

Aus der
Abteilung für Transfusionsmedizin
in der Med. Klinik III
der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. med. W. Mempel

**Bakterielle Kontamination von
HbF-Erythrozytenkonzentraten
aus Plazentarestblut**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Astrid Baier
aus München
2003

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. W. Mempel

Mitberichterstatter: Prof. Dr. M. Aepfelbacher

Priv. Doz. Dr. Dr. J. Haas

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. med. O. Ochmann

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h. c. K. Peter

Tag der mündlichen Prüfung: 30.10.2003

Inhaltsverzeichnis

INHALTSVERZEICHNIS	i
TABELLENVERZEICHNIS	iv
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	vi
1	EINLEITUNG 1
1.1	DEFINITION VON PLAZENTABLUT 1
1.2	VERWENDUNGSMÖGLICHKEITEN DES PLAZENTARESTBLUTES..... 1
1.3	TRANSFUSIONSBEDARF DES NEONATEN UND DES FETEN..... 1
1.4	NACHTEILE EINER FREMDBLUTTRANSFUSION 2
1.5	MÖGLICHKEITEN DIE FREMDSPENDEREXPOSITION BEI HbA-TRANSFUSIONEN ZU REDUZIEREN 2
1.6	POSTULIERTE VORTEILE EINER HbF-TRANSFUSION 4
2	PROBLEMSTELLUNG 4
3	FRAGESTELLUNG 5
4	METHODIK 6
4.1	STUDIENDESIGN..... 6
4.2	AUSWAHL DER GEBÄRENDEN..... 7
4.2.1	<i>Ethik</i> 7
4.2.2	<i>Einschlußkriterien</i> 7
4.2.3	<i>Ausschlußkriterien</i> 8
4.3	UMFANG DER AUFKLÄRUNG..... 8
4.3.1	<i>Aufklärung der Schwangeren</i> 8
4.3.2	<i>Anamnese zur Blutspende</i> 8
4.3.3	<i>Einverständniserklärung zur Gewinnung von Plazentarestblut</i> 9
4.4	INFEKTIONSSEROLOGISCHE UNTERSUCHUNG DER SCHWANGEREN..... 9
4.5	MATERIAL UND APPARATE..... 10
4.5.1	<i>Das Entnahmesystem</i> 10
4.5.2	<i>Die Kulturflaschen</i> 10
4.5.3	<i>Die Zentrifuge</i> 10
4.5.4	<i>Das Müller-Krüssel-System</i> 11
4.5.5	<i>Das Bactec-9120/9240-Gerät der Firma Becton Dickinson</i> 11

4.6	GEWINNUNG VON PLAZENTARESTBLUT.....	11
4.6.1	<i>Einführung</i>	11
4.6.2	<i>Dokumentation der Entnahme von Plazentarestblut</i>	12
4.6.3	<i>Entnahme von Plazentarestblut aus der Nachgeburt</i>	13
4.7	HERSTELLUNG EINES HbF-ERYTHROZYTENKONZENTRATES AUS PLAZENTARESTBLUT	14
4.7.1	<i>Allgemeine Regeln</i>	14
4.7.2	<i>Herstellung des HbF-Erythrozytenkonzentrates</i>	14
4.8	BEIMPFEN DER KULTURFLÄSCHCHEN	17
4.9	VERSUCHSABLAUF	17
4.10	STATISTIK.....	19
5	ERGEBNISTEIL	19
5.1	KONTAMINATIONS RATEN AN DEN EINZELNEN UNTERSUCHUNGSTAGEN	19
5.2	ZEITLICHER VERLAUF DER KONTAMINATION	22
5.3	DIE KONTAMINATION AM KONTROLLTAG 3 IM VERGLEICH ZUM UNTERSUCHUNGSTAG 1	24
5.4	UNTERSCHIEDLICHES AUFTRETEN DER BAKTERIEN IN DEN EINZELNEN FRAKTIONEN.....	28
5.5	AUFTRETEN DER EINZELNEN BAKTERIEN IN PROZENT.....	30
5.6	KONTAMINATION IM BEZUG AUF DEN ENTBINDUNGSWEG.....	31
5.7	AUFTRETEN EINES EINÜBUNGSEFFEKTS	34
5.8	GRÖÖBE DER ENTNAHMEVOLUMINA	35
5.9	ZUSAMMENHANG ZWISCHEN KONTAMINATION UND ENTZÜNDUNGSZEICHEN...	37
6	DISKUSSION.....	38
6.1	GESAMTKONTAMINATION.....	38
6.2	MÖGLICHE URSACHEN FÜR DIE KONTAMINATION VON BLUTPRODUKTEN	40
6.3	AUFTRETEN DER BAKTERIEN IN DEN EINZELNEN BLUTPRODUKTEN	41
6.4	SENSITIVITÄT DER FRAKTIONEN BEIM KONTAMINATIONS NACHWEIS	42
6.5	ANZAHL UND ZEITPUNKT DER UNTERSUCHUNGSTAGE.....	45
6.6	KONTAMINATION BEI SECTIO CAESAREA IM VERGLEICH ZUR VAGINALEN ENTBINDUNG	50
6.7	EINÜBUNGSEFFEKT	51
6.8	EINFLUßFAKTOREN FÜR DIE GRÖÖBE DER ENTNAHMEVOLUMINA	52

6.9	INFEKTIONSZEICHEN ALS ANHALTSPUNKT FÜR KONTAMINATION.....	54
7	ZUSAMMENFASSUNG.....	56
8	LITERATURVERZEICHNIS	58

ANHANG

ANHANG A:	TAB. A 1: DURCHSCHNITTSVOLUMINA BEI PLAZENTABLUTENTNAHMEN	I
	TAB. A 2: DURCHSCHNITTSVOLUMINA BEI PLAZENTABLUTENTNAHMEN IN ABHÄNGIGKEIT VOM GESTATIONSALTER	II
	TAB. A 3: DURCHSCHNITTSVOLUMINA BEI PLAZENTABLUTENTNAHMEN IN ABHÄNGIGKEIT VON DER ENTNAHMEMETHODE	III
ANHANG B:	INFORMATIONSTEIL UND EINVERSTÄNDNISERKLÄRUNG FÜR DIE SCHWANGEREN ZUR PLAZENTABLUTENTNAHME	IV
ANHANG C:	ANAMNESEBOGEN UND EINWILLIGUNG ZUR PLAZENTABLUTSPENDE	VI
ANHANG D:	BESCHREIBUNG "CORD BLOOD SET ZUR PRÄPARATION VON ERYTHROZYTENKONZENTRATEN AUS NABELSCHNURBLUT"	IX
	BESCHREIBUNG "MANUELLES PRÄPARIERSYSTEM NACH MÜLLER UND KRÜSSEL"	X
ANHANG E:	PLAZENTA-RESTBLUT-ENTNAHMEPROTOKOLL.....	XI
ANHANG F:	ABB. 1: ANZAHL DER ABNAHMEN / KONTAMINATIONEN PRO ABNAHMEPERSON	XII
	ABB. 2: VERGLEICH MENGE PLAZENTABLUT ZUR ANZAHL	XIII
ANHANG G:	TAB. G 1: KONTAMINATIONSRATE BEI PLAZENTABLUTENTNAHMEN – LITERATURRECHERCHE	XIV

DANKSAGUNG

LEBENS LAUF

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Kontaminationsraten an den einzelnen Untersuchungstagen.....	19
Tab. 2: Kontamination an Tag 1	20
Tab. 3: Kontamination an Tag 3	21
Tab. 4: Kontamination an Tag 35	22
Tab. 5: Gesamtaufstellung der Kontaminationen an allen Tagen in allen Fraktionen	23
Tab. 6: Gesamtaufstellung der Kontaminationen an allen Tagen in allen Fraktionen und Signifikanz der Ergebnisse	24
Tab. 7: Kontaminationen, die erst an Kontrolltag 3 nachgewiesen wurden.....	25
Tab. 8: Kontaminationen im Buffy coat an Tag 3.....	26
Tab. 9: Kontamination im Erythrozytenkonzentrat an Tag 3.....	27
Tab. 10: Kontamination im Plasma an Tag 3.....	28
Tab. 11: Bakterienvorkommen in den vier Fraktionen	29
Tab. 12: Keime nach Gramfärbung.....	31
Tab. 13: Kontaminationsraten der einzelnen Entbindungswege.....	32
Tab. 14: Bakterienvorkommen nach Entbindungsweg (vaginal).....	33
Tab. 15: Bakterienvorkommen nach Entbindungsweg (Sectio caesarea)	33
Tab. 16: Anzahl der positiven bakteriellen Befunde aufgetrennt in Gruppen unter Berücksichtigung der Entnahmereihenfolge.....	34
Tab. 17: Durchschnittsvolumina in Abhängigkeit vom Gestationsalter	37
Tab. 18: Durchschnittsvolumina in Abhängigkeit vom Entbindungsweg	37
Tab. 19: Entzündungsparameter bei positiven und bei negativen bakteriellen Plazentablutbefunden.....	38

Tab. A1: Durchschnittsvolumina bei Plazentablutentnahmen	I
Tab. A2: Durchschnittsvolumina bei Plazentablutentnahmen in Abhängigkeit vom Gestationsalter	II
Tab. A3: Durchschnittsvolumina bei Plazentablutentnahmen in Abhängigkeit von der Entnahmemethode	III

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Graphik über die Anzahl der Abnahmen und die Kontaminationen pro Abnahmeperson	33
Abb. 2: Graphik über die Entnahmeevolumina	34
Abb. 1: Graphik über die Anzahl der Abnahmen und die Kontaminationen pro Abnahmeperson	XII
Abb. 2: Graphik über die Entnahmeevolumina	XIII

1 Einleitung

1.1 Definition von Plazentablut

Ein Viertel bis ein Drittel des gesamten Blutes eines Föten befinden sich in dem plazentalen Kreislauf (104). Dieses Blut wird mit dem Einsetzen der pulmonalen Atmung des Neugeborenen physiologisch überflüssig. Es wird in Form der Nachgeburt mit der Plazenta und der Nabelschnur ausgestoßen.

1.2 Verwendungsmöglichkeiten des Plazentarestblutes

Die Plazenta wurde schon von jeher für rituelle Zwecke verwendet und gilt als Fruchtbarkeitszeichen. In letzter Zeit wurde sie vorwiegend von der Kosmetikindustrie verwendet. Aus medizinischer Sicht gibt es inzwischen zwei Verwendungsmöglichkeiten:

- Aus dem Plazentablut werden bereits Blutstammzellpräparate hergestellt, die für eine allogene Stammzelltransplantation zur Behandlung von malignen Hämoblastosen, Anämieformen sowie angeborenen Immundefekten und metabolischen Erkrankungen meist im Kindesalter erfolgreich eingesetzt werden (5, 39, 76, 87, 99, 100).
- Außerdem können aus dem Plazentarestblut Erythrozytenkonzentrate hergestellt werden, die zur Behandlung der Früh- und Neugeborenenanämie autolog transfundiert werden.

1.3 Transfusionsbedarf des Neonaten und des Feten

Die stationär behandelten neugeborenen Kinder gehören zu den am häufigsten transfundierten Patienten. Die Transfusionshäufigkeit hängt dabei vor allem vom Geburtsgewicht des Kindes ab. Neugeborene mit einem Geburtsgewicht bis zu 1500 g werden zum Großteil transfundiert (91). Brune et al. berichtet, daß Frühgeborene mit einem Geburtsgewicht unter 1500 g zu 75% mindestens eine Transfusion in den ersten sechs Lebenswochen erhalten (22). Obladen et al. untersuchte 60 Frühgeborene zwischen 560 und 1450 g. Sie bekamen durchschnittlich vier Transfusionen von 10 ml/kg KG innerhalb der ersten 28 Tage, wobei in diesem Zeitraum den Neugeborenen durchschnittlich ca. 50 ml/kg KG für diagnostische Zwecke entnommen wurden (74). Zum Ausgleich der iatrogen verursachten Blutverluste waren bei Brune et al. nur 30 ml Erythrozytenkonzentrat nötig gewesen (22). Neugeborene mit einem Geburtsgewicht unter 1300 g werden gewöhnlich ausnahmslos alle transfundiert (31), wobei auch hier unterschiedlich vorgegangen wird. Bei Griffin et al. waren Frühgeborene unter

1250 g nur zu 86% transfusionspflichtig (43). Die letztgenannten Neugeborenen gehören zu einer der am häufigsten transfundierten Patientengruppe in der gesamten Medizin. Das insgesamt transfundierte Blutvolumen überschreitet dabei nicht selten das eigene Blutvolumen des Neugeborenen (74).

1.4 Nachteile einer Fremdbluttransfusion

Zur Transfusion wird bis jetzt HbA-haltiges Erwachsenenblut verwendet. Die Fremdbluttransfusion ist mit Nebenwirkungen und Risiken verbunden. Dazu gehören:

1. Die Immunsuppression (77)
2. Die Immunmodulation wie z.B. die Entwicklung der Immuntoleranz (77)
3. Die Infektion mit Erregern blutübertragbarer Erkrankungen (34, 43, 73)
4. Die unabsehbaren Auswirkungen eines unphysiologisch hohen oxidativen Potentials des erwachsenen HbA-haltigen Blutes (1)
5. Die T-Antigen-Aktivierung mit schwerer Hämolyse (102)
6. Die Alloimmunisierung gegen erythrozytäre, leukozytäre und thrombozytäre Antigene (15)

1.5 Möglichkeiten die Fremdspenderexposition bei HbA-Transfusionen zu reduzieren

Die Fremdspenderexposition ist bei den multipel transfundierten Neugeborenen sehr hoch. Durchschnittlich bekommen Frühgeborene mit sehr niedrigem Geburtsgewicht 50 ml/kg KG Erythrozytenkonzentrat von insgesamt 8 bis 10 Spendern innerhalb des ersten Lebensmonats (10). Es gibt einige Möglichkeiten diese Fremdspenderexposition zu verringern. Dazu gehören:

1. Das single- oder reduced-donor-program
2. Die autologe Plazentablutretrotransfusion

Wenn man beim Plazentablut von einem Hämatokrit von 42% ausgeht (13, 35) und das Volumen, das aus der Plazenta gewonnen wird dementsprechend umrechnet, kann aus einer einzelnen Plazentablutspende in Abhängigkeit vom Reifungsgrad der Plazenta und von der Entnahmetechnik zwischen 30 und 130 ml Erythrozytenkonzentrat hergestellt werden (vergleiche hierzu Anhang A, Seite I-III). Dieses Konzentrat kann dann über einen Zeitraum von bis zu 42 Tagen gelagert und bei Bedarf in jeweils notwendigen kleinen Fraktionen transfundiert werden. Gewöhnlich werden den Neugeborenen ca. 10 ml

Erythrozytenkonzentrat transfundiert (4, 13). Bifano et al. berechnete anhand der Plazentablutvolumina und der entsprechenden Hämatokritwerte, die er bei Geburten nahe dem Geburtstermin gewonnen hatte, wie viel ml Erythrozytenkonzentrat er daraus hätte herstellen können. Bei einem Großteil der Geburten hätte er zwischen 30 und 50 ml Erythrozytenkonzentrat erhalten und somit drei bis fünf Transfusionen je 10 ml erstellen können (13). Anderson et al. dagegen gewann Plazentablut bei 60 Geburten, wobei sich je 20 Gebärende in der 28.-32. Schwangerschaftswoche (SSW), der 32.-36. SSW und zwischen der 36. SSW und dem Geburtstermin befanden. Bei 87% der Entnahmen konnte genügend Volumen für mindestens eine Transfusion von 10 ml Erythrozytenkonzentrat pro kg Körpergewicht gewonnen werden. Bei 53% der Geburten reichte das Volumen für zwei oder mehr Transfusionen (4).

Bei einem Teil der Neugeborenen ließe sich durch die fraktionierte Retransfusion des eigenen Plazentablutes die Transfusion vom Fremdblut völlig eliminieren. Beim größten Teil der Neugeborenen wäre es durch eine Verbindung der fraktionierten Plazentaeigenblutretansfusion mit einem Einzelspenderprogramm (single-donor-program) möglich, die Fremdspenderexposition der Neugeborenen auf nur einen einzelnen Fremdspender zu reduzieren, was aufgrund der erwähnten Risiken allenfalls anzustreben ist (92). Zudem müßte es möglich sein, bei jedem Neugeborenen durch die fraktionierte Retransfusion des eigenen Plazentablutes zumindest die iatrogen verursachten Blutverluste in den ersten 6 Lebenswochen weitgehend oder sogar völlig auszugleichen. Bei Frühgeborenen unter 1300 g kann jedoch meist nicht genügend Plazentablut für eine erfolgreiche Herstellung von Erythrozytenkonzentrat gewonnen werden (31).

Diese Form der autologen Plazentabluttransfusion ist inzwischen zu bevorzugen. Die plazentale Transfusion über die bestehende Nabelschnur noch vor der Abnabelung ist aufgrund der zu großen Volumenbelastung des Neugeborenen bereits aufgegeben worden (104). In Abhängigkeit von der Dauer der plazentalen Transfusion und den uterinen Kontraktionen kann das Blutvolumen noch um bis zu 55% des Geburtsvolumens zunehmen (103).

Eine neue Möglichkeit ist die allogene Plazentabluttransfusion, wozu auch die intrauterine HbF-Transfusion, die durch neue Konservierungstechniken möglich wurde, gehört. Letztere wurden bis jetzt allerdings noch nicht durchgeführt.

1.6 Postulierte Vorteile einer HbF-Transfusion

Zwischen dem fetalen Hämoglobin F und dem adulten Hämoglobin A₁ bestehen mehrere physikochemische Unterschiede. Dabei scheinen die vergleichsmäßig stärkere Bindung des Sauerstoffs durch das HbF und das Fehlen des Bohr-Effektes beim HbF für die möglichen unterschiedlichen physiologischen Auswirkungen der beiden Hämoglobintypen am wichtigsten zu sein. Bislang wurden weltweit keine Vergleichsuntersuchungen hinsichtlich der möglichen unterschiedlichen Auswirkung des HbF und des HbA₁ bei Transfusion der Neugeborenen und besonders der extrem Frühgeborenen durchgeführt. Es läßt sich dabei eine unterschiedliche Auswirkung der beiden Hämoglobine:

1. In der Situation eines erschwerten respiratorisch verlängerten Dissoziationsweges für O₂ bei Hyalin-Membran-Erkrankung (HMD),
2. Bei permanenten oder temporären Links-rechts-Shunts bei Vorliegen eines noch offenen Ductus Botalli oder eines Foramen ovale apertum bei Frühgeborenen,
3. Auf die Initialisierung der erythropoetinabhängigen HbA₁-Erythropoese,
4. Auf die bekannte Anfälligkeit der Früh- und Neugeborenen auf oxidative Gewebsschädigung unter HbA₁-Transfusionen (wie im Beispiel der oxidativen Retinopathie)
5. Bei der intrauterinen Transfusion

vermuten und untersuchen. Eine eventuell vorteilhafte Wirkung des HbF im Vergleich zum HbA₁ vor allem bei Früh- und extrem Frühgeborenen läßt sich derzeit lediglich rein theoretisch postulieren.

Um autologe HbF-Transfusionen durchführen zu können und um allogene HbF-Transfusionen darunter auch die intrauterine Transfusion, weiter erforschen zu können, müssen HbF-Erythrozytenkonzentrate als Blutprodukte entwickelt werden.

2 Problemstellung

Ebenso wie bei der Stammzellgewinnung aus Plazentablut, stellt auch bei der autologen oder intrauterinen Plazentabluttransfusion die eventuelle bakterielle Kontamination des Plazentablutes aus transfusionsmedizinischer Sicht eines der Hauptprobleme dar. Die vorliegenden Literaturangaben sind hier nicht eindeutig. Sie variieren zwischen < 1% und 28%. Für diese große Spannweite gibt es viele Ursachen.

1. Einübungseffekt (höhere Raten bei kleiner Anzahl von Plazentablutentnahmen, bei den ersten Entnahmen im Vergleich zu den weiteren respektive späteren, höhere bei sporadischen Entnahmen als beim Routineverfahren)
2. Entbindungsweg (vaginal oder Sectio caesarea, wobei die einzige Arbeit von Anderson et al. 1992, die diese Entbindungswege hinsichtlich der Kontaminationsrate untersucht hat, keinen Unterschied finden konnte)
3. Entnahmetechnik (Gewinnung von Plazentablut vor oder nach dem Ausstoßen der Nachgeburt)
4. Entnahmesystem (offen, geschlossen eigenpräpariert, geschlossen kommerziell hergestellt, keine Angaben)
5. Zeitpunkt der bakteriellen Untersuchung
6. Anzahl der bakteriellen Untersuchungen
7. Beobachtungszeit der bakteriellen Kultur
8. Fehlender Diskriminierungsversuch zwischen primärer und sekundärer Kontamination
9. Fehlende Angaben über das verwendete Untersuchungsmaterial (Vollblut, Plasma, Buffy coat, Erythrozytenkonzentrat)
10. Fehlende Untersuchungen über den Einfluß der Lagerung (4°C) auf die bakterielle Kontamination
11. Fehlende Korrelationsuntersuchungen (Regressionsanalysen) zwischen der Kontaminationsrate und den klinischen und laborchemischen Entzündungs- respektive Infektionszeichen bei den gebärenden Müttern und den Neugeborenen.

Ein weiteres Problem ist die begrenzte Menge des für Untersuchungen verfügbaren Materials. Die Angaben über das bei Plazentablutabnahmen gewonnene Volumen variieren gleichermaßen. Im Durchschnitt werden zwischen 65 und 100 ml Plazentablut gewonnen. Davon werden ca. 50 ml/kg für die mikrobiologischen Untersuchungen benötigt (74) (siehe Anhang A, Tab. A1, Seite I).

3 Fragestellung

Das Problem der bakteriellen Kontamination ist von entscheidender Bedeutung. Deshalb waren in dieser Arbeit besonders die folgende Hauptfragen von Interesse:

1. Wie hoch ist die bakterielle Gesamtkontamination?

2. Aus welcher Fraktion des prozessierten Plazentarestblutes ist der Nachweis bakterieller Kontamination am sensitivsten (Vollblut, Erythrozytenkonzentrat, Buffy coat oder Plasma)?

Die erhobenen Daten werden zusätzlich auch hinsichtlich folgender Fragen ausgewertet:

1. Sind neben der Untersuchung auf eine bakterielle Kontamination zum Zeitpunkt der Gewinnung des Plazentarestblutes auch noch weitere mikrobiologische Untersuchungen sinnvoll?
2. Zu welcher Zeit und wie häufig sind zusätzliche Untersuchungen sinnvoll? Hier ist vor allem die Auswirkung der Lagerung auf die Kontamination von Interesse.
3. Welches minimale Inokulationsvolumen ist für den sicheren Nachweis einer bakteriellen Kontamination unabdingbar?
4. Einfluß der Einübung des Personals bei der Plazentarestblutentnahme auf die Kontaminationsrate.
5. Auswirkung der unterschiedlichen Entbindungswege (Sectio caesarea, vaginale Entbindung) auf die Kontaminationsrate.
6. Zusammenhang zwischen der Höhe der Kontaminationsrate und den klinischen Symptomen (Fieber, Lokalsymptome) und laborchemischen Parametern (Leukozytose, akute Phase Proteine) eines Infektes.
7. Die Art der bakteriellen Kontamination.

Die Ergebnisse dieser Auswertung werden dann zur besseren Planung der weiteren mikrobiologischen Untersuchungen des gewonnenen Plazentarestblutes benutzt.

4 Methodik

4.1 Studiendesign

Die Studie war als eine offene, prospektive, klinische Vergleichsuntersuchung angelegt. In der Hauptstudie wurde insgesamt bei 117 Geburten das Plazentablut abgenommen, fraktioniert und mikrobiologisch untersucht.

In einer vorausgegangenen Pilotstudie wurde zuerst bei 21 Geburten Plazentablut entnommen, nicht fraktioniert und nur als Vollblut auf bakterielle Kontamination untersucht. In der Pilotstudie wurde die Abnahmetechnik mit dem Entnahmesystem eingeübt. Das Plazentablut wurde sechsmal auf bakterielle Kontamination untersucht. Begonnen wurde mit einer Untersuchung am Tag der Geburt. Weitere Untersuchungen folgten an den

Kontrolltagen 3, 6, 9, 12 und an Verfallstag 35. Es wurden je eine aerobe und eine anaerobe Kultur mit jeweils 3 ml Inokulationsvolumen angelegt. Die Daten wurden aufgrund der geringen Anzahl nicht ausgewertet.

In der Hauptstudie fanden die Untersuchungen aufgrund des geringen zur Verfügung stehenden Volumens nur noch an den Tagen 1, 3 und 35 statt, allerdings wurden mehrere Fraktionen untersucht. An Tag 1 wurde einmalig das Vollblut untersucht und zusätzlich folgende drei Fraktionen: Buffy coat, Erythrozytenkonzentrat und Plasma. An den Tagen 3 und 35 konnten nur noch die drei letztgenannten Fraktionen untersucht werden. Auch hier wurden an jedem Tag für jede Fraktion aerobe als auch anaerobe Kulturen mit 3 ml Inokulationsvolumen angelegt.

Zum Vergleich wurden 121 Buffy coats aus Eigenblutentnahmen von Erwachsenen in der gleichen Art und Weise auf bakterielle Kontamination untersucht. Verwendet wurde dabei nur Eigenblut von Erwachsenen bei denen alle transfusionsmedizinisch relevanten infektionsserologischen Untersuchungen einen unauffälligen Befund erbracht hatten. Dadurch sollte ein mögliches Epiphänomen der Kontamination bei der Bearbeitung des Plazentablutes überprüft werden. (Parallelstudie, durchgeführt von M. Khalil im Klinikum Großhadern; bisher noch nicht publiziert)

4.2 Auswahl der Gebärenden

4.2.1 Ethik

Die Auswahl der Gebärenden erfolgte in der jeweiligen Reihenfolge ihrer Aufnahme in den Kreißaal, nachdem anhand der Ein- und Ausschlußkriterien die Eignung zur Aufnahme in die Studie ermittelt war und die Gebärende nach ausführlicher Aufklärung über Ziele, Ablauf und Risiken der geplanten Untersuchung ihre Einwilligung erteilt hatte.

Eine Zustimmung der Ethikkommission der Ludwig-Maximilians-Universität München mußte nicht eingeholt werden, da keine Risiken, weder für die Mutter noch für das Neugeborene zu irgend einem Zeitpunkt aufgrund dieser Studie entstanden.

4.2.2 Einschlußkriterien

1. Einverständniserklärung der Mutter bzw. der Eltern hinsichtlich der Plazentablutgewinnung (siehe Anhang B, Seite V und Anhang C, Seite VIII)
2. Unauffällige infektionsserologische Untersuchung (HIV-, Hepatitis-, Lues- und Toxoplasmose-Serologie)

3. Ausreichendes Volumen des gewonnenen Plazentarestblutes für die vorgesehenen infektiologischen, mikrobiologischen und laborchemischen Untersuchungen

4.2.3 Ausschlußkriterien

1. Fehlende Einverständniserklärung
2. Auffälligkeiten beim serologischen Befund
3. Fehlgeburt

4.3 Umfang der Aufklärung

4.3.1 Aufklärung der Schwangeren

Jede Schwangere wurde in einem ärztlichen Gespräch und anhand eines standardisierten Informationsblattes über die Gewinnung von Plazentablut aufgeklärt (siehe Anhang B, Seite IV). Soweit es möglich war, fand das Aufklärungsgespräch schon bei der ersten Untersuchung in der Schwangerenambulanz statt.

Falls bis zum Tag der Geburt noch keine Aufklärung vorgenommen werden konnte, wurden die Schwangeren noch vor der Geburt direkt im Kreißsaal aufgeklärt.

Bei Patientinnen, die auf Grund von Komplikationen schon vorher stationär behandelt worden waren, fand die Aufklärung auf der Station statt.

So konnten fast alle Schwangeren aufgeklärt werden und ein Großteil von ihnen erklärte sich zur Plazentablutentnahme bereit.

4.3.2 Anamnese zur Blutspende

Bei der eventuellen Verwendung des Plazentablutes zur Transfusion ergibt sich ein doppeltes Risiko. Dieses besteht erstens hinsichtlich des Infektionsstatus der Mutter und zweitens kommen Risiken der bakteriellen Kontamination bei der Gewinnung des Plazentablutes hinzu.

Deshalb wurden zusätzlich zu den Ergebnissen der infektionsserologischen Untersuchung noch weitere Informationen über die Schwangere anhand eines standardisierten Fragebogens „Anamnese zur Plazentablutspende“ eingeholt (siehe Anhang C, Seite VI-VIII).

Dabei waren vor allem mögliche Infektionsrisiken bzw. Infektionsquellen und bei der Mutter evtl. vorliegende Erkrankungen von Interesse.

Dieser Fragebogen mußte von allen Schwangeren, die der Plazentablutgewinnung zugestimmt hatten, ausgefüllt werden. Dabei war gewährleistet, daß bestehende Unklarheiten noch in einem ärztlichen Gespräch geklärt werden konnten.

Die Angaben auf den Fragebögen und das durchgeführte ärztliche Gespräch mußten sowohl durch eine Unterschrift der Schwangeren als auch des aufklärenden Arztes/Ärztin bestätigt werden.

4.3.3 Einverständniserklärung zur Gewinnung von Plazentarestblut

Von jeder Schwangeren, die einer Gewinnung von Plazentarestblut zugestimmt hatte und deren Anamnese zur Blutspende keine Angaben beinhaltete, die als Ausschlußkriterien für eine Blutspende galten, wurde auch noch eine schriftliche Einverständniserklärung zur Entnahme von Plazentarestblut eingeholt (siehe Anhang B, Seite V und Anhang C, Seiten VI-VIII).

Neben der Verwendung des gewonnenen Plazentarestblutes für eine eventuelle autologe Transfusion bei ihrem Kind stimmten die Schwangeren aber gleichzeitig auch einer allogenen Transfusion bei anderen transfusionsbedürftigen Kindern, für den Fall, daß ihr eigenes Kind keine Transfusion benötigte, zu.

Weiterhin bewilligten sie die Nutzung des Buffy coats, das bei der Verarbeitung des entnommenen Plazentarestblutes hergestellt wird und unter anderem Stammzellen enthält, für wissenschaftliche Zwecke.

4.4 Infektionsserologische Untersuchung der Schwangeren

Bei jeder Schwangeren, bei der die Plazentablutentnahme anstand, wurde anhand von 10 ml Nativblut eine infektionsserologische Untersuchung in der Abteilung für Transfusionsmedizin des Klinikums Großhadern durchgeführt.

Die infektionsserologische Untersuchung umfaßte:

1. Die Hepatitis A-, B- und C-Serologie,
2. Die HIV-Serologie,
3. Die Lues-Serologie,
4. Die Toxoplasmose-Serologie.

Wenn das Blut im Sinne eines Arzneimittels verwendet wird, bleibt die Frage zu stellen, ob die Schwangere alle Kriterien eines Blutspenders erfüllen muß, oder ob wie bei der Eigenblutspende Einschränkungen gemacht werden können.

4.5 Material und Apparate

4.5.1 Das Entnahmesystem

Verwendet wurde das Cord Blood Set zur Präparation von Erythrozytenkonzentraten aus Nabelschnurblut MXT 2206DC der Firma Maco Pharma International GmbH. Es handelt sich um ein Top-Bottom-System mit einem 300 ml Sammelbeutel, gefüllt mit 21 ml CPD-Antikoagulanzlösung. Über ein Schlauchsystem mit zwei Kanülen gelangt das Plazentavollblut in den Sammelbeutel. Eine Kanüle ist für die Punktion der Nabelschnurvene am distalen Ende vorgesehen, die andere für die Punktion am Insertionssinus. Wir verwendeten nur eine Kanüle am distalen Nabelschnurende (siehe Abbildung im Anhang D, Seite IX).

Mit dem Sammelbeutel ist ein Top-Beutel (150 ml), in den beim Fraktionieren das Plasma abgepreßt wird, und zwei Bottom-Beutel (je 35 ml) für das Erythrozytenkonzentrat verbunden. Die Buffy-coat-Fraktion verbleibt im Sammelbeutel.

Zum System gehören außerdem noch ein Beutel mit 8 ml CPD zum Spülen der Entnahmeschläuche und ein Beutel mit 8 ml SAG-Mannitol Additivlösung. Wenn gewünscht, können die Erythrozytenkonzentrate in SAG-M Additivlösung resuspendiert werden. Dies hat den Vorteil einer verlängerten Lagerfähigkeit (42 Tage) und bietet darüber hinaus die Möglichkeit, den Verlust an Erythrozyten durch die Präparation zu reduzieren, da die Additivlösung zum Spülen des Sammelbeutels und der ableitenden Schläuche genutzt wird.

4.5.2 Die Kulturflaschen

Benutzt wurden die Flaschen Bactec Plus Aerobic/F* bzw. Anaerobic/F* der Firma Becton Dickinson and Company für 3-10 ml Inokulationsvolumen. Das Bactec-Plus-System bietet aufgrund der in den Medien enthaltenen Kunstharze den Vorteil, daß es Mikroorganismen auch bei Antibiotikatherapie isolieren kann und somit eine große Ausbeute sowie eine kurze Nachweiszeit aufweist.

4.5.3 Die Zentrifuge

Zentrifugiert wurde mit der Hettich Roto Magna/K Zentrifuge mit einer Umdrehungszahl von 1.400 U/min, ca. 15 min bei 22°C. Die Zentrifuge wurde ohne Bremse betrieben.

4.5.4 Das Müller-Krüssel-System

Beim Müller-Krüssel-System handelt es sich um ein manuelles Präpariersystem zur Komponententrennung von Thrombozytenkonzentraten und von Plazentablut (Fresenius, Bad Homburg, siehe Abbildung im Anhang D, Seite X).

4.5.5 Das Bactec-9120/9240-Gerät der Firma Becton Dickinson

Das Bactec-Gerät dient dem schnellen Nachweis von Bakterien und Pilzen in Blutkulturen. Eine Blutprobe wird nach Entnahme in Bactec-Probenflaschen gegeben. Wenn Mikroorganismen im Blut vorhanden sind, setzen sie beim Abbau der Nährstoffe CO₂ frei. Im Flaschenboden befindet sich ein Sensor. Ein Farbstoff im Sensor reagiert mit CO₂ und verändert die Lichtmenge, die vom Fluoreszenzmaterial im Sensor aufgenommen wird. Fotodioden im Gerät messen die Fluoreszenzkonzentration, die von der durch die Erreger produzierten CO₂-Menge abhängt. Die Rohdaten des Detektors werden an den Computer geleitet, wo eine Positivitätsanalyse erfolgt. Sobald positive Kulturen ermittelt werden, werden sie durch eine Anzeigelampe am Gerät, Darstellung auf dem Bildschirm und einen akustischen Alarm angezeigt.

Werden positive Kulturen ermittelt, werden die Flaschen zur Bestätigung der Ergebnisse und zur Isolierung und Identifizierung der Keime aus dem Gerät entnommen.

Das Bactec-9240-Gerät überwacht 240 Flaschen, das Bactec-9120-Gerät nur 120 Flaschen. Die Probenflaschen werden bei 35°C inkubiert und für eine maximale Keimausbeute geschüttelt.

4.6 Gewinnung von Plazentarestblut

4.6.1 Einführung

Ärzte/Ärztinnen wurden in die Entnahme des Plazentarestblutes bei Sectio caesarea und Hebammen bei vaginalen Geburten mit geringen Abwandlungen gemäß der Gebrauchsanleitung des verwendeten Entnahmesystems eingewiesen.

Die Entnahme vom Plazentarestblut erfolgte bei der vaginalen Geburt direkt nach Durchtrennen der Nabelschnur noch mit der Plazenta in utero. Das Blut wurde über die Nabelschnurvene entnommen. Bei Entbindung durch eine Sectio caesarea im Kreißsaal-OP wurde ebenfalls nach Durchschneiden der Nabelschnur, möglichst noch an ungelöster Plazenta, das Blut abgenommen.

Zur Gewinnung von Plazentarestblut wurde das Cord Blood Set zur Präparation von Erythrozytenkonzentraten aus Nabelschnurblut MXT 2206DC der Firma Maco Pharma International GmbH verwendet.

4.6.2 Dokumentation der Entnahme von Plazentarestblut

Die Entnahme von Plazentarestblut wurde in einem dafür vorgesehenen Formular „Plazentarestblut Entnahmeprotokoll“ dokumentiert (siehe Anhang E, Seite XI).

Dieses Protokoll enthält die Personenangaben, Angaben zur Geburt, Angaben zu Infektions- und Entzündungszeichen und Angaben zur Plazentarestblutentnahme.

4.6.2.1 Personenangaben

Die Personenangaben erfassen den Namen, den Vornamen, das Geburtsdatum, die Adresse, die Versicherung, die Patientenaufnahmenummer und die behandelnde Station der Mutter des neugeborenen Kindes. Das ist in der Regel einem großen Patientenetikett zu entnehmen.

Dieselben Angaben zum Neugeborenen, werden soweit schon vorhanden, ebenfalls in Form eines großen Patientenetiketts vermerkt.

4.6.2.2 Angaben zur Geburt

Dazu gehören der Entbindungsweg (Sectio caesarea oder vaginale Entbindung), die Geburtszeit und die Geburtennummer des Neugeborenen.

4.6.2.3 Infektions- und Entzündungszeichen bei der Mutter

1. Körpertemperatur in °C
2. CRP-Wert in mg/dl
3. Leukozytenzahl in G/l
4. Sonstiges: z.B. Anzeichen einer Amnioninfektion oder Anzeichen einer Mekoniumkontamination des Fruchtwassers oder andere ähnliche und für die mikrobielle Kontamination des entnommenen Plazentarestblutes relevante Symptome.

4.6.2.4 Angaben zur Plazentarestblutentnahme

Die Angaben zur Plazentarestblutentnahme umfassen das Datum der Plazentarestblutentnahme und die lesbare Unterschrift der Person, welche das Plazentablut entnommen hat.

4.6.3 Entnahme von Plazentarestblut aus der Nachgeburt

Das Plazentarestblut wurde erst nach Abklemmen und Durchtrennen der Nabelschnur aber noch vor der Ausstoßung der Nachgeburt gewonnen.

Jedes verwendete Entnahmesystem wurde vor Beginn der Entnahme vom Plazentarestblut mit einem großen Patientenetikett des Neugeborenen versehen. Bei Zwillingen und Mehrlingen wurde darauf zusätzlich die Nummer des neugeborenen Kindes vermerkt. Dies war eine Sicherheitsmaßnahme, um einer möglichen Verwechslung vorzubeugen.

Im Folgenden ist die Vorgehensweise bei der Plazentablutentnahme dargestellt.

1. Entnahme von Plazentarestblut aus der Nachgeburt mit Hilfe des Cord Blood Sets zur Präparation von Erythrozytenkonzentraten aus Nabelschnurblut MXT 2206DC der Firma Maco Pharma International GmbH (siehe Abbildung im Anhang D, Seite IX):
 - 1.1 Das Entnahmesystem wird ausgepackt, alle drei Klemmen [3A, 3B und 3C] geschlossen und sterile Handschuhe angezogen.
 - 1.2 Die distale Punktionsstelle an der Nabelschnur wird mit einem zugelassenen Desinfektionsmittel unter Einhaltung der vorgeschriebenen Einwirkungszeit sorgfältig desinfiziert.
 - 1.3 Die Umbilicalvene wird mit der Kanüle [1B] am distalen Teil der Nabelschnur oberhalb der abgeklemmten Stelle punktiert.
 - 1.4 Danach werden die Klemmen [3B] und [3C] geöffnet.
 - 1.5 Es sollte eine gute Durchmischung von Blut und Antikoagulanzen gewährleistet sein. Deshalb wird der Sammelbeutel [7] in der Schutzumhüllung falls vorhanden auf eine Mischwaage gelegt oder es muß für eine manuelle Durchmischung gesorgt werden.
 - 1.6 Nach Beendigung der Blutentnahme wird die Klemme [3B] geschlossen. Die Blutabnahme aus der distalen Punktionsstelle ist beendet, wenn über eine Dauer von 5 Minuten kein zusätzliches Blut mehr über die Punktionskanüle in den Sammelbeutel fließt. Ist eine Mischwaage vorhanden, so ist dies leicht daran zu erkennen, daß die Gewichtsanzeige über eine Zeit von 5 Minuten keine Änderung mehr angibt.
 - 1.7 Die Kanüle [1B] wird entfernt und der SecuVam-Kanülenschutz [2B] über die Kanüle [1B] geschoben.

2. Nach Beendigung der Entnahme muß das Blut aus dem Entnahmeschlauch des Entnahmesystems entfernt werden. Dabei ist wie folgt vorzugehen (dazu siehe Anhang D, Seite IX):
 - 2.1 Es muß sichergestellt werden, daß die Klemmen [3A] und [3B] geschlossen sind und die Klemme [3C] geöffnet ist.
 - 2.2 Der Abbrechteil [4] am oberen Teil des Beutels [5] wird geöffnet.
 - 2.3 Der Beutel [5] wird ausgedrückt, damit die CPD-Antikoagulanzlösung in den Schlauch laufen kann.
 - 2.4 Der Schlauch wird mit Hilfe einer Ausstreifzange in Richtung Sammelbeutel [7] ausgestreift.
 - 2.5 Die Klemme [3C] wird geschlossen.
 - 2.6 Die Klemme [3C] wird zum Y-Stück [10] geschoben und der Schlauch vom Y-Stück in Richtung Sammelbeutel [7] ausgestreift.
 - 2.7 Dieser Vorgang wird dreimal wiederholt.
 - 2.8 Anschließend wird der Entnahmeschlauch knapp über dem Sammelbeutel mit zwei Klammern versiegelt und der Restschlauch mit gesicherten Nadeln abgeschnitten.

Das entnommene Plazentarestblut sowie das dazugehörige Entnahmeprotokoll wurde unverzüglich mit der Rohrpost an die Abteilung für Transfusionsmedizin zur Weiterverarbeitung geschickt.

4.7 Herstellung eines HbF-Erythrozytenkonzentrates aus Plazentarestblut

4.7.1 Allgemeine Regeln

Die Verarbeitung des entnommenen Plazentarestblutes wurde so schnell wie möglich durchgeführt. Bis zur Weiterverarbeitung wurde das Plazentablut im Kühlschrank bei 4°C gelagert. Es wurde darauf geachtet, daß die Kühlkette, gerechnet vom Zeitpunkt der Entnahme des Plazentarestblutes im Kreißsaal bis hin zur Herstellung eines HbF-Erythrozytenkonzentrates in der Abteilung für Transfusionsmedizin über einen Gesamtzeitraum von zwei Stunden nicht unterbrochen wurde.

4.7.2 Herstellung des HbF-Erythrozytenkonzentrates

Das mit Hilfe des Entnahmesystems gewonnene Plazentarestblut wurde mit dem manuellen Präpariersystem nach Müller und Krüssel weiter verarbeitet (siehe Abbildung, Anhang D, Seite X).

Zuvor wurde noch das Volumen des Plazentablutes durch Abwiegen bestimmt.

Bei der Herstellung eines HbF-Erythrozytenkonzentrates wurde dabei wie folgt vorgegangen:

1. Der Sammelbeutel [7], der Plasmabeutel [8] und beide Lagerungsbeutel für das HbF-Erythrozytenkonzentrat [9-1 und 9-2] werden mit den entsprechenden Patientenetiketten beklebt.
2. Der mit Plazentarestblut gefüllte Entnahmebeutel [7] wird in den Zentrifugationsadapter (Zentrifugationsbügel) des Präpariersystems eingehängt und dann in den Köcher der Zentrifuge eingeschoben.
3. Der Plasmabeutel [8], der SAG-M 8 ml Beutel [10] und beide Beutel für das HbF-Erythrozytenkonzentrat [9-1 und 9-2] werden in die zweite, freie Abteilung des Zentrifugenköchers gelegt.
4. Dann wird der Köcher mit dem Zentrifugationsadapter und dem eingehängten Entnahmesystem gegen einen zweiten Köcher genau austariert und die Köcher in gegenüberliegenden Positionen im Rotor der Zentrifuge eingehängt.
5. Bei der Zentrifuge wird eine Umdrehungszahl von 1.400 U/min (entspricht 614 g), eine Zeit von 15 Minuten, eine Temperatur von 22°C und die Bremskraftstufe 0 eingestellt und dann die Zentrifuge gestartet.
6. Das abzentrifugierte Plazentarestblut wird mit dem gesamten Zentrifugationsadapter vorsichtig, ohne dabei die Trenngrenze zwischen Erythrozyten und Plasma zu vermischen aus dem Zentrifugenköcher herausgenommen und in die Plattenhalterung der Handpresse des manuellen Müller-Krüssel-Systems eingehängt.
7. Durch Drehen der Drehschraube wird die Plattenhalterung mit eingehängtem Zentrifugationsadapter und abzentrifugierten Plazentarestblut so nach oben oder unten verschoben, daß die Trennleiste der Presse den Sammelbeutel wenige Millimeter unter der Plasma/Erythrozyten-Trenngrenze abpreßt – oberhalb der Trennleiste muß sich das Plasma und der Buffy-coat-Bereich befinden, unterhalb der Trennleiste das Erythrozytenkonzentrat.
8. Das abzentrifugierte Plazentarestblut im Sammelbeutel [7] wird mit der Trennleiste der Präparierquetsche in zwei Teile aufgetrennt. Dazu wird der Hebel der Quetsche nach oben, bis zum Anschlag bewegt und anschließend beide Riegelhaken geschlossen.
9. Der Verbindungsschlauch zwischen dem Sammelbeutel [7] und dem Plasmabeutel [8] wird durch das Durchbrechen des Abbruchteils [11] geöffnet.

10. Das Plasma wird aus dem oberen Teil des Sammelbeutels [7] in den Plasmabeutel [8] vorsichtig abgepreßt. Dabei muß darauf geachtet werden, daß keine Anteile des Buffy coats in den Plasmabeutel [8] gelangen.
11. Dann wird der Plasmabeutel [8] abgeschweißt und dabei die Schweißnaht möglichst in der Mitte des Verbindungsschlauches zwischen dem Plasmabeutel [8] und dem Sammelbeutel [7] gesetzt.
12. Die Verbindungsschläuche zu beiden Lagerungsbeuteln [9-1 und 9-2] für das HbF-Erythrozytenkonzentrat werden durch Durchbrechen der Abbruchteile [12 und 13] geöffnet.
13. Das Erythrozytenkonzentrat wird aus dem unteren Teil des Sammelbeutels [7] in die Lagerungsbeutel [9-1 und 9-2] durch vorsichtiges Ausstreichen überführt. Dabei muß darauf geachtet werden, daß möglichst das gesamte abzentrifugierte Erythrozytenkonzentrat aus dem Sammelbeutel entfernt wird.
14. Danach wird der Verbindungsschlauch zwischen dem SAG-M-Beutel [10] und dem Sammelbeutel [7] geöffnet. Dazu wird der Abbruchteil [14] am SAG-M-Beutel durchgebrochen.
15. Die SAG-M-Lösung wird aus dem Beutel [10] über den unteren Teil des Sammelbeutels [7] in die beiden, bereits mit abzentrifugiertem Erythrozytenkonzentrat aufgefüllten Lagerungsbeutel [9-1 und 9-2] überführt. Dabei sollte darauf geachtet werden, daß die Reste vom Erythrozytenkonzentrat, die noch entweder im Sammelbeutel [7] oder in den Verbindungsschläuchen zwischen dem Sammelbeutel [7] und den Lagerungsbeuteln [9-1 und 9-2] verblieben sind mit der SAG-M-Lösung in die Lagerungsbeuteln eingespült werden.
16. Die Lagerungsbeutel [9-1 und 9-2] werden vom Sammelbeutel [7] abgeschweißt. Dabei wird die Schweißnaht am gemeinsamen Schlauchstück beider Lagerungsbeutel [9-1 und 9-2] ganz in der Nähe der Y-Aufzweigung gesetzt.
17. Dann wird der SAG-M-Beutel abgeschweißt und die Schweißnaht möglichst in der Nähe des SAG-M-Beutels gesetzt.
18. Die hergestellten HbF-Erythrozytenkonzentrate in den Sammelbeuteln [9-1 und 9-2] sollen nicht voneinander getrennt werden, sondern beide Beutel am verbindenden Y-Schlauch belassen werden.

4.8 Beimpfen der Kulturfläschchen

1. Die Kulturfläschchen Bactec Plus Aerobic/F bzw. Anaerobic/F werden mit den jeweiligen Patientenetiketten beklebt. Zusätzlich bekommt jede Flasche noch ein zweites Etikett, das die jeweils injizierte Fraktion (Vollblut, Buffy coat, Erythrozytenkonzentrat oder Plasma) und den Untersuchungstag (Tag 1, Tag 3 oder Tag 35) angibt. Das Vollblut kann nur am Tag 1 vor dem Fraktionieren aerob und anaerob untersucht werden. Buffy coat, Erythrozytenkonzentrat und Plasma werden an allen drei Tagen aerob und anaerob untersucht. Das Inokulationsvolumen pro Flasche beträgt 3 ml.
2. Die Fläschchen werden zum Anwärmen in den Brutschrank gestellt.
3. Vor der Entnahme werden die Einstichstellen am Entnahmesystem und an den Fläschchen desinfiziert.
4. Das Vollblut kann über den selbstschließenden Injektionsport am Sammelbeutel vor dem Fraktionieren entnommen werden. Nach dem Fraktionieren verbleibt das Buffy coat im Sammelbeutel und kann über den selben Injektionsport entnommen werden. Auch die Erythrozytenkonzentrate können über Injektionsports abgenommen werden.
5. Der Plasmabeutel besitzt keinen Injektionsport. Deshalb muß zur Plasmaentnahme der Schlauch möglichst weit vom Beutel entfernt punktiert werden. Bevor die Kanüle wieder herausgezogen wird, muß der Schlauch oberhalb abgeschweißt werden.
6. Vor dem Überimpfen in die Fläschchen werden die Kanülen gewechselt, um eventuell ausgestochene Zylinder aus dem Injektionsport nicht zu übertragen.
7. Bis zum Transport in die Mikrobiologie werden die Flaschen nochmals in den Brutschrank gestellt.

4.9 Versuchsablauf

1. Vor der Geburt
 - 1.1. Aufklärung der Patientinnen in der Ambulanz, im Kreißsaal oder auf der Station
 - 1.1.1 Unterschreiben der Einverständniserklärung
 - 1.1.2 Ausfüllen der „Anamnese zur Plazenta-Blutspende“
 - 1.2. Auswahl der Patientinnen gemäß den Ein- und Ausschlußkriterien

2. Tag der Geburt (Tag 1)
 - 2.1. Vorbereitung im Kreißsaal
 - 2.1.1. Der Plazentablutabnehmende stellt sich bei der Patientin vor und beantwortet noch eventuell aufgetretene Fragen.
 - 2.1.2. Bereitstellen von Entnahmesystem, Ausstreifzange, Versiegelungsklammern, sterilen Handschuhen und Desinfektionsmittel
 - 2.1.3. In der Einlernphase evtl. mit der Hebamme am Entnahmesystem nochmals alle Handgriffe durchgehen
 - 2.2. Vorbereitung im Labor der Transfusionsmedizin
 - 2.2.1. Flaschen mit Etiketten bekleben
 - 2.2.2. Flaschen im Brutschrank anwärmen
 - 2.3. Abnahme des Plazentarestblutes gemäß der Beschreibung und Versiegeln des Sammelbeutels
 - 2.4. Erstellen des Entnahme-Protokolls
 - 2.5. Transport ins Labor der Transfusionsmedizin
 - 2.6. Volumenbestimmung des entnommenen Plazentablutes durch Abwiegen
 - 2.7. Entnahme des Vollblutes für mikrobiologische Untersuchung Tag 1
 - 2.8. Zentrifugieren
 - 2.9. Fraktionieren mit dem Müller-Krüssel-System
 - 2.10. Entnahme von Buffy coat, Erythrozytenkonzentrat und Plasma für mikrobiologische Untersuchung Tag 1
 - 2.11. Lagerung im Kühlschrank bei 4°C
3. Tage nach der Geburt
 - 3.1. Entnahme von Buffy coat, Erythrozytenkonzentrat und Plasma für mikrobiologische Untersuchung am Tag 3
 - 3.2. Lagerung im Kühlschrank bei 4°C
 - 3.3. Entnahme von Buffy coat, Erythrozytenkonzentrat und Plasma für mikrobiologische Untersuchung am Tag 35

4.10 Statistik

Bei der statistischen Auswertung wurden folgende statistische Methoden angewandt.

Es wurden relative und absolute Häufigkeiten für die Kontamination nach Fraktionen und Untersuchungstagen aufgetrennt berechnet. Auch für die Kontamination in Abhängigkeit vom Entbindungsweg wurden diese Häufigkeiten angegeben.

Um die Sensitivität der vier Fraktionen an den Untersuchungstagen zu vergleichen und Aussagen über die Signifikanz machen zu können, wurden Konfidenzintervalle auf dem 95%-Niveau bestimmt.

Weiterhin wurde der χ^2 -Test für unverbundene Stichproben angewandt, um einen möglichen Einübungseffekt zu zeigen.

Für die gewonnenen Plazentablutvolumina wurde der arithmetische Mittelwert berechnet und die Spannweite mit Minimal- und Maximalwert angegeben.

5 Ergebnisteil

5.1 Kontaminationsraten an den einzelnen Untersuchungstagen

Die Hauptstudie beinhaltet 117 Entbindungen, wobei 1170 bakterielle Untersuchungen mit jeweils zwei Kulturen durchgeführt wurden. Davon konnten in 76 Untersuchungen eine Kontamination festgestellt werden.

Kontaminationsrate	n/117 (%)
Insgesamt	33/117 28,2 %
Nachgewiesen an Tag 1	28/117 23,9 % (28/33 84,8 %)
Erstnachweis an Tag 3	5/117 4,3 % (5/33 15,2 %)
Erstnachweis an Tag 35	0/117 0 %

Tab. 1: Kontaminationsraten an den einzelnen Untersuchungstagen

Bei 33 von 117 Geburten konnten positive Befunde in mindestens einer der Fraktionen an einem beliebigen Untersuchungstag gefunden werden. Das entspricht einer Gesamtkontaminationsrate von 28,2%. Bei 28 Geburten konnte die Kontamination bereits am Entnahmetag festgestellt werden. Die restlichen 5 kontaminierten Plazentablutentnahmen (15,2%) wurden erst an Kontrolltag 3 als kontaminiert entdeckt. An Tag 35 traten keine neuen Kontaminationen mehr auf.

An den drei Versuchstagen wurden jeweils die einzelnen Fraktionen untersucht, um festzustellen, ob eine Fraktion eine höhere Sensitivität für den Nachweis einer bakteriellen Kontamination aufweist. Am 1. Untersuchungstag konnten 84,8% der kontaminierten Blutabnahmen aufgedeckt werden. Nur in zwei Fällen waren alle vier Fraktionen am Entnahmetag positiv. Im Buffy coat konnten Keime am häufigsten nachgewiesen werden. 15 der 33 kontaminierten Entnahmen, das heißt 45,5%, waren an Tag 1 im Buffy coat positiv, wobei 7 davon nur in dieser Fraktion Keime enthielten. Die wenigsten Keime (8/33) konnten im Plasma nachgewiesen werden. Im Vollblut bzw. im Erythrozytenkonzentrat waren 12 bzw. 9 von 33 Plazentablutabnahmen positiv.

Fraktion	Kontaminationsrate an Tag 1 n/117 (%) - n/33 (%)
Insgesamt	28/117 (23,9 %) - 28/33 (84,8 %)
Keim in allen Fraktionen nachweisbar	2/117 (1,7 %) - 2/33 (6,1 %)
Vollblut	12/117 (10,3 %) - 12/33 (36,4 %)
Keim nur im Vollblut nachweisbar	3/117 (2,6 %) - 3/33 (9,1%)
Erythrozytenkonzentrat	9/117 (7,7 %) - 9/33 (27,3 %)
Keim nur im Erythrozytenkonzentrat nachweisbar	4/117 (3,4 %) - 4/33 (12,1 %)
Buffy coat	15/117 (12,8 %) - 15/33 (45,5 %)
Keim nur im Buffy coat nachweisbar	7/117 (6,0 %) - 7/33 (21,2 %)
Plasma	8/117 (6,8 %) - 8/33 (24,2 %)
Keim nur im Plasma nachweisbar	2/117 (1,7 %) - 2/33 (6,1 %)

Tab. 2: Kontamination an Tag 1

Um die Kontamination im Zeitverlauf zu überprüfen, wurden an Tag 3 Kontrolluntersuchungen in allen drei noch vorhandenen Fraktionen durchgeführt. Insgesamt wurde bei der mikrobiellen Untersuchung an Tag 3 bei 16 Blutabnahmen Keimwachstum nachgewiesen. Dabei waren fünf neu aufgetreten.

Bei zwei Plazentablutabnahmen waren wieder alle drei Fraktionen kontaminiert. Dabei handelte es sich um dieselben Entnahmen, die an Tag 1 vierfach positiv gewesen waren. Im Buffy coat war wieder die höchste Kontamination nämlich 12 von 33, also 36,4% zu finden. Bei 9 Fällen konnten die Keime in keiner anderen Fraktion an diesem Tag nachgewiesen werden. Im Erythrozytenkonzentrat betrug die Kontaminationsrate 18,2% und im Plasma nur 12,1%. Somit ist die Anzahl der nachgewiesenen Keime in allen Fraktionen abgesunken. Die Reihenfolge der Fraktionen, was die Häufigkeit des Keimauftritts betrifft, blieb jedoch dieselbe.

Fraktion	Kontaminationsrate an Tag 3 n/117 (%) - n/33 (%)
Insgesamt	16/117 (13,7 %) - 16/33 (48,5 %)
Keim in allen Fraktionen nachweisbar	2/117 (1,7 %) - 2/33 (6,1 %)
Erythrozytenkonzentrat	6/117 (5,1 %) - 6/33 (18,2 %)
Keim nur im Erythrozytenkonzentrat nachweisbar	2/117 (1,7 %) - 2/33 (6,1 %)
Buffy coat	12/117 (10,3 %) - 12/33 (36,4 %)
Keim nur im Buffy coat nachweisbar	9/117 (7,7 %) - 9/33 (27,3 %)
Plasma	4/117 (3,4 %) - 4/33 (12,1 %)
Keim nur im Plasma nachweisbar	1/117 (0,9 %) - 1/33 (3,0 %)

Tab. 3: Kontamination an Tag 3

Die letzte Untersuchung fand am Verfallstag des Erythrozytenkonzentrats an Tag 35 statt. Neue Kontaminationen traten an diesem Tag nicht mehr auf. Von den 33 bis dahin positiven

Befunden konnten nur noch 5 (15,2%) bestätigt werden. Im Plazentablut von zwei Patientinnen konnten in allen Fraktionen und an allen drei Tagen Bakterien nachgewiesen werden. Im Buffy coat konnten nur noch 4, im Erythrozytenkonzentrat und im Plasma jeweils noch 3 positive Kulturen festgestellt werden.

Fraktion	Kontaminationsrate an Tag 35 n/117 (%) - n/33 (%)
Insgesamt	5/117 (4,3 %) - 5/33 (15,2 %)
Keim in allen Fraktionen nachweisbar	2/117 (1,7 %) - 2/33 (6,1 %)
Erythrozytenkonzentrat	3/117 (2,6 %) - 3/33 (9,1 %)
Keim nur im Erythrozytenkonzentrat nachweisbar	1/117 (0,9 %) - 1/33 (3,0 %)
Buffy coat	4/117 (3,4 %) - 4/33 (12,1 %)
Keim nur im Buffy coat nachweisbar	1/117 (0,9 %) - 1/33 (3,0 %)
Plasma	3/117 (2,6 %) - 3/33 (9,1 %)
Keim nur im Plasma nachweisbar	0/117 (0 %) - 0/33 (0 %)

Tab. 4: Kontamination an Tag 35

5.2 Zeitlicher Verlauf der Kontamination

Es sollte versucht werden herauszufinden, ob sich die bakterielle Kontamination unter der Lagerung bei 4° C im Zeitverlauf verändert. Die Tabelle 5 gibt einen Überblick über die Kontaminationsraten aller vier Fraktionen an den drei Untersuchungstagen. Insgesamt ging der bakterielle Befall von 23,9% am Entnahmetag auf 12,8% an Kontrolltag 3 und schließlich auf 4,3% an Verfalltag 35 zurück. Auch in den einzelnen Fraktionen sank die Kontamination mit jedem Untersuchungstag. Im Erythrozytenkonzentrat sank der bakterielle Befall von 9 positiven Befunden an Tag 1 auf 3 positive Befunde an Tag 35. Das Keimaufreten verringerte sich im Buffy coat von 15 auf 4 und im Plasma von 8 auf 3 Fälle an Tag 35. Im

Vollblut fehlen die Daten darüber, weil es nur am Entnahmetag zur Verfügung stand und danach in die Einzelfraktionen aufgetrennt wurde.

Kontamina- tionsrate	Tag 1 n/117 (%)	Tag 3 n/117 (%)	Tag 35 n/117 (%)	Insgesamt n/117 (%)	Insgesamt n/33 (%)
Insgesamt	28 (23,9 %)	15 (12,8 %)	5 (4,3 %)	33 (28,2%)	33 (100%)
Vollblut	12 (10,3 %)	Entfällt	Entfällt	12 (10,3 %)	12 (36,4 %)
Erythrozyten- konzentrat	9 (7,7 %)	6 (5,1 %)	3 (2,6 %)	12 (10,3 %)	12 (36,4 %)
Buffy coat	15 (12,8 %)	12 (10,3 %)	4 (3,4 %)	21 (17,9 %)	21 (63,6 %)
Plasma	8 (6,8 %)	4 (3,4 %)	3 (2,6 %)	10 (8,5 %)	10 (30,3 %)

Tab. 5: Gesamtaufstellung der Kontaminationen an allen Tagen in allen Fraktionen

Insgesamt waren 28,2% der Plazentablutentnahmen kontaminiert, wovon 17,9% im Buffy coat nachgewiesen werden konnten. Damit wurde in der hier vorliegenden Studie im Buffy coat die höchste Nachweisquote erreicht. Vollblut und Erythrozytenkonzentrat konnten nur 10,3% und das Plasma 8,5% Kontamination nachweisen.

Um eine Aussage über die Signifikanz hinsichtlich der Nachweissensitivität der einzelnen Fraktionen machen zu können, wurden die Konfidenzintervalle für die vier Fraktionen getrennt berechnet und für die jeweiligen Untersuchungstage und die Gesamtkontaminationsrate angegeben. Dabei ergibt sich, daß das Buffy coat zumindest, wenn man die Gesamtkontamination betrachtet, eine signifikant bessere Nachweisrate als die anderen drei Fraktionen aufweist (siehe Tabelle 6).

Anhand der Daten der einzelnen Untersuchungstage lassen sich noch keine eindeutigen Aussagen hinsichtlich der Signifikanz treffen. Die Ursache dafür ist in dem geringen Stichprobenumfang an den Einzeltagen zu suchen, wodurch die Intervalle zu nah zusammen liegen, um eindeutig signifikante Ergebnisse zu ergeben. Lediglich an Tag 3 ist das Buffy coat signifikant besser als das Plasma.

Kontamina- tionsrate mit Konfi- denzintervall	Tag 1 n/117 in (%) Intervall	Tag 3 n/117 in (%) Intervall	Tag 35 n/117 in (%) Intervall	Insgesamt n/117 in (%) Intervall	Insgesamt n/33 in (%) Intervall
Vollblut	10,3 % 5,6 % - 17,6 %	Entfällt	Entfällt	10,3 % 5,6 % - 17,6 %	36,4 % 21,0 % - 54,9 %
Erythrozyten- konzentrat	7,7 % 3,8 % - 14,5 %	5,1 % 2,1 % - 11,3 %	2,6 % 0,7 % - 7,9 %	10,3 % 5,6 % - 17,6 %	36,4 % 21,0 % - 54,9 %
Buffy coat	12,8 % 7,6 % - 20,6 %	10,3 % 5,6 % - 17,6 %	3,4 % 1,1 % - 9,0 %	17,9 % 11,7 %-26,4 %	63,6 % 45,1 %-79,0 %
Plasma	6,8 % 3,2 % - 13,4 %	3,4 % 1,1 % - 9,0 %	2,6 % 0,7 % - 7,9 %	8,5 % 4,4 % - 15,5 %	30,3 % 10,2 % - 48,9 %

Tab. 6: Gesamtaufstellung der Kontaminationen an allen Tagen in allen Fraktionen und Signifikanz der Ergebnisse

5.3 Die Kontamination am Kontrolltag 3 im Vergleich zum Untersuchungstag 1

An Kontrolltag 3 konnten in 5 zuvor negativen Plazentablutabnahmen Bakterien nachgewiesen werden. In einem Fall waren sowohl Erythrozytenkonzentrat mit *Staphylococcus aureus* als auch Buffy coat mit *Enterococcus faecalis* befallen. In den anderen Fällen traten Koagulase negative Staphylokokken, grampositive Stäbchen und Korynebakterien auf. Insgesamt gab es also in 6 Fraktionen einen positiven Untersuchungsbefund. Davon wurde zweimal die Kontamination im Erythrozytenkonzentrat nachgewiesen und viermal im Buffy coat. Im Plasma gab es keinen Nachweis.

An Tag 35 wurde in keiner Blutabnahme, die bis dahin negativ geblieben war, noch ein Keim nachgewiesen. Lediglich in den Entnahmen von zwei Gebärenden, die bereits von den Vortagen als kontaminiert bekannt waren, konnten an Verfalltag 35 noch zusätzliche Keime identifiziert werden. Hierbei handelte es sich einmal um Propionibakterien im Erythrozytenkonzentrat und das andere Mal um vergrünende Streptokokken im Buffy coat.

Fraktion	Tag 3	Species	Tag 35
Insgesamt	5		0
Erythrozyten-konzentrat	2	<i>Koag.neg.Staphylococcus</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	0
Buffy coat	4	<i>Grampositive Stäbchen</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Koag.neg.Staphylococcus</i> <i>Koag.neg.Staphylococcus</i> + <i>Corynebacterium sp.</i>	0
Plasma	0		

Tab. 7: Kontaminationen, die erst an Kontrolltag 3 nachgewiesen wurden.

In den folgenden drei Tabellen (Tabellen 8-10) sind die einzelnen Fraktionen an Kontrolltag 3 im Bezug auf die Kontamination des Entnahmetages 1 betrachtet.

Im Buffy coat gab es an Tag 3 fünfmal einen positiven Nachweis, obwohl am Entnahmetag im Buffy coat ein negativer Befund erhoben worden war. Dieser Befund wird als neue Kontamination bezeichnet. Sechsmal konnten die gleichen Keime wie an Tag 1 gefunden werden, wobei in zwei Fällen zusätzlich noch Koagulase negative Staphylokokken nachgewiesen werden konnten. Einmal trat der Fall ein, daß eine an Tag 1 kontaminierte Blutentnahme am dritten Tag ebenfalls kontaminiert war, jedoch mit einem anderen Keim als zuvor.

Neue Kontamination (an Tag 1 negativer bakteriologischer Befund)	Selber Keim wie an Tag 1	Neue Keime (Tag 1 kontaminiert, aber mit anderem Keim)	Probe
	Grampositive Stäbchen		1
	Bacteroides fragilis Gruppe		3
Grampositive Stäbchen			5
	Koagulase neg. Staphylokokken		6
Enterococcus faecalis			12
	Koagulase neg. Staphylokokken		14
	Enterococcus faecalis	Koagulase neg. Staphylokokken	16
Bacteroides vulgatus			21
Koagulase neg. Staphylokokken			23
	Streptococcus agalactiae B, Corynebacterium species	Koagulase neg. Staphylokokken	24
		Koagulase neg. Staphylokokken Corynebacterium species	25
Koagulase neg. Staphylokokken Corynebacterium species			33

Tab. 8: Kontaminationen im Buffy coat an Tag 3

Im Erythrozytenkonzentrat von Tag 3 traten im Vergleich zu dem von Tag 1 drei neue Kontaminationen auf. Zweimal fand man an beiden Tagen den nämlichen Befund und einmal trat ein Koagulase negativer Staphylokokke auf, wobei an Tag 1 ein anderer Keim vorgelegen hatte.

Neue Kontamination (an Tag 1 negativer bakteriologischer Befund)	Selber Keim wie an Tag 1	Neue Keime (Tag 1 kontaminiert, aber mit anderem Keim)	Probe
Koagulase neg. Staphylokokken			2
Staphylococcus aureus			12
		Koagulase neg. Staphylokokken	16
	Ecoli		17
	Streptococcus agalactiae B Corynebacterium species		24
Grampositive Stäbchen			32

Tab. 9: Kontamination im Erythrozytenkonzentrat an Tag 3

Im Plasma war nur bei 4 Proben eine Kontamination an Tag 3 festzustellen. Dabei handelte es sich zweimal um eine neue Kontamination, bei negativem Befund an Tag 1. In den beiden anderen Fällen konnten die gleichen Bakterien wie am Entnahmetag identifiziert werden, wobei jeweils ein neuer Keim noch hinzugekommen war. Es handelte sich um einen *Enterococcus faecalis* und im anderen Fall um einen *Peptostreptokokken*.

Neue Kontamination (an Tag 1 negativer bakteriologischer Befund)	Selber Keim wie an Tag 1	Neue Keime (Tag 1 kontaminiert, aber mit anderem Keim)	Probe
Koagulase neg. Staphylokokken			8
	Koagulase neg. Staphylokokken	Enterococcus faecalis	16
Ecoli			17
	Corynebacterium species, Fusobakterium, grampositive Stäbchen	Peptostreptococcus species	24

Tab. 10: Kontamination im Plasma an Tag 3

5.4 Unterschiedliches Auftreten der Bakterien in den einzelnen Fraktionen

Um herauszufinden, ob es Bakterien gibt, die gehäuft in einer bestimmten Fraktion auftreten, wurden die vier Fraktionen hinsichtlich des in ihnen vorkommenden Keimspektrums verglichen. Koagulase negative Staphylokokken, Korynebakterien und Ecoli konnten in allen Blutfraktionen nachgewiesen werden. Andere Bakterien wie grampositive Stäbchen, Enterococcus faecalis, Streptococcus agalactiae, Staphylococcus aureus, Propionibacterium acnes und Bakterien aus der Bacteroides fragilis Gruppe wurden nur in zwei oder drei Fraktionen gefunden. Einige Keime traten auch nur in jeweils einer Fraktion auf. Bacteroides vulgatus, Proteus mirabilis, vergrünende Streptokokken und (nicht anzüchtbare) Kokken kamen nur im Buffy coat vor. Nur im Erythrozytenkonzentrat traten Bacteroides splanchnicus, Eubakterien und Bakterien der Bacillus species auf und nur im Plasma waren Peptostreptokokken und Fusobakterien zu finden.

Bakterien	Vollblut	Buffy coat	Erythrozyten	Plasma	Gesamt
Koagulase neg. Staphylokokken	7	11	4	5	27
Corynebacterium species	1	3	2	1	7
Ecoli	1	1	1	2	5

Enterococcus faecalis	1	4		3	8
Grampositive Stäbchen		3	1	2	6
Bacteroides fragilis Gruppe	2	2			4
Streptococcus agalactiae B	1	1	1		3
Propionibacterium acnes	1		2		3
Staphylococcus aureus			1	1	2

Bacteroides vulgatus		1			1
Proteus mirabilis		1			1
Vergrünende Streptokokken		1			1
Grampositive Kokken		1			1
Bacteroides splanchnicus			1		1
Eubacterium species			1		1
Eubacterium lentum			1		1
Bacillus species			1		1
Peptostreptococcus species				2	2
Fusobacterium species				1	1

Tab. 11: Bakterienvorkommen in den vier Fraktionen

5.5 Auftreten der einzelnen Bakterien in Prozent

Des weiteren fällt auf, daß erheblich mehr grampositive Keime vorkamen, was jedoch dem physiologischen Milieu der Vaginal- und Perinealregion entspricht. An erster Stelle stehen als typische Hautkeime die Koagulase negativen Staphylokokken. Von den 117 entnommenen Blutproben waren 17,1% mit diesem Keim kontaminiert. Als nächst häufigste Keime folgen nicht weiter identifizierte grampositive Stäbchen, Korynebakterien und Enterococcus faecalis, die ebenfalls grampositiv sind, mit einer Häufigkeit von 4,27%. Gramnegative Bakterien traten seltener auf.

Alle Keime, bis auf den aus der Bacillus species, gehören zur physiologischen Hautflora bzw. kommen im vaginalen Schleimhautmilieu vor. Die Mitglieder aus der Bacillus-Gruppe werden im Erdreich oder allgemein in unserer gesamten Umgebung gefunden. Alle diese Keime der physiologischen Hautflora können als fakultativ pathogen eingestuft werden. Sie können ihre pathogene Wirkung entfalten, wenn sie ihren normalen Standort verlassen, wobei einem Staphylococcus aureus im Vergleich zu einem Propionibacterium acnes eine höhere pathogene Wirkung zuzuschreiben ist.

Gramfärbung	Keime	Häufigkeit von n/117 in %
Grampositiv	Koagulase neg. Staphylokokken	17,1
	Grampositive Stäbchen	4,27
	Corynebacterium species	4,27
	Enterococcus faecalis	4,27
	Staphylococcus aureus	1,71
	Peptostreptococcus species	1,71
	Propionibacterium species	0,85
	Propionibacterium acnes	0,85
	Vergrünende Streptokokken	0,85
	Streptococcus agalactiae B	0,85
	Proteus mirabilis	0,85

Gramfärbung	Keime	Häufigkeit von n/117 in %
	Grampositive Kokken	0,85
	Eubacterium species	0,85
	Eubacterium lentum	0,85
	Bacillus species	0,85
Gramnegativ	Bacteroides fragilis Gruppe	2,56
	Ecoli	1,71
	Bacteroides vulgatus	0,85
	Bacteroides splanchnicus	0,85
	Fusobacterium species	0,85

Tab. 12: Keime nach Gramfärbung

5.6 Kontamination im Bezug auf den Entbindungsweg

Es sollte herausgefunden werden, ob ein Unterschied in der Kontaminationsrate in Abhängigkeit vom Entbindungsweg besteht. Deshalb wurden vaginale Geburten getrennt von Sectiones caesareae betrachtet. Von den 117 Geburten waren 89 Geburten, das entspricht 76,1%, vaginale Entbindungen und 28 Sectiones caesareae. Bei 30 vaginalen Geburten und 3 Sectio-Entbindungen waren die Plazentablutentnahmen kontaminiert. Somit waren 33,7% der Entnahmen bei vaginalen Geburten und 10,7% bei Sectiones caesareae mit Keimen befallen. Das wiederum bedeutet, daß 90,9% der Kontaminationen bei vaginalen Entbindungen auftraten und nur 9,1% bei Sectio-Operationen.

	Anzahl	Kontamination nach Entbindungsweg
Insgesamt	117/117 (100%)	33/117 (28,2%)
Vaginal	89/117 (76,1%)	30/89 (33,7%)

	Anzahl	Kontamination nach Entbindungsweg
Sectio caesarea	28/117 (23,9%)	3/28 (10,7%)

Tab. 13: Kontaminationsraten der einzelnen Entbindungswege

Weiterhin sollte überprüft werden, ob abhängig vom Entbindungsweg ein unterschiedliches Keimspektrum vorliegt. Unter den 33 kontaminierten Blutentnahmen waren 30 vaginale Geburten und 3 Sectio-caesarea-Geburten. Bei den vaginalen Geburten kam das gesamte Keimspektrum, wie auch in Tabelle 14 beschrieben vor. Es handelte sich mit Ausnahme des Bacillus nur um Keime der physiologischen Normalflora der Haut und der vaginalen Schleimhautgegend. Bei den vaginalen Entbindungen waren 56,7% der Plazentablutentnahmen mit Koagulase negativen Staphylokokken befallen. Am zweit häufigsten traten mit 13,3% nicht weiter differenzierbare grampositive Stäbchen, Korynebakterien und Enterococcus faecalis auf. Die anderen Bakterien waren seltener zu finden. Die Häufigkeiten in Prozent sind aus den Tabellen 14 und 15 zu entnehmen.

Von den 28 Sectio-caesarea-Geburten waren nur in 3 Fällen die Blutentnahmen kontaminiert. Bei allen drei Entnahmen konnten Koagulase negative Staphylokokken bei den Untersuchungen gefunden werden. Zusätzlich kamen noch jeweils in einem Fall grampositive Stäbchen und Korynebakterien vor.

Entbindungsweg	Keime	Häufigkeit von n/30 in %
Vaginal	Koagulase neg. Staphylokokken	56,7
	Grampositive Stäbchen	13,3
	Corynebacterium species	13,3
	Enterococcus faecalis	13,3
	Bacteroides fragilis Gruppe	10
	Staphylococcus aureus	6,7

Entbindungsweg	Keime	Häufigkeit von n/30 in %
	Peptostreptococcus species	6,7
	Ecoli	6,7
	Propionibacterium species	3,3
	Propionibacterium acnes	3,3
	Vergrünende Streptokokken	3,3
	Streptococcus agalactiae B	3,3
	Proteus mirabilis	3,3
	Grampositive Kokken	3,3
	Eubacterium species	3,3
	Eubacterium lentum	3,3
	Bacillus species	3,3
	Bacteroides vulgatus	3,3
	Bacteroides splanchnicus	3,3
	Fusobacterium species	3,3

Tab. 14: Bakterienvorkommen nach Entbindungsweg (vaginal)

Entbindungsweg	Keime	Häufigkeit von n/3 in %
Sectio caesarea	Koagulase neg. Staphylokokken	100
	Grampositive Stäbchen	33,3
	Corynebacterium species	33,3

Tab. 15: Bakterienvorkommen nach Entbindungsweg (Sectio caesarea)

5.7 Auftreten eines Einübungseffekts

Außerdem sollte überprüft werden, ob die Kontaminationsrate von einem Einübungseffekt abhängig ist. Dafür wurden alle 117 Plazentablutentnahmen nach der Reihenfolge ihrer Abnahme in vier annähernd gleich große Klassen unterteilt. Die Anzahl der in den jeweiligen Klassen aufgetretenen positiven Befunde ist der Tabelle 16 (Seite 34) zu entnehmen.

Im Vergleich der II. Klasse mit elf positiven Befunden mit der IV. Klasse mit vier positiven Befunden im χ^2 -Test errechnet sich eine signifikante Abhängigkeit zu 95%. Das bedeutet, daß mit 95%-iger Sicherheit eine Abhängigkeit zwischen dem Entnahmezeitpunkt und der Kontaminationshäufigkeit besteht. Folglich kann auch in dieser Studie ein Einübungseffekt nachgewiesen werden.

Klasse	Entnahmen (in Reihenfolge ihrer Abnahme)	Anzahl der positiven Befunde
I	1 – 29	10
II	30 – 58	11
III	59 – 87	8
IV	88 – 117	4

Tab. 16: Anzahl der positiven bakteriellen Befunde aufgetrennt in Gruppen unter Berücksichtigung der Entnahmereihenfolge

Weiterhin wurden die einzelnen Plazentablutentnahmen bei vaginalen Geburten anhand der Entnahmeprotokolle den jeweiligen Hebammen zugeordnet, die das Blut entnommen hatten. Insgesamt waren 15 Hebammen in die Abnahmetechnik eingewiesen worden. Allerdings konnten nicht alle Hebammen gleichzeitig eingewiesen werden, sondern diese Phase zog sich über mehrere Monate hin. Deshalb variiert die Anzahl der Abnahmen so stark.

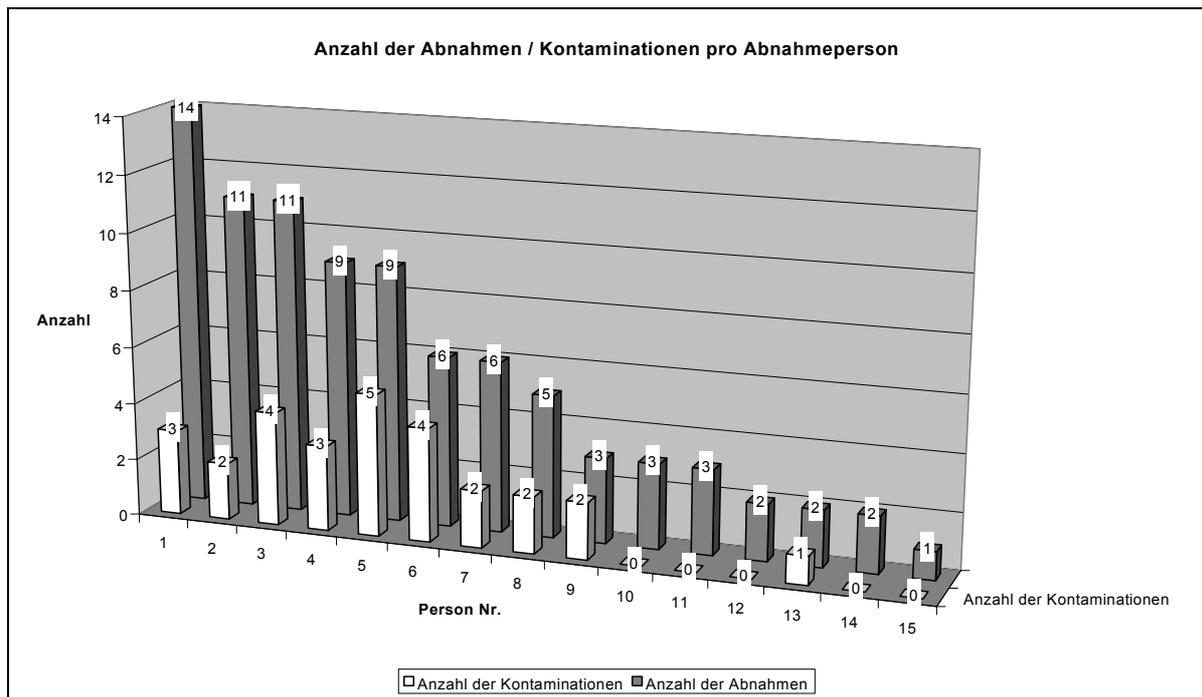


Abb. 1: Graphik über die Anzahl der Abnahmen und die Kontaminationen pro Abnahmeperson

Abbildung 1, (auch im Anhang F, Seite XII) zeigt die Anzahl der Blutentnahmen pro Hebamme in grau und die davon kontaminierten Entnahmen in weiß. Es zeigt sich, daß bezüglich der Zahl der kontaminierten Entnahmen große individuelle Unterschiede zwischen den einzelnen Hebammen bestehen. So waren beispielsweise bei Person Nr. 1 von 14 Entnahmen 3 kontaminiert, während bei Person Nr. 5 bei 9 Entnahmen schon 5 positive Befunde vorlagen.

Im allgemeinen waren die ersten Entnahmen häufiger kontaminiert, aber es gab immer wieder auch bei späteren Entnahmen positive Befunde.

5.8 Größe der Entnahmevolumina

Die bei den Abnahmen gewonnenen Plazentablutvolumina wiesen eine große Spannweite auf. Sie lagen zwischen 10 ml und 150 ml. Die Menge des gewonnenen Blutvolumens hängt vor allem von der Größe der Plazenta, dem Zeitpunkt der Entnahme bzw. der für die Entnahme zur Verfügung stehenden Zeit ab und davon, wie geübt man hinsichtlich der Abnahmetechnik ist.

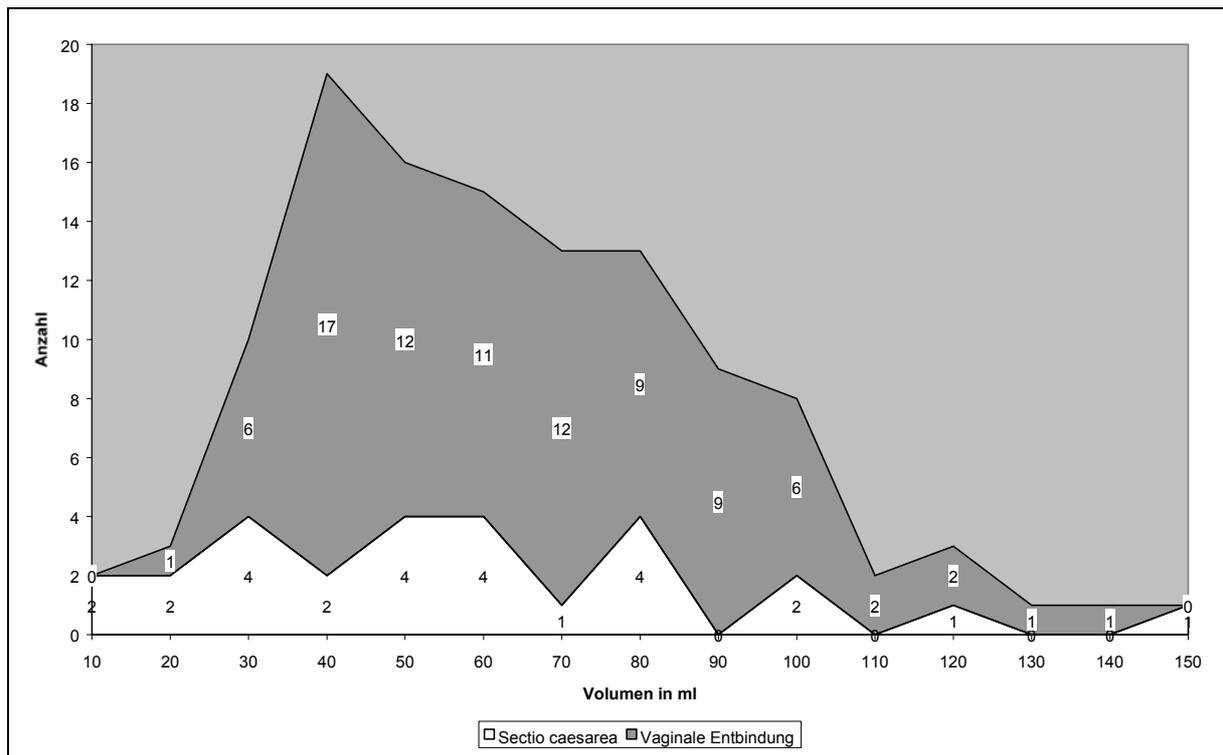


Abb. 2: Graphik über die Entnahmevermolumina

Die Abbildung 2, (auch im Anhang F, Seite XIII) zeigt in weiß die Volumina bei Kaiserschnittentbindungen und in grau die Volumina, die bei vaginalen Entbindungen gewonnen wurden. Die Volumina sind jeweils in 10 ml-Schritten gebündelt. Die Zahlen geben an, wie viele Entnahmen ins jeweilige 10 ml-Intervall fallen. Die meisten Entnahmen lagen zwischen 30 ml und 40 ml. In diesen Bereich fielen zwei Entnahmen bei Sectio caesarea und 17 Entnahmen bei vaginalen Geburten. Der Großteil der Abnahmen lag etwa zwischen 30 ml und 100 ml. Die größte Blutmenge konnte bei einer Sectio caesarea gewonnen werden und lag bei ca. 150 ml. Das durchschnittliche Abnahmevermolumen lag bei ca. 60 ml.

Die Tabellen 17 und 18 zeigen die durchschnittlich gewonnenen Plazentablutvolumina nach dem Gestationsalter bzw. dem Entbindungsweg aufgetrennt. Bei Frühgeborenen, die weniger als 36 Wochen alt waren, konnten im Schnitt 31,8 ml Plazentablut entnommen werden, wohingegen bei den Säuglingen, die zum Geburtstermin älter als 36 Wochen waren etwa doppelt soviel Blut gewonnen wurde. Die Durchschnittsvolumina bei vaginalen Entbindungen und Sectio caesarea wiesen dagegen keine entscheidenden Unterschiede auf.

Gestationsalter	Durchschnittsvolumen	Anzahl
< 36 Wochen	31,8 ml	16/17
> 36 Wochen	63,6 ml	100/100

Tab. 17: Durchschnittsvolumina in Abhängigkeit vom Gestationsalter

Entbindungsweg	Durchschnittsvolumen	Anzahl
Vaginal	60,9 ml	89
Sectio caesarea	53,6 ml	28

Tab. 18: Durchschnittsvolumina in Abhängigkeit vom Entbindungsweg

5.9 Zusammenhang zwischen Kontamination und Entzündungszeichen

Es sollte versucht werden herauszufinden, ob man durch Untersuchen der Entzündungsparameter wie CRP und Leukozytenzahl bzw. Temperaturmessung bei den Schwangeren am Entbindungstag Hinweise auf eine eventuelle bakterielle Kontamination des Plazentablutes finden kann. Zu diesem Zweck wurde bei den Schwangeren vor der Geburt im Kreißsaal die axilläre Körpertemperatur gemessen und über eine venöse Blutentnahme die Entzündungsparameter bestimmt.

Aus Zeit- bzw. aus Kostengründen konnten diese Werte nicht routinemäßig bei allen Schwangeren erhoben werden. Es traten erhöhte CRP-Werte bis 3,2 mg/dl und Leukozytenzahlen bis 29,2/nl bei Patientinnen mit mikrobieller Kontamination in der entsprechenden Plazentablutentnahme auf. Jedoch gab es in gleichem Maße negative bakterielle Untersuchungsbefunde des Plazentablutes, mit CRP-Werten von 7,5 mg/dl und Leukozytenzahlen von 25,1/nl als Höchstwerten.

Als höchste Temperatur wurden bei einer Schwangeren mit negativem mikrobiellen Untersuchungsbefund 38,3°C gemessen.

	Positiver Plazentablutfund		Negativer Plazentablutfund	
	Medianwert	Maximalwert	Medianwert	Maximalwert
CRP (mg/dl)	1,0	3,2	1,6	7,5
Leukozyten/nl	12,4	29,2	12,0	25,1
Temperatur (°C)	36,8	37,5	37,0	38,3

Tab. 19: Entzündungsparameter bei positiven und bei negativen bakteriellen Plazentablutfunden

6 Diskussion

6.1 Gesamtkontamination

Die Kontamination des Plazentablutes wird seit Jahrzehnten untersucht. In der Literatur sind sehr unterschiedliche Daten zu finden. Die Kontaminationsraten schwanken nach unterschiedlichen Angaben von 0 % (7, 13, 19, 35) bis 28 % (6). In der hier vorliegenden Studie erreichte sie 28,2 %. Für diese unterschiedlichen Angaben gibt es, wie schon im Punkt 2 auf Seite 4-5 aufgeführt mehrere Ursachen. Möglicherweise sind teilweise auch noch Unterschiede in den Einzelheiten des Studienaufbaus mitentscheidend. In Tabelle G1, (im Anhang G, Seite XIV, XV) sind einige repräsentative Publikationen zur Kontamination von Plazentablut zum Vergleich dargestellt.

Erhebliche Unterschiede zeigen sich im Bezug auf die Anzahl der untersuchten Plazentablutentnahmen. Oft liegen die Entnahmezahlen zwischen 30 und 50 (10, 13, 19, 31, 35, 40, 97), jedoch kommen auch 3- und 4-stellige Zahlen vor (2, 6, 7, 55, 71).

In einigen Studien wurde das Plazentablut sowohl nach vaginalen Entbindungen als auch nach Sectio caesarea (4, 13, 19, 31, 55, 71) gewonnen. In einzelnen Studien wird auch nur das Plazentablut nach vaginalen Geburten untersucht (32, 40). Oft fehlen die Angaben zum Entbindungsweg auch völlig.

Die Abnahmesysteme sind, wenn überhaupt oft nur sehr unzureichend beschrieben. Eine Literaturrecherche zeigt, daß früher vor allem offene, selbst hergestellte und autoklavierte Systeme verwendet wurden (4, 19). Erst in den späteren Jahren fanden für gewöhnlich geschlossene, steril hergestellte und kommerziell erhältliche Beutelsysteme Verwendung.

Gegenwärtig werden, wegen des geringeren Risikos einer mikrobiellen Kontamination, faßt ausschließlich nur noch diese Systeme verwendet (2).

Es besteht die Möglichkeit das Blut mit der Plazenta entweder noch in utero oder erst nach Ausstoßung der Nachgeburt ex utero zu entnehmen. Dahingehend konnte keine bevorzugte Entnahmetechnik festgestellt werden. Es wird auch von Entnahmetechniken berichtet, bei denen sowohl vor als auch nach Plazentaausstoßung Blut gewonnen wurde und beide Fraktionen dann zusammen geführt wurden. Vor Plazentaausstoßung wurde mit einer heparinisierten Spritze aus dem venösen System Blut entnommen. Nach Ausstoßung wurde dann über einen Umbilikalarterienkatheter Kochsalzlösung injiziert und anschließend das restliche Blut wahlweise in einem offenen sterilen Container oder mit einem geschlossenen Beutelsystem gesammelt (32).

Bei den Angaben über die Inokulationsvolumina treten Schwankungen um das 10-fache auf. Als Untersuchungsmaterial wurde gewöhnlich Plazentavollblut verwendet. Eine Ausnahme stellt M-Reboredo (71) dar, der in seiner Studie Erythrozytenkonzentrate untersuchte. Ademokun et al. (2) verglich zwei Entnahmesysteme: ein Einzel- und ein Drei-Beutel-System. Bei Letztgenanntem wurde zum Vollblut auch noch die Buffy-coat-Fraktion auf bakterielle Kontamination untersucht. Auch hier wurde nur eine Gesamtkontamination, getrennt nach Systemen, aber nicht nach untersuchten Fraktionen aufgeführt.

Hinsichtlich Anzahl und Zeitpunkt der Untersuchungstage waren oft keine Informationen zu finden. Nur einzelne Arbeiten berichten über Nachuntersuchungen bis zu einem Monat (13, 19), oder aber es war nur ein Untersuchungstag angesetzt. In der überwiegenden Zahl der Veröffentlichungen galt eine nur einmalige Untersuchung des Vollblutes mit einem Bactec-Gerät über sieben Tage bei 35°C (siehe auch Punkt 4.5.5, Seite 10, 11) als Regel (2, 4, 7, 13, 55).

Nur in wenigen Studien sind klare Ausschlußkriterien festgelegt worden. So wurde bei Bifano et al. das Blut nur bei Geburten, die termingerecht oder dem Geburtstermin sehr nahe stattfanden, entnommen und dies auch nur, wenn die Plazenta weniger als sechs Stunden nach dem Blasensprung noch geboren wurde und dabei keinerlei Anzeichen für eine Chorionamnionitis bestanden (13). Bei Elchalal et al. zählte zu den Ausschlußkriterien jegliche bekannte genetische Erkrankung, positive Serologie für HIV, HBV, CMV, Streptokokken der Gruppe B, Fieber bei der Mutter während der Wehen oder der Entbindung und ein Blasensprung, der mehr als 24 Stunden vor der Entbindung lag (32). Meist waren jedoch keine Ein- oder Ausschlußkriterien in den Publikationen aufgeführt.

Dies können die Ursachen für die starken Unterschiede in den ermittelten Kontaminationsraten sein. Die hohe Kontaminationsrate in der vorliegenden Studie von 28,2% erklärt sich dabei zum Teil dadurch, daß im Gegensatz zu vielen anderen Studien nicht nur das Vollblut am ersten Tag untersucht wurde, sondern auch noch die anderen Fraktionen und zudem auch noch an mehreren Untersuchungstagen (siehe hierzu Tab. 5, Seite 23).

6.2 Mögliche Ursachen für die Kontamination von Blutprodukten

Die Kontaminationsmöglichkeiten von Blutprodukten allgemein treffen in gleicher Weise für Plazentablut zu. Die Ursache für die Kontamination muß nach Puckett et al. in einem der folgenden vier Schritte zu finden sein. Als mögliche Kontaminationsquelle wird die Herstellung der Blutbeutel und die Gewinnung, die Bearbeitung oder die Lagerung des Blutes angesehen.

Das Risiko einer Kontamination scheint bei der Herstellung der Beutel und der Lagerung des Blutes als gering eingestuft werden zu können. Dahingegen scheint die größte Gefahr in den verschiedenen Blutverarbeitungsschritten zu liegen (82). Hier können Beschädigungen des Beutelsystems beim Öffnen der Verpackung, beim Abklemmen der Verbindungsschläuche oder während der Verarbeitung in der Zentrifuge, im Plasmaexpressor oder auf der Thrombozytenschaukel nicht ausgeschlossen werden. Auch unvollständige Hitzeversiegelung kann dazu führen, daß Bakterien in die Blutbeutel gelangen (33, 82).

Die Gewinnung des Blutes bietet auch mehrere Kontaminationsmöglichkeiten. Häufig ist die gewöhnliche Hautdesinfektion nicht ausreichend (50). Zum einen zeigen sich Unterschiede in der Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln wie Strand et al. am Beispiel von Jodtinktur im Vergleich mit PVP-Jod zeigt (90). Weiterhin können Desinfektionsmittel überdies scheinbar nur die Mikroorganismen der oberflächlichen Hautschichten erfassen (21, 82).

Das eigentliche Reservoir der normalen Hautflora befindet sich, wie Brown et al. annimmt in tieferen Schichten im Stratum corneum, bzw. darunter, wo Desinfektionsmittel keine Wirkung mehr zeigen (21). Bei der Blutentnahme gelangen oftmals Hautstanzen, die durch weitlumige Nadeln ausgestochen werden, in das gewonnene Blut und können es so auch mit Bakterien aus tieferen Hautschichten kontaminieren (16, 37).

Gibson und Norris prüften wie häufig ein Hautstück bei Venenpunktion ausgestanzt wird. Bei 300 Punktionen konnten in 69% der Fälle Hautstanzen nachgewiesen werden (37).

Auch asymptomatische Blutspender sind oftmals Ursache für die Kontamination von Blutprodukten (56). Tipple et al. berichtet über mehrere Sepsiszwischenfälle nach Transfusion

von Erythrozytenkonzentraten, die mit *Yersinia enterocolitica* kontaminiert waren. Es ist anzunehmen, daß eine asymptomatische Bakteriämie bei den Spendern zum Zeitpunkt der Blutentnahme vorlag (98).

6.3 Auftreten der Bakterien in den einzelnen Blutprodukten

In der Literatur ist meist anhand von Transfusionszwischenfällen beschrieben, daß je nach Blutprodukt Unterschiede im Auftreten von Bakterien bestehen.

Erythrozytenkonzentrate sind vorrangig durch eine Kontamination mit gramnegativen Bakterien gefährdet. An erster Stelle stehen die Enterobakterien, gefolgt von Pseudomonaden (42, 50, 68, 85, 88).

Bei den Enterobakterien handelt es sich hauptsächlich um Kontamination mit *Yersinia enterocolitica* (14, 27, 98) aber auch andere Enterobakterien, wie *Enterobacter agglomerans* und *Enterobacter cloacae* (3, 56, 85), *Serratia* (50, 56) oder *Escherichia coli* (50) kommen vor.

Seit Beginn der 80iger Jahre wird zunehmend über tödliche Transfusionszwischenfälle durch *Yersinia enterocolitica* berichtet, während andere Enterobakterien und die Pseudomonaden eine geringere Rolle spielen. Sie treten in der Literatur der 90iger Jahre in den Hintergrund (68). Der Eisengehalt des Nährmediums sowie die Fähigkeit der Yersinien bei 4°C zu wachsen, stellen scheinbar wichtige Wachstumsfaktoren für Yersinien dar. Das scheint die Ursache zu sein, weshalb gerade Erythrozytenkonzentrate gehäuft mit Yersinien kontaminiert sind und weshalb bei Überladung des Blutes mit Eisen oft Bakteriämien mit Yersinien auftreten (17).

Nach Pittmann et al., der mehrere gramnegative Bakterien bei Transfusionszwischenfällen untersucht hat, dürfen aber die grampositiven Bakterien bei der Kontamination von Erythrozytenkonzentraten nicht übersehen werden. Seiner Meinung nach sind sie oft die Ursache von weniger schweren Reaktionen nach Transfusionen (81).

In Thrombozytenkonzentraten werden verstärkt grampositive Bakterien gefunden. Die Ursache dafür ist, daß Thrombozytenkonzentrate bei Zimmertemperatur gelagert werden und diese Temperatur, im Gegensatz zur Lagerung von Erythrozytenkonzentraten bei 4°C, für grampositive Bakterien günstige Wachstumsvoraussetzungen darstellen.

Im Vordergrund steht die Kontamination mit Staphylokokken, sowohl *Staphylococcus aureus* als auch *Staphylococcus epidermidis* (9, 14, 27, 42, 85, 88). Es muß an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, daß *Staphylococcus aureus* bei tödlichen Transfusionszwischenfällen

führend ist. Unter Beachtung aller kontaminationsbedingten Komplikationen nach Thrombozytentransfusionen stehen Koagulase negative Staphylokokken allerdings an erster Stelle (68).

Andere grampositive Keime sind unter anderem Streptokokken (42, 70), Bacillus species (14, 70, 88) und Korynebakterien (9, 27, 42, 58). Aber auch gramnegative Keime wie Klebsiellen, Serratia und Salmonellen kommen in Thrombozytenkonzentraten vor (85).

Zur Kontamination von gefrorenen Frischplasmakonzentraten kommt es oft während des Auftauvorganges in Wasserbädern, wobei Pseudomonaden häufige Keime sind (56). In Plasmaprodukten treten jedoch häufig auch grampositive Bakterien wie Staphylokokken und Bacillus species auf (85).

6.4 Sensitivität der Fraktionen beim Kontaminationsnachweis

Aufgrund der Angaben über die unterschiedlich hohen Kontaminationsraten und das unterschiedliche Keimspektrum der einzelnen Blutkomponenten, sollten in dieser Studie nicht nur das Vollblut, sondern auch die Fraktionen Buffy coat, Erythrozytenkonzentrat und Plasma untersucht werden. Dadurch sollte die Frage, in welcher dieser Fraktionen eine bakterielle Kontamination von Plazentablut am besten nachgewiesen werden kann, beantwortet werden.

Wie den Tabellen 2-4 (Seiten 20-22) zu entnehmen ist, konnte in dieser Studie an jedem der drei Untersuchungstage die höchste Nachweisquote im Buffy coat erzielt werden. Häufig waren die Bakterien auch nur im Buffy coat nachweisbar. Die Konfidenzintervalle aus Tabelle 6 Seite 24 zeigen, daß im Buffy coat bei den Gesamtkontaminationsangaben von allen drei Tagen signifikant höhere Nachweisraten als in den anderen Fraktionen festgestellt wurden.

Es stehen jedoch keine Vergleichswerte aus anderen Studien zur Verfügung. Lediglich Ademokun et al. (2) untersuchte bei den Plazentablutentnahmen mit dem Triple bag-System neben dem Vollblut auch das Buffy coat zur Ermittlung der Kontaminationsrate. Die Ergebnisse aus beiden Fraktionen wurden jedoch nicht miteinander verglichen. Es wurde lediglich eine Gesamtkontamination von 4% angegeben. In allen anderen Studien wurde nur das Vollblut untersucht, mit Ausnahme von M-Reboredo (71), der Erythrozytenkonzentrate zur mikrobiellen Untersuchung verwendete (siehe Tab. G1, Anhang G, Seite XIV, XV).

Es gibt mehrere Erklärungsansätze für das gehäufte Auftreten von Bakterien im Buffy coat. Buffy coat enthält zum großen Teil Leukozyten, die zur Phagozytose befähigt sind. Einige Bakterien zeichnen sich dadurch aus, daß sie intrazellulär in Leukozyten überleben. Wenn die

Leukozyten, deren Lebensfähigkeit durch die Lagerung bei 4°C schnell absinkt, zerfallen, werden diese Bakterien, beispielsweise Yersinien oder Salmonellen wieder freigesetzt und vermehren sich weiter (48).

Högman et al. hat in Versuchen Vollblut- und Buffy-coat-Proben mit verschiedenen Bakterien kontaminiert. Bei einem Teil der Proben waren vorher die Leukozyten durch Filtern entfernt worden. In den Proben, in denen die Leukozyten fehlten, stieg das Bakterienwachstum stetig an. Dahingegen wurden die Bakterien in den Proben, die noch Leukozyten enthielten, phagozytiert. *Staphylococcus epidermidis* und *Escherichia coli* wurden dauerhaft eliminiert. Bei Kontamination mit *Staphylococcus aureus* konnten nach maximal fünf Stunden keine Bakterien mehr nachgewiesen werden. Nach 18-stündiger Lagerung konnte wieder ein stetig zunehmendes Bakterienwachstum verzeichnet werden. Dies wurde durch den Leukozytenzerfall und die Wiederfreisetzung der Staphylokokken erklärt (49).

Kim et al. kontaminierte Vollblut mit 65 koloniebildenden Einheiten (KBE) von *Yersinia enterocolitica*. Danach wurden zwei Gruppen gebildet und jeweils mit einem anderen Filtersystem die Leukozyten entfernt, wobei etwa 99 % der weißen Blutzellen entfernt wurden. Pro Gruppe konnten bei 20 % der gefilterten Proben ein Yersinienwachstum festgestellt werden. Die nicht gefilterten Vergleichsproben dagegen waren zu 100 % kontaminiert. Der Mechanismus, wie die Yersinien entfernt wurden, ist nicht exakt bekannt. Entweder befanden sie sich in den Leukozyten oder an deren Oberfläche angeheftet und wurden so mit ihnen entfernt, oder sie wurden selbst herausgefiltert (54). Auch in anderen Studien wurde nachgewiesen, daß in Blutproben, die mit *Yersinia enterocolitica* kontaminiert wurden, durch spätere Entfernung der weißen Blutzellen ein Bakterienwachstum verhindert oder signifikant reduziert werden konnte (23, 41, 47).

Bei Untersuchungen von Buffy-coat-Abstrichen zur frühen Diagnose von Bakteriämien konnte Brooks et al. *Staphylococcus aureus* und *Clostridium perfringens* intrazellulär nachweisen (20). Zu den häufig intrazellulär gefundenen Keimen bei Studer et al. gehören grampositive Kokken (93). Auch bei Meningokokken ist aber bekannt, daß sie intrazellulär in Leukozyten vorkommen (18).

Das intrazelluläre Überleben trifft in der hier vorliegenden Studie als Ursache für den hohen Kontaminationsnachweis im Buffy coat wahrscheinlich nicht zu, da dabei die Kontamination mit Dauer der Lagerung zunehmen müßte. In dieser Studie ist jedoch das Gegenteil der Fall und außerdem konnte von den genannten Bakterien, die fähig sind die Phagozytose zu überleben, lediglich *Staphylococcus aureus* nachgewiesen werden.

Möglicher Weise ist der Grund für das Auftreten der Bakterien im Buffy coat, daß sich die Bakterien an die Oberfläche der Leukozyten heften können und so beim Zentrifugieren in den Buffy coat gelangen. Das Phänomen, des Anheftens von Bakterien an zelluläre Blutbestandteile ist genauer schon bei Erythrozyten erforscht. Uropathogene Bakterien binden an Strukturen, die häufig Bestandteil von Blutgruppenantigenen sind. Diese sind auf Erythrozyten und auf Urothelzellen vorhanden. So bindet *Escherichia coli* über P-Fimbrien an P-positive Erythrozyten. Personen die P-Blutgruppen negativ sind, erkranken somit nur mit geringerer Wahrscheinlichkeit an einer Pyelonephritis (57, 89). Bei Tests mit menschlichen Erythrozyten ergab sich, daß die Rezeptormoleküle für P-Fimbrien Glykosphingolipide sind, die den Antigenen P, P1 und Pk entsprechen (59, 96). Auch bei enterotoxischen *E. coli*-Stämmen ist das Anheften an Rezeptoren auf der Erythrozytenoberfläche mit Hilfe von Pili bekannt (30, 80, 101).

Neisseria gonorrhoeae führt mit Hilfe des Pilusproteins PilE ebenfalls zur Hämagglutination von Erythrozyten (86).

Auch bei Malaria befallen die Parasiten die Erythrozyten. Merozoiten von *Plasmodium vivax*, einem Erreger der menschlichen Malaria und auch von *Plasmodium knowlesi*, einem Erreger, der Affen befällt aber auch *in vitro* menschliche Erythrozyten befallen kann, können nur in Erythrozyten, die für die Duffy Blutgruppe positiv sind, eindringen. Dabei scheint das Antigen FY6 als Ligand für das Eindringen der Merozoiten von *Plasmodium vivax* in menschliche Erythrozyten zu dienen. Menschen mit duffynegativer Blutgruppe sind somit resistent gegen Infektionen von *Plasmodium vivax*, weshalb diese Infektion bei der schwarzen Bevölkerung in Westafrika selten vorkommt (8, 26, 60, 63, 65, 66). Die Infektion mit *Plasmodium falciparum* ist nicht mit der Duffy-Blutgruppe assoziiert. Hier scheint das Eindringen abhängig von Glykophorinen oder von N-Acetylneuraminsäure zu sein (28, 66). Dabei spielt das Glykophorin C eine entscheidende Rolle, da Erythrozyten, die kein Glykophorin C auf der Oberfläche tragen, in geringerem Maße befallen werden (78).

Es ist scheinbar möglich, daß sich Bakterien nicht nur, wie eben gezeigt, an Erythrozyten heften, sondern sich auch an die Oberflächenstrukturen von Leukozyten binden können. Bestimmte gramnegative Bakterien können sich so über Fimbrien an phagozytierende Zellen binden (29, 48). Hazenbos et al. beschreibt in seiner Studie, daß *Bordetella pertussis* über die Fimbrienuntereinheit FimD an Monozyten, kaum jedoch an neutrophile Granulozyten oder Lymphozyten binden kann. Sie können dann aber auch von den Monozyten phagozytiert

werden (46). Das selbe gilt für Ecolistämme, die an neutrophile Granulozyten und Makrophagen binden (75).

Unsere Ergebnisse zeigen, daß das Buffy coat die höchste Nachweisrate bei der Kontamination von Plazentablut aufweist. Trotzdem konnten einige Keime auch nur in anderen Fraktionen nachgewiesen werden (siehe Tab. 11, Seite 29). Daher und auch aufgrund der Angaben in der Literatur über das unterschiedliche Auftreten von Bakterien in verschiedenen Blutkomponenten scheint es nicht ausreichend zu sein, Aussagen über die Kontamination von Plazentablut nur an Hand von Vollblutuntersuchungen zu machen. In den meisten anderen Studien war das allerdings der Fall. Es sollte immer das verwendete Endprodukt auf eine eventuelle Kontamination untersucht werden und falls es möglich ist sollte zusätzlich immer das Buffy coat mituntersucht werden.

6.5 Anzahl und Zeitpunkt der Untersuchungstage

Es stellt sich weiterhin die Frage, wie viele Untersuchungen und an welchen Tagen zum Erfassen einer mikrobiellen Kontamination von Plazentablutentnahmen sinnvoll sind. In dieser Studie wurden Untersuchungen an drei Tagen (1, 3, 35) durchgeführt. Häufig finden sich Studien mit nur einer Untersuchung, meist am Entnahmetag (4, 6, 7, 10, 97). Nur in Ausnahmefällen werden mehrere Untersuchungstage durchgeführt, wie bei Brandes et al. der an Tag 1, 7 und 14 das Plazentablut überprüfte (19) oder wie bei Bifano et al., der fünf Untersuchungen in wöchentlichem Abstand (Tag 1, 7, 14, 21, 28) durchführte (13). Allerdings ist hier nur eine Gesamtkontamination und nicht die Kontamination der einzelnen Untersuchungstage angegeben.

In der vorliegenden Studie zeigte sich, daß nicht alle Kontaminationen am ersten Untersuchungstag festgestellt werden konnten. Fünf Kontaminationen wurden erst bei der wiederholten Untersuchung an Kontrolltag 3 erfaßt, was bedeutet, daß 15,2% der Gesamtkontamination nicht am ersten Untersuchungstag nachweisbar waren (siehe hierzu Tab. 1 und 7, Seite 19, 25).

Für eine Kontamination, die erst an Tag 3 auftritt, gibt es mehrere mögliche Erklärungen. Als mögliche Ursache muß eine sekundäre Kontamination in Erwägung gezogen werden. Dazu könnte es entweder bei der Entnahme des Inokulationsvolumens aus den Sammelbeuteln oder beim Beimpfen der Kulturfläschchen gekommen sein. Demzufolge könnte es sich bei den 15,2% Neuinfektionen an Tag 3 auch um ein methodisches Epiphänomen gehandelt haben.

Um dieser Frage nachzugehen, wurden 121 als steril bekannte Buffy-coat-Proben, die bei der Erstellung von Eigenblutkonzentraten gewonnen worden waren getestet. Hierbei wurde bei der Entnahme des Buffy coats aus dem Beutel und beim Beimpfen der Flaschen, wie zuvor bei den Untersuchungen der Plazentablutfractionen vorgegangen. Es wurden allerdings fünf Untersuchungen an den Tagen 1, 3, 6, 35 und 42 durchgeführt. Ein positiver Befund in den Buffy-coat-Kulturen, muß demnach als sekundäre Kontamination angesehen werden und dient als Vergleichsgröße für die Plazentablutstudie. In drei Proben konnte ein Bakterienbefall festgestellt werden. Bei den Untersuchungen an Tag 3 konnte jedoch nur einmalig eine Kontamination und zwar mit *Staphylococcus epidermidis* nachgewiesen werden und zweimal trat eine Kontamination an Tag 35 auf, wobei es sich um einen *Staphylococcus hominis* und einen *Staphylococcus capitis* handelte. In einer später nochmals durchgeführten Kontrolluntersuchung und auch an den darauffolgenden Untersuchungstagen konnte keine Kontamination nachgewiesen werden, was ebenso wie das Keimspektrum eine sekundäre Kontamination vermuten läßt. (Ergebnisse einer Parallelstudie, durchgeführt von M. Khalil im Klinikum Großhadern; bisher noch nicht publiziert)

Bei den Plazentablutentnahmen konnten 15,2% der Kontaminationen erst an Tag 3 nachgewiesen werden. Dahingegen trat bei der zur Kontrolle eines Epiphänomens durchgeführten Buffy-coat-Studie nur eine Kontamination an Tag 3 auf, was einer Kontaminationsrate von 1,21% entspricht. Es handelt sich folglich in der Plazentablutstudie bei den Kontaminationen mit Erstmanifestation an Tag 3 nicht um ein Epiphänomen, da ähnlich hohe Kontaminationsraten nicht reproduziert werden konnten.

Eine weitere Erklärung für den erstmaligen Nachweis von Bakterienwachstum an Kontrolltag 3 ist ein möglicher Sampling error. Das würde bedeuten, daß das Inokulationsvolumen zu klein gewählt war und die Bakterien gar nicht oder nur in zu geringer Konzentration in den 3 ml Inokulat vorhanden waren, um an Tag 1 nachgewiesen werden zu können. Zu einem späteren Zeitpunkt könnten im Inokulat aufgrund von eventuellem Bakterienwachstum oder auch zufällig genügend Bakterien zum Nachweis vorhanden gewesen sein.

Daß in allen fünf Fällen am Verfallstag wieder keine Kontamination nachgewiesen werden konnte, kann durch einen erneuten Sampling error oder durch einen bakteriziden Effekt während der Lagerung verursacht sein. In zwei Fällen lassen die Kontaminationsbefunde unserer Studie einen Sampling error vermuten. In beiden Fällen konnte der gleiche Keim sowohl an Tag 1 als auch an Tag 35 nicht jedoch an Kontrolltag 3 nachgewiesen werden. Hierbei handelte es sich zum einen um den Nachweis von *Enterococcus faecalis* im Plasma

und zum anderen um *Propionibacterium acnes* im Erythrozytenkonzentrat. Im Fall des *Enterococcus* fiel der Befund von Tag 3 negativ aus, beim *Propionibacterium acnes* konnte an Tag 3 ein Koagulase negativer *Staphylococcus* angezüchtet werden. Bei dieser Konstellation liegt ein Sampling error nahe. Die in der vorliegenden Studie verwendeten Kulturfläschchen der Firma Becton Dickinson für die Bestimmung auf aerobe und anaerobe Kontamination, sind für ein Inokulationsvolumen von 3-10 ml vorgesehen. Somit entsprechen die hier inokulierten 3 ml also dem Mindestvolumen. Ein größeres Volumen stand aber nicht zur Verfügung, da für die Untersuchungen aller Fraktionen an den drei Tagen insgesamt 60 ml Plazentablut benötigt wurden und somit teilweise schon fast das gesamte Entnahmevervolumen verbraucht war.

Jorgensen et al. (53) verglich die in der vorliegenden Studie verwendeten Bactec Plus Aerobic/F-Kulturfläschchen mit BacT/Alert Aerobic FAN-Flaschen im Hinblick auf den Kontaminationsnachweis von Bakterien und Pilzen. Beide Flaschen waren im Kontaminationsnachweis vergleichbar und konnten die Keime größtenteils sehr schnell nachweisen. Durchschnittlich war das Bactec-System im Nachweis bei Keimen, die innerhalb von 72 Stunden gefunden wurden schneller (Bactec: 16,9h) als das BacT/Alert-System (BacT/Alert: 18,8h). Besonders Keime der *Enterococcus*-Spezies und Streptokokken der Viridansgruppe konnten viel schneller im Bactec-System nachgewiesen werden, wohingegen der Nachweis von *Candida albicans* im BacT/Alert-System früher erzielt wurde.

Angaben über die Validität des Bactec 9240-Systems waren in der Literatur kaum zu finden. Chapin et Lauderdale (25) verglichen das Bactec 9240- mit dem Difco ESP-Blutkultursystem im Bezug auf den Kontaminationsnachweis. Hierzu beimpften sie Kulturfläschchen mit ca. 45 KBE von insgesamt 18 verschiedenen Spezies und testeten die Nachweisrate in Abhängigkeit von der Inkubationstemperatur und von der Zeitspanne, die zwischen dem Beimpfen und dem Einsetzen ins Blutkultursystem lag. Dazu muß erwähnt werden, daß eine Kontamination möglicherweise nicht nachgewiesen wird, wenn sich die Bakterien in oder schon nach der logarithmischen Wachstumsphase befinden, und sich die CO₂-Produktion nur noch wenig verändert. Für das Bactec-System ergab sich, daß für Kulturfläschchen, die mit bis zu acht Stunden Verzögerung in das Blutkultursystem eingesetzt werden und mit einer Temperatur von 35°C inkubiert werden, eine Nachweisrate von 100% und bei Verzögerung bis zu 24 Stunden eine nur gering niedrigere Nachweisrate von 97,9% besteht. Bei größeren Zeitspannen zwischen Inokulation und Einsetzen ins Gerät sollen die Kulturflaschen bei Raumtemperatur inkubiert werden, um einen besseren Kontaminationsnachweis zu erzielen.

Es sollte also gewährleistet sein, daß die Kulturfläschchen so schnell als möglich zur Überwachung ins Bactec 9240-System gestellt werden. Nur so kann eine optimale Nachweisrate erreicht werden. Falsch negative Befunde ergaben sich in der Studie von Chapin und Lauderdale beim Bactec 9240-System für 6,6% der Flaschen, wohingegen das Difco ESP-System bei 11,5% der Flaschen fälschlicher Weise keine Keime nachwies.

In vergleichbaren Studien über die Kontamination von Plazentablut schwanken die Inokulationsvolumen zwischen 0,5 ml (2, 6) und 5 ml (7, 40). Häufig sind keine näheren Angaben zu den Kulturflaschen und deren Optimalvolumina gemacht. Allgemein läßt sich nur sagen, daß im Bezug auf die Sensitivität beim Kontaminationsnachweis zu beachten ist, daß die Nachweisgrenze vom Inokulationsvolumen abhängt (68). Genauer gesagt ist die Nachweisgrenze abhängig von der Anzahl der koloniebildenden Einheiten pro Kulturflasche, welche gewöhnlich mit steigendem Inokulationsvolumen zunimmt. Somit sollte ein möglichst großes Testvolumen angestrebt werden. In der Mindestanforderung zur Sterilitätstestung von Blutkomponenten sind 10 ml Testvolumen vorgesehen, da so mit hoher statistischer Sicherheit ein Schwellenwert von 1 KBE/ml erreicht werden kann (67). So große Testvolumina stehen zum Kontaminationsnachweis von Plazentablut meist nicht zur Verfügung, da möglichst viel Blut für eine spätere Transfusion gespart werden soll.

Mit dem Problem, daß nur wenig Volumen zur Sterilitätstestung zur Verfügung steht, hat sich auch Rupp et al. beschäftigt. Er berichtet über eine Methode zur Qualitätssicherung von kleinvolumigen sterilen Produkten. Hier wird ein Teil des Produktes gefiltert und anschließend wird die Filtereinheit, der flüssiges Thioglycollat-Medium zugefügt wurde, inkubiert. Trübung oder Farbänderung des Mediums zeigen an, daß Bakterien vorhanden sind. Eine weitere Identifizierung der Keime erfolgt über Anzüchten auf Blutagarplatten und durch Gramfärbung (83).

Man sollte auch bei der Untersuchung der Kontamination von Plazentablut nach sensitiveren Nachweissystemen suchen. So könnten spezielle sensitive Nährmedien zur Anzuchtung der Bakterien verwendet werden oder eine Polymerasekettenreaktion (PCR) zum Nachweis der Keime eingesetzt werden.

Ein weiterer Punkt, der ein erstmaliges Bakterienauftreten an Tag 3 erklären würde, ist das intrazelluläre Überleben von Bakterien in zellulären Blutbestandteilen. Wie schon weiter oben beschrieben, ist dieses Phänomen vor allem bei Yersinien aber auch bei Salmonellen bekannt. Sie werden von Leukozyten phagozytiert, überleben intrazellulär und können sich nach dem Leukozytenzerfall im Blutprodukt weiter vermehren (48). Nach Versuchen von

Högmann et al. hat auch *Staphylococcus aureus* die Fähigkeit die Phagozytose zu überleben und wird bei längerer Lagerung wieder freigesetzt (49).

In der vorliegenden Studie ist es aber unklar, ob einem erstmaligen Kontaminationsnachweis an Tag 3 ein intrazelluläres Überleben der Keime zu Grunde liegt. Zwar wurde einmal *Staphylococcus aureus* an Tag 3 erstmals nachgewiesen, der nach Högmann et al. (49) intrazellulär überleben kann, aber es konnte in keinem Fall ein zunehmendes Bakterienwachstum mit der Dauer der Lagerung verzeichnet werden. Es handelte sich vielmehr bei allen fünf Fällen um einmalige Kontaminationsbefunde. Bei den jeweiligen Untersuchungen vom Verfallstag konnte in keinem Fall eine Kontamination nachgewiesen werden.

Da in der hier vorliegenden Studie nicht alle Kontaminationen am Entnahmetag erfaßt wurden, scheint ein zweiter Untersuchungstag sinnvoll zu sein und die Nachweisrate zu erhöhen. Man könnte aber auch versuchen durch größere Inokulationsvolumina oder am besten über sensitivere Nachweismethoden wie Spezialnährböden oder eine bakterielle PCR die Nachweisbarkeit am ersten Tag zu verbessern.

Mit Hilfe der drei Untersuchungstage kann in dieser Studie die Kontamination im Verlauf beobachtet werden und wie Tabelle 5 (Seite 23) zeigt, kann ein bakterizider Effekt dargestellt werden. Die Gesamtkontamination sank von 28 Kontaminationen am Entnahmetag auf nur noch 5 positive Befunde am Verfallstag 35 und konnte in allen Fraktionen nachgewiesen werden. Dieser bakterizide Effekt kann durch das Absterben der Bakterien bei der Lagerung bei 4°C oder durch die Phagozytoseaktivität des Blutes mit Hilfe von Leukozyten, Plasma- und Komplementfaktoren erklärt werden.

Viele Bakterien können bei 4°C nicht wachsen. Das trifft für einen Großteil der grampositiven Bakterien zu, wozu auch die typischen Hautkeime gehören. Sie vermehren sich dagegen gut bei Raumtemperatur, weshalb sie oft in Thrombozytenkonzentraten vorkommen (56, 85). Keime, die auch Temperaturen unter 5°C überleben heißen psychrophil. Bei niedrigen Temperaturen wird der Metabolismus stark reduziert und eine langsame, lineare Wachstumsrate kann verzeichnet werden. Nach einer Lagerung von ein bis zwei Wochen können die Bakterien zum exponentiellen Wachstum übergehen. Bei Erwärmung des Blutes können sie innerhalb von Stunden ein derartiges Wachstum erreichen. Zu den psychrophilen Bakterien gehören Yersinien, viele andere Enterobakterien, wie Klebsiellen, Enterobacter, Ecoli und die Pseudomonaden (42, 68, 85). Ein Großteil der Bakterien, die an den ersten Tagen nachgewiesen wurden, könnten also durch die Lagerung bei 4°C abgetötet worden

sein, zumal es sich dabei hauptsächlich um grampositive Keime handelte (siehe Tab. 12, Seite 30, 31).

Auch das Blut an sich hat eine bakterizide Wirkung. Nicht nur die Leukozyten können durch Phagozytose Bakterien abtöten, sondern auch das Serum hat eine bakterizide Wirkung, die wichtig ist, um den Körper vor eindringenden Bakterien zu schützen. Casciato et al. untersuchte die bakterizide Aktivität normalen menschlichen Serums gegenüber Keimen der *Bacteroides-fragilis*-Gruppe. 38 % der Keime konnten durch das Serum abgetötet werden, wobei Keime aus dem Stuhl sensitiver auf das Serum reagierten als Keime, die aus dem Blut von Patienten mit klinischer Infektion isoliert worden waren. Auch die einzelnen Spezies der *Bacteroides-fragilis*-Gruppe waren unterschiedlich anfällig gegenüber der bakteriziden Aktivität des Serums (24). Gong et al. kontaminierte normales Plasma und Plasma bei dem die Leukozyten zuvor mit Hilfe von Filtern entfernt worden waren, mit *Yersinia enterocolitica*. Er konnte weder in dem einen noch in dem anderen Fall ein Bakterienwachstum nachweisen, was er durch den bakteriziden Effekt des Plasmas erklärt (41).

6.6 Kontamination bei Sectio caesarea im Vergleich zur vaginalen Entbindung

In der vorliegenden Studie waren von 89 vaginalen Geburten 33,7% der Plazentablutabnahmen kontaminiert. Dagegen waren bei den 28 Sectiones caesareae nur in 10,7% positive bakterielle Kulturen nachweisbar (siehe Tab. 13, Seite 31, 32).

Es ließen sich kaum Publikationen finden, in denen die Kontamination bezüglich des Entbindungsweges untersucht wurde. Häufig geht aus den Studien gar nicht hervor, bei welcher Art von Entbindung das Blut entnommen wurde (2, 6, 10, 97). Nur teilweise ist die Art der Entbindung und in Einzelfällen die Anzahl der Entnahmen noch nach dem Entbindungsweg aufgetrennt erwähnt (13, 55).

Die Kontamination wird jedoch zumeist nur als Gesamtkontamination angegeben. Lediglich Anderson et al. prüfte beide Entbindungswege getrennt auf bakterielle Kontamination, konnte aber keine signifikanten Unterschiede feststellen (4).

Die Ergebnisse der hier vorliegenden Studie zeigten, daß die Blutabnahmen unter den sterilen Bedingungen im Operationssaal, nicht so häufig kontaminiert waren, wie das bei den vaginalen Entbindungen in den Kreißsaalkabinen der Fall war.

Bei den Sectiones caesareae traten die typischen Hautkeime Koagulase negative Staphylokokken, grampositive Stäbchen und Korynebakterien auf. Bei den vaginalen

Entbindungen hingegen war ein breiteres Keimspektrum nachweisbar. Neben den Bakterien der normalen Hautflora traten vor allem Keime auf, die typisch für die Perineal- und Vaginalregion sind. Dazu gehören unter anderem *Lactobacillus*, *Korynebakterien*, *E. coli*, *Bacteroides species*, *Peptostreptokokken* und *Streptococcus agalactiae* (44, 51, 62) (vergleiche hierzu Tab. 14, Seite 32, 33 und Tab. 15, Seite 33).

Die Nabelschnur kommt während des Geburtsvorganges bei vaginalen Entbindungen mit dieser Keimflora in Kontakt. Auch wenn man die Punktionsstelle sehr sorgfältig desinfiziert, werden keine so sterilen Verhältnisse wie im Operationsaal erreicht.

6.7 Einübungseffekt

In Publikationen mit großem Probenumfang, wird oftmals von einem Einübungseffekt berichtet. So hat Kögler et al. bei 574 Plazentablutentnahmen anfangs eine Kontaminationsrate von 18% zu verzeichnen, die allerdings nach etwa sechs Monaten auf weniger als 1% gesenkt werden konnte (55). Bei M-Reboredo et al. trat in den ersten sechs Monaten eine Kontamination von 20 % auf. Bis zum Ende der Studie wurden 938 Plazentablutentnahmen durchgeführt und die Kontamination konnte aufgrund intensiven Trainings der Hebammen auf unter 5 % reduziert werden (71). Armitage et al. berichtet sogar von einer anfänglichen Kontamination bis 28%. Diese hohen Zahlen trafen für die ersten drei Entnahmemonate zu. Nach 1000 Entnahmen war die Kontamination bis auf 4% zurückgegangen und konnte im Verlauf der Studie noch auf bis zu 1% reduziert werden (6).

Im Vergleich zu diesen Entnahmezahlen weist die vorliegende Studie nur einen geringen Probenumfang auf. Dennoch konnte auch hier, wie der χ^2 -Test zeigt, ein Einübungseffekt nachgewiesen werden (siehe Tab. 16, Seite 34).

Daher sollte, ein speziell trainiertes Team für die Entnahme von Plazentablut eingesetzt werden, was auch in einigen Kliniken bereits der Fall ist (97). Mit wachsender Routine können die Kontaminationsraten gesenkt werden und schließlich auf einem möglichst niedrigen Niveau gehalten werden.

Es ist anzuraten das Plazentablut, bis das Team eingeübt ist, routinemäßig zu entnehmen und auf bakterielle Kontamination zu untersuchen, um so den Einübungseffekt mikrobiologisch zu bestätigen. Erst ab entsprechend niedrigen Kontaminationszahlen sollte das Plazentablut zur Transfusion verwendet werden.

6.8 Einflußfaktoren für die Größe der Entnahmевolumina

Es ist wichtig, möglichst große Volumina an Plazentablut zu gewinnen, um möglichst viele Erythrozytenkonzentrat-Tranfusionen daraus herstellen zu können. In den Tabellen A1-A3, (Anhang A, Seite I-III) sind Daten über gewonnene Plazentablutvolumina und mögliche beeinflussende Faktoren aus mehreren Studien zusammengestellt.

Mögliche Einflußfaktoren sind der Entbindungsweg und ob das Plazentablut mit der Plazenta noch in utero oder erst ex utero entnommen wird (siehe Tab.A1, Anhang A, Seite I). Die Durchschnittsvolumina in der Literatur schwanken zwischen 65 und 110 ml. Hierbei weist die Studie von Gluckman et al. die größte Spannweite mit Werten zwischen 37 und 360 ml auf. Oft fehlen die Angaben über den Entbindungsweg, oder es werden zwar beide Entbindungswege in die Studie mit einbezogen, aber die Volumina nicht getrennt aufgeschlüsselt. Kögler et al. (55) und M-Reboredo (71) et al. geben etwa gleich große Volumina für beide Entbindungswege an. Allerdings wurde das Blut bei vaginalen Entbindungen in utero und bei Sectio caesarea erst ex utero entnommen. Auch an anderen Literaturstellen konnte keine Abhängigkeit des Entnahmевolumens vom Entbindungsweg festgestellt werden (11). In der vorliegenden Studie sind die Entnahmевolumina bei Sectio caesarea etwas niedriger, was jedoch auch dadurch zu erklären ist, daß sich unter den 28 Sectio-caesarea-Geburten neun Frühgeburten befanden (siehe Tab. 18, Seite 37).

Surbek et al. (95) entnahm Plazentablut bei Sectio caesarea sowohl in utero als auch ex utero und konnte in utero höhere Volumina erzielen, was jedoch den Ergebnissen von M-Reboredo (71) widerspricht. In anderen Studien wurde das Blut nur vor oder nur nach Plazentausstoßung entnommen, so daß keine weiteren direkten Vergleichswerte vorliegen.

Die niedrigsten Durchschnittsvolumina wurden in Studien bei Geburten von Frühgeborenen erreicht (siehe Tab. A2, Anhang A, Seite II). Ballin et al. (7) entnahm in seiner Studie Plazentablut bei Frühgeborenen und bei Säuglingen mit termingerechter Geburt, wobei er durchschnittlich bei Frühgeborenen 56 +/- 4 ml und bei Geburten zum Termin 92 +/- 7 ml gewinnen konnte. Diese Daten decken sich mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie, wobei die Durchschnittsvolumina insgesamt niedriger ausfielen (siehe Tab. 17, Seite 37).

Es zeigt sich, daß das absolute Entnahmевolumen mit steigendem Geburtsgewicht ebenfalls zunimmt, wobei das relative Volumen bezogen auf das Körpergewicht mit zunehmender Reife des Säuglings abnimmt. So kann bei kleineren Neugeborenen mehr Blut pro kg Körpergewicht gewonnen werden (4, 31). Trotzdem reicht gerade bei den Frühgeborenen mit

einem Geburtsgewicht unter 1300 g, die meistens transfusionspflichtig sind, das gewonnene Volumen nicht aus, um daraus die nötigen Erythrozytenkonzentrat-Transfusionen herzustellen (31).

Weiterhin konnte M-Reboredo et al. (71) keine Volumenunterschiede im Zusammenhang mit dem Geschlecht des Neugeborenen feststellen. Damit können die Ergebnisse von Anderson et al. (4), der größere Volumina aus den Plazenten von weiblichen Neugeborenen gewinnen konnte, nicht bestätigt werden.

Wie Tabelle A3 (Anhang A, Seite III) zeigt, ist auch die Abnahmemethode ein entscheidender Faktor im Hinblick auf die Größe des gewonnenen Plazentablutvolumens. Harris et al. (45) untersuchte fünf Methoden im Vergleich. Er erzielte die größten Volumina mit durchschnittlich 163 ml, indem er als die Plazenta noch in utero war, das Blut über Spritzen aus der Nabelschnurvene entnahm und nach Ausstoßung der Plazenta und Injektion einer heparinisierten Lösung das Restvolumen mit einem Standardbeutelssystem nach erneuter Punktion gewann.

Elchalal et al. (32) testete drei Methoden ähnlich wie Harris et al. nur injizierte er nach der Plazentausstößung isotone Kochsalzlösung in die Nabelschnurarterie, um den Druck in den Plazentagefäßen zu steigern und den Blutfluß zu erhöhen. Er konnte im Gegensatz zu Harris mit zwei Methoden gleich große Volumina erzielen. Dabei handelte es sich um kombinierte Entnahmen jeweils vor der Plazentausstößung mit Spritzen und danach entweder mit einem Beutelssystem über Punktion der Nabelschnurvene, oder indem nach Durchtrennen der Nabelschnur das Blut in einem sterilen Container aufgefangen wurde. Bezüglich der Größe des gewonnenen Volumens konnte Elchalal et al. keine Unterschiede zwischen beiden Methoden feststellen, jedoch waren die Kontaminationsraten nach Entnahme mit dem geschlossenen Beutelssystem wesentlich niedriger.

Um das Kontaminationsrisiko so niedrig wie möglich zu halten, wurde in der vorliegenden Studie entschieden, daß eine Entnahmemethode mit nur einmaliger Punktion der Nabelschnur verwendet werden sollte. Somit mußte möglicher Weise auf größere Volumina verzichtet werden.

Zur Abnahme von Plazentablut bei Neugeborenen mit niedrigem Geburtsgewicht sollte eventuelle ein Entnahmesystem mit einem geringeren Nadeldurchmesser verwendet werden. So können die dünneren Gefäße besser punktiert werden und eventuelle ein größeres Blutvolumen gewonnen werden.

6.9 Infektionszeichen als Anhaltspunkt für Kontamination

Es zeichnet sich ab, daß in dieser Studie mit Hilfe der Entzündungsparameter keine zuverlässigen Rückschlüsse auf eine Kontamination des Plazentablutes gezogen werden können (siehe Tab. 19, Seite 38).

In der Literatur finden sich einige Studien, die sich ebenfalls mit der Zuverlässigkeit von Entzündungswerten im Hinblick auf die Vorhersage einer bakteriellen Infektion beschäftigt haben. Luttkus et al. untersuchte unter anderem CRP-Werte und Leukozytenzahlen (sub partu, post partum und aus der Nabelvene), die höchste mütterliche Temperatur (sub partu) und die höchste fetale Herzfrequenz hinsichtlich der möglichen Vorhersage einer Infektion des Neugeborenen bzw. einer Infektion im Wochenbett. Für die jeweiligen Gruppen mit und ohne Infektion wurden die Medianwerte der Entzündungsparameter im Vergleich bestimmt. Es ergaben sich für alle Werte mit Ausnahme der Parameter aus dem Nabelvenenblut signifikant höhere Werte für die Gruppen mit Infektion.

Trotzdem konnte insgesamt bei Luttkus et al. kein Parameter als Screeningmethode zur Aufdeckung einer bevorstehenden Infektion oder Entzündung zufriedenstellende Ergebnisse erzielen.

Bei der Erfassung der Neugeboreneninfektion erwies sich die positive Vorhersagewahrscheinlichkeit als unzureichend, wohingegen sich die negative Vorhersagewahrscheinlichkeit als sehr gut erwies. Negative Laborparameter schließen eine Entzündung somit fast aus. Die höchste Spezifität wies das aus der Nabelvene entnommene CRP mit 96% auf. Bei negativen CRP-Werten in der Nabelvene ist somit eine Infektion ebenfalls wenig wahrscheinlich.

Die mütterliche Infektion im Wochenbett wurde am zuverlässigsten vorausgesagt durch eine mütterliche Temperatur über 38,5°C. Sie wies eine Spezifität von 90% und eine positive Vorhersagewahrscheinlichkeit von 64% auf. Das CRP war hier den anderen Variablen unterlegen (61).

Es ist allerdings bekannt, daß die Leukozytenzahl, ebenso wie andere gewöhnlich verwendete Entzündungsparameter wie die Blutkörperkungsgeschwindigkeit und das Differenzialblutbild in der Schwangerschaft größeren Normbereichen mit deutlich erhöhten Werten unterliegen. Luttkus et al. setzte in seiner Studie einen CRP-Wert von 2 mg/dl im Serum, 16.000 Leukozyten/nl und eine axilläre Temperatur größer als 38,5°C als Grenzwerte fest. Das Differenzialblut und die Leukozytenzahl können außerdem beispielsweise durch

Kortikoidmedikation, welche zur Förderung der Lungenreifung eingesetzt wird, verändert werden. Daher sind diese Werte nur eingeschränkt verwertbar (61).

Mustard et al. hält ebenfalls Temperaturwerte und die Leukozytenzahl für wenig hilfreich in der Vorhersage einer septischen Komplikation nach Operation (72).

McCabe und Remington untersuchten die CRP-Werte von Patienten, in deren Blut Bakterien nachgewiesen werden konnten. Die Werte von Patienten mit pathogenen Keimen unterschieden sich nicht signifikant von solchen mit apathogenen Keimen oder von Patienten bei denen gar keine Bakterien gefunden werden konnten, die aber so krank erschienen, daß der Verdacht einer Infektion bestanden hatte. Da es auch Fälle gab, bei denen eine Bakteriämie nachgewiesen wurde, jedoch normale CRP-Werte vorlagen, kann bei negativen CRP-Werten eine Infektion nicht ausgeschlossen werden. Bei 21 Patienten traten CRP-Werte größer als 10 mg/dl auf. Davon war bei 18 Patienten wirklich eine Infektion festzustellen, die restlichen drei Patienten waren entweder schwer krank oder kürzlich operiert worden. CRP-Werte größer als 10 mg/dl können somit relativ zuverlässig eine Infektion voraussagen (64).

Im allgemeinen ist die Interpretation von erhöhten CRP-Werten jedoch kompliziert, da das CRP nicht spezifisch nur bei bakterieller Infektion ansteigt. Erhöhte Werte findet man auch bei Virusinfektionen (84), nach operativen Eingriffen (36, 72) und bei einer Menge anderer Erkrankungen, wie bei tiefer Venenthrombose, Perikarditis, Pankreatitis, alkoholbedingter Hepatitis, Tbc, bösartigen Tumoren,... (69).

Ismail et al. testete die Aussagekraft von CRP im Hinblick auf eine bevorstehende Chorionamnionitis bei vorzeitigem Blasensprung. Das CRP zeigte hierbei im Vergleich zur Leukozytenzahl, dem Differenzialblutbild, der mütterlichen Temperatur und der fetalen Herzfrequenz die größte Sensitivität mit 82% aber auch die geringste Spezifität mit 55% (52).

All diese Studien zeigen, daß der Nachweis einer bakteriellen Infektion mit CRP, Leukozytenzahl und Temperatur nicht zuverlässig ist, wobei dem CRP noch die größte Aussagekraft bescheinigt wird. Aufgrund der fehlenden Daten in der hier vorliegenden Studie ist eine generelle Aussage nicht möglich. Außerdem traten bei uns nur leicht erhöhte CRP-Werte bis 7,5 mg/dl auf und gar keine Werte größer als 10 mg/dl, die nach McCabe und Remington eine relativ sichere Aussage zuließen (64). Auch der Grenzwert von 38,5°C von Luttkus et al. (61) für die mütterliche Temperatur wurde in den Daten der vorliegenden Studie nicht überschritten.

Nachdem die Entzündungsparameter allgemein nicht stark erhöht waren, scheint es, daß der Großteil der in der hier beschriebenen Studie getesteten Schwangeren keine Infektion erlitten hatte, die als Ursache für eine Kontamination des Plazentablutes angenommen werden muß. Wahrscheinlich muß man hauptsächlich von einer Kontamination des gewonnenen Plazentablutes bei der Entnahme ausgehen.

7 Zusammenfassung

Plazentablut kann unter anderem zur autologen Transfusion von Frühgeborenen verwendet werden. Dabei ist die Kontamination von Plazentablut ein wichtiger limitierender Faktor für die klinische Verwendung. In dieser Studie wurde die Kontaminationsrate von Plazentablutentnahmen untersucht, wobei die Kontamination sowohl für vaginale Geburten als auch für Sectio-caesarea-Geburten getrennt bestimmt wurde. Weiterhin sollte herausgefunden werden, ob es eine Blutfraktion gibt, die für den Kontaminationsnachweis am sensitivsten ist und ob alle Kontaminationen durch eine mikrobiologische Untersuchung an Tag 1 erfaßt werden.

Dazu wurde bei 117 Geburten (89 vaginale Geburten, 28 Sectiones caesareae) das Plazentablut nach Durchtrennung der Nabelschnur mit der Plazenta noch in utero durch Punktion der Nabelschnurvene gewonnen. Hierzu wurde das Cord Blood Set MXT 2206DC der Firma Maco Pharma International GmbH verwendet. Das Vollblut wurde nach Zentrifugation mit dem Müller-Krüssel-System in die Komponenten Erythrozytenkonzentrat, Buffy coat und Plasma aufgetrennt. Diese drei Fraktionen wurden an drei Tagen (1, 3, 35) auf aerobe und anaerobe bakterielle Kontamination untersucht, wobei an Tag 1 zusätzlich auch noch das Vollblut überprüft wurde. Dafür wurden Kulturflaschen mit je 3 ml der entsprechenden Fraktion beimpft und mit dem Bactec-Gerät sieben Tage bei 35°C überwacht.

Es wurde eine Gesamtkontamination von 28,2% (33/117) festgestellt, wobei vaginale Geburten zu 33,7% und Sectiones caesareae zu 10,7% kontaminiert waren. Am ersten Untersuchungstag konnten 28 Kontaminationen erfaßt werden. Die restlichen fünf Kontaminationen wurden erst an Kontrolltag 3 nachgewiesen. Das Buffy coat unterscheidet sich beim Kontaminationsnachweis signifikant von den anderen Fraktionen. In ihm konnten 63,6% der Gesamtkontamination erfaßt werden.

Die nachgewiesenen Bakterien waren Keime der normalen Hautflora und der Vaginal- bzw. Perinealregion, wobei am häufigsten Koagulase negative Staphylokokken auftraten.

Außerdem konnte beim Vergleich der Kontaminationshäufigkeiten der einzelnen Klassen in dieser Studie ein Einübungseffekt festgestellt werden.

Die zum Teil erhobenen Entzündungsparameter ließen keine sicheren Rückschlüsse auf eine eventuelle Kontamination der Plazentablutproben zu. Das durchschnittlich entnommene Plazentablutvolumen betrug ca. 60 ml.

Die Gesamtkontamination von 28,8% ist im Vergleich zu anderen Studien hoch. Das kann zum Teil dadurch erklärt werden, daß in dieser Studie die Nachweismöglichkeiten durch mehrere Untersuchungen (Tag 1, 3, 35) und durch die einzeln untersuchten Blutfraktionen besser ausgeschöpft wurden. Wie diese Studie zeigt, konnten unter Verwendung des Bactec-Systems bei nur einer Untersuchung nicht alle Kontaminationen erfaßt werden. Weiterhin zeigen die vorliegenden Ergebnisse, daß im Buffy coat die höchste Nachweisrate erzielt wurde. Somit sollte am besten immer das angewendete Endprodukt auf eine bakterielle Kontamination untersucht werden und zusätzlich wenn möglich immer noch das Buffy coat mituntersucht werden. Bei einer Plazentablutentnahme sollte also immer mindestens das Erythrozytenkonzentrat untersucht werden. Überdies ist es anzuraten ein speziell trainiertes Entnahmeteam für die Gewinnung von Plazentablut einzusetzen, um die Kontaminationsrate auf ein Minimum zu senken.

8 **Literaturverzeichnis**

1. Adamkin, D.H. et al. (1977) Nonhyperoxic retrolental fibroplasia. *Pediatrics* 60(6):828-830 99
2. Ademokun, J.A. et al. (1997) Umbilical cord blood collection and separation for haematopoietic progenitor cell banking. *Bone Marrow Transplant* 19:1023-1028 3
3. Alvarez, E. et al. (1994) Bacterial contamination of cellular blood components: A retrospective study. *Transfusion* 34 Supplement: abstract S25 44
4. Anderson, S. et al. (1992) Retrieval of placental blood from the umbilical vein to determine volume, sterility, and presence of clot formation. *Am J Dis Child* 146:36-39 1
5. Armitage, J.O. et al. (1994) Bone marrow transplantation. *N Engl J Med* 330(12):827-835 90
6. Armitage, S. et al. (1999) Cord blood banking in London: the first 1000 collections. *Bone Marrow Transplant* 24:139-145 11
7. Ballin, A. et al. (1994) Autologous cord blood transfusion. *Acta Paediatr* 83(7):700-703 31
8. Barnwell, J.W. et al. (1989) In vitro evaluation of the role of the duffy blood group in erythrocyte invasion by *Plasmodium vivax*. *J Exp Med* 169:1795-1802 67
9. Barret, B.B. et al. (1993) Strategies for the avoidance of bacterial contamination of blood components. *Transfusion* 33(3):228-233 40
10. Beck, K.H. et al. (1999) Qualität von autologen Erythrocytenkonzentraten (Ek) aus Plazentarestblut. *Z Geburtsh Neonatol Supplement* p. 10, V35 9
11. Ber, F. et al. (1995) A comparative study of different procedures for the collection and banking of umbilical cord blood. *J Hematother* 4:29-36 104
12. Bertolini, F. et al. (1996) A new method for placental/cord blood processing in the collection bag. I. Analysis of factors involved in red blood cell removal. *Bone Marrow Transplant* 18(4):783-786 16
13. Bifano, E.M. et al. (1994) Collection and 28-day storage of human placental blood. *Pediatr Res* 36:90-94 6

14. Blajchman, M.A. (1995) Bacterial contamination of blood products and the value of pre-transfusion testing. *Immunol Invest* 24(1-2):163-170 41
15. Blajchman, M.A. et al (1984). Risks associated with blood transfusion in newborn infants. *Clin Perinatal* 2:403-415 112
16. Blajchman, M.A. et Ali, A M. Bacteria in the blood supply: An overlooked issue in transfusion medicine. In: Nance, S.J. *Blood safety: Current challenges.* (ed.) American association of blood banks. Bethesda, M.D. (1992) p.213-228 108
17. Boelaert, J.R. et al. (1987) The role of iron overload in *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* bacteremia in hemodialysis patients. *J Infect Dis* 156(2):384-387 79
18. Boger, W.P. (1944) Fulminating meningococcemia: Demonstration of intracellular and extracellular meningococci in direct smears of the blood. *N Engl J Med* 231:385-387 107
19. Brandes, J.M. et al. (1983) Collection and preservation of human placental blood. *Transfusion* 23:325-327 5
20. Brooks, G. F. et al. (1973) Early diagnosis of bacteremia by buffy-coat examinations. *Arch Intern Med* 132:673-675 71
21. Brown, E. et al. (1989) Exploration of the microbial anatomy of normal human skin by using plasmid profiles of coagulase-negative *Staphylococci*: Search for the reservoir of resident skin flora. *J Infect Dis* 160(4):644-650 35
22. Brune, Th. et al. (1996) Die Frühgeborenenanämie: eine neue Indikation zur autologen Bluttransfusion? *Hämatologie* 5:30-34 21
23. Buchholz, D.H. et al. (1992) Removal of *Yersinia enterocolitica* from AS-1 red cells. *Transfusion* 32:667-672 77
24. Casciato, D.A. et al. (1979) Susceptibility of isolates of *Bacteroides* to the bactericidal activity of normal human serum. *J Infect Dis* 140(1):109-113 84
25. Chapin, K. et Lauderdale, T. (1996) Comparison of Bactec 9240 and Difco ESP blood culture systems for detection of organisms from vials whose entry was delayed. *J Clin Microbiol* 34(3):543-549 75

26. Chaudhuri, A. et al. (1989) Purification and characterization of an erythrocyte membrane protein complex carrying duffy blood group antigenicity. *J Biol Chem* 264(23):13770-13774 69
27. Dabrow, M.B. et Wilkins J.C. (1993) Hematologic emergencies. Management of transfusion reactions and crises in sickle cell disease. *Postgrad Med* 93(5):183-190 46
28. Dahr, W., Blutgruppen von Erythrozyten. In: *Transfusionsmedizin* 2. Aufl. hrsg. von Mueller-Eckhardt, Heidelberg: Springer Verlag (1996) p. 153-155 62
29. De Graaf, F.K. et Mooi, F.R. (1986) The fimbrial adhesins of *Escherichia coli*. *Adv Microb Physiol* 28:65-143 106
30. Deneke, C.F. et al. (1979) Attachment pili from enterotoxigenic *Escherichia coli* pathogenic for humans. *Infect Immun* 26(1):362-368 58
31. Eichler, H. et al. (2000) Cord blood as a source of autologous RBCs for transfusion to preterm infants. *Transfusion* 40(9):1111-1117 18
32. Elchalal, U. et al. (2000) Postpartum umbilical cord blood collection for transplantation: a comparison of three methods. *Am J Obstet Gynecol* 182(1 Pt 1):227-232 30
33. Elin, R.J. et al. (1975) Evaluation of bacterial contamination in blood processing. *Transfusion* 15(3):260-265 34
34. Esteban, J.I. et al. (1990) Evaluation of antibodies to hepatitis C virus in a study of transfusion-associated hepatitis. *N Engl J Med* 323(16):1107-1112 96
35. Garritsen, H.S.P. et al. (1996) Autologe Blutgewinnung aus der Plazenta: Präpartionsmethodik und Qualitätskontrolle. *Hämatologie* 5:25-29 8
36. Ghoneim, A.T.M. et al. (1982) Serial C-reactive protein measurements in infective complications following cardiac operation: evaluation and use in monitoring response to therapy. *Ann Thorac Surg* 34:166-175 101
37. Gibson, T. et Norris, W. (1958) Skin fragments removed by injection needles. *Lancet* 2 :983-985 85
38. Gluckman, E. (1996) Umbilical cord blood transplant in human. *Hematol Cell Ther* 38(5):393-397 14

39. Gluckman, E. et al. (1989) Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med* 321(17):1174-1178 87
40. Golden, S.M. et al. (1994) Bacteriologic assessment of autologous cord blood for neonatal transfusion. *Am J Obstet Gynecol* 149(8):907-908 10
41. Gong, J. et al. (1993) Transfusion-transmitted *Yersinia enterocolitica* infection. Protection through buffy coat removal and failure of the bacteria to grow in platelet-rich or platelet-poor plasma. *Vox Sang* 65(1):42-46 78
42. Gottlieb, T. (1993) Hazards of bacterial contamination of blood products. *Anaesth Intensive Care* 21(1):20-23 42
43. Griffin, M.P. et al. (1988) Cytomegalovirus infection in a neonatal intensive care unit. *Am J Dis Child* 142:1188-1193 92
44. Hammann, R. Normale Flora. In: *Medizinische Mikrobiologie (mit Repetitorium)* hrsg. von Werner, H. Berlin, New York: de Gruyter (1992) p. 74-76 81
45. Harris, D.T. et al. (1994) Collection, separation and cryopreservation of umbilical cord blood for use in transplantation. *Bone Marrow Transplant* 13:135-143 55
46. Hazenbos, W.L. et al. (1995) *Bordetella pertussis* fimbriae bind to human monocytes via the minor fimbrial subunit FimD. *J Infect Dis* 171(4):924-929 70
47. Heal, J.M. et Cohen, H.J. (1991) Do white cells in stored blood components reduce the likelihood of posttransfusion bacterial sepsis? *Transfusion* 31:581-583 22
48. Högman, C.F. (1993) Letters to the editor (*Yersinia enterocolitica* and blood transfusion) *Transfusion* 33(6):534 23
49. Högman, C.F. et al. (1991) White cells protect donor blood against bacterial contamination. *Transfusion* 31:620-626 24
50. Hoher, P.G. (1996) Microbial safety of blood products. *Infusionsther Transfusionsmed* 23(1):42-58 33
51. Isenberg, H.D. et D' Amato, R.F. Indigenous and pathogenic microorganisms of humans. In: *Manual of clinical microbiology* 5th ed. hrsg. von Balows, A. et al. Washington, DC: American Society for Microbiology (1991) p. 6-9 83

52. Ismail, M.A. et al. (1985) The significance of C-reactive protein levels in women with premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 151(4):541-544 53
53. Jorgensen, J.H. et al. (1997) Controlled clinical laboratory comparison of BACTEC Plus Aerobic/F resin medium with BacT/Alert Aerobic FAN medium for detection of bacteremia and fungemia. *J Clin Microbiol* 35(1):53-58 74
54. Kim, D.M. et al. (1992) Prestorage removal of *Yersinia enterocolitica* from red cells with white cell-reduction filters. *Transfusion* 32(7):658-662 76
55. Kögler, G. et al. (1996) Hematopoietic transplant potential of unrelated cord blood: critical issues. *J Hematother* 5:105-116 7
56. Krishnan, L.A. et Brecher, M.E. (1995) Transfusion-transmitted bacterial infection. *Hematol Oncol Clin North Am* 9(1):167-185 36
57. Leffler, H. et Svanborg-Eden, C. (1982) Glycolipid receptors for uropathogenic *Escherichia coli* in human erythrocytes and uroepithelial cells. *Infect Immun* 34(3):920-929 80
58. Leiby, D.A. et al. (1997) A retrospective analysis of microbial contaminants in outdated random-donor platelets from multiple sites. *Transfusion* 37(3):259-263 48
59. Lowe, J.B., Red cell membrane Antigens. In : Stamatoyannopoulos, et al. *The molecular basis of blood diseases*. 2nd ed. Philadelphia, London, Toronto, Montreal Sydney, Tokyo: Saunders (1994) p. 319-322 57
60. Lowe, J.B., Red cell membrane Antigens. In: Stamtoyannopoulos et al. *The molecular basis of blood diseases*, 2nd ed. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo: Saunders (1994) p. 305-306 64
61. Luttkus, A. et al. (1993) Prospective study of the clinical value of C-reactive protein in amniotic infection syndrome. *Z Geburtshilfe Perinatol* 197(1):31-37 50
62. Madigan, M.T. et al. *Mikrobiologie dt. Übers. hrsg. von Goebel, W. Heidelberg, Berlin: Spektrum akademischer Verlag* (2001) p. 874-875 82
63. Mason, S.J. et al. (1977) The duffy blood group determinants: Their role in the susceptibility of human and animal erythrocytes to *Plasmodium knowlesi* Malaria. *Br J Haematol* 36:327-335 66
64. McCabe, R.E. et Remington, J.S. (1984) C-reactive protein in patients with bacteremia. *J Clin Microbiol* 20(3):317-319 51

65. Miller, L.H. et al. (1976) The resistance factor to Plasmodium vivax in blacks. The duffy-blood-group genotype, FyFy. N Engl J Med 295(6):302-304 68
66. Mollison, P.L. et al. Other red cell antigens. In: Mollison, P.L. et al. Blood transfusion in clinical medicine. 9th ed. Oxford: Blackwell Scientific Publication (1993) p. 252-253 63
67. Montag, T. et al. (1997) Mitteilungen des Arbeitskreises Blut des Bundesministeriums für Gesundheit: Mindestanforderungen zur Sterilitätstestung (Test auf Kontamination durch Bakterien und Pilze) von Blutkomponenten (Zellkonzentrate, Gefrorenes Frischplasma, quarantänegelagert, und Methylenblau/Licht-behandeltes Frischplasma). Bundesgesundhbl. 8:307-309 sowie Hygiene und Mikrobiologie 3:60-61 111
68. Montag, T. et al. (1999) Bakterielle Kontamination von Blutkomponenten. Bundesgesundheitsbl - Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz 42:132-142 19
69. Morley, J.J. et Kushner, K. (1982) Serum C-reactive protein levels in disease. Ann NY Acad Sci 389:406-418 102
70. Morrow, J.F. et al. (1991) Septic reactions to platelet transfusions. A persistent problem. JAMA 266(4):555-558 47
71. M-Reboredo, N. et al. (2000) Collection, processing and cryopreservation of umbilical cord blood for unrelated transplantation. Bone Marrow Transplant 26(12):1263-1270 54
72. Mustard, R.A. et al. (1987) C-reactive protein levels predict postoperative septic complications. Arch Surg 122(1):69-73 52
73. Nicholas, S.W. et al. (1989) Human immunodeficiency virus infection in childhood, adolescence and pregnancy: A status report and national research agenda. Pediatrics 83(2):293-308 95
74. Obladen, M. et al. (1988) Blood sampling in very low birth weight infants receiving different levels of intensive care. Eur J Pediatr 147:399-404 91
75. Ofek, I. et Sharon, N. (1988) Lectinophagocytosis: a molecular mechanism of recognition between cell surface sugars and lectins in the phagocytosis of bacteria. Infect Immun 56:539-547 105

76. Ordemann, R. et al. (2000) The Dresden Cord Blood Bank. Experiences of the cord blood bank in Dresden, promoted by the German bone marrow donor registry. *Dtsch Med Wochenschr* 125(47):1424-1428 73
77. Pahwa, S. et al. (1985) T lymphocyte subpopulations in high-risk infants: Influence of age and blood transfusions. *Pediatrics* 76(6): 914-917 97
78. Pasvol, G. et al. (1984) Glycophorin C and the invasion of red cells by *Plasmodium falciparum*. *Lancet* 1(8382) 907-908 65
79. Perutelli, P. et al. (1999) Processing of human cord blood by three different procedures for red blood cell depletion and mononuclear cell recovery. *Vox Sang* 76:237-240 4
80. Pieroni, P. et al. (1988) Identification of a human erythrocyte receptor for colonization factor antigen I pili expressed by H10407 enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Infect Immun* 56(5):1334-1340 60
81. Pittman M. et Bethesda PH.D. (1953) A study of bacteria implicated in transfusion reactions and of bacteria isolated from blood products. *J Lab Clin Med* 42(2):273-288 49
82. Puckett, A. (1986) Bacterial contamination of blood for transfusion: a study of the growth characteristics of four implicated organisms. *Med Lab Sci* 43:252-257 32
83. Rupp, C.A. et al. (1977) Quality control of small-volume sterile products. *Am J Hosp Pharm* 34(1):47-49 28
84. Salonen, E.M. et Vaheri, A. (1981) C-reactive protein in acute viral infections. *J Med Virol* 8:161-167 103
85. Sazama, K. (1994) Bacteria in blood for transfusion. A Review. *Arch Pathol Lab Med* 118:350-365 20
86. Scheuerpflug, I. et al. (1999) Roles of PilC and PilE proteins in pilus-mediated adherence of *Neisseria gonorrhoeae* and *Neisseria meningitidis* to human erythrocytes and endothelial and epithelial cells. *Infect Immun* 67(2):834-843 61
87. Schmitz, N. (1996) Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders. Current practice in Europe in 1996 and proposals for an operational classification. *Bone Marrow Transplant* 17:471-477 86
88. Slinger, R. et Giulivi, A. (1999) Bacterial contamination of blood components: Is it in the bag? *JAMA* 160(4):535-536 45

89. Stamm, W.E. Harnwegsinfektionen und Pyelonephritis. In: *Harrisons Innere Medizin* Bd. 1, dt. Ausgabe der 13ten Auflage hrsg. von Schmailzl K.J.G. Berlin, Wien u.a. Blackwell Wissenschafts-Verlag (1995) p. 654 17
90. Strand, C.L. et al. (1993) Effect of iodophor vs iodine tincture skin preparation on blood culture contamination rate. *JAMA* 269:1004-1006 109
91. Strauss, R.G. (1991) Transfusion medicine for neonates. *Am J Dis Child* 145:904-911 94
92. Strauss, R.G. et al. (1990) Commentary on small-volume red cell transfusions for neonatal patients. *Transfusion* 30(6):565-570 98
93. Studer, J. et al. (1979) Value of examining buffy coats for intragranulocytic microorganisms in patients with fever. *Br Med J* 1(6156) 85-86 72
94. Surbek, D.V. et al. (1998) Optimizing umbilical cord blood mononuclear cell yield for haematopoietic stem cell transplantation: a randomized comparison of collection before vs. after placenta delivery. *Bone Marrow Transplant* 33:311-312 100
95. Surbek, D.V. et al. (2000) Umbilical cord blood collection before placental delivery during cesarean delivery increases cord blood volume and nucleated cell number available for transplantation. *Am J Obstet Gynecol* 183(1):218-221 29
96. Svenson, S.B. et al. (1983) P-fimbriae of pyelonephritogenic *Escherichia coli*: identification and chemical characterization of receptors. *Infection* 11(1):61-67 56
97. Tichelli, A. et al. (1998) Establishing an umbilical cord blood bank for unrelated allogeneic stem cell transplantation. *Schweiz Med Wochenschr* 128(42):1598-1601 39
98. Tipple, M.A. et al. (1990) Sepsis associated with transfusion of red cells contaminated with *Yersinia enterocolitica*. *Transfusion* 30:207-213 38
99. Wagner, J.E. et al. (1995) Allogeneic sibling umbilical-cord-blood transplantation in children with malignant and non-malignant disease. *Lancet* 346:214-219 88
100. Wagner, J.E. et al. (1996) Successful transplantation of HLA-matched and HLA-mismatched umbilical cord blood from unrelated donors : Analysis of engraftment and acute graft-versus-host disease. *Blood* 88(3):795-802 89
101. Wevers, P. et al. (1980) Characterization of pili associated with *Escherichia coli* O18ac. *Infect Immun* 29(2):685-691 59

102. Williams, R.A. et al. (1989) Transfusion of infants with activation of erythrocyte T antigen. *J Pediatr* 115(6):949-953 93
103. Yao, A.C. et al. (1968) Placental transfusion rate and uterine contraction. *Lancet* 2:380-384 110
104. Yao, A.C. et Lind, J. (1974) Placental transfusion *Am J Dis Child* 127:128-141 26

Autor	Jahr	Durchschnitts- volumen	Spannweite in ml	Entbindungs- weg	In / ex utero
Bifano et al.	1994	65 ml	30 – 110 ml	V + SC	Ex utero
Garritsen et al.	1996	74 +/- 22 ml		V + SC	Ex utero
Armitage et al.	1999	75 +/-23 ml	40 – 179 ml		Ex utero
Ordemann et al.	2000	80,7 +/- 23,7 ml			Ex + in utero
Bertolini et al.	1996	68 +/- 24 ml		V + SC	In utero
Tichelli et al.	1998	109 ml	46 – 187 ml		In utero
Perutelli et al.	1999		20,3 – 158,9 ml		In utero
Kögler et al.	1996	74 +/- 25 ml	25 – 191 ml	V	In utero
		65 +/- 27 ml	12 – 160 ml	SC	Ex utero
M-Reboredo	2000	93,8 +/- 25,2	45 – 172 ml	V	In utero
		92,6 +/- 20,4		SC	Ex utero
Surbek et al.	2000	93 +/- 7,5 ml		SC	In utero
		66 +/- 6,6 ml		SC	Ex utero
Gluckman et al.	1997	99 ml	37 – 360 ml		

Tab. A1: Durchschnittsvolumina bei Plazentablutentnahmen (V = vaginal, SC = sectio caesarea)

Autor	Jahr	Durchschnittsvolumen	Spannweite in ml	Gestationsalter	Entbindungsweg	In / ex utero
Ballin et al.	1994	92 + 7 ml 56 + 4 ml		full-term preterm		In utero
Eichler et al.	2000	56,4 +/- 32,9 ml	19 – 193 ml	preterm	V SC	In utero Ex utero

Tab. A2: Durchschnittsvolumina bei Plazentablutentnahmen in Abhängigkeit vom Gestationsalter

Autor	Jahr	Durchschnittsvolumen	Spannweite	Entnahmemethode	In / ex utero
Harris et al.	1994	75 ml	50 – 100 ml	1. Spritze	In utero
		110 ml	60 – 125 ml	2. Entnahmebeutel	Ex utero
		86 ml	60 – 120 ml	3. Spritze/	In utero
		100 ml		Spritze	Ex utero
		163 ml	75 – 150 ml	4. Spritze/	In utero
			Steriler Container	Ex utero	
				In utero	
			120 – 220 ml	5. Spritze/	Ex utero
				Entnahmebeutel	
Ademokun et al.	1997	56,6 +/- 2 ml	20 – 187 ml	1. Single bag	In utero
		81 +/- 4 ml	44 – 133 ml	2. Triple bag	In utero
Elchalal et al.	2000	76 +/- 32 ml	37 – 185 ml	1. Entnahmebeutel	In utero
		174 +/- 43 ml	60 – 245 ml	2. Spritze/	In utero
				Steriler Container	Ex utero
					In utero
		174 +/- 41 ml	75 – 255 ml	3. Spritze/	Ex utero
				Entnahmebeutel	

Tab. A3: Durchschnittsvolumina bei Plazentablutentnahmen in Abhängigkeit von der Entnahmemethode

**Gewinnung von Plazenta-Rest-Blut
zur Behandlung der Blutarmut neugeborener Kinder**

Informationsteil

Liebe Eltern,

zur Transfusion neugeborener Kinder wurde bisher ausschließlich Fremdblut erwachsener Spender eingesetzt. Das Blut eines erwachsenen Menschen unterscheidet sich jedoch von dem eines Feten und eines Neugeborenen. Der Unterschied betrifft vor allem die sauerstoffübertragende Substanz des Blutes, das Hämoglobin.

Es wird vermutet, daß das kindliche Hämoglobin sich bei Behandlung bestimmter Krankheitszustände gegenüber dem erwachsenen Hämoglobin als vorteilhaft erweisen könnte. Zu solchen klinischen Situationen gehört in erster Linie die Blutarmut des frühgeborenen Kindes.

Aus diesem Grund möchten wir nach der Geburt Ihres Kindes das verbliebene Blut aus der Plazenta entnehmen.

Die Entnahme von Plazenta-Rest-Blut ist von keinem Nachteil weder für die Mutter noch für das neugeborene Kind. Wird es nicht entnommen, so geht es mit der Nachgeburt ohnehin verloren.

Das Plazenta-Blut stammt aus dem fetalen Kreislauf des neugeborenen Kindes. Es ist sein eigenes Blut und kann auch deshalb für eine Eigenbluttransfusion benutzt werden. Durch Eigenbluttransfusionen werden alle Risiken der Fremdblutgabe vermieden. Zu diesen gehört neben der gegenwärtig schon sehr geringen Gefahr einer Infektion mit Erregern blutübertragbarer Krankheiten eine im Neugeborenenalter besonders ungünstige Beeinträchtigung des Immunsystems. Sollte sich bei Ihrem Kind nach der Geburt eine Transfusion als notwendig erweisen, so könnte das entnommene Plazenta-Rest-Blut dazu verwendet werden. In der Medizin des Erwachsenen ist die Eigenblutspende und -transfusion bereits gut etabliert und gehört seit vielen Jahren zum klinischen Routineverfahren. Besteht bei Ihrem Kind keine Notwendigkeit einer Bluttransfusion, so kann das Blut vor dem Verfall anderen neugeborenen Kindern gegeben werden.

Bevor das gewonnene Plazenta-Rest-Blut transfundiert wird, muß der Spender auf blutübertragbare Krankheiten untersucht werden. Beim Plazenta-Blut ist der eigentliche Blutspender die Mutter, denn eventuelle Krankheitserreger können im Plazenta-Blut nur mütterlichen Ursprungs sein. Der Umfang der geforderten Spenderuntersuchungen für eine Transfusion deckt sich im wesentlichen mit den infektionsserologischen Untersuchungen der Schwangeren (HIV-, Hepatitis-, Lues-Serologie). Ergebnisse weiterer erforderlicher Untersuchungen, wie CMV- oder EBV-Serologie sind dabei nicht nur vom rein transfusionsmedizinischen Wert sondern auch vom direkten Nutzen für Ihr Kind.

Für eine Transfusion muß das entnommene Plazenta-Rest-Blut im speziellen Verfahren aufbereitet werden. Dabei werden die roten Blutkörperchen vom überflüssigen Plasma getrennt und in einer Lösung mit Nährstoffen neu aufgeschwemmt. Als Nebenprodukt dieses Verfahrens entsteht eine Schicht vorwiegend aus weißen Blutkörperchen und Blutplättchen, die auch die so genannten Stammzellen enthält. Durch Gabe dieser Stammzellen ist potentiell eine Wiederherstellung des blutbildenden Knochenmarkes möglich. Weltweit werden auch Stammzellen, die aus dem Plazenta-Rest-Blut gewonnen wurden, zu diesem Zwecke immer häufiger verwendet. Sie bilden bereits eine erfolgversprechende Alternative zur Knochenmarktransplantation.

Die von Ihnen und Ihrem Kind gewonnenen Stammzellen werden jedoch weder für eine Fremdtransplantation, noch für eine spätere anderweitige Verwendung aufbewahrt. Sie stehen auch Ihrem Kinde in der Zukunft nicht zur Verfügung. Sie werden nicht für kommerzielle Zwecke weitergegeben, jedoch u.U. für wissenschaftliche Untersuchungen, die nicht am Menschen geführt werden, benutzt.

Einverständniserklärung

Mit der Gewinnung von Plazenta-Rest-Blut zur Transfusion bei neugeborenen Kindern und mit der Durchführung dazu notwendiger infektionsserologischer Untersuchungen (HIV, Hepatitis A, B und C, Lues, Toxoplasmose, CMV, EBV) bin ich einverstanden.

Sollte bei meinem Kind eine Bluttransfusion nach der Geburt notwendig werden, so kann ich mich noch bis zum gegebenen Zeitpunkt entscheiden, ob das entnommene Plazenta-Blut für eine Eigenbluttransfusion benutzt werden soll, oder ob es zur Transfusion anderer Kinder verwendet werden darf.

Ich bin darüber informiert worden, daß die bei der Aufarbeitung von Plazenta-Rest-Blut gewonnenen Stammzellen meinem Kinde in der Zukunft nicht zur Verfügung stehen. Ich bin mit der Nutzung dieser Stammzellen für wissenschaftliche Zwecke einverstanden.

Ich wurde desweiteren darauf hingewiesen, daß ich meine Einwilligung jeder Zeit, auch ohne Angabe von Gründen, zurückziehen kann.

Datum, Unterschrift der Mutter

Unterschrift des aufklärenden Arztes

Name der Spenderin: _____
 Vorname: _____
 Geb.-Dat.: _____
 Wohnort: _____
 Straße: _____
 Tel.-Nr.: _____

_____ **LMU**
 Ludwig
 Maximilians
 Universität
 München

Anamnese zur Placenta-Blutspende

Sehr geehrte Spenderin,

um Ihre Spendetauglichkeit für Placenta-Rest-Blut feststellen zu können, benötigen wir Angaben zu bestehenden und früheren Erkrankungen:

1. Sind Sie oder waren Sie erkrankt an: Syphilis (Lues), Tuberkulose (TBC), Brucellose (Maltafieber, Bangsche Krankheit), Rickettsiose (Fleckfieber), Rückfallfieber; einer Protozoonose (Babesiose, Chagas-Schlafkrankheit, Leishmaniasis, Malaria) oder anderen Tropenkrankheiten? Nein Ja
2. Sind Sie in einem Malariagebiet geboren oder aufgewachsen? Nein Ja
3. Sind Sie Dauerausscheider von Typhus-, Paratyphus- oder Enteritiserreger (z.B. Salmonellose)? Nein Ja
4. Wenn ja, an welcher? _____
5. Wurde bei Ihnen oder einem Familienangehörigen jemals eine degenerative Hirnerkrankung (z.B. Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung, Alzheimer-Erkrankung o.a.) vermutet oder festgestellt? Nein Ja
6. Sind oder waren Sie jemals an einer Hepatitis (Leberentzündung, Gelbsucht) - auch unklarer Ursache - erkrankt? Nein Ja
7. Haben Sie jemals eine Impfung gegen Hepatitis B erhalten? Nein Ja
8. Hatten Sie in den letzten 12 Monaten intimen Kontakt mit an Hepatitis erkrankten Personen? Nein Ja
9. Nehmen Sie regelmäßig oder gelegentlich Medikamente? Nein Ja
10. Wenn ja, welche _____
11. Benutzen Sie Suchtmittel oder sind/waren Sie alkohol-, medikamenten- oder rauschgiftabhängig? Nein Ja
12. Sind Sie jemals mit Wachstumshormon oder anderen Extrakten der Hirnanhangdrüse (Hypophyse) menschlichen Ursprungs behandelt worden? Nein Ja
13. Wurde Ihnen menschliches Gewebe übertragen (z.B. Organe, Haut, Knochenhäute, Hornhaut des Auges, Dura mater u.a.)? Nein Ja
14. Wurde Ihnen in den letzten 6 Monaten tierische Zell- oder Serumprodukte gespritzt? Nein Ja

15. Wurde bei Ihnen bereits eine HIV-Infektion oder AIDS nachgewiesen? Nein Ja
16. Haben Sie in den letzten 12 Monaten:
- > Fremdblut, Blutbestandteile (z.B. Plasma) oder andere Blutprodukte (z.B. Immunglobuline, Gerinnungsfaktoren, Tetagam) erhalten? Nein Ja
 - > sich einer Operation unterzogen? Nein Ja
 - > einen schweren Unfall gehabt? Nein Ja
 - > sich akupunktieren lassen? Nein Ja
 - > sich tätowieren lassen? Nein Ja
 - > sich Ohr, Nase oder andere Körperteile durchstechen lassen (piercing)? Nein Ja
 - > eine Erkrankung durchgemacht mit unklarer Lymphknotenschwellung, Nachtschweiß, andauernden Durchfällen, starker Gewichtsabnahme? Nein Ja
 - > eine infektiöse Mononukleose (Pfeiffersches Drüsenfieber) durchgemacht? Nein Ja
 - > sich einer endoskopischen Untersuchung (Magen- oder Dickdarmspiegelung) unterziehen müssen? Nein Ja
17. Waren Sie in den letzten 12 Monaten im Ausland? Nein Ja
18. Wenn ja, in welchem Land: _____
19. Wurden Sie in den letzten 12 Monaten geimpft? Nein Ja
20. Wenn ja, wann und wogegen? _____
21. Haben Sie in den letzten 4 Wochen einen fieberhaften Infarkt durchgemacht? Nein Ja
22. Wurde Ihnen in den letzten 7 Tagen ein Zahn gezogen oder haben Sie sich einem kleinen chirurgischen oder endoskopischen Eingriff unterzogen? Nein Ja
23. Hatten Sie in den letzten 4 Wochen ein- oder mehrmals Durchfall oder Erbrechen? Nein Ja
24. Wurden Sie in den letzten 12 Monaten ärztlich behandelt? Nein Ja
25. Wenn ja, weswegen _____
26. Sind Sie zur Zeit erkältet? Leiden Sie an einer anderen Infektion? Nein Ja
27. Leiden Sie an einer Hautkrankheit oder haben Sie z.Zt. einen Aszeß oder eine Wunde? Nein Ja
28. Ist bei Ihnen eine Allergie (Überempfindlichkeit) oder allergische Erkrankung bekannt? Nein Ja
29. Wenn ja, wogegen oder welche? _____
30. Wenn ja, muß sie gegenwärtig medikamentös behandelt werden? Nein Ja
31. Wenn ja, womit? _____

Fragen zur HIV/AIDS- Ansteckungsgefahren

Nach einer möglichen Ansteckung mit dem AIDS-Virus (HIV) darf 12 Monate lang kein Blut gespendet werden. Die folgenden Fragen sollen klären, ob Sie sich in diesem Zeitraum angesteckt haben könnten. Sie dürfen nur dann Blut spenden, wenn Sie alle Fragen eindeutig mit "NEIN" beantworten können. Haben Sie Zweifel bei der Beantwortung, fragen Sie bitte einen Arzt oder eine Ärztin. Ihre Angaben werden absolut vertraulich behandelt!

Bitte prüfen Sie gründlich, und geben Sie eine zusammenfassende Antwort durch das Ankreuzen eines Kästchens am Ende des Fragenkatalogs.

1. Hatten Sie in den vergangenen 12 Monaten Geschlechtsverkehr
 - mit jemanden, von dem Sie wissen, daß er HIV-infiziert ist?
 - mit jemanden, den sie nicht so genau kennen?
 - mit weiblichen oder männlichen Prostituierten?
 - mit einer / einem Strafgefangenen?
 - mit jemanden, der Arzneimittel aus Blut erhält oder erhalten hat (z.B. mit einem Bluter)?
 - mit jemanden, der sich Drogen spritzt oder gespritzt hat?
 - mit jemanden in oder aus einem Gebiet, in dessen Bevölkerung AIDS besonders stark verbreitet ist (z.B. Schwarz- und Westafrika, Haiti, USA, Thailand; ggf. nachfragen)
 - mit jemanden, von dem Sie wissen oder vermuten, daß er Geschlechtsverkehr mit einer Person aus einer HIV-Risikogruppe hat(te)?
2. Hatten Sie als Frau in den letzten 12 Monaten Geschlechtsverkehr mit einem Mann, der mit anderen Männern sexuelle Beziehungen hat(te)?
3. Haben Sie in den letzten 12 Monaten Suchtmittel (Drogen) gespritzt?
4. Gehen Sie der Prostitution nach ?
5. Sind Sie Strafgefangene?

- Alle vorstehenden Fragen zu HIV/AIDS-Ansteckungsgefahr kann ich sicher verneinen.
- Eine / mehrere der Fragen kann ich nicht sicher verneinen.
- Ich bin mir nicht sicher, ob ich alle Fragen richtig verstanden habe, ich möchte noch etwas dazu fragen.

Aufklärungsgespräch / Einwilligung

Den Informationsteil habe ich gelesen und verstanden; ich kann ihn als Merkhilfe behalten. Die Verhaltenshinweise werde ich beachten. Den Fragebogen habe ich nach bestem Wissen ausgefüllt. Nach Aufklärungsgespräch mit Frau/Herrn Dr. _____ wurden u.a. erörtert: das Verfahren, mögliche Komplikationen, risikoerhöhende Besonderheiten sowie:

Ich konnte Fragen stellen. Sie wurden vollständig und verständlich beantwortet.
Ich benötige keine zusätzliche Überlegungsfrist.

Erklärung über die Einwilligung

- Nach gründlicher Überlegung willige ich in die Blutspende ein. Ich bin mit der Untersuchung zur Spende-tauglichkeit einverstanden und damit, daß mein Blut laborchemisch untersucht wird, auf Hepatitis und HIV (AIDS).
- Ich versichere ausdrücklich, daß ich selbst weder HIV-infiziert bin, noch einer HIV-Risikogruppe (vgl. Infoblatt) angehör(t)e und keinen Sexuaikontakt zu Personen habe oder hatte, die einer Risikogruppe angehör(t)en.
- Auf die Möglichkeit des vertraulichen Spendersebstausschlusses wurde ich hingewiesen.

Ort, Datum

Unterschrift der Spenderin

Unterschrift der Ärztin/des Arztes

Manuelles Präpariersystem

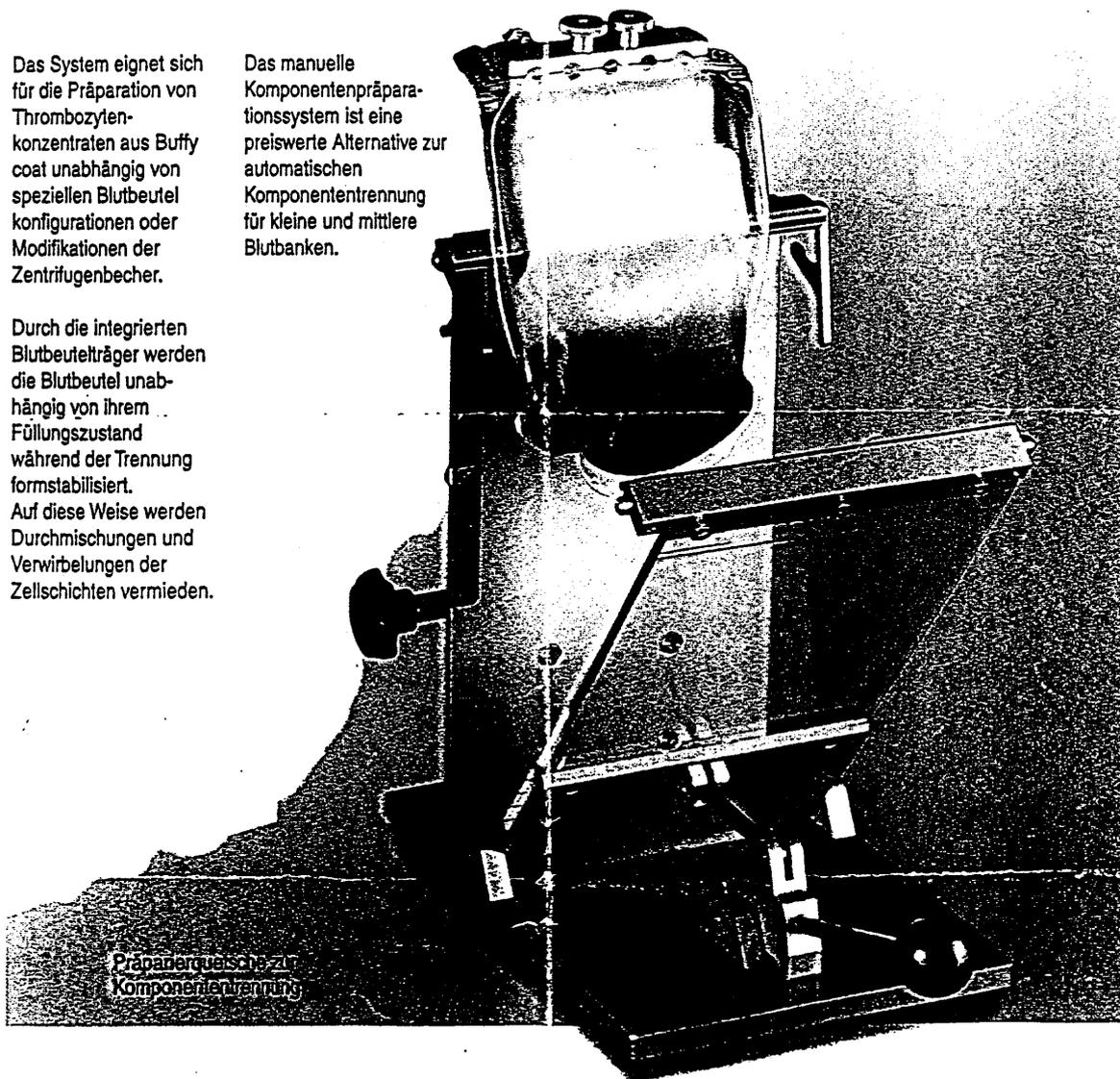
nach Prof. Dr. N. Müller und H. K. Krüssel

zur einfachen Komponententrennung von
– Thrombozytenkonzentraten
– Nabelschnurblut

Das System eignet sich für die Präparation von Thrombozytenkonzentraten aus Buffy coat unabhängig von speziellen Blutbeutelkonfigurationen oder Modifikationen der Zentrifugenbecher.

Durch die integrierten Blutbeutelträger werden die Blutbeutel unabhängig von ihrem Füllungszustand während der Trennung formstabilisiert. Auf diese Weise werden Durchmischungen und Verwirbelungen der Zellschichten vermieden.

Das manuelle Komponentenpräparationssystem ist eine preiswerte Alternative zur automatischen Komponententrennung für kleine und mittlere Blutbanken.



Präpariermaschine zur
Komponententrennung

 **Fresenius**

Klinikum Großhadern
 Abteilung für Transfusionsmedizin
 in der Medizinischen Klinik III
 Leiter: Prof. Dr. W. Mempel

Klinik und Poliklinik
 für Frauenheilkunde und Geburtshilfe
 Direktor: Prof. Dr. H. Hepp

_____ **LMU**
 Ludwig _____
 Maximilians
 Universität _____
 München _____

Plazenta-Restblut-Entnahmeprotokoll

am: _____

- vaginale Entbindung
- Sectio cesarea

Neugeborenes:	
(bitte großes EDV-Etikett)	
Name _____	Vorname _____
Geb.-Dat. _____	Station _____

Mutter:	
(bitte großes EDV-Etikett)	
Name _____	Vorname _____
Geb.-Dat. _____	Station _____

Geburtszeit:

Stunde / Minute

Geburtsnummer:

Infektions-/Entzündungszeichen bei der Mutter:

- Fieber: _____ °C
- CRP: _____ mg/dl
- Leukozyten: _____ G/l
- Anderes: _____

Unterschrift der entnehmenden Person

Abb. 1: Anzahl der Abnahmen / Kontaminationen pro Abnahmeperson

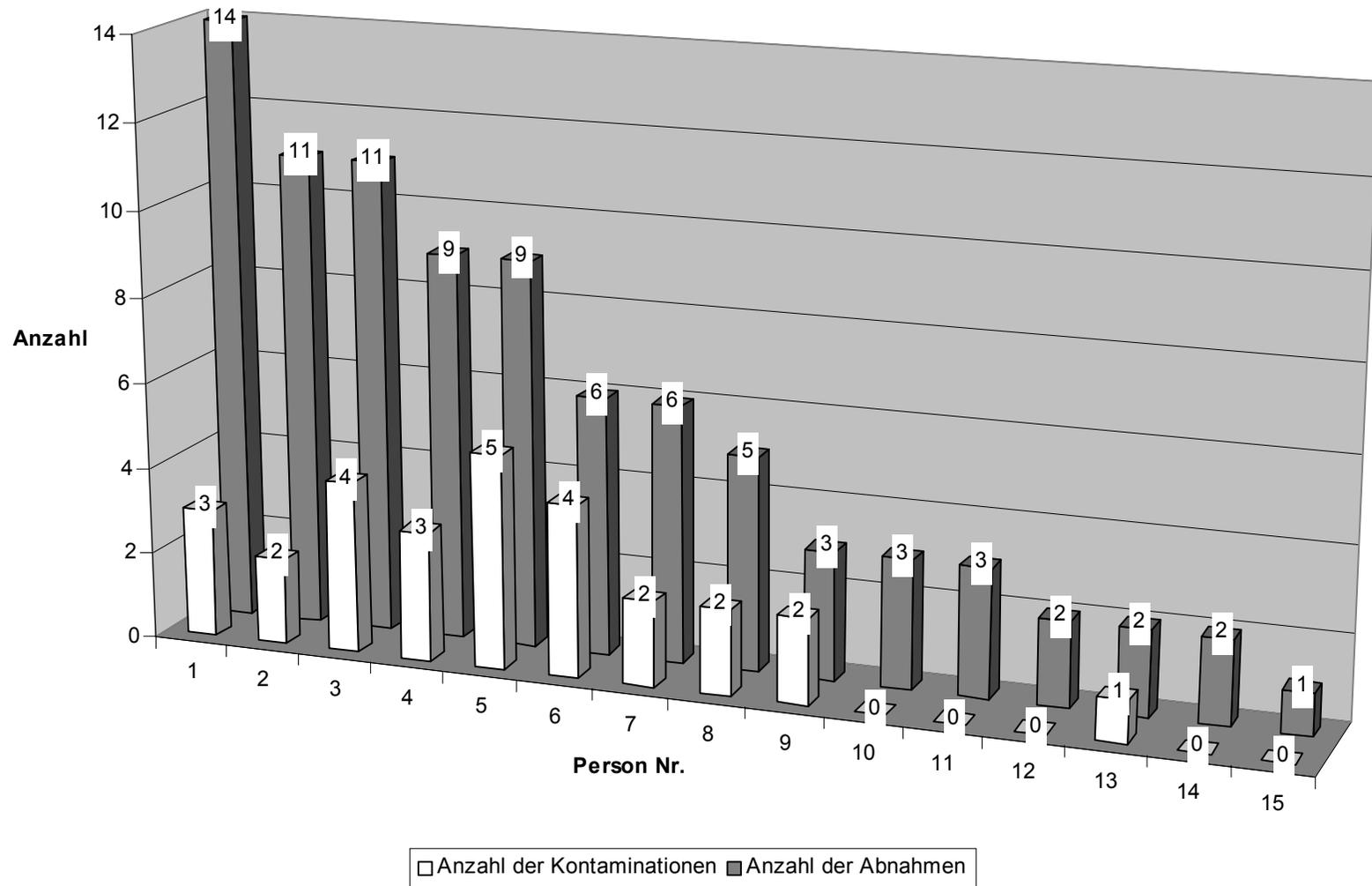
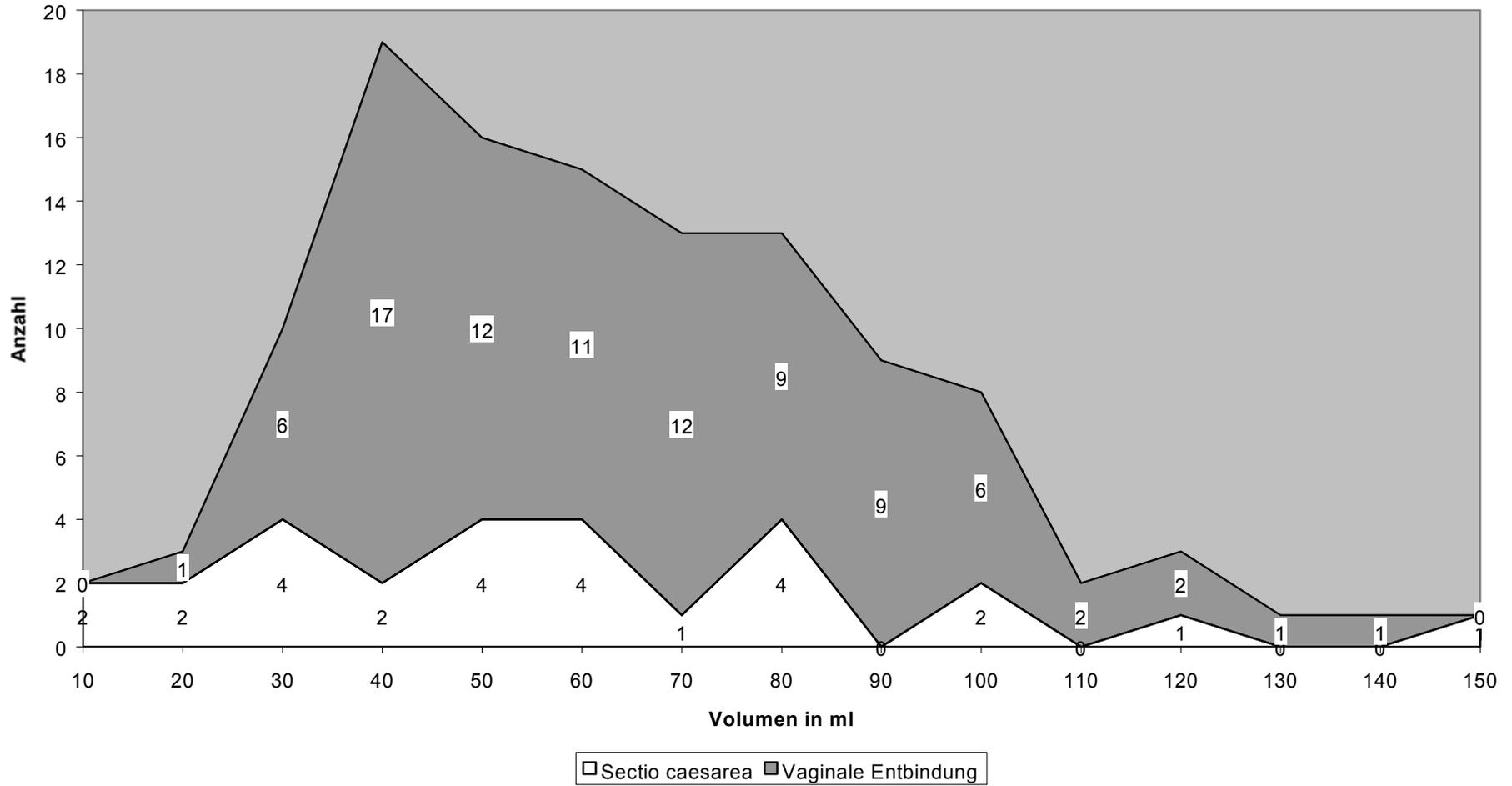


Abb. 2: Vergleich Menge Plazentablut zur Anzahl



Autor	Jahr	Kontaminationsrate	n-Zahl	Entbindungsweg	System	Entnahmetechnik (Plazenta ...)	Inokulationsvolumen	Untersuchtes Material	Untersuchungstage
Beck et al.		0 %	35			Ex utero		VB	Tag 1
Brandes et al.	1983	0 %	33	V SC	Selbst gemacht	Ex utero		VB	Tag 1, 7, 14
Golden et al.	1984	Aerob: 2,8% Anaerob: 0 % (Freppsepp-Desinfektion) Aerob: 0 % Anaerob: 5,7% (Hibiclens-Desinfektion)	35	V	Mit Spritze entnommen	In utero	5 ml	VB	
Anderson et al.	1992	12 %	58	V SC	Selbst gemacht, autoklaviert	In utero	3-5 ml	VB	1 Tag
Bifano et al.	1994	0 %	31	V (5) SC (26)		Ex utero	2 ml	VB	Tag 1, 7, 14, 21, 28
Ballin et al.	1994	0%	100		geschlossen	In utero	5 ml?	VB	1 Tag
Kögler et al.	1996	Erst 18 % Jetzt < 1 %	574	V (450) SC (124)	Geschlossen (kommerziell)	In utero (V) Ex utero (SC)	1 ml	VB	
Garritsen et al.	1996	0 %	44	V SC	Geschlossen (kommerziell)	Ex utero		VB	
Ademokun et al.	1997	11,9 % (Single bag) 4 % (Triple bag)	226		Single bag (201) Triple bag (25) (kommerziell)	In utero	0,5 ml	VB (Single bag) VB, BC (Triple bag)	

Autor	Jahr	Kontaminationsrate	n-Zahl	Entbindungsweg	System	Entnahmetechnik (Plazenta ...)	Inokulationsvolumen	Untersuchtes Material	Untersuchungstage
Tichelli et al.	1998	7,5%	40		geschlossen	In utero	2 ml	VB?	Tag 1?
Armitage et al.	1999	Ersten 3 Monate: 28 % Bei 1000 Entnahmen: 4 % Jetzt: 1 %	1000		Geschlossen (kommerziell)	Ex utero	0,5 ml	VB	1 Tag
Elchalal et al.	2000	I. 16% II. 48% III. 19%	I. 2 5 II. 2 5 III. 2 5	V	I. geschlossen II. Spritze und offen III. Spritze und geschlossen	I. in utero II. in utero und ex utero III. in utero und ex utero		VB?	
M-Reboredo et al.	2000	Ersten 6 Monate: 20 % Nach 1,5 Jahren?: 5%	938	V SC	Geschlossen (kommerziell)	V in utero SC ex utero	5 ml	EK	1 Tag
Eichler et al.	2000	8,6%	35	V SC	Geschlossen (kommerziell)	V in utero SC ex utero	2 ml	VB	1 Tag

Tab. G1: Kontaminationsrate bei Plazentablutentnahmen – Literaturrecherche (VB = Vollblut, EK = Erythrozytenkonzentrat, BC = Buffy coat)

Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. Wolfgang Mempel möchte ich danken für die Überlassung des Themas, für sein stetes Interesse am Fortgang der Arbeit und für die Möglichkeit zur Arbeit im Labor seines Institutes.

Herrn Dr. Oswin Ochmann bin ich für die vielen Anregungen bei der Durchführung, seine jederzeitige Ansprechbarkeit und die wertvolle Unterstützung bei der Abfassung der Arbeit zu besonderem Dank verpflichtet.

Herrn Alexander Strauss danke ich für seine engagierte Hilfe bei der Einführung der Plazentablutentnahmen im Kreißaal und für die vielen Entnahmen bei Sectio caesarea-Geburten.

Den Hebammen möchte ich herzlich danken für die eifrigen Entnahmen bei vaginalen Geburten, für ihr persönliches Interesse beim Erlernen der Entnahmetechnik und für das angenehme Klima im Kreißaal.

Frau Dr. Beatrix Grabein gilt mein Dank für die vielen interessanten Anregungen im persönlichen Gespräch und für die hilfreichen Ratschläge bei der Deutung der Kontaminationsergebnisse.

Weiterhin möchte ich den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Mikrobiologie danken, für die gewissenhafte Bearbeitung der Kulturflaschen und die Erstellung der zahlreichen mikrobiellen Befunde.

Frau Dr. Dorothea Nagel danke ich für die statistische Auswertung.

Schließlich möchte ich mich ganz besonders bedanken bei meinem Freund Joachim Lang für seine Hilfe zu jeder Zeit, und in allen Lebenslagen, meist beim „Kampf mit dem Computer“ und für die viele Zeit die er besonders fürs Formatieren der Doktorarbeit aufgewendet hat.

Allen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben danke ich herzlich, auch für die vielen ungenannten Kleinigkeiten, ohne die eine erfolgreiche Durchführung nicht möglich gewesen wäre.

Lebenslauf

Nachname: Baier
Vorname: Astrid Anna Else
Geburtsdatum: 01.10.1976
Staatsangehörigkeit: deutsch
Familienstand: ledig
Geburtsort: München
Eltern: Dr. Dietmar Baier und Anke Baier
Schule: 1983-87 Grund- und Teilhauptschule Neubiberg
1987-96 Gymnasium Neubiberg
Juni 1996 Abitur mit der Note 1,2
Studium: seit 1996 Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität, München
September 1998 Ärztliche Vorprüfung mit der Note 3,0
August 1999 I. Med. Staatsexamen mit der Note 3,0
April 2002 II. Med. Staatsexamen mit der Note 2,0
Mai 2003 III. Med. Staatsexamen mit der Note 1,0
Gesamtnote 1,83
Praktisches Jahr: April 2002 – August 2002: Kinderchirurgie im Krankenhaus München-Schwabing
August 2002 – November 2002: Innere Medizin (Onkologie) im Krankenhaus München-Harlaching
November 2002 – März 2003: Pädiatrie im Krankenhaus des Dritten Ordens München
Famulaturen: 1999 Praxis Dr. med. Thalhammer, Allgemeinmedizin
1999 Klinikum Großhadern, Geburtshilfe
2000 Praxis Dr. med. Langehenke, Dermatologie
2001 Kreiskrankenhaus München-Perlach, Innere Medizin
2001 Kreiskrankenhaus Traunstein, Kinderheilkunde
Promotion: seit September 1999 am Klinikum Großhadern, Institut für Transfusionsmedizin, Prof. Dr. med. W. Mempel
Thema: Bakterielle Kontamination von HbF-Erythrozytenkonzentraten aus Plazentarestblut
September 2001: Vortrag im Rahmen der Promotionsarbeit auf dem 34. Jahreskongress der Deutschen Gesellschaft für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie e. V.