2005	Zahnärztliche Vorprüfung
2005 – 2008	Zahnmedizinstudium an der Universität Köln
2008	Staatsexamen

Studienbegleitende Tätigkeiten:

2008	Zahnmedizinischer Notdienst in der Uniklinik Köln

Bonn den 08.02.2010, ……..

D. Hillmann

13 Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.
Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Unterschrift: .....