

Kliniken und Institute der Chirurgie  
Universitätsklinikum des Saarlandes  
Institut für Klinische Hämostaseologie und Transfusionsmedizin  
Direktor: Univ.-Prof. Dr. Hermann Eichler

---

**Crossover-Studie zur Evaluation zweier Thrombozytapheresesysteme  
hinsichtlich Verfahrens- und Kosteneffektivität, Spendersicherheit  
und Operatorenkomfort sowie Produktqualität**

Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
der Medizinischen Fakultät  
der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES,  
Homburg/ Saar  
2010

vorgelegt von  
Laura Alexandra Beck  
geb. am 23.07.1984 in Offenbach am Main

**INHALTSVERZEICHNIS**

Abbildungsverzeichnis.....	5
Tabellenverzeichnis.....	6
Abkürzungsverzeichnis .....	8
1. Zusammenfassung.....	10
2. Einleitung .....	14
2.1 Entwicklung der Transfusionsmedizin .....	14
2.2 Thrombozytenkonzentrate .....	16
2.2.1 Herstellung .....	16
2.2.2 Wirksame Bestandteile.....	17
2.2.3 Physiologische Funktion der Thrombozyten .....	17
2.2.3 Anwendung und Indikationen für Thrombozytenkonzentrate .....	18
2.2.4 Unerwünschte Wirkungen .....	19
2.3 Zielsetzung .....	20
3. Material und Methodik .....	21
3.1 Studiendesign und Spenderkollektiv .....	21
3.1.1 Allgemeiner Überblick.....	21
3.1.2 Studienarme.....	21
3.1.3 Spender.....	22
3.2 Präparative Hämapherese .....	22
3.2.1 Allgemeines Funktionsprinzip .....	22
3.2.2 Trima Accel 5.1, CaridianBCT .....	24
3.2.3 Com.Tec, Fresenius HemoCare .....	27
3.2.4 Durchführung der Aphereseverfahren .....	29
3.3 Hämapherese-Protokoll .....	31
3.3.1 Spenderdaten.....	31
3.3.2 Verfahrensinformationen .....	32
3.3.3 Operatorenkomfort .....	34
3.3.4 Spenderkomfort.....	34
3.4 Qualitätskontrolle .....	35
3.4.1 Referenzwerte .....	36
3.4.2 Konzentratvolumen .....	36
3.4.3 Visuelle Kontrolle.....	37
3.4.4 Sterile Probenentnahme.....	37
3.4.5 Thrombozytenzahl und Mittleres Thrombozytenvolumen.....	37
3.4.6 pH-Messung.....	38
3.4.7 Restleukozyten.....	38
3.4.8 Resterythrozyten .....	40
3.4.9 Kollagen-induzierte Thrombozytenaggregation.....	40
3.4.10 Bestimmung der Thrombozytenaktivierung mittels CD62P .....	41
3.4.11 Glucose, Laktat und Laktatdehydrogenase.....	44



5. Diskussion.....	91
5.1 Verfahrensdaten und Apheresecharakteristika.....	91
5.2 Spendersicherheit und -komfort.....	98
5.3 Qualität der Thrombozytenkonzentrate und Plasmaprodukte.....	102
5.3.1 Thrombozytenkonzentrate.....	103
5.3.2 Plasmaprodukte.....	109
5.4 Wirksamkeit der Dreifach-Thrombozytenkonzentrate.....	111
5.5 Ökonomische Relevanz und Kostenersparnis.....	113
5.6 Schlussfolgerung.....	114
6. Literaturverzeichnis.....	115
7. Publikationen.....	123
8. Danksagung.....	124
9. Lebenslauf.....	125

**ABBILDUNGSVERZEICHNIS**

Abb. 1 Trima Accel Separationssystem .....	24
Abb. 2 Leuko-Reduktions-System (LRS®) von CaridianBCT .....	25
Abb. 3 C5 Separationskammer.....	28
Abb. 4 Punktwolkendiagramm FL1 gegen FL2 .....	39
Abb. 5 FSC/SSC-Darstellung des Leerwertes .....	43
Abb. 6 Punktwolkendarstellung des Leerwertes und der CD42-markierten Ansätze CD42a-FITC und CD42b-PE mit Quadrantenmarker .....	43
Abb. 7 Messung der CD62P Aktivität des Testansatzes .....	44
Abb. 8 TSD 6,0 Studienarm A .....	53
Abb. 9 CR Studienarm A .....	53
Abb. 10 CE Studienarm A .....	54
Abb. 11 ACD-Verbrauch Studienarm A .....	54
Abb. 12 ACD-Infusionsrate Studienarm A .....	54
Abb. 13 Nebenwirkungen Studienarm A.....	56
Abb. 14 MPV Studienarm A.....	57
Abb. 15 pH-Wert Studienarm A .....	59
Abb. 16 TSD 3,0 Studienarm B.1 .....	62
Abb. 17 CR Studienarm B.1 .....	62
Abb. 18 CE Studienarm B.1 .....	63
Abb. 19 ACD-Verbrauch Studienarm B.1 .....	63
Abb. 20 ACD-Infusionsrate Studienarm B.1 .....	63
Abb. 21 TK-Volumen Studienarm B.1.....	64
Abb. 22 PLT-Ertrag/Einheit Studienarm B.1 .....	64
Abb. 23 TSD 3,0 Studienarm B.2 .....	67
Abb. 24 CR Studienarm B.2 .....	67
Abb. 25 ACD-Verbrauch Studienarm B.2 .....	67
Abb. 26 ACD-Infusionsrate Studienarm B.2 .....	67
Abb. 27 pH-Wert Studienarm B Trima .....	72
Abb. 28 ACD-Verbrauch Studienarm C .....	79
Abb. 29 ACD-Infusionsrate Studienarm C .....	79
Abb. 30 Verteilung der jährlichen Kosten.....	89

**TABELLENVERZEICHNIS**

Tab. 1 Einteilung der Zitratreaktionen.....	33
Tab. 2 Qualitätskontrollen für leukozytendepletiertes Thrombozytapheresekonzentrat .....	36
Tab. 3 Qualitätskontrollen für gefrorenes Frischplasma.....	36
Tab. 4 Tara Gewichte der Set-Bestandteile .....	37
Tab. 5 Patientencharakteristika .....	47
Tab. 6 Laboruntersuchungen vor Freigabe der Spende .....	47
Tab. 7 Überblick über die Methoden der statistischen Analyse und Darstellung der Daten.....	49
Tab. 8 Zeitbedarf zur Durchführung der Apheresen.....	50
Tab. 9 Kostenfaktoren Aphereseverfahren (modellhafte Annahmen) .....	51
Tab. 10 Spendercharakteristika Studienarm A .....	52
Tab. 11 Verfahrensdaten Studienarm A .....	53
Tab. 12 Gerätegenauigkeit Studienarm A.....	55
Tab. 13 Qualitätskontrolle I Studienarm A .....	57
Tab. 14 Unterschiede I zwischen den Lagerungstagen 0, 5 und 7 getrennt nach Apheresegerät Studienarm A.....	58
Tab. 15 Qualitätskontrolle II Studienarm A .....	58
Tab. 16 Unterschiede II zwischen den Lagerungstagen 0, 5 und 7 getrennt nach Apheresegerät Studienarm A.....	58
Tab. 17 Qualitätskontrolle III Studienarm A .....	60
Tab. 18 Unterschiede III zwischen den Lagerungstagen 0, 5 und 7 getrennt nach Apheresegerät Studienarm A.....	60
Tab. 19 Abweichungen von den Prüfkriterien für TK Studienarm A, Trima Accel.....	60
Tab. 20 Spendercharakteristika Studienarm B.1 .....	61
Tab. 21 Verfahrensdaten Studienarm B.1 .....	62
Tab. 22 Gerätegenauigkeit Studienarm B.1 .....	64
Tab. 23 Spendercharakteristika Studienarm B.2 .....	66
Tab. 24 Verfahrensdaten Studienarm B.2 .....	66
Tab. 25 Gerätegenauigkeit Studienarm B.2.....	68
Tab. 26 Qualitätskontrolle I Studienarm B Trima Accel versus Com.Tec 60 ml/Min....	70
Tab. 27 Unterschiede I zwischen den Lagerungstagen 0, 5 und 7 getrennt nach Apheresegerät Studienarm B Trima Accel versus Com.Tec 60 ml/Min .....	70
Tab. 28 Qualitätskontrolle II Studienarm B Trima Accel versus Com.Tec 60 ml/Min...	71
Tab. 29 Unterschiede II zwischen den Lagerungstagen 0, 5 und 7 getrennt nach Apheresegerät Studienarm B Trima Accel versus Com.Tec 60 ml/Min .....	71
Tab. 30 Qualitätskontrolle III Studienarm B, Trima Accel versus Com.Tec 60 ml/Min.	73
Tab. 31 Unterschiede III zwischen den Lagerungstagen 0, 5 und 7 getrennt nach Apheresegerät Studienarm B, Trima Accel versus Com.Tec 60 ml/Min .....	73
Tab. 32 Qualitätskontrolle I Studienarm B Com.Tec 60 ml/Min versus Standardfluss.	74
Tab. 33 Qualitätskontrolle II Studienarm B Com.Tec 60 ml/Min versus Standardfluss	74
Tab. 34 Abweichungen von den Prüfkriterien für TK Studienarm B Trima Accel.....	75

---

Tab. 35 Abweichungen von den Prüfkriterien für TK Studienarm B Com.Tec 60 ml/Min.....	75
Tab. 36 Abweichungen von den Prüfkriterien für TK Studienarm B Com.Tec Standardfluss .....	75
Tab. 37 Qualitätskontrolle GFP Studienarm B Trima Accel versus Com.Tec 60 ml/Min.....	76
Tab. 38 Qualitätskontrolle GFP Studienarm B Com.Tec 60 ml/Min versus Standardfluss .....	76
Tab. 39 Abweichungen von den Prüfkriterien für GFP Studienarm B Com.Tec 60 ml/Min.....	77
Tab. 40 Abweichungen von den Prüfkriterien für GFP Studienarm B Com.Tec Standardfluss .....	77
Tab. 41 Spendercharakteristika Studienarm C .....	78
Tab. 42 Verfahrensdaten Studienarm C .....	79
Tab. 43 Gerätegenauigkeit Studienarm C .....	80
Tab. 44 Qualitätskontrolle I Studienarm C .....	82
Tab. 45 Unterschiede I zwischen den Lagerungstagen 0, 5 und 7 getrennt nach Apheresegerät Studienarm C .....	83
Tab. 46 Qualitätskontrolle II Studienarm C .....	83
Tab. 47 Unterschiede II zwischen den Lagerungstagen 0, 5 und 7 getrennt nach Apheresegerät Studienarm C .....	83
Tab. 48 Qualitätskontrolle III Studienarm C .....	84
Tab. 49 Unterschiede III zwischen den Lagerungstagen 0, 5 und 7 getrennt nach Apheresegerät Studienarm C .....	84
Tab. 50 Abweichungen von den Prüfkriterien Studienarm C, Trima Accel .....	85
Tab. 51 Abweichungen von den Prüfkriterien Studienarm C, Com.Tec .....	85
Tab. 52 Patientencharakteristika Studienarm C.....	86
Tab. 53 Effektivität der TK-Transfusionen Studienarm C.....	86
Tab. 54 Durchschnittliche Gesamt-Verfahrenszeiten .....	87
Tab. 55 Kosten für 4 160 Apheresenverfahren .....	88
Tab. 56 Auszahlungen Trima Accel.....	88
Tab. 57 Auszahlungen Com.Tec .....	88
Tab. 58 Kosten pro Thrombozytenkonzentrat Trima Accel .....	90
Tab. 59 Kosten pro Thrombozytenkonzentrat Com.Tec .....	90
Tab. 60 Apheresecharakteristika unter Verwendung der Trima Accel .....	92
Tab. 61 Apheresecharakteristika unter Verwendung der Com.Tec.....	94
Tab. 62 Vergleich Trima Accel versus Com.Tec durch Zingsem et al.....	94
Tab. 63 ACD-Verbrauch der Trima Accel und Com.Tec .....	96

**ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

Abb.	Abbildung
AB0	AB0-System der Blutgruppen
ACD-A/ ACD	Anticoagulant Citrate Dextrosis Formula A, antikoagulierte Zitrat-Glukose-Lösung
AK	Antikoagulanz
Anti-HBc	Antikörper gegen das Hepatitis-B-core-Antigen
BÄK	Bundesärztekammer
BMI	Body-mass-Index
bzw.	beziehungsweise
ca.	zirka
C	Com.Tec
CCI	corrected count increment, korrigiertes Inkrement
CD42-Antigen	Cluster of Differentiation Antigen 42
CD62P-Antigen	Cluster of Differentiation Antigen 62P
CE	collection efficacy, Sammlungseffizienz
CIR	citrate infusion rate, Zitratinfusionsrate
CL	Zitratlyase
CMV	Zytomegalievirus
CR	collection rate, Sammlungsrate
DGHO	Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie
DGTI	Deutsche Gesellschaft für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie
d.h.	das heißt
DN	Dual Needle-Verfahren, Zweiarm-Verfahren
et al.	et alii, und andere
F	Gerinnungsfaktor
FITC	Fluorescein-Isothiocyanat
FSC	Vorwärtsstreulicht
GBV	Gesamtblutvolumen
GFP	Gefrorenes Frischplasma
GTH	Gesellschaft für Thrombose- und Hämostaseforschung
<sup>h</sup>	hoch signifikant
HBs-Antigen	Hepatitis B-Surface-Antigen, Oberflächenantigen des HBV
HBV	Hepatitis B-Virus
HCV	Hepatitis C-Virus
HIV	human immunodeficiency virus, Humanes Immundefizienz Virus
Hkt	Hämatokrit
HLA	human leukocyte antigens, humane Leukozytenantigene
HPA	human platelet antigens, humane Thrombozytenantigene

inkl.	inklusive
IQR	Interquantiilsbereich
KOF	Körperoberfläche
L-LDH/ LDH	L-/ Laktatdehydrogenase
L-MDH	L-Malatdehydrogenase
LRS <sup>®</sup>	Leuko-Reduktions-System
<sup>m</sup>	moderat signifikant
Max.	Maximum
Min.	Minimum
MPV	Mittleres Plättchenvolumen
MW	Mittelwert
n	Stichprobenumfang
NADH/ NAD	reduziertes/ Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid
PE	R-Phycoerythrin
PLT	platelets, Thrombozyten
Post-Hkt	Hämatokrit-Nachwert
Post-MPV	Nachwert des Mittleren Plättchenvolumens
Post-PLT	Thrombozyten-Nachwert
Post-WBC	Leukozyten-Nachwert
Prä-Hkt	Hämatokrit-Vorwert
Prä-MPV	Vorwert des Mittleren Plättchenvolumens
Prä-PLT	Thrombozyten-Vorwert
Prä-WBC	Leukozyten-Vorwert
PSL	„Platelet Storage Lesion“
RBC	red blood cells, Erythrozyten
RNA	Ribonukleinsäure
RNAse	Ribonuklease
<sup>s</sup>	schwach signifikant
SD	standard deviation, Standardabweichung
SN	Single Needle-Verfahren, Einarm-Verfahren
SSC	Seitwärtsstreulicht
T	Trima Accel
Tab.	Tabelle
TK	Thrombozytenkonzentrat
TSD	time for standard dose, Zeit für Standarddosis
vs.	versus
WBC	white blood cells, Leukozyten
z.B.	zum Beispiel

## 1. ZUSAMMENFASSUNG

**Hintergrund:** Thrombozytentransfusionen sind essentieller Bestandteil bei der Therapie von soliden Tumoren, hämatologischer Malignome, Knochenmarksinsuffizienz und hämatopoietischer Stammzelltransplantation. Die selektive Sammlung dieser Blutkomponenten mit vordefinierten Zielwerten ist durch Verwendung von Zellseparatoren verschiedener Hersteller möglich. In dieser Studie wurden die technischen und operationalen Parameter der Apheresesysteme Trima Accel (CaridianBCT) und Com.Tec (Fresenius HemoCare) registriert und unter Beurteilung der Effizienz, der Sicherheit, des Spenderkomforts, der Produktqualität und der Wirtschaftlichkeit verglichen.

**Material und Methodik:** Die Arbeit wurde als prospektive Crossover-Studie konzipiert. Studienarm A umfasste 15 Spender (Thrombozytenwerte  $\geq 230$  /nl), jeder unterzog sich einer Doppel-Thrombozytapherese mit dem Einarm- (Trima Accel) und dem Zweiarm-Verfahren (Com.Tec) (Ertrag  $6 \times 10^{11}$  Thrombozyten). Studienarm B schloss 10 Spender ein (Thrombozytenwerte  $\geq 200$  /nl), die eine Einfach-Thrombozytapherese in Kombination mit einer Einfach-Plasmaapherese durchführten (Einarm-Verfahren Trima Accel und Com.Tec; Ertrag  $3 \times 10^{11}$  Thrombozyten, Plasmasammlung 200 ml), und wurde in die Subgruppen B.1 (Com.Tec Standardflussgeschwindigkeit, 5 Spender) und B.2 (Com.Tec Flussgeschwindigkeit 60 ml/Minute, 5 Spender) unterteilt. Der zeitliche Abstand zwischen beiden Spenden in Studienarm A und B betrug  $\geq 6$  Wochen. In Studienarm C führten fünf männliche Spender mit Thrombozytenwerten  $\geq 300$  /nl Dreifach-Thrombozytapheresen aus (Einarm-Verfahren Trima Accel, Zweiarm-Verfahren Com.Tec; Ertrag  $8 \times 10^{11}$  Thrombozyten, zeitlicher Abstand  $\geq 8$  Wochen). Alle relevanten Verfahrensparameter und Geräteangaben während der Aphereseverfahren wurden registriert. Am Ende jeder Thrombozytapherese wurden die Spender um ein standardisiertes Interview zur Evaluation des Verfahrens gebeten. In Studienarm C wurden Transfusionen an Patienten von jeweils zwei Konzentraten jeder Dreifachthrombozytapherese durchgeführt und die klinische Effektivität anhand des korrigierten Inkrements (CCI) erfasst. Eine standardisierte Qualitätskontrolle mit einer definierten Stichprobe an Konzentraten jedes Studienarms wurde über eine Lagerungszeit von bis zu sieben Tagen durchgeführt. Desweiteren wurden der Zeitbedarf und die Kosten zur Herstellung der jeweiligen Konzentrate anhand einer Modellrechnung kalkuliert.

**Ergebnisse:** Die manuell gemessene Verfahrenszeit war mit der Trima Accel im Vergleich zur Com.Tec in Studienarm A und B signifikant kürzer ( $p \leq 0,05$ ). Diese Tendenz konnte auch in Studienarm C gezeigt werden.

Ein verringerter Zitrat-Verbrauch (manuell ermittelt) wurde in allen drei Studienarmen bei Durchführung der Apherese mit der Trima Accel registriert ( $p \leq 0,001$ ). Eine bessere Sammlungseffizienz und eine höhere Sammlungsrate konnten mit der Trima Accel in Studienarm A und B erzielt werden. In Studienarm C zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Geräten. Der Thrombozytenwert im Spenderblut nach Abschluss der Apherese war bei vergleichbaren Ausgangswerten mit der Trima Accel in allen drei Studienarmen höher als mit der Com.Tec ( $p \leq 0,05$ ).

Elf der 15 Spender in Studienarm A und alle Spender in Studienarm C präferierten die Trima Accel als Apheresegerät. In Studienarm B.1 (Com.Tec Standardfluss) bevorzugten zwei der fünf Spender die Com.Tec und ein Spender die Trima Accel (zwei Spender waren unentschieden). Bei Reduzierung des Blutflusses (Studienarm B.2) favorisierten alle fünf Spender die Trima Accel. Das Auftreten von Nebenwirkungen war zwischen beiden Geräten in allen Studienarmen vergleichbar.

Die Qualitätskontrollen der Thrombozytenkonzentrate zeigten Unterschiede zwischen beiden Apheresesystemen in Hinsicht auf den pH-Wert, das Mittlere Plättchenvolumen, die CD62P-Expression und die Aggregationsfähigkeit sowie die Laktat-, Laktatdehydrogenase- und Glukose-Konzentration. Die definierten Grenzwerte der Qualitätskontrollen wurden von zahlreichen Präparaten beider Apheresegeräte nicht eingehalten.

In Studienarm C verpasste ein Spender seine zweite Apherese und ein Thrombozytenkonzentrat überschritt die Lagerungszeit. So wurden 17 Produkte (10 x Com.Tec, 7 x Trima Accel) an 15 hämatologischen Patienten transfundiert. In Hinsicht auf das korrigierte Inkrement eine Stunde nach Apherese zeigte sich keine signifikante Differenz zwischen beiden Apheresesystemen ( $p = 0,148$ ).

Die im Rahmen einer Modellrechnung ermittelten durchschnittlichen Herstellungskosten pro Thrombozytenkonzentrat belaufen sich auf 141 € für die Trima Accel und auf 118 € bei Verwendung der Com.Tec.

**Schlussfolgerung:** Die vorgelegten Daten deckten signifikante Unterschiede zwischen beiden untersuchten Thrombozytapheresesystemen in Bezug auf die Verfahrenszeit und -effizienz, den ACD-Verbrauch, die Thrombozytennachwerte des Spenders und die Qualitätskontrollen auf. Die Verfahrenszeit scheint der wesentliche prädominierende Parameter für den subjektiven Spenderkomfort darzustellen. Die Kosten für die Herstellung der Thrombozytenkonzentrate differierten zwischen beiden Thrombozytapheresesystemen um knapp 20 %.

**Cross-over Study for Evaluation of Two Platelet Apheresis Devices with Respect to Procedure and Cost Effectiveness, Donor's Safety and Operator's Comfort as well as product quality - Summary**

**Background:** Platelet transfusions are essential for the therapy of solid tumours, haematological malignancies, bone marrow failure and haematopoietic stem cell transplantation. The selective preparation of these blood components with predefined targets is enabled by using different apheresis devices of numerous manufacturers. In this study the technical and operational parameters of the apheresis devices Trima Accel (CaridianBCT) and Com.Tec (Fresenius HemoCare) were registered and compared with respect to efficacy, safety, donor comfort, product quality and efficiency.

**Materials and Methods:** The study was designed as a prospective cross-over study. Part A involved 15 donors (platelet count  $\geq 230$  /nl), each of them underwent double unit platelet apheresis using single-needle system (Trima Accel) and dual-needle system (Com.Tec) (yield  $6 \times 10^{11}$  platelets). Part B involved 10 donors (platelet count  $\geq 200$  /nl) who underwent single unit platelet apheresis plus single unit plasma collection (single-needle Trima Accel and Com.Tec; yield  $3 \times 10^{11}$  platelets, plasma collection 200 ml) and was divided into B.1 (Com.Tec standard flow, 5 donors) and B.2 (Com.Tec blood flow 60 ml/minute, 5 donors). The interprocedure time in part A and B was  $\geq 6$  weeks. In study part C, five male donors with platelet count  $\geq 300$  /nl underwent triple platelet apheresis (single-needle system Trima Accel, dual-needle system Com.Tec; yield  $8 \times 10^{11}$  platelets, interprocedure time  $\geq 8$  weeks). All relevant parameters and indications of the devices during the procedures were recorded. At the end of each platelet apheresis, the donors were asked to complete a standardized interview for evaluation of the procedure. In study part C transfusions to patients were performed with two concentrates of each triple platelet apheresis and the clinical effectiveness was evaluated by the corrected count increment (CCI). A standardized quality control of a defined sample of concentrates of every study part during the storage up to seven days was performed. Furthermore the time requirement and the charges for the production of the respective concentrates were computed on the basis of a model calculation.

**Results:** Collection time as measured by hand was in Trima Accel shorter than in Com.Tec in study part A as well as in part B ( $p \leq 0,05$ ). This tendency was also showed in study part C.

There was a lower consumption of citrate (measured by hand) in all three study parts when apheresis was performed with the Trima Accel device ( $p \leq 0,001$ ). Collection efficacy and collection rate were better in Trima Accel than in Com.Tec in study parts A and B. There was no significant difference in study part C. The post collection platelet count was higher in Trima Accel than in Com.Tec in all three study parts ( $p \leq 0,05$ ), the pre-collection platelet count was comparable with both devices.

Eleven of 15 donors in study part A and all donors in study part C preferred the Trima Accel for the “better” apheresis device. In study part B.1 (Com.Tec standard flow), two of the five donors would prefer apheresis with Com.Tec and one with Trima Accel (indifferent: two). Nevertheless, when blood flow was reduced (study part B.2), all five donors would prefer the Trima Accel device. The occurrence of side effects was similar in both platelet apheresis devices in all study parts.

Quality controls of the collected platelet concentrates were performed and revealed differences between both platelet apheresis devices with respect to pH, mean platelet volume, CD62P-expression and platelet aggregation as well as concentration of lactate, lactate-dehydrogenase and glucose. Numerous products of both apheresis devices did not comply with the defined criteria of the quality control.

In study part C, one donor failed the second apheresis and one platelet concentrate exceeded the storage time. In summary, 17 products (10 x Com.Tec, 7 x Trima Accel) were transfused to 15 haematooncological patients. With respect to corrected count increment determined one hour after transfusion, there was no significant difference between both apheresis devices ( $p = 0,148$ ).

The averaged production costs per platelet concentrate were charged 141 € for the Trima Accel device and 118 € for using the Com.Tec device (model calculation).

**Conclusion:** The presented data revealed significant differences between the tested platelet apheresis devices with respect to collection time and efficacy, citrate consumption, post donation platelet counts and quality controls. Collection time seems to be the predominant parameter for donor’s subjective comfort. The production costs of platelet concentrates differed just about 20 % between both apheresis devices.

## 2. EINLEITUNG

### 2.1 Entwicklung der Transfusionsmedizin

Die Geschichte der Transfusionsmedizin begann mit der ersten erfolgreichen Bluttransfusion von Hund zu Hund durch R. Lower im Jahr 1666 in Oxford (Webster C, 1971; Walton MT, 1974; Giangrande PLF, 2000). Die Übertragung von tierischem Blut auf Menschen endete jedoch mit zahlreichen Fehlschlägen, so dass 1668 der französische Gerichtshof jegliche Art der Bluttransfusion verbot. Auch in Deutschland folgten Misserfolge. Der Nürnberger Arzt G. A. Mercklin veröffentlichte 1679 seine Schrift „Vom Aufgang und Untergang der Bluttransfusion“ und forderte die Einstellung der Tierbluttransfusion und Erforschung der unverzichtbaren Menschenbluttransfusion (Müller-Eckhardt, 1996).

Nach einer rund einhundertjährigen Pause wagte Anfang des 19. Jahrhunderts der Engländer J. Blundell die erste Bluttransfusion von Mensch zu Mensch (Waller C, 1825; Baskett TF, 2002). Mit seinen ersten therapeutischen Erfolgen durch Bluttransfusionen an frisch entbundenen Frauen mit schweren postpartalen Blutungen erhielt J. Blundell 1825 die Bezeichnung als „Vater der modernen Transfusionsmedizin“.

Im Jahr 1828 wurde die wahrscheinlich erste Bluttransfusion von Mensch zu Mensch in Deutschland durch G. A. E. Klett und E. W. Schrägle vorgenommen.

Als Meilenstein in der Transfusionsmedizin galt die Entdeckung der AB0-Blutgruppen und ihrer Isoagglutinine im Jahr 1901 durch K. Landsteiner in Wien. Diese Entdeckung, für die K. Landsteiner 1930 den Nobelpreis für Medizin erhielt, legte die Grundlage für die gefahrlose Anwendung der Bluttransfusion (Benedum J, 2001).

Bereits im Jahr 1910 wurde die Bedeutung und Vornahme eines Agglutinationstests durch W. Schultz erkannt und damit zur unentbehrlichen Voraussetzung vor jeder Bluttransfusion. Durch die Wiederentdeckung der Ungerinnbarmachung von Blut durch Natriumzitrat im Jahr 1924 wurde der Anfang der Blutkonservierung mit diesen bis zu einer Woche haltbaren Zitratblutkonserven gelegt. Im Jahr 1919 wurde im Rockefeller-Institut in den USA bereits das erste Blutdepot eingerichtet, das den Ausgangspunkt für die späteren Transfusionszentralen setzte.

Gemeinsam mit A. S. Wiener gelang K. Landsteiner im Jahr 1940 auch die Entdeckung des Rhesus-Blutgruppensystems. Die Herstellung von Blutkomponenten wurde mit der Einführung wiederverwendbarer Glasflaschen Ende des 2. Weltkrieges begonnen. Durch Zentrifugation konnte das Vollblut in Plasma und Zellsediment getrennt werden.

Allerdings zeigte sich hierbei infolge der Verwendung von offenen Systemen ein erhöhtes Risiko der bakteriellen Kontamination der Blutprodukte. Ein großer Fortschritt konnte daher mit der Entwicklung und Verwendung von Kunststoffbeuteln als geschlossene Systeme erzielt werden, die 1952 als Vorläufer der heutigen modernen Kunststoffbeutel durch C. Walter und W. P. Murphy eingeführt wurden (Müller-Eckhardt C, 1996; Benedum J, 2001).

Mit der Fraktionierung des Vollblutes in seine Komponenten können dem Patienten gezielt nur die Bestandteile des Blutes zugeführt werden, die er benötigt (Komponententherapie). Die Herstellung und Anwendung von Blutkomponenten ist heute Standard, die Transfusion von Vollblutkonserven hingegen, abgesehen von sehr wenigen Ausnahmesituationen, obsolet (Stroncek D et al., 2007; Reissigl H, 1973/1974).

Bereits in den fünfziger Jahren des letzten Jahrhunderts konnte mit der Transfusion von Thrombozytenkonzentraten (TK) eine Reduktion der Mortalität von Patienten mit akuter Leukämie infolge von Hämorrhagien nachgewiesen werden. Seit diesem Zeitpunkt ist der Nutzen dieser Therapie stets gewachsen und ausgeweitet worden, so dass die Transfusion von Thrombozytenkonzentraten zum essentiellen Bestandteil der komplexen Behandlungskonzepte solider Tumoren, hämatologischer Malignome, Knochenmarkinsuffizienz und hämatopoietischer Stammzelltransplantation geworden ist (Stroncek DF et al., 2007).

Ein weiterer wichtiger Schritt wurde in den siebziger Jahren mit der Entwicklung von Zellseparatoren begonnen. Diese ermöglichten die selektive Herstellung bestimmter Blutkomponenten eines einzelnen Spenders während einer Spende und reduzierten somit die Spenderexposition für die Patienten im Vergleich zu gepoolten Thrombozytenkonzentraten aus Vollblutspenden. Im gleichen Jahrzehnt wurde die Herstellung leukozytenarmer Produkte und damit die Reduzierung der Inzidenz von Alloimmunisierungen angefangen (Giangrande PLF, 2000).

Heute werden jedes Jahr mehr als 6 000 000 Blutspenden in Deutschland geleistet (Daten aus 2006) (Willand L et al., 2008; Offergeld R et al., 2007). Der Hauptanteil (73,5 %) entfällt hierbei auf die Vollblutspende; 23,9 % werden als Plasmapheresespenden durchgeführt. Etwa 2,7 % der Spenden werden als Zytapheresen ausgeführt, d.h. knapp 170 000 Spenden/Jahr. Insgesamt werden jährlich etwa 520 000 Thrombozytentransfusionen vorgenommen (Klouche M, 2007).

In naher Zukunft ist es sehr unwahrscheinlich, dass neue Entdeckungen den Einsatz von Blut und Blutprodukten ersetzen werden. Bereits seit mehr als 40 Jahren wird in diesem Bereich geforscht, aber bis heute konnte kein Ersatz für Thrombozyten mit ihren komplexen Funktionen gefunden werden.

Mit der Weiterentwicklung zu immer weniger invasiven Eingriffen sinkt der Bedarf an Blutprodukten im chirurgischen Sektor. Es wird erwartet, dass der Anteil an Bluttransfusionen bei der Behandlung hämatologischer Erkrankungen in den kommenden Jahren konstant bleiben wird. Infolge der demographischen Entwicklung und der steigenden Lebenserwartung der Bevölkerung muss jedoch mit einer Zunahme altersassoziierter Erkrankungen gerechnet werden und somit dürfte der Bedarf an Blutprodukten insgesamt in Zukunft weiterhin ansteigen (Rouger P, 2006).

## **2.2 Thrombozytenkonzentrate**

### **2.2.1 Herstellung**

Thrombozytenkonzentrate werden entweder als Pool-Thrombozytenkonzentrate aus Vollblutspenden oder als Apherese-Thrombozytenkonzentrate von Einzelspendern gewonnen. Die Gewinnung der Thrombozytenkonzentrate aus Vollblutspenden erfolgt durch Anreicherung der Thrombozyten aus vier bis sechs blutgruppengleichen thrombozytenhaltigen Buffy coats oder aus plättchenreichem Plasma. Bei der Herstellung von Apherese-Thrombozytenkonzentraten werden mittels maschineller Zellseparatoren von einem Spender ein bis drei Thrombozytenkonzentrate in einer Sitzung gewonnen (Stroncek D et al., 2007).

Jährlich werden in Deutschland zirka 150 000 Pool-TKs hergestellt. Hierfür werden etwa 620 000 Vollblutspenden benötigt, die im Durchschnitt von 485 500 Spendern geleistet werden (Mehrfachspenden möglich). Im Rahmen der Thrombozytapherese spendet derzeit ein Thrombozytenspender zirka acht Apherese-TK pro Jahr, bei steigender Tendenz aufgrund der Zunahme von Doppel-Apheresen und der voraussichtlichen Ausweitung von Dreifach-Apheresen. 150 000 Apherese-TK könnten somit durch rund 18 750 Spender hergestellt werden (Hellstern P et al., 2007).

Der therapeutische Effekt von Pool- und Apherese-TK ist vergleichbar, so dass die Produkte meistens je nach Verfügbarkeit alternativ eingesetzt werden können (Klüter H et al., 1996). Durch Transfusion von gepoolten Thrombozytenkonzentraten erhält der Patient allerdings Blut von mehreren Spendern (Querschnitts-Leitlinien (BÄK), 2008). Eine weitere Erhöhung der Sicherheit der Hämotherapie durch eine geringere Spenderexposition des Empfängers ist durch den Ersatz der Pool-TK durch Apherese-TK möglich, wodurch der Bedarf an Apherese-TK ansteigen würde (Hellstern et al., 2007).

### 2.2.2 Wirksame Bestandteile

Als therapeutisch wirksamen Bestandteil enthalten Thrombozytenkonzentrate funktionell intakte Thrombozyten (PLT) von einem oder mehreren gesunden Blutspendern. Je nach Art der Herstellung sind die Thrombozyten im Spenderplasma oder in ca. 30-40 % Restplasma gemeinsam mit additiver Lösung (Plasmaersatzlösung) suspendiert.

Pool-Thrombozytenkonzentrate enthalten in der Regel  $2,4$  bis  $3,6 \times 10^{11}$  Thrombozyten von vier bis sechs Spendern in 200 bis 350 ml Plasma bzw. Plasmaersatzlösung. Apherese-Thrombozytenkonzentrate enthalten  $2,4$  bis  $4,0 \times 10^{11}$  PLT eines Spenders, die in etwa 200 bis 300 ml Plasma suspendiert sind (Querschnitts-Leitlinien (BÄK), 2008).

Beide Präparate enthalten eine geringe Menge an Restleukozyten ( $< 1 \times 10^6$  pro TK) und gelten somit als leukozytendepletiert. Desweiteren ist eine geringe Menge an Resterythrozyten ( $< 3 \times 10^9$  pro TK) im Thrombozytenkonzentrat vorhanden. Diese beiden Zelltypen sind therapeutisch nicht wirksam, können prinzipiell aber eine Immunisierung gegen das Rhesus-Merkmal D auslösen.

Weitere Bestandteile der TK sind geringe Mengen an Stabilisator, Antikoagulanz, additiver Lösung und freigesetzter Weichmacher der Lagerbeutel (Querschnitts-Leitlinien (BÄK), 2008).

### 2.2.3 Physiologische Funktion der Thrombozyten

Thrombozyten haben wichtige Funktionen in zahlreichen physiologischen Prozessen und nehmen als zelluläre Bestandteile des Hämostasesystems eine zentrale Rolle ein. Daneben sind Thrombozyten außerdem an der Begrenzung der Gerinnung durch Fibrinbildung beteiligt, als Abwehr- und Entzündungszellen tätig und tragen zur Wundheilung bei (Kehrel BE, 2003).

Thrombozyten entstehen durch Fragmentierung der Megakaryozyten im Knochenmark. Die tägliche Produktion der Thrombozyten wird durch Thrombopoietin geregelt. Die mittlere Lebenszeit dieser kernlosen Fragmente beträgt etwa 10 Tage bei einer Halbwertszeit von zirka 70 Stunden. Alte Thrombozyten werden durch Gewebemakrophagen im Monozyten-/Phagozyten-System der Milz und Leber abgebaut.

Zwei Drittel der Thrombozyten zirkulieren im Blut und stehen im ständigen Austausch mit dem stationären Anteil, der vor allem in der Milz und in geringem Maße auch im übrigen histiomonozytären System gespeichert ist. Die Konzentration der Thrombozyten im Blut gesunder Menschen liegt in der Regel zwischen 150 und 450/nl.

Im Rahmen der primären Hämostase werden bei Verletzung der Gefäßwand und Freilegung des Subendothels Thrombozyten aus dem zirkulierenden Blut rekrutiert, um diese offen liegende Stelle sofort abzudichten. Desweiteren erfolgt auf der Zelloberfläche eine Amplifizierung der Aktivierung des plasmatischen Gerinnungssystems und in der Folge eine explosionsartige Vermehrung von Thrombin. Thrombin ist als Protease verantwortlich für die Bildung von Fibrin und begrenzt somit die Gerinnung auf den Ort der Verletzung (Jurk K et al., 2008).

Ferner tragen Thrombozyten zur Immunabwehr bei. Nach Aktivierung der Thrombozyten durch Alpha-Defensine der neutrophilen Granulozyten sezernieren sie hochpotente antimikrobielle Substanzen, die die Membran von Mikroorganismen angreifen. Thrombozyten können aber auch direkt mit Bakterien, Protozoen und Viren interagieren. Indirekt sind Thrombozyten über die Herstellung des Kontaktes zwischen Endothelzellen und Leukozyten ebenfalls an der Abwehr beteiligt.

Desweiteren beherbergen Thrombozyten eine Vielzahl an proinflammatorischen Chemokinen, Zytokinen und Wachstumsfaktoren, die bei der Aktivierung im Entzündungsgeschehen freigesetzt werden (Kehrel BE, 2003; Jurk K et al., 2008).

### **2.2.3 Anwendung und Indikationen für Thrombozytenkonzentrate**

Thrombozytenkonzentrate werden zur Prophylaxe und Therapie thrombozytär bedingter Blutungen eingesetzt, die auf Thrombozytopenien und/oder Thrombozytopathien zurückzuführen sind. Die Indikation hängt von der Thrombozytenzahl und -funktion, der Grunderkrankung, dem Blutungsrisiko und vor allem der Blutungsneigung des Patienten ab.

Die prophylaktische Gabe von Thrombozytenkonzentraten bei thrombozytopenischen Patienten ohne akute Blutungen soll das Risiko klinisch bedrohlicher Blutungen verringern. Die Therapie einer akuten Blutung mittels Thrombozytentransfusion ist bei transfusionspflichtigen Blutungen bei < 100 Thrombozyten/nl erforderlich (z.B. im Rahmen von Massivtransfusionen). Beim Vorliegen nicht-transfusionspflichtiger Blutungen ist eine TK-Gabe nur indiziert, wenn eine Blutstillung durch andere Maßnahmen nicht erreicht werden kann und Gefahr der klinischen Verschlechterung besteht (Greinacher A et al., 2006).

Die Auswahl des Thrombozytenkonzentrates bei immunisierten Patienten sollte nach dem Vorliegen von HLA- (human leukocyte antigens) und HPA- (human platelet antigens) -Antigenen erfolgen. Hierbei empfiehlt sich eine Auswahl potentiell geeigneter Spender zur Thrombozytapherese.

Die Thrombozytentransfusion sollte, sofern möglich, AB0-identisch erfolgen. Ebenso sollte bei der Auswahl des Thrombozytenkonzentrates auch der Rhesusfaktor D berücksichtigt werden (Eichler H et al., 2001).

Die Hämostaseaktivität der funktionell intakten Thrombozyten ist sofort nach der Transfusion gegeben. Mit der Transfusion einer therapeutischen Einheit wird ein Anstieg der Thrombozyten von etwa 30 PLT/nl erwartet. Die Funktionsfähigkeit und die mittlere Überlebenszeit der Thrombozyten nimmt mit der Lagerungsdauer ab. Bei wiederholtem Ausbleiben eines adäquaten Transfusionserfolges muss von einem Refraktärzustand ausgegangen werden (Querschnitts-Leitlinien (BÄK), 2008).

#### **2.2.4 Unerwünschte Wirkungen**

Verschiedenste Nebenwirkungen nach Transfusion von Blutkomponenten sind bekannt. Schwerwiegende unerwünschte Wirkungen kommen nur äußerst selten vor.

Gelegentlich treten hämolytische Transfusionsreaktionen sowie allergische Reaktionen auf. Posttransfusionelle Purpura sind nur in Einzelfällen beschrieben. Febrile, nicht-hämolytische Transfusionsreaktionen treten unter anderem nach Reaktion von antileukozytären Antikörpern des Empfängers mit kontaminierenden Leukozyten in Thrombozytenkonzentraten auf. Das Risiko hierbei liegt bei  $< 1:5$  transfundierter TK und hat sich dank der effektiven Weiterentwicklung der Leukozytenreduktion deutlich verringert. Sehr selten entsteht eine transfusionsassoziierte Graft-Versus-Host-Krankheit oder eine transfusionsassoziierte akute Lungeninsuffizienz (Stroncek D et al., 2007; Eichler H et al., 2001).

Das Übertragungsrisiko von Virusinfektionen durch Thrombozytenkonzentrate ist sehr gering und durch die Einführung besserer Nachweismethoden für Hepatitis B-, Hepatitis C- und Humane Immundefizienz-Viren in den letzten Jahren deutlich gesunken (Eichler H et al., 2001; Willand L et al., 2008; Offergeld R et al., 2007). Bei der Untersuchung der TK auf bakterielle Verkeimung ergeben sich in etwa 0,02 bis 1,2 % der untersuchten Präparate positive Nachweise (Walther-Wenke G, 2008; Schrezenmeier H et al., 2007; de Korte D et al., 2006). Die Übertragung einer bakteriellen Infektion stellt somit ein größeres Problem als die Infektion durch Viren dar. Grundsätzlich besteht auch die Möglichkeit der Übertragung von Parasiten durch Blutkomponenten. Die Übertragung von Prionen (Creutzfeldt-Jacob-Erkrankungen) ist prinzipiell möglich, bis heute wurde aber noch kein Fall beschrieben (Greinacher A et al., 2006).

### 2.3 Zielsetzung

Zur Herstellung von Blutkomponenten mittels Zytapherese stehen zahlreiche Zellseparatoren verschiedener Hersteller mit variabler Leistungsfähigkeit und Separationstechnik zur Verfügung. Mit der Optimierung der Apheresetechnik und steigendem ökonomischen Druck zur Gewinnung ausreichender Mengen an Transfusionsblut werden heutzutage in der Regel standardmäßig Doppel-PLT-Apheresekonzentrate hergestellt.

Die hier vorgelegte prospektive Crossover-Studie soll zeigen, ob es im Rahmen der Thrombozytapherese möglich ist, einen Konsens zwischen dem Nutzen für das Gesundheitssystem, dem therapeutischen Effekt und der Sicherheit für den Empfänger sowie den Anforderungen und Folgen für den Spender zu finden.

Ziel des Vorhabens ist zugleich der Vergleich der zwei verschiedenen Thrombozytapheresesysteme (Trima Accel, CaridianBCT versus Com.Tec, Fresenius HemoCare), die im Routinegebrauch im Institut für Klinische Hämostaseologie und Transfusionsmedizin des Universitätsklinikums des Saarlandes eingesetzt werden.

Demzufolge wurden folgende Ziele für die Studie definiert:

- Erfassung aller relevanter Aphereseparameter, um die Unterschiede zwischen beiden Aphereseegeräten und deren Apheresecharakteristika zu ermitteln. Registrierung der Thrombozytensammlungseffizienz und der Thrombozytensammelrate.
- Abgleich der Vorhersage-Genauigkeit und Geräteangaben der Zellseparatoren mit den im Rahmen der Studie gemessenen Werten.
- Bewertung des Operatorenkomforts mittels Aufnahme der Anzahl und Art der Interventionen während der Verfahren.
- Erfassung aller relevanter Parameter zur Beurteilung der Sicherheit des Spenders und Befragung der PLT-Spender bezüglich des Spenderkomforts.
- Beurteilung der Qualität der Thrombozytenkonzentrate und Plasmaprodukte über eine Lagerungszeit von bis zu sieben Tagen.
- Generierung eines relevanten Anteils der Datensätze zur Zulassung der Aphereseverfahren beim Paul-Ehrlich-Institut im Rahmen der Dreifach-PLT-Apheresekonzentrate und der Einfach-PLT-Apheresekonzentrate in Kombination mit der Sammlung eines Plasmaproduktes.
- Erhebung des korrigierten Inkrements (CCI) von Konzentraten aus Dreifachapheresen zur Demonstration der Wirksamkeit am Patienten.
- Ermittlung der ökonomischen Ersparnis anhand von Material- und Verfahrenskosten.

### 3. MATERIAL UND METHODIK

#### 3.1 Studiendesign und Spenderkollektiv

##### 3.1.1 Allgemeiner Überblick

Im Rahmen dieser prospektiven Crossover-Studie wurden 30 reguläre Thrombozytenspender (n = 30) des Institutes für Klinische Hämostaseologie und Transfusionsmedizin der Universitätskliniken des Saarlandes in Homburg/ Saar im Zeitraum von Juli 2007 bis Juli 2008 rekrutiert. Zum Vergleich der zwei verschiedenen Thrombozytapheresegeräte (Trima Accel, CaridianBCT versus Com.Tec, Fresenius HemoCare) in Bezug auf Spendersicherheit und -komfort, Kosteneffektivität sowie Produktqualität wurde jeder Spender um je eine Apherese an beiden Geräten gebeten.

Zusätzlich zur lokalen Validierung und Generierung von Daten während der Aphereseverfahren wurden Qualitätskontrolldaten der Doppel-PLT-Apheresekonzentrate, der Dreifach-PLT-Apheresekonzentrate sowie der Einfach-PLT-Apheresekonzentrate in Kombination mit der Sammlung von Plasmapräparaten generiert, unter anderem, um diese dem Paul-Ehrlich-Institut zur Beantragung weiterer Vertriebszulassungen vorzulegen.

##### 3.1.2 Studienarme

Ziel der Studie war der Vergleich folgender Verfahren mit beiden Apheresesystemen an den gleichen Spendern in drei unabhängigen Studienarmen (A, B und C):

- Studienarm A: Doppel-PLT-Apherese: Einarm-Verfahren (SN) (Trima Accel) versus Zweiarm-Verfahren (DN) (Com.Tec)
- Studienarm B: Einfach-PLT-Apherese plus Einfach-Plasma-Apherese: Einarm-Verfahren (Trima Accel und Com.Tec; Com.Tec mit 2 Entnahmeflussraten: Standardfluss (ca. 70-75 ml/Min) (B.1) und 60 ml/Min (B.2))
- Studienarm C: Dreifach-PLT-Apherese: Einarm-Verfahren (Trima Accel) versus Zweiarm-Verfahren (Com.Tec)

In Gegensatz zu Studienarm A und B wurden in Studienarm C zwei der drei Dreifach-PLT-Apheresekonzentrate Patienten transfundiert und die Daten zum Transfusionserfolg erhoben. Der klinische Effekt dieser Thrombozytenprodukte wurde durch den klinischen Erfolg und die Berechnung des korrigierten Inkrements (CCI) beurteilt. Parallel dazu wurden die Patientencharakteristika dokumentiert.

### **3.1.3 Spender**

Insgesamt wurden 30 aktive Apheresespender (n = 30) aus dem Spender-Pool der Universitätskliniken des Saarlandes in die Studie eingeschlossen. Bei allen Spendern wurde gemäß den aktuellen Richtlinien der BÄK zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie) nach ärztlicher Beurteilung die Eignung als Spender für präparative Hämapheresen festgestellt (Richtlinien BÄK, 2005).

Die Spender wurden über das Verfahren und die möglichen Nebenwirkungen aufgeklärt. Eine Einverständniserklärung seitens der Spender lag jeweils vor. Zusätzlich gaben alle Spender ihr informiertes Einverständnis zur Teilnahme an der Studie. Für Studienarm C wurde ein positives Votum der lokalen Ethikkommission eingeholt.

Das jeweilige Apheresesystem, mit dem die Studie für jeden Spender begonnen wurde, wurde randomisiert zum Zeitpunkt der Rekrutierung zur Studienteilnahme ausgewählt. Der gleiche Venenzugang wurde, sofern möglich, bei den zwei konsekutiven Spenden verwendet. Am Ende jeder Apherese wurden die Spender in einem standardisierten Interview um die Bewertung des Verfahrens gebeten.

Mindestens 6 Wochen vor der ersten Studienapherese durfte keine Thrombozytapherese durchgeführt worden sein. Der Abstand zwischen beiden Studienapheresen betrug mindestens 6 Wochen für Studienarm A und B bzw. mindestens 8 Wochen für Studienarm C. Diese Einschlusskriterien wurden zur optimalen Wahrung der Spendersicherheit und Gewährleistung eines ausreichenden Zeitraumes zur Regeneration des thrombozytären Systems gewählt.

Für Studienarm A wurden insgesamt fünfzehn aktive Apheresespender (n = 15, 10 Männer, 5 Frauen) mit mindestens 230 PLT/nl ausgewählt, für Studienarm B insgesamt zehn aktive Apheresespender (n = 10, 7 Männer, 3 Frauen) mit mindestens 200 PLT/nl und für Studienarm C insgesamt fünf aktive Apheresespender (n = 5, 5 Männer) mit mindestens 300 PLT/nl.

Jeder Spender durfte nur an einem einzigen Studienarm (A oder B oder C) teilnehmen.

## **3.2 Präparative Hämapherese**

### **3.2.1 Allgemeines Funktionsprinzip**

Die präparative Hämapherese erfolgt im Gegensatz zur konventionellen Vollblutspende mit dem Einsatz von Zellseparatoren mit extrakorporalem Kreislauf am Spender.

Bereits während der Spende wird das Blut aufgrund der unterschiedlichen Zelldichten durch Zentrifugation fraktioniert, so dass gezielt Blutkomponenten bestimmter Blutzellen oder des Blutplasmas gewonnen werden können, während die übrigen Blutkomponenten dem Spender zurückgegeben werden.

Die präparative Hämapherese kann zur Herstellung von Thrombozytenkonzentraten, Plasmapräparaten, Erythrozytenkonzentraten und Granulozytenkonzentraten eingesetzt werden. Daneben können unterschiedliche Blutkomponenten in einer Multikomponentenspende gewonnen werden. Ferner lassen sich auch periphere Blutstammzellen mit diesen Verfahren gewinnen.

Für den extrakorporalen Kreislauf werden sterile, geschlossene Einmalkunststoffsets mit Separationskammern und Beuteln sowie Zellseparatoren mit zwei bis fünf Roller-pumpen verwendet. Die Separation wird durch ein voreingestelltes elektronisches Separationsprogramm (Verfahrens-Software) kontrolliert und gesteuert (Müller-Eckhardt C, 1996).

Zur Antikoagulation und als Stabilisator wird antikoagulierte Zitrat-Glukose-Lösung (Anticoagulant Citrate Dextrosis Formula A, ACD-A) (Frekaflex ACD-A, 600 ml, Fresenius Kabi, Bad Homburg/ Deutschland) mit folgender Spezifikation verwendet:

1000 ml des Stabilisators ACD-A enthalten:

Natriumzitrat	22,0 g
Dextrose- (Glukose-) Monohydrat	24,5 g
Zitronensäure-Monohydrat	7,3 g
In Wasser für Injektionszwecke ad 1000 ml	

Bei den mit der Com.Tec durchgeführten Verfahren wird zusätzlich Kochsalzlösung (Isotone Kochsalz-Lösung 0,9% Braun, 1000 ml, B. Braun Melsungen AG, Melsungen/ Deutschland) benötigt.

Die beiden im Rahmen dieser Studie verwendeten Apheresegeräte unterscheiden sich im Gebrauch von Einarm- versus Zweiarm-Technik. Die Trima Accel wurde erst kurz vor Studienbeginn in den Routinegebrauch eingeführt. Die Com.Tec hingegen wird bereits seit Jahren routinemäßig verwendet, aber seit Beginn der Studie mit einer neu entwickelten Softwareversion (Version 04.02.00) betrieben.

Die Hersteller der Zellseparatoren waren in die Vorbereitungen der Studie insofern eingebunden, dass sie die optimalen Geräteeinstellungen für die Studienarme A bis C vorschlugen.

So wurden die Zellseparatoren durch die Herstellerfirmen in Absprache mit dem Leiter der Herstellung des Institutes konfiguriert, um optimale Ergebnisse entsprechend der Zielsetzung der Studie zu erhalten. Die Geräteeinstellungen wurden vor Studienbeginn definiert, nach Beginn der Studie wurden keine weiteren Modifikationen vorgenommen.

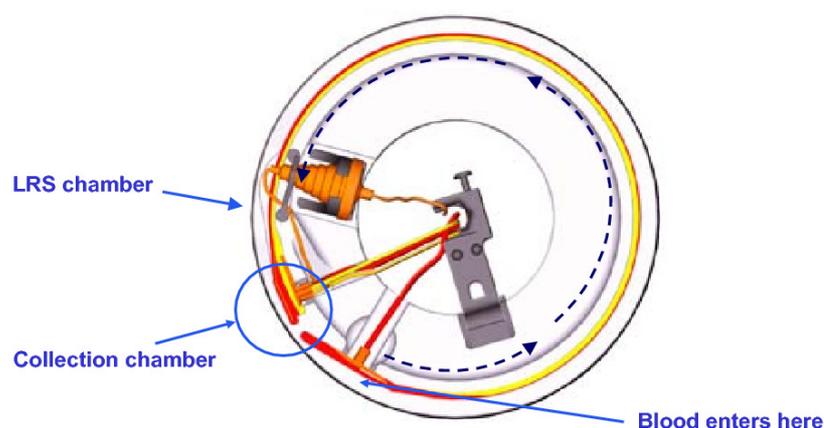
### 3.2.2 Trima Accel 5.1, CaridianBCT

Hersteller:

CaridianBCT Europe  
Deutsche Zweigniederlassung  
Parkring 6  
85748 Garching/ Deutschland

Die Durchführung der Apheresen mit dem Trima Accel-System erfolgt ausschließlich im Einarm-Verfahren. Aufgrund des Einarmverfahrens wechseln sich die Entnahme- und Rückgabe-Phasen über dieselbe Nadel ab (etwa 45 Sekunden jeder Minute entfallen auf die Entnahme, etwa 15 Sekunden auf die Rückgabe). Zur Entnahme und Rückführung von Blut vom bzw. zum Spender dienen fünf Pumpen (Rückfluss-, Antikoagulant-, Zufluss-, Plasma- und Thrombozytenpumpe).

Das Trima Accel-System verwendet eine Einzel-Separationskammer zur Auftrennung des Vollblutes des Spenders in seine Hauptkomponenten, um diese in beliebiger Kombination zu sammeln. Die Kombination mit dem integrierten Leuko-Reduktions-System (LRS<sup>®</sup>) dient zusätzlich der zuverlässigen Leukozytenreduktion im Thrombozytenkonzentrat.

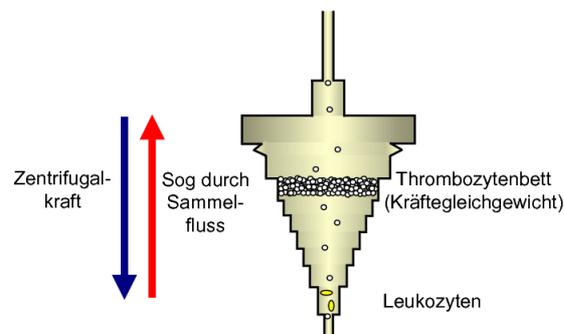


**Abb. 1 Trima Accel Separationssystem**  
(Fortbildungsunterlagen Fa. Gambro BCT, 2007)

In den Entnahme-Phasen wird das Vollblut dem Spender entnommen und mit Antikoagulanzen angereichert. Diese Blut-/ Antikoagulanzen-Mischung wird in den Kanal geleitet und durch die Drehung der Zentrifuge mit kontinuierlichem Fluss einem künstlichen Schwerfeld ausgesetzt, wodurch das Blut in seine Komponenten separiert wird. Das plättchenreiche Plasma wird zur Leukozytenreduktion weiter in die LRS<sup>®</sup>-Kammer geleitet.

Die Erythrozyten werden durch den Druck, der durch die ständige Einleitung von Blut in die Zentrifuge aufgebaut wird, aus dem Kanal verdrängt. Je nach ausgewähltem Verfahren werden die Thrombozyten, das Plasma und die Erythrozyten entweder in Präparatebeuteln gesammelt oder an das Rückflussreservoir geleitet und während der Rückgabe-Phasen zum Spender zurückgeführt.

Bei der Herstellung von Thrombozytenkonzentraten wird das plättchenreiche Plasma zusätzlich zur Leukozytenreduktion in die LRS<sup>®</sup>-Kammer geleitet. In dieser konischen Kammer fließt das Plasma aufwärts. Dabei nimmt die Durchflussgeschwindigkeit von unten nach oben mit zunehmender Querschnittsfläche kontinuierlich ab. Gelangt ein Thrombozyt in den Durchflussstrom, wird er mit nach oben getragen und durch das Strömungsmuster auf einer bestimmten Höhe in der LRS<sup>®</sup>-Kammer gehalten. Weitere Thrombozyten strömen in die Kammer und werden ebenfalls auf gleicher Höhe gehalten. In diesem Schwebезustand bilden sie ein sogenanntes Thrombozytenbett (siehe Abb. 2).



**Abb. 2 Leuko-Reduktions-System (LRS<sup>®</sup>) von CaridianBCT  
(Fortbildungsunterlagen Fa. Gambro BCT, 2007)**

Das Thrombozytenbett weist unabhängig von den Thrombozytenvorwerten des Spenders immer die gleiche Stärke auf. Strömen nach Fertigstellung des Thrombozytenbettes weitere Thrombozyten in die LRS<sup>®</sup>-Kammer ein, verdrängen diese oben gelagerte Thrombozyten in äquivalenter Anzahl aus dem Thrombozytenbett. Die Thrombozyten werden bei definierter Plasmaflussrate mit in den Sammelbeutel transportiert.

Da Leukozyten und Erythrozyten über eine höhere Dichte als die Thrombozyten verfügen, erreichen sie bereits in einer geringeren Höhe der LRS<sup>®</sup>-Kammer ihren Schwebestand und folgen nicht dem Aufwärtsstrom des Plasmas. So werden die Thrombozyten gesammelt, während die übrigen Blutkomponenten zum Spender zurückgeführt werden.

Während der Sammlung von Thrombozyten und Plasma behält die Zuflusspumpe eine konstante Geschwindigkeit bei und eine geringe Menge des zurückfließenden Blutes wird durch den Zufluss-Schlauch erneut in die Kammer geleitet. Mittels dieses rezirkulierenden Blutes kann das Trima Accel-System einen kontinuierlichen Blutfluss im Kanal aufrechterhalten und somit trotz des Wechsels zwischen Entnahme und Rückgabe für ein kontinuierliches Separationsverfahren sorgen.

Das Trima Accel-System wurde in dieser Studie mit der Software Version 5.1 betrieben. Zur Vorbereitung des Zellseparators wurde das Apherese-Set „Einphasen LRS<sup>®</sup> Thrombozyten- und Plasma-Schlauchset“ geladen. Dieses Apherese-Set weist zwei Thrombozyten-Lagerbeutel auf. Daher wurde zur Herstellung der Dreifach-Thrombozytenkonzentrate ein gesondert erhältlicher dritter Lagerbeutel nach Beendigung der Apherese steril angeschweißt. Die Folie der hier verwendeten Thrombozyten-Lagerbeutel besteht aus Polyvinylchlorid und Citroflex B-6 (ES-3049) (Fortbildungsunterlagen Fa. Gambro BCT, 2007; Gambro BCT, 2004).

Folgende Geräteeinstellung wurde während allen Studienapheresen verwendet:

AK-Infusionssteuerung:	6
Entnahmeflusssteuerung:	4
Rückflusssteuerung:	1
Max. Entnahmefluss:	langsam (100 ml/Min)
Max. Rückflussrate:	automatisch durch die Gerätesoftware definiert
Max. Zuleitungsrate:	automatisch durch die Gerätesoftware definiert
Rückflussdruck Maximum:	250 mmHg
Entnahmedruck Maximum:	250 mmHg
Blut-/ AK-Verhältnis:	11:1
Einfach-TK-Volumen:	240 ml
PLT-Konzentration im Produkt:	1,250 /nl (bei einem Ertrag von $3,0 \times 10^{11}$ PLT)
Ertrag Einfach-/ Doppel-TK:	$3,0 \times 10^{11}$ PLT
Ertrag Dreifach-TK:	$8,0 \times 10^{11}$ PLT
Ertragsbestimmungsfaktor:	1,05

### 3.2.3 Com.Tec, Fresenius HemoCare

Hersteller:

Fresenius HemoCare GmbH  
Pfingstweide 53  
61169 Friedberg/ Deutschland

Die Blutkomponentengewinnung mit dem Zellseparator Com.Tec kann sowohl im Zweiarm- als auch im Einarm-Verfahren durchgeführt werden.

Das Zweiarm-Verfahren ist ein kontinuierliches Verfahren, d.h. während der ständigen Entnahme einer kleinen Blutmenge erfolgt die Rückgabe der nicht benötigten Blutbestandteile. Voraussetzung hierfür sind daher zwei Punktionsstellen.

Beim Einarm-Verfahren wird der Spender hingegen nur mit einer Nadel punktiert. Die Separation teilt sich daher in die zwei Phasen Kollektion und Rückgabe auf. Im Kollektionszyklus werden die separierten Blutbestandteile in einem Reservoir, dem sogenannten SN-Beutel, gesammelt. Während des Rückgabezyklus wird das während des Kollektionszyklus gesammelte, nicht benötigte Blutvolumen des SN-Beutels von der Vollblutpumpe zum Spender zurückgefördert und dabei noch einmal durch die Separationskammer geleitet, so dass dem Vollblut ein zweites Mal Thrombozyten entzogen werden. Die Sammlung der Thrombozyten ist im Einarm-Verfahren daher ebenfalls kontinuierlich, während der Vollblutzufluss vom Spender zum Zellseparator diskontinuierlich abläuft.

Die Com.Tec ist mit vier peristaltischen Schlauchpumpen (Zellen-, Plasma-, Vollblut- und ACD-/ Rezirkulationspumpe) und einer kleineren ACD-Pumpe ausgerüstet. Im Rahmen dieser Studie erfolgte der Betrieb des Aphereseegerätes mit der neu entwickelten Softwareversion 04.02.00. Zur Sammlung der Zielprodukte wurde das Programm Plt-5d für das Zweiarm-Verfahren bzw. Plt-5d-SN für das Einarm-Verfahren angewählt.

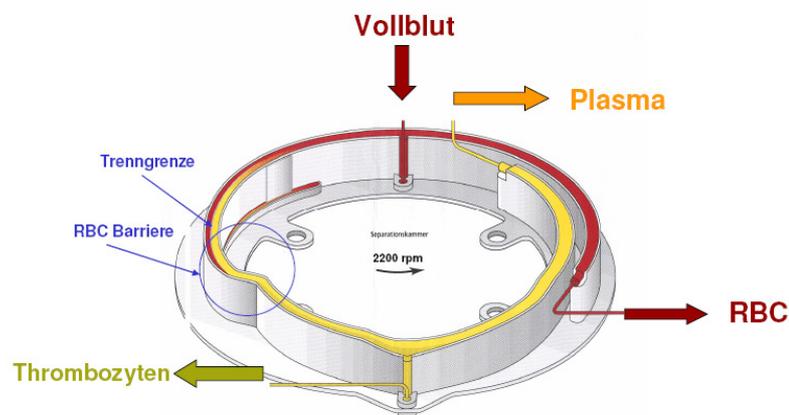
Die verwendeten Apherese-Sets dienen der Gewinnung von Thrombozyten, die nach dem Spendetag bis zu maximal 4 x 24 Stunden gelagert werden. Die Lagerfähigkeit der Thrombozytenkonzentrate wird durch die Verwendung großlumiger Lagerbeutel mit hoher Gasdurchlässigkeit sichergestellt, die fest mit dem Set verbunden sind. Diese Lagerbeutel bestehen aus Polyvinylchlorid und dem Weichmacher Butyryltrihexylzitat. Gleichzeitig ist die Sammlung einer bestimmten Plasmamenge möglich, hierzu ist ein Plasmatransferbeutel ebenfalls fest mit dem Set verbunden.

Im Studienarm A wurde das Apherese-Set „C5L“ (DN Set zur Sammlung von Thrombozyten) mit zwei großlumigen Thrombozytenlagerbeuteln verwendet. Für die Gewinnung der Dreifach-Thrombozytenkonzentrate im Studienarm C wurde das Apherese-Set „C5LT“ (DN Set zur Sammlung von Dreifach-Thrombozytenkonzentraten) benutzt, das über einen zusätzlichen Konzentratbeutel verfügt.

Die Durchführung der Apheresen im Einarm-Verfahren des Studienarm B erfolgte mit dem Apherese-Set „S5L“ (SN Set zur Sammlung von Thrombozyten), das aus diesem Grund nur einen Spenderzugang und einen zusätzlichen SN-Beutel als Reservoir für das Zyklusvolumen aufweist.

Zur Durchführung des Einarm-Verfahrens wird dem Spender zusätzlich am vollständig ausgestreckten und entspannten, punktierten Oberarm eine Cuffmanschette angelegt, die zu Beginn der Kollektion mit einem Druck von ca. 50 mmHg automatisch aufgepumpt wird, um eventuell auftretende Flussprobleme durch Anstau des Blutes in der Vene des Spenders zu vermeiden.

Die verwendete Separationskammer C5 ist eine einstufige, starre Kammer aus Kunststoff in Form einer ansteigenden Spirale.



**Abb. 3 C5 Separationskammer**  
(Fortbildungsunterlagen Fa. Fresenius Kabi, 2007)

Das Spenderblut wird am Vollblut-Port in die Separationskammer gepumpt. Durch Zentrifugation wird das Blut in Erythrozyten, Buffy coat und thrombozytenreiches Plasma aufgetrennt und eine sogenannte Trenngrenze aufgebaut. Die Position der Trenngrenze wird automatisch so eingestellt, dass Erythrozyten und Leukozyten einen im Kammerring befindlichen Winkel, die sogenannte RBC-Barriere, nicht überwinden können. Erythrozyten und Leukozyten verlassen über den Erythrozytenkonzentrat-Port die Kammer, um über die Rückgabelleitung zum Spender zurückzufließen.

Die RBC-Barriere wird nur von den weniger dichten Blutkomponenten (Thrombozyten und Plasma) überwunden. Dieses leukozytendepletierte, thrombozytenreiche Plasma wird vor dem Thrombozyten-Port konzentriert und die Thrombozyten von der Zellpumpe in den Konzentratbeutel abgepumpt. Das Plasma verlässt die Kammer über den Plasma-Port am inneren Ende der Spirale.

Die Trenngrenzenkontrolle erfolgt vollkommen automatisch mit einem sogenannten Charge-Coupled-Device-Sensor, der in der Separationskammer bei jeder Umdrehung die Lage der Trenngrenze zwischen lichtundurchlässigen Zellen und lichtdurchlässigem Plasma detektiert. Die Plasmapumpe optimiert kontinuierlich den Plasmafluss und sorgt damit für konstante Qualität und Reinheit des Präparates während des gesamten Verfahrens.

Zur Erhöhung der Sammlungseffizienz wird nach dem Prinzip der Plasmarezirkulation durch die ACD-/ Rezirkulationspumpe eine spenderabhängige Plasmamenge erneut durch die Separationskammer gefördert, in dem das Plasma dem entnommenen Vollblut beigemischt wird, so dass die verbliebenen Thrombozyten ein zweites Mal herausgefiltert werden können (Fortbildungsunterlagen Fa. Fresenius Kabi, 2007; Com.Tec Gebrauchsanweisung, Fresenius HemoCare, Auflage 5/06.05).

Folgende Geräteeinstellung wurde während allen Studienapheresen verwendet:

Ertrag Einzel-/ Doppel-TK:	3,0 x 10 <sup>11</sup> PLT
Ertrag Dreifach-TK:	8,0 x 10 <sup>11</sup> PLT
Volumen Einzel-TK:	240 ml
ACD:RBC:	1:3,2
Koeffizient DN:	individuell eingestellt an jedem Gerät
Koeffizient SN:	individuell eingestellt an jedem Gerät
SN Zyklusvolumen.:	150 ml
Entnahme- und Rückfluss:	Kalkulation des Gerätes (Bestfluss) bzw. 60 ml/Min bei fünf Single Needle-Apheresen des Studienarm B
ACD:Blut:	Kalkulation des Gerätes (Bestfluss)

#### **3.2.4 Durchführung der Aphereseverfahren**

Die Vorbereitung, Durchführung und unmittelbare Überwachung des jeweiligen Aphereseverfahrens erfolgte unter ärztlicher Aufsicht durch entsprechend eingewiesene und geschulte Operatoren des Institutes für Klinische Hämostaseologie und Transfusionsmedizin.

Zur Vorbereitung des Zellseparators wurde das entsprechende Apherese-Set eingelegt. Nach Anschließen des Antikoagulanzen ACD-A sowie zusätzlich der Kochsalzlösung im Falle der Verwendung der Com.Tec wurde das Set zur Verdrängung der Luft automatisch gefüllt. Die aktuellen Spenderdaten (Körpergröße, Körpergewicht, Geschlecht, PLT- und Hämatokrit-Werte der letzten Apherese) wurden in das Spendermenü eingegeben und das jeweilige Sammelverfahren ausgewählt bzw. die gewünschten Zielwerte im Menü eingegeben.

Nach erfolgreicher Venenpunktion und Fixierung der Nadel wurde der Blutprobenbeutel mit mindestens 15 ml des initialen Blutvolumens gefüllt. Der Schlauch zum Blutprobenbeutel wurde permanent und hermetisch versiegelt, um die funktionelle Geschlossenheit des Schlauchsystems zu bewahren. Aus dem Blutprobenbeutel wurden die Blutproben zur Bestimmung des Blutbildes, der Blutgruppe, Infektionsparameter wie HIV, Hepatitis B und C, Syphilis und gegebenenfalls CMV in die entsprechenden Vakuumröhrchen entnommen.

Zur Durchführung der Einarm-Verfahren der Com.Tec wurde dem Spender zusätzlich eine Cuffmanschette am punktierten Oberarm angelegt.

Das Separationsprogramm wurde gestartet und die Separation von jetzt an automatisch durchgeführt.

Nach Messung des aktuellen Blutbildes wurden die Spenderwerte im Menü aktualisiert (ca. 5 bis 10 Minuten nach Separationsbeginn) und der Verfahrensablauf durch das Apheresesystem optimiert.

Mit Erreichen des zuvor definierten Zieles wurde die Separation automatisch beendet. Im Rahmen der Reinfusion wurden dem Spender die im Schlauchsystem verbliebenen Blutbestandteile zurückgegeben.

Bei Durchführung des Aphereseverfahrens mit dem Trima Accel-System wurden die Präparatebeutel anschließend permanent und hermetisch versiegelt und vom Schlauchsystem entfernt. Eine Probe des TKs wurde in eine 2,7 ml E-Monovette® (Ethylendiamintetraazetat-Phosphatpufferlösung, Rheomed GmbH, Köln/ Deutschland) entnommen.

Außerdem wurde eine Blutprobe zur Bestimmung des Blutbildes des Spenders nach der Spende nach Verwerfen von 7,5 ml Blut in eine 2,7 ml E-Monovette® entnommen und der Spender anschließend vom Apheresesystem diskonnektiert.

Das Apherese-Set wurde aus dem Zellseparator entnommen und die Verfahrenszusammenfassung dokumentiert.

Bei den Com.Tec-Verfahren wurde zuerst eine Blutprobe des Spenders nach Verwerfen von 7,5 ml in eine 2,7 ml E-Monovette® zur Messung des Blutbildes entnommen und der Spender vom Apheresesystem abgenommen.

Anschließend wurde das Thrombozytenkonzentrat entlüftet (Nachbereitung), die Präparatebeutel versiegelt und eine Probe des TKs zur Überprüfung des Ertrages in eine 2,7 ml E-Monovette® entnommen.

Schließlich wurde das Aphereseset aus dem Zellseparator entnommen und die Verfahrenszusammenfassung dokumentiert.

Die Thrombozytenkonzentrate wurden bis zum Transport in die Blutbank unter ständiger Agitation bei  $22 \pm 2$  °C gelagert.

Die Messungen der Blutbilder des Spenders vor und nach der Apherese, des PLT-Ertrages der Thrombozytenkonzentrate und der Restthrombozyten der Plasmapräparate erfolgten mit dem vollautomatischen Hämatologie-Analysator SF-3000 (Sysmex Europe GmbH, Norderstedt/ Deutschland) analog 3.4.5.

### 3.3 Hämapherese-Protokoll

#### 3.3.1 Spenderdaten

Folgende Spendercharakteristika wurden erfasst:

- Alter in vollständig beendeten Lebensjahren zum Zeitpunkt der zweiten Apherese
- Körpergewicht in kg
- Körpergröße in cm
- Body-mass-Index (BMI) in  $\text{kg}/\text{m}^2$
- Gesamtblutvolumen (GBV) in ml berechnet mit der Formel nach Nadler (Nadler SB et al., 1962):

*GBV (Männer)*

$$= 0,3669 \times (\text{Größe [m]})^3 + 0,03219 \times (\text{Gewicht [kg]}) + 0,6041$$

*GBV (Frauen)*

$$= 0,3561 \times (\text{Größe [m]})^3 + 0,03308 \times (\text{Gewicht [kg]}) + 0,1833$$

- Venenzugang
- Bestimmung des aktuellen Blutbildes vor und im Anschluss der Apherese analog zu 3.4.5 mit jeweiliger Erfassung der Vor- und Nachwerte des Hämatokrit (Hkt) [%], der Thrombozytenzahl [ $\times 1/\text{nl}$ ], des Mittleren Thrombozytenvolumens (MPV) [fl] und der Leukozytenzahl (WBC) [ $\times 1/\text{nl}$ ]

- Geräteangabe des kalkulierten Hämatokrit-Nachwertes [%] (nur bei der Trima Accel) sowie Geräteangabe des kalkulierten Thrombozyten-Nachwertes [ $\times 1/\text{nl}$ ] beider Geräte

### 3.3.2 Verfahrensinformationen

Nachstehende Angaben des jeweiligen Aphereseegerätes wurden erfasst:

- Kalkulierte Verfahrenszeit [Min]: Kalkulierte Zeit für die Sammlung nach Eingabe der aktuellen Spenderwerte
- Geräteangabe Verfahrenszeit [Min]: Angabe der Dauer des Verfahrens nach Separationsende
- Produziertes Konzentratvolumen [ml]
- Kalkulierter PLT-Ertrag [ $\times 10^{11}$ ]
- Verarbeitetes Blutvolumen [l]
- Gesamt-ACD-Verbrauch für die Separation [ml]
- ACD-Menge an den Spender [ml]

Zur Überprüfung der Angaben wurden folgende Daten zusätzlich manuell bestimmt:

- Verfahrenszeit [Min]: Mit einer Stoppuhr manuell gemessene Dauer des reinen Separationsverfahrens vom Start der Separation bis Erklingen des Signals des Separationsendes, ohne Blutrückführungszeit; angefangene Minuten wurden aufgerundet
- Blutrückführungszeit [Min]: ebenfalls mit der Stoppuhr gemessen
- Nachbereitungszeit [Min]: Bei der Com.Tec zusätzlich mit der Stoppuhr gemessene Zeit zum Entlüften des Thrombozytenkonzentrates
- Produziertes Konzentratvolumen [ml]: analog zu 3.4.2
- PLT-Konzentration des Thrombozytenkonzentrates [ $\times 1/\text{nl}$ ]: Messung der Konzentration unter Verwendung des vollautomatischen Hämatologie-Analysator SF-3000 (Sysmex Europe GmbH, Norderstedt/ Deutschland)
- PLT-Ertrag [ $\times 10^{11}$ ]: Berechnung der Gesamtzahl an Thrombozyten im hergestellten Konzentrat
- Gesamt-ACD-Verbrauch [ml]: Analog zu 3.4.2 wurde der verwendete ACD-Beutel vor und nach Abschluss der Apherese auf einer geeichten Waage gewogen und mithilfe eines Dichtekorrekturfaktors von 1,0232 kg/l das verbrauchte Volumen berechnet

- Kochsalz-Verbrauch [ml]: Zusätzlich bei Verwendung der Com.Tec Differenz des Kochsalz-Beutelgewichtes vor und nach Abschluss des Verfahrens; eine dichtebezogene Korrektur entfällt aufgrund der spezifischen Dichte von 1,0 kg/l

Zur besseren Vergleichbarkeit der beiden Apheresesysteme wurden außerdem folgende Angaben berechnet:

- Zeit für Standarddosis (time for standard dose, TSD) [Min]:

$$= \frac{\text{Gemessene Verfahrenszeit [Min]} \times \text{Ziel-PLT-Ertrag [x 10}^{11}\text{]}}{\text{Gemessener PLT-Ertrag [x 10}^{11}\text{]}}$$

Ziel-PLT-Ertrag: Studienarm A:  $6 \times 10^{11}$  PLT  
 Studienarm B:  $3 \times 10^{11}$  PLT  
 Studienarm C:  $8 \times 10^{11}$  PLT

- Sammlungsrate (collection rate, CR) [ $\times 10^{11}$  PLT/h]:

$$= \frac{\text{Gemessener PLT-Ertrag [x 10}^{11}\text{]} \times 60}{\text{Gemessene Verfahrenszeit [Min]}}$$

- Sammlungs-Effizienz (collection efficacy, CE) [%]:

$$= \frac{\text{Gemessener PLT-Ertrag [x 10}^{11}\text{]} \times 100}{\text{Verarbeitetes Blutvolumen [l]} \times \left( \frac{\text{PLT-Vorwert} + \text{PLT-Nachwert}}{2} \text{ [x 1/nl]} \right)}$$

- ACD-Infusionsrate (citrate infusion rate, CIR) [ml/Min/l]:

$$= \frac{\text{Gemessener ACD-Verbrauch [ml]}}{\text{Gemessene Verfahrenszeit [Min]} / \text{Gesamtblutvolumen [l]}}$$

Die Erfassung der Nebenwirkungen in Bezug auf Zitratreaktionen erfolgte mit folgender Einteilung in Grad 0 bis 5 (nach Bueno JL et al., 2005):

**Tab. 1 Einteilung der Zitratreaktionen**

	Grad	Spendereffekte
	0	Keine Effekte infolge der Zitratinfusion
Milde Reaktion	1	Parästhesien, metallischer Geschmack, Schüttelfrost oder Kältegefühl
	2	Entsprechende Symptome wie zuvor trotz Kalzium-Einnahme
Moderate Reaktion	3	Zittern, Schüttelfrost oder Übelkeit oder persistierende minderwertige Symptome nach Reduzierung der Zitratinfusionsrate
	4	Zusätzliche Kalziumtablette benötigt um die Symptome zu reduzieren oder Erbrechen und Krämpfe oder Bitte des Spenders das Verfahren zu beenden (außer Fälle, die nicht auf Hypokalzämie zurückzuführen sind).
Ernste Reaktion	5	Bewusstseinsverlust oder Krampfanfälle oder Arrhythmien oder andere schwerwiegende Symptome. Ausgeschlossen sind Fälle, die nicht auf Hypokalzämie zurückzuführen sind.

### 3.3.3 Operatorenkomfort

Stellvertretend zur Beurteilung des Komforts der Operatoren wurde die Anzahl der Alarme sowie die Art dieser Alarme und daraus resultierenden Interventionen registriert, unter anderem Ausschalten von Alarmen, verschiedene Flussmodifikationen oder Interventionen aufgrund von Nebenwirkungen und Zitratreaktionen des Spenders wie Kalzium-Applikation oder Veränderungen der Zitratinfusionsgabe.

### 3.3.4 Spenderkomfort

Im Anschluss an jede Apherese wurde ein standardisiertes Interview mit dem jeweiligen Spender zur subjektiven Beurteilung des Verfahrens durchgeführt.

Die Beantwortung untenstehender Fragen erfolgte mit folgender Bewertung:

1 = ausgezeichnet, 2 = gut, 3 = befriedigend, 4 = ungenügend, 5 = schlecht

- Wie bewerten Sie ihr allgemeines Wohlbefinden während der Spende?
- Wie empfanden Sie den Entnahmefluss?
- Wie empfanden Sie den Rückfluss?
- Haben Sie Nebenwirkungen wie Kribbeln im Mund, an den Extremitäten, am Thorax, Krämpfe oder Sonstiges empfunden? Falls ja, wie haben Sie diese ertragen?
- Wie bewerten Sie das Einarm-Verfahren im Vergleich zum Zweiarm-Verfahren? (im Anschluss an die zweite Apherese der Studienarme A und C)

Desweiteren wurde die Einordnung folgender Kriterien nach der relativen Wichtigkeit für den jeweiligen Spender erfragt:

Bewertung:

1 = sehr wichtig, 2 = wichtig, 3 = neutral, 4 = unwichtig

- Kurze Dauer des Verfahrens
- Verträglichkeit des Verfahrens
- Angenehme Flussgeschwindigkeiten
- Spende mit Einarm-Verfahren (nur im Anschluss an die zweite Apherese)

Im Anschluss an die zweite Apherese wurden die Spender außerdem nach ihrem bevorzugten Apheresegerät sowie der Begründung für die Entscheidung für das jeweilige System befragt.

### 3.4 Qualitätskontrolle

Zur Evaluierung der Viabilität und Funktionalität der Thrombozyten sowie zur Überprüfung der Anforderungen an die Qualität der hergestellten Thrombozyten- und Plasma-Produkte wurde eine standardisierte Qualitätskontrolle von jeweils 10 gepaarten Einzelprodukten jedes Studienarms durchgeführt. Dabei wurden je fünf Einzelprodukte jedes Aphereseegerätes der gleichen fünf Spender untersucht. In Studienarm C konnten nur vier gepaarte Datensätze erhoben werden. In Studienarm B lagen im Rahmen der Routinediagnostik zusätzliche Daten weiterer fünf mit der Com.Tec hergestellter Einzelprodukte vor, die für die Studie verwendet werden konnten.

Proben der Thrombozytenkonzentrate wurden unter sterilen Bedingungen am Tag der Apherese (Tag 0) sowie an Tag 5 und Tag 7 der Lagerung entnommen, Proben des Plasmas nur am Tag der Apherese (Tag 0). Da die Thrombozyten außerhalb des Blutbeutels nur relativ kurze Zeit voll funktionsfähig sind, wurden alle Versuche zeitnah zur Probenentnahme durchgeführt.

Die Thrombozytenkonzentrate wurden bei  $22 \pm 2$  °C unter ständiger Agitation über sieben Tage gelagert. Nach abschließender Entnahme der Blutkulturen (bei den Thrombozytenkonzentraten an Tag 7 bzw. bei den Plasmapräparaten (GFP) an Tag 0) wurde das jeweilige Blutprodukt bis zum Erhalt eines negativen Ergebnisses des Sterilnachweises im Kühlhaus bei 4 bis 8 °C aufbewahrt.

Im Rahmen der Qualitätskontrolle erfolgte die Analyse folgender Parameter:

- Konservenvolumen vor und nach der Probenentnahme (TK/ GFP)
- Visuelle Kontrolle des Konzentrates (nur TK)
- Thrombozytenzahl und Mittleres Thrombozytenvolumen (MPV) (nur TK)
- pH-Wert (nur TK)
- Restleukozyten (nur Tag 0) (TK/ GFP)
- Resterythrozyten (nur Tag 0) (TK/ GFP)
- Kollagen-induzierte Thrombozytenaggregation (nur TK)
- Thrombozytenaktivierung mittels CD62P (nur TK)
- Glucose-, Laktat- und Laktatdehydrogenase-Konzentration (nur TK)
- Zitratkonzentration (nur Tag 0) (TK/ GFP)
- Sterilität des Produktes (TK nur Tag 7, GFP Tag 0)
- Aktivität der Gerinnungsfaktoren V, VIII und XI (nur GFP)

### 3.4.1 Referenzwerte

#### Leukozytendepletiertes Thrombozytapheresekonzentrat:

**Tab. 2 Qualitätskontrollen für leukozytendepletiertes Thrombozytapheresekonzentrat (Richtlinien (BÄK), 2005; Fachinformation TK HOM, 2005; Fachinformation TK HOM bestrahlt, 2006)**

Prüfparameter TK	Prüfkriterien	Prüfzeitpunkt
Volumen	210 - 320 ml (gemäß Zulassung)	nach Herstellung
Thrombozytengehalt	$> 2 \times 10^{11}$ /Einheit	nach Herstellung und am Ende der Haltbarkeit
Restleukozyten	$< 1 \times 10^6$ /Einheit	nach Herstellung
Resterythrozyten	$< 3 \times 10^9$ /Einheit	nach Herstellung
pH-Wert bei $22^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$	6,5 - 7,4	am Ende der Haltbarkeit
Visuelle Kontrolle	Beutel unversehrt, „Swirling“, alle hergestellten Einheiten werden geprüft	alle hergestellten Einheiten werden am Ende der Haltbarkeit und vor Abgabe geprüft
Sterilität	steril	am Ende der Haltbarkeit

#### Gefrorenes Frischplasma (GFP):

**Tab. 3 Qualitätskontrollen für gefrorenes Frischplasma (Richtlinien (BÄK), 2005; Fachinformation GFP HOM, 2005)**

Prüfparameter GFP	Prüfkriterium	Prüfzeitpunkt
Volumen	180 - 220 ml (gemäß Zulassung)	nach Herstellung
Faktor VIII-Gehalt	$\geq 0,7$ U/ml (Pooltestung) $\geq 70$ % des Ausgangswertes (Einzelproben)	im ersten Monat nach Herstellung und am Ende der ermittelten Haltbarkeit
Restleukozyten	$< 1 \times 10^6$ /Einheit	nach Herstellung
Restthrombozyten	$< 50$ /nl bzw. $< 20$ /nl gemäß Zulassung	nach Herstellung
Resterythrozyten	$< 6$ /nl	nach Herstellung
Visuelle Kontrolle	unversehrt, keine sichtbaren Ausfällungen	alle hergestellten Einheiten werden vor dem Tiefrieren geprüft
Sterilität	steril	nach Herstellung oder während oder am Ende der ermittelten Haltbarkeit

### 3.4.2 Konzentratvolumen

Das Konzentratvolumen wurde jeweils vor und nach Entnahme der Proben bestimmt.

Hierzu wurde das jeweilige Konzentrat auf einer geeichten Waage (PB 5001, Mettler-Toledo GmbH, Gießen/ Deutschland) gewogen und aufgrund des Leergewichts des Beutels und der Dichte der Thrombozyten ( $\rho_{\text{PLT}} = 1,03$  g/ml) sowie des Plasmas ( $\rho_{\text{PL}} = 1,026$  g/ml) das Volumen des Beutelinhaltes nach folgender Gleichung berechnet:

$$\text{Konzentratvolumen [ml]} = \frac{\text{Konzentratgewicht [g]} - \text{Beutelleergewicht [g]}}{\text{Dichte [g/ml]}}$$

**Tab. 4 Tara Gewichte der Set-Bestandteile**

	<b>Trima Accel</b>	<b>Com.Tec</b>
TK-Sammelbeutel	33 g	46,5 g (inkl. 3 cm Schlauch)
Plasma-Sammelbeutel	34 g	29,1 g (inkl. 3 cm Schlauch)
Schlauch pro cm	0,079 g	0,083 g
Klemme	1,4 g	1,2 g
„Y-Verbindung“	0,8 g	-

### 3.4.3 Visuelle Kontrolle

Vor jeder Probenentnahme wurden die Konzentrate auf Unversehrtheit der Beutel, mögliche Aggregatbildung, sichtbare Ausfällungen und Verfärbungen (als möglicher Ausdruck einer bakteriellen Kontamination) kontrolliert.

Bei den Thrombozytenkonzentraten wurde außerdem das Swirling-Phänomen durch visuelle Examination gegen starkes Licht beurteilt. Die Einstufung erfolgte in Grad 3 (exzellent), 2 (gut), 1 (schlecht) und 0 (kein Swirling) (Wagner SJ et al., 1996).

### 3.4.4 Sterile Probenentnahme

Zur Durchführung der Qualitätskontrolle wurde jeweils ca. 10 bis 15 ml Probenmaterial unter sterilen Bedingungen aus dem Konzentrat entnommen.

Hierzu wurde ein Compoflex® Leerbeutelssystem (Fresenius HemoCare GmbH, Bad Homburg/ Deutschland) steril angeschweißt. Gewichtskontrolliert wurden ca. 10 bis 15 ml des Konzentrats nach Stripping und gutem Mischen in das Leerbeutelssystem überführt, anschließend das Konzentrat steril abgeschweißt und die Proben in Polypylenröhrchen gefüllt.

### 3.4.5 Thrombozytenzahl und Mittleres Thrombozytenvolumen

Zur Bestimmung der Zellzahl und des Differentialblutbildes wurde der vollautomatische Hämatologie-Analysator SF-3000 (Sysmex Europe GmbH, Norderstedt/ Deutschland) verwendet.

Mit der täglichen Einschaltoutine wurden zur internen Qualitätskontrolle Messungen mit dem Kontrollblut SF-CHECK (Sysmex Europe GmbH) durchgeführt. Die Analyse der jeweiligen Probe erfolgte im manuellen Modus mit einem Ansaugvolumen von ca. 170 µl.

Im Rahmen einer externen Qualitätskontrolle wurde beim Pilotprojekt „Blood Component Quality Monitoring, UK NEQAS for General Haematology“ die Validität der Messungen des automatischen Hämatologie-Analysators, insbesondere bei erhöhten Thrombozytenkonzentrationen bei Messung von Thrombozytenkonzentraten mehrfach erfolgreich nachgewiesen.

### 3.4.6 pH-Messung

Die Messung des pH-Wertes erfolgte mit dem pH-Meter MeterLab® PHM220 (Radiometer Analytical SAS, Villeurbanne/ Frankreich).

Zur Kalibrierung des pH-Meters wurden die Standardpufferlösungen pH 4,005 sowie pH 10,012 (IUPAC-Standardpufferlösungen pH 4,005 bzw. pH 10,012, Radiometer Analytical SAS) verwendet. Die Gültigkeit der Kalibrierung betrug jeweils 72 Stunden. Vor jeder Messung wurde eine Kontrollmessung mit der Standardpufferlösung pH 7,000 (IUPAC-Standard-Pufferlösung pH 7,000, Radiometer Analytical SAS) durchgeführt.

Die Messung des pH-Wertes der Proben erfolgte anschließend bei Raumtemperatur im manuellen Modus.

### 3.4.7 Restleukozyten

Die Auszählung der Restleukozyten in den leukozytenreduzierten Blutpräparaten erfolgte mit dem Durchflusszytometer BD FACScan™ (BD Biosciences, Heidelberg/ Deutschland) unter Verwendung des BD Leucocount™-Kit (BD Biosciences).

Dieses Benchtop-Zytometer verwendet einen Argon-Ionen-Laser mit einer Wellenlänge von 488 nm. Die Datenerhebung bestand aus einer Messung von Vorwärtsstreulicht (FSC), Seitwärtsstreulicht (SSC) und bis zu zwei Fluoreszenzsignalen der Fluorochrome Fluorescein-Isothiocyanat (FITC) und R-Phycoerythrin (PE).

Die Justierung der Instrumenteneinstellung und Überprüfung der Instrumentenempfindlichkeit erfolgte einmal wöchentlich mit der Messung standardisierter herstellereinspezifischer Mikropartikel CALIBRITE™-Beads Zweifarben-Set (BD Biosciences) mit dem automatischen Software-Programm FACSComp™ (Version 4.2, BD Biosciences).

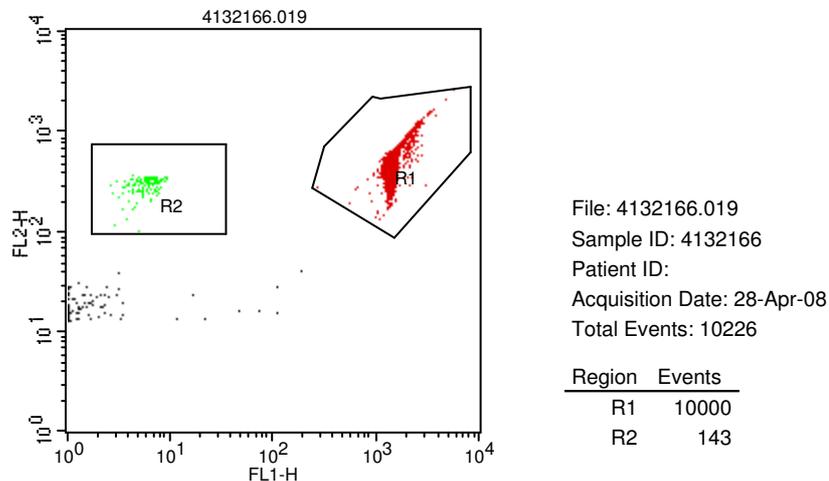
Zur Färbung der Zellen wurden 100 µl der gut gemischten Probe mit 400 µl BD Leucocount™-Reagenz in ein entsprechendes BD Trucount™-Röhrchen (BD Biosciences) gegeben und vorsichtig auf dem Vortex-Mischer gemischt. Nach einer Inkubationszeit von fünf Minuten im Dunkeln bei Raumtemperatur wurden die Proben bis zur Messung innerhalb von 24 Stunden nach Ansetzen an einem dunklen Ort aufbewahrt.

Das BD Leucocount™-Reagenz enthält Detergenzlösung, die für die Durchlässigkeit der Zellmembran für den Farbstoff Propidiumjodid sorgt. Propidiumjodid färbt spezifisch Nukleinsäuren und somit nur kernhaltige Zellen an.

Verschiedene Puffer stabilisieren die gefärbte Probe. Außerdem ist im Reagenz 0,1 % Natriumazid sowie RNase zum enzymatischen Abbau von RNA in Retikulozyten und Thrombozyten enthalten.

Die BD Trucount™-Röhrchen enthalten als internen Standard für die Berechnung der absoluten Anzahl der Restleukozyten ein lyophilisiertes Pellet aus 4,2-µm-Fluoreszenz-Beads.

Die durchflusszytometrische Analyse erfolgte unter Anwendung der BD CellQuest™ ProSoftware (BD Biosciences) zur Datenerfassung und -analyse. Zur Probenerfassung wurde als Vorlage ein Punktwolkendiagramm der Fluoreszenzsignale FL1 gegen FL2 erstellt und die Regionen R1 für die Trucount-Beads und R2 für die Restleukozyten definiert (siehe Abb. 4).



**Abb. 4 Punktwolkendiagramm FL1 gegen FL2**

Zur Analyse der Probe wurde die Regionenstatistik erstellt. Die Datenakquisition wurde bei Erfassung von 10 000 Ereignissen in Region R1 beendet. Die Angabe der absoluten Anzahl der Leukozyten pro µl wurde nach folgender Formel automatisch berechnet und angegeben:

$$= \frac{\text{Leukozytenereignisse (R2)}}{\text{Beadereignisse (R1)}} \times \frac{\text{Chargenspezifische Partikelanzahl pro Röhrchen}}{\text{Volumen der gefärbten Probe (µl)}}$$

Durch Multiplikation dieses Ergebnisses mit dem Konservenvolumen (in µl) wurde die Gesamtzahl der Restleukozyten der jeweiligen Einheit bestimmt.

Zur Überprüfung der Genauigkeit und Präzision der Messmethode wurde an jedem Messtag vor der Messung der eigentlichen Probe eine BD Leucocount PLT-Kontrolle (BD Biosciences) analysiert (Trainingsvorbereitung BD Biosciences, 2001).

### 3.4.8 Resterythrozyten

Die Anzahl der Resterythrozyten im Thrombozytenkonzentrat und im Plasmapräparat wurde mittels manueller Zählung in der Neubauer-Kammer ermittelt.

Hierzu wurden 50 µl der Probe mit 450 µl Hayem'scher Lösung (Apotheke in den Universitätskliniken des Saarlandes, Homburg/ Saar) im Verhältnis 1:10 verdünnt, gut gemischt und für 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert.

Anschließend wurde die Neubauer-Zählkammer (Tiefe 0,1 mm, Fläche 1/400 mm<sup>2</sup> [kleines Quadrat], 1/16 mm<sup>2</sup> [Gruppenquadrat], 1/9 mm<sup>2</sup> [großes Quadrat]) mit ca. 10 µl gefüllt und nach 10 minütiger Sedimentation in einer feuchten Kammer bei 400-facher Vergrößerung (40er Objektiv) mit dem Mikroskop Laborlux K (Ernst Leitz Wetzlar GmbH, Wetzlar/ Deutschland) ausgezählt. Ausgezählt wurden vier Gruppenquadranten. Die Auswertung erfolgte nach folgender Gleichung:

$$\text{Erythrozyten [1/}\mu\text{l]} = \frac{\text{Gesamtzahl der gezählten Erythrozyten} \times \text{Verdünnungsfaktor}}{\text{Ausgezählte Fläche [mm}^2\text{]} \times \text{Kammertiefe [mm]}}$$

Verdünnungsfaktor: 10x  
 Ausgezählte Fläche: 4 mm<sup>2</sup>  
 Kammertiefe: 0,1 mm

Die Gesamtzahl der Resterythrozyten der jeweiligen Einheit wurde durch Multiplikation mit dem Konzentratvolumen (in µl) bestimmt.

### 3.4.9 Kollagen-induzierte Thrombozytenaggregation

Die Analyse der Kollagen-induzierten mittelbaren Thrombozyten-Aggregationsfähigkeit nach Born erfolgte unter Verwendung eines Labor-APACT-Aggregometers (Rolf Greiner BioChemica, Flacht/ Deutschland) mit folgenden Grundeinstellungen: Messzeitbegrenzung 12 Minuten, Papiervorschub 30 mm/Min, Dämpfung 2, PRP-Wert 0 %, PPP-Wert 100 %, Mixerzahl 1000 U/Min (Born GVR et al., 1963).

Als Untersuchungsmaterial wurden ca. 1,5 ml Thrombozytenkonzentrat bei ca. 2700 g über 15 bis 20 Minuten bei 23 °C zentrifugiert (Hermle Z360K, Hermle Labortechnik GmbH, Wehingen/ Deutschland), um plättchenarmes Plasma zu erhalten. Das plättchenreiche Plasma wurde mit Hilfe des plättchenarmen Plasmas auf eine Konzentration von 300 /nl eingestellt. 50 µl der Kollagenreagenz Horm<sup>®</sup> Suspension (NYCOMED Pharma GmbH, Unterschleißheim/ Deutschland) wurden mit 500 µl der im Untersuchungskit enthaltenen SKF-Lösung auf eine Konzentration von 1:10 verdünnt.

Das Kollagenreagenz enthält 1 mg/ml native Kollagenfibrillen aus Pferdesehnen in isotoner Glucoselösung mit Parabenen als Konservierungsmittel. Die SKF-Lösung stellt eine isotone Glucoselösung (pH 2,7-2,9) dar.

Die Analyse der Proben wurde im Thermoblock bei einer Temperatur von 37 °C ausgeführt. 450 µl plättchenarmes Plasma wurden zur Speicherung des Trübungswertes als 100 % Aggregation verwendet. Anschließend wurden 450 µl plättchenreiches Plasma als 0 % Aggregation gespeichert. Durch Zugabe von 50 µl verdünnter Kollagen-Induktorlösung wurde die Reaktion gestartet.

Die Änderung der Absorption von plättchenreichem Plasma bei der Aggregation der Thrombozyten unter Einfluss des Aggregationsagonisten Kollagen wurde photooptisch bei 740 nm registriert und mit einem APACT Printer-Plotter (Rolf Greiner Bio-Chemica) aufgezeichnet. Angegeben wurde die bei der Messung maximal erreichte Aggregation in Prozent der theoretisch maximal möglichen Aggregation.

#### **3.4.10 Bestimmung der Thrombozytenaktivierung mittels CD62P**

Die Bestimmung der Aktivierung der Thrombozyten erfolgte durch Messung der Oberflächendichte von Granulainhaltsstoffen der  $\alpha$ -Granula der Thrombozyten mittels Antigen-Antikörper-Reaktion am Durchflusszytometer BD FACScan™ (BD Biosciences).

Die allgemeinen Hinweise zur Verwendung und Instrumenteneinstellung des Zytometers wurden bereits unter 3.4.7 ausführlich beschrieben.

Das CD42a-Antigen (Glykoprotein IX) ist ein 17-22-kDa Glykoprotein der Thrombozytenmembran und gehört zur Familie der Leuzinreichen Glykoproteine. Gemeinsam mit Glykoprotein Ib und Glykoprotein V bildet es über nichtkovalente Bindungen einen Komplex, der für die normale Thrombozyten-Adhäsion und -Aktivierung essentiell ist. Dieser Komplex besitzt Bindungsstellen für den von-Willebrand-Faktor und für Thrombin und dient als Befestigung der Plasmamembran an das Zytoskelett.

Das CD42a-Antigen wird auf ruhenden und aktivierten Thrombozyten sowie auf Megakaryozyten exprimiert und dient daher zur Identifikation der Gesamtzahl an Thrombozyten in der Probe (Hilberg T, 2005).

Das CD62P-Antigen (P-Selectin, platelet activation-dependent granule-external membrane protein PADGEM, granule membrane protein GMP-140) ist ein 140-kDa Polypeptid, das zur Familie der Selektine gehört. Als monomeres integrales Membranprotein kommt das Antigen in den  $\alpha$ -Granula ruhender Thrombozyten, Weibel-Palade-Körperchen von Endothelzellen und Megakaryozyten vor.

Nach Thrombozytenaktivierung und Sekretion der  $\alpha$ -Granula fusioniert die  $\alpha$ -Granula-Membran mit der äußeren Plasmamembran und das CD62P-Antigen wird damit auf der Oberfläche der aktivierten Thrombozyten exprimiert. Nach Zugabe eines Fluoreszenz-markierten CD62P-Antikörpers bindet dieser an das CD62P-Antigen. Dieser Antigen-Antikörper-Komplex kann mit dem Durchflusszytometer erfasst werden (Stenberg PE et al., 1985; Metzelaar MJ et al., 1990; Patel KD et al., 2002).

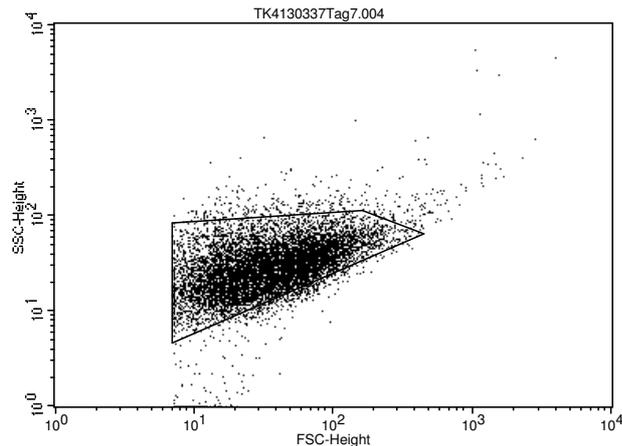
Hierzu wurden 100  $\mu$ l Thrombozytenkonzentrat mit 250  $\mu$ l EDTA-Formaldehyd-Phosphatpufferlösung (F-Monovette<sup>®</sup>, Rheomed GmbH, Köln/ Deutschland) fixiert.

Bei einer Thrombozytenzahl von ca. 1000 /nl wurden folgende Markierungen mit monoklonalen Antikörpern der Maus vom Typ IgG<sub>1</sub>, die mit Fluorescein-Isothiocyanat (FITC) bzw. R-Phycoerythrin (PE) beladen sind, in Falcon<sup>®</sup>-Röhrchen (BD Labware, Franklin Lakes/ USA) vorgenommen:

1. Leerwert:  
15  $\mu$ l fixierte Probe
2. Zur Optimierung der Fluoreszenzeinstellung:
  - a) 15  $\mu$ l fixierte Probe + 20  $\mu$ l CD42b PE-Antikörper (IOTest<sup>®</sup> CD42b-PE, Immunotech, Beckman Coulter Company, Marseille/ Frankreich)
  - b) 5  $\mu$ l fixierte Probe + 20  $\mu$ l CD42a FITC-Antikörper (BD Biosciences)
3. Testansatz:  
5  $\mu$ l fixierte Probe + 20  $\mu$ l CD62 PE-Antikörper (BD Biosciences) +  
20  $\mu$ l CD42a FITC-Antikörper (BD Biosciences)

Nach Vortexen wurden die Ansätze 15 bis 20 Minuten bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubiert. Durch Zugabe von jeweils 1 ml CellWash (BD Biosciences), Zentrifugation bei 700 g und 23 °C für 5 Minuten (Hermle Z360K, Hermle Labortechnik GmbH), anschließendem Absaugen des Überstandes und Resuspension des Sediments mit 250  $\mu$ l CellWash wurden die Proben gewaschen.

Die durchflusszytometrische Analyse folgte unter Anwendung der BD CellQuest<sup>™</sup> ProSoftware (BD Biosciences). Zur Überprüfung der Geräteeinstellung wurde zuerst der Leerwert gemessen. In der FSC/SSC-Darstellung wurde ein Gate um die gezielt zu untersuchende Population gezogen und damit der Grenzbereich zur Analyse der Zellereignisse dargestellt (siehe Abb. 5).



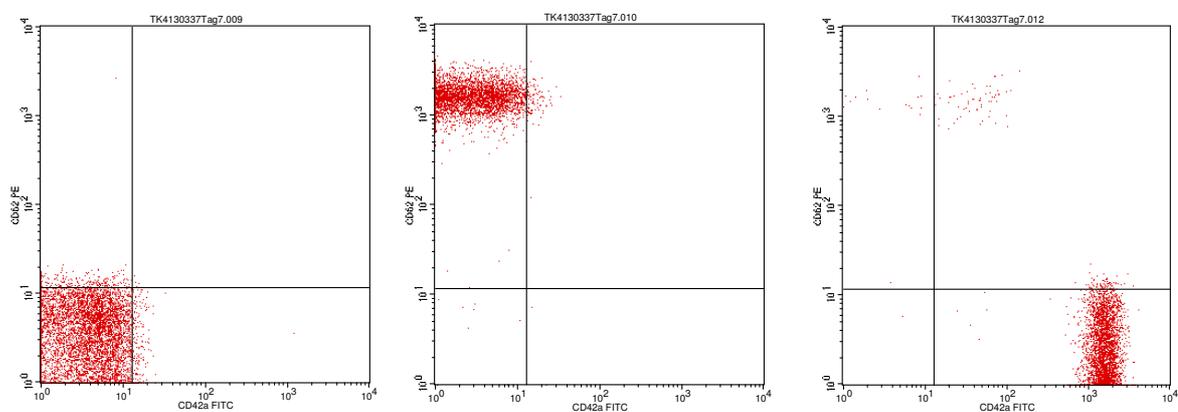
**Abb. 5 FSC/SSC-Darstellung des Leerwertes**

Der Leerwert wurde anschließend in der Punktwolkendarstellung von CD42a FITC/CD62 PE zum Setzen der Quadrantenmarker verwendet.

Der Quadrantenmarker teilt diesen zweiparametrischen Plot in vier Sektionen, um die darin jeweils negative, einzeln positive oder doppelt positive Population statistisch (logarithmisch) zu erfassen.

Der untere linke Quadrant (LL, lower left) zeigt Ereignisse, die für beide Parameter negativ sind, d.h. den Leerwert. Der obere linke Quadrant (UL, upper left) enthält Ereignisse, die für den Parameter der y-Achse, d.h. PE, positiv sind. Der untere rechte Quadrant (LR, lower right) enthält die für den Parameter der x-Achse, d.h. FITC, positiven Ereignisse. Der obere rechte Quadrant (UR, upper right) enthält Ereignisse, die für beide Parameter positiv sind, d.h. PE und FITC (Trainingsvorbereitung BD Biosciences, 2001).

Mit Hilfe der CD42-markierten Ansätze und den entsprechenden Punktwolken von PE, d.h. oberer linker Quadrant, und FITC, d.h. unterer linker Quadrant, wurden die Fluoreszenzen optimal eingestellt (siehe Abb. 6).



**Abb. 6 Punktwolkendarstellung des Leerwertes und der CD42-markierten Ansätze CD42a-FITC und CD42b-PE mit Quadrantenmarker**

Nach Messung des Testansatzes wurde die relative CD62P-Expression auf Thrombozyten im Messprogramm automatisch nach folgender Formel berechnet:

$$CD62P [\%] = \frac{UR}{(UR + LR)} \times 100$$

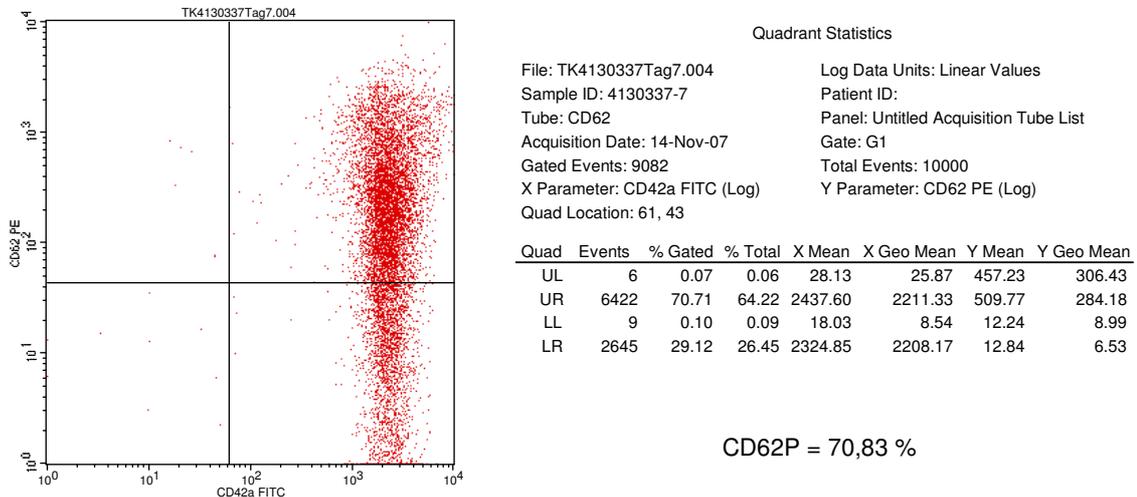


Abb. 7 Messung der CD62P Aktivität des Testansatzes

### 3.4.11 Glucose, Laktat und Laktatdehydrogenase

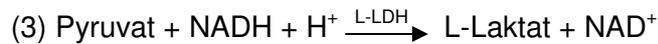
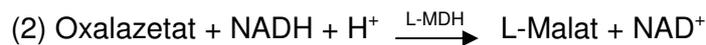
Die Bestimmungen der Konzentrationen an Glucose, Laktat und Laktatdehydrogenase im Thrombozytenkonzentrat wurden im beteiligten Zentrallaboratorium des Universitätsklinikums des Saarlandes durchgeführt.

### 3.4.12 Zitrat

Zur Bestimmung der Zitratkonzentration im Produkt wurde jeweils 500 µl Probelösung in einem Eppendorfgefäß bei -30 °C eingefroren. Nach Abschluss der Sammlung aller Proben wurden diese mit dem Citronensäure UV-Test (R-Biopharm AG, Darmstadt/ Deutschland) unter Verwendung der Eppendorf Photometereinheit MKE 5081 (Eppendorf AG, Hamburg/ Deutschland) analysiert.

Zitrat wird durch das Enzym Zitrat-Lyase (CL) in Oxalazetat und Azetat überführt. Oxalazetat und dessen Decarboxylierungsprodukt Pyruvat werden wiederum durch reduziertes Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NADH) in Gegenwart der Enzyme L-Malat-Dehydrogenase (L-MDH) und L-Laktat-Dehydrogenase (L-LDH) zu L-Malat bzw. L-Laktat reduziert.

Der Verbrauch an NADH ist äquivalent zur Zitrat-Menge und kann aufgrund seiner Absorption bei 334, 340 oder 365 nm gemessen werden (Moellering H et al., 1966).



Als Reagenzien wurden die in der Test-Kombination vorhandenen Lösungen mit folgender Zusammensetzung verwendet:

- Lösung 1: ca. 1,4 g Lyophilisat aus: Glycylglycinpuffer, pH ca. 7,8; L-Malat-Dehydrogenase, ca. 136 U; L-Laktat-Dehydrogenase, ca. 280 U; NADH, ca. 5 mg;  
Der Inhalt der Lösung 1 wurde mit 12 ml bidestilliertem Wasser gelöst.
- Lösung 2: ca. 50 mg Lyophilisat Zitrat-Lyase, ca. 12 U;  
Der Inhalt der Lösung 2 wurde mit 0,3 ml bidestilliertem Wasser gelöst.

Die benötigten Proben wurden aufgetaut. Folgende Ansätze wurden in Küvetten pipetiert:

- Leerwert: 0,5 ml Lösung 1 + 1,0 ml bidestilliertes Wasser
- Probe: 0,5 ml Lösung 1 + 0,1 ml Probelösung + 0,9 ml bidestilliertes Wasser.

Die Ansätze wurden gemischt und nach 5 Minuten die Extinktionen der Lösungen im Photometer bei Hg 344 nm gemessen (E1). Durch Zugabe von jeweils 0,01 ml Lösung 2 und anschließendem gutem Mischen wurde die Reaktion gestartet. Nach Ablauf der Reaktion (ca. 5 Minuten) wurden die Extinktionen erneut gemessen (E2).

Zur Qualitätskontrolle wurde die in der Testkombination mitgelieferte Citronensäure-Testkontroll-Lösung verwendet und analog zur Probelösung eingesetzt.

Die Berechnung des Zitratgehaltes erfolgte nach den folgenden Gleichungen:

$$\Delta E = (E1 - E2)_{\text{Probe}} - (E1 - E2)_{\text{Leerwert}}$$

$$\text{Zitratkonzentration [g/l]} = \frac{V \times MG}{\varepsilon \times d \times v \times 1000} \times \Delta E \times F$$

V = Testvolumen = 1,5 ml

v = Probevolumen = 0,1 ml

MG = Molekulargewicht der zu bestimmenden Substanz = 189,1 g/mol

d = Schichtdicke = 1,0 cm

$\varepsilon$  = Extinktionskoeffizient von NADH bei Hg 344 nm = 6,18 l x mmol<sup>-1</sup> x cm<sup>-1</sup>

F = Verdünnungsfaktor = 10x

#### **3.4.13 Sterilität der Produkte**

Die anaeroben und aeroben Bakterienkulturen wurden mit BD BACTEC™ PLUS Aerobic/F und PLUS Anaerobic/F Kulturfläschchen Casein-Soja-Pepton-Bouillon (BD Biosciences) durch Mitarbeiter des Qualitätskontrolllabors des Institutes für Klinische Hämostaseologie und Transfusionsmedizin angelegt.

Die beimpften Kulturflaschen wurden zur Kultivierung und Analyse an das Institut für Mikrobiologie und Hygiene des Universitätsklinikums des Saarlandes überführt. Das jeweilige Konzentrat wurde bis zum Erhalt des Ergebnisses im Kühlhaus bei 4 bis 8 °C gelagert, um bei eventuellem Keimwachstum gegebenenfalls eine Kontrollprobe entnehmen zu können und iatrogene Kontamination auszuschließen.

#### **3.4.14 Faktorenbestimmung F.V, F.VIII und F.XI**

Die Aktivität der Gerinnungsfaktoren V, VIII und XI wurde im Rahmen der Routinediagnostik durch die Mitarbeiter des Qualitätskontrolllabors des Institutes für Klinische Hämostaseologie und Transfusionsmedizin bestimmt.

Hierzu wurde jeweils ca. 4 ml Plasma direkt nach der Herstellung bei -30 °C eingefroren und im Laufe der kommenden 8 Tage unter Verwendung des Gerinnungsautomat BCS (Behring Coagulation System, Dade Behring Marburg GmbH, Marburg/ Deutschland) analysiert.

### **3.5 Empfänger**

#### **3.5.1 Patientenkollektiv und Transfusion**

Im Rahmen des Studienarms C wurden jeweils zwei Konzentrate jeder Dreifachthrombozytapherese (n = 17) zur Beurteilung der klinischen Effektivität an stationäre Patienten (n = 15) der Klinik für Innere Medizin I des Universitätsklinikums des Saarlandes transfundiert.

Die detaillierte Patientendarstellung ist in folgender Tabelle dargestellt:

Tab. 5 Patientencharakteristika

Patientennummer	Geschlecht	Alter [Jahre]	Körperoberfläche [m <sup>2</sup> ]	Diagnose
1	Männlich	60	1,72	Morbus Hodgkin Stadium IIIB
2	Weiblich	69	1,56	Akute Myeloische Leukämie
3	Männlich	57	1,68 1,71 1,76	Angioimmunoblastisches T-Zell-Lymphom Stadium IVEB, Zustand nach autologer Knochenmarktransplantation
4	Männlich	69	1,87	Mantelzell-Lymphom Stadium IVB
5	Männlich	64	1,83	Akute Myeloische Leukämie
6	Weiblich	46	1,70	Common-B-Akute Lymphatische Leukämie
7	Männlich	35	2,06	Akute Lymphatische Leukämie
8	Männlich	67	1,81	Mantelzell-Lymphom Stadium IVB, Zustand nach Hemikolektomie rechts bei Kolonkarzinom (2005)
9	Männlich	37	2,28	Akute Myeloische Leukämie
10	Weiblich	67	2,13	Haarzelleukämie
11	Männlich	45	1,77	Morbus Hodgkin
12	Weiblich	60	1,77	Akute Graft-versus-Host-Reaktion bei Prä-B-Akuter Lymphatischer Leukämie
13	Männlich	66	1,65	Chronische Lymphatische Leukämie
14	Männlich	61	1,76	B-lymphoblastisches Non-Hodgkin-Lymphom
15	Männlich	68	1,96	Idiopathische Myelofibrose

Die Freigabe der Präparate erfolgte nach Bestätigung der Einhaltung der Anforderungen folgender Laboruntersuchungen, die an Blutproben der Blutspender im Rahmen der Thrombozytenspende durchgeführt wurden:

Tab. 6 Laboruntersuchungen vor Freigabe der Spende (Ergänzungen Richtlinien (BÄK), 2007)

Parameter	Anforderungen
Blutgruppenbestimmung: ABO, Rhesusformel	bestimmt
Anti-HIV-1/ -2-Antikörper	negativ
Anti-HCV-Antikörper	negativ
HBs-Antigen	negativ
Anti-HBc	negativ
HCV-Genom	negativ
HIV-1-Genom	negativ
Antikörper gegen Treponema pallidum	negativ
Antikörpersuchtest	keine klinisch relevanten Antikörper nachweisbar

Die Ausgabe der Thrombozytenkonzentrate erfolgte nach schriftlicher ärztlicher Anforderung möglichst zeitnah zur Herstellung des Präparates.

Die Thrombozytenkonzentrate wurden in der Regel ABO-kompatibel und unter Berücksichtigung des Merkmals D übertragen. Zur Vermeidung einer transfusionsassoziierten Graft-versus-Host-Reaktion wurden die Thrombozytenkonzentrate gegebenenfalls vor Ausgabe zur Transfusion mit mindestens 25 Gy über 850 Sekunden bestrahlt. Die Transfusion erfolgte unverzüglich nach Auslieferung durch den anfordernden Arzt, in der Regel über ein entsprechend normiertes Transfusionsgerät mit Standardfilter (Porengröße 170 bis 230 µm), möglichst über einen eigenen venösen Zugang.

### 3.5.2 Korrigiertes Inkrement

Zur Beurteilung der Wirksamkeit der Transfusion des jeweiligen Thrombozytenkonzentrates wurde der Thrombozytenanstieg im peripherem Blut des Empfängers nach Gabe des TKs, das sogenannte Inkrement, bestimmt. Aufgrund der Abhängigkeit des Inkrements vom Blutvolumen des Patienten und der Anzahl der übertragenden Thrombozyten wurde es um die folgenden Größen korrigiert (Querschnitts-Leitlinien (BÄK), 2008; Verbraecken J et al., 2006):

$$\text{Inkrement [1/nl]} = \text{PLT-Nachwert} - \text{PLT-Vorwert [x 1/nl]}$$

$$\text{Körperoberfläche [m}^2\text{]} = \sqrt{\frac{\text{Körpergewicht [kg]} \times \text{Körpergröße [cm]}}{3600}}$$

$$\text{Korrigiertes Inkrement (CCI)} = \frac{\text{Inkrement [1/nl]} \times \text{Körperoberfläche [m}^2\text{]}}{\text{Anzahl transfundierter Thrombozyten [x 10}^{11}\text{]}}$$

Dieses sogenannte korrigierte Inkrement wurde eine Stunde (CCI<sub>1h</sub>) sowie 18 bis 24 Stunden (CCI<sub>24h</sub>) nach der Thrombozytentransfusion bestimmt. Ein fehlender Anstieg des korrigierten Inkrements (CCI<sub>1h</sub> < 7,5 bzw. CCI<sub>24h</sub> < 5) wurde als Refraktärzustand bezeichnet (Querschnitts-Leitlinien (BÄK), 2008; Rebullà P, 1994).

### 3.6 Statistische Analyse

Die statistische Auswertung der erhobenen Daten erfolgte mit der kommerziell erwerblichen Software SPSS 14.0 für Windows (Statistical Package for the Social Sciences, Version 14.0.1, SPSS Inc., 1989-2005).

Ein Überblick über die angewandten statistischen Tests und die grafische Darstellung ist in Tabelle 7 dargestellt. Die Überprüfung auf Gauß'sche Normalverteilung der quantitativen Daten wurde mit Hilfe des Kolmogorov-Smirnov-Tests vorgenommen.

Zur statistischen Analyse kamen sowohl parametrische (t-Test bei gepaarten bzw. unabhängigen Stichproben) als auch nicht-parametrische Tests (Wilcoxon-Test bzw. Mann-Whitney-U-Test) zum Einsatz. Die Korrelation der qualitativen Daten wurde mittels Chi-Quadrat-Test nach Pearson überprüft.

Als Signifikanzniveau wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p \leq 0,05$  betrachtet.

Hierbei ergab sich folgende Unterteilung:

$0,01 < p \leq 0,05$  schwach signifikant (<sup>S</sup>)

$0,001 < p \leq 0,01$  moderat signifikant (<sup>M</sup>)

$p \leq 0,001$  hoch signifikant (<sup>H</sup>)

**Tab. 7 Überblick über die Methoden der statistischen Analyse und Darstellung der Daten**

	Parameter	n	Parametrische Tests	Nichtparametrische Tests	Grafische Darstellung
<b>Studienarm A</b>	Spendercharakteristika	15	t-Test bei gepaarten Stichproben	-	-
	Verfahrensdaten und Gerätegenauigkeit	15	t-Test bei gepaarten Stichproben	Wilcoxon-Test	Boxplots
	Operatoren- und Spenderkomfort	15	t-Test bei gepaarten Stichproben	Chi-Quadrat-Test nach Pearson	Balkendiagramm
	Qualitätskontrolle	5	t-Test bei gepaarten Stichproben	Wilcoxon-Test	Linien- diagramme
<b>Studienarm B</b>	B.1 Spendercharakteristika	5	t-Test bei gepaarten Stichproben	-	-
	B.1 Verfahrensdaten und Gerätegenauigkeit	5	t-Test bei gepaarten Stichproben	Wilcoxon-Test	Boxplots
	B.1 Operatoren- und Spenderkomfort	5	t-Test bei gepaarten Stichproben	Chi-Quadrat-Test nach Pearson	-
	B.2 Spendercharakteristika	5	t-Test bei gepaarten Stichproben	-	-
	B.2 Verfahrensdaten und Gerätegenauigkeit	5	t-Test bei gepaarten Stichproben	Wilcoxon-Test	Boxplots
	B.2 Operatoren- und Spenderkomfort	5	t-Test bei gepaarten Stichproben	Chi-Quadrat-Test nach Pearson	-
	Qualitätskontrolle Thrombozytenkonzentrate Trima Accel vs. Com.Tec 60 ml/Min	5	t-Test bei ungepaarten Stichproben (T vs. C) t-Test bei gepaarten Stichproben (Tag 0 vs. 5 vs. 7)	Mann-Whitney-U-Test Wilcoxon-Test	Linien- diagramme
	Qualitätskontrolle Thrombozytenkonzentrate Com.Tec 60 ml/Min vs. Standardfluss	5	t-Test bei ungepaarten Stichproben	-	-
	Qualitätskontrolle Plasma- produkte Trima Accel vs. Com.Tec 60 ml/Min	5	t-Test bei ungepaarten Stichproben	Mann-Whitney-U-Test	-
Qualitätskontrolle Plasma- produkte Com.Tec 60 ml/Min vs. Standardfluss	5	t-Test bei ungepaarten Stichproben	-t	-	
<b>Studienarm C</b>	Spendercharakteristika	4	t-Test bei gepaarten Stichproben	-	-
	Verfahrensdaten und Gerätegenauigkeit	4	t-Test bei gepaarten Stichproben	Wilcoxon-Test	Boxplots
	Operatoren- und Spenderkomfort	4	t-Test bei gepaarten Stichproben	Chi-Quadrat-Test nach Pearson	-
	Qualitätskontrolle	4	t-Test bei gepaarten Stichproben	Wilcoxon-Test	-
	Transfusion der Dreifach-Thrombozytenkonzentrate	7 T, 10 C	t-Test bei ungepaarten Stichproben	Mann-Whitney-U-Test	-

Außerdem wurde eine deskriptive Statistik ausgearbeitet. Für die tabellarische Auflistung und grafische Darstellung im Ergebnisteil wurde der Mittelwert (MW) sowie gegebenenfalls die Standardabweichung (SD), das Minimum (Min.) und das Maximum (Max.) oder die Summe der einzelnen Werte verwendet.

Die Darstellung der Verteilung einer Größe erfolgte mit Box-Whiskers-Plots. Dabei stellte die Box den Interquartilsbereich (IQR 25 % bis 75 %) dar mit strichförmiger Angabe des Median. Werte, die maximal  $1,5 \times \text{IQR}$  über oder unter der Box liegen, bildeten Linien. Ausreißer, d.h. Werte  $> 1,5 \times \text{IQR}$  und  $< 3 \times \text{IQR}$  wurden einzeln als Kreis eingezeichnet. Extremwerte mit  $> 3 \times \text{IQR}$  von der Box entfernt wurden durch Sterne markiert.

Der Verlauf der Parameter der Qualitätskontrollen über die Lagerungstage 0, 5 und 7 wurde mit Liniendiagrammen dargestellt. Die Markierungen stellen jeweils den Mittelwert dar.

### 3.7 Kosteneffizienz

Zur Ermittlung der Kosten zur Herstellung der Thrombozytenkonzentrate wurden als Daten die Zeitdauer des Aphereseverfahrens, Personalkosten sowie Angaben über Materialkosten, Kosten der ärztlichen Untersuchung, Aufwandsentschädigung des Spenders und Kosten der Infektionsserologie erfasst.

Die zeitliche Dauer des Aphereseverfahrens umfasst folgende Aspekte:

- die Vorbereitung des Aphereseegerätes und des Spenders,
- die Durchführung des Sammelverfahrens,
- die Zeit für die Blutrückführung zum Spender
- sowie den Zeitbedarf zur Abnahme des Spenders, zur Nachbereitung der gewonnenen Produkte für die Lagerung und zum Entladen des Aphereseegerätes.

Die Verfahrenszeit und Blutrückführungszeit sowie die Nachbereitungszeit zum Entlüften der TK der Com.Tec wurden manuell chronographisch bestimmt. Alle weiteren Zeitangaben erfolgten durch die Hersteller des jeweiligen Aphereseegerätes (siehe Tab. 8).

**Tab. 8 Zeitbedarf zur Durchführung der Apheresen**

	<b>Trima Accel</b>	<b>Com.Tec</b>
Vorbereitung des Aphereseverfahrens	- Aufrüsten: 2 Minuten - Entlüften: 1,5 Minuten - Selbsttest: 0,5 Minuten - ACD-Anschluss: 1 Minute	- Aufrüsten: DN 3 Minuten SN 4 Minuten - Füllen: 6 Minuten
Spenderpunktion	3 - 4 Minuten	5 Minuten
Verfahrenszeit	chronographisch gemessen	chronographisch gemessen
Blutrückführungszeit	chronographisch gemessen	chronographisch gemessen
Spenderabnahme	3 - 5 Minuten	3 - 5 Minuten
Nachbereitungszeit der TK	nur in Studienarm C 1 Minute zum Anschweißen des zusätzlichen TK-Lagerbeutels	chronographisch gemessen
Entladen des Aphereseegerätes	1 Minute	2 Minuten

Die Kosten für die Betreuung der Spender während der Apherese beinhalten die Personalkosten für die Operatoren, d.h. Krankenschwestern und Arzthelfern bei einer Beschäftigung beider Berufsgruppen in gleichem Verhältnis in der Spendeabteilung, sowie für die ärztliche Untersuchung des Spenders durch einen Assistenzarzt. Dabei wird von einer wöchentlichen Arbeitszeit von 42 Stunden und 44 Wochen pro Jahr unter Berücksichtigung einer Effizienz von 80 % ausgegangen (20 % Ausfallszeiten, Urlaub/Krankheit). Dies ergibt eine produktive Zeit von 1478,4 Stunden (= 88 704 Minuten pro Mitarbeiter/Jahr).

Die Materialkosten setzen sich aus den Kosten für das Aphereseset, die Kosten der Infektionsserologie sowie dem Verbrauch an Zitrat- und/oder Kochsalz-Lösung zusammen.

Jeder Spender erhält außerdem eine pauschalierte Aufwandsentschädigung für den gesamten Aufwand, der mit der Apheresespender verbunden ist (Fahrtkosten, Verdienstausschlag et cetera).

Für die Gerätenutzung fallen einmalige Investitions- und jährliche Wartungskosten an.

Das Datenmaterial wurde zum Zweck einer Modellrechnung aufbereitet: Die Angaben der Kosten beruhen auf einer modellhaften Annahme mit realitätsnahen Kosten für die Materialien. Die Daten wurden zur Untersuchung, zur Neutralisierung von Einkaufsvorteilen und zur Anonymisierung umgerechnet und auf die nächste Einheit auf-/abgerundet (siehe Tab. 9).

**Tab. 9 Kostenfaktoren Aphereseverfahren (modellhafte Annahmen)**

	Trima Accel	Com.Tec
<b>Personalkosten/Jahr (inkl. 23 % Arbeitgeber-Anteil)</b> (nach Mihm A, 2008); Ausgangswerte für Errechnung der Personalkosten/ Minute		
Krankenschwester	40.000 €	
Arzthelferin	30.000 €	
Assistenzarzt	60.000 €	
<b>Materialkosten</b>		
Aphereseset/Verfahren	140 €	90 €
Infektionsserologie/Spender	35 €	
Kochsalz-Lösung/1000 ml	-	3 €
Zitrat-Lösung/600 ml	5 €	
<b>Aufwandsentschädigung/Spender</b>	55 €	
<b>Investitionskosten/Gerät (inkl. Umsatzsteuer)</b>	60.000 €	58.000 €
<b>Wartungskosten/Jahr (inkl. Umsatzsteuer)</b>	3.000 €	1.500 €

## 4. ERGEBNISSE

### 4.1 Studienarm A

#### 4.1.1 Spendercharakteristika

In Studienarm A wurden insgesamt 15 Spender (n = 15, 10 Männer, 5 Frauen) im Alter von 23 bis 59 Jahren (MW  $\pm$  SD: 33,3  $\pm$  12,3 Jahre) zur Teilnahme an der Studie rekrutiert. Die Spendercharakteristika sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Die anthropometrischen Variablen (Körpergewicht, Körpergröße, Body-mass-Index und Gesamtblutvolumen) waren bei beiden Apherese-Verfahren aufgrund des Studiendesigns einer Crossover-Studie und der Untersuchung beider Verfahren an der gleichen Spendergruppe vergleichbar. Hämatokrit (prä-Hkt), Thrombozytenzahl (prä-PLT), Mittleres Thrombozytenvolumen (prä-MPV) und die Leukozytenzahl (prä-WBC) vor der Apherese zeigten ebenfalls keine signifikanten Unterschiede.

Die Venenpunktion wurde bei den Apheresen im Einarm-Verfahren mit der Trima Accel in 73 % der Spenden am linken Arm und zu 27 % am rechten Arm vorgenommen. Die Apheresen mit der Com.Tec wurden alle im Zweiarm-Verfahren durchgeführt, infolgedessen wurden alle Spender beidseitig punktiert.

**Tab. 10 Spendercharakteristika Studienarm A**

Parameter (n = 15)	Trima Accel		Com.Tec		p-Wert
	MW $\pm$ SD	Min. - Max.	MW $\pm$ SD	Min. - Max.	
Körpergewicht [kg]	73,7 $\pm$ 10,4	58 - 90	74,4 $\pm$ 10,2	60 - 90	0,106
Körpergröße [m]	1,8 $\pm$ 0,1	1,6 - 1,9	1,8 $\pm$ 0,1	1,6 - 1,9	0,217
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	24,1 $\pm$ 3,7	19,1 - 33,1	24,4 $\pm$ 3,8	19,3 - 33,1	0,074
GBV [l]	4,8 $\pm$ 0,7	3,8 - 5,8	4,9 $\pm$ 0,7	3,8 - 5,8	0,077
prä-Hkt [%]	43,9 $\pm$ 3,8	37,1 - 49,7	43,2 $\pm$ 3,0	38,4 - 49,0	0,303
prä-PLT [x1/nl]	296,3 $\pm$ 24,6	250 - 326	294,5 $\pm$ 27,7	230 - 337	0,779
prä-MPV [fl]	9,4 $\pm$ 0,5	8,3 - 10,3	9,3 $\pm$ 0,7	8,0 - 10,9	0,377
prä-WBC [x1/nl]	6,6 $\pm$ 1,5	4,4 - 10,0	5,9 $\pm$ 1,1	4,6 - 8,0	0,091

#### 4.1.2 Verfahrensdaten und Gerätegenauigkeit

##### Verfahrensdaten

Die Durchführung der Apheresen mit der Trima Accel ergab eine hoch signifikant kürzere Verfahrenszeit als mit der Com.Tec (siehe Tab. 11). Die Blutrückführungszeit bei der Zellseparatoren war vergleichbar. Die zusätzliche Nachbereitungszeit zum Entlüften der Thrombozytenkonzentrate verlängerte die Gesamtdauer der Com.Tec-Verfahren durchschnittlich um weitere 2,0  $\pm$  1,0 Minuten. Die Thrombozytenkonzentrate der Trima Accel wurden automatisch während der Blutrückführung zum Spender entlüftet, es entstand keine zusätzliche Nachbereitungszeit.

Tab. 11 Verfahrensdaten Studienarm A

Parameter (n = 15)	Trima Accel	Com.Tec	p-Wert
	MW ± SD	MW ± SD	
Verfahrenszeit [Min]	66,4 ± 11,4	80,4 ± 8,7	0,000 <sup>H</sup>
Blutrückführungszeit [Min]	2,9 ± 0,4	3,0 ± 0,8	0,256*
Nachbereitungszeit [Min]	-	2,0 ± 1,0	-
Gesamtzeit [Min]	69,3 ± 11,6	85,4 ± 8,3	0,001 <sup>H*</sup>
Verarbeitetes Blutvolumen [ml]	3,5 ± 0,3	4,2 ± 0,4	0,000 <sup>H</sup>
NaCl-Verbrauch [ml]	-	584,7 ± 46,8	-
ACD-Verbrauch [ml]	375,3 ± 35,0	583,3 ± 71,4	0,000 <sup>H</sup>
ACD-Infusionsrate [ml/Min/l]	1,2 ± 0,1	1,5 ± 0,1	0,000 <sup>H</sup>
TSD 6,0 [Min]	62,5 ± 7,3	80,2 ± 12,1	0,000 <sup>H</sup>
CR [x10 <sup>11</sup> /h]	5,9 ± 0,7	4,6 ± 0,7	0,000 <sup>H</sup>
CE [%]	73,5 ± 7,9	61,9 ± 3,7	0,000 <sup>H</sup>
post-Hkt [%]	42,3 ± 3,3	43,0 ± 3,1	0,113
post-PLT [x1/nl]	205,1 ± 32,8	179,1 ± 24,5	0,007 <sup>M</sup>
post-MPV [fl]	9,4 ± 0,7	9,4 ± 0,9	0,862
post-WBC [x1/nl]	7,5 ± 1,7	6,1 ± 1,3	0,003 <sup>M</sup>
TK-Volumen [ml]	494,8 ± 12,4	495,4 ± 13,4	0,918
PLT-Konzentration [x1/nl]	1288,8 ± 106,4	1224,6 ± 97,5	0,133
PLT-Ertrag [x10 <sup>11</sup> /Einheit]	6,4 ± 0,6	6,1 ± 0,5	0,174

## \* Wilcoxon-Test

Die Trima Accel verarbeitete ein signifikant geringeres Blutvolumen als die Com.Tec-Zellseparatoren. Sowohl drei verschiedene Zellseparatoren der Trima Accel als auch drei Geräte der Com.Tec waren in diesem Studienarm im Einsatz.

Die Korrektur der Verfahrenszeit auf die Herstellung von Thrombozytenkonzentraten mit der Standarddosis 6,0 x 10<sup>11</sup> PLT (TSD 6,0) ergab ebenfalls eine hoch signifikant niedrigere Zeit der Trima Accel-Verfahren (siehe Abb. 8).

Die Sammlungsrate (CR) sowie die Sammlungseffizienz (CE) stellten signifikant höhere Werte der Trima Accel im Vergleich zur Com.Tec dar (siehe Abb. 9 und 10).

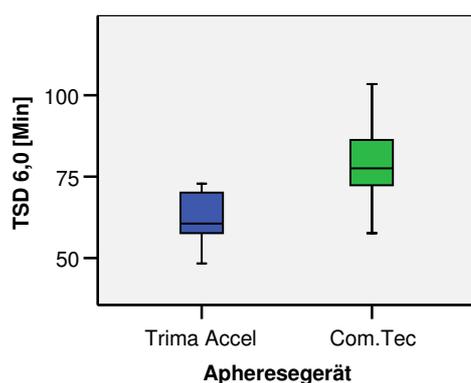


Abb. 8 TSD 6,0 Studienarm A

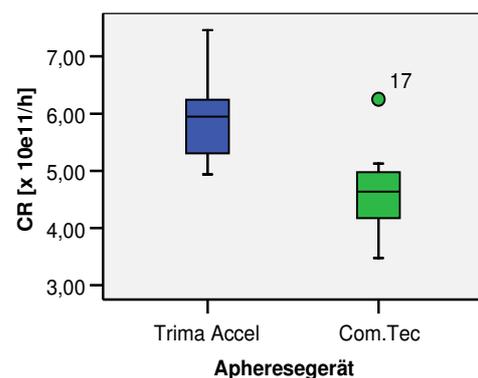


Abb. 9 CR Studienarm A

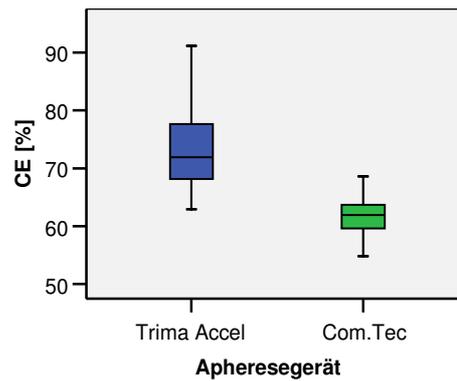


Abb. 10 CE Studienarm A

Die Com.Tec verbrauchte ein höheres ACD-Volumen als die Trima Accel und exponierte die Spender dementsprechend einer höheren ACD-Infusionsrate (siehe Abb. 11 und 12). Zusätzlich wurden mit der Com.Tec durchschnittlich  $584,7 \pm 46,8$  ml Kochsalzlösung benötigt.

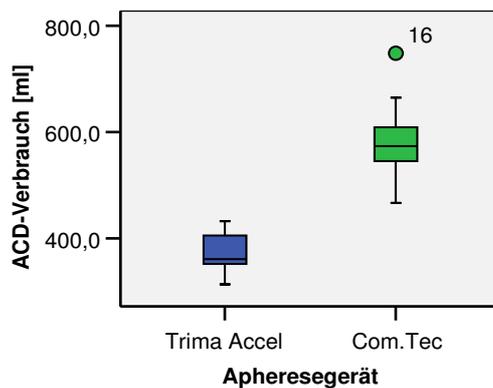


Abb. 11 ACD-Verbrauch Studienarm A

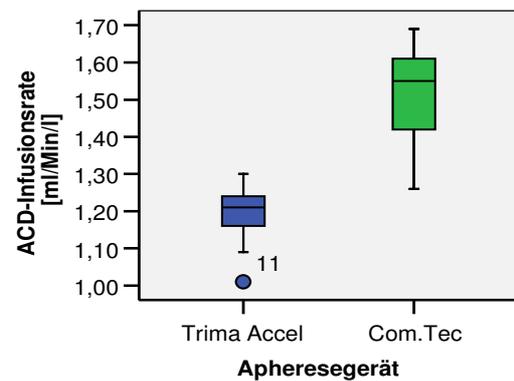


Abb. 12 ACD-Infusionsrate Studienarm A

Die hämatologischen Nachwerte im Spenderblut zeigten signifikant höhere Thrombozytenzahlen (post-PLT) mit der Trima Accel. Der untere Normalwert von 150 PLT/nl wurde in einem Trima Accel- und zwei Com.Tec-Verfahren unterschritten. Der kritische Wert von 100 PLT/nl wurde weiterhin eingehalten.

Das Mittlere Thrombozytenvolumen (post-MPV) und der Hämatokrit (post-Hkt) am Ende der Verfahren wiesen keinen signifikanten Unterschied zwischen beiden Geräten auf. Die Leukozytenzahlen (post-WBC) zeigten niedrigere Werte mit der Com.Tec.

Die hergestellten Thrombozytenkonzentrate beider Zellseparatoren zeigten vergleichbare Volumina und PLT-Konzentrationen. Mit der Trima Accel erreichten 66,7 % der Verfahren den Zielertrag von  $6 \times 10^{11}$  PLTs, mit der Com.Tec indessen nur in 46,7 % der Apheresen. Die Mittelwerte der PLT-Erträge mit beiden Zellseparatoren lagen dennoch oberhalb des Zielertrages.

## Gerätegenauigkeit

Die Trima Accel- und die Com.Tec-Software berichteten über eine kürzere Verfahrenszeit als mit der Stoppuhr gemessen. Ebenso wurde von beiden Zellseparatoren zu Beginn der Aphereseverfahren eine kürzere Verfahrensdauer kalkuliert (siehe Tab. 12).

Der ACD-Verbrauch wurde durch die Trima Accel relativ genau angegeben, mit der Com.Tec zeigten sich starke Abweichungen.

Beide Apheresegeräte unterschätzten sowohl das hergestellte TK-Volumen, den PLT-Ertrag der Konzentrate als auch die Thrombozytenwerte des Spenders nach Abschluss der Apherese.

**Tab. 12 Gerätegenauigkeit Studienarm A**

Parameter (n = 15)	Trima Accel	Com.Tec	p-Wert
	MW ± SD	MW ± SD	
Kalkulierte Verfahrenszeit [Min] (Geräteangabe - Gemessene Zeit)	-2,6 ± 4,1	-1,3 ± 1,4	0,277
Verfahrenszeit [Min] (Geräteangabe - Gemessene Zeit)	-1,5 ± 1,0	-1,3 ± 0,8	0,512
ACD-Verbrauch [ml] (Geräteangabe - Gemessener Verbrauch)	1,3 ± 11,4	-59,8 ± 22,1	0,000 <sup>H</sup>
TK-Volumen [ml] (Geräteangabe - Gemessenes Volumen)	-12,6 ± 12,3	-11,7 ± 13,6	0,910*
PLT-Ertrag [ $\times 10^{11}$ ] (Gemessener Ertrag – Geräteangabe)	-0,4 ± 0,6	-0,1 ± 0,5	0,180*
Hkt-Nachwert [%] (Geräteangabe - Gemessener Nachwert)	0,8 ± 2,0	-	-
PLT-Nachwert [ $\times 1/\text{nl}$ ] (Geräteangabe - Gemessener Nachwert)	-35,7 ± 20,3	-11,4 ± 17,5	0,002 <sup>M</sup>

\* Wilcoxon-Test

### 4.1.3 Operatoren- und Spenderkomfort

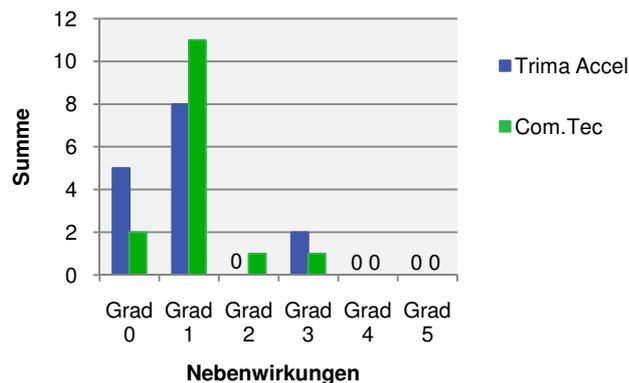
#### Operatorenkomfort

In 73 % der Trima Accel-Apheresen wurden Eingriffe durch das Personal erforderlich (MW ± SD: 3,6 ± 4,8 Interventionen/Apherese.; Spannbreite: 0-17). Mit der Com.Tec hingegen erforderten lediglich 47 % der Verfahren Eingriffe durch die Operatoren (MW ± SD: 1,3 ± 1,9 Interventionen/Apherese; Spannbreite: 0-7).

Die Mittelwerte der Anzahl an Interventionen beider Geräte ergaben vergleichbare Werte ( $p = 0,094$ ). Insgesamt wurden bei den Trima Accel-Verfahren 54 Eingriffe erforderlich (78 % Ausschalten von Alarmen, 15 % Flussmodifikationen, 7 % Nebenwirkungen). Bei den Com.Tec-Apheresen mussten lediglich 19 Eingriffe getätigt werden (58 % Ausschalten von Alarmen, 42 % Nebenwirkungen).

## Spenderkomfort

In 23 der 30 Apheresen traten zittrattypische Nebenwirkungen auf. In 20 Verfahren zeigten die Spender milde Reaktionen (Grad 1 und 2) (siehe Abb. 13). Bei drei Spendern traten moderate Reaktionen (Grad 3) in Form von Übelkeit auf. Zusätzlich entwickelten zwei dieser drei Spender hypovolämische Symptome mit Schwindelgefühl und Blutdruckabfall. Es wurde dabei kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Geräten beobachtet ( $p = 0,378$ ).



**Abb. 13 Nebenwirkungen Studienarm A**

Die subjektive Bewertung des Verfahrens bezüglich des allgemeinen Wohlbefindens, der Flussgeschwindigkeiten und dem Auftreten von Nebenwirkungen durch die Spender ergab keine signifikanten Differenzen zwischen beiden Apheresesystemen.

Die Spender gaben in 73 % der Fälle die Trima Accel als bevorzugtes Apheresegerät an. Als Hauptgrund für die Wahl der Trima Accel wurde die Durchführung im Einarm-Verfahren (64 %) angegeben; die kürzere Verfahrenszeit spielte lediglich eine untergeordnete Rolle (14 %). Nur vier Spender bevorzugten die Com.Tec, der Komfort war hierbei für die Spender entscheidend.

### 4.1.4 Qualitätskontrolle

Die Beurteilung der Qualität der Doppel-PLT-Apheresekonzentrate erfolgte durch Analyse von jeweils fünf Einzelprodukten jedes Aphereseegerätes von fünf Spendern.

### TK-Volumen, PLT-Konzentration, MPV, Restleukozyten, Resterythrozyten und Zitratkonzentration

Die Volumina der Trima Accel- und Com.Tec-Thrombozytenkonzentrate nahmen über die Lagerungstage vergleichbar geringfügig ab (Entnahme von Probevolumina berücksichtigt) (siehe Tab. 13 und 14). Die PLT-Konzentrationen blieben während der Lagerung relativ konstant.

Die Mittleren Thrombozytenvolumina beider TK-Typen wiesen am Herstellungstag keinen signifikanten Unterschied auf.

Die MPV der Trima Accel-TK blieben über die Lagerungstage konstant. Die Zellvolumina der Com.Tec-Konzentrate führten einen signifikanten Zuwachs von Tag 0 auf 5 sowie von Tag 0 auf 7 an (siehe Abb. 14). An Tag 5 und 7 zeigten sich demnach signifikant niedrigere MPV der Trima Accel-TKs.

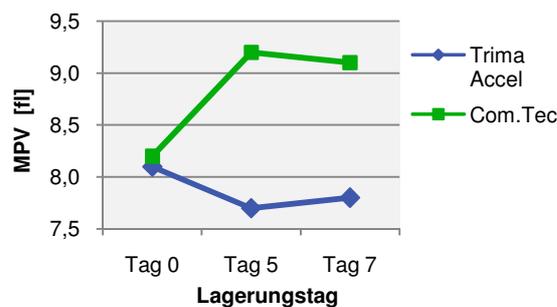


Abb. 14 MPV Studienarm A

Die Anzahl an Restleukozyten, Resterythrozyten sowie die Zitratkonzentration im Thrombozytenkonzentrat präsentierten keinen signifikanten Unterschied zwischen beiden TK-Typen.

Tab. 13 Qualitätskontrolle I Studienarm A

Parameter (n = 5)	Tag	Trima Accel	Com.Tec	p-Wert
		MW ± SD	MW ± SD	
TK-Volumen [ml] vor Probenentnahme nach Probenentnahme	0	252,3 ± 16,3	250,7 ± 4,6	0,824
	0	234,7 ± 13,4	234,9 ± 6,7	0,981
TK-Volumen [ml] vor Probenentnahme nach Probenentnahme	5	230,6 ± 14,2	231,8 ± 7,8	0,841
	5	215,4 ± 13,0	218,1 ± 7,7	0,673
TK-Volumen [ml] vor Probenentnahme nach Probenentnahme	7	213,7 ± 13,4	216,9 ± 8,3	0,621
	7	198,6 ± 11,9	201,8 ± 8,8	0,610
Differenz TK-Volumen [ml]	0-5	4,2 ± 1,4	3,0 ± 1,1	0,093
	5-7	1,7 ± 0,7	1,2 ± 0,6	0,152
PLT-Konzentration [x1/nl]	0	1278,8 ± 97,3	1171,2 ± 87,6	0,079
	5	1280,0 ± 149,2	1346,6 ± 90,7	0,508
	7	1266,6 ± 154,6	1196,2 ± 104,9	0,498
PLT pro Einheit [x10 <sup>11</sup> ]	0	3,2 ± 0,4	2,9 ± 0,2	0,068
	5	3,0 ± 0,3	3,1 ± 0,2	0,433
	7	2,7 ± 0,4	2,6 ± 0,2	0,512
MPV [fli]	0	8,1 ± 1,1	8,2 ± 1,6	0,964
	5	7,7 ± 0,9	9,2 ± 1,1	0,000 <sup>H</sup>
	7	7,8 ± 0,8	9,1 ± 1,1	0,002 <sup>M</sup>
Restleukozyten pro Ein- heit [x10 <sup>6</sup> ]	0	0,7 ± 0,7	0,3 ± 0,3	0,091
Resterythrozyten pro Einheit [x10 <sup>9</sup> ]	0	0,004 ± 0,01	0,017 ± 0,02	0,137
Zitrat [mmol/l]	0	3,3 ± 0,1	3,3 ± 0,1	0,663

**Tab. 14 Unterschiede I zwischen den Lagerungstagen 0, 5 und 7 getrennt nach Apheresegerät Studienarm A**

Parameter (n = 5)	Trima Accel			Com.Tec		
	p-Wert Tag 0 vs. Tag 5	p-Wert Tag 5 vs. Tag 7	p-Wert Tag 0 vs. Tag 7	p-Wert Tag 0 vs. Tag 5	p-Wert Tag 5 vs. Tag 7	p-Wert Tag 0 vs. Tag 7
TK-Volumen [ml]	0,003 <sup>M</sup>	0,004 <sup>M</sup>	0,000 <sup>H</sup>	0,003 <sup>M</sup>	0,012 <sup>S</sup>	0,000 <sup>H</sup>
PLT-Konzentration [x1/nl]	0,975	0,186	0,750	0,023 <sup>S</sup>	0,058	0,346
PLT pro Einheit [x10 <sup>11</sup> ]	0,039 <sup>S</sup>	0,000 <sup>H</sup>	0,004 <sup>M</sup>	0,244	0,014 <sup>S</sup>	0,007 <sup>M</sup>
MPV [fl]	0,273	0,142	0,403	0,040 <sup>S</sup>	0,508	0,045 <sup>S</sup>

**Visuelle Kontrolle, Swirling, Aggregation und CD62P**

Das Swirling-Phänomen der TKs wurde während der gesamten Lagerungszeit von sieben Tagen weitestgehend als exzellent (Grad 3) oder gut (Grad 2) eingestuft (siehe Tab. 15 und 16). Lediglich zwei Trima Accel- und ein Com.Tec-Konzentrat wurden an Tag 7 mit schlecht (Grad 1) beurteilt.

Die Kollagen-induzierte maximal erreichte Thrombozytenaggregation sank über die Lagerungstage bei beiden Konzentrattypen analog ab. Eine signifikante Reduktion zeigte sich jeweils von Tag 0 auf 7.

Eine vergleichbare Expression des CD62P-Antigens auf der Oberfläche der Thrombozyten wurde an Tag 0 und 5 zwischen beiden TK-Typen nachgewiesen, an Tag 7 zeichneten die Com.Tec-TKs signifikant höhere Expressionen auf.

**Tab. 15 Qualitätskontrolle II Studienarm A**

Parameter (n = 5)	Tag	Trima Accel	Com.Tec	p-Wert
		MW ± SD	MW ± SD	
Swirling	0	3,0 ± 0 (n = 3)	3,0 ± 0	-
	5	2,7 ± 0,6 (n = 3)	2,8 ± 0,5	0,725
	7	2,0 ± 1,0 (n = 3)	2,6 ± 0,9	0,411
Aggregometrie [%]	0	96,4 ± 6,4	97,2 ± 3,9	0,853
	5	83,6 ± 9,6	73,4 ± 34,2	0,550
	7	73,8 ± 4,2	56,6 ± 27,2	0,228
CD62P [%]	0	34,8 ± 37,0	10,4 ± 6,8	0,239
	5	48,0 ± 13,3	62,8 ± 8,8	0,199
	7	54,5 ± 5,9	69,3 ± 3,8	0,017 <sup>S</sup>

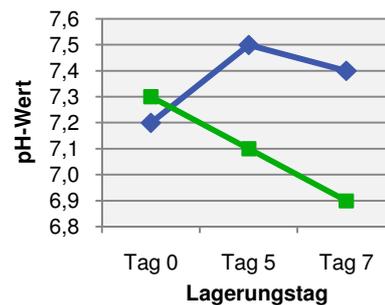
**Tab. 16 Unterschiede II zwischen den Lagerungstagen 0, 5 und 7 getrennt nach Apheresegerät Studienarm A**

Parameter (n = 5)	Trima Accel			Com.Tec		
	p-Wert Tag 0 vs. Tag 5	p-Wert Tag 5 vs. Tag 7	p-Wert Tag 0 vs. Tag 7	p-Wert Tag 0 vs. Tag 5	p-Wert Tag 5 vs. Tag 7	p-Wert Tag 0 vs. Tag 7
Swirling	0,317 <sup>*</sup>	0,184	0,225	0,317 <sup>*</sup>	0,374	0,374
Aggregometrie [%]	0,074	0,063	0,004 <sup>M</sup>	0,161	0,460	0,037 <sup>S</sup>
CD62P [%]	0,460	0,229	0,327	0,002 <sup>M</sup>	0,221	0,000 <sup>H</sup>

\* Wilcoxon-Test

### pH, Glukose, Laktat, LDH und Sterilität der Thrombozytenkonzentrate

Bei entsprechenden pH-Werten beider TK-Typen am Herstellungstag 0 ließen sich an den Lagerungstagen 5 und 7 moderat signifikante Unterschiede ableiten (siehe Tab. 17 und 18 sowie Abb. 15). Nach einem signifikanten Anstieg des pH-Wertes der Trima Accel-TKs von Tag 0 auf 5, zeigte sich anschließend ein signifikanter Abfall von Tag 5 auf 7 und eine Rückkehr in den Bereich des Ausgangswertes. Hingegen wurde bei den Com.Tec-Konzentraten eine kontinuierliche Reduktion des pH-Wertes über alle Lagerungstage sichtbar.



**Abb. 15 pH-Wert Studienarm A**

Die Glukosekonzentration wurde bei beiden TK-Typen von Tag 0 über 5 auf Tag 7 konstant signifikant reduziert. Es ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Zellseparatoren.

Die Konzentration an Laktat indessen stieg über die Lagerungsdauer an. Die Trima Accel-Konzentrate zeigten schwach signifikante niedrigere Werte an Tag 5 und 7 im Vergleich zu den Com.Tec-Konzentraten.

Die Laktatdehydrogenase-Konzentration der Trima Accel-TK war über die sieben Tage stabil. Die Com.Tec-Konzentrate zeigten einen signifikanten Konzentrationsanstieg von Tag 0 auf 5 sowie anschließend einen signifikanten Konzentrationsabfall von Tag 5 auf 7. Im Vergleich mit den Trima Accel-Konzentraten konnte nur an Tag 5 eine schwach signifikant höhere LDH-Konzentration aufgewiesen werden.

Die Untersuchung der TKs auf Bakterienwachstum nach siebentägiger Bebrütung ergab keinen positiven Befund, so dass alle Konzentrate die Sterilitätskriterien erfüllten.

Tab. 17 Qualitätskontrolle III Studienarm A

Parameter (n = 5)	Tag	Trima Accel	Com.Tec	p-Wert
		MW ± SD	MW ± SD	
pH	0	7,2 ± 0,1	7,3 ± 0,1	0,742
	5	7,5 ± 0,1	7,1 ± 0,1	0,003 <sup>M</sup>
	7	7,4 ± 0,1	6,9 ± 0,2	0,007 <sup>M</sup>
Glukose [mg/dl]	0	315,2 ± 18,7	312,6 ± 34,6	0,835
	5	229,4 ± 36,4	195,0 ± 27,1	0,109
	7	188,8 ± 36,2	151,2 ± 17,6	0,066
Laktat [mmol/l]	0	2,5 ± 0,6	4,2 ± 4,2	0,388
	5	11,7 ± 1,1	17,6 ± 3,5	0,026 <sup>S</sup>
	7	16,2 ± 1,7	20,7 ± 1,4	0,026 <sup>S</sup>
LDH [U/l]	0	132,4 ± 25,1	94,4 ± 56,4	0,070
	5	142,8 ± 48,8	209,2 ± 58,3	0,043 <sup>S</sup>
	7	136,0 ± 18,7	130,0 ± 9,6	0,535

Tab. 18 Unterschiede III zwischen den Lagerungstagen 0, 5 und 7 getrennt nach Apheresegerät Studienarm A

Parameter (n = 5)	Trima Accel			Com.Tec		
	p-Wert Tag 0 vs. Tag 5	p-Wert Tag 5 vs. Tag 7	p-Wert Tag 0 vs. Tag 7	p-Wert Tag 0 vs. Tag 5	p-Wert Tag 5 vs. Tag 7	p-Wert Tag 0 vs. Tag 7
pH	0,019 <sup>S</sup>	0,037 <sup>S</sup>	0,129	0,003 <sup>M</sup>	0,001 <sup>H</sup>	0,000 <sup>H</sup>
Glukose [mg/dl]	0,001 <sup>H</sup>	0,000 <sup>H</sup>	0,000 <sup>H</sup>	0,001 <sup>H</sup>	0,001 <sup>H</sup>	0,000 <sup>H</sup>
Laktat [mmol/l]	0,000 <sup>H</sup>	0,001 <sup>H</sup>	0,000 <sup>H</sup>	0,004 <sup>M</sup>	0,089	0,001 <sup>H</sup>
LDH [U/l]	0,491	0,723	0,760	0,028 <sup>S</sup>	0,036 <sup>S</sup>	0,289

### Abweichungen der Qualitätskontrollen von den Prüfkriterien für TK

Die unter 3.4.1 beschriebenen Prüfkriterien für leukozytendepletierte Thrombozytenapheresekonzentrate konnten von vier der fünf untersuchten Trima Accel-Konzentraten in folgenden Punkten nicht eingehalten werden (siehe Tab. 19):

Ein Thrombozytenkonzentrat der Trima Accel überschritt mit  $1,94 \times 10^6$  WBC/Einheit die zulässige Gesamtzahl von  $< 1,00 \times 10^6$  Restleukozyten/Einheit nach Herstellung und genügte somit nicht den Kriterien der Leukozytendepletion.

Der obere pH-Grenzwert von 7,40 am Ende der Haltbarkeit wurde von vier Trima Accel-TKs an Tag 5 und einem TK an Tag 7 überschritten.

Tab. 19 Abweichungen von den Prüfkriterien für TK Studienarm A, Trima Accel

Prüfparameter TK	Prüfkriterien	Trima Accel					
		TK 1	TK 2	TK 3	TK 4	TK 5	
Restleukozyten [x 10 <sup>6</sup> /Einheit] Tag 0	< 1,00	erfüllt	erfüllt	erfüllt	erfüllt	1,94	
pH-Wert	Tag 5	6,5 – 7,4	7,53	7,55	erfüllt	7,59	7,43
	Tag 7	6,5 – 7,4	erfüllt	erfüllt	erfüllt	7,50	erfüllt

Alle Com.Tec-Konzentrate erfüllten die erforderlichen Prüfkriterien vollständig.

## 4.2 Studienarm B

In Studienarm B wurden je 10 Apheresen zur Gewinnung eines Einfach-PLT-Apheresekonzentrates in Kombination mit einem Einfach-Plasmapräparat mit beiden Geräten im Einarm-Verfahren durchgeführt.

Der Zellseparator Com.Tec wurde mit zwei verschiedenen Entnahmeflussraten verwendet. Fünf Apheresen wurden mit automatischer Kalkulation der Flussgeschwindigkeit durch die Gerätesoftware durchgeführt (Standardflussgeschwindigkeit). Bei weiteren fünf Apheresen wurde die Flussgeschwindigkeit auf 60 ml/Minute begrenzt, um die Qualität der herzustellenden Plasmapräparate insbesondere bezüglich der Thrombozytenkonzentration zu verbessern.

Die statistische Analyse und Darstellung der Ergebnisse dieses Studienarms erfolgte daher in zwei Untergruppen (Trima Accel vs. Com.Tec Standardfluss (B.1) sowie Trima Accel vs. Com.Tec 60 ml/Min (B.2)).

### 4.2.1 B.1 Trima Accel versus Com.Tec Standardfluss

#### 4.2.1.1 B.1 Spendercharakteristika

Die Spendercharakteristika (siehe Tab. 20) der fünf in diesen Studienarm eingeschlossenen Spender (n = 5, 3 Frauen, 2 Männer) im Alter von 28 bis 46 Jahren (MW ± SD: 36,0 ± 6,9 Jahre) ergaben in beiden Gerätetypen der Crossover-Studie vergleichbare Ausgangswerte. Lediglich die Leukozytenzahlen vor Apheresebeginn zeigten schwach signifikant niedrigere Werte in der Trima Accel-Gruppe.

Alle Apheresen wurden im Einarm-Verfahren durchgeführt. Die Venenpunktion erfolgte bei den Trima Accel-Verfahren bei drei der fünf Spender am linken Arm. Bei den Com.Tec-Verfahren wurden vier Spender links punktiert, da ein Spender infolge einer Fehlpunktion am rechten Arm bei der zweiten Apherese auch am linken Arm punktiert werden musste.

Tab. 20 Spendercharakteristika Studienarm B.1

Parameter (n = 5)	Trima Accel		Com.Tec		p-Wert
	MW ± SD	Min. - Max.	MW ± SD	Min. - Max.	
Körpergewicht [kg]	73,8 ± 14,7	60 - 95	73,6 ± 14,6	60 - 95	0,374
Körpergröße [m]	1,7 ± 0,1	1,6 - 1,8	1,7 ± 0,1	1,6 - 1,8	-
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	25,8 ± 4,4	20,8 - 30,3	25,8 ± 4,3	20,8 - 30,3	0,374
GBV [l]	4,5 ± 0,7	3,8 - 5,7	4,5 ± 0,7	3,8 - 5,7	0,374
prä-Hkt [%]	41,0 ± 2,4	38,2 - 44,2	41,3 ± 1,6	39,3 - 43,5	0,669
prä-PLT [x1/nl]	256,8 ± 39,8	206 - 312	252,6 ± 56,0	210 - 350	0,767
prä-MPV [fl]	10,1 ± 0,6	9,2 - 10,8	10,0 ± 0,6	9,0 - 10,5	0,342
prä-WBC [x1/nl]	6,0 ± 1,5	4,9 - 8,5	6,9 ± 1,2	5,2 - 8,6	0,046 <sup>S</sup>

#### 4.2.1.2 B.1 Verfahrensdaten und Gerätegenauigkeit

##### Verfahrensdaten

Die Übersicht der Verfahrensdaten ist in Tabelle 21 aufgeführt.

Tab. 21 Verfahrensdaten Studienarm B.1

Parameter (n = 5)	Trima Accel	Com.Tec	p-Wert
	MW ± SD	MW ± SD	
Verfahrenszeit [Min]	43,8 ± 3,7	67,2 ± 12,7	0,009 <sup>M</sup>
Blutrückführungszeit [Min]	2,6 ± 0,5	1,6 ± 0,4	0,005 <sup>M</sup>
Nachbereitungszeit [Min]	-	2,3 ± 0,2	-
Gesamtzeit [Min]	46,4 ± 3,5	71,1 ± 12,8	0,008 <sup>M</sup>
Verarbeitetes Blutvolumen [ml]	2,1 ± 0,3	2,2 ± 0,4	0,374
NaCl-Verbrauch [ml]	-	476,6 ± 14,9	-
ACD-Verbrauch [ml]	225,4 ± 30,4	429,5 ± 76,1	0,001 <sup>H</sup>
ACD-Infusionsrate [ml/Min/l]	1,2 ± 0,1	1,5 ± 0,2	0,016 <sup>S</sup>
TSD 3,0 [Min]	32,3 ± 6,7	74,8 ± 11,2	0,001 <sup>H</sup>
CR [x10 <sup>11</sup> /h]	5,8 ± 1,2	2,5 ± 0,5	0,002 <sup>M</sup>
CE [%]	85,2 ± 13,0	58,5 ± 2,2	0,015 <sup>S</sup>
post-Hkt [%]	42,1 ± 3,5	39,5 ± 2,3	0,016 <sup>S</sup>
post-PLT [x1/nl]	209,0 ± 26,36	171,2 ± 31,9	0,011 <sup>S</sup>
post-MPV [fl]	10,2 ± 0,7	10,5 ± 0,3	0,299
post-WBC [x1/nl]	6,4 ± 1,3	6,9 ± 1,5	0,175
TK-Volumen [ml]	246,5 ± 1,7	231,1 ± 2,6	0,001 <sup>H</sup>
PLT-Konzentration [x1/nl]	1690,8 ± 250,4	1161,4 ± 75,2	0,017 <sup>S</sup>
PLT-Ertrag [x10 <sup>11</sup> /Einheit]	4,2 ± 0,6	2,7 ± 0,5	0,013 <sup>S</sup>
Plasma-Volumen [ml]	204,4 ± 3,8	198,4 ± 7,5	0,271

Die Verfahrenszeit war unter Verwendung der Trima Accel signifikant kürzer als unter Einsatz der Com.Tec. Die kürzere Blutrückführungszeit der Com.Tec-Apheresen wurde durch die zusätzliche Nachbereitungszeit ausgeglichen.

Bei beiden Verfahren wurde ein vergleichbares Blutvolumen verarbeitet. Die TSD 3,0 zeigte eine kürzere Zeit der Trima Accel im Vergleich zur Com.Tec (siehe Abb. 16).

Die Sammlungsrate sowie die Sammlungseffizienz wiesen signifikant höhere Werte mit der Trima Accel auf (siehe Abb. 17 und 18).

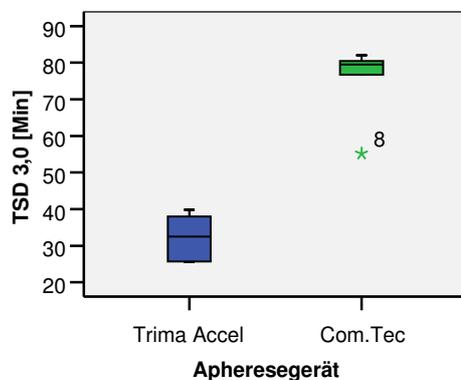


Abb. 16 TSD 3,0 Studienarm B.1

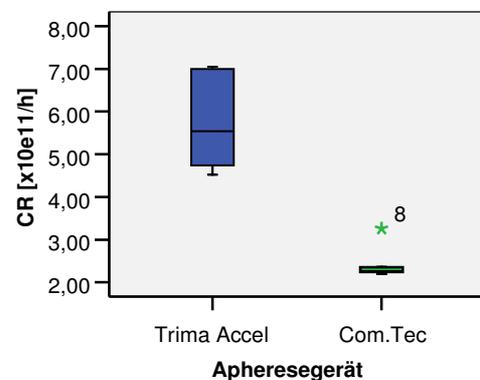


Abb. 17 CR Studienarm B.1

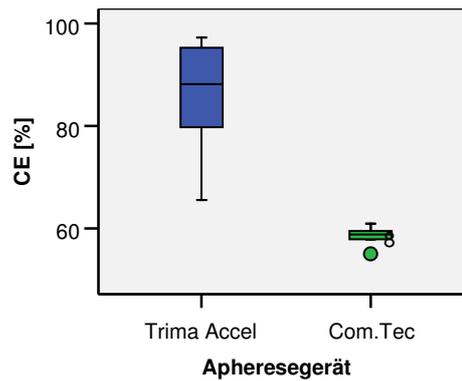


Abb. 18 CE Studienarm B.1

Der ACD-Verbrauch sowie die ACD-Infusionsrate offenbarten signifikant niedrigere Werte bei der Trima Accel im Vergleich zur Com.Tec. Ein unterer Ausreißer mit einem ACD-Verbrauch von 246 ml wurde bei den Com.Tec-Verfahren erfasst. Der zusätzliche Kochsalzverbrauch der Com.Tec-Apheresen betrug durchschnittlich  $476,6 \pm 14,9$  ml.

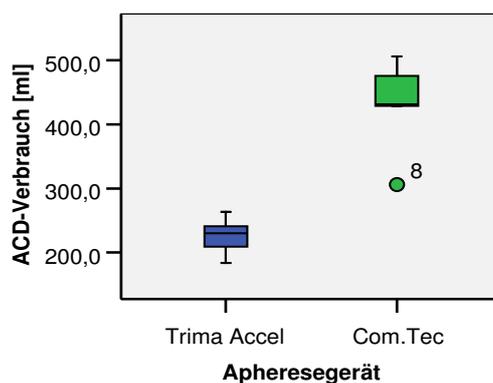


Abb. 19 ACD-Verbrauch Studienarm B.1

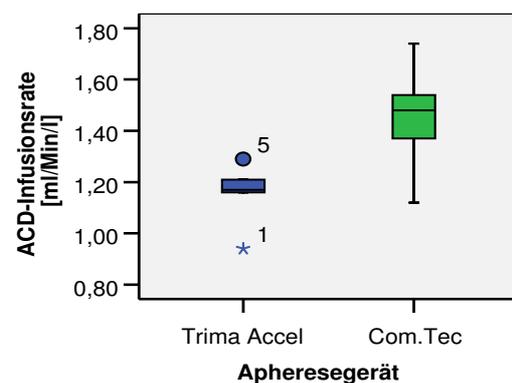


Abb. 20 ACD-Infusionsrate Studienarm B.1

Nach Abschluss der Apherese zeigten sich im Spenderblut höhere Thrombozyten- und Hämatokrit-Werte bei der Verwendung der Trima Accel. In einem Com.Tec-Verfahren wurde der untere Normwert von 150 PLT/nl unterschritten.

Keine signifikanten Unterschiede wurden zwischen dem Mittleren Thrombozytenvolumen und der Leukozytenkonzentration im Spenderblut festgestellt.

Das erwünschte TK-Zielvolumen von 240 ml wurde von allen Trima Accel-Konzentraten überschritten und bei allen Com.Tec-Konzentraten unterschritten. Es zeigte sich somit ein signifikanter Unterschied zwischen den TK-Volumina der Konzentrate beider Geräte. Außerdem wurde ein signifikanter Unterschied des PLT-Ertrages der Konzentrate nachgewiesen (siehe Abb. 21 und 22).

Die hergestellten Plasmapräparate zeigten keine signifikante Differenz an hergestellten Volumina beider Gerätetypen.

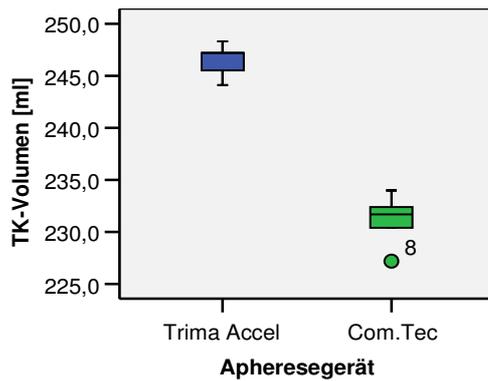


Abb. 21 TK-Volumen Studienarm B.1

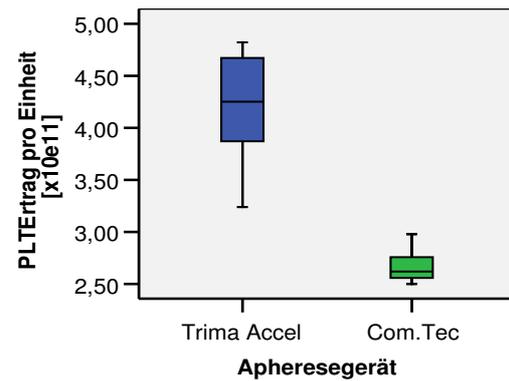


Abb. 22 PLT-Ertrag/Einheit Studienarm B.1

### Gerätegenauigkeit

Beide Apheresegeräte gaben kürzere Verfahrenszeiten an als die im Vergleich mit der Stopuhr gemessene Zeit (siehe Tab. 22).

Die Com.Tec-Software unterschätzte den ACD-Verbrauch deutlich, die Trima Accel hingegen überschätzte den Verbrauch gering. Es zeigte sich ein hier signifikanter Unterschied.

Tab. 22 Gerätegenauigkeit Studienarm B.1

Parameter (n = 5)	Trima Accel	Com.Tec	p-Wert
	MW ± SD	MW ± SD	
Kalkulierte Verfahrenszeit [Min] (Geräteangabe - Gemessene Zeit)	-0,6 ± 0,9	-2,0 ± 1,9	0,135
Verfahrenszeit [Min] (Geräteangabe - Gemessene Zeit)	-1,2 ± 0,5	-0,8 ± 0,5	0,374
ACD-Verbrauch [ml] (Geräteangabe - Gemessener Verbrauch)	11,8 ± 4,3	-56,3 ± 2,8	0,000 <sup>H</sup>
TK-Volumen [ml] (Geräteangabe - Gemessenes Volumen)	-6,9 ± 1,7	14,3 ± 3,4	0,001 <sup>H</sup>
PLT-Ertrag [x10 <sup>11</sup> ] (Gemessener Ertrag – Geräteangabe)	-1,2 ± 0,6	0,3 ± 0,2	0,014 <sup>S*</sup>
Plasma-Volumen [ml] (Geräteangabe – Gemessenes Volumen)	-4,4 ± 3,8	1,6 ± 7,5	0,271 <sup>*</sup>
Hkt-Nachwert [%] (Geräteangabe - Gemessener Nachwert)	-1,7 ± 1,7	-	-
PLT-Nachwert [x1/nl] (Geräteangabe - Gemessener Nachwert)	-20,6 ± 11,3	17,8 ± 26,2	0,021 <sup>S</sup>

#### \* Wilcoxon-Test

Das hergestellte TK-Volumen und der PLT-Ertrag wurden von der Trima Accel unterschätzt, von der Com.Tec jedoch überbewertet. Ein signifikanter Unterschied wurde registriert.

Die Thrombozytenwerte des Spenders nach der Apherese wurden ebenfalls von der Trima Accel unter- und von der Com.Tec überschätzt, so dass sich gegenwärtig ein schwach signifikanter Unterschied offenbarte.

#### **4.2.1.3 B.1 Operatoren- und Spenderkomfort**

##### **Operatorenkomfort**

Unter Verwendung der Trima Accel wurden in zwei der fünf Verfahren Eingriffe des Personals erforderlich (MW  $\pm$  SD: 0,8  $\pm$  1,3 Interventionen/Apherese; Spannbreite: 0-3). In drei der fünf Apheresen unter Durchführung mit der Com.Tec mussten die Operatoren intervenieren (MW  $\pm$  SD: 2,6  $\pm$  3,7 Interventionen/Apherese; Spannbreite: 0-9).

Insgesamt wurden vier Eingriffe bei den Trima Accel- und 13 Eingriffe bei den Com.Tec-Verfahren erforderlich. Alle Interventionen beliefen sich ausschließlich auf das Ausschalten von Alarmen aufgrund von niedrigem Entnahme- bzw. Eingangsdruck. Es ergab sich hierbei kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Verfahren ( $p = 0,393$ ).

##### **Spenderkomfort**

In diesem Studienarm traten bei keinem der fünf Spender Nebenwirkungen auf.

Die subjektive Bewertung der Verfahren ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen beiden Apheresesystemen. Zwei Spender bevorzugten die Com.Tec als Apheresegerät, ein Spender die Trima Accel. Die weiteren zwei Spender waren unentschlossen und konnten kein eindeutig bevorzugtes Apheresegerät angeben.

#### **4.2.2 B.2 Trima Accel versus Com.Tec 60 ml/Min**

##### **4.2.2.1 B.2 Spendercharakteristika**

Die fünf Spender ( $n = 5$ , 5 Männer) im Alter von 21 bis 45 Jahren (MW  $\pm$  SD: 28,2  $\pm$  9,7 Jahre) zeigten keine signifikanten Unterschiede der anthropometrischen Variablen sowie der hämatologischen Ausgangswerte (siehe Tab. 23).

Zur Venenpunktion wurde bei jeweils drei der fünf Spender der rechte Arm gewählt.

Tab. 23 Spendercharakteristika Studienarm B.2

Parameter (n = 5)	Trima Accel		Com.Tec		p-Wert
	MW $\pm$ SD	Min. - Max.	MW $\pm$ SD	Min. - Max.	
Körpergewicht [kg]	72,8 $\pm$ 9,0	60 – 85	72,6 $\pm$ 9,0	60 – 85	0,374
Körpergröße [m]	1,8 $\pm$ 0,1	1,7 – 1,9	1,8 $\pm$ 0,1	1,7 – 1,9	-
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	23,5 $\pm$ 1,4	19,3 – 27,1	23,4 $\pm$ 3,2	19,3 – 27,13	0,374
GBV [l]	5,0 $\pm$ 0,2	4,5 – 5,5	5,00 $\pm$ 0,4	4,5 – 5,5	0,374
prä-Hkt [%]	43,8 $\pm$ 2,7	40,2 – 46,4	44,8 $\pm$ 3,2	41,8 – 48,4	0,413
prä-PLT [x1/nl]	248,4 $\pm$ 34,8	204 – 281	249,8 $\pm$ 30,9	203 – 283	0,780
prä-MPV [fl]	9,3 $\pm$ 0,4	8,9 – 9,8	9,2 $\pm$ 0,2	9,0 – 9,4	0,614
prä-WBC [x1/nl]	5,5 $\pm$ 0,9	4,6 – 6,9	4,7 $\pm$ 0,5	4,2 – 5,3	0,094

#### 4.2.2.2 B.2 Verfahrensdaten und Gerätegenauigkeit

##### Verfahrensdaten

Die Verfahrensdaten beider Zellseparatoren sind übersichtsweise in folgender Tabelle aufgeführt:

Tab. 24 Verfahrensdaten Studienarm B.2

Parameter (n = 5)	Trima Accel	Com.Tec	p-Wert
	MW $\pm$ SD	MW $\pm$ SD	
Verfahrenszeit [Min]	44,0 $\pm$ 12,3	82,8 $\pm$ 9,2	0,001 <sup>H</sup>
Blutrückführungszeit [Min]	2,5 $\pm$ 0,3	1,9 $\pm$ 0,2	0,013 <sup>S</sup>
Nachbereitungszeit [Min]	-	2,2 $\pm$ 0,4	-
Gesamtzeit [Min]	46,5 $\pm$ 12,6	86,9 $\pm$ 9,2	0,001 <sup>H</sup>
Verarbeitetes Blutvolumen [ml]	2,2 $\pm$ 0,3	2,2 $\pm$ 0,3	0,396
NaCl-Verbrauch [ml]	-	454,5 $\pm$ 56,0	-
ACD-Verbrauch [ml]	246,6 $\pm$ 26,7	469,3 $\pm$ 41,7	0,000 <sup>H</sup>
ACD-Infusionsrate [ml/Min/l]	1,2 $\pm$ 0,2	1,2 $\pm$ 0,1	0,795
TSD 3,0 [Min]	43,3 $\pm$ 8,3	85,2 $\pm$ 16,0	0,002 <sup>M</sup>
CR [x10 <sup>11</sup> /h]	4,3 $\pm$ 0,8	2,8 $\pm$ 0,4	0,002 <sup>M</sup>
CE [%]	62,0 $\pm$ 8,2	62,4 $\pm$ 5,5	0,890
post-Hkt [%]	43,6 $\pm$ 3,1	43,6 $\pm$ 3,2	1,000
post-PLT [x1/nl]	206,8 $\pm$ 31,3	183,8 $\pm$ 24,8	0,010 <sup>M</sup>
post-MPV [fl]	9,2 $\pm$ 0,5	9,1 $\pm$ 0,3	0,849
post-WBC [x1/nl]	5,3 $\pm$ 0,5	4,7 $\pm$ 0,6	0,081
TK-Volumen [ml]	247,9 $\pm$ 5,0	239,6 $\pm$ 7,8	0,050 <sup>S</sup>
PLT-Konzentration [x1/nl]	1219,6 $\pm$ 146,1	1230,6 $\pm$ 90,6	0,757
PLT-Ertrag [x10 <sup>11</sup> /Einheit]	3,0 $\pm$ 0,4	3,0 $\pm$ 0,3	0,504
Plasma-Volumen [ml]	205,6 $\pm$ 1,5	193,8 $\pm$ 21,8	0,291

Die Trima Accel-Apheresen zeigten eine hoch signifikant kürzere Verfahrenszeit als die Com.Tec-Verfahren. Die Blutrückführungszeit der Com.Tec-Apheresen war signifikant kürzer, zusätzlich kam jedoch die Nachbereitungszeit von 2,2  $\pm$  0,4 Minuten zum TK-Entlüften hinzu.

Das verarbeitete Blutvolumen beider Verfahren wies keinen signifikanten Unterschied auf.

Es konnte eine entsprechend kürzere Zeit zur Herstellung der Standarddosis für die Trima Accel aufgezeigt werden (siehe Abb. 23).

Die Sammlungsrate wies moderat signifikant höhere Werte der Trima Accel auf, die Sammlungseffizienzen beider Verfahren waren dagegen vergleichbar ( $p = 0,890$ ).

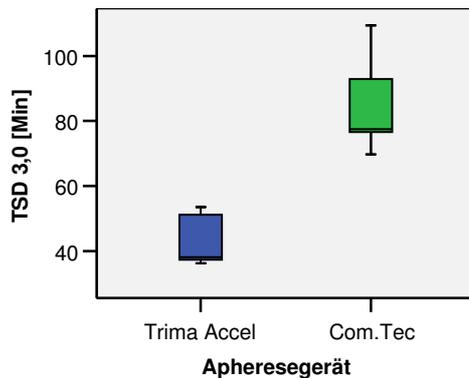


Abb. 23 TSD 3,0 Studienarm B.2

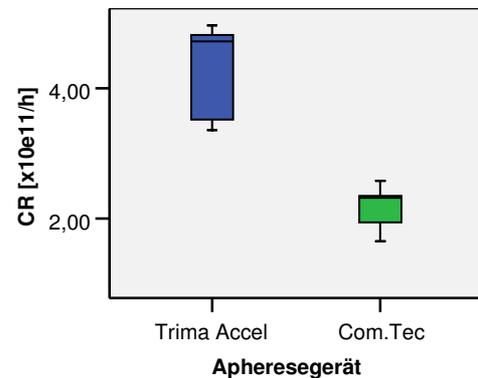


Abb. 24 CR Studienarm B.2

Die Com.Tec Verfahren benötigten wiederum signifikant höhere ACD-Volumina im Vergleich zur Trima Accel. Allerdings konnte kein signifikanter Unterschied der ACD-Infusionsrate nachgewiesen werden ( $p = 0,795$ ). Der zusätzliche Kochsalzverbrauch der Com.Tec-Apheresen betrug durchschnittlich  $454,5 \pm 56,0$  ml.

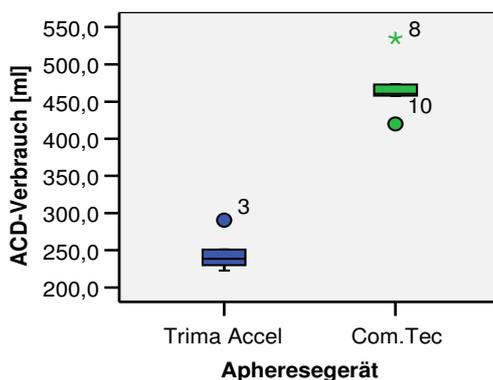


Abb. 25 ACD-Verbrauch Studienarm B.2

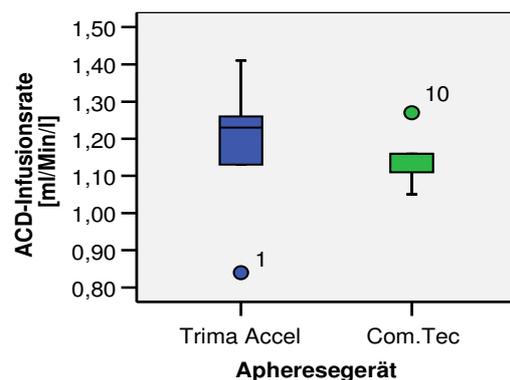


Abb. 26 ACD-Infusionsrate Studienarm B.2

Nach Abschluss der Apheresen zeigten sich im Spenderblut signifikant höhere Thrombozytenwerte bei Durchführung der Verfahren mit der Trima Accel. Der untere Normwert von 150 PLT/nl wurde bei einem Com.Tec-Verfahren unterschritten.

Die hergestellten Thrombozytenkonzentrate wiesen schwach signifikant differierende Volumina zwischen beiden Gerätetypen auf. Die PLT-Konzentration und der -Ertrag sowie die Volumina der Plasmaproducte zeigten keinen signifikanten Unterschied.

## Gerätegenauigkeit

Die Verfahrenszeit wurde durch die Gerätesoftware beider Zellseparatoren gering unterbewertet (siehe Tab. 25).

**Tab. 25 Gerätegenauigkeit Studienarm B.2**

Parameter (n = 5)	Trima Accel	Com.Tec	p-Wert
	MW ± SD	MW ± SD	
Kalkulierte Verfahrenszeit [Min] (Geräteangabe - Gemessene Zeit)	-3,8 ± 8,0	-1,6 ± 2,4	0,601
Verfahrenszeit [Min] (Geräteangabe - Gemessene Zeit)	-1,8 ± 0,8	-1,8 ± 0,5	1,000
ACD-Verbrauch [ml] (Geräteangabe - Gemessener Verbrauch)	-1,8 ± 9,5	-79,9 ± 11,7	0,000 <sup>H</sup>
TK-Volumen [ml] (Geräteangabe - Gemessenes Volumen)	-7,1 ± 3,8	5,6 ± 7,6	0,014 <sup>S</sup>
PLT-Ertrag [x10 <sup>11</sup> ] (Gemessener Ertrag - Geräteangabe)	-0,0 ± 0,4	0,0 ± 0,3	0,621 <sup>*</sup>
Plasma-Volumen [ml] (Geräteangabe - Gemessenes Volumen)	-5,6 ± 1,5	6,2 ± 21,8	0,291 <sup>*</sup>
Hkt-Nachwert [%] (Geräteangabe - Gemessener Nachwert)	-0,8 ± 2,0	-	-
PLT-Nachwert [x1/nl] (Geräteangabe - Gemessener Nachwert)	-19,6 ± 15,0	7,6 ± 14,8	0,007 <sup>M</sup>

### \* Wilcoxon-Test

Die Einschätzung des ACD-Verbrauches durch die Geräte ergab wiederum einen signifikanten Unterschied bei deutlicher Unterbewertung des Verbrauches der Com.Tec.

Das hergestellte TK- und Plasma-Volumen sowie der PLT-Ertrag wurden geringfügig von der Trima Accel unterschätzt, von der Com.Tec überbewertet.

Die Thrombozytenwerte des Spenders nach der Apherese zeigten bei Unterschätzung mit der Trima Accel und Überschätzung mit der Com.Tec einen moderat signifikanten Unterschied.

### 4.2.2.3 B.2 Operatoren- und Spenderkomfort

#### Operatorenkomfort

Die Trima Accel verlangte in zwei der fünf Apheresen Eingriffe des Personals (MW ± SD: 3,2 ± 6,6 Interventionen/Apherese, Spannweite: 0-15). Die Com.Tec benötigte in vier der fünf Apheresen Interventionen der Operatoren (MW ± SD: 2,8 ± 2,6 Interventionen/Apherese, Spannweite: 0-6).

Insgesamt wurden 16 Eingriffe des Personals bei den Trima Accel- (69 % Ausschalten von Alarmen, 25 % Flussmodifikationen, 6 % Nebenwirkungen) und 14 Eingriffe bei den Com.Tec-Verfahren erforderlich (93 % Ausschalten von Alarmen, 7 % Nebenwirkungen). Es zeigte sich dabei kein signifikanter Unterschied der Anzahl an Interventionen ( $p = 0,872$ ).

### **Spenderkomfort**

Zwei der fünf Spender gaben jeweils bei beiden Apherese- milden zitrattypischen Nebenwirkungen (Grad 1) an.

Alle fünf Spender bevorzugten die Trima Accel als Apheresegerät. Als Begründung wurde hierbei von allen Spender die subjektiv angenehmere Durchführung des Verfahrens angegeben. Desweiteren wurde die deutlich kürzere Verfahrenszeit als Vorteil der Trima Accel gewertet.

### **4.2.3 Qualitätskontrolle**

Die Beurteilung der Qualität der hergestellten Thrombozytenkonzentrate und Plasma- präparate erfolgte am Vergleich von fünf Trima Accel-Produkten mit den fünf Com.Tec-Produkten, die bei einer Flussgeschwindigkeit von 60 ml/Minute hergestellt wurden.

Die Aphereseverfahren der Com.Tec wurden auf Wunsch des Herstellers mit zwei unterschiedlichen Flussgeschwindigkeiten durchgeführt, um die Qualität der Plasma- präparate durch Limitierung der Entnahmeflussgeschwindigkeit zu steigern. Um diese Annahme zu überprüfen wurden die Daten der fünf bei Standardflussgeschwindigkeit hergestellten Produkte herangezogen, welche im Rahmen der Routinediagnostik durch Mitarbeiter des Qualitätskontrolllabors des Instituts für Klinische Hämostaseologie und Transfusionsmedizin erhoben wurden. Zur statistischen Analyse im Vergleich mit den fünf Produkten bei limitierter Flussgeschwindigkeit wurden nur diejenigen Parameter herangezogen, bei denen mindestens die Werte von drei Präparaten vorlagen.

#### **4.2.3.1 Thrombozytenkonzentrate Trima Accel versus Com.Tec 60 ml/Min**

##### **TK-Volumen, PLT-Konzentration, MPV, Restleukozyten, Resterythrozyten und Zitratkonzentration**

Eine Reduktion der Volumina der Thrombozytenkonzentrate wurde über die gesamte Lagerungsdauer bei beiden TK-Typen beobachtet (unter Berücksichtigung der Ent- nahme von Probevolumina). Die PLT-Konzentrationen der Trima Accel- und der Com.Tec-TKs ergaben vergleichbare Werte (siehe Tab. 26 und 27).

Das Mittlere Thrombozytenvolumen beider TK-Typen stieg über die Lagerungsdauer an. Es konnte dabei kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Geräten nachgewiesen werden.

Die Anzahl an Restleukozyten, Resterythrozyten sowie die Zitratkonzentration im Thrombozytenkonzentrat präsentierten keinen signifikanten Unterschied zwischen beiden TK-Typen.

**Tab. 26 Qualitätskontrolle I Studienarm B Trima Accel versus Com.Tec 60 ml/Min**

Parameter (n = 5)	Tag	Trima Accel	Com.Tec 60 ml/Min	p-Wert
		MW ± SD	MW ± SD	
TK-Volumen [ml] vor Probenentnahme nach Probenentnahme	0	247,7 ± 5,1	239,6 ± 7,8	0,087
	0	234,7 ± 8,8	225,0 ± 7,3	0,094
TK-Volumen [ml] vor Probenentnahme nach Probenentnahme	5	224,3 ± 7,3	218,8 ± 9,0	0,326
	5	210,1 ± 7,0	198,8 ± 6,5	0,029
TK-Volumen [ml] vor Probenentnahme nach Probenentnahme	7	206,3 ± 7,6	194,3 ± 7,8	0,039 <sup>S</sup>
	7	192,5 ± 6,2	178,9 ± 4,8	0,005 <sup>M</sup>
Differenz TK-Volumen [ml]	0-5	10,5 ± 1,8	6,1 ± 1,9	0,006 <sup>M</sup>
	5-7	3,8 ± 0,8	4,5 ± 2,7	0,597
PLT-Konzentration [x1/nl]	0	1241,8 ± 152,4	1230,6 ± 90,6	0,891
	5	1247,2 ± 141,8	1239,8 ± 64,9	0,918
	7	1236,2 ± 103,6	1159,4 ± 42,2	0,182
PLT pro Einheit [x10 <sup>11</sup> ]	0	3,1 ± 0,4	3,0 ± 0,3	0,597
	5	2,8 ± 0,4	2,7 ± 0,2	0,680
	7	2,6 ± 0,3	2,2 ± 0,1	0,055
MPV [fl]	0	7,6 ± 0,5	8,0 ± 0,2	0,122
	5	8,0 ± 0,6	9,1 ± 0,8	0,059
	7	8,7 ± 1,0	9,8 ± 0,6	0,052
Restleukozyten pro Ein- heit [x10 <sup>6</sup> ]	0	0,9 ± 1,9	0,3 ± 0,3	0,468
Resterythrozyten pro Einheit [x10 <sup>9</sup> ]	0	0,024 ± 0,05	0,027 ± 0,01	0,898
Zitrat [mmol/l]	0	2,9 ± 0,1	3,0 ± 0,0	0,066

**Tab. 27 Unterschiede I zwischen den Lagerungstagen 0, 5 und 7 getrennt nach Apheresegerät Studienarm B Trima Accel versus Com.Tec 60 ml/Min**

Parameter (n = 5)	Trima Accel			Com.Tec 60 ml/Min		
	p-Wert Tag 0 vs. Tag 5	p-Wert Tag 5 vs. Tag 7	p-Wert Tag 0 vs. Tag 7	p-Wert Tag 0 vs. Tag 5	p-Wert Tag 5 vs. Tag 7	p-Wert Tag 0 vs. Tag 7
TK-Volumen [ml]	0,000 <sup>H</sup>	0,000 <sup>H</sup>	0,000 <sup>H</sup>	0,002 <sup>M</sup>	0,021 <sup>S</sup>	0,001 <sup>H</sup>
PLT-Konzentration [x1/nl]	0,673	0,727	0,854	0,820	0,048 <sup>S</sup>	0,110
PLT pro Einheit [x10 <sup>11</sup> ]	0,001 <sup>H</sup>	0,022 <sup>S</sup>	0,002 <sup>M</sup>	0,056	0,009 <sup>M</sup>	0,002 <sup>M</sup>
MPV [fl]	0,095	0,040 <sup>S</sup>	0,050 <sup>S</sup>	0,037 <sup>S</sup>	0,241	0,002 <sup>M</sup>

### Visuelle Kontrolle, Swirling, Aggregation und CD62P

Bei der visuellen Kontrolle fielen bei einem Thrombozytenkonzentrat der Trima Accel deutliche und bei vier Thrombozytenkonzentraten der Com.Tec geringe Erythrozyten-Ablagerungen an Tag 5 und Tag 7 auf. Das Swirling-Phänomen nahm mit steigender Lagerungszeit ab, so dass an Tag 7 ein TK der Trima Accel und vier TKs der Com.Tec nur noch mit schlecht (Grad 1) bewertet werden konnten. Es zeigte sich allerdings kein signifikanter Unterschied zwischen beiden TK-Typen (siehe Tab. 28 und 29).

Eine Abnahme der Kollagen-induzierten Thrombozytenaggregationsfähigkeit mit zunehmender Lagerungszeit konnte bei beiden TK-Typen aufgezeigt werden (siehe Abb. 28). An Tag 5 und Tag 7 offenbarte sich ein signifikanter Unterschied mit einer höheren Aggregationsfähigkeit der Trima Accel-Thrombozyten.

Die Aktivität des Oberflächenmarkers CD62P zeigte an Tag 0 vergleichbare Ausgangswerte. Sowohl die Trima Accel- als auch die Com.Tec-Produkte wiesen eine kontinuierliche signifikante Zunahme der CD62P-Expression über alle Lagerungstage auf. An Tag 5 und Tag 7 ergaben sich signifikant niedrigere Werte der Trima Accel-Produkte.

**Tab. 28 Qualitätskontrolle II Studienarm B Trima Accel versus Com.Tec 60 ml/Min**

Parameter (n = 5)	Tag	Trima Accel	Com.Tec 60 ml/Min	p-Wert
		MW ± SD	MW ± SD	
Swirling	0	2,8 ± 0,5 (n = 4)	3,0 ± 0,0	0,264 <sup>#</sup>
	5	2,8 ± 0,5 (n = 4)	2,4 ± 0,9	0,510
	7	2,0 ± 0,8 (n = 4)	1,4 ± 0,9	0,334
Aggregometrie [%]	0	93,6 ± 5,3	92,0 ± 8,9	0,739
	5	61,6 ± 11,4	20,4 ± 7,3	0,000 <sup>H</sup>
	7	52,8 ± 17,7	17,6 ± 8,2	0,004 <sup>M</sup>
CD62P [%]	0	12,8 ± 1,4	14,8 ± 4,3	0,360
	5	60,0 ± 16,6	81,1 ± 10,4	0,043 <sup>S</sup>
	7	75,9 ± 8,7	94,7 ± 6,2	0,004 <sup>M</sup>

<sup>#</sup> Mann-Whitney-U-Test

**Tab. 29 Unterschiede II zwischen den Lagerungstagen 0, 5 und 7 getrennt nach Apheresegerät Studienarm B Trima Accel versus Com.Tec 60 ml/Min**

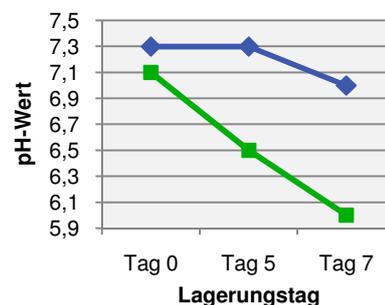
Parameter (n = 5)	Trima Accel			Com.Tec 60 ml/Min		
	p-Wert Tag 0 vs. Tag 5	p-Wert Tag 5 vs. Tag 7	p-Wert Tag 0 vs. Tag 7	p-Wert Tag 0 vs. Tag 5	p-Wert Tag 5 vs. Tag 7	p-Wert Tag 0 vs. Tag 7
Swirling	-	0,058	0,058	0,180 <sup>*</sup>	0,089	0,046 <sup>S*</sup>
Aggregometrie [%]	0,002 <sup>M</sup>	0,376	0,011 <sup>S</sup>	0,000 <sup>H</sup>	0,495	0,000 <sup>H</sup>
CD62P [%]	0,003 <sup>M</sup>	0,018 <sup>S</sup>	0,000 <sup>H</sup>	0,000 <sup>H</sup>	0,008 <sup>M</sup>	0,000 <sup>H</sup>

<sup>\*</sup> Wilcoxon-Test

### pH, Glukose, Laktat, LDH und Sterilität der Thrombozytenkonzentrate

Bei der Messung des pH-Wertes stellte sich am Herstellungstag noch kein signifikanter Unterschied zwischen beiden TK-Typen dar (siehe Tab. 30 und 31 sowie Abb. 27). An Tag 5 und Tag 7 hingegen ergaben sich hoch signifikant höhere Werte der Trima Accel-Produkte.

Die pH-Werte der Trima Accel-Produkte zeigten einen geringen, statistisch nicht signifikanten Anstieg von Tag 0 auf Tag 5 und anschließend eine hoch signifikante Abnahme von Tag 5 auf Tag 7. Bei den Com.Tec-Produkten zeigte sich ein kontinuierlich signifikanter Abfall des pH-Wertes über alle Lagerungstage.



**Abb. 27 pH-Wert Studienarm B Trima Accel versus Com.Tec 60 ml/Min**

Die Konzentration an Glukose im TK stellte an Tag 0 einen hoch signifikanten Unterschied mit einer niedrigeren Konzentration der Trima Accel-Konzentrate dar. An Tag 5 und Tag 7 zeigten sich vergleichbare Werte zwischen beiden TK-Arten. Sowohl die Trima Accel- als auch die Com.Tec-Konzentrate verzeichneten eine kontinuierliche Abnahme der Glukosekonzentration über alle Lagerungstage mit signifikanten Unterschieden zwischen allen Lagerungstagen.

Die Laktatkonzentrationen an Tag 0 und Tag 5 waren vergleichbar. An Tag 7 zeigte sich eine signifikant höhere Konzentration der Com.Tec-TKs. Beide Produkttypen verzeichneten einen signifikanten Konzentrationsanstieg.

Die LDH-Konzentrationen waren durchweg zwischen beiden TK-Typen vergleichbar. Es zeigte sich bei beiden Konzentratarten ein Anstieg der Konzentration mit zunehmender Lagerungsdauer.

Die Sterilitätskriterien konnten mittels negativem Bakterienwachstum nach siebentägiger Bebrütung bei allen untersuchten Thrombozytenkonzentraten belegt werden.

Tab. 30 Qualitätskontrolle III Studienarm B, Trima Accel versus Com.Tec 60 ml/Min

Parameter (n = 5)	Tag	Trima Accel	Com.Tec 60 ml/Min	p-Wert
		MW ± SD	MW ± SD	
pH	0	7,3 ± 0,2	7,1 ± 0,1	0,054
	5	7,3 ± 0,1	6,5 ± 0,4	0,001 <sup>H</sup>
	7	7,0 ± 0,2	6,0 ± 0,3	0,000 <sup>H</sup>
Glukose [mg/dl]	0	352,4 ± 25,3	434,0 ± 21,0	0,001 <sup>H</sup>
	5	227,2 ± 41,8	259,0 ± 38,1	0,244
	7	181,0 ± 48,5 (n = 4)	188,2 ± 42,0	0,818
Laktat [mmol/l]	0	2,3 ± 1,7	1,7 ± 0,5	0,461
	5	16,5 ± 4,0	25,3 ± 12,0	0,157
	7	21,2 ± 1,9 (n = 4)	29,7 ± 4,9	0,014 <sup>S</sup>
LDH [U/l]	0	110,6 ± 51,2	96,2 ± 25,5	0,589
	5	175,4 ± 23,5	200,8 ± 90,7	0,561
	7	215,5 ± 20,7 (n = 4)	355,0 ± 183,7	0,165

Tab. 31 Unterschiede III zwischen den Lagerungstagen 0, 5 und 7 getrennt nach Apheresegerät Studienarm B, Trima Accel versus Com.Tec 60 ml/Min

Parameter (n = 5)	Trima Accel			Com.Tec 60 ml/Min		
	p-Wert Tag 0 vs. Tag 5	p-Wert Tag 5 vs. Tag 7	p-Wert Tag 0 vs. Tag 7	p-Wert Tag 0 vs. Tag 5	p-Wert Tag 5 vs. Tag 7	p-Wert Tag 0 vs. Tag 7
pH	0,019 <sup>S</sup>	0,037 <sup>S</sup>	0,129	0,003 <sup>M</sup>	0,001 <sup>H</sup>	0,000 <sup>H</sup>
Glukose [mg/dl]	0,436	0,001 <sup>H</sup>	0,114	0,032 <sup>S</sup>	0,003 <sup>M</sup>	0,001 <sup>H</sup>
Laktat [mmol/l]	0,001 <sup>H</sup>	0,002 <sup>M</sup>	0,001 <sup>H</sup>	0,001 <sup>H</sup>	0,004 <sup>M</sup>	0,000 <sup>H</sup>
LDH [U/l]	0,001 <sup>H</sup>	0,044 <sup>S</sup>	0,000 <sup>H</sup>	0,011 <sup>S</sup>	0,409	0,000 <sup>H</sup>

#### 4.2.3.2 Thrombozytenkonzentrate Com.Tec 60 ml/Min versus Standardfluss

##### TK-Volumen, PLT-Konzentration, MPV, Restleukozyten, Resterythrozyten und Zitratkonzentration

Der Vergleich der beiden Untergruppen der mit der Com.Tec hergestellten Thrombozytenkonzentrate bei verschiedener Entnahmeflussgeschwindigkeit ergab keine signifikanten Unterschiede bezüglich des TK-Volumens, der PLT-Konzentration sowie des PLT-Gehaltes pro Einheit. Das Mittlere Thrombozytenvolumen am Herstellungstag zeigte einen hoch signifikanten Unterschied mit niedrigerem Zellvolumen der bei auf 60 ml/Min begrenzten TKs auf. An Tag 5 konnte kein signifikanter Unterschied mehr nachgewiesen werden (siehe Tab. 32).

Desweiteren zeigte sich ein schwach signifikanter Unterschied bezüglich der Restleukozytenzahl pro Einheit mit höheren Werten der Standardfluss-TKs. Zwei der Thrombozytenkonzentrate dieser Standardfluss-Subgruppe überschritten den Grenzwert von  $1 \times 10^6$  WBC/Einheit und erfüllten damit nicht die Kriterien der Leukozytendepletion. Die Anzahl an Resterythrozyten sowie die Zitratkonzentration im Thrombozytenkonzentrat waren bei beiden Subgruppen vergleichbar.

Tab. 32 Qualitätskontrolle I Studienarm B Com.Tec 60 ml/Min versus Standardfluss

Parameter (n = 5)	Tag	Com.Tec 60 ml/Min	Com.Tec Standardfluss	p-Wert
		MW ± SD	MW ± SD	
TK-Volumen [ml] vor Probenentnahme	0	239,6 ± 7,8	231,1 ± 2,6	0,073
PLT-Konzentration [x1/nl]	0	1230,6 ± 90,6	1168,4 ± 100,0	0,333
	5	1239,8 ± 64,9	1209,3 ± 82,3 (n = 3)	0,579
PLT pro Einheit [x10 <sup>11</sup> ]	0	3,0 ± 0,3	2,7 ± 0,2	0,191
	5	2,7 ± 0,2	2,6 ± 0,2 (n = 3)	0,360
MPV [fl]	0	8,0 ± 0,2	9,3 ± 0,5	0,001 <sup>H</sup>
	5	9,1 ± 0,8	10,5 ± 0,6 (n = 3)	0,052
Restleukozyten pro Ein- heit [x10 <sup>6</sup> ]	0	0,3 ± 0,3	0,9 ± 0,5	0,036 <sup>S</sup>
Resterythrozyten pro Einheit [x10 <sup>9</sup> ]	0	0,027 ± 0,0	0,048 ± 0,1	0,676
Zitrat [mmol/l]	0	2,8 ± 0,0	3,0 ± 0,2	0,121

### Visuelle Kontrolle, Swirling, Aggregation, pH und Sterilität der Thrombozytenkonzentrate

Die Thrombozytenkonzentrate der Standardfluss-Subgruppe zeigten keine visuellen Auffälligkeiten. Das Swirling-Phänomen am Herstellungstag wurde ebenso wie bei der 60 ml/Min-Subgruppe ausschließlich mit exzellent (Grad 3) bewertet.

Die Kollagen-induzierte Thrombozytenaggregation wies ebenfalls keinen signifikanten Unterschied auf (siehe Tab. 33).

Die pH-Werte beider Subgruppen zeigten sowohl an Tag 0 als auch an Tag 5 keinen signifikanten Unterschied. Auch konnte kein Bakterienwachstum nachgewiesen werden, so dass alle Produkte als steril galten.

Tab. 33 Qualitätskontrolle II Studienarm B Com.Tec 60 ml/Min versus Standardfluss

Parameter (n = 5)	Tag	Com.Tec 60 ml/Min	Com.Tec Standardfluss	p-Wert
		MW ± SD	MW ± SD	
Aggregometrie [%]	0	92,0 ± 8,9	94,2 ± 6,6	0,669
pH	0	7,1 ± 0,1	7,2 ± 0,1	0,140
	5	6,5 ± 0,4	6,7 ± 0,4 (n = 3)	0,575

### 4.2.3.3 Abweichungen der Qualitätskontrollen von den Prüfkriterien für Thrombozytenkonzentrate

Sowohl bei den untersuchten Trima Accel- als auch bei den Com.Tec-Konzentraten konnten Abweichungen von den Prüfkriterien für leukozytendepletierte Thrombozytenapheresekonzentrate im Rahmen der Qualitätskontrolluntersuchung festgestellt werden (siehe Tab. 34, 35 und 36).

Die zulässige Gesamtzahl von  $< 1,00 \times 10^6$  Restleukozyten/Einheit wurde von einem Thrombozytenkonzentrat der Trima Accel und von zwei TK der Com.Tec-Standardflussgruppe überschritten. Der pH-Wert konnte von einem Trima Accel- sowie zwei Com.Tec-TK der 60 ml/Min-Gruppe und einem Produkt der Standardflussgruppe an Tag 5 nicht unterhalb des oberen Grenzwertes von 7,40 gehalten werden.

**Tab. 34 Abweichungen von den Prüfkriterien für TK Studienarm B Trima Accel**

Prüfparameter TK	Prüfkriterien	Trima Accel				
		TK 1	TK 2	TK 3	TK 4	TK 5
Restleukozyten [x 10 <sup>6</sup> /Einheit] Tag 0	< 1,00	3,24	erfüllt	erfüllt	erfüllt	erfüllt
pH-Wert Tag 5	6,5 – 7,4	erfüllt	erfüllt	erfüllt	7,50	erfüllt
	6,5 – 7,4	erfüllt	erfüllt	erfüllt	erfüllt	erfüllt

**Tab. 35 Abweichungen von den Prüfkriterien für TK Studienarm B Com.Tec 60 ml/Min**

Prüfparameter TK	Prüfkriterien	Com.Tec 60 ml/Min				
		TK 1	TK 2	TK 3	TK 4	TK 5
Restleukozyten [x 10 <sup>6</sup> /Einheit] Tag 0	< 1,00	erfüllt	erfüllt	erfüllt	erfüllt	erfüllt
pH-Wert Tag 5	6,5 – 7,4	5,99	6,47	erfüllt	6,43	erfüllt
	6,5 – 7,4	5,79	5,91	6,45	5,83	6,09

**Tab. 36 Abweichungen von den Prüfkriterien für TK Studienarm B Com.Tec Standardfluss**

Prüfparameter TK	Prüfkriterien	Com.Tec Standardfluss				
		TK 1	TK 2	TK 3	TK 4	TK 5
Restleukozyten [x 10 <sup>6</sup> /Einheit] Tag 0	< 1,00	erfüllt	erfüllt	1,04	erfüllt	1,70
pH-Wert Tag 5	6,5 – 7,4	erfüllt	erfüllt	6,30	-	-
	6,5 – 7,4	erfüllt	6,10	erfüllt	-	-

#### 4.2.3.4 Plasmapräparate Trima Accel versus Com.Tec 60 ml/Min

Die hergestellten Plasmapräparate beider Apheresegeräte wiesen im Durchschnitt vergleichbare Volumina auf (siehe Tab. 37). Ein Com.Tec-Präparat erreichte mit einem Volumen von 154,7 ml nicht das vorgeschriebene Normvolumen von 180 bis 260 ml.

Die pH-Werte beider Plasmapräparatetypen zeigten moderat signifikante Unterschiede mit niedrigeren Werten der Com.Tec-Präparate.

Die Anzahl an Restthrombozyten stellte hoch signifikante Unterschiede mit durchschnittlich  $1,2 \pm 1,3$  PLT/nl der Trima Accel-Präparate versus  $54,2 \pm 9,3$  PLT/nl bei den Com.Tec-Präparaten dar. Die Anzahl an Restleukozyten, Resterythrozyten sowie die Zitratkonzentration im Plasmapräparat gaben vergleichbare Werte zwischen beiden Präparatetypen an.

Die Messung der Aktivität der Gerinnungsfaktoren V, VIII und XI wies einen schwach signifikanten Unterschied mit höheren Werten der Faktor XI-Aktivität der Trima Accel-Produkte nach.

Alle Plasmapräparate unterlagen den Sterilitätskriterien.

**Tab. 37 Qualitätskontrolle GFP Studienarm B Trima Accel versus Com.Tec 60 ml/Min**

Parameter (n = 5)	Trima Accel	Com.Tec 60 ml/Min	p-Wert
	MW ± SD	MW ± SD	
Plasma-Volumen [ml]	206,4 ± 1,9	193,8 ± 21,8	0,267
Plasma-pH	7,3 ± 0,1	7,0 ± 0,0	0,004 <sup>M</sup>
Plasma-Restthrombozyten [x1/nl]	1,2 ± 1,3	54,2 ± 9,3	0,000 <sup>H</sup>
Plasma-Restleukozyten [x10 <sup>6</sup> /Einheit]	0,00 ± 0,0	0,07 ± 0,2	0,317 <sup>#</sup>
Plasma-Resterythrozyten [x1/nl]	0,01 ± 0,02	0,03 ± 0,05	0,521
Plasma-Zitrat [mmol/l]	3,0 ± 0,1	2,9 ± 0,1	0,325
Plasma Faktor V [%]	94,6 ± 8,2	76,0 ± 29,7	0,212
Plasma Faktor VIII [%]	99,7 ± 23,4	64,0 ± 30,5	0,072
Plasma Faktor XI [%]	100,8 ± 29,8	58,0 ± 22,0	0,032 <sup>S</sup>

# Mann-Whitney-U-Test

#### 4.2.3.5 Plasmapräparate Com.Tec 60 ml/Min versus Standardfluss

Beim Vergleich der Qualität der zwei Untergruppen der Com.Tec-Plasmapräparate konnte lediglich ein schwach signifikant höherer pH-Wert der Standardfluss-Subgruppe am Herstellungstag im Vergleich zur 60 ml/Min-Subgruppe festgestellt werden (siehe Tab. 38). Ansonsten zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Subgruppen.

Alle Plasmapräparate genügten den Sterilitätskriterien.

**Tab. 38 Qualitätskontrolle GFP Studienarm B Com.Tec 60 ml/Min versus Standardfluss**

Parameter (n = 5)	Com.Tec 60 ml/Min	Com.Tec Standardfluss	p-Wert
	MW ± SD	MW ± SD	
Plasma-Volumen [ml]	193,8 ± 21,8	198,4 ± 7,5	0,667
Plasma-pH	8,0 ± 0,0	7,1 ± 0,1 (n = 3)	0,012 <sup>S</sup>
Plasma-Restthrombozyten [x1/nl]	54,2 ± 9,3	75,8 ± 23,8	0,095
Plasma-Restleukozyten [x10 <sup>6</sup> /Einheit]	0,07 ± 0,17	0,02 ± 0,03	0,508
Plasma-Resterythrozyten [x1/nl]	0,03 ± 0,05	0,08 ± 0,10	0,367
Plasma-Zitrat [mmol/l]	2,9 ± 0,1	3,0 ± 0,1	0,245
Plasma Faktor V [%]	76,0 ± 29,7	94,2 ± 10,3	0,231
Plasma Faktor VIII [%]	64,0 ± 30,5	86,1 ± 42,0	0,368
Plasma Faktor XI [%]	58,0 ± 22,0	76,3 ± 17,9	0,186

#### 4.2.3.6 Abweichungen der Qualitätskontrollen von den Prüfkriterien für gefrorenes Frischplasma

Die Prüfkriterien der Bundesärztekammer für gefrorenes Frischplasma (GFP) wurden von allen Trima Accel-Präparaten vollständig erfüllt. Abweichungen wurden lediglich bei den Com.Tec-Präparaten festgestellt (siehe Tab. 39 und 40).

Ein Plasmapräparat der Com.Tec-Subgruppe bei limitierter Flussgeschwindigkeit unterschritt das zulässige Gesamtvolumen mit 154,7 ml deutlich.

Die zulässige Gesamtzahl von < 50 Restthrombozyten/nl nach Herstellung wurde von drei Plasmapräparaten der limitierten Subgruppe überschritten. Der institutsinterne Homburger Grenzwert von < 20 PLT/nl wurde von allen fünf Präparaten überschritten. Die fünf bei Standardfluss hergestellten Plasmapräparate überschritten alle den Grenzwert von < 50 Restthrombozyten/nl (Maximum: 116 PLT/nl). Insgesamt überschritten somit 80 % der Com.Tec-Plasmapräparate den Grenzwert der Richtlinien und 100 % den institutsinternen Grenzwert.

Desweiteren konnte ein Unterschreiten des Grenzwertes von 70 % der Aktivität des Faktors VIII von jeweils zwei Plasmapräparaten jeder Com.Tec-Subgruppe festgestellt werden. Spenderabhängige Einflussfaktoren wurden durch Analyse der Trima Accel-Präparate dieser Spender mit normwertigen Aktivitäten des Faktors VIII ausgeschlossen.

Insgesamt erfüllten dementsprechend 100 % der Trima Accel-Plasmapräparate die erforderlichen Kriterien, während 90 % der Com.Tec-GFP die Kriterien verfehlten.

**Tab. 39 Abweichungen von den Prüfkriterien für GFP Studienarm B Com.Tec 60 ml/Min**

Prüfparameter GFP	Prüfkriterien	Com.Tec 60 ml/Min				
		Plasma 1	Plasma 2	Plasma 3	Plasma 4	Plasma 5
Volumen [ml]	180 - 220	erfüllt	154,7	erfüllt	erfüllt	erfüllt
Restthrombozyten [x 1/nl]	< 50 bzw. < 20	50	61	46	47	67
Faktor VIII-Gehalt [% des Ausgangswertes]	≥ 70	erfüllt	46,6	erfüllt	21,1	erfüllt

**Tab. 40 Abweichungen von den Prüfkriterien für GFP Studienarm B Com.Tec Standardfluss**

Prüfparameter GFP	Prüfkriterien	Com.Tec Standardfluss				
		Plasma 1	Plasma 2	Plasma 3	Plasma 4	Plasma 5
Volumen [ml]	180 - 220	erfüllt	erfüllt	erfüllt	erfüllt	erfüllt
Restthrombozyten [x 1/nl]	< 50 bzw. < 20	55	75	62	116	71
Faktor VIII-Gehalt [% des Ausgangswertes]	≥ 70	52,5	erfüllt	49,0	erfüllt	erfüllt

### 4.3 Studienarm C

#### 4.3.1 Spendercharakteristika

Zur Herstellung der Dreifach-TKs im Rahmen des Studienarms C wurden fünf Spender (n = 5, 5 Männer) im Alter von 24 bis 41 Jahren (MW  $\pm$  SD: 30,8  $\pm$  6,6 Jahre) zur Studienteilnahme gebeten. Aus gesundheitlichen Gründen konnte einer dieser fünf Spender nicht zur zweiten Apherese erscheinen, so dass in diesem Studienarm lediglich Daten von vier Apheresen mit dem Zellseparator Trima Accel vorliegen. Infolgedessen wurden zur statistischen Analyse der gepaarten Stichprobe jeweils nur vier Datensätze herangezogen.

Die anthropometrischen und hämatologischen Ausgangswerte der Spender zeigten bei beiden Verfahren vergleichbare Werte (siehe Tab. 41). Zur Durchführung der Einarm-Apheresen mit der Trima Accel wurden drei Spender am rechten Arm punktiert. Die Apheresen der Com.Tec wurden nach beidseitiger Punktion im Zweiarm-Verfahren vorgenommen.

**Tab. 41 Spendercharakteristika Studienarm C**

Parameter (n = 4)	Trima Accel		Com.Tec		p-Wert
	MW $\pm$ SD	Min. - Max.	MW $\pm$ SD	Min. - Max.	
Körpergewicht [kg]	82,5 $\pm$ 12,7	68 – 98	82,3 $\pm$ 14,1	65 - 98	0,824
Körpergröße [m]	1,8 $\pm$ 0,0	1,78 – 1,85	1,8 $\pm$ 0,0	1,78 – 1,83	-
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	25,6 $\pm$ 3,4	21,5 – 29,3	25,5 $\pm$ 3,9	20,5 – 29,3	0,826
GBV [l]	5,4 $\pm$ 0,5	4,9 – 6,0	5,4 $\pm$ 0,5	4,8 - 6,0	0,824
prä-Hkt [%]	42,6 $\pm$ 1,5	40,6 – 44,0	41,8 $\pm$ 1,7	40,5 – 44,3	0,440
prä-PLT [x1/nl]	330,3 $\pm$ 25,7	312 – 367	347,0 $\pm$ 22,9	314 – 367	0,304
prä-MPV [fl]	9,6 $\pm$ 0,4	9,1 – 10,0	9,1 $\pm$ 0,4	8,7 – 9,6	0,073
prä-WBC [x1/nl]	6,1 $\pm$ 1,3	4,7 – 7,8	5,5 $\pm$ 0,7	4,6 – 6,3	0,444

#### 4.3.2 Verfahrensdaten und Gerätegenauigkeit

##### Verfahrensdaten

Die Zusammenstellung der Verfahrensdaten ist in Tabelle 42 vorgenommen.

In diesem Studienarm konnten keine eindeutigen Differenzen bezüglich der Verfahrenszeit, dem Thrombozyten-Ertrag und der Sammlungseffizienz beider Zellseparatoren festgestellt werden. Allerdings zeigten sich auch hier Tendenzen zu einer geringeren Verfahrenszeit bei einer höheren Sammlungsrate und Sammlungseffizienz sowie einem niedrigeren verarbeiteten Blutvolumen der Trima Accel. Durch Vergrößerung des Stichprobenumfangs ist eine mögliche Varifizierung und vermutliche Darstellung der Differenzen als signifikante Unterschiede erdenklich.

Tab. 42 Verfahrensdaten Studienarm C

Parameter	Trima Accel (n = 4)	Com.Tec (n = 4)	p-Wert
	MW ± SD	MW ± SD	
Verfahrenszeit [Min]	69,8 ± 6,2	77,0 ± 10,0	0,086
Blutrückführungszeit [Min]	2,4 ± 1,0	3,3 ± 0,0	0,176
Nachbereitungszeit [Min]	-	4,1 ± 1,0	-
Gesamtzeit [Min]	72,2 ± 7,1	84,4 ± 9,9	0,021 <sup>S</sup>
Verarbeitetes Blutvolumen [ml]	4,2 ± 0,3	4,6 ± 0,3	0,015 <sup>S</sup>
NaCl-Verbrauch [ml]	-	638,2 ± 5,4	-
ACD-Verbrauch [ml]	450,0 ± 34,2	668,3 ± 25,2	0,001 <sup>H</sup>
ACD-Infusionsrate [ml/Min/l]	1,2 ± 0,1	1,6 ± 0,1	0,003 <sup>M</sup>
TSD 8,0 [Min]	61,5 ± 12,0	70,9 ± 6,1	0,095
CR [x10 <sup>11</sup> /h]	8,0 ± 1,3	6,8 ± 0,6	0,078
CE [%]	78,3 ± 7,8	68,3 ± 5,8	0,208
post-Hkt [%]	44,5 ± 1,7	43,2 ± 2,1	0,086
post-PLT [x1/nl]	236,3 ± 25,6	202,8 ± 24,2	0,012 <sup>S</sup>
post-MPV [ffl]	9,2 ± 0,6	9,0 ± 0,3	0,335
post-WBC [x1/nl]	6,7 ± 1,5	5,7 ± 1,0	0,340
TK-Volumen [ml]	747,0 ± 11,1	701,7 ± 19,1	0,855
PLT-Konzentration [x1/nl]	1232,0 ± 130,4	1235,8 ± 83,0	0,965
PLT-Ertrag [x10 <sup>11</sup> /Einheit]	9,2 ± 0,9	8,7 ± 0,6	0,443

Der ACD-Verbrauch zeigte hoch signifikant niedrigere Werte unter Verwendung der Trima Accel bei einer moderat signifikant niedrigeren ACD-Infusionsrate (siehe Abb. 28 und 29). Aufgrund der eindeutigen Differenz kann davon ausgegangen werden, dass die Signifikanzen auch bei Vergrößerung des Stichprobenumfangs bestehen bleiben. Bei Verwendung der Com.Tec wurde ein zusätzliches Volumen von durchschnittlich 638,2 ± 5,4 ml Kochsalz-Lösung benötigt.

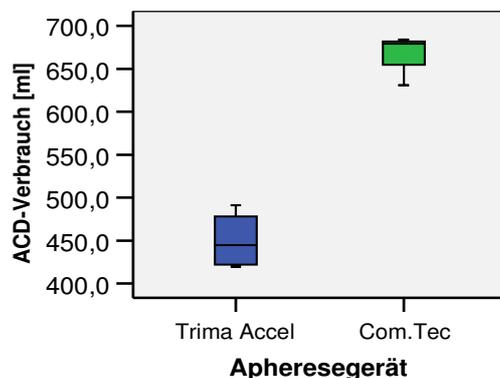


Abb. 28 ACD-Verbrauch Studienarm C

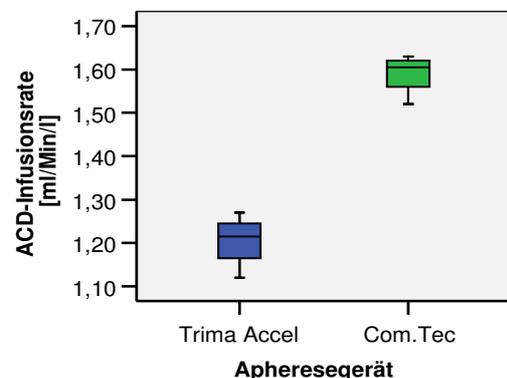


Abb. 29 ACD-Infusionsrate Studienarm C

Schwach differente Thrombozytenwerte im Spenderblut nach Abschluss der Apherese mit höheren Werten bei der Trima Accel konnten gezeigt werden. Alle post-PLT-Werte im Spenderblut lagen nach Abschluss der Apherese oberhalb des Normalwertes von 150 /nl.

Das maximal zulässige Bruttoentnahmevervolumen (inklusive Antikoagulanzen, exklusive Untersuchungsproben) pro Thrombozytapherese beträgt 750 ml (Richtlinien (BÄK), 2005). Dieses Volumen wurde trotz eines einprogrammierten Zielvolumens von 720 ml in zwei der vier Trima Accel-Verfahren überschritten. Insgesamt lag in allen vier Trima Accel-Verfahren das hergestellte Gesamt-TK-Volumen über dem Zielvolumen von 720 ml. Bei den Com.Tec-Verfahren hingegen wurde das eingestellte Zielvolumen von 725 ml in allen vier Apheresen nicht erreicht.

Der Ziel-PLT-Ertrag im TK von  $8,0 \times 10^{11}$  PLT wurde sowohl in einem Trima Accel- als auch in einem Com.Tec-Verfahren unterschritten. Im Durchschnitt konnte kein signifikanter Unterschied zwischen beiden TK-Typen nachgewiesen werden.

### Gerätegenauigkeit

Die Geräteangaben in diesem Studienarm unterschätzen die Verfahrenszeit, ohne dass sich hier ein signifikanter Unterschied zeigte (siehe Tab. 43).

Der ACD-Verbrauch wurde wiederum durch Com.Tec deutlich, mit der Trima Accel nur gering unterbewertet.

Die Trima Accel unterschätzte und die Com.Tec überschätzte die hergestellten TK-Volumina. Der PLT-Ertrag der TKs wurde von beiden Geräten unterbewertet. Bezüglich dieser Angaben konnte kein signifikanter Unterschied erhoben werden.

Die PLT-Werte der Spender nach der Apherese wurden durch die Trima Accel deutlich unterschätzt. Es bot sich ein hoch signifikanter Unterschied beider Geräteangaben dar.

**Tab. 43 Gerätegenauigkeit Studienarm C**

Parameter	Trima Accel (n = 4)	Com.Tec (n = 4)	p-Wert
	MW ± SD	MW ± SD	
Kalkulierte Verfahrenszeit [Min] (Geräteangabe - Gemessene Zeit)	-0,3 ± 0,5	-1,3 ± 1,3	0,092
Verfahrenszeit [Min] (Geräteangabe - Gemessene Zeit)	-0,3 ± 1,5	-1,5 ± 1,3	0,080
ACD-Verbrauch [ml] (Geräteangabe - Gemessener Verbrauch)	-2,0 ± 5,0	-54,5 ± 34,1	0,070
TK-Volumen [ml] (Geräteangabe - Gemessenes Volumen)	-27,0 ± 10,8	23,3 ± 19,1	0,017 <sup>S*</sup>
PLT-Ertrag [ $\times 10^{11}$ ] (Gemessener Ertrag - Geräteangabe)	-1,2 ± 0,9	-0,7 ± 0,6	0,443*
Hkt-Nachwert [%] (Geräteangabe - Gemessener Nachwert)	-3,2 ± 1,4	-	-
PLT-Nachwert [ $\times 1/nl$ ] (Geräteangabe - Gemessener Nachwert)	-60,5 ± 10,4	0,5 ± 18,4	0,001 <sup>H</sup>

\* Wilcoxon-Test

### 4.3.3 Operatoren- und Spenderkomfort

#### Operatorenkomfort

Bezüglich der Anzahl an Interventionen während der Durchführung beider Aphereseverfahren konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden ( $p = 0,504$ ). In den Trima Accel-Verfahren musste das Personal in 75 % der Apheresen eingreifen (MW  $\pm$  SD:  $1,8 \pm 1,5$  Interventionen/Apherese, Spannweite: 0-3). Dabei wurden insgesamt sieben Eingriffe erforderlich (71 % Ausschalten von Alarmen, 29 % Nebenwirkungen).

Bei den Com.Tec-Apheresen waren ebenfalls in drei der vier Apheresen Eingriffe erforderlich (MW  $\pm$  SD:  $3,0 \pm 4,1$  Interventionen/Apherese, Spannweite: 0-9); insgesamt wurden 12 Interventionen registriert (92 % Ausschalten von Alarmen, 8 % Nebenwirkungen).

#### Spenderkomfort

Bei sieben von acht durchgeführten Thrombozytapheresen traten Nebenwirkungen auf, die alle aber nur als milde zitrattypische Reaktionen (Grad 1 und 2) ausfielen. Zwischen beiden Geräten konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

Auch bei der subjektiven Bewertung der Verfahren zeichnete sich kein signifikanter Unterschied aus. Jedoch wählten alle vier Spender die Trima Accel als bevorzugtes Apheresegerät. Als Begründung nannten drei Spender die Durchführung der Apheresen im Einarm-Verfahren. Der vierte Spender bevorzugte die Trima Accel aufgrund geringerer Nebenwirkungen und somit einem angenehmerem Aphereseverfahren.

### 4.3.4 Qualitätskontrolle

Auskunft über die Qualität der Dreifach-PLT-Konzentrate wurde durch die statistische Analyse je eines Einzelproduktes der Spender am jeweiligen Apheresegerät erhalten. Somit liegen zum gepaarten Vergleich wiederum Fall je vier Datensätze von TKs der Trima Accel und der Com.Tec vor.

### TK-Volumen, PLT-Konzentration, MPV, Restleukozyten, Resterythrozyten und Zitratkonzentration

Die Ausgangsvolumina der Thrombozytenkonzentrate an Tag 0 unterschieden sich bei beiden Aphereseegeräten schwach signifikant mit höheren Volumina der Trima Accel-TKs (siehe Tab. 44 und 45). Dieser Unterschied setzte sich über die gesamte Lagerungszeit von 7 Tagen fort. Insgesamt nahm das Volumen in beiden Gruppen mit der Lagerung ab.

Die Konzentration der Thrombozyten im TK sowie das Mittlere Plättchenvolumen zeigten vergleichbare Werte zwischen beiden TK-Typen.

Die Restzellzahlen an Leukozyten und Erythrozyten im TK wiesen keinen signifikanten Unterschied beider TK-Typen auf. Die Zitratkonzentrationen beider Konzentrattypen waren ebenfalls vergleichbar.

**Tab. 44 Qualitätskontrolle I Studienarm C**

Parameter (n = 4)	Tag	Trima Accel	Com.Tec	p-Wert
		MW ± SD	MW ± SD	
TK-Volumen [ml] vor Probenentnahme nach Probenentnahme	0	241,7 ± 4,9	223,6 ± 5,9	0,011 <sup>S</sup>
	0	227,1 ± 5,1	207,0 ± 6,3	0,024 <sup>S</sup>
TK-Volumen [ml] vor Probenentnahme nach Probenentnahme	5	223,8 ± 5,7	203,7 ± 5,8	0,026 <sup>S</sup>
	5	209,6 ± 6,0	188,8 ± 7,2	0,034 <sup>S</sup>
TK-Volumen [ml] vor Probenentnahme nach Probenentnahme	7	208,5 ± 5,6	187,7 ± 6,7	0,023 <sup>S</sup>
	7	195,0 ± 6,3	171,5 ± 7,6	0,031 <sup>S</sup>
Differenz TK-Volumen [ml]	0-5	3,3 ± 1,0	3,3 ± 0,8	0,933
	5-7	1,1 ± 0,9	1,1 ± 0,8	0,951
PLT-Konzentration [x1/nl]	0	1232,0 ± 130,4	1235,8 ± 83,0	0,965
	5	1199,0 ± 58,4	1323,8 ± 158,2	0,236
	7	1161,8 ± 92,0	1186,0 ± 64,9	0,703
PLT pro Einheit [x10 <sup>11</sup> ]	0	3,0 ± 0,3	2,7 ± 0,3	0,188
	5	2,7 ± 0,1	2,7 ± 0,4	0,939
	7	2,4 ± 0,2	2,2 ± 0,2	0,291
MPV [fl]	0	7,8 ± 0,4	7,7 ± 0,3	0,624
	5	8,1 ± 0,6	8,1 ± 0,2	0,195
	7	7,8 ± 0,3	8,1 ± 0,4	0,184
Restleukozyten pro Ein- heit [x10 <sup>6</sup> ]	0	0,7 ± 0,8	2,1 ± 3,5	0,558
Resterythrozyten pro Einheit [x10 <sup>9</sup> ]	0	0,01 ± 0,01	0,04 ± 0,04	0,205
Zitrat [mmol/l]	0	3,1 ± 0,1	3,5 ± 0,2	0,491

**Tab. 45 Unterschiede I zwischen den Lagerungstagen 0, 5 und 7 getrennt nach Apheresegerät Studienarm C**

Parameter (n = 4)	Trima Accel			Com.Tec		
	p-Wert Tag 0 vs. Tag 5	p-Wert Tag 5 vs. Tag 7	p-Wert Tag 0 vs. Tag 7	p-Wert Tag 0 vs. Tag 5	p-Wert Tag 5 vs. Tag 7	p-Wert Tag 0 vs. Tag 7
TK-Volumen [ml]	0,008 <sup>M</sup>	0,103	0,000 <sup>H</sup>	0,004 <sup>M</sup>	0,059	0,000 <sup>H</sup>
PLT-Konzentration [x1/nl]	0,451	0,201	0,093	0,112	0,091	0,123
PLT pro Einheit [x10 <sup>11</sup> ]	0,060	0,006 <sup>M</sup>	0,008 <sup>M</sup>	0,976	0,030 <sup>S</sup>	0,004 <sup>M</sup>
MPV [fl]	0,697	1,000	0,749	0,115	1,000	0,174

**Visuelle Kontrolle, Swirling, Aggregation und CD62P**

Bei zwei Com.Tec-TKs wurden deutliche Erythrozytenablagerungen an Tag 5 und Tag 7 sichtbar. Über die gesamte Lagerungszeit von 7 Tagen wurde das Swirling-Phänomen der Thrombozytenkonzentrate beider Zellseparatoren überwiegend mit exzellent (Grad 3) oder gut (Grad 2) beurteilt (siehe Tab. 46 und 47). Lediglich ein Com.Tec-Produkt an Tag 7 wurde mit schlecht (Grad 1) bewertet.

Sowohl die Kollagen-induzierte maximal erreichte Thrombozytenaggregation als auch die Expression des CD62P-Antigens auf der Thrombozyten-Oberfläche zeigten im Vergleich beider TK-Typen keinen signifikanten Unterschied. Die Thrombozytenaggregation sank mit der Lagerungszeit ab, die CD62P-Expression hingegen stieg an.

**Tab. 46 Qualitätskontrolle II Studienarm C**

Parameter (n = 4)	Tag	Trima Accel	Com.Tec	p-Wert
		MW ± SD	MW ± SD	
Swirling	0	3,0 ± 0,0	3,0 ± 0,0	1,000*
	5	3,0 ± 0,0	2,8 ± 0,5	0,317*
	7	2,5 ± 0,6	2,0 ± 0,8	0,182
Aggregometrie [%]	0	92,5 ± 5,0	93,0 ± 5,8	0,869
	5	66,8 ± 6,5	57,0 ± 22,1	0,316
	7	58,0 ± 6,6	39,0 ± 23,8	0,218
CD62P [%]	0	17,2 ± 5,8	15,1 ± 7,2	0,601
	5	52,0 ± 4,2	52,8 ± 10,9	0,906
	7	61,5 ± 11,2	71,1 ± 15,3	0,292

\* Wilcoxon-Test

**Tab. 47 Unterschiede II zwischen den Lagerungstagen 0, 5 und 7 getrennt nach Apheresegerät Studienarm C**

Parameter (n = 4)	Trima Accel			Com.Tec		
	p-Wert Tag 0 vs. Tag 5	p-Wert Tag 5 vs. Tag 7	p-Wert Tag 0 vs. Tag 7	p-Wert Tag 0 vs. Tag 5	p-Wert Tag 5 vs. Tag 7	p-Wert Tag 0 vs. Tag 7
Swirling	1,000*	0,157*	0,157*	0,317*	0,215*	0,102
Aggregometrie [%]	0,001 <sup>H</sup>	0,185	0,004 <sup>M</sup>	0,048 <sup>S</sup>	0,158	0,030 <sup>S</sup>
CD62P [%]	0,001 <sup>H</sup>	0,152	0,010 <sup>S</sup>	0,009 <sup>M</sup>	0,013 <sup>S</sup>	0,009 <sup>M</sup>

\* Wilcoxon-Test

### pH, Glukose, Laktat, LDH und Sterilität der Thrombozytenkonzentrate

Die pH-Werte der Thrombozytenkonzentrate zeigten bei beiden TK-Typen ein paralleles An- und Absteigen über die Lagerungszeit (siehe Tab. 48 und 49). Es wurde kein signifikanter Unterschied zwischen den Werten beider Geräte erhoben.

Gleichartige Veränderungen konnten auch bei Betrachtung der Glukosekonzentrationen im TK mit signifikantem Absinken über alle Lagerungstage festgestellt werden.

Indessen nahm die Konzentration an Laktat der Konzentrate von Tag 0 über Tag 5 auf Tag 7 zu, ebenfalls ohne dass sich hier ein signifikanter Unterschied zwischen den Trima Accel- und den Com.Tec-Konzentraten aufwies.

Der Vergleich der LDH-Konzentrationen an den einzelnen Tagen zwischen den zwei TK-Typen deckte keinen signifikanten Unterschied auf.

Die Sterilitätskriterien wurden durch einen negativen Befund auf Bakterienwachstum nach siebentägiger Bebrütung durch alle Thrombozytenkonzentrate eingehalten.

**Tab. 48 Qualitätskontrolle III Studienarm C**

Parameter (n = 4)	Tag	Trima Accel	Com.Tec	p-Wert
		MW ± SD	MW ± SD	
pH	0	7,2 ± 0,0	7,2 ± 0,1	0,286
	5	7,4 ± 0,1	7,2 ± 0,2	0,078
	7	7,2 ± 0,2	7,0 ± 0,3	0,087
Glukose [mg/dl]	0	352,3 ± 14,7	349,5 ± 17,8	0,875
	5	255,5 ± 13,7	255,5 ± 29,1	1,000
	7	216,8 ± 28,4	199,8 ± 24,9	0,186
Laktat [mmol/l]	0	2,0 ± 0,4	2,8 ± 1,9	0,529
	5	11,0 ± 2,2	12,3 ± 2,3	0,080
	7	15,6 ± 3,1	17,0 ± 3,7	0,155
LDH [U/l]	0	123,8 ± 6,8	124,3 ± 39,7	0,980
	5	198,3 ± 6,2	252,5 ± 153,6	0,521
	7	218,0 ± 9,2	195,3 ± 78,8	0,567

\* Wilcoxon-Test

**Tab. 49 Unterschiede III zwischen den Lagerungstagen 0, 5 und 7 getrennt nach Apheresegerät Studienarm C**

Parameter (n = 4)	Trima Accel			Com.Tec		
	p-Wert Tag 0 vs. Tag 5	p-Wert Tag 5 vs. Tag 7	p-Wert Tag 0 vs. Tag 7	p-Wert Tag 0 vs. Tag 5	p-Wert Tag 5 vs. Tag 7	p-Wert Tag 0 vs. Tag 7
pH	0,089	0,021 <sup>S</sup>	0,934	0,315	0,010 <sup>S</sup>	0,210
Glukose [mg/dl]	0,000 <sup>H</sup>	0,033 <sup>S</sup>	0,001 <sup>H</sup>	0,020 <sup>S</sup>	0,000 <sup>H</sup>	0,004 <sup>S</sup>
Laktat [mmol/l]	0,003 <sup>M</sup>	0,002 <sup>M</sup>	0,003 <sup>M</sup>	0,019	0,008 <sup>M</sup>	0,014 <sup>M</sup>
LDH [U/l]	0,000 <sup>H</sup>	0,012 <sup>S</sup>	0,001 <sup>H</sup>	0,269	0,293	0,247

\* Wilcoxon-Test

### Abweichungen der Qualitätskontrollen von den Prüfkriterien für TK

Sowohl bei den untersuchten Trima Accel- als auch bei den Com.Tec-Konzentraten konnten Abweichungen von den Prüfkriterien für leukozytendepletierte Thrombozytenapheresekonzentrate im Rahmen der Qualitätskontrolluntersuchung festgestellt werden (siehe Tab. 50 und 51).

Die zulässige Gesamtzahl von  $< 1,00 \times 10^6$  Restleukozyten/Einheit nach Herstellung wurde jeweils von einem Thrombozytenkonzentrat jedes Herstellers überschritten. Der pH-Wert konnte von zwei Trima Accel- und einem Com.Tec-TK an Tag 5 nicht unterhalb des oberen Grenzwertes von 7,40 gehalten werden.

Insgesamt erfüllten somit je zwei der vier untersuchten Trima Accel- und Com.Tec-Konzentrate nicht die erforderlichen Kriterien.

**Tab. 50 Abweichungen von den Prüfkriterien Studienarm C, Trima Accel**

Prüfparameter	Prüfkriterien	Trima Accel				
		TK 1	TK 2	TK 3	TK 4	
Restleukozyten [x 10 <sup>6</sup> /Einheit] Tag 0	< 1,00	1,81	erfüllt	erfüllt	erfüllt	
pH-Wert	Tag 5	6,5 – 7,4	7,45	erfüllt	7,46	erfüllt
	Tag 7	6,5 – 7,4	erfüllt	erfüllt	erfüllt	erfüllt

**Tab. 51 Abweichungen von den Prüfkriterien Studienarm C, Com.Tec**

Prüfparameter	Prüfkriterien	Com.Tec				
		TK 1	TK 2	TK 3	TK 4	
Restleukozyten [x 10 <sup>6</sup> /Einheit] Tag 0	< 1,00	erfüllt	erfüllt	erfüllt	7,90	
pH-Wert	Tag 5	6,5 – 7,4	7,46	erfüllt	erfüllt	erfüllt
	Tag 7	6,5 – 7,4	erfüllt	erfüllt	erfüllt	erfüllt

#### 4.3.5 Transfusion der Dreifach-Thrombozytenkonzentrate

In Studienarm C wurden insgesamt 27 Thrombozytenkonzentrate hergestellt, von denen 18 zur Transfusion freigegeben wurden (unter Berücksichtigung von vier Spender mit der Trima Accel und fünf Spender der Com.Tec).

17 Thrombozytenkonzentrate wurden nach schriftlicher ärztlicher Anforderung an Patienten mit hämatonkologischen Grunderkrankungen ausgegeben und transfundiert. Ein Thrombozytenkonzentrat konnte aufgrund mangelnder Anforderungen während der Lagerungszeit von fünf Tagen nicht ausgegeben werden und verfiel daher.

Das Patientenkollektiv umfasste lediglich 15 Patienten, da ein Patient insgesamt drei der Studien-TKs erhielt. Die Patientencharakteristika bei Transfusion sind in Tabelle 52 erläutert.

Tab. 52 Patientencharakteristika Studienarm C

Parameter	Trima Accel (n = 7)	Com.Tec (n = 10)
Männer/Frauen	5/2	8/2
Alter [Jahre]	57,7 ± 11,0	58,1 ± 11,5
Körperoberfläche [m <sup>2</sup> ]	1,7 ± 0,2	1,9 ± 0,2
Körpergewicht [kg]	69,3 ± 14,6	78,9 ± 16,7
Akute Leukämie	3	3
Chronische Leukämie	1	0
Morbus Hodgkin	1	1
Non-Hodgkin-Lymphome	2	5
Idiopathische Myelofibrose	0	1
Temperatur > 38 °C	3 (43 %)	1 (10 %)
Bakteriologische Infektion	4 (57 %)	4 (40 %)
Splenomegalie	0	1 (10%)
Amphotericin B-Medikation	5 (71 %)	6 (60 %)
ABO-kompatible Transfusion	5 (71 %)	6 (60%)
TK bestahlt	6 (86 %)	10 (100 %)
Erneute Transfusion < 24 h	2 (29 %)	5 (50 %)

Nach jeder Transfusion wurde das korrigierte 1-Stunden-Inkrement sowie das 18-bis-24-Stunden-Inkrement (CCI<sub>1h</sub> bzw. CCI<sub>24h</sub>) berechnet. Die detaillierte Beschreibung dieser Daten liegt in folgender Tabelle vor. Insgesamt ergaben sich hierbei keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Patientengruppen.

Tab. 53 Effektivität der TK-Transfusionen Studienarm C

Parameter	Trima Accel (n = 7)		Com.Tec (n = 10)		p-Wert
	MW ± SD	Min. - Max.	MW ± SD	Min. - Max.	
PLT-Gehalt des TK [x10 <sup>11</sup> ]	3,2 ± 0,3	2,7 – 3,4	3,0 ± 0,2	2,7 – 3,2	0,099
WBC-Gehalt des TK [x10 <sup>9</sup> ]	0,8 ± 0,8	0,03 – 1,87	1,8 ± 3,4	0,08 – 8,36	0,204 <sup>#</sup>
prä-PLT [x1/nl]	18,7 ± 12,4	10,0 – 46,0	12,5 ± 5,4	6,0 – 21,0	0,176
prä-Hkt [%]	28,9 ± 4,9	23,0 – 37,0	28,3 ± 2,8	22,0 – 32,0	0,768
prä-WBC [x1/nl]	1,7 ± 2,3	0,1 – 6,5	1,0 ± 1,1	0,0 – 2,6	0,403
1h-PLT [x1/nl]	44,0 ± 29,8	13,0 – 98,0	38,8 ± 32,1 (n = 8)	17,0 – 34,0	0,124
1h-Hkt [%]	27,4 ± 3,6	21,9 – 32,0	26,4 ± 2,0 (n = 8)	23,9 – 30,6	0,498
CCI <sub>1h</sub>	13,3 ± 11,0	-1,1 – 27,8	6,4 ± 1,9 (n = 8)	3,5 – 9,3	0,148
24h-PLT [x1/nl]	39,1 ± 28,3	10,0 – 85,0	20,6 ± 13,2	4,0 – 47,0	0,145
24h-Hkt [%]	28,9 ± 3,4	23,0 – 34,0	27,6 ± 3,4	22,0 – 33,0	0,467
CCI <sub>24h</sub>	9,8 ± 12,2	-7,1 – 26,3	5,5 ± 8,2	-5,9 – 16,8	0,402

<sup>#</sup> Mann-Whitney-U-Test

#### 4.4 Kosteneffizienz

Im Rahmen der Betrachtung der Wirtschaftlichkeit stehen bei gleicher Wirksamkeit die Kosten zur Herstellung der verschiedenen Thrombozytenkonzentrate im Vordergrund. Die Kalkulation erfolgt anhand einer Modellrechnung unter folgenden Annahmen:

Das Spenderaufkommen beträgt durchschnittlich 20 Spender pro Tag an vier Arbeitstagen pro Woche und 52 Wochen pro Jahr, so dass jährlich 4 160 Aphereseverfahren durchgeführt werden.

Die Spenderpopulation teilt sich dabei in 80 % Studienarm A, 10 % Studienarm B (5 % Studienarm B.1, 5 % Studienarm B.2) und 10 % Studienarm C auf. Da von einem Spender in Studienarm A zwei Thrombozytenkonzentrate, in Studienarm B ein TK und in Studienarm C drei TKs anfallen, werden demnach 8 320 Thrombozytenkonzentrate pro Jahr hergestellt. Die simultane Gewinnung von gefrorenen Frischplasmen in Studienarm B wurde nicht in der modellhaften Kostenrechnung berücksichtigt.

Zusammenfassend ergeben sich aus den im Rahmen dieser Studie ermittelten Verfahrens-, Blutrückführungs- und Nachbereitungszeiten für die einzelnen Studienarme und Geräte folgende durchschnittliche Gesamt-Verfahrenszeiten:

**Tab. 54 Durchschnittliche Gesamt-Verfahrenszeiten**

Gesamt-Verfahrenszeiten	Trima Accel	Com.Tec
Studienarm A	84,3 Minuten	111,4 Minuten
Studienarm B.1	61,4 Minuten	93,1 Minuten
Studienarm B.2	61,5 Minuten	108,9 Minuten
Studienarm C	88,2 Minuten	105,4 Minuten
Gewogener Durchschnitt	82,4 Minuten	109,8 Minuten

Unter Berücksichtigung der Spenderverteilung ergeben sich daraus durchschnittliche gewogene Verfahrenszeiten von 82,4 Minuten für die Trima Accel und von 109,8 Minuten für die Com.Tec. Bei einer täglichen maximalen Gerätelaufzeit von 480 Minuten (8 Stunden à 60 Minuten) sind demnach vier Trima Accel- und fünf Com.Tec-Zellseparatoren zur Bearbeitung von jeweils 20 Spendern erforderlich.

Jeder Operator kann bis zu drei Spender gleichzeitig betreuen, so dass jeweils zwei Operatoren zur Durchführung der Aphereseverfahren und Bedienung der vier bzw. fünf Geräte benötigt werden. Dabei wird von einer Beschäftigung von Krankenschwestern und Arzthelfern als Operatoren in gleichem Verhältnis in der Spendeabteilung ausgegangen.

Für die ärztliche Untersuchung des Spenders durch einen Assistenzarzt werden 5 Minuten/Spender veranschlagt.

Als jährliche Kosten für die Aufbereitung bei der genannten Spenderanzahl und durchschnittlichen Verfahrenszeit ergeben sich in der Modellrechnung (siehe Tabelle 9 Kostenfaktoren Aphereseverfahren (modellhafte Annahmen)) demnach:

**Tab. 55 Kosten für 4 160 Aphereseverfahren**

	Trima Accel	Com.Tec
<b>Personalkosten (inkl. 23 % Arbeitgeber-Anteil)</b>	<b>82.705 €</b>	<b>87.200 €</b>
Operatoren (Gesamt-Verfahrenszeit x Personalkosten/Min)	68.561 €	73.056 €
Ärztliche Untersuchung durch Assistenzarzt	14.144 €	
<b>Materialkosten</b>	<b>748.800 €</b>	<b>563.676 €</b>
Apheresesets	578.240 €	374.400 €
Zitrat- und/oder Kochsalz-Lösung	20.800 €	43.676 €
Infektionsserologie	145.600 €	
<b>Aufwandsentschädigung</b>	<b>228.800 €</b>	
<b>Summe Kosten vor Investition</b>	<b>1.060.305 €</b>	<b>879.676 €</b>

Die Investitions- und Wartungskosten werden auf Basis der Anschaffung von vier Geräten des Typs Trima Accel bzw. fünf Geräten des Typs Com.Tec berechnet. Die Gerätelaufzeit und damit die Abschreibungsdauer wird auf 8 Jahre festgelegt. Der Abzinsungsfaktor wird mit 10,00 % angesetzt (siehe Tab. 56 und 57).

**Tab. 56 Auszahlungen Trima Accel**

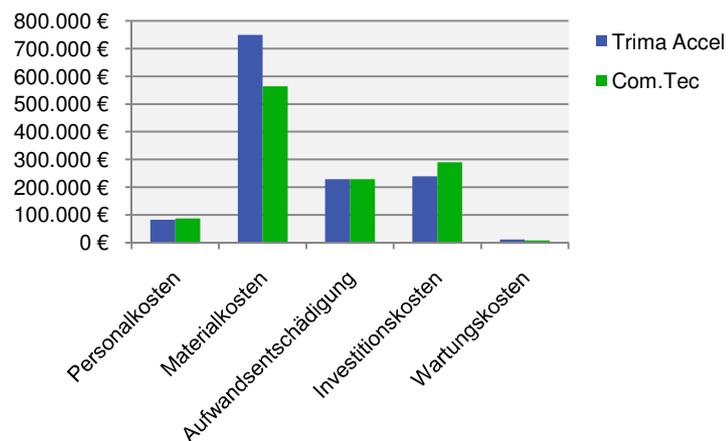
Trima Accel	Investitions-kosten	Wartungs-kosten/Jahr	Summe Kosten vor Investition	Saldo	Abzinsung 10 %	Abgezinsten Auszahlungen
<b>Jahr 1</b>	240.000 €	12.000 €	1.060.305 €	1.312.305 €	1,0000	1.312.305 €
<b>Jahr 2</b>	-	12.000 €	1.060.305 €	1.072.305 €	0,9091	974.823 €
<b>Jahr 3</b>	-	12.000 €	1.060.305 €	1.072.305 €	0,8264	886.202 €
<b>Jahr 4</b>	-	12.000 €	1.060.305 €	1.072.305 €	0,7513	805.639 €
<b>Jahr 5</b>	-	12.000 €	1.060.305 €	1.072.305 €	0,6830	732.399 €
<b>Jahr 6</b>	-	12.000 €	1.060.305 €	1.072.305 €	0,6209	665.817 €
<b>Jahr 7</b>	-	12.000 €	1.060.305 €	1.072.305 €	0,5645	605.288 €
<b>Jahr 8</b>	-	12.000 €	1.060.305 €	1.072.305 €	0,5132	550.262 €
<b>Gesamt Jahr 1-8</b>	240.000 €	96.000 €	8.482.440 €	8.818.440 €	-	6.532.735 €

**Tab. 57 Auszahlungen Com.Tec**

Com.Tec	Investitions-kosten	Wartungs-kosten/Jahr	Summe Kosten vor Investition	Saldo	Abzinsung 10 %	Abgezinsten Auszahlungen
<b>Jahr 1</b>	290.000 €	7.500 €	879.676 €	1.177.176 €	1,0000	1.177.176 €
<b>Jahr 2</b>	-	7.500 €	879.676 €	887.176 €	0,9091	806.524 €
<b>Jahr 3</b>	-	7.500 €	879.676 €	887.176 €	0,8264	733.203 €
<b>Jahr 4</b>	-	7.500 €	879.676 €	887.176 €	0,7513	666.549 €
<b>Jahr 5</b>	-	7.500 €	879.676 €	887.176 €	0,6830	605.953 €
<b>Jahr 6</b>	-	7.500 €	879.676 €	887.176 €	0,6209	550.867 €
<b>Jahr 7</b>	-	7.500 €	879.676 €	887.176 €	0,5645	500.788 €
<b>Jahr 8</b>	-	7.500 €	879.676 €	887.176 €	0,5132	455.262 €
<b>Gesamt Jahr 1-8</b>	290.000 €	60.000 €	7.037.408 €	7.387.408 €	-	5.496.321 €

Unter Berücksichtigung der Abzinsung ergeben sich in der Modellrechnung bei Investitionen für vier Apheresegeräte der Trima Accel Auszahlungen in Höhe von 6.532.735 € und für fünf Zellseparatoren der Com.Tec von 5.496.321 €. Die Differenz des Kapitalwertes der abgezinsten Auszahlungen bei einer Laufzeit von 8 Jahren beträgt demnach 1.036.414 € zugunsten der Com.Tec.

Die Aufschlüsselung der jährlichen Kosten nach den einzelnen Kostenfaktoren lässt die Materialkosten als Haupteinflussfaktor auf die Gesamtkosten erkennen.



**Abb. 30 Verteilung der jährlichen Kosten**

Aufgrund der Anschaffung von fünf Zellseparatoren der Com.Tec sowie längeren Verfahrenszeiten zeigen sich für die Com.Tec höhere Investitions- und Personalkosten. Diese werden durch niedrigere Materialkosten überkompensiert. Der Haupteinflussfaktor auf die Materialkosten sind die Kosten der Apheresesets. Die Differenz von 50 € pro Aphereseset in der Modellrechnung schlägt sich dementsprechend in höheren Materialkosten der Trima Accel im Vergleich zur Com.Tec nieder.

Die Kosten zur Herstellung des jeweiligen Thrombozytenkonzentrates (Einfach-, Doppel- oder Dreifach-Apheresekonzentrat) wurden in der Modellrechnung für jedes Apheresegerät separat aufgeführt. Die Abschreibungsdauer wurde hierbei auf 8 Jahre festgelegt. Abschreibung und Wartung wurden anteilig auf die pro Jahr hergestellten 8 320 Thrombozytenkonzentrate verteilt (siehe Tab. 58 und 59).

Tab. 58 Kosten pro Thrombozytenkonzentrat Trima Accel

Kosten pro Thrombozytenkonzentrat Trima Accel	Studienarm A	Studienarm B.1	Studienarm B.2	Studienarm C
<b>Personalkosten</b>	10,13 €	15,68 €	15,70 €	7,01 €
Operatoren bei vier Zellseparatoren	8,43 €	12,28 €	12,30 €	5,88 €
Ärztliche Untersuchung	1,70 €	3,40 €	3,40 €	1,13 €
<b>Materialkosten</b>	90,00 €	180,00 €	180,00 €	60,00 €
<b>Aufwandsentschädigung</b>	27,50 €	55,00 €	55,00 €	18,33 €
<b>Summe Kosten vor Investition/TK</b>	<b>127,63 €</b>	<b>250,68 €</b>	<b>250,70 €</b>	<b>85,35 €</b>
<b>Anteil Abschreibung an Investition</b>	3,61 €	3,61 €	3,61 €	3,61 €
<b>Anteil Wartung</b>	1,44 €	1,44 €	1,44 €	1,44 €
<b>Kosten Gesamt/TK</b>	<b>132,68 €</b>	<b>255,73 €</b>	<b>255,75 €</b>	<b>90,39 €</b>

Tab. 59 Kosten pro Thrombozytenkonzentrat Com.Tec

Kosten pro Thrombozytenkonzentrat Com.Tec	Studienarm A	Studienarm B.1	Studienarm B.2	Studienarm C
<b>Personalkosten</b>	10,61 €	18,50 €	20,82 €	6,75 €
Operatoren bei fünf Zellseparatoren	8,91 €	14,90 €	17,42 €	5,62 €
Ärztliche Untersuchung	1,70 €	3,40 €	3,40 €	1,13 €
<b>Materialkosten</b>	67,35 €	133,00 €	133,00 €	46,00 €
<b>Aufwandsentschädigung</b>	27,50 €	55,00 €	55,00 €	18,33 €
<b>Summe Kosten vor Investition/TK</b>	<b>105,86 €</b>	<b>206,30 €</b>	<b>208,82 €</b>	<b>71,08 €</b>
<b>Anteil Abschreibung an Investition</b>	4,36 €	4,36 €	4,36 €	4,36 €
<b>Anteil Wartung</b>	0,90 €	0,90 €	0,90 €	0,90 €
<b>Kosten Gesamt/TK</b>	<b>111,12 €</b>	<b>211,55 €</b>	<b>214,08 €</b>	<b>76,34 €</b>

Unter Annahme der obengenannten Spenderverteilung der Modellrechnung ergeben sich gewogene Durchschnittskosten pro Thrombozytenkonzentrat von 141 € für die Trima Accel und von 118 € bei Verwendung der Com.Tec.

## **5. DISKUSSION**

### **5.1 Verfahrensdaten und Apheresecharakteristika**

Die durchgeführte Studie beinhaltet den Vergleich der zwei verschiedenen Apherese-systeme Trima Accel und Com.Tec an der gleichen Spendergruppe bei der Herstellung unterschiedlicher definierter Präparatekombinationen.

In der Arbeit wurden sowohl die Entnahme beim Spender, die Verträglichkeit beim Empfänger als auch die Investitionskosten, die Zeit und die Kosten der Aufbereitung je Gerät erfasst und bewertet.

Die Einstellung der Zellseparatoren durch die Herstellerfirmen sollte eine schnelle Herstellung der Konzentrate bei effizienten Verfahren und gleichzeitig bestmöglichem Spenderkomfort ermöglichen.

An Vergleichsuntersuchungen mit den Zellseparatoren Trima Accel und Com.Tec liegt lediglich ein Abstrakt von Zingsem et al. vor. Dessen Daten enthalten keine genauen Aussagen zur Datenerhebung und Spenderpopulation (Zingsem J et al., 2005).

Weitere Studien vergleichen beide Geräte jeweils mit anderen Gerätetypen bei unterschiedlichen Zielsetzungen und abweichenden Definitionen verschiedener erhobener Parameter. Die Literaturangaben zu den einzelnen Geräten wurden ausgewertet und für die Bewertung der Ergebnisse dieser Arbeit mitverwendet.

#### **Verfahrenszeit, Sammlungsrate und Sammlungseffizienz**

Als wichtiger Parameter zur Optimierung der Thrombozytapherese sowohl für den Spender als auch für die Blutbank hat sich die Verfahrenszeit herauskristallisiert. Dabei ist zu beachten, dass in der reinen Verfahrenszeit die Vorbereitungszeit, d.h. die Zeit zum Einlegen und Füllen des Sets, sowie die Blutrückführungszeit und die Nachberei-tungszeit bis zum Erhalt eines lagerungsfähigen Produktes nicht mit erfasst sind. Die Verfahrenszeit berücksichtigt lediglich die Zeit zur Separation des Vollblutes und Ge-winnung des gewünschten Produktes im Rahmen des Sammelverfahrens.

Die Korrektur der Verfahrenszeit auf den Ziel-Thrombozyten-Ertrag (Zeit für Standard-dosis, TSD) ermöglicht einen exakteren Vergleich zwischen verschiedenen Apherese-verfahren. Dieser Parameter wird jedoch nur in wenigen Studien berücksichtigt.

Durch chronographische Messungen der Verfahrenszeit ergeben sich Abweichungen von den durch die Apheresegeräte angegebenen Zeiten. Weitere wichtige Parameter zur Beurteilung des Aphereseverfahrens stellen die Sammlungsrate und die Samm-lungseffizienz dar.

In der durchgeführten Studie zeigten sich bei der Herstellung der Doppel-PLT-Apheresekonzentrate signifikante Unterschiede bezüglich der Verfahrenszeit und der TSD 6,0 sowie der Sammlungsrate und der Sammlungseffizienz mit Vorteilen zugunsten der Trima Accel.

Diese Tendenzen konnten ebenso bei der Herstellung der Dreifach-Thrombozytenkonzentrate als auch der Einfach-PLT-Apheresekonzentrate in Kombination mit einem Plasmapräparat aufgezeigt werden. Lediglich beim Vergleich der Sammlungseffizienzen in Studienarm B.2 (Vergleich Trima Accel versus Com.Tec 60 ml/Min) wurden vergleichbare Werte beider Zellseparatoren dargestellt.

Eine Differenz von 18 Minuten für die TSD 6,0 sowie von 42 bzw. 38 Minuten für die TSD 3,0 zwischen der Trima Accel und der Com.Tec werden als klinisch bedeutsam eingeschätzt. Die Bedeutung des zeitlichen Unterschiedes von knapp 10 Minuten für die TSD 8,0 sollte anhand der Untersuchung einer größeren Stichprobe verifiziert werden.

Die publizierten Daten zur Trima Accel wurden unter Verwendung der Software-Version 5.0 erhoben; in der vorliegenden Studie wurde bereits die Version 5.1 verwendet. Ein Überblick über die in diesen Studien erhobenen Apheresecharakteristika bietet Tabelle 60.

**Tab. 60 Apheresecharakteristika unter Verwendung der Trima Accel 5.0 (Ringwald J et al., 2006; Ringwald J et al., 2003; Bueno JL et al., 2005; Fontana S et al., 2005; Burgstaler EA et al., 2004; Picker SM et al., 2006:33; Picker SM et al., 2006:46; Fontana S et al., 2006)**

	n	TK-Produkt		GFP-Volumen [ml]	Verfahrenszeit [Min]	CR [PLT/h]	CE [%]
		Volumen [ml]	PLT-Ertrag [ $\times 10^{11}$ ]				
J. Ringwald	20	250	3,39 $\pm$ 4,39	360,3 $\pm$ 74	38,9 $\pm$ 5,6	8,83 $\pm$ 1,5	70,7 $\pm$ 7,9
J. Ringwald	20	246 $\pm$ 15	3,39 $\pm$ 0,4	368,3 $\pm$ 74	39 $\pm$ 6	5,3 $\pm$ 0,9	70,1 $\pm$ 8,1
J. Bueno	51	247 $\pm$ 1	3,85 $\pm$ 0,1	294 $\pm$ 11	56,9 $\pm$ 1,7	4,26 $\pm$ 0,1	65,6
S. Fontana	59	484	7,48	-	79	7,48	-
E. Burgstaler	26	389 $\pm$ 82	6,7 $\pm$ 1,7	-	73 $\pm$ 17	5,4 $\pm$ 1,2	75,9 $\pm$ 9,7
L. Mordasini	60	-	7,48	-	79	-	-
S. Picker	4	467 $\pm$ 7,7	5,97 $\pm$ 0,2	-	71,1 $\pm$ 7,2	6,42 $\pm$ 0,7	76,6 $\pm$ 0,9
	4	699 $\pm$ 7,7	7,66 $\pm$ 0,7	-	92,1 $\pm$ 15,3	6,72 $\pm$ 1,3	72,4 $\pm$ 4,8

In drei Studien wurden Einfach-Thrombozytenkonzentrate mit analogen Volumina und PLT-Erträgen in Kombination mit Plasmapräparaten unter Verwendung der Trima Accel 5.0 hergestellt (Ringwald J et al., 2006; Ringwald J et al., 2003; Bueno JL et al., 2005). Beide Studien von Ringwald et al. zeigten eine kürzere Verfahrenszeit, in der Studie von J. Bueno et al. wurde hingegen eine geringfügig längere Verfahrenszeit im Vergleich zur vorliegenden Studie beschrieben. Die Steigerung der Plasmaentnahme um bis zu 100 % des Entnahmeverolumens im Vergleich zur hiesigen Studie kann als mögliche Ursache der Reduktion der Verfahrenszeit gesehen werden (Zingsem J et al., 2001).

Die Sammlung von Plasmapräparaten als Nebenprodukt der Thrombozytapherese ist mit einem Anstieg der Blutflussrate während des Aphereseverfahrens verbunden. Dies führt bei einer erhöhten Sammlungsrate zu einer reduzierten Sammlungseffizienz und damit zu kürzeren Verfahrenszeiten.

Eine deutliche Erhöhung der Sammlungsrate auf  $8,83 \times 10^{11}$  PLT/h wurde durch Ringwald et al. festgestellt (Ringwald J et al., 2006). Die weiteren vorliegenden Studien zeigten zur zugrunde liegenden Arbeit analoge Sammlungsraten auf (Ringwald J et al., 2003; Bueno JL et al., 2005). Die Sammlungseffizienzen lagen mit 65 bis 71 % ebenfalls im entsprechenden Bereich.

Bei der Herstellung von Doppel- und Dreifach-Thrombozytenkonzentraten wurden in den bislang publizierten Studien längere Verfahrenszeiten ermittelt (Fontana S et al., 2006; Burgstaler EA et al., 2004; Picker SM et al., 2006:33; Picker SM et al., 2006:46; Fontana S et al., 2005). Die dabei hergestellten Thrombozytenkonzentratvolumina sowie die jeweiligen Thrombozyten-Erträge variierten stark.

Die Sammlungsraten schwankten zwischen  $5,4$  und  $7,48 \times 10^{11}$  PLT/h und schlossen somit den Wertebereich unserer Studie ein. Die Sammlungseffizienzen wiesen entsprechende Werte auf.

Die Differenzen der Verfahrenszeit können unter anderem auf die Weiterentwicklung der Software und Verwendung der neueren Version in dieser Studie zurückzuführen sein. Ebenso können mögliche Abweichungen aus unterschiedlichen Zielsetzungen und Geräteeinstellungen sowie andersgearteter Spenderpopulationen resultieren.

Die Anwendung der Com.Tec als Zellseparator wurde in mehreren Studien beschrieben, allerdings unter Verwendung von Vorgängerversionen der aktualisierten Software-Version 04.02.00. Die Com.Tec wurde ursprünglich als Zweiarmsystem konzipiert. Das neu entwickelte Einarm-Verfahren wurde in der hiesigen Studie zur Gewinnung von Einfach-Thrombozytenkonzentraten verwendet. Eine detaillierte Darstellung der vorliegenden Apheresecharakteristika der Com.Tec ist in Tabelle 61 vorgenommen.

Die Publikationen zu den Zweiarms-Aphereseverfahren der Com.Tec spiegeln im groben Überblick annähernde Daten zu dieser Arbeit wider (Coffe C et al., 2001; Moog R et al., 2003; Strasser EF et al., 2005; Zinsgem J et al., 2007; Zeiler T et al., 2005). Die Weiterentwicklung der Com.Tec mit verbesserter Software zeigt eine leichte Zunahme der Sammlungseffizienz mit Raten bis zu 63,3 %. Daten zur Herstellung von Dreifach-Thrombozytenkonzentraten wurden bislang nicht publiziert.

**Tab. 61 Apheresecharakteristika unter Verwendung der Com.Tec (Coffe C et al., 2001; Moog R et al., 2003; Strasser EF et al., 2005; Zingsem J et al., 2007; Moog R et al., 2005; Zeiler T et al., 2005)**

	n	TK-Produkt		GFP-Volumen [ml]	Verfahrenszeit [Min]	CR [PLT/h]	CE [%]
		Volumen [ml]	PLT-Ertrag [ $\times 10^{11}$ ]				
C. Coffe	696	460 ± 63	5,18 ± 1,02	-	45 - 120	-	52,4 ± 7,4
R. Moog	342	266 ± 66	3,11 ± 0,93	-	55 ± 11	-	53,7 ± 5,8
	99	436 ± 39	5,29 ± 0,40	-	71 ± 13	-	58,2 ± 6,2
E. Strasser	20	-	2,90 ± 0,54	-	54 ± 13	5,65 ± 1,85	54,7 ± 9,7
J. Zingsem	175	250	2,94 ± 0,30	250	53,1 ± 8,3	5,66 ± 0,99	53,4 ± 4,6
	25	250	2,91 ± 0,50	-	51,9 ± 13,5	5,70 ± 1,66	54,5 ± 8,0
	500	250	3,19 ± 0,30	500	60,1 ± 11,9	5,53 ± 1,23	55,5 ± 4,9
	300	500	6,65 ± 0,65	-	84,9 ± 13,6	8,06 ± 1,36	63,3 ± 5,1
T. Zeiler	100	407 ± 12	4,81	-	57 ± 12	-	61,9 ± 6,4
R. Moog (SN)	10	-	3,19 ± 0,72	-	67,1	4,87 ± 1,05	75,6 ± 5,2

Durch Moog et al. wurden im Einarm-Verfahren mit Standardflussrate zehn Einfach-Thrombozytenkonzentrate (ohne Plasmasammlung) hergestellt (Moog R et al., 2005). Diese in analoger Verfahrenszeit hergestellten Konzentrate wiesen einen geringfügig höheren PLT-Ertrag auf, die Sammlungsrate und Sammlungseffizienz fielen deutlich höher aus als in der hiesigen Arbeit. Genauere Angaben zum Spenderkollektiv wurden durch Moog et al. nicht gemacht, so dass ein Einfluss durch möglicherweise höhere Thrombozytenvorwerte der Spender nicht ausgeschlossen werden kann.

Bei Verwendung des Einarm-Verfahrens wurden im Vergleich mit den veröffentlichten Daten zur Gewinnung von Einfach-Thrombozytenkonzentraten mit/ohne Kombination von Plasmapräparaten im Zweiarm-Verfahren längere Verfahrenszeiten sichtbar.

Ein Abstrakt zum direkten Vergleich zwischen Trima Accel und Com.Tec wurde 2005 von Zingsem et al. veröffentlicht (Zingsem J et al., 2005). Angaben zur Verwendung der jeweiligen Software-Version, der Geräteeinstellung, der Erhebung und Berechnung der Daten sowie zur Spenderpopulation fehlten. In der Studie wurden sowohl Einfach- als auch Doppelthrombozytenkonzentrate mit oder ohne simultane Plasmagewinnung hergestellt. Angaben zur Häufigkeit der Plasmaherstellung und der entsprechenden Entnahmeholumina liegen nicht vor. Die Daten des Vergleichs sind nachfolgender Tabelle zu entnehmen (siehe Tab. 62).

**Tab. 62 Vergleich Trima Accel versus Com.Tec durch Zingsem et al. (Zingsem J et al., 2005)**

	n	TK-Produkt		GFP-Volumen [ml]	Verfahrenszeit [Min]	CR [PLT/h]	CE [%]
		Volumen [ml]	PLT-Ertrag [ $\times 10^{11}$ ]				
J. Zingsem							
Trima Accel	735	253 ± 12	3,25 ± 0,42	?	45 ± 9	7,59 ± 1,59	70 ± 10
	857	508 ± 18	6,4 ± 0,7	?	60 ± 15	11,14 ± 2,34	82 ± 8
Com.Tec	289	240 ± 7	3,19 ± 0,31	?	61 ± 12	5,48 ± 1,23	56 ± 6
	183	489 ± 15	6,62 ± 0,54	?	85 ± 14	8,01 ± 1,63	63 ± 6

Der Vergleich der publizierten Daten mit den in dieser Arbeit evaluierten Daten ist aufgrund der Verwendung unterschiedlicher Software-Versionen, verschiedener Zielsetzungen und damit verbundener differierender Thrombozytenkonzentrat- und Plasmap volumina sowie unterschiedlicher PLT-Erträge nur eingeschränkt möglich.

Variierende Spenderpopulationen mit verschiedenen anthropometrischen und hämatologischen Ausgangswerten bilden die Grundlage zahlreicher Einflussfaktoren. Insgesamt werden die in dieser Arbeit herausgearbeiteten Ergebnisse durch die bereits publizierten Daten gestützt und die Vorteile der Trima Accel bezüglich der Verfahrenszeit, Sammlungseffizienz und Sammlungsrate untermauert.

### **ACD-Verbrauch und ACD-Infusionsrate**

Die Bestimmung des ACD-Verbrauches stellt einen entscheidenden Parameter für die Sicherheit des Spenders und die Zitratlast des Produktes dar. Durch die Berechnung der ACD-Infusionsrate wird das Risiko für den Spender evaluiert, hypokalzämische Reaktionen zu entwickeln. Die ACD-Infusionsrate gibt allerdings nur einen Mittelwert der Zitratzufuhr über die gesamte Verfahrensdauer hinweg gesehen an, daher kann es zu verschiedenen Zeitpunkten während der Durchführung des Sammelverfahrens sowohl zum Unter- als auch zum Überschreiten dieses Wertes kommen.

In allen drei Studienarmen der durchgeführten Studie ergab sich ein um durchschnittlich etwa 200 ml signifikant niedrigerer Verbrauch an Zitratlösung bei Durchführung der Apheresen mit der Trima Accel. Demzufolge zeigte die Com.Tec einen 48 bis 91 % höheren Gesamt-ACD-Verbrauch. Die ACD-Infusionsrate präsentierte signifikant niedrigere Werte für die Trima Accel. Ausnahme bildete hierbei die Subgruppe B.2, wo sich bei limitierter Flussrate und damit verlängerter Apheresezeit der Com.Tec vergleichbare mittlere ACD-Infusionsraten beider Geräte zeigten.

Der in der Literatur angegebene mittlere ACD-Verbrauch der Trima Accel (siehe Tab. 63) beläuft sich auf 210 bis 469 ml bei einer ACD-Infusionsrate von 0,73 - 1,09 ml/Min/l (Ringwald J et al., 2003; Bueno JL et al., 2005; Fontana S et al., 2006; Burgstaler EA et al., 2004; Picker SM et al., 2006:33; Picker SM et al., 2006:46). Die Angaben zum ACD-Verbrauch der Com.Tec schwanken zwischen 279 und 889 ml in Abhängigkeit der Herstellung von Einfach-, Doppel- und Dreifach-Thrombozytenkonzentraten (Coffe C et al., 2001; Moog R et al., 2003; Strasser EF et al., 2005; Zinsgem J et al., 2007). Der in unserer Studie evaluierte ACD-Verbrauch lag mit der Trima Accel zwischen 225 und 450 ml bei einer ACD-Infusionsrate von 1,15 - 1,21 ml/Min/l und mit der Com.Tec zwischen 429 und 668 ml bei einer ACD-Infusionsrate zwischen 1,15 und 1,59 ml/Min/l.

**Tab. 63 ACD-Verbrauch der Trima Accel und Com.Tec (Ringwald J et al., 2003; Bueno JL et al., 2005; Fontana S et al., 2006; Burgstaler EA et al., 2004; Picker SM et al., 2006:33; Picker SM et al., 2006:46; Coffe C et al., 2001; Moog R et al., 2003; Strasser EF et al., 2005; Zinsgem J et al., 2007; Fontana S et al., 2005)**

	n	Apheresegerät	Hergestelltes Produkt	ACD-Verbrauch [ml]	ACD-Infusionsrate [ml/Min/l]
J. Ringwald	20	Trima Accel 5.0	Einfach-TK + GFP	261,6 ± 38,2	0,86 ± 0,167
J. Bueno	51	Trima Accel 5.0	Einfach-TK + GFP	210 ± 8	0,73 ± 0,02
S. Fontana	59	Trima Accel 5.0	Doppel-TK	449 - 489	-
E. Burgstaler	26	Trima Accel 5.0	Doppel-TK	378 ± 68	-
S. Picker	4	Trima Accel 5.0	Doppel-TK	317,0 ± 25,5	1,09 ± 0,07
	4	Trima Accel 5.0	Dreifach-TK	382,5 ± 40,7	0,95 ± 0,07
L. Mordasini	60	Trima Accel 5.0	Doppel- und Dreifach-TK	469	-
C. Coffe	696	Com.Tec	Einfach-, Doppel- und Dreifach-TK	279 - 889	-
R. Moog	342	Com.Tec	Einfach-TK	369 ± 63	-
	99	Com.Tec	Doppel-TK	524 ± 79	-
E. Strasser	20	Com.Tec	Einfach-TK	335 ± 91	-
J. Zinsgem	175	Com.Tec 2	Einfach-TK + GFP	362,5 ± 58,1	-
	25	Com.Tec 2	Einfach-TK	329,9 ± 94,1	-
	500	Com.Tec 3	Einfach-TK + GFP	376,7 ± 69,6	-
	300	Com.Tec 3	Doppel-TK	578,6 ± 89,2	-

Der Vergleich der vorliegenden Daten ist nur äußerst eingeschränkt möglich. In der hiesigen Arbeit wurde der ACD-Verbrauch manuell kontrolliert und schließt den ACD-Gehalt des Präparates sowie das im Set verbleibende ACD-Volumen ein.

Die Literaturangaben zum ACD-Verbrauch berufen sich größtenteils auf Geräteangaben des jeweiligen Zellseparators, was die Genauigkeit dieser Daten stark einschränkt. In einigen Publikationen wurde die Zitratlast des jeweiligen Konzentrates photometrisch bestimmt und vom ACD-Verbrauch subtrahiert. Tendenzen zu höherem ACD-Verbrauch der Com.Tec im Vergleich zur Trima Accel sind jedoch auch durch die publizierten Daten abgesichert.

Die publizierten Daten, unter Verwendung der Trima Accel, weisen deutlich niedrigere ACD-Infusionsraten auf als in dieser Arbeit. Aufgrund unterschiedlicher Spenderpopulationen und somit abweichendem Gesamtblutvolumen der verschiedenen Spender, unterschiedlicher Apheresezielpräparate und damit verbundener Verfahrenszeiten sowie variierender Geräteeinstellungen der ACD-Flussrate ist die uneingeschränkte Beurteilung dieses Sachverhaltes nicht möglich.

Die geringe Schwankungsbreite der ACD-Infusionsrate im Rahmen der verschiedenen Studienarme dieser Arbeit bei der Herstellung der verschiedenen Präparate spricht allerdings für diese Werte und deren Genauigkeit, unterstützt durch die manuelle gravimetrische Bestimmung.

### **Gerätegenauigkeit**

Es liegen nur vereinzelte publizierte Angaben zur Genauigkeit von Geräteangaben der Zellseparatoren vor. In zahlreichen Studien erfolgte die Datenerhebung und Bewertung der Aphereseverfahren lediglich auf Grundlage der Geräteangaben.

Die Gerätegenauigkeit ist insbesondere in Bezug auf den Thrombozyten-Ertrag bedeutsam, da somit die Herstellung standardisierter Präparate ermöglicht wird und zu lange Verfahrenszeiten für den Spender vermieden werden können.

In unserer Studie waren die Geräteangaben der Verfahrenszeiten beider Geräte kürzer als die chronographisch ermittelte Verfahrenszeit. Das Thrombozytenkonzentratvolumen und der PLT-Ertrag wurden durch das Gerät Trima Accel größtenteils unterschätzt, die Com.Tec führte sowohl höhere als auch niedrigere Werte als gemessen an.

Die Angabe des ACD-Verbrauchs durch die Com.Tec war deutlich niedriger als exakt ermittelt. Bei der Trima Accel entsprach der angegebene ACD-Verbrauch dem gemessenen. Die Thrombozytennachwerte der Spender wurden durch die Trima Accel niedriger als tatsächlich erwartet.

Die Gerätegenauigkeit der Trima Accel wurde durch Bueno et al. mit einer Unterschätzung der Verfahrenszeit und einer leichten Überschätzung des hergestellten Thrombozytenkonzentratvolumens und des Thrombozyten-Ertrages im Vergleich zu tatsächlich gemessenen Werten beschrieben (Bueno JL et al., 2005).

Strasser et al. beschrieben bei Verwendung der Com.Tec lediglich eine geringe Abweichung des PLT-Ertrages vom Zielertrag und somit eine relativ genaue Erfüllung der Zielbedingungen (Strasser EF et al., 2005).

Weitere Daten zur Gerätegenauigkeit liegen nicht vor, d.h. ein aussagekräftiger Vergleich mit den in dieser Arbeit gefundenen Aussagen zur Vorhersagegenauigkeit der Zellseparatoren und damit der Gerätegenauigkeit kann nicht getroffen werden.

### **Operatorenkomfort**

Während den Apheresen mussten die Operatoren in unserer Studie gleich häufig bei beiden Geräten eingreifen: Bei der Trima Accel in 18 der 29, bei der Com.Tec in 17 der 30 Apheresen. Der Umfang der Interventionen war deutlich verschieden: Bei der Trima Accel bis zu 17mal in einer Apherese, bei der Com.Tec lag das Maximum bei 9 Eingriffen in einem Verfahren.

Bezüglich des Operatorenkomforts wurde von Bueno et al. mit der Trima Accel in 25 % der Apherese Interventionen durch das Personal angegeben. Als Interventionen wurden Ausschalten und Beheben von Alarmen, Flussmodifikationen sowie Zuwendungen zum Spender aufgrund von Zitratreaktionen gewertet (Bueno JL et al., 2005).

In der Studie von Fontana et al. erforderte die Trima Accel in 21 von 59 Apherese Interventionen durch die Operatoren, davon 18 Eingriffe aufgrund von Problemen der Blutflussraten (Fontana S et al., 2006).

Diese publizierten Daten zeigen in 25 - 36 % der Verfahren erforderliche Interventionen durch das Personal. Dies ist niedriger als in der hiesigen Arbeit mit Eingriffen in 63 % der durchgeführten Apherese evaluiert.

Zur Überprüfung der Diskrepanz dieses Sachverhaltes sollte erneut eine ausreichend große Stichprobe an Spendern herangezogen werden.

Publizierte Daten zum Operatorenkomfort bei Verwendung der Com.Tec liegen bislang nicht vor.

## **5.2 Spendersicherheit und -komfort**

Im Vordergrund der Thrombozytapherese steht die Sicherheit des Spenders. Ein wichtiges Augenmerk wurde daher insbesondere bei der Ausweitung und Einführung der Dreifach-Thrombozytapherese auf das Wohlergehen der Spender während und nach der Apherese gelegt.

Einheitliche Vorgaben zur Klassifikation von unerwünschten Reaktionen seitens der Spender existieren derzeit nicht. In unserer Studie orientierten sich die Kriterien zur Erfassung von Nebenwirkungen in Verbindung mit der Zitratinfusion an den McLeod-Kriterien und wurden relativ streng gesetzt, um eine optimale Sicherheit für die Spender zu garantieren (Bueno JL et al., 2005).

Durch die Verwendung von Zitratlösung als Antikoagulant kann es durch dessen Akkumulation zu unerwünschten Reaktionen kommen. Diese zitratbedingten Reaktionen treten gewöhnlich infolge massiver Transfusionen auf. Mit der Verarbeitung von etwa 2500 bis 5000 ml Blut während des Aphereseverfahrens und der Rückgabe dieses zitratversetzten Blutvolumens an den Spender kommt es zu einer volumenmäßig relevanten Autotransfusion, infolgedessen Nebenwirkungen auftreten können (Makar YF et al., 2002).

Die akkumulierten Ziträt-Ionen binden ionisiertes Kalzium. Die Konzentration an freiem Kalzium im Plasma sinkt, so dass sekundär eine Hypokalzämie entsteht (Szymanski IO, 1978; Strauss RG, 1996).

Typische Symptome der Hypokalzämie sind unter anderem metallischer Geschmack im Mund, periorale und akrale Parästhesien, Schüttelfrost, Benommenheit, Tremor und Nausea (Despotis GJ et al., 1999; Winters JL, 2006; Strauss RG, 1996). Bei weiterem Absinken der Kalziumkonzentration kann es zu carpopedalen Spasmen, Tetanie, Grand-mal Anfällen und einer Verlängerung der myokardialen Depolarisation kommen (Strauss RG, 1996).

Das Auftreten und der Schweregrad der Symptome des Spenders nehmen mit steigender Zitratinfusionsrate über 1 mg/kg/Min und höheren Serum-Zitratkonzentrationen zu, wie in einer Studie an sieben gesunden Spendern durch Bolan et al. gezeigt wurde (Bolan CD et al., 2001).

Bei Spendern mit niedrigerem Körpergewicht müssen die Verfahren mit höheren Zitratinfusionsraten durchgeführt werden, infolgedessen treten bei dieser Population vermehrt Nebenwirkungen auf. Durch orale Kalzium-Applikation können Symptome reduziert und ein höherer Spenderkomfort hergestellt werden.

Die Entwicklung hypovolämischer Reaktionen mit symptomatischer Hypotonie oder vasovagaler Reaktion ist während Aphereseverfahren beschrieben. Außerdem können infolge der Nadelinsertion Komplikationen in Form von Hämatombildung, Schmerzen oder Schwellung an der Einstichstelle sowie Verletzung von Nerven oder Arterien durch die Punktion vorkommen (Despotis GJ et al., 1999).

Die Durchführung des Aphereseverfahrens führt durch Induktion der Expression von plättchen-assoziierten Glykoproteinen, Interaktion von Thrombozyten mit künstlichen Oberflächen und erhöhten Scherkräften durch die Flussbedingungen zur Aktivierung der Thrombozyten, was sekundär zu einer transienten Hyperkoagulabilität führen kann. Beim Auftreten ernsthafter Reaktionen muss auch eine Koronarischämie als Differentialdiagnose in Betracht gezogen werden (Despotis GJ et al., 1999).

Im Rahmen der Thrombozytenspende kommt es zu einem akuten Thrombozytenabfall des Spenders. Zur Gewährleistung der Sicherheit des Spenders sollte das durchzuführende Aphereseverfahren so gewählt werden, dass die Thrombozytenkonzentration des Spenders nach der Thrombozytapherese oberhalb 100/nl liegt (Richtlinien (BÄK), 2005). Blutungskomplikationen sind durch rasche Normalisierung der Thrombozytenwerte nach der Apherese aber ungewöhnlich (Winters JL, 2006).

Nebenwirkungen aufgrund von technischen Defekten wie z.B. eine Luftembolie sind durch die moderne Hämapheresetechnik und Ausstattung der Zellseparatoren mit verschiedenen Sensoren äußerst selten geworden (Winters JL, 2006).

Die ausreichende Sicherheit der automatisierten Thrombozytenspende wurde in mehreren Studien belegt (Wiltbank TB et al., 2007; Makar YF et al., 2002; Despotis GJ et al., 1999). Ernste Reaktionen entwickeln sich in etwa 0,03 % der Thrombozytapheresen (3,22 pro 10 000 Apheresen).

Im Vergleich dazu wurde in verschiedenen Studien bei Durchführung der Vollblutspende ein vergleichbarer (0,03 %) oder sogar signifikant höherer Anteil an ernstesten Reaktionen (0,09 % der Spenden; 9,35 pro 10 000 Spenden) festgestellt (Wiltbank TB et al., 2007; McLeod BC et al., 1999).

Im Verlauf unserer Studie wurde jeder Spender am Ende der jeweiligen Apherese gezielt zum Auftreten von Nebenwirkungen befragt. Insgesamt wurden keine schwerwiegenden Nebenwirkungen beobachtet.

Bei 31 der 58 Aphereseverfahren bemerkten Spender zittrattypische milde Reaktionen, die sich hauptsächlich in Parästhesien äußerten, und bei Bedarf durch orale Kalziumapplikation behandelt wurden. Drei Spender erlitten im Rahmen der Doppel-Thrombozytapherese moderate Reaktionen mit Übelkeit infolge der Zitratinfusion. Zwei dieser drei Spender wurden zusätzlich symptomatisch hypoton, der Blutdruck normalisierte sich aber jeweils spontan wieder.

Ein ähnliches Nebenwirkungsprofil mit Auftreten von milden Reaktionen in 42 bis 75 % der Aphereseverfahren mit der Trima Accel wurde durch verschiedene Studien beschrieben (Fontana S et al., 2006; Picker SM et al., 2006:33; Picker SM et al., 2006:46). Fontana et al. erwähnten in einer weiteren Studie in 23,7 % der 60 Apheresen Nebenwirkungen (Fontana S et al., 2005).

Bueno et al. berichteten lediglich in 10 % von 50 Apheresen über milde Reaktionen. Analoge Kriterien zur Erfassung der zitratbedingten Nebenwirkungen wurden in der hiesigen Studie verwendet (Bueno JL et al., 2005). Ernsthafte Nebenwirkungen wurden nicht bemerkt (Ringwald J et al., 2003; Fontana S et al., 2006; Picker SM et al., 2006:33; Picker SM et al., 2006:46; Bueno JL et al., 2005).

Bei Verwendung der Com.Tec wurden ebenfalls keine ernsthafte Nebenwirkungen registriert (Coffe C et al., 2001; Burgstaler EA et al., 2004; Moog R et al., 2003; Zinsgem J et al., 2007). Coffe et al. gaben bei Einführung der Com.Tec lediglich in weniger als 0,5 % der 696 Apheresen milde Reaktionen an (Coffe C et al., 2001).

Dem Auftreten milder Zitratreaktionen kann bei Bedarf mittels Reduktion der ACD-Infusionsrate entgegengewirkt werden (Coffe C et al., 2001; Burgstaler EA et al., 2004).

Nach Abschluss der Aphereseverfahren wurden in unserer Studie bei einem Trima Accel- und bei vier Com.Tec-Verfahren Thrombozytenwerte der Spender unterhalb 150/nl nachgewiesen. Der untere Grenzwert von 100/nl wurde in keinem Fall unterschritten. Beim Vergleich zwischen beiden Zellseparatoren konnte eine Tendenz zu höheren Thrombozyten-Nachwerten mit der Trima Accel beobachtet werden.

Vergleichbare Änderungen der Thrombozytenwerte im Spenderblut mit entsprechenden Werten nach Abschluss der Apheresen konnten in mehreren Studien registriert werden (Ringwald J et al., 2006; Ringwald J et al., 2003; Burgstaler EA et al., 2004; Strasser EF et al., 2005; Zeiler T et al., 2005).

Die Trima Accel wurde in unserer Studie von 72 % der Spender als präferiertes Apheresegerät gewählt. Eine kurze Verfahrenszeit sowie die Durchführung als Einarm-Verfahren zeigten sich als vorherrschende Parameter für den subjektiven Spenderkomfort.

Beim Vergleich der Trima Accel mit dem Einarm-Separator Amicus (Baxter Biotech Corp.) in einer Studie von Fontana et al. konnte keine Präferenz eines Zellseparators durch die Spender festgelegt werden. Als subjektiv bedeutsame Parameter der Spender ergaben sich hier eine kurze Verfahrenszeit, eine gute Toleranz der Flussraten und Nadelinserktion sowie geringe zitrattypische Nebenwirkungen (Fontana S et al., 2006).

In einer Studie von Bueno et al. bevorzugten 66 % der Spender die Trima Accel zur Apherese im Vergleich mit den anderen Einarm-Apheresesystemen Amicus Crescendo und MCS Plus (Haemonetics Corp.). Als Hauptgrund wurde hier ein schnelleres Aphereseverfahren mit der Trima Accel genannt (Bueno JL et al., 2005).

Die Durchführung der neun Dreifach-Thrombozytapherese in dieser Arbeit erfolgte ebenfalls ohne Auftreten schwerwiegender Nebenwirkungen oder Komplikationen bei zufriedenstellendem Spenderkomfort.

Die Sicherheit von Dreifach-Thrombozytapherese im Vergleich zur Doppel-Thrombozytapherese wurde in einer multizentrischen Studie von Heuft et al. an 2 254 Apherese mit 413 Spendern überprüft. In ca. 2 % der Dreifach-Thrombozytapherese wurden Thrombozyten-Nachwerte der Spender unterhalb des Normbereiches von 150/nl registriert. Zur Apherese wurden hier bereits Spender mit einem Thrombozyten-Vorwert von 280/nl zugelassen.

Unerwünschte Reaktionen wie milde Zitratreaktionen, milde Kreislaufreaktionen und Abbrüche der Aphereseverfahren infolge von Problemen der Venenzugänge schienen in der Studie mit der Dreifach-Thrombozytapherese um den Faktor zwei bis drei anzusteigen (Heuft HG et al., 2008).

Kaiser et al. führten an 32 gesunden Blutspendern jeweils vier Dreifach-Thrombozytapheresen in zwei- bzw. drei-wöchentlichem Abstand durch. Hierbei kam es zu keinen signifikanten Änderungen im thrombozytopoietischen System durch die Dreifachapheresen, so dass ein Mindestabstand von zwei Wochen zwischen zwei Dreifach-Thrombozytapheresen als ausreichend bekundet wurde (Kaiser F et al., 2008).

Die aktuelle Datenlage spricht somit für eine sichere Durchführung von Thrombozytapheresen bei niedriger Nebenwirkungsrate und hohem Spenderkomfort. Die Einführung und Etablierung von Dreifach-Thrombozytapheresen ist unter gezielter Auswahl potentieller Spender und Wahrung definierter Einschlusskriterien möglich.

### **5.3 Qualität der Thrombozytenkonzentrate und Plasmaprodukte**

Die Qualität der zu transfundierenden Thrombozyten- und Plasmapräparate stellt einen entscheidenden Faktor zur erfolgreichen Durchführung einer Transfusion dar.

Thrombozytenkonzentrate und gefrorene Frischplasmen werden als Fertigarzneimittel hergestellt und an Patienten ausgegeben. Infolgedessen müssen zur Erfüllung der Zulassungspflicht dem Paul-Ehrlich-Institut als zuständiger Behörde Daten zur Darstellung der Funktion der Thrombozyten bzw. Gerinnungsfaktoren über die Lagerungszeit übermittelt werden, um den Nachweis der Arzneimittelqualität zu leisten (AMWHV, 2006).

Zur Zeit bestehen keine verbindlichen Vorgaben zur Methodik der Testung der in vitro Funktion von Thrombozyten und der Aktivität von Gerinnungsfaktoren.

Für eine sachgerechte Beurteilung der Daten verschiedener Hersteller müssten dementsprechend zuverlässig durchführbare, standardisierte Testverfahren mit guter Korrelation zur klinischen Wirksamkeit eingeführt werden (Hesse J et al., 2001). Diese existieren derzeit bezüglich der Beurteilung der Qualität von Thrombozyten nur sehr eingeschränkt.

### 5.3.1 Thrombozytenkonzentrate

Im Rahmen der Herstellung, Lagerung und Nachbehandlung von Thrombozytenkonzentraten kommt es zu komplexen Veränderungen der Form, der Aktivierung, der Adhäsion und der Aggregation der Thrombozyten.

Diese Veränderungen der Thrombozytenmorphologie, -Struktur und -Funktion vom Beginn der Blutspende bis zur Ausgabe des Thrombozytenkonzentrates zur Transfusion an den Patienten werden als sogenannte „Platelet Storage Lesion (PSL)“ bezeichnet. Verbunden damit ist eine erniedrigte posttransfusionale Wiederfindungsrate (englisch: recovery) sowie eine verminderte Verweildauer der Thrombozyten in der Blutzirkulation des Empfängers (Seghatchian J et al., 1997).

Verschiedene Einflussfaktoren wie die Art des Antikoagulanz, die Einstellung der Flussgeschwindigkeiten während der Apherese, der Typ des Lagerungsbeutels, der Anteil an Kontamination mit Restleukozyten und die PLT-Konzentration sind bei diesen Vorgängen von Bedeutung (Seghatchian J et al., 1997; Dekkers DWC et al., 2007).

Thrombozytenkonzentrate aus den verschiedenen Studienarmen A bis C wurden während 7-tägiger Lagerung bei Standardbedingungen untersucht. Diese standardisierte Durchführung der *in vitro* Untersuchungen zeigte eine stufenweise Abnahme der *in vitro* Thrombozytenfunktion über die Lagerungsdauer.

Die Thrombozytenaktivierung als Maß der Beurteilung der Morphologie mittels Änderung des Mittleren Plättchenvolumens und des Swirling-Phänomens, der CD62P-Expression und der maximalen Aggregation der Thrombozyten, stieg über die Lagerungszeit hinweg an.

Die metabolische Aktivität der Thrombozyten während der Lagerung bei Raumtemperatur äußert sich in der Änderung des pH-Wertes, im Anstieg der Konzentrationen an Laktatdehydrogenase und Laktat sowie im begleitenden Glukoseverbrauch (Procházková R et al., 2007), wie auch in dieser Arbeit gezeigt werden konnte.

Entscheidend für die Vermeidung unerwünschter Transfusionsreaktionen beim Empfänger ist außerdem die Herstellung leukozytendepletierter Thrombozytenkonzentrate und die Wahrung der Sterilität dieser Produkte. Diese Parameter wurden ebenfalls untersucht.

### **Thrombozytenaktivierung: MPV, Swirling, CD62P und Aggregation**

Die quantitative Beurteilung der Größenverteilung der Thrombozyten erfolgt mittels Bestimmung des mittleren Plättchenvolumens. Ein Ansteigen des MPV ist mit der Änderung der Form der Thrombozyten von diskoid zu sphärisch sowie einer Verschlechterung deren Funktion verbunden und korreliert invers mit dem pH-Wert (Seghatchian J et al., 1997; Singh H et al., 2003; Albanyan AM et al., 2009).

Eine steigende Tendenz des MPV über die Lagerung der Thrombozytenkonzentrate beider Apheresekonzentrate konnte aufgezeigt werden. Analoge MPV-Werte mit steigender Tendenz bei Lagerung wurden von Albanyan et al. unter Verwendung der Trima Accel 5.0 beschrieben (Albanyan AM et al., 2009).

Eine kostengünstige, aussagekräftige und nicht-invasive Beurteilung der Formveränderungen der Thrombozyten erfolgt durch Bewertung des Swirling-Phänomens. Dieses Phänomen entsteht durch Brechung eines durch das TK fallenden Lichtstrahls durch diskoidale Thrombozyten, wodurch ein opaleszentes „Wolkenphänomen“ sichtbar wird. Die Aktivierung von Thrombozyten führt zum Verlust der diskoiden Form und damit zur Reduktion des Swirling-Phänomens, was wiederum mit der Abnahme der Thrombozytenfunktion und einem Absinken des pH-Wertes korreliert (Hervig T et al., 1999; Cardigan R et al., 2005).

Bei einem pH-Wert  $< 6,4$  oder  $> 7,6$  ist in den meisten Thrombozytenkonzentraten kein Swirling-Effekt mehr nachweisbar (Bertolini F et al., 2002). Eine Abnahme des Swirling-Phänomens über die Lagerungszeit wurde in der hier durchgeführten Arbeit ebenfalls beobachtet.

Irreversibel aktivierte Thrombozyten exprimieren das Antigen CD62P auf ihrer Oberfläche (Stenberg PE et al., 1985). Eine vollständige Ausschüttung von CD62P kann durch stärkere Aktivierung der Thrombozyten erfolgen.

Die CD62P-Dichte auf der Zelle nimmt durch proteolytische Abspaltung mit der Zeit wieder ab. Infolgedessen tragen sowohl völlig intakte, nicht aktivierte als auch fast vollständig degranulierte, aktivierte Thrombozyten nur wenig CD62P auf ihrer Oberfläche. Eine Aktivierung der Thrombozyten durch Kontakt mit künstlichen Oberflächen kann nicht ausgeschlossen werden (Cardigan R et al., 2005).

Die Expression von CD62P vermittelt die Adhäsion der Thrombozyten mit P-Selektin-Glykoprotein-Ligand-1, einem Liganden der hauptsächlich auf der Oberfläche von Granulozyten und Monozyten exprimiert wird (Holme S et al., 1997; Procházková R et al., 2007).

Außerdem binden P-Selektin exprimierende Thrombozyten an Gefäßendothelzellen sowie an Leukozyten und werden infolgedessen bevorzugt aus der Zirkulation entfernt (Gutensohn K et al., 2002).

Die CD62P-Expression und damit die Aktivierung der Thrombozyten steigt über die Lagerungszeit an (Dumont L et al., 2003; Laurencet FM et al., 1998; Tynngard N et al., 2008:48a; Tynngard N et al., 2008:48b). Mit steigender Anzahl CD62P-positiver Thrombozyten wurde in verschiedenen Studien ein Absinken der Effizienz und ein kürzeres Überleben der Thrombozyten in vivo beobachtet (Gutensohn K et al., 2002; Holme S et al., 1997; Rinder HM et al., 1991), so dass höhere CCI<sub>1h</sub> signifikant mit einer niedrigeren CD62P-Expression assoziiert sind (Julmy F et al., 2008).

Bei Herstellung der Doppel- und Dreifach-Thrombozytenkonzentrate wurden mit der Trima Accel an Tag 5 eine CD62P-Expression von 48 bzw. 52 % und an Tag 7 von 55 bzw. 62 % registriert. Bei Verwendung der Com.Tec wurde an Tag 5 eine Expression von 63 bzw. 53 % und an Tag 7 von 69 bzw. 71 % angegeben.

Unter Verwendung verschiedener Apheresegeräte wurden in mehreren Studien vergleichbare bis geringfügig niedrigere CD62P-Aktivitäten an Tag 5 und 7 beschrieben (Holme S et al., 1997; Dumont L et al., 2003; Picker SM et al., 2006:33; Wagner SJ et al., 2008).

Bei Einhaltung eines optimalen pH-Bereiches von 6,5 bis 7,0 bei 37°C sollte die CD62P-Expression der Thrombozyten laut Dekkers et al. unterhalb von 40 % bleiben (Dekkers DWC et al., 2007).

Bei Gewinnung der Einfach-Thrombozytenkonzentrate in Studienarm B an Tag 5 und 7 wurden höhere CD62P-Expressionen als in Studienarm A und C gemessen, sowohl unter Anwendung der Trima Accel (60 bzw. 76 %) als auch bei Verwendung der Com.Tec (81 bzw. 95 %).

Eine deutlich niedrigere CD62P-Expression von Thrombozyten aus Konzentraten, die mit der Trima Accel hergestellt wurden, beschrieben Albanyan et al. mit 20 bis 25 % an Tag 7 sowie Arnold et al. mit 16,4 % an Tag 5 (Albanyan AM et al., 2009; Arnold DM et al., 2006). Dies mag mit der nicht standardisierten Methodik der Quantifizierung einer CD62P-Expression in Zusammenhang stehen.

Die Funktionalität der Thrombozyten kann durch die Messung der Aggregationsfähigkeit einer definierten Anzahl an Thrombozyten getestet werden. Durch Zugabe verschiedener Reagenzien als Induktoren zu plättchenreichem Plasma (z.B. Kollagen, Adenosindiphosphat, Epinephrin) bilden sich PLT-Aggregate, die zu einer Trübungsabnahme führen und turbidimetrisch erfasst werden können (Born GVR et al., 1963).

Durch den Vergleich der Antworten auf verschiedene Agonisten werden unterschiedliche Thrombozytendefekte erfasst. Ein Nachteil der Aggregometrie besteht in der Testung der Thrombozyten unter niedrigen Scherkräften und mittels Stimulierung durch einen einzigen Agonisten. Diese Bedingungen spiegeln nicht die Effekte der primären Hämostase in vivo wieder (Cardigan R et al., 2005; Budde U, 2002).

Lädierte Gefäßendothelien exprimieren subendotheliale Kollagenfibrillen und initiieren dadurch die Thrombozytenaktivierung in vivo. Durch Induktion der Thrombozytenaggregation mittels Kollagen in vitro steigt die Aggregationskurve nach einer kurzen sogenannten „lag-Phase“ von 10 bis 60 Sekunden an (Yardumian DA et al., 1986). Die Aggregationsfähigkeit der Thrombozyten nimmt mit steigender Lagerungszeit ab und verhält sich invers zur CD62P-Expression der Thrombozyten. Dies konnte in dieser Studie bestätigt werden.

Verschiedene Agonisten und variierende Konzentrationen dieser Substanzen führen zu unterschiedlichem Ausmaß der Thrombozytenaggregation. Die Optimierung und Standardisierung der Durchführung des Verfahrens ist daher Voraussetzung zur Vergleichbarkeit der Ergebnisse verschiedener Hersteller (Hesse J et al., 2001; Yardumian DA et al., 1986; Budde U, 2002; Breddin HK, 2005).

### **Metabolische Parameter: pH, Glukose, Laktat und Laktatdehydrogenase**

Die Energieversorgung der Thrombozyten mittels Adenosintriphosphat erfolgt über zwei Stoffwechselwege: Im oxidativen Metabolismus mittels Tricarboxylsäureweg werden Fettsäuren, Azetat und Glukose verbraucht. Als Endprodukt entsteht dabei Kohlenstoffdioxid, das durch den Lagerbeutel der TK diffundieren kann.

Der geringere Anteil der Energieproduktion entfällt auf die Glykolyse, wobei Laktat und Hydrogenionen gebildet werden, die nicht durch den TK-Lagerbeutel diffundieren, sondern im Plasma durch Bikarbonationen abgepuffert werden.

Die Pufferkapazität wird mit dem Erreichen einer Laktatkonzentration von 20 mmol/l erschöpft. Infolgedessen fällt der pH-Wert rasch ab (Cardigan R et al., 2005; Tynngard N et al., 2008:48a).

Die Messung des pH-Wertes ist Bestandteil der Routine-Qualitätskontrolle. Der im Rahmen von Zulassungsuntersuchungen geforderte Bereich des pH-Wertes liegt zwischen 6,5 und 7,4 gemäß den zum Untersuchungszeitpunkt gültigen Richtlinien (Richtlinien (BÄK), 2005). Ein Unter- oder Überschreiten dieses Werte-Bereiches kann zu Formveränderungen, Aggregaten und irreversiblen Veränderungen der Thrombozyten führen.

Die Messung des pH-Wertes sollte unmittelbar im Anschluss an die Probenentnahme aus dem Blutbeutel erfolgen, um Veränderungen durch wechselnde Sauerstoff- und Kohlenstoffdioxid-Partialdrücke zu vermeiden (Hesse J et al., 2001).

Der initiale pH-Wert wird vor allem durch die Vollblut-zu-ACD-Rate während der Apherese und den Hämatokrit des Spenders bestimmt (Dumont L et al., 2003). Innerhalb des ersten Lagerungstages steigt der pH-Wert der Thrombozytenkonzentrate in der Regel an und sinkt anschließend über die folgenden Lagerungstage langsam ab (Störmer M et al., 2008; Dumont L et al., 2003). Die Glykolyse-Aktivität steigt entsprechend zum pH-Abfall. Dies äußert sich im Verbrauch der Glukose, der Produktion von Laktat und in einem Anstieg der Laktatdehydrogenase (Störmer M et al., 2008; Dumont L et al., 2003; Procházková R et al., 2007).

Niedrige pH-Werte vermindern die Funktionalität der Thrombozyten. Ob der pH-Abfall als solcher die „Platelet Storage Lesion“ hervorruft oder ob die Alterung und Zerstörung von Thrombozyten zu einer Reduktion des pH-Wertes führen, ist noch unklar (Dekkers DWC et al., 2007). Eine irreversible Schädigung der Thrombozyten ist bei einem pH-Wert  $< 6,2$  beschrieben (Murphy S, 1985).

Die Bedeutung erhöhter pH-Werte auf die Thrombozytenfunktion wird in der Literatur unterschiedlich bewertet. Hettinger et al. berichteten bei Begutachtung des korrigierten Inkrements von 25 mit der Trima Accel hergestellten Thrombozytenkonzentraten mit mittleren pH-Wert von 7,52 eine erfolgreiche TK-Transfusion (MW:  $CCI_{1-24h}$  15,32) (Hettinger J et al., 2008). Julmy et al. assoziierten höhere pH-Werte mit signifikant höheren  $CCI_{1h}$  (Julmy F et al., 2008). Dumont et al. stellten keinen Zusammenhang zwischen pH-Werten von mindestens 6,2 und dem in vivo Ergebnis der transfundierten Thrombozyten fest (Dumont LJ et al., 2006). Andere Studien wiederum zeigten einen Verlust der in vivo Wiederfindungsrate der Thrombozyten im Empfängerblut bei pH-Werten  $> 7,2$  bis 7,7 (Murphy S et al., 1975; Murphy S et al., 1982).

Die Hälfte der mit der Trima Accel hergestellten Thrombozytenkonzentrate überschritten in dieser Studie den pH-Wert von 7,40. Hingegen überschritt nur ein Thrombozytenkonzentrat der Com.Tec diesen Wert.

Erhöhte pH-Werte bei Thrombozytenkonzentraten der Trima Accel wurden auch durch Picker et al. mit  $7,52 \pm 0,03$  an Tag 1 und  $7,48 \pm 0,11$  an Tag 5 registriert (Picker SM et al., 2006:33). Konstante pH-Werte über sieben Tage mit einem Mittelwert von  $7,4 \pm 0,1$  an Tag 5 wurden von Albanyan et al. für die Trima Accel beschrieben (Albanyan AM et al., 2009). Die in Studienarm B hergestellten Einfach-Thrombozytenkonzentrate der Com.Tec unterschritten in sieben der acht untersuchten Fälle den pH-Wert von 6,5.

Der Glukoseverbrauch und die Laktatproduktion sind im pH-Bereich  $< 6,4$  oder  $> 7,2$  höher als im zwischenliegenden Bereich (Dekkers DWC et al., 2007). Der Glukoseverbrauch und die Laktatproduktion verhalten sich linear zum Zeitverlauf und korrelieren eng miteinander (Murphy S, 1985). Höhere Glukosekonzentrationen sind mit signifikant höheren  $CCI_{1h}$  beschrieben. Ebenso führen niedrigere Konzentrationen an Laktat zu signifikant höheren  $CCI_{1h}$  (Julmy F et al., 2008).

Eine Reduktion der Glukose- und ein Ansteigen der Laktatkonzentration konnte sowohl in dieser Studie als auch in zahlreichen publizierten Arbeiten aufgewiesen werden (Tynngard N et al., 2008:48b; Wagner SJ et al., 2008; Arnold DM et al., 2006; Tynngard N et al., 2008:48a).

Die Freisetzung intragranulärer Substanzen und zytosolischer Bestandteile erfolgt durch Zerstörung der Thrombozytenstruktur (Hervig T et al., 1999; Tynngard N et al., 2008:48b). Somit tritt eine steigende Konzentration an Laktatdehydrogenase mit zunehmender Lagerung auf, wie auch in dieser Studie gezeigt wurde.

### **Restzellgehalt und Sterilität der Thrombozytenkonzentrate**

Restleukozyten im Thrombozytenkonzentrat konkurrieren mit den Thrombozyten um Nährstoffe des Plasma und bilden Enzyme, biologisch aktive Zytokine sowie vasoaktive Substanzen, die zu Transfusionsreaktionen bei den Empfängern führen können.

Die Übertragung des Zytomegalievirus mit Leukozyten von CMV-seropositiven Blutspendern durch eine Transfusion stellt ein weiteres Risiko dar. Durch Leukozyten-depletion der Thrombozytenkonzentrate kann die Inzidenz der transfusionsassoziierten CMV-Infektionen jedoch um ca. 90 % gesenkt werden (Vamvakas EC, 2005).

In zahlreichen Publikationen wurde eine erfolgreiche Leukozytendepletion sowohl der Trima Accel- als auch der Com.Tec-Produkte in 96 bis 100 % der untersuchten Fälle berichtet (Ringwald J et al., 2003; Bueno JL et al., 2005; Fontana S et al., 2006; Burgstaler EA et al., 2004; Picker SM et al., 2006:33; Picker SM et al., 2006:46; Coffe C et al., 2001; Moog R et al., 2003; Fontana S et al., 2005; Zingsem J et al., 2007; Arnold DM et al., 2006; Zingsem J et al., 2005).

Der Grenzwert von  $1 \times 10^6$  WBC/Einheit wurde in dieser Studie von drei der 14 untersuchten Trima Accel- sowie zwei der 19 untersuchten Com.Tec-Thrombozytenkonzentrate überschritten. Die Ursache des höheren Anteils an Restleukozyten der untersuchten Produkte in der vorliegenden Arbeit kann nicht evaluiert werden. Es wurden keine besonderen Vorkommnisse während der jeweiligen Apherese berichtet. Alle Spender wiesen normwertige Leukozytenwerte bei Durchführung der Apherese auf. Somit muss von Systemimmanentem Versagen ausgegangen werden.

Der Gehalt an Resterythrozyten aller untersuchten Thrombozytenkonzentrate beider Apheresegeräte lag unterhalb des Grenzwertes von  $1 \times 10^8$ /Einheit. Diese Daten werden durch Studien von Picker et al. unter Verwendung der Trima Accel und von Moog et al. unter Anwendung der Com.Tec gestützt (Picker SM et al., 2006:33; Picker SM et al., 2006:46; Moog R et al., 2003).

Thrombozytenkonzentrate stellen prinzipiell ein gutes Nährmedium für Bakterien dar und unterstützen durch ihre Lagerung bei Raumtemperatur deren Wachstum (Störmer M et al., 2008). Bakterielle Kontamination von Blutprodukten, insbesondere von TKs, stellt eines der heute relevantesten transfusionsassoziierten Risiken dar. Ein positiver Bakteriennachweis in Thrombozytenkonzentraten wird in 0,02 bis 1,2 % aller produzierten Einheiten beschrieben (Walther-Wenke G, 2008; Schrezenmeier H et al., 2007; de Korte D et al., 2006). Die Häufigkeit von Reaktionen des Empfängers aufgrund der bakteriellen Kontamination wird mit 1:900 bis 1:100 000 angegeben (Munksgaard L et al., 2004; Fang CT et al., 2005; Walther-Wenke G, 2008).

Die Keime gelangen zumeist durch unzureichende Desinfektion der Punktionsstelle über die Kanüle ins gespendete Blut. *Staphylococcus epidermidis* und *Propionibacterium acnes* stellen als Keime der normalen Hautflora den Hauptteil dieser kontaminierenden Organismen (Störmer M et al., 2008; Schrezenmeier H et al., 2007). Sorgfältige Desinfektion der Haut und Verwerfen der ersten Milliliter des entnommenen Blutes reduzieren das Risiko der Bakterienkontamination der Blutprodukte um 50 bis 90 % (AuBuchon JP et al., 2002; de Korte D et al., 2006).

Die Inzidenz bakterieller Kontaminationen steigt mit der Lagerungszeit an. An Lagerungstag 5 ist die Inzidenz sechsmal höher als bei Thrombozytenkonzentraten, die nur vier Tage gelagert werden (Yomtovian R et al., 1993).

In der vorliegenden Arbeit konnte bei keinem der untersuchten Thrombozytenkonzentraten Bakterienwachstum nach Ablauf der Lagerungszeit festgestellt werden, so dass alle Produkte die Sterilitätskriterien erfüllten.

### **5.3.2 Plasmapräparate**

Gefrorenes Frischplasma enthält Gerinnungsfaktoren und Inhibitoren der Hämostase, die je nach Spender starke interindividuelle Schwankungen aufweisen können. Diese Gerinnungsfaktoren sind mit einer durchschnittlichen Aktivität von 100 % im Plasma gesunder Spender vorhanden (Runkel S et al., 2005).

Als Qualitätskriterium soll die Aktivität des Faktors VIII im aufgetauten GFP, gemessen im ersten Monat nach Herstellung sowie am Ende der Haltbarkeit, mindestens 70 % der ursprünglichen Ausgangsaktivität betragen (Richtlinien (BÄK), 2005).

Eine ausreichende Aktivität des Faktors VIII konnte von vier der zehn Com.Tec-Plasmapräparaten in dieser Arbeit nicht erfüllt werden. Desweiteren zeigte sich bei Anwendung der Com.Tec in einem GFP eine Faktor V-Aktivität < 70 % sowie in sieben GFP eine Faktor XI-Aktivität < 70 %. Hingegen wurde lediglich bei einem Trima Accel-Präparat eine grenzwertunterschreitende Faktor XI-Aktivität festgestellt. Dementsprechend zeigten sich Tendenzen zu höheren Aktivitäten der Gerinnungsfaktoren bei Verwendung der Trima Accel.

Zwischen der Zitratkonzentration im Plasmapräparat und der Aktivität des Faktors VIII besteht eine inverse Korrelation (Rock G et al., 1988). Niedrige Zitratkonzentrationen im Plasmapräparat führen außerdem zu einem signifikant höherem Niveau der Faktoren V und IX (Beeck H et al., 1999). Die Zitratkonzentrationen der gefrorenen Frischplasmen in dieser Arbeit waren zwischen allen Untergruppen der beiden Zellseparatoren vergleichbar, so dass dies als Einflussfaktor ausgeschlossen werden kann. Durch Ringwald et al. wurde unter Anwendung der Trima Accel 5.0 eine Faktor V-Aktivität von  $95,2 \pm 6,5$  % und eine Faktor VIII-Aktivität von  $103,7 \pm 9,3$  % registriert (Ringwald J et al., 2006).

Wichtig bei der Herstellung von gefrorenen Frischplasmen ist auch die Einhaltung einer möglichst geringen Restmenge an Thrombozyten, Leukozyten und Erythrozyten, um eine Aktivierung der Gerinnung beim Einfrierprozess zu vermeiden (Querschnitts-Leitlinien (BÄK), 2008). Eine Grenzkonzentration von 50 PLT/nl sollte nicht überschritten werden.

Bei Verwendung beider Zellseparatoren in dieser Studie zeigte sich ein deutlicher Unterschied in der Anzahl Restthrombozyten im gefrorenen Frischplasma.

Die Trima Accel-Präparate wiesen eine Konzentration von 0 bis 3 PLT/nl auf. Im Gegensatz dazu zeigten die GFP der Com.Tec bei Standardflussgeschwindigkeit zwischen 55 und 116 PLT/nl. Durch Limitierung der Flussrate auf 60 ml/Minute wurde eine Tendenz zu geringeren Restthrombozytenkonzentrationen der Com.Tec-Präparate erkennbar, die allerdings mit 46 bis 67 PLT/nl weiterhin deutlich von den mit der Trima Accel erreichten Werten abwichen. Die Einhaltung der Grenzwerte Werte des Restthrombozytengehaltes der Trima Accel-Präparate werden durch zwei Studien von Ringwald et al. unterstützt (Ringwald J et al., 2006; Ringwald J et al., 2003).

Zellfreie Produkte wie Plasmapräparate werden tiefgefroren gelagert. Daher haben GFP kaum Probleme mit bakterieller Kontamination (Störmer M, et al., 2008).

Dementsprechend konnte bei keinem der untersuchten gefrorenen Frischplasmen in dieser Studie Bakterienwachstum nachgewiesen werden.

#### 5.4 Wirksamkeit der Dreifach-Thrombozytenkonzentrate

Die großen Fortschritte in der Apheresetechnik ermöglichen die Herstellung von Thrombozytenkonzentraten mit hohem Thrombozytenertrag bei einem Restleukozytengehalt von  $< 1 \times 10^6$  WBC/Einheit in ca. 60 bis 100 Minuten, ohne dass bei den Spendern dabei relevante Nebenwirkungen zu erwarten sind.

Die Effektivität der Transfusion von Thrombozytenkonzentraten kann durch verschiedene Parameter überprüft werden. Klinisch bestätigt das Sistieren von Hämorrhagien oder die Korrektur einer verlängerten Blutungszeit den Transfusionserfolg. Als praktisches Routineverfahren wird die Bestimmung des Thrombozytenanstieges und damit die Berechnung des auf das Blutvolumen des Patienten und die Anzahl der übertragenden Thrombozyten korrigierten Inkrements (CCI) nach abgeschlossener Transfusion verwendet (Rebulla P, 1994).

Das korrigierte Inkrement wird in der Regel eine Stunde ( $CCI_{1h}$ ) und/oder 18 bis 24 Stunden ( $CCI_{24h}$ ) nach der Transfusion gemessen. Bei der Transfusion frischer Thrombozytenkonzentrate ( $< 3$  Tage) sollte das CCI über 10 liegen, mit zunehmender Lagerungsdauer nimmt das Inkrement ab. Das  $CCI_{24h}$  entspricht noch etwa  $2/3$  des Wertes des  $CCI_{1h}$ . Ein Ausbleiben eines ausreichenden Anstieges der Thrombozyten ( $CCI_{1h} < 7,5$  bzw.  $CCI_{24h} < 4,5$ ) wird als Refraktärzustand bezeichnet.

Niedrige  $CCI_{1h}$ -Werte sprechen für das Vorhandensein von Plättchen-reaktiven Antikörpern des Empfängers. Bei guter Entwicklung des  $CCI_{1h}$ , aber unzureichenden 24h-Werten können klinische Faktoren als Ursache für die Ineffektivität der Transfusion in Frage kommen (Rebulla P, 1994; Querschnitts-Leitlinien (BÄK), 2008).

Die Verwendung des korrigierten Inkrements als primären Parameter für den Transfusionserfolg wird kontrovers beurteilt, da bei der Begutachtung des Thrombozytenanstieges im Empfängerblut der hämostatische Effekt in vivo nicht beachtet wird (Heim D et al., 2008; Meyer O et al., 2007). Zusätzliche Daten über Änderungen der Blutungszeiten von Patienten liegen in dieser Arbeit nicht vor.

Der optimale Thrombozytengehalt eines Thrombozytenkonzentrates und damit die Thrombozytendosis einer Transfusion ist nicht eindeutig abzuschätzen. Die Transfusion sollte zu einem ausreichenden Anstieg der Thrombozytenwerte des Empfängers führen, um für eine adäquate Hämostase zu sorgen.

Die Transfusion von Thrombozytenkonzentraten mit hohem PLT-Gehalt kann aber auch durch höhere post-transfusionale Thrombozytenwerte des Empfängers zu einer Suppression der Thrombopoietin-Produktion und damit zu einer Verlangsamung der Regeneration der Thrombozytensynthese des Empfängers führen (Stroncek D et al., 2007). Ein Zusammenhang zwischen der Reduktion der mittleren PLT-Dosis und niedrigeren PLT-Werten nach Transfusion, einem niedrigerem CCI und einem kürzeren transfusionsfreien Intervall wurden ebenfalls beschrieben (Klumpff TR et al., 1999).

Verschiedene Faktoren beeinflussen den Erfolg der Thrombozytentransfusion. Negativen Einfluss auf die Effektivität der Transfusion ist bei Patienten-bedingten Faktoren wie männlichem Geschlecht oder Frauen mit  $\geq 2$  Schwangerschaften und gegebenenfalls vorliegender Immunisierung beschrieben, ebenso durch Vorliegen von Fieber und Infektionen vor Transfusion, Splenomegalie und verschiedene Medikamentengaben wie z.B. Amphotericin B, Vancomycin, Ciprofloxacin und Heparin. PLT-bedingte negative Einflussfaktoren sind unter anderem mit ABO-inkompatiblen Transfusionen, steigender Lagerungszeit des Produktes und Gammabestrahlung der Thrombozytenkonzentrate berichtet (Julmy F et al., 2008; Heim D et al., 2008; Stroncek D et al., 2007; Slichter SJ, 2007; Pastakia KB et al., 1996; Slichter SJ et al., 2005).

Höhere korrigierte Inkremente sind mit klaren klinischen Vorteilen wie einem längeren Intervall zwischen TK-Transfusionen und damit sinkendem Transfusionsbedarf verbunden (Heim D et al., 2008). Im Rahmen von Qualitätskontrolluntersuchungen wurde eine Assoziation von höheren  $CCI_{1h}$  mit signifikant höheren Glukosekonzentrationen, höheren pH-Werten, niedrigeren Laktatkonzentrationen und einer niedrigeren P-Selektin-Expression beschrieben (Julmy F et al., 2008).

In einer Studie von Julmy et al. wurden 293 Thrombozytenkonzentrate mit der Trima Accel 5.0 hergestellt. Der Gesamt-Thrombozytenertrag pro Apherese schwankte zwischen  $< 6$  und  $> 10 \times 10^{11}$  PLT. Nach Teilung der Aphereseprodukte enthielten die Thrombozytenkonzentrate einen durchschnittlichen PLT-Ertrag von  $2,4 \times 10^{11}$  pro Einheit. Die Thrombozytenkonzentrate wurden Kindern mit Thrombozytopenien aufgrund von Chemotherapie oder aplastischer Anämie transfundiert.

Basierend auf der Beurteilung des  $CCI_{1h}$  konnte eine signifikante Reduktion der Transfusionseffizienz mit steigendem PLT-Ertrag gezeigt werden. Bei einem PLT-Ertrag  $< 6 \times 10^{11}$  wurde ein durchschnittliches  $CCI_{1h}$  von 18,4 registriert, bei einem PLT-Ertrag  $\geq 10 \times 10^{11}$  wurde nur ein durchschnittliches  $CCI_{1h}$  von 11,5 erhoben (Julmy F et al., 2008).

Die Transfusion von 43 mit der Trima Accel 5.0 produzierten Thrombozytenkonzentrat an hämatonkologische Patienten mit einem durchschnittlichen PLT-Gehalt von  $2,35 \times 10^{11}$ /Einheit durch Fontana et al. führten in 69,8 % der Transfusionen zu einem  $CCI_{1h} > 7,5$  und in 37,2 % zu einem  $CCI_{24h} > 5$ . Dabei konnte kein signifikanter Unterschied zwischen der Transfusion von Thrombozytenkonzentrat aus Spenden mit einem PLT-Ertrag größer  $4 \times 10^{11}$  oder kleiner  $4 \times 10^{11}$  sowie größer  $6 \times 10^{11}$  oder kleiner  $6 \times 10^{11}$  PLT/Einheit dargestellt werden (Fontana S et al., 2006).

In einer multizentrischen Studie von Slichter et al. wurden insgesamt 6 379 Transfusionen an 533 Patienten mit akuter myeloischer Leukämie durchgeführt. Zur Transfusion wurden sowohl Apherese- als auch Pool-Thrombozytenkonzentrate verwendet. Im Rahmen dieser Studie konnte ein  $CCI_{1h}$  von  $24,9 \pm 17,0$  ( $n = 6209$ ) und ein  $CCI_{24h}$  von  $12,0 \pm 15,0$  ( $n = 5455$ ) erhoben werden (Slichter SJ et al., 2005).

Die Transfusion der sieben in dieser Arbeit mit der Trima Accel hergestellten Thrombozytenkonzentrate (PLT-Gehalt  $3,2 \pm 0,3 \times 10^{11}$ /Einheit) führte zu einem durchschnittlichen  $CCI_{1h}$  von  $13,3 \pm 11,0$  und einem  $CCI_{24h}$  von  $9,8 \pm 12,2$ . Bei den Transfusionen der Com.Tec-TK (PLT-Gehalt  $3,0 \pm 0,2 \times 10^{11}$ /Einheit) wurde ein durchschnittliches  $CCI_{1h}$  von  $6,4 \pm 1,9$  und ein  $CCI_{24h}$  von  $5,5 \pm 8,2$  ermittelt.

## 5.5 Ökonomische Relevanz und Kostenersparnis

Die steigenden Ausgaben im Gesundheitswesen erfordern einen verantwortungsbewussten Umgang mit den limitierten finanziellen Ressourcen. Die Stückkosten zur Herstellung von Apherese-TK konnten aufgrund der steigenden Rate an Doppel-PLT-Apheresekonzentrat in der Vergangenheit gesenkt werden. Die Etablierung und Ausweitung der Dreifach-PLT-Apheresekonzentrate kann einen weiteren Beitrag zur Kostenregulierung beisteuern.

Der Vergleich der abgezinsten Auszahlungen zwischen den beiden Zellseparatoren Trima Accel und Com.Tec anhand einer beispielhaften Kalkulation mit einem Aufkommen von 4 160 Spendern pro Jahr über einen Zeitraum von 8 Jahren zeigte in unserer Modellrechnung eine Ersparnis von 1.036.414 € bei Verwendung der Com.Tec. Diese Kostenersparnis der Modellrechnung ist in erster Linie auf die günstigeren Preise der Apheresesets bei der Com.Tec und somit geringeren Materialkosten zurückzuführen.

Die gewogenen durchschnittlichen Herstellungskosten pro Thrombozytenkonzentrat betragen in der Modellrechnung 141 € bei Verwendung der Trima Accel und 118 € bei der Com.Tec. Durch engere Selektion der Spenderpopulation mit Reduktion der Einfach-PLT- und Steigerung des Anteils an Dreifach-PLT-Apheresen kann eine weitere Senkung der Auszahlungen pro TK erfolgen.

Die Kosten zur Herstellung eines Thrombozytenapheresekonzentrates wurden durch Wollersheim et al. im Jahr 2005 mit 133 € angegeben (Wollersheim J et al., 2006). Die Aphereseverfahren wurden hierbei mit der Trima Accel 5.0 durchgeführt. In 82 % der Apheresen wurden dabei Doppel-PLT-Konzentrate hergestellt. Aufwandsentschädigungen der Spender wurden nicht berücksichtigt. Weitere Publikationen mit Angaben der Herstellungskosten von Thrombozytenkonzentraten liegen derzeit nicht vor.

## **5.6 Schlussfolgerung**

Thrombozytentransfusionen sind wichtiger Bestandteil in der Therapie zahlreicher Erkrankungen. Die Herstellung von Einfach-, Doppel- und Dreifach-Thrombozytenkonzentraten ist mit den beiden Zellseparatoren Trima Accel und Com.Tec möglich. Dabei zeigen sich Vorteile der Trima Accel bezüglich der Verfahrenszeiten und -effizienz, des ACD-Verbrauches, der Thrombozytennachwerte des Spenders und des Spenderkomforts.

Eine Präferenz der Durchführung der Aphereseverfahren mit der Trima Accel aufgrund der kürzeren Verfahrenszeit und des Einarmverfahrens wurde durch die Spenderevaluation deutlich.

Im Rahmen der Qualitätskontrolle wurden Unterschiede zwischen den Produkten beider Zellseparatoren sowie Diskrepanzen mit den erforderlichen Prüfkriterien der Qualitätskontrollen nachgewiesen.

Die Kalkulation der Kosten anhand einer Modellrechnung ergab jedoch einen deutlichen Vorteil zugunsten der Com.Tec.

Die Entscheidung zwischen den Geräten ist folglich in spezifischer Abwägung der qualitativen Vorteilen der Trima Accel und des Kostenvorteils der Com.Tec unter Berücksichtigung des Spenderaufkommens im jeweiligen Institut zu treffen.

Die Durchführung der Dreifach-Thrombozytapheresen erfolgte ohne Auftreten ernster Nebenwirkungen seitens der Spender. Mit der Herstellung von Dreifach-Thrombozytenkonzentraten kann prinzipiell die Spenderexposition und damit das Risiko von Infektionen und Alloimmunisierungen für den Empfänger weiter verringert werden, zugleich reduzieren sich die Herstellungskosten. Die Effektivität und der Erfolg der Transfusion der Dreifach-Thrombozytenkonzentrate anhand des CCI zeigt adäquate Ergebnisse der mit beiden Zellseparatoren hergestellten Produkte, so dass die ausreichende Wirksamkeit am Patienten bei dieser limitierten Stichprobe demonstriert werden konnte.

## 6. LITERATURVERZEICHNIS

1. Albanyan AM, Harrison P, Murphy MF. Markers of platelet activation and apoptosis during storage of apheresis- and buffy coat-derived platelet concentrates for 7 days. *Transfusion*, 2009; 49:108-117.
2. Arnold DM, Heddle NM, Kulczycky M, Carruthers J, Sigouin C, Blajchman MA. In vivo recovery and survival of apheresis and whole blood-derived platelets: a paired comparison in healthy volunteers. *Transfusion*, 2006; 46:257-264.
3. AuBuchon JP, Cooper LK, Leach MF, Zuaro DE, Schwartzman JD. Experience with universal bacterial culturing to detect contamination of apheresis platelet units in a hospital transfusion service. *Transfusion*, 2002; 42:855-861.
4. Baskett TF. James Blundell: the first transfusion of human blood. *Resuscitation*, 2002; 52:229-233.
5. Einführung in die Durchflußzytometrie: Trainingsvorbereitung. BD Biosciences, 2001.
6. Beeck H, Becker T, Kiessig ST, Kaeser R, Wolter K, Hellstern P. The influence of citrate concentration on the quality of plasma obtained by automated plasmapheresis: a prospective study. *Transfusion*, 1999; 39:1266-1270.
7. Benedum J. Historische Entwicklung der Bluttransfusion. *Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerz*, 2001; 36:83-86.
8. Bertolini F, Agazzi A, Peccatori F, Martinelli G, Sandri MT. The absence of swirling in platelet concentrates is highly predictive of poor posttransfusion platelet count increments and increased risk of a transfusion reaction. *Transfusion*, 2002; 40:121a-122.
9. Bolan CD, Greer SE, Cecco SA, Oblitas JM, Rehak NN, Leitman SF. Comprehensive analysis of citrate effects during plateletpheresis in normal donors. *Transfusion*, 2001; 41:1165-1171.
10. Born GVR, Cross MJ. The aggregation of blood platelets. *J Physiol*, 1963; 168:178-195.
11. Breddin HK. Can platelet aggregometry be standardized? *Platelets*, 2005; 16:151-158.
12. Budde U. Diagnosis of Platelet Function Defects with Platelet Aggregometers. *J Lab Med*, 2002; 26:564-571.
13. Bueno JL, García F, Castro E, Barea L, González R. A randomized crossover trial comparing three plateletpheresis machines. *Transfusion*, 2005; 45:1373-1381.
14. Burgstaler EA, Winters JL, Pineda AA. Paired comparison of Gambro Trima Accel versus Baxter Amicus single-needle plateletpheresis. *Transfusion*, 2004; 44:1612-1620.
15. Cardigan R, Turner C, Harrison P. Current methods of assessing platelet function: relevance to transfusion medicine. *Vox Sanguinis*, 2005; 88:153-163.

16. Coffe C, Benguella M, Domy M, Cottier D, Guignier F, N'gondara JP, Carrère A, Masse M, Naegelen C, Biggio B, Tiberghien P, Hervè P, Bouzgarrou R, Maurel JP, Vezon G, Vidal M, Quainon F, Benamara A, Lamy B, Beaumont JL, Bierling P, Gondrexon G, Schooneman F, Janot C, Villard F, Huart JJ. Plateletpheresis concentrates produced with the COM.TEC cell separator: the French experience. *Transfusion and Apheresis Science*, 2001; 25:67-72.
17. Dekkers DWC, De Cuyper IM, van der Meer PF, Verhoeven AJ, de Korte D. Influence of pH on stored human platelets. *Transfusion*, 2007; 47:1889-1895.
18. de Korte D, Curvers J, de Kort WLAM, Hoekstra T, van der Poel CL, Beckers EAM, Marcelis JH. Effects of skin disinfection method, deviation bag, and bacterial screening on clinical safety of platelet transfusions in the Netherlands. *Transfusion*, 2006; 46:476-485.
19. Despotis GJ, Goodnough LT, Dynis M, Baorto D, Spitznagel E. Adverse Events in Platelet Apheresis Donors: A Multivariate Analysis in a Hospital-based Program. *Vox Sanguinis*, 1999; 77:24-32.
20. Dumont LJ, AuBuchon JP, Gulliksson H, Slichter SJ, Elfath MD, Holme S, Murphy JR, Rose LE, Popovsky MA, Murphy S. In vitro pH effects on in vivo recovery and survival of platelets: an analysis by the BEST Collaborative. *Transfusion*, 2006; 46:1300-1305.
21. Dumont LJ, VandenBroeke T. Seven-day storage of apheresis platelets: report of an in vitro study. *Transfusion*, 2003; 43:143-150.
22. Eichler H, Klüter H. Therapy with cellular blood components. *Internist*, 2001; 42:760-768.
23. Fang CT, Chambers LA, Kennedy J, Strupp A, Fucci MC, Janas JA, Tang Y, Hapip CA, Lawrence TB, Dodd RY. Detection of bacterial contamination in apheresis platelet products: American Red Cross experience. *Transfusion*, 2005; 45:1845-1852.
24. Fontana S, Mordasini L, Keller P, Mansouri Taleghani B. Prospective, paired comparison of platelet apheresis with two different single-needle cell separators. *Transfusion*, 2005; 45:31A.
25. Fontana S, Mordasini L, Keller P, Mansouri Taleghani B. Prospective, paired crossover comparison of multiple, single-needle plateletpheresis procedures with the Amicus and Trima Accel cell separators. *Transfusion*, 2006; 46:2004-2010.
26. Fortbildungsunterlagen Fa. Fresenius Kabi: Die neue Generation von Zellseperatoren COM.TEC. Fresenius Kabi, 2007.
27. Fortbildungsunterlagen Fa. Gambro BCT: Trima Accel Automated Blood Collection System, Advanced System Training. Gambro BCT, 2007.
28. Fresenius HemoCare: Com.Tec Gebrauchsanweisung, Auflage: 5/06.05. Fresenius HemoCare, Bad Homburg/ Deutschland.
29. Gambro BCT: Trima Accel Automated Blood Collection System, Operator's Manuel For Use With Versions 5.0 - 5.1. Gambro BCT, 2004.
30. Gebrauchsinformation und Fachinformation Gefrorenes Frischplasma HOM, Apherese, ACD-A, leukozytendepletiert. Institut für klinische Hämostaseologie und Transfusionsmedizin. Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/ Saar, 2005.

31. Gebrauchsinformation und Fachinformation Thrombozytapheresekonzentrat HOM, leukozytendepletiert. Institut für klinische Hämostaseologie und Transfusionsmedizin. Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/ Saar, 2005.
32. Gebrauchsinformation und Fachinformation Thrombozytapheresekonzentrat HOM, leukozytendepletiert - bestrahlt mit 30 Gy. Institut für klinische Hämostaseologie und Transfusionsmedizin. Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/ Saar, 2006.
33. Giangrande PLF. The history of blood transfusion. *British Journal of Haematology*, 2000; 110:758-767.
34. Greinacher A, Kiefel V, Klüter H, Kroll H, Pötzsch B, Riess H. Empfehlungen zur Thrombozytentransfusion - DGTI, GTH und DGHO. 2006.
35. Gutensohn K, Geidel K, Brockmann M, Siemensen M, Krueger W, Kroeger N, Kuehnl P. Binding of activated platelets to WBCs in vivo after transfusion. *Transfusion*, 2002; 42:1373-1380.
36. Heim D, Passweg J, Gregor M, Buser A, Theocharides A, Arber C, Meyer-Monard S, Halter J, Tichelli A, Gratwohl A. Patient and product factors affecting platelet transfusion results. *Transfusion*, 2008; 48:681-687.
37. Hellstern P, Hitzler W. Thrombozytenkonzentrate aus Vollblutspenden - time to say goodbye. *Transfus Med Hemother*, 2007; 34:208-210.
38. Hervig T, Bakken AM, Farstad M. The swirling phenomenon in stored platelets is influenced by their endogenous serotonin. *Transfusion Medicine*, 1999; 9:139-145.
39. Hesse J, Doll M, Wilhelm M, Seitz R, Heiden M. Beurteilung der Thrombozytenfunktion in Zulassungsunterlagen. *Infus Ther Transfus Med*, 2001; 28:44-50.
40. Hettinger J, Halfer-Wirkus H, Alt T, Markovic A. Investigations to the Clinical Effectiveness of Apheresis-Derived Platelet Concentrates. *Transfus Med Hemother*, 2008; 35(suppl 1):1-96.
41. Heuft HG, Moog R, Fischer E, Zingsem J. Donor Safety and Tolerance in Triple Platelet Apheresis. Final Results from 2.254 Aphereses of the DGTI Hemapheresis Multicenter Trial. *Transfus Med Hemother*, 2008; 35(suppl 1):1-96.
42. Hilberg T. Platelet activity and platelet-leukocyte conjugate formation as markers in sports medicine. *J Lab Med*, 2005; 29:384-392.
43. Holme S, Sweeny JD, Sawyer S, Elfath MD. The expression of p-selectin during collection, processing, and storage of platelet concentrates: relationship to loss of in vivo viability. *Transfusion*, 1997; 37:12-37.
44. Julmy F, Ammann RA, Mansouri Taleghani B, Fontana S, Hirt A, Leibundgut K. Effects of high-yield thrombocytapheresis on the quality of platelet products. *Transfusion*, 2008; 48:442-450.
45. Jurk K, Kehrel BE. The role of platelets in haemostasis, thrombosis, immune defense and inflammation. *Dtsch med Wochenschr*, 2008; 133:1130-1135.
46. Kaiser F, Weisbach V, Goudeva L, Moog R, Zingsem J, Eckstein R, Heuft HG. The Influence of Intensified Triple Platelet Apheresis on Systemic Levels of Hematopoietic Growth Factors. *Transfus Med Hemother*, 2008; 35(suppl 1):1-96.

47. Kehrel BE. Platelets: biochemistry and physiology. *Hämostaseologie*, 2003; 23:149-158.
48. Klouche M. Cellular Haemostaseology II – Impact of Platelet Function Testing for Coagulation Management and Platelet Substitution Therapy. *Transfus Med Hemother*, 2007; 34:385-386.
49. Klüter H, Dörge I, Maass E, Wagner T, Bartels H, Kirchner H. In-vivo evaluation of random platelet concentrates from pooled buffy coats. *Ann Hematol*, 1996; 73:85-89.
50. Klumpp TR, Herman JH, Gaughan JP, Russo RR, Christman RA, Goldberg SL, Ackerman SJ, Bleecker GC, Mangan KF. Clinical consequences of alterations in platelet transfusion dose: a prospective, randomized, double-blind trial. *Transfusion*, 1999; 39:674-681.
51. Laurencet FM, Doucet A, Lydiat V, Jacquier MC, Mermillod B, Andersen S, Chapuis B. Quality Evaluation of Plateletpheresis Using the New AMICUS (Baxter) Cell Separator: Evolution of CD 62 Expression. *J Clin Apheresis*, 1998; 13:47-55.
52. Makar YF, Butler MO, Cockersole GM, Gabra G, Serevitch JM. National audit of citrate toxicity in plateletpheresis donors. *Transfusion*, 2002; 12:187-191.
53. McLeod BC, Price TH, Owen H, Ciavarella D, Sniecinski I, Randels MJ, Smith JW. Frequency of immediate adverse effects associated with therapeutic apheresis. *Transfusion*, 1999; 38:938-943.
54. Metzelaar MJ, Sixma JJ, Nieuwenhuis HK. Detection of platelet activation using activation-specific monoclonal antibodies. *Blood cells*, 1990; 16:85-93.
55. Meyer O, Kiesewetter H, Salama A. Value of Platelet Function Testing in Monitoring Platelet Substitution. *Transfus Med Hemother*, 2007; 34:389-393.
56. Mihm A. "Verah" - Arzthelferin auf Visite; Gehälter im Gesundheitswesen (Quelle: [www.personalmarkt.de](http://www.personalmarkt.de)). *Frankfurter Allgemeine Zeitung*, 2008; 268.
57. Moellering H, Gruber W. Determination of Citrate with Citrate Lyase. *Analytical Biochemistry*, 1966; 17:369-376.
58. Moog R, Kalb R, Mitschulat H. The Impact of Increased Blood Flow Rate and Lowered Anticoagulant/whole Blood Ratio on Separation Efficiency, Platelet Yield and Leukocyte Contamination in Plateletpheresis with the Single Needle Procedure of the COMTEC Blood Cell Separator. *Transfus Med Hemother*, 2005; 32(Suppl.1):41-88.
59. Moog R, Zeiler T, Heuft HG, Stephan B, Fischer EG, Kretschmer V, Rödel-Spieker R, Strasser S, Zingsem J. Collection of WBC-reduced single-donor PLT concentrates with a new blood cell separator: results of a multicenter study. *Transfusion*, 2003; 43:1107-1114.
60. Müller-Eckhardt C. *Transfusionsmedizin*, 2. Auflage. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 1996.
61. Munksgaard L, Albjerg L, Lillevang ST, Gahrn-Hansen B, Georgsen J. Detection of bacterial contamination of platelet components: six years' experience with the BacT/ALERT system. *Transfusion*, 2004; 44:1166-1173.
62. Murphy S. Platelet storage for transfusion. *Semin Hematol*, 1985; 22:165-177.

63. Murphy S, Gardner FH. Platelet storage at 22 degrees C: role of gas transport across plastic containers in maintenance of viability. *Blood*, 1975; 46:209-218.
64. Murphy S, Kahn RA, Holme S. Improved storage of platelets for transfusion in a new container. *Blood*, 1982; 60:194-200.
65. Nadler SB, Hidalgo JU, Bloch T. Prediction of blood volume in normal human adults. *Surgery*, 1962; 51:224-232.
66. Offergeld R, Ritter S, Hamouda O. Infektionsepidemiologische Daten von Blutspendern 2005. *Bundesgesundheitsbl - Gesundheitsforsch - Gesundheitsschutz*, 2007; 50:1221-1231.
67. Pastakia KB, Brownson NE, Terle DA, Poindexter BJ. Amphotericin B induced abnormalities in human platelets. *Clin Mol Pathol*, 1996; 49:M301-M307.
68. Patel KD, Cuvelier SL, Wiehler S. Selectins: critical mediators of leukocyte recruitment. *Immunology*, 2002; 14:73-81.
69. Picker SM, Radojska SM, Gathof BS. A Prospective Crossover Trial Comparing Performance and in vitro Platelet Quality of Three New Apheresis Devices with Current Equipment. *Transfus Med Hemother*, 2006; 33:520-527.
70. Picker SM, Radojska SM, Gathof BS. Prospective comparison of high-dose plateletpheresis with the latest apheresis systems on the same donors. *Transfusion*, 2006; 46:1601-1608.
71. Procházková R, Andrýs C, Hubáčková L, Krejsek J. Markers of platelet activation and apoptosis in platelet concentrates collected by apheresis. *Transfusion and Apheresis Science*, 2007; 37:115-123.
72. Querschnitts-Leitlinien (BÄK) zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten. Vorstand der Bundesärztekammer auf Empfehlung des Wissenschaftlichen Beirats. *Deutscher Ärzte-Verlag*, 2008.
73. Rebullá P. Platelet support of patients with hematological malignancies. *Haematologica*, 1994; 79:460-474.
74. Reissigl H. Hämotherapie nach und mit Maß bzw. gezielte Verwendung von Blut und Blutbestandteilen. *Transfus Med Hemother*, 1973/1974; 1:425-431.
75. Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie) gemäß §§ 12 u. 18 TFG Änderungen und Ergänzungen 2007. Bundesärztekammer. *Deutsches Ärzteblatt*, 2007; 104.
76. Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie) gemäß §§ 12 und 18 des Transfusionsgesetzes (TFG) (Novelle 2005). Bundesärztekammer. *Bundesanzeiger Verlagsgesellschaft*, 2005.
77. Rinder HM, Murphy M, Mitchell JG, Stocks J, Ault KA, Hillman RS. Progressive platelet activation with storage: evidence for shortened survival of activated platelets after transfusion. *Transfusion*, 1991; 31:409-414.
78. Ringwald J, Duerier T, Frankow O, Zimmermann R, Zingsem J, Strasser E, Antoon M, Eckstein R. Collection of hyperconcentrated platelets with Trima Accel. *Vox Sanguinis*, 2006; 90:92-96.

79. Ringwald J, Zingsem J, Zimmermann R, Strasser E; Antoon M, Eckstein R. First comparison of productivity and citrate donor load between the Trima version 4 (dual-stage filler) and the Trima Accel (single-stage filler) in the same donors. *Vox Sanguinis*, 2003; 85:267-275.
80. Rock G, Tittley P, Fuller V. Effect of citrate anticoagulations on factor VIII levels in plasma. *Transfusion*, 1988; 28:248-252.
81. Rouger P. Blood Transfusion Development within the Next 10 Years. *Transfus Med Hemother*, 2006; 33:437-440.
82. Runkel S, Haubelt H, Hitzler W, Hellstern P. The quality of plasma collected by automated apheresis and of recovered plasma from leucodepleted whole blood. *Transfusion*, 2005; 45:427-432.
83. Schrezenmeier H, Walther-Wenke G, Müller TH, Weinauer F, Younis A, Holland-Letz T, Geis G, Asmus J, Bauerfeind U, Burkhart J, Deitenbeck R, Förstemann E, Gebauer W, Höchsmann B, Karakassopoulos A, Liebscher UM, Sängler W, Schmidt M, Schunter F, Sireis W, Seifried E. Bacterial contamination of platelet concentrates: results of a prospective multicenter study comparing pooled whole blood-derived platelets and apheresis platelets. *Transfusion*, 2007; 47:644-652.
84. Seghatchian J, Krailadsiri P. The platelet storage lesion. *Transfusion Medicine Reviews*, 1997; 2:130-144.
85. Singh H, Chaudhary R, Ray V. Platelet indices as quality markers of platelet concentrates during storage. *Clin. Lab. Haem*, 2003; 25:307-310.
86. Slichter SJ. Evidence-Based Platelet Transfusion Guidelines. *Hematology*, 2007; 172-178.
87. Slichter SJ, Davis K, Enright H, Braine H, Gernsheimer T, Kao KJ, Kickler T, Lee E, McFarland J, McCullough J, Rodey G, Schiffer CA, Woodson R. Factors affecting posttransfusion platelet increments, platelet refractoriness, and platelet transfusion intervals in thrombocytopenic patients. *Blood*, 2005; 105:4106-4114.
88. Stenberg PE, McEver RP, Shuman MA, Jacques YV, Bainton DF. A platelet alpha-granule membrane protein (GMP-140) is expressed on the plasma membrane after activation. *The Journal of Cell Biology*, 1985; 101:880-886.
89. Störmer M, Kleesiek K, Dreier J. pH value promotes growth of *Staphylococcus epidermidis* in platelet concentrates. *Transfusion*, 2008; 48:836-846.
90. Strasser EF, Schuster M, Egler K, Bauer J, Weisbach V, Ringwald J, Zimmermann R, Zingsem J, Eckstein R. Frequently used plateletpheresis techniques result in variable target yields and platelet recruitment of donors. *Transfusion*, 2005; 45:788-797.
91. Strauss RG. Mechanisms of adverse effects during hemapheresis. *J Clin Apheresis*, 1996; 11:160-164.
92. Stroncek D, Rebutta P. Platelet transfusions. *Lancet*, 2007; 370:427-438.
93. Szymanski IO. Ionized calcium during plateletpheresis. *Transfusion*, 1978; 18:01-07.

94. Tynngard N, Lindahl TL, Trinks M, Studer M, Berlin G. The quality of platelet concentrates produced by COBE Spectra and Trima Accel cell separators during storage for 7 days as assessed by in vitro methods. *Transfusion*, 2008; 48a:715-722.
95. Tynngard N, Studer M, Lindahl TL, Trinks M, Berlin G. The effect of gamma irradiation on the quality of apheresis platelets during storage for 7 days. *Transfusion*, 2008; 48b:1669-1675.
96. Vamvakas EC. Is white blood cell reduction equivalent to antibody screening in preventing transmission of cytomegalovirus by transfusion? A review of the literature and meta-analysis. *Transfus Med Rev*, 2005; 19:181-199.
97. Verbraecken J, Van de Heyning P, De Backer W, Van Gaal L. Body surface area in normal-weight, overweight, and obese adults. A comparison study. *Metabolism Clinical and Experimental*, 2006; 55:515-524.
98. Verordnung über die Anwendung der Guten Herstellungspraxis bei der Herstellung von Arzneimitteln und Wirkstoffen und über die Anwendung der Guten fachlichen Praxis bei der Herstellung von Produkten menschlicher Herkunft (AMWHV). Bundesministerium für Gesundheit. Bundesanzeiger Verlag, 2006.
99. Wagner SJ, Robinette D Evaluation of swirling, pH, and glucose tests for the detection of bacterial contamination in platelet concentrates. *Transfusion*, 1996; 36:989-993.
100. Wagner SJ, Vassallo R, Skripchenko A, Einarson M, Seetharaman S, Moroff G. The influence of simulated shipping conditions (24- or 30-hr interruption of agitation) on the in vitro properties of apheresis platelets during 7-day storage. *Transfusion*, 2008; 48:1072-1080.
101. Waller C. Case of uterine hemorrhage, in which the operation of transfusion was successfully performed. *Med Phys J*, 1825; 54:273-277.
102. Walther-Wenke G. Incidence of bacterial transmission and transfusion reactions by blood components. *Clin Chem Lab Med*, 2008; 46:919-925.
103. Walton MT. The first blood transfusion: French or English? *Med Hist*, 1974; 18:360-364.
104. Webster C. The origins of blood transfusion: a reassessment. *Med Hist*, 1971; 15:387-392.
105. Wiltbank TB, Giordano GF. The safety profile of automated collections: an analysis of more than 1 million collections. *Transfusion*, 2007; 47:1002-1005.
106. Winters JL. Complications of Donor Apheresis. *Journal of Clinical Apheresis*, 2006; 21:132-141.
107. Wollersheim J, Dautzenberg M, van de Griendt A, Sybesma B. Donor selection criteria to maximize double platelet products (DPP) by platelet apheresis. *Transfusion and Apheresis Science*, 2006; 34:179-186.
108. Yardumian DA, Mackie IJ, Machin SJ. Laboratory investigation of platelet function: a review of methodology. *J Clin Pathol*, 1986; 39:701-712.
109. Yomtovian R, Lazarus HM, Goodnough LT, Hirschler NV, Morrissey AM, Jacobs MR. A prospective microbiologic surveillance program to detect and prevent the transfusion of bacterially contaminated platelets. *Transfusion*, 1993; 33:902-909.

110. Zeiler T, Friedrich G, Kretschmer V. Double-Unit Plateletpheresis with the COM.TEC Cellseparator. *Transfus Med Hemother*, 2005; 32(suppl 1):1–92.
111. Zingsem J, Strasser E, Ringwald J, Eckstein R. Performance and reliability in routine plateletpheresis. *Transfus Med Hemother*, 2005; 32(Suppl.1):41-88.
112. Zingsem J, Weisbach V, Zimmermann R, Glaser A, Bunkens H, Eckstein R. Preparation of FFP as a by-product of plateletpheresis. *Transfusion*, 2001; 42:81-86.
113. Zingsem J, Strasser E, Ringwald J, Zimmermann R, Weisbach V, Eckstein R. Evaluation of a new apheresis system for the collection of leucoreduced single-donor platelets. *Transfusion*, 2007; 47:987-994.

## **7. PUBLIKATIONEN**

Groß JC, Beck L, Eichler H. Comparison of TRIMA Accel and COM.TEC Platelet Apheresis Devices with Respect to Efficacy, Safety and Donor's Comfort. Transfusion Medicine and Hemotherapy, 2008; 35(suppl 1):1-96 (Poster).

Publikation in Vorbereitung:

Groß J, Beck L, Stephan B, Eichler H. Comparison of Trima Accel and Com.Tec Platelet Apheresis Devices with Respect to Efficacy, Safety and Donor's Comfort.

## **8. DANKSAGUNG**

Mein besonderer Dank gilt Herrn Univ.-Prof. Dr. Hermann Eichler für die Überlassung des Themas, die Bereitstellung der materiellen Voraussetzungen und für die Hilfestellung bei der Auswertung und Darstellung der Daten.

Bedanken möchte ich mich bei Herrn Dr. Jürgen Groß für die persönliche Unterstützung bei der Planung und Durchführung der Verfahren und seine konstruktive Kritik sowie die Anregungen beim Verfassen der Dissertation.

Den Sponsoren CaridianBCT und Fresenius HemoCare danke ich für den Beitrag durch die studienbegleitenden Vertreter beider Firmen Herr Volker Roth (CaridianBCT) sowie Frau Beate Zuzan und Herr Dr. Gunther Hartenstein (Fresenius HemoCare).

Frau Susanne Rohr danke ich für Rat und Tat im Labor sowie den Mitarbeitern des Blutspendedienstes für die Hilfe im Rahmen der Thrombozytapheresen und die freundliche Arbeitsatmosphäre.

Ein besonderer Dank gilt den Spendern des Blutspendedienstes für deren Spendebereitschaft und die Teilnahme an der Studie.

## 9. LEBENS LAUF

### Persönliche Daten

Geburtsdatum: 23.07.1984  
Geburtsort: Offenbach am Main

### Schul Ausbildung

1990 bis 1993: Grundschule Neu-Isenburg  
1993 bis 2003: Grundschule und Gymnasium Sindelfingen

### Hochschulausbildung

WS 2003/2004: Beginn des Studiums der Humanmedizin an der Universität des Saarlandes, Homburg/ Saar  
2005: Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
2008 bis 2009: Praktisches Jahr:  
Chirurgie: Inselspital Bern, Schweiz  
Innere Medizin: National University Hospital, Singapur  
Radiologie: Städtisches Krankenhaus Neunkirchen  
2009: Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

### Studienbegleitende Tätigkeiten

2006: Famulatur Innere Medizin, Städtisches Krankenhaus Sindelfingen  
2007: Famulatur Orthopädie, Charité Campus Benjamin Franklin Berlin  
Famulatur Hämostaseologische Ambulanz, Universitätsklinikum des Saarlandes Homburg/ Saar  
2008: Hospitation Radiologische Diagnostik, Universitätsklinikum Tübingen