

Aus der Abteilung für Transfusionsmedizin und Hämostaseologie der
Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. Reinhard Henschler



**Einfluss der Pathogeninaktivierung von
Thrombozytenkonzentraten auf den allgemeinen
Transfusionsbedarf von hämatologischen / onkologischen
Patienten**

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

vorgelegt von

Dr. med. univ.
Marco Amato

aus

München

Jahr

2017

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Reinhard Henschler

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. Dr. Erwin Strobel
Priv. Doz. Dr. Christoph Bidlingmaier

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Univ. Doz. Dr. Walter Nussbaumer
(Zentralinstitut für Bluttransfusion - Innsbruck)

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 09.03. 2017

1. Einleitung & Zielsetzung	04
2. Einführung	08
2.1. Entwicklung der Thrombozytentransfusion.....	08
2.2. Wissenschaftlicher Hintergrund.....	11
2.2.1. Physiologische Funktion der Thrombozyten.....	11
2.2.2. Pathogene in der Transfusionsmedizin.....	12
2.2.3. Erhöhung der Sicherheit - Die Pathogeninaktivierung -	14
2.3. Die Spenderauswahl.....	16
2.4. Spezifikation der Thrombozytenpräparate.....	17
2.4.1. Prinzip der Aphereseerzeugung	19
2.4.2. Pool Thrombozyten.....	23
2.5. Der Intercept® Prozess.....	26
3. Patienten und Methoden	36
3.1. Patientencharakteristika.....	36
3.2. Transfusionen bei hämatologischen/onkologischen Patienten.....	36
3.3. CCI und PPR.....	38
3.4. Indikationsstellung für Transfusionen.....	39
3.5. Auswahl der Präparate – Die ABO Blutgruppe und der Rhesus D.....	39
3.6. Untersuchungszeitraum.....	40
3.7. Untersuchungsparameter (Zielgrößen).....	41
3.8. Datenerhebung und Auswertung.....	42
3.9. Herstellungsdaten im Vergleich der Zeiträume.....	43
4. Ergebnisse	48
4.1. Demographische Daten.....	48
5. Diskussion	56
6. Zusammenfassung	61
7. Tabellenverzeichnis	63
8. Abbildungsverzeichnis	63
9. Abkürzungsverzeichnis	64
10. Erklärung	66
11. Danksagung	68
12. Literaturverzeichnis	69

1. Einleitung & Zielsetzung

Die Nachfrage an Blutprodukten ist groß. Im Jahr 2015 zählte die WHO insgesamt 108 Millionen Blutspenden weltweit, eine Steigerung um ca. 25% seit dem Jahr 2008.[1] Demgegenüber stehen die Zahlen des Blutspendeaufkommens in Österreich, welches seit Jahren rückläufig ist. Am Zentralinstitut für Bluttransfusion in Innsbruck zum Beispiel beträgt der Rückgang seit dem Jahr 2012 ca. 8%. In den Industrienationen wird dies hauptsächlich auf den demographischen Wandel zurückgeführt, der das Aufbringen einer ausreichenden Anzahl an Blutspendern in den nächsten Jahren noch schwieriger gestalten wird.[2]

Um dieser Entwicklung entgegenzuwirken gibt es eine, von Seiten der WHO, schon lange geforderte Strategie, die als Patient Blood Management Verbreitung findet. Ziel dieses multimodalen Konzeptes ist die Reduktion und Vermeidung von Anämien und Blutverlusten, sowie der sparsame Einsatz von Fremdblut. Damit soll der Verbrauch und die damit verbundene Anzahl an nötigen Spenden reduziert werden. Derzeit gibt es zahlreiche PBM-Konzepte weltweit, welche einen nachweislichen Effekt auf den Bedarf an Blutprodukten haben. [3-5]

Dennoch besteht ein kontinuierlicher Bedarf an Blutprodukten und damit Blutspenden. Am Zentralinstitut für Bluttransfusion der Universitätsklinik Innsbruck wurden im Jahr 2015 insgesamt 35.990 Blutprodukte transfundiert, darunter 4.879 Thrombozytenkonzentrate. In Deutschland werden pro Jahr ca. 5,5 Millionen Transfusionen durchgeführt, darunter eine halbe Million Thrombozytenkonzentrate.[6]

Die Sicherheit von Blutprodukten ruht hauptsächlich auf zwei Säulen; Einerseits auf der Testung von derzeit als transfusionsmedizinisch relevant betrachteten Pathogenen, andererseits auf der genauen Anamneseerhebung vor der Spende. Vor allem die auf der Hautoberfläche vorhandene natürliche Flora kann in das Präparat verschleppt werden. Speziell bei Thrombozytenkonzentraten wird, bedingt durch ihre Temperatur bei der Lagerung, die sich zwischen $+22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ Grad bewegen soll, das Wachstum kontaminierender Bakterien begünstigt.

In Literaturquellen findet man Kontaminationsraten, welche zwischen 0,04% bis 2,9% liegen.[7-9]

Dazu kommt die geringe Lagerungszeit von 5 bis maximal 7 Tagen, die eine wiederholte Testung des Präparates nicht zulässt. Denn bei Vorliegen eines Ergebnisses wäre das Thrombozytenkonzentrat entweder schon transfundiert oder die maximale Lagerungszeit wäre erreicht.

Aber auch das Auftreten von Viren als kausales Agens für neue, bisher nicht bekannte Infektionen (sog. emerging viruses), stellt nun eine neue Herausforderung an die Bereitstellung von sicheren Blutprodukten. Durch die globale Erwärmung kommt es zu einer Einwanderung und Ansiedlung von neuen Wirten, die in unseren Breiten, als bisher nicht heimische Erreger, die Sicherheit der Blutprodukte gefährden. Beispielhaft anzuführen wären hier die Überträger des Dengue-Virus (*Aedes aegypti*) und des Zika-Virus (*Aedes albopictus*).[10]

Auf Grund dieser Tatsachen wurden in den letzten Jahren neue Verfahren zur Inaktivierung von Thrombozytenkonzentraten entwickelt.

Ein seit mehr als 10 Jahren in zahlreichen Publikationen und klinischen Studien erprobtes System stellt die Pathogeninaktivierung mittels Psoralen und UV-A (Intercept® Cerus, USA) dar, welches eine große Bandbreite an Pathogenen wie Viren, Bakterien, Parasiten und potenziell schädliche Spenderlymphozyten im Thrombozytenkonzentrat inaktiviert.

Grundprinzip dieses Verfahrens ist der Einbau einer chemischen Verbindung (Psoralen) in die DNA oder RNA von eventuell vorhandenen Pathogenen, die sich im Thrombozytenkonzentrat befinden könnten. Durch die anschließende Bestrahlung mit UV-A wird diese Verbindung irreversibel und es kommt zu einer Unterbindung von Replikation und Transkription. Dabei wird ein großes Spektrum an nukleinsäurehaltigen bekannten und neu auftretenden, etwaig gefährlichen Pathogenen im Blutprodukt unschädlich gemacht. Daraus resultiert ein erhöhter Schutz vor der Übertragung infektiöser Erreger, sowie vor einer verschleppten Kontamination des Produktes.

Die Anforderungen an das System sind hoch, da eine Inaktivierung und damit eine Risikoreduktion bei möglichst gleich bleibender Qualität der Präparate durchgeführt werden soll. Seit dem Jahr 2002 ist das Intercept® System in Europa CE zertifiziert. Im Jahr 2003 übernahmen einige europäische Zentren das System in ihre Routine. Mit Ausnahme der Schweiz, die eine flächendeckende Behandlung seit 2011 mittels Intercept® zwingend vorschreibt, haben inzwischen mehr als 100 Zentren in über 20 Ländern das Verfahren der Inaktivierung von Blutprodukten in ihre klinische Routine aufgenommen.[11]

Mit dem euroSPRITE Trial [12] aus dem Jahre 2003, sowie der SPRINT Studie [13] von 2004, welche zur CE Kennzeichnung geführt haben, gibt es zwei grundlegende klinische Studien über die Pathogeninaktivierung von Thrombozytenkonzentraten.

In diesen Studien konnte gezeigt werden, dass sie ihre wichtigste physiologische Aufgabe, die Blutstillung, auch nach Pathogeninaktivierung erfüllen können. Wenngleich ein leicht erhöhter Verbrauch an Thrombozytenkonzentraten festgestellt werden konnte, bzw. ein geringerer Thrombozytenanstieg bei den Empfängern von Thrombozytentransfusionen (CCI = corrected count increment) gemessen wurde. Zu einem ähnlichen Ergebnis kommen mehrere Studien der letzten Jahre. [14-16] Weitere Daten, die eine konkrete Aussage über die in vivo Wirkung der pathogen inaktivierten Thrombozytenkonzentrate im klinischen Alltag machen, werden natürlich im Diskussionsteil dieser Arbeit aufgegriffen.

Das Zentralinstitut für Bluttransfusion der Universitätsklinik Innsbruck hat das Verfahren zur Herstellung von pathogeninaktivierten Thrombozytenkonzentraten, nach Zulassung durch die nationale Behörde (AGES), mit 01.03.2013 ebenfalls zu 100% in den klinischen Regelbetrieb übernommen.

Fragestellung und Ziel der Arbeit ist es, den Einfluss der Pathogeninaktivierung auf den Transfusionsbedarf von hämatologischen / onkologischen Patienten im klinischen Alltag zu untersuchen. Das Zentralinstitut für Bluttransfusion der Universitätsklinik Innsbruck versorgt seit dem 01.04.2013 zwar alle Departements mit pathogeninaktivierten Thrombozytenkonzentraten, jedoch ist

die Hämatologie/Onkologie aufgrund des größten Bedarfes an Präparaten für eine fundierte Aussage am besten geeignet.

Durch die retrospektive Datenerhebung aus zwei gleich langen Zeiträumen (je 21 Monate; 1.4.2011 bis 31.12.2012 TK unbehandelt vs. 1.4.2013 bis 31.12.2014 TK inaktiviert), nämlich vor und nach Implementierung des Verfahrens am Zentralinstitut für Bluttransfusion der Universitätsklinik Innsbruck, soll untersucht werden ob und wie sich die Pathogeninaktivierung auf den allgemeinen Transfusionsbedarf der Patienten auswirkt, und ob die damalige These (euroSPRITE und SPRINT) des eventuellen leichten Mehrverbrauchs der pathogeninaktivierten Thrombozytenkonzentrate basierend auf Laborwerten sich im klinischen Alltag widerspiegelt.

2. Einführung

2.1. Entwicklung der Thrombozytentransfusion

Die Geschichte der Bluttransfusion hat eine jahrhundertelange Entwicklung hinter sich. Am Anfang versuchte man die orale Verabreichung von Blut. Die erste Überlieferung einer Anwendung von Vollblut als Heilmittel stammt aus dem Jahre 1492, über Papst Innozenz VIII. Dieser trank auf seinem Sterbebett das frische Blut eines 10-jährigen Jungen.[17]

Dieser folgten Versuche eines direkten Blutaustausches von Tier zu Tier in den Jahren 1666/1667, welche zeitgleich in mehreren Ländern Europas stattfanden, und der ersten Transfusion von Tier zu Mensch in Frankreich 1667.[18, 19]

Jean-Baptiste Denis und Pièrre Emmerez starteten ebenfalls bereits 1667 Eigenversuche mit Bluttransfusionen am Menschen. Aufgrund vieler Todesfälle war dies jedoch umstritten. Als „Vater der modernen Transfusion“ bezeichnet man James Blundell, der als Erster 1825 erfolgreich Blut auf eine ausgeblutete Wöchnerin übertrug.[19, 20]

Durch die Jahrhunderte wandelte sich, durch das stetig wachsende medizinische Wissen, das Verständnis vom Blut und dessen therapeutischer Bedeutung. Anfangs ging man davon aus, dass durch das reine Trinken fremden Blutes die Eigenschaften des Körpers und des Geistes eines Spenders, wie Kraft oder Redlichkeit, übertragen würden. Erst in den letzten Jahrzehnten lernte man die genaue Bedeutung der einzelnen Blutbestandteile kennen und erfasste die Wichtigkeit jedes Einzelnen für den menschlichen Organismus, was schließlich bis zu der heute gängigen Praxis führte, bei der aufgetrennte Bestandteile des Blutes von einem menschlichen Spender auf einen geeigneten Empfänger übertragen werden.

Die Entdeckung der AB0-Blutgruppen durch Karl Landsteiner und Mitarbeiter im Jahre 1900 / 1901 [21], sowie die Arbeiten von Albert Hustin und Richard Lewisohn aus dem Jahre 1914 trugen wesentlich dazu bei, dass die Nutzung von Blutkonserven zunahm. Es gelang ihnen durch die Zugabe der Substanzen Natriumcitrat und Zucker Blutprodukte zu konservieren. Durch diese Entdeckung konnte das Blut nun auch außerhalb des menschlichen Körpers haltbar gemacht werden.[22]

Heute wird unter dem Begriff „Transfusion“ die Übertragung aktiver, jedoch nicht mitotischer Blutzellen von einem Menschen auf den anderen verstanden.[23] Durch eine Transfusion soll die Blutmenge im Körper erhöht werden und der Kreislauf mit den nötigen, jeweiligen Bestandteilen, versorgt werden. Dabei versucht man den Körper intravenös mit denjenigen Blutkomponenten zu versorgen an denen ein Mangel herrscht oder durch dessen Fehlen eine Funktionsstörung vorliegt.

Prof. Max Johann Sigismund Schultze entdeckte 1865 an der Universität Bonn die Thrombozyten als dritten korpuskulären Bestandteil des Blutes.[24]

Im Jahre 1910 publizierte Duke [25] als Erster eine Arbeit über den blutstillenden Effekt von Transfusionen bei thrombozytopenischen Patienten. Die Anwendung von Thrombozyten im klinischen Gebrauch entwickelte sich hingegen erst spät. Erst als man in den 1950er Jahren begann mit zytostatischen Medikamenten, vor allem im Kindesalter, gegen Leukämien vorzugehen, rückten die Blutungskomplikationen in den Fokus.[26] Bei diesen Patienten wurde gleichzeitig eine Thrombozytopenie beobachtet, welche man mit einer Transfusion, damals jedoch nur mit Frischblut, zu behandeln versuchte.

In einer großen Studie konnten Freireich et al. 1962 nachweisen, dass es einen linearen Zusammenhang zwischen sinkender Thrombozytenzahl und Zunahme von Blutungskomplikationen gibt. Damit war die Notwendigkeit von Thrombozytentransfusionen zur Prophylaxe und zur Behandlung von Blutungen bei thrombozytopenischen Patienten bewiesen.[27]

Auf einer Größenskala befinden sich die Thrombozyten, mit ihrem Durchmesser von 2–5 µm und einer Dicke von 0,3–0,5 µm, hinter den Erythrozyten und Leukozyten. Sie stellen somit die kleinsten zellulären Bestandteile des komplexen Systems der Blutgerinnung dar. Innerhalb von 24 Stunden entstehen im Knochenmark durch Thrombopoese ca. 35×10^9 Thrombozyten pro Kilogramm Körpergewicht. Nach Abschnürung und Migration aus dem Knochenmark verweilen etwa 30% der Blutplättchen für maximal 36 Stunden in der Milz. Das als sogenanntes Milzpooling bezeichnete Phänomen dient der schnellen Reaktion auf Blutungen, da diese umgehend in großer Zahl an das Blutsystem abgegeben werden können. Die restlichen 70% der Thrombozyten zirkulieren unter physiologischen Bedingungen, mit einem „Ablaufdatum“ versehen, 7 bis 10 Tage im peripheren Blut, um nach dieser Zeit in Milz und Lunge abgebaut zu werden.[28]

Thrombozyten sind ein unverzichtbarer Bestandteil des Blutes, da sie für die Bildung des Thrombozytenpfropfes im Rahmen der physiologischen Blutstillung zuständig sind. Der Aufbau der Blutplättchen ist daher vollständig und ausschließlich auf diese Eigenschaft ausgerichtet.[29]

Um unerwünschte Nebenwirkungen zu vermeiden bzw. die Gefahr einer Refraktärität nach einer Transfusion möglichst gering zu halten, werden die Thrombozytenkonzentrate durch Filtration leukozytendepletiert.

Sollte sich nach der Transfusion ein fehlender Anstieg an Thrombozyten zeigen, so wird, vor allem bei immunsupprimierten Patienten, versucht über HLA / HPA Matching das Ergebnis zu verbessern. Bei HLA bzw. HPA handelt es sich um Antigene, welche sich unter anderem auf den Thrombozyten wiederfinden und für einen verminderten Anstieg nach einer Transfusion verantwortlich sein können. [[30]

2.2. Wissenschaftlicher Hintergrund

2.2.1 Physiologische Funktionen der Thrombozyten

Thrombozyten sind zelluläre Elemente des Hämostasesystems und zirkulieren im Gefäßsystem immer nah an der Endothelwand. Dieses Verhalten ergibt sich aus den unterschiedlichen Größen der im Blut vorhandenen Partikel. Durch die Strömung im Gefäß finden sich größere Bestandteile in der Mitte, kleinere finden sich am Gefäßrand. Durch Adhäsion an den subendothelialen Von-Willebrand-Faktor, der nach einem Defekt am Endothel frei liegt, und der damit ablaufenden Aggregation und Aktivierung der Thrombozyten bildet sich ein Thrombozytenpfropf. In Kombination mit dem System der plasmatischen Gerinnung wird das defekte Endothel abdeckt und es kommt zur Blutstillung. [8]

Die transfundierten Thrombozyten finden sich im Blut und in der Milz. Der prozentuale Anteil an transfundierten Thrombozyten im peripheren Blut, im englischen „recovery“ genannt, liegt zwischen 60 und 70%. Die restlichen 30% finden sich, wie schon erwähnt, in der Milz. Die recovery ist verständlicherweise bei entfernter Milz höher bzw. bei einer vergrößerten Milz niedriger. Auch bei erhöhtem Thrombozytenverbrauch ist eine verringerte recovery ebenfalls möglich. Dies kann zum Beispiel bei einer Sepsis, einer disseminierten intravasalen Gerinnung oder einer Antikörperbildung gegen thrombozytäre Antigene auftreten.

Es dauert zwischen 7 und 10 Tage bis frische, nicht aktivierte Thrombozyten eines Spenders im Blut von gesunden Menschen nicht mehr nachweisbar sind. Diese gemittelte Überlebenszeit nimmt mit der Lagerungsdauer der Präparate ab. [31]

Bei allen Patienten mit erniedrigtem Thrombozytenwert, der auch in Kombination mit einem gesteigertem Verbrauch vorkommen kann, vor allem aber bei Vorliegen von thrombozytenreaktiven Antikörpern, ist diese deutlich verkürzt. [48]

2.2.2 Pathogene in der Transfusionsmedizin

Grundsätzlich können Bakterien, Viren und andere pathogene Erreger, die sich im Blut befinden, durch eine Transfusion von Mensch zu Mensch übertragen werden.

Die Einführung von geschlossenen, sterilen Abnahme- und Übertragungssystemen, sowie die ausführliche und regelmäßige Befragung der Spender und das serologische Testen jeder Blutspende trugen zwar wesentlich zur Senkung des Risikos bei, können aber nur bei uns bekannten Erregern eine Reduktion des Übertragungsrisikos erzielen. Hierzu zählen Viruserkrankungen wie HIV, HBV, HCV, die aufgrund ihres Verlaufes transfusionsmedizinisch relevant sind. Viren können hierbei aber auch eine neue, bisher nicht bekannte Infektion verursachen oder durch ihre zunehmende Ausbreitung wachsende Bedeutung für uns erlangen.

Das größte Problem vor dem die Transfusionsmedizin steht, stellen eben die sogenannten „Emerging Viruses“ dar. Zu diesem Gefahrenpotential zählen Viren, für die es bereits teilweise eine Testung gibt, die aber eine Mutation durchlaufen haben, aber auch uns heute noch unbekannte oder bislang ungefährliche Erreger werden unter diesem Begriff subsummiert.

Eine neue Gefährdung kann, unter anderem, durch Mutation (Influenza Virus), Umweltänderung (Dengue Virus), Pandemien (Pockenvirus) oder durch Entdeckung eines „neuen“ Erregers als Ursache für eine bekannte Krankheit (Hepatitis C) entstehen.[32]

Eine weitere potentielle Gefährdung für die Sicherheit der Blutprodukte stellen Bakterien dar, die mittlerweile als Hauptgrund einer transfusionsbedingten Infektion gelten. Häufige Ursache einer bakteriellen Kontamination von Blutprodukten, insbesondere bei Thrombozytenkonzentraten, sind die Hautkeime des Spenders, die durch die Punktion verschleppt werden.[33, 34]

Da Thrombozytenkonzentrate bei Zimmertemperatur gelagert werden, bestehen günstige Wachstumsbedingungen für viele Bakterien. Diese können dabei durch unsachgemäße Desinfektion, sowohl beim Spender als auch beim Personal,

oder aber auch durch asymptomatisch bakteriämische Spender in die Spende gelangen.

Diese Risiken können jedoch durch ein pre-donation Sample und durch bakteriologische Testung minimiert werden. Allerdings kommt es bei der bakteriologischen Testung oft zu einem falsch positiven Ergebnis bzw. erhält man ein positives Testergebnis erst nach bereits erfolgter Transfusion.

In Thrombozytenkonzentraten können, je nach Spezies, innerhalb von zwei bis fünf Tagen Keimzahlen von 10^8 bis 10^{10} Bakterien pro Milliliter erreicht werden.[35]

Wobei es nur schwer möglich ist die reale Kontaminationsrate zu ermitteln. Aus Literaturangaben kann man von 0,005% bis 2,5% ausgehen, also eine Range von mehr als 2 Zehnerpotenzen.[7-9, 36-40] Bei einer mikrobiologischen Untersuchung von mehr als 200.000 Blutprodukten fanden Alvarez et al bakterielle Kontaminationen bei 1,3% Erythrozyten-, bei 2,1% der Apherese Thrombozyten- und bei 2,9% der gepoolten Thrombozytenkonzentrate. [7]

Kontaminationen kommen somit mittlerweile sehr selten vor, können aber dennoch nicht ganz ausgeschlossen werden.

Speziell bei Thrombozytenkonzentraten, die bei einer Lagerungstemperatur von 22 ± 2 °C hervorragende Wachstumsbedingungen für Bakterien bieten, ist das Infektionsrisiko besonders hoch. Wobei ein Risikounterschied zwischen gepoolten Thrombozytenkonzentraten und Apherese Thrombozytenkonzentraten nach neueren Studien nicht nachgewiesen werden kann. [41, 42]

Die bakterizide Wirkung der Granulozyten während der Zwischenlagerung im Vollblut und im buffy-coat scheint dafür verantwortlich zu sein. [43, 44]

Möchte man die gleiche Menge Thrombozyten übertragen, so muss man entweder ein Apherese Thrombozytenpräparat mit Infektionsrisiko 1 verwenden oder ein gepooltes Thrombozytenpräparat aus 4 bis 5 Spendern mit dem Infektionsrisiko 4 bis 5. Durch die bakterizide Wirkung des Vollbluts und des buffy-coats kommt es trotzdem nicht zu einer Risikoerhöhung. [42]

Anders ist die Situation bei Viren und bisher unbekanntem pathogenen Erregern. Hier entsteht durch das Poolen der Präparate aus mehreren potentiell infektiösen Produkten eine Risikoerhöhung beim neu entstandenen Produkt. [44]

2.2.3 Erhöhung der Sicherheit - Die Pathogeninaktivierung -

Thrombozytenkonzentrate bergen, von allen Blutkomponenten, das höchste Risiko einer transfusionsassoziierten Sepsis, was derzeit die häufigste Transfusionskomplikation ist. Die Lagerungstemperatur und die ständige Agitation stellen einen idealen Nährboden für bestimmte Bakterien dar.

Dabei sind Keime der residenten bzw. transienten Hautflora wohl das hauptsächlichste Problem. [33, 34] Diese Keime haben jedoch eine vergleichsweise geringe Pathogenität und führen selten zu schwerwiegenden Verläufen. [45, 46]

Ein höheres Risiko für Thrombozytenkonzentrate bzw. dessen Empfänger stellen Erreger der Gruppe Enterobakterien wie E.coli und Klebsiellen dar. Hier wird das Öfteren von einer letalen Sepsis in der Literatur berichtet. [47, 48]

Deshalb sind in der Routine die Anamneseerhebung, serologische Untersuchungen, Leukozytendepletion, eine korrekte Hautdesinfektion, richtige Lagerung, die gezielte Personalschulung, sowie die neu eingeführte Inaktivierung der Produkte, zur Erhöhung der Sicherheit von Thrombozytenkonzentraten, fest integriert worden.

Die Möglichkeit der Inaktivierung einer breiten Palette potentieller Erreger durch neue Pathogeninaktivierungsverfahren, bei einem bereits gespendeten Blutprodukt, trug wesentlich zu einer weiteren Risikominimierung bei. [49]

Bei dem Intercept® System handelt es sich um ein Medizinprodukt der Klasse III, welches für die Behandlung von aus Vollblut und Apherese gewonnenen Thrombozyten entwickelt wurde. Damit ist es möglich eine große Palette von Viren, Bakterien und Parasiten, sowie kontaminierten Spenderleukozyten in Thrombozytenkonzentraten für den Empfänger unschädlich zu machen.

Auch für andere transfusionsbedingte Komplikationen, wie die Graft-versus-Host Reaktion, zeigt dieses Verfahren Vorteile. [50]

Zur Behandlung eines Thrombozytenkonzentrates wird eine Amotosalen-HCL Lösung und langwelliges UV-A Licht eingesetzt. [51]

Bei dem Amotosalen-HCL handelt es sich um ein synthetisch hergestelltes Psoralen, welches sich reversibel zwischen die Pyrimidinbasen von DNA und RNA schiebt. Bei Bestrahlung mit UV-A Licht von 320-400 nm geht Amotosalen eine kovalente Bindung mit jenen Pyrimidinbasen ein. Durch die dadurch entstehende Quervernetzung der Genome von Pathogenen und Leukozyten kommt es zu einem Funktionsverlust bzw. Replikationsstopp. Tabelle 2.2 zeigt eine Übersicht über das Inaktivierungsspektrum. Die Aktivierung des Amotosalen findet im Intercept® Illuminator statt. Dieser gibt mikroprozessorgesteuert eine gezielte UV-A Dosis von 3J/cm² ab.

Zum Thema Sicherheit wurden in den letzten Jahren vor allem Berichte aus Frankreich und der Schweiz veröffentlicht, die über ihre Erfahrungen mit inaktivierten Präparaten berichten.[52-56] Die Anforderungen an die gleichbleibende Sicherheit konnte unlängst wieder in einer weiteren Hämovigilanz Studie aus dem Jahr 2015 untersucht werden. Osselaer et al. berichten über eine Analyse von 19.175 inaktivierten Thrombozytenkonzentraten, die über einen Zeitraum von 7 Jahren an 21 Zentren in 11 Ländern transfundiert wurden. Die ausgewerteten Daten zeigten dabei keine signifikante Veränderung der Vorfälle im Rahmen eines transfundierten Thrombozytenkonzentrates gegenüber konventionellen Thrombozytenkonzentraten.[57]

Die Pathogeninaktivierung gilt zwar als sichere Methode um bakterielle Kontaminationen auszuschließen,[58] eine vollständige Elimination sämtlicher Keime konnte in einer im Jahr 2015 von Schmidt et al. veröffentlichten Studie jedoch nicht nachgewiesen werden. Bei einer Beimpfung von verschiedenen Produkten, die entweder aus Vollblut oder durch Apherese gewonnen wurden, mit Bakterienkulturen mit jeweils 100 CFUs/ Einheit bzw. 1000 CFUs / Einheit

konnten vor allem *B.cereus* und *K.pneumoniae* durch Bestrahlung nicht vollständig eliminiert werden.

Wobei bei einer normalen Kontamination von 10 CFUs / Einheit bis maximal 100CFUs / Einheit ausgegangen wird. Eine höhere Konzentration würde bei einem potentiellen Spender Symptome auslösen, welche zu einem Ausschluss von der Blutspende führen würden. [59, 60]

2.3 Die Spenderauswahl

Als Spender für die Herstellung von Thrombozytenkonzentraten werden Männer und Frauen, die regelmäßig in der Ambulanz des Institutes für Bluttransfusion der Universitätsklinik Innsbruck spenden, oder bei Spendenaktionen des ÖRK spenden, ausgesucht. Die Zulassung zur Spende erfolgt nach den geltenden Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten.[61-63] Die Anforderungen an den jeweiligen Spender werden, durch eine vom Spender durch Unterschrift bestätigte Anamnese, und durch eine ärztliche Untersuchung abgesichert.

Bei der Herstellung von Pool Thrombozyten werden bei den Blutspendenaktionen des ÖRK derzeit ausschließlich männliche Spender herangezogen. Auch hier erfolgt die Zulassung zur Spende nach den geltenden Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten.

Wichtig dabei ist, dass die Spender, egal um welche Art von Spende es sich handelt, keine aggregationshemmenden Medikamente (z. B. ASS) eingenommen haben, und damit die Funktion der Thrombozyten nicht beeinträchtigt ist.

Erfüllt der Spender die allgemeinen und die eben genannten besonderen Voraussetzungen, so erfolgt eine normale Blutspende. Sie gelangt jedoch in ein spezielles Abnahmeset der Firma Macopharma, welches für die Gewinnung von buffy-coat geeignet ist. [64] Dabei wird das Vollblut ohne vorherige Depletion durch einen Leukozytenfilter in einem „soft spin“ Verfahren zentrifugiert und am Kompomaten aufgetrennt.

Das Plasma wird hierbei nach oben in den Plasmabeutel gepresst, die basal liegenden Erythrozyten nach unten in den Zwischenbeutel. Aus dem Nährlösungsbeutel fließt die Nährlösung durch den Leukozytenfilter in den Erythrozytenbeutel. Der buffy-coat verbleibt im Abnahmebeutel. Nach Auftrennung werden die Erythrozyten aus dem Zwischenbeutel durch den Leukozytenfilter in den Lagerungsbeutel überführt.

2.4 Spezifikation der Thrombozytenkonzentrate

Thrombozyten werden aus menschlichem Blut gewonnen, welches von freiwilligen Spendern dem Zentralinstitut überlassen wurde und in sterilen, gasdurchlässigen Kunststoffbeuteln aufbewahrt werden.[65] Thrombozytenkonzentrate sind, wie alle Blutkomponenten, Arzneimittel der Stoffgruppe „zelluläre Blutzubereitung“.[66] Das fertige Arzneimittel besteht schließlich aus wirksamen Thrombozyten ($>2 \times 10^{11}$ / Einheit) in Plasma suspendiert und mit einer Stabilisatorlösung ACD-A (Acid Citrat Dextrose Adenin Lösung) vermischt. Die empfohlene Lagerungsdauer sollte dabei möglichst kurz sein, maximal aber nur 5 Tage betragen.[67]

Unvermeidlich sind Restzellen, die nur in einer sehr niedrigen Konzentration vorkommen sollten. Dazu zählen Leukozyten, die mit einem maximalen Anteil von $< 1 \times 10^6$ / Einheit, sowie Resterythrozyten mit maximal $< 3 \times 10^9$ / Einheit nachweisbar sein sollten.[68]

Zur Lagerung der Thrombozytenkonzentrate sei erwähnt, dass diese ihre Energie größtenteils aus dem oxidativen Abbau in der Atmungskette gewinnen. Die damit verbundene Bildung von CO_2 bzw. H_2CO_3 - kann zu einem kritischen Abfall des pH-Wertes führen. Durch die Verwendung spezieller Kunststoffbeutel mit erhöhter Gaspermeabilität oder durch eine Vergrößerung des Verhältnisses von Beutelvolumen zu Zelloberfläche kann diesem entgegengewirkt werden.[69]

Grundsätzlich kann man bei der Herstellung verschiedene Arten von Thrombozytenkonzentraten unterscheiden. Aus Vollblut hergestellte Präparate werden, wie in den USA üblich, aus plättchenreichem Plasma (PRP) gewonnen.

In Europa ist die Herstellung aus dem „buffy-coat“ (BC) weit verbreitet. Eine weitere Methode ist die Gewinnung von Thrombozyten durch Apherese eines Einzelspenders. Die so erhaltenen Produkte sind somit bezüglich ihrer Herstellung, ihres Volumens, ihrer Gesamthrombozytenzahl und ihres Kontaminationsgrades an Leukozyten verschieden.

Bei der Herstellung von Blutpräparaten wird das Blut zentrifugiert, um die einzelnen Bestandteile zu trennen. Dabei bewegen sich die verschiedenen Partikel aufgrund ihres charakteristischen Gewichtes mit unterschiedlicher Geschwindigkeit vom Rotationszentrum weg, um anschließend wieder zu sedimentieren. [70]

Bei beiden in Innsbruck verwendeten Verfahren (BC und Apherese), erhält man Thrombozytenkonzentrate, welche die Intercept® Kriterien erfüllen, also für die Inaktivierung geeignet erscheinen.

Die Spezifikationen der gewonnenen Produkte stellen sich wie folgt dar:

- Zielbereich der Thrombozytenausbeute: $2,5 - 7,0 \times 10^{11}$ / Spende
- Plasmaverhältnis im TK: 32-47 %; Ziel: 40% Plasma, 60% SSP+
- Gesamtvolumen des TK (Plasma und SSP+): 300 - 424 ml
- Rest-Erythrozyten: $<4 \times 10^6$ Erythrozyten / ml

Da es sich hier um leukozytendepletierte Thrombozytenkonzentrate handelt, sollte der Leukozytengehalt $<1 \times 10^6$ Leukozyten pro Transfusionseinheit (TE) liegen. Bevor die Thrombozytenkonzentrate dem Intercept®-Prozess zugeführt werden, werden sie bei Raumtemperatur in einer Ruhephase von mindestens zwei Stunden und anschließend einer Agitationsphase von zwei bis vier Stunden bei $22 \pm 2^\circ \text{C}$ gelagert. Der Intercept®-Prozess muss bis spätestens 24:00 Uhr des Folgetages nach der Spende durchgeführt werden.[71]

2.4.1. Prinzip der Apherese-Gewinnung

Der Unterschied zur konventionellen Blutspende liegt am Einsatz von Zellseparatoren mit extrakorporalem Kreislauf am Spender. Die Auftrennung in die einzelnen Bestandteile erfolgt bereits während der Spende. Die einzelnen Blutkomponenten werden dabei gezielt gewonnen, während die übrigen Blutbestandteile wieder an den Spender zurückgegeben werden. Dieses Verfahren wird zur Herstellung von Thrombozyten-, Plasma-, Erythrozyten-, Granulozytenpräparaten, sowie zur Gewinnung peripherer Stammzellen eingesetzt. [72]

Durch die unterschiedliche Größe und Zelldichte der einzelnen Blutbestandteile erfolgt eine Auftrennung mittels Zentrifugalkraft. Für den extrakorporalen Kreislauf werden sterile Einmal-Apherese-Sets aus Kunststoff und computergesteuerte Separatoren eingesetzt. Die Zell- oder Plasmasammlung, sowie Funktionskontrolle erfolgt vollautomatisch unter Verwendung bestimmter Sammelprotokolle und Separationskammern. Zur Gerinnungshemmung wird eine antikoagulierende Citrat-Glucose-Lösung ACD-A oder ACD-B im Verhältnis 1:8 bis 1:14 dem Schlauchsystem unmittelbar am Punktionsort für die Blutentnahme zugeführt und mit dem Blut vermischt.

Das standardmäßig verwendete Antikoagulans ist eine 3% Citratlösung, auch als ACD-A bezeichnet, und verfügt über folgende Spezifikation:

Zitronensäure Monohydrat	8,00 g
Natriumcitrat Dihydrat	22,00 g
Glucose Monohydrat	25,00 g
In Wasser für Injektionszwecke ad	1000 ml

Am Zentralinstitut für Bluttransfusion der Universitätsklinik Innsbruck werden derzeit zwei verschiedene Zellseparatoren verwendet. Bei dem einem Gerät handelt es sich um den Amicus Crescendo© der Firma Fresenius, die andere Maschine stammt von der Firma Terumo und läuft unter der Bezeichnung TrimaAccel©.

Mit beiden Geräten können Thrombozyten-Apherese-Präparate hergestellt werden, welche mit 35% Plasma und 65% Additivlösung (Platelet Additive Solution, PAS) resuspendiert werden. Am Zentralinstitut für Bluttransfusion Innsbruck wird ein PAS-3M (SSP+) eingesetzt, welches sich wie folgt zusammensetzt:

Sodium citrate 2H ₂ O	3.18 g
Sodium acetate 3H ₂ O	4.42 g
Sodium Dihydrogenophosphatate	1.05 g
Di-Sodium Hydrogenophosphatate	3.05 g
Potassium chlorure	0.37 g
Magnesium Chloride, 6H ₂ O	0.30 g
Sodium Chloride	4.05 g
In Wasser für Injektion	1000 ml

PH 7.2

Der Amicus Crescendo©, sowie der TrimaAccel© ermöglichen die automatische Sammlung einer oder mehrerer Einheiten an Apherese-Thrombozyten. Der Plasmaanteil ist dabei ein wesentlicher Faktor, da dieser hauptsächlich für die allergischen Zwischenfälle bei Thrombozytenkonzentraten verantwortlich ist. Daneben nimmt man eine bessere Funktionsfähigkeit der Thrombozyten in additiver Lösung an.[73-75]

Ein Thrombozytenpräparat sollte mit nur einer geringen Menge Plasma suspendiert werden, um im Intercept®-Prozess auch eine optimale und dauerhafte Pathogeninaktivierung zu erreichen, da die PAS-Lösung über den Verdünnungseffekt das Einbringen einer effizienten Lichtmenge erleichtert.

[76-78]

Die Zellseparatoren sind Geräte mit einer Zentrifuge mit kontinuierlichem Fluss, wobei hier ein „Single-Needle-System“ zum Einsatz kommt. Hierbei erfolgt die Gewinnung der gewünschten Blutbestandteile durch die gleichzeitige Entnahme einer kleinen Blutmenge und Reinfusion der nicht benötigten Bestandteile.

Die verwendeten Geräte am Zentralinstitut für Bluttransfusion Innsbruck zeigen in ihrem Funktionsprinzip leichte Unterschiede.

Bei der Amicus Crescendo© besteht der Zentrifugenbeutel aus zwei Kammern, der Separations- und der Sammelkammer. In der ersten Phase der Separation wird das antikoagulierte Vollblut über den Einlassschlauch in die Separationskammer gepumpt, wo die Erythrozyten aufgrund der Fliehkraft an die Außenwand gezogen werden und das Plasma sich an der Innenwand anlagert. Die Thrombozyten verteilen sich zwischen der Plasmaschicht und den Erythrozyten im buffy-coat. Bedingt durch die Schwerkraft verlassen die Erythrozyten den Beutel. In der zweiten Separationsphase wird das plättchenreiche Plasma (PRP) aus der Separations- in die Sammelkammer gepumpt, wo nun die Thrombozyten an die Außenwand gezogen werden und das plättchenarme Plasma (PPP) über den PPP Schlauch heraufbefördert wird, um gesammelt zu werden oder dem Spender refundiert zu werden. Durch Zentrifugation und Sedimentation werden die Thrombozyten in der Sammelkammer angereichert. Eine hohe Sammeleffizienz (definiert als Prozentsatz der gesammelten Thrombozyten gegenüber der Thrombozytenzahl, die durch das Gerät geflossen ist) von 70 % und mehr wird durch die PRP-Rezirkulation und die Auto-Elutriation erreicht. Ein Teil des aus der Separationskammer abgeleiteten PRP wird durch die Rezirkulationspumpe zur Luftfalle und zurück in die Separationskammer überführt, sodass der HKT des eingeleiteten antikoagulierten Vollblutes bei 32% bleibt. Durch den HKT von 32% wird eine optimale Separation der einzelnen Komponenten erreicht und somit die Sammeleffizienz erhöht. Dies ist bedingt durch die geringere Dichte des zugeführten antikoagulierten Blutes (HKT von 32 %), gegenüber dem Blut, das sich bereits in der Separationskammer befindet. Dadurch können die leichten Thrombozyten und das Plasma an den Erythrozyten, Leukozyten und größeren Thrombozyten vorbeiziehen. Die Energie, welche die größeren Thrombozyten

durch Kollision mit dem vorbeischießenden kleinen Thrombozyten aufnehmen, reicht zum Teil aus, um diese aus der Leukozytenschicht zu lösen und in die Sammelfraktion zu überführen. Ein erzeugter Gegenstrom, der durch den hohen HKT (> 85 %) der Erythrozyten am Auslassschlauch und die Kammerform bedingt ist, wirkt unterstützend.

Nach der Reinfusion wird der Zentrifugenbeutel von der Zentrifuge abgenommen. Bei der nachfolgenden Thrombozyten-Resuspension werden 30 ml Plasma in die Sammelkammer überführt. Anschließend werden die resuspendierten Thrombozyten in den Lagerungsbeutel gefüllt und mit Plasma und Thrombozyten-Additivlösung (SSP+ Lösung), gemäß des vorgegebenen PAS-Faktors (Wert, der das Verhältnis Plasma/Additivlösung im Thrombozytenkonzentrat vorgibt), versetzt.[76, 79]

Bei der Trima Accel© wird das Vollblut des Spenders gegen den Uhrzeigersinn in einem ständigen Fluss durch nur eine Kammer geleitet. [80] Dadurch werden die einzelnen Bestandteile des Blutes durch Zentrifugalkraft und aufgrund ihrer unterschiedlichen Teilchendichte aufgetrennt. Die korpuskulären Teilchen ordnen sich schichtweise an, wobei eine in der Zone des buffy-coats angebrachte Rille die Auftrennung in Thrombozyten und Leukozyten unterstützt. Anschließend werden die Thrombozyten durch eine sogenannte Leukozytenreduktionskammer (leukocyte reduction system, LRS) geschleust, um die Restmenge an Leukozyten im Thrombozytenpräparat weiter zu reduzieren, bevor es im Auffangbeutel gelagert wird. Dabei wird als letzter Schritt der Sammlung das Thrombozytenpräparat mit Plasma versetzt, bis die gewünschte Thrombozytenkonzentration erreicht ist. Während dieser Phase arbeiten Plasma- und Sammelpumpe zusammen, damit durch die Geschwindigkeitsdifferenz der beiden Pumpen der Durchfluss durch die LRS-Kammer so bestimmt wird, dass eine negative Flussrate in der LRS-Kammer vermeiden wird und daraus folglich eine Verunreinigung des Thrombozytenkonzentrates durch rückfließende Leukozyten. [80]

2.4.2. Pool Thrombozyten

Im Jahr 1980 beschrieb Prins et al. die Entfernung des buffy-coat aus dem Erythrozytenkonzentrat, um eine Mikroaggregatbildung zu verhindern. [81]

1985 publizierte Pietersz et al. über ein Verfahren, welches durch ein Vierfachbeutelssystem und der damit verbundenen buffy-coat Separation die Gewinnung von Thrombozyten ermöglichte. [82]

Grundsätzlich gibt es 2 Verfahren zur Herstellung von Pool-TK. Bei der PRP-Methode wird das Vollblut langsam (soft spin) zentrifugiert und im Rahmen der Auftrennung ein plättchenreiches Plasma (PRP) gewonnen. Die Thrombozyten werden anschließend durch schnelle Zentrifugation (hard spin) im basalen Teil soweit verdichtet, dass durch Abpressen des apikal befindlichen plättchenarmen Plasmas ein TK entsteht.[83]

Das BC-Verfahren, welches am Zentralinstitut für Bluttransfusion der Universitätsklinik in Innsbruck Verwendung findet, ist die in Europa häufigste und ausschließlich angewandte Methode. [84] Die Anzahl der verwendeten buffy-coat Beutel schwankt zwischen 4-6. [85] Der buffy-coat (BC) findet sich nach einer hochtourigen Zentrifugation zwischen dem Plasma (dem sog. PPP = plättchenarmes Plasma) und einer hauptsächlich aus Erythrozyten bestehenden Schicht. Die Bestandteile der Vollblutkonserve werden nach der Separation durch Komponententrennung aufgeteilt.

Der gewonnen buffy-coat enthält ca. 60–90% der Thrombozyten einer Vollbluteinheit vermischt mit Restplasma, Leukozyten und Erythrozyten. Er hat ein Volumen von etwa 50–70 ml. Nach einer Lagerungszeit von mindestens 2 Stunden bei Raumtemperatur können die gewonnenen buffy-coat Beutel weiterverarbeitet werden. Um eine therapeutische Dosis an Thrombozyten zu erhalten, werden 4-6 blutgruppenkompatible BC's zusammengeschweißt und mittels der derzeit in Innsbruck in Verwendung stehenden OrbiSac® der Firma Terumo mit niedriger g-Zahl (480g, 13 min) zentrifugiert, wobei der entstehende Überstand das Pool-TK darstellt.[86, 87]

Dabei wird das Präparat durch einen Leukozytendepletionsfilter in seinen Lagerungsbeutel überführt. Das so entstandene gepoolte Thrombozytenkonzentrat liegt im Bereich von $2,4-4,0 \times 10^{11}$ Thrombozyten, suspendiert in 200 - 400 ml PAS / Plasma Mischung, welche aus 35% Plasma und 65% Additiv besteht.[88] Am Zentralinstitut für Bluttransfusion der Universitätsklinik Innsbruck werden derzeit 5 buffy-coat Beutel zur Gewinnung eines Pool-TK verwendet.

Nachteile dieser Art von Gewinnung sind das damit verbundene erhöhte Infektionsrisiko, sowie unerwünschte Nebenwirkungen, wie die durch das Poolen entstehende Vermischung zahlreicher Alloantigene der einzelnen Spender.[89]

Möchte man die gleiche Menge Thrombozyten transfundieren, so muss man entweder ein Apherese Thrombozytenpräparat mit Infektionsrisiko 1 verwenden oder ein gepooltes Thrombozytenkonzentrat aus 4 bis 5 Spendern mit einem erwarteten 4 bis 5 fachen höheren Infektionsrisiko.

Mehrere Studien haben gezeigt, dass 1 von 1000-2000 Thrombozytenkonzentraten bakteriell kontaminiert ist und jährlich ca. 2000 bis 4000 kontaminierte TK-Präparate transfundiert werden.[90, 91] Ness et al. berichten von einer Sterblichkeitsrate aufgrund eines kontaminierten Thrombozytenkonzentrates von 1:17.000 bei Pool-TK und 1:61.000 bei Apherese-TK.[41, 42, 92-94] Schrezenmeier et al. hingegen kommen in einer Vergleichsstudie zu einem anderem Ergebnis. Dabei wurden 15.000 Apherese-TK und 37.000 Pool-TK auf Kontamination untersucht und es fand sich zwischen beiden Gruppen eine gleiche Anzahl an bestätigten kontaminierten Präparaten. [43] Dies soll auf der bakteriziden Wirkung der Granulozyten während der Zwischenlagerung im Vollblut und im buffy-coat beruhen.[43, 44]

In diesem Zusammenhang wurde ein interessantes Ergebnis von Cortus et al. vorgestellt. Nach beimpfen von jeweils einem Thrombozytenpräparat mit *Escherichia coli* bzw. *Staphylococcus epidermidis*, sowie nach anschließendem Mischen mit jeweils drei sterilen Thrombozytenkonzentraten und folgender Lagerung für 80 h, erwiesen sich drei von acht (*E. coli*) bzw. einer von acht (*St. epidermidis*) Pools als steril. In der Umkehrung bedeutet dieser Befund, dass

durch das Poolen bei 36 von 48 sterilen Thrombozytenkonzentraten Bakterien nachgewiesen werden konnten.[41, 93, 95]

Generell besteht jedoch für gepoolte Thrombozyten immer ein höheres Kontaminationsrisiko mit Bakterien, wie auch höhere Komplikationsraten für den Empfänger als für Einzelspender-Thrombozyten.[96] Die Risiken einer bakteriellen Kontamination konnten jedoch durch die Einführung des pre-donation sample und durch bakteriologische Testung minimiert werden.

Dabei wird nach der Punktion zuerst das für die Testung benötigte Probenmaterial von ca. 40 ml in einem separaten Beutel aufgefangen. Erst nach Abnahme wird das Spenderblut in das weitere Beutelsystem geleitet. Eventuell vorhandene Hautkeime gelangen so in den ersten Probenbeutel und nicht in das Endprodukt. Der Probenbeutel ist fest mit dem Entnahmesystem verbunden, damit das Konzept der sterilen Abnahme nicht verletzt wird. Dieses Verfahren führte zu einer Reduktion der kontaminierenden Hautkeime um 95-98%.[97, 98]

Anders ist die Situation bei Viren und bisher unbekanntem pathogenen Erregern. Hier entsteht durch das Poolen der Präparate aus mehreren potentiell infektiösen Produkten eine Risikoerhöhung beim neu entstandenen Produkt.[44]

Um das Kontaminationsrisiko mit Bakterien und Viren in Thrombozytenkonzentraten erneut zu minimieren bzw. weitgehend auszuschließen, ist es möglich die Thrombozytenkonzentrate mit einem Pathogen Inaktivierungsverfahren zu behandeln. Am Zentralinstitut für Bluttransfusion Innsbruck wird ausschließlich das Verfahren der Firma Cerus© angewandt.

2.5. Der Intercept® Prozess

Das Intercept® Verfahren kann mit Thrombozytenkonzentraten, welche die erforderliche Spezifikation erfüllen, durchgeführt werden. Die Anforderungen an das Produkt sind in Tabelle 2.1 aufgeführt.

Tabelle 2.1: Spezifikationen für Intercept®

Parameter	Einzelkonzentrat LV (Large Volume)	Doppelkonzentrat DS (Dual Set)
Volumen (ml)	300 - 420	300 - 420
Plättchen	$2,5 - 7,0 \times 10^{11}$	$2,5 - 7,0 \times 10^{11}$
Plasma in %	32 - 47 %	32 - 47 %
Erythrozyten	$< 4 \times 10^6 / \text{ml}$	$< 4 \times 10^6 / \text{ml}$

Der Inaktivierungsprozess, den ich bereits 2013 in meiner Diplomarbeit beschrieben habe [99] und hier teilweise wiedergeben möchte, umfasst folgende Schritte:

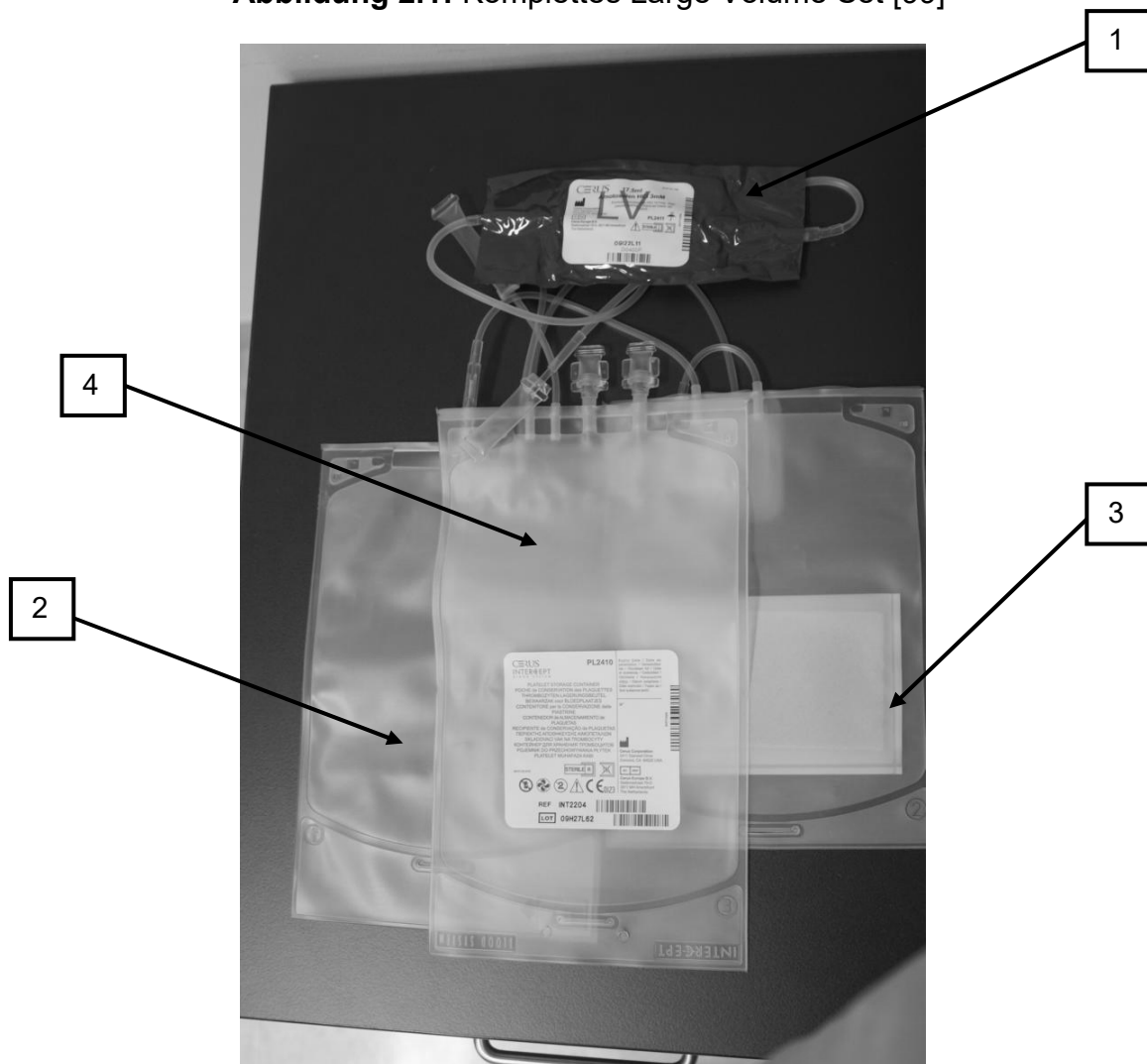
1. Die Zugabe von Amotosalen HCl zum Thrombozytenpräparat
2. Eine 3-6 minütige Bestrahlung mit UVA-Licht
3. Die Reduktion des freien Amotosalen-HCl über eine Adsorptionsmatrix (CAD-Beutel)

Diese Arbeiten erfolgen mit einem Intercept® Set der Firma Cerus. Es handelt sich hierbei um ein steriles, nicht pyrogenes Kunststoff-Bestrahlungsset für den Einmalgebrauch. Es stehen kleinvolumige (SV), großvolumige (LV) und Doppel-Sets (DS) für die Verarbeitung von Thrombozytenkonzentraten zur Verfügung.

Das SV und LV Set besteht aus vier Beuteln für: (Abbildung 2.1)

1. Amotosalen HCl in roter Schutzverpackung
2. Bestrahlungsbeutel
3. Komponenten-Adsorbtionsmatrix (Compound Adsorption Device, CAD)
4. Lagerungsbeutel

Abbildung 2.1: Komplettes Large Volume Set [99]



Ein zu bestrahlendes Thrombozytenkonzentrat (Abbildung 2.2) wird mittels eines sterilen Schweißgerätes (Abbildung 2.3) an ein Intercept®-Set angeschlossen. Der Beutel mit dem Thrombozytenkonzentrat ist hierbei direkt mit dem Amotosalen-HCL Beutel zu verbinden.

Abbildung 2.2: Thrombozytenkonzentrat 345g [99]



Abbildung 2.3: Schweißgerät der Firma Terumo© [99]



Amotosalen-HCl ist in Kochsalz als 3 mMol Lösung vorhanden. Im Amotosalenbeutel befindet sich ein Volumen von 17,5 ml. Für die Wirksamkeit des Intercept®-Prozesses ist eine Amotosalen-Konzentration zwischen 120 und 180 µMol notwendig. Werden nun z.B. 282,5 ml Thrombozytenpräparat zu der 17,5 ml Amotosalen-Lösung zugegeben, beträgt das Endvolumen 300 ml, und die Endkonzentration Amotosalen-HCl liegt bei 175µMol.[100]

Die sterile Schweißnaht wird mit einem desinfizierenden Tupfer geöffnet. (Abbildung 2.4) Die am Intercept®-Set befindlichen Knickventile werden erst unterhalb des Amotosalenbeutels, dann oberhalb des Amotosalenbeutels gebrochen. Dadurch ist eine visuelle Überprüfung des Inhalts des sich im blickdichten Beutel befindlichen Amotosalen möglich. (Abbildung 2.5) Das Thrombozytenkonzentrat fließt nun über den Amotosalenbeutel in den Bestrahlungsbeutel. (Abbildung 2.6) Mittels Handschweißgerät werden die leeren Beutel abgetrennt.

Abbildung 2.4: Öffnen der sterilen Schweißnaht [99]



Abbildung 2.5: Visuelle Überprüfung des Amotosalen [99]



Abbildung 2.6: Überführen des Präparates in den Bestrahlungsbeutel [99]



Nach der Zugabe von Amotosalen-HCl muss das Präparat möglichst zeitnah bestrahlt werden, um einen Abbau des Amotosalen durch UV-Licht zu verhindern. Die Fotoaktivierung wird durch den Intercept® Illuminator durchgeführt. (Abbildung 2.7)

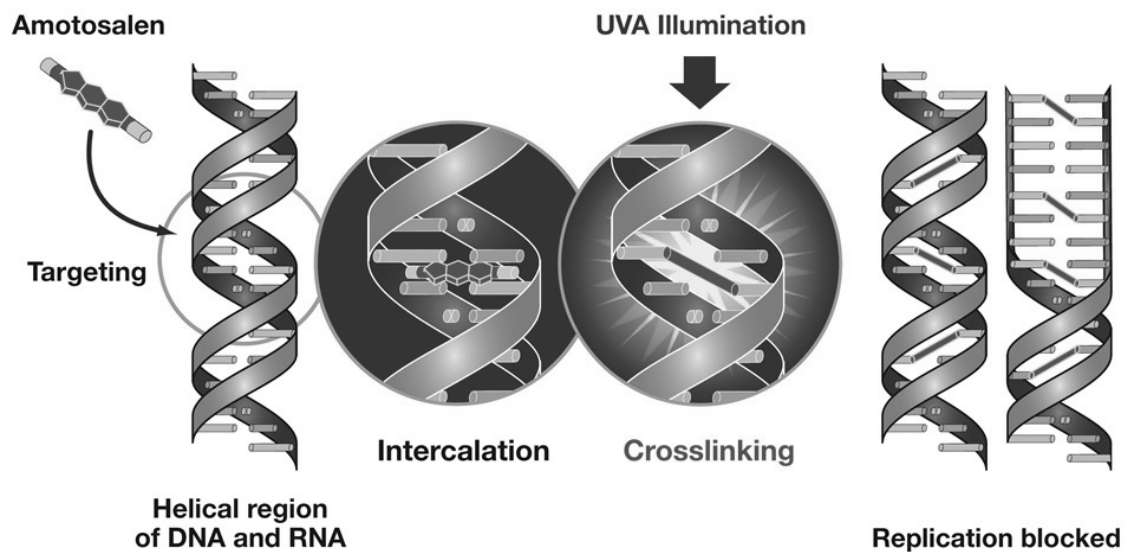
Abbildung 2.7: Illuminator der Cerus© Corporation [99]



Bestrahlt wird durch integrierte Schwarzlicht-Fluoreszenz-Lampen, sowie einem speziellen UV-Glasfilter. Die Behandlung wird durch einen Mikroprozessor, sowie mit im Gerät integrierten Lichtsensoren gesteuert. Ein Verstellen der Intensität der Fluoreszenz Lampen ist bei diesem Verfahren nicht möglich. Daher wird die notwendige Lichtdosierung über eine unterschiedliche Bestrahlungsdauer erreicht.

Abbildung 2.8:

Herstellung der irreversiblen Bindung zwischen den Pyrimidinbasen mittels Amotosalen und UV-A Licht [47]

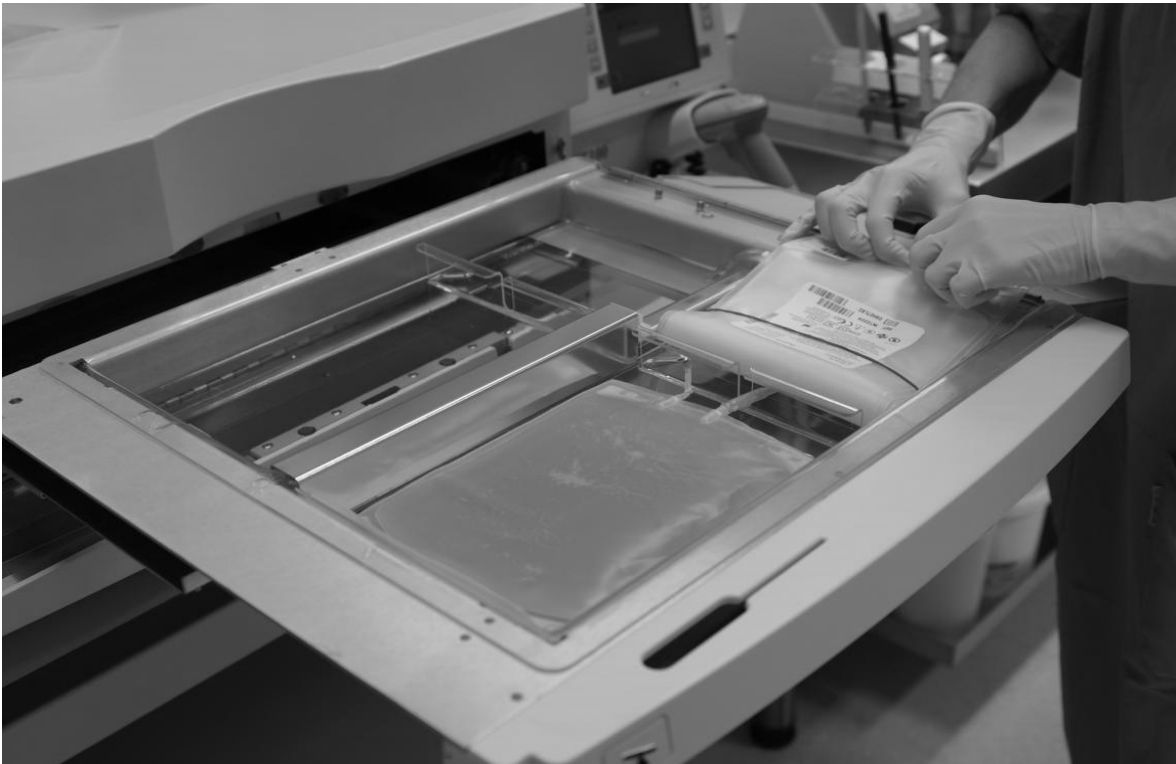


Das mit Amotosalen-HCL versetzte Thrombozytenkonzentrat wird hierbei mit einer gezielten Dosis von 3 J/cm^2 UVA-Licht über ca. 3-6 Minuten bestrahlt. Bei einer Wellenlänge des UV-A Lichtes von 320 – 400 Nanometer geht das Amotosalen eine kovalente Bindung (crosslinking) mit den Pyrimidinbasen der Nukleinsäuren ein. Die dabei entstehende Quervernetzung der Genome von Pathogenen führt zu einem Funktions- bzw. Replikationsverlust. (Abbildung 2.8)

Der Intercept® Illuminator kann in zwei voneinander unabhängigen Bestrahlungskammern jeweils ein Thrombozytenkonzentrat gleichzeitig behandeln. (Abbildung 2.7 und 2.9)

Während des Bestrahlungsvorgangs liegt das Produkt auf einem UVA-durchlässigen Acryl-Tablett unter ständiger Agitation. Hierdurch soll die vollständige Durchmischung des Produktes erreicht werden und somit der gesamte Inhalt der gleichen UVA-Dosis ausgesetzt werden.[101] Die Bestrahlungsdauer beträgt bei Thrombozytenkonzentraten 4 Minuten. Das Ende der Bestrahlungsdauer wird durch ein akustisches Signal gemeldet, worauf eine Haltedauer von 30 Minuten unter weiterer Agitation beginnt. Innerhalb dieser 30 Minuten muss das Produkt entnommen werden und ein Behandlungsprotokoll wird generiert.

Abbildung 2.9: Einlegen des Bestrahlungssets in eine der beiden Kammern [99]



Nach der Bestrahlung im Intercept® Illuminator müssen noch freies Amotosalen und weitere Photoprodukte aus dem Thrombozytenpräparat entfernt werden. Hierfür wird das Produkt in den, bereits am Behandlungsset, vorhandenen CAD Beutel überführt. (Abbildung 2.10) Der Transfer erfolgt hierbei auch durch Aufhängen des Produktes. Nach Öffnen des Knickventils fließt das Konzentrat in den CAD-Beutel. Zuviel Luft im Präparat wird manuell zurück in den Bestrahlungsbeutel gedrückt, der anschließend abgeschweißt wird.

Abbildung 2.10: Überführen des Produktes in den CAD Beutel [99]



Das Thrombozytenpräparat muss nun für die Dauer von mindestens 4 bis maximal 16 Stunden unter Agitation im CAD-Beutel gelagert werden. (Abbildung 2.11) Der sich im CAD-Beutel befindliche Adsorptionswafer besteht aus ca. 5 g Polystyrol-Beads, die in einer Kunststoff-Matrix (PL2410-Matrix) immobilisiert und von einem Polyester-Netz umgeben sind. Darin findet die Adsorption des restlichen Amotosalen und weiterer freier Photoprodukte statt. Somit kann eine Kontamination des Patienten mit diesen Substanzen verhindert werden.[101]

Nach der CAD-Phase wird das Thrombozytenkonzentrat in den Endlagerungsbeutel überführt, wo es bei Raumtemperatur ($22 \pm 2^\circ \text{C}$) unter ständiger Agitation bis zum Ende der Lagerungsdauer aufbewahrt werden kann. (Abbildung 2.12)

Abbildung 2.11: Agitationsphase von 4 bis maximal 16 Stunden [99]



Abbildung 2.12: Bestrahltes Thrombozytenkonzentrat, 7 Tage unter ständiger Agitation haltbar. [99]



3. Patienten und Methoden

Im Folgenden ist zuerst das Kollektiv der Patienten zu charakterisieren. Anschließend werden die Untersuchungszeiträume, sowie die Parameter der retrospektiven Datenerhebung dargestellt.

In erster Linie soll der Thrombozytenverbrauch pro Patient für beide untersuchten Gruppen erfasst werden, sowie als weitere Parameter zur indirekten Identifikation einer erhöhten Blutungsneigung auch der Erythrozyten- und Plasmaverbrauch.

3.1. Patientencharakteristika

Die Auswertung, der für diese Studie relevanten Daten, wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Universität Innsbruck genehmigt.

In dieser retrospektiven Studie wurden die benötigten Parameter aus den Zeiträumen 01.04.2011 und 31.12.2012, sowie 01.04.2013 und 31.12.2014 erfasst und mittels statistischer Methoden untersucht.

In die zwei 21-monatigen Untersuchungszeiträume wurden alle hämatologischen bzw. onkologischen Patienten und Patientinnen eingeschlossen, die am Landeskrankenhaus Innsbruck zwischen 01.04.2011 und 31.12.2012, sowie zwischen 01.04.2013 und 31.12.2014 eine Therapie mit mind. 1 Thrombozytenkonzentrat erhalten haben.

3.2. Transfusionen bei hämatologischen/onkologischen Patienten

Die Therapie mit Thrombozytenkonzentraten erfolgte dabei gemäß den Querschnitts-Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten. Eine wesentliche Änderung der Leitlinie fand zwischen den Untersuchungszeiträumen nicht statt. Nachfolgend ein Auszug aus den Leitlinien der Bundesärztekammer.

Die Patienten werden laut Leitlinie in 4 Gruppen unterteilt.

1. Patienten mit chronischer Thrombozytopenie

Die Thrombozytentransfusion wird bei hämatologischen und onkologischen Patienten mit chronischer und therapierefraktärer Thrombozytopenie empfohlen, bei klinisch manifester Blutung Grad 3 oder Grad 4, vor chirurgischen Eingriffen, sowie prophylaktisch bei Thrombozytenzahlen unter 5000 / μl .

2. Patienten mit erhöhtem Thrombozytenumsatz

Die Thrombozytentransfusion wird bei Patienten mit einem erhöhten Thrombozytenumsatz empfohlen, bei Immunthrombozytopenien im Falle von bedrohlichen Blutungen, bei Patienten mit hämolytisch urämischem Syndrom und bei Patienten mit TTP und bedrohlicher Blutung; nach Ausschöpfung aller anderen therapeutischen Optionen, sowie bei Sepsis und Verbrauchskoagulopathie im Falle bedrohlicher Blutungen.

3. Patienten mit akuter Thrombozytenbildungsstörung durch Chemotherapie

Die Thrombozytentransfusion wird bei Patienten mit akuter Bildungsstörung empfohlen, bei Erwachsenen mit akuter Leukämie, prophylaktisch erst ab einem Thrombozyten Wert unter 10.000 / μl [102-104] oder bei manifesten Blutungen; bei Kindern mit akuter Leukämie, bei denen kein erhöhtes Verletzungsrisiko vorliegt, prophylaktisch erst ab einem Thrombozyten Wert von unter 10.000/ μl oder bei manifesten Blutungen; bei Patienten nach Knochenmarkstransplantation oder Stammzelltransplantation ohne Komplikationen, wie etwa eine schwere Graft-versus-Host-Reaktion oder Mukositis, Cystitis erst ab einem Thrombozyten Wert von unter 10.000 / μl ; oder bei manifesten Blutungen[105-110], sowie bei Patienten mit soliden Malignomen ohne

zusätzlichem Blutungsrisiko, jedoch erst bei einem Thrombozyten Wert unter 10.000/ μl , oder bei manifesten Blutungen.

4. Patienten mit akuter Thrombozytenbildungsstörung und zusätzlichem Blutungsrisiko

Patienten der Gruppe 3 mit zusätzlichem Blutungsrisiko. Bei hämatologischen Krankheiten, aber auch bei Patienten mit soliden Tumoren und Chemotherapie-assoziiierter Thrombozytopenie haben sich bestimmte Risikofaktoren für das Auftreten schwerer Blutungskomplikationen herauskristallisiert:

- Infektionen
- Komplikationen (GvHD)
- klinische Zeichen der Hämorrhagie (z.B. petechiale Blutungen)
- Fieber über 38° C
- Leukozytose
- plasmatische (pro-hämorrhagische) Gerinnungsstörung
- steiler Thrombozytenzahlabfall
- vorbestehende Nekrosebereiche

Es wird empfohlen bei Patienten mit zusätzlichen Risikofaktoren bei einem Thrombozyten-Wert von unter 20.000/ μl , sowie bei manifesten Blutungen zu transfundieren.

3.3. CCI und PPR

Um ein Ansprechen des Patienten auf die erfolgte Transfusion zu überprüfen, wird beim Empfänger der Anstieg der Thrombozyten im peripheren Blut gemessen. Dieser Anstieg wird als Inkrement bezeichnet. Bei der Transfusion einer therapeutischen Einheit wird mit einem Inkrement von 20 – 40 / nL gerechnet.[111]

Der „corrected count increment“ (CCI) berücksichtigt die Abhängigkeit des Thrombozytenanstiegs von der Körperoberfläche des Empfängers und der

Dosis der transfundierten Thrombozyten. Das CCI stellt eine Maßzahl dar und kann entweder innerhalb der ersten Stunde nach Transfusion (1h-CCI) oder nach 18 – 24 h (24h-CCI) bestimmt werden. [106] Nach einer Stunde sollte das CCI mindestens 7.500 betragen, nach 20 Stunden noch mindestens 4.500.

Um bei einem Anstieg der Thrombozyten auch den Milzspeicher zu berücksichtigen, lässt sich die in Prozenten gemessene und korrigierte Wiederfindungsrate („percent platelet recovery“, PPR) berechnen. [112]

3.4. Indikationsstellung für Transfusionen

Die Bereitstellung eines Thrombozytenkonzentrates durch das Zentralinstitut für Bluttransfusion der Universitätsklinik Innsbruck erfolgt ausschließlich nach Anforderung der jeweiligen Station. Dabei werden unter Bedacht der Querschnitts-Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten Präparate bestellt. Während der beiden zu vergleichenden Zeiträume wurden keine Änderungen dieser Richtlinien durchgeführt, die eine Verfälschung der Datenauswertung mit sich führen würden.

3.5. Auswahl der Präparate – Die ABO Blutgruppe und der Rhesus D

Bei der Auswahl des passenden Präparates ist auf die Blutgruppe von Spender und Präparat zu achten, obwohl die Glykosidstruktur für A und B auf Thrombozyten nur sehr schwach nachweisbar ist. [113-115] Bei einer nicht kompatiblen Transfusion ist die Wiederfindungsrate (Recovery) von Thrombozyten um ca. 30-40% reduziert [116-118] und nimmt mit zunehmender Anzahl inkompatibler Transfusionen weiter ab. [119] Diese sogenannte Major Inkompatibilität liegt dann vor, wenn das Thrombozytenkonzentrat für den Empfänger ABO inkompatibel ist. Eine Minor Inkompatibilität hingegen liegt vor, wenn das Plasma in dem die Thrombozyten suspendiert sind, für den Empfänger inkompatibel ist. Bei einer Minor-inkompatiblen Thrombozytentransfusion ist die Wiederfindungsrate um ca. 18% reduziert.[117, 120]

Hämatologisch-onkologische Patienten mit positivem AB0-Match für eine Thrombozytentransfusion zeigten in kleineren Studien ein längeres Überleben der Thrombozyten, als Patienten mit einer Transfusion und einem negativen AB0-Match. [119-122]

Unvermeidlich sind Restzellen, wozu auch Erythrozyten zählen. Diese Resterythrozyten sollten mit maximal $< 3 \times 10^9$ / Einheit nachweisbar sein.[123] Untersuchungen zeigten, dass die Häufigkeit einer Antikörperbildung gegen das Antigen D bei Transfusion von Rh-D positiven Thrombozytenkonzentraten bei Rh-D negativen Patienten bis zu 19% betrug.[124-126] Bei zwei kleineren Studien mit hämatologisch-onkologischen Patienten konnte keine Antikörper D Bildung nach Rhesus positiver Thrombozytentransfusion beobachtet werden.[127, 128] Es wird davon ausgegangen, dass die Chemotherapien für die niedrigeren Immunisierungsraten verantwortlich sind. Aufgrund dieser Tatsache sollte auch der Rhesusfaktor D berücksichtigt werden.

3.6. Untersuchungszeitraum

Um vergleichbare Ergebnisse zu erhalten, wurde der ausgewertete Zeitraum angeglichen und erstreckt sich über jeweils 21 Monate. Der Zeitraum vor Einführung der Pathogeninaktivierung umfasst in der Kontrollgruppe (C) verabreichte Thrombozytentransfusionen zwischen dem 01.04.2011 und dem 31.12.2012. Das zweite Untersuchungsfenster in der Testgruppe (T), nach Einführung der Pathogeninaktivierung, liegt zwischen dem 01.04.2013 und dem 31.12.2014.

3.7. Untersuchungsparameter (Zielgrößen)

Die Untersuchungsparameter wurden in Haupt-, und Nebenzielgrößen aufgeteilt. Es soll die Anzahl der Thrombozytenkonzentrate pro Patient, welcher durch eine hämatologische bzw. onkologische Erkrankung einen chronischen Transfusionsbedarf hat, erfasst werden. Die erfassten Daten der gewählten Zeiträume sollen miteinander verglichen werden.

Ein wesentlicher Aspekt dabei ist der Vergleich der beiden Zeiträume auf Unterschiede in der Auswahl und des Alters des Präparates.

Hauptzielparameter:

- ❖ Anzahl Thrombozytenkonzentrate pro Patient
- ❖ chronischer Transfusionsbedarf (Thrombozytenkonzentrat)
- ❖ Vergleich der gewählten Zeiträume auf Unterschiede
 - ◆ AB0- Übereinstimmung in beiden Zeiträumen
 - ◆ Rhesus D Übereinstimmung in beiden Zeiträumen
 - ◆ Alter der Präparate zum Zeitpunkt der Transfusion

Darüber hinaus soll zusätzlich der Verbrauch an weiteren Blutprodukten (Erythrozyten- und Plasmaverbrauch) pro Patient erfasst werden und in den Vergleichszeiträumen miteinander verglichen werden. Dies dient als Parameter zur indirekten Identifikation einer erhöhten Blutungsneigung.

Nebenzielparameter:

- ❖ Verbrauch an zusätzlichen Erythrozytenkonzentraten
- ❖ Verbrauch an zusätzlichen Plasmakonzentraten
- ❖ Transfusionsreaktionen

3.8. Datenerhebung und Auswertung

Es handelt sich um eine retrospektive Datenanalyse unter Verwendung der elektronischen Datenbank des Zentralinstituts für Bluttransfusion der Universitätsklinik Innsbruck. Die Auswahl der hämatologischen bzw. onkologischen Patienten und Patientinnen erfolgt aufgrund der Tatsache, dass diese in den ausgewählten Beobachtungszeiträumen mindestens 1 Thrombozytentransfusion erhalten haben.

Eine Verknüpfung zwischen Patient und Datensatz ist nur über die Software des Zentralinstitutes für Bluttransfusion der Universitätsklinik Innsbruck möglich, da nur in dieser Software die Produktnummer des Präparates mit dem Patienten verknüpft ist. Es ist daher nur allen berechtigten Mitarbeitern des Zentralinstituts für Bluttransfusion und Immunologischer Abteilung der Universitätsklinik Innsbruck möglich, die Daten zu verknüpfen und die Identität des Patienten festzustellen.

Die retrospektive Datenerhebung und Auswertung wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Universität Innsbruck unter der Studienkennzahl AN 2015-0251 335/4.5 genehmigt.

Die Auswertung erfolgte unter Verwendung der Software SAS mit Unterstützung eines Statistikers der Firma Cerus© mittels deskriptiver Statistik. Für numerische Daten wurden – abhängig von der Verteilung – Mittelwert und Standardabweichung berechnet. Zusätzlich wurde auch der Median bestimmt, da durch diesen eventuelle Ausreißer der Patientenkollektive, welche den Mittelwert stark beeinflussen, besser erfasst werden können. Kategorische Daten werden als absolute und relative Häufigkeiten dargestellt. Für die Berechnung des p-Werts wurde der t-Test für unverbundene, normalverteilte Stichproben herangezogen. Das Signifikanzniveau wurde bei 5% festgelegt.

3.9. Herstellungsdaten im Vergleich der Zeiträume

Die Grundlage für diese Studie stellen die hergestellten Thrombozytenkonzentrate des Zentralinstitutes für Bluttransfusion der Universitätsklinik Innsbruck dar. Für die erhobenen Parameter dieser Arbeit ist es unerlässlich, dass die Produkte in beiden Untersuchungszeiträumen durch ihren Yield und ihr Volumen möglichst gleiche Ausgangsbedingungen bieten. Am Zentralinstitut für Bluttransfusion der Universitätsklinik Innsbruck werden Einzel- und Doppel-Thrombozytenkonzentrate hergestellt, welche jeweils einen Yield von mindestens 2.5×10^{11} pro Einzelprodukt aufweisen.

Durch Einführung der Inaktivierung musste das Volumen unter Vorgabe der Firma Cerus© festgelegt werden. Dieses soll bei jedem Thrombozytenpräparat, unter Verwendung eines DS oder LV Sets, des Intercept® Prozesses in einem Rahmen von 300 bis 420 ml liegen, um eine korrekte Bestrahlung gewährleisten zu können.

Für beide Zeiträume wurden der Yield und das Volumen der Apherese Präparate erfasst und in den folgenden Tabellen als Mittelwert, Standardabweichung und Median dargestellt. (Tabelle 3.1 und 3.2)

Tabelle 3.1: Volumen Thrombozytenkonzentrate (Alle)

Volumen (ml)	Prä-IBS	Post-IBS
Anzahl (N)	5511	4046
Mittelwert	389,8	392,4
Standardabweichung	65,2	26,6
Median	401,0	402,0
Volumen (ml) Einzelpräp.	Prä-IBS	Post-IBS
Anzahl (N)	1549	866
Mittelwert	332,2	365,8
Standardabweichung	56,0	31,6
Median	320,0	350,0
Volumen (ml) Doppelpräp.	Prä-IBS	Post-IBS
Anzahl (N)	3507	2411
Mittelwert	416,0	401,9
Standardabweichung	47,0	15,7
Median	408,0	405,0

Dadurch kann belegt werden, dass sich die Ausgangsprodukte im Volumen für beide Gruppen nicht unterscheiden. Zusätzlich wurde in Tabelle 3.2 der Yield für beide Zeiträume erfasst. Auch hierbei wurden Mittelwert, Standardabweichung und Median berechnet. Vor allem eine signifikante Erhöhung des Yield bzw. des Volumens in der Testgruppe kann damit ausgeschlossen werden.

In der Kontrollgruppe (C) wurden insgesamt 5511 Präparate mittels Apherese hergestellt. Das Volumen betrug ($M \pm SD$) 389.8 ml \pm 65.2 ml, der Median lag bei 401 ml. Davon waren 1549 Single Dose Präparate mit einem Volumen von 332.2 ml \pm 56.0 ml und 3507 Double Dose Präparate mit einem mittleren Volumen von 416 ml \pm 47.0 ml. (Tabelle 3.1)

In der Testgruppe (T), nach Einführung der Pathogeninaktivierung (01.04.2013 bis 31.12.2014) wurden insgesamt 4046 Thrombozytenkonzentrate durch Apherese gewonnen. Das berechnete mittlere Volumen lag bei 392.4 ml \pm 26.6 ml. Davon waren 866 Single Dose Präparate mit einem Volumen von 365.8 ml \pm 31.6 ml und 2411 Double Dose Präparate mit einem mittleren Volumen von 401.9 ml \pm 15.7 ml (Tabelle 3.1)

Tabelle 3.2: Thrombozytenausbeute / Präparat (Alle)

Yield	Prä-IBS	Post-IBS
Anzahl (N)	5511	4046
Mittelwert	5,8	5,8
Standardabweichung	1,9	2,5
Median	5,7	5,6
Yield - Einzelpräparat	Prä-IBS	Post-IBS
Anzahl (N)	1549	866
Mittelwert	4,1	4,0
Standardabweichung	0,7	1,9
Median	4,2	5,9
Yield - Doppelpräparat	Prä-IBS	Post-IBS
Anzahl (N)	3507	2411
Mittelwert	6,3	6,3
Standardabweichung	0,8	0,8
Median	6,3	6,3

Bei der Erfassung des Yield (Tabelle 3.2) konnten in der Kontrollgruppe, bei den 5511 Präparaten, ein Wert von $5.8 \times 10^{11} \pm 1.9 \times 10^{11}$ und ein Median von 5.7 berechnet werden. 1549 Single Dose Einheiten hatten im Mittel einen Yield von $4.1 \times 10^{11} \pm 0.7 \times 10^{11}$ und 3507 Double Dose Thrombozytenkonzentrate lagen bei $6.3 \times 10^{11} \pm 0.8 \times 10^{11}$.

Ähnlich verhielt es sich in der Testgruppe mit 4046 Produkten, bei der ein Mittelwert von $5.8 \times 10^{11} \pm 2.5 \times 10^{11}$ errechnet wurde. Der Median lag bei 5.6. Bei 866 Single Dose Einheiten betrug der Mittelwert $4.0 \times 10^{11} \pm 1.9 \times 10^{11}$ und bei 2411 Double Dose Thrombozytenkonzentraten erhielten wir einen Mittelwert von $6.3 \times 10^{11} \pm 0.8 \times 10^{11}$.

Um unter- bzw. übergewichtige Präparate, die damit auch die Erfordernisse zur Inaktivierung nicht erfüllten aus der Berechnung auszuklammern, wurde in Tabelle 3.3 und Tabelle 3.4 die Volumens grenzen der Firma Cerus© berücksichtigt. Somit werden in den folgenden Tabellen nur Produkte abgebildet, die aufgrund von Yield und Volumen für eine Inaktivierung in Frage gekommen sind.

Tabelle 3.3: Volumen Thrombozytenkonzentrate (Intercept®)

Volumen (ml)	Prä-IBS	Post-IBS
Anzahl (N)	3718	3192
Mittelwert	380,0	392,0
Standardabweichung	37,7	25,9
Median	401,0	401,0
Volumen (ml) Einzelpräp.	Prä-IBS	Post-IBS
Anzahl (N)	1160	857
Mittelwert	346,0	390,0
Standardabweichung	37,4	31,1
Median	333,0	402,0
Volumen (ml) Doppelpräp.	Prä-IBS	Post-IBS
Anzahl (N)	2555	2336
Mittelwert	395,0	393,0
Standardabweichung	26,2	23,7
Median	401,0	402,0

Tabelle 3.4: Thrombozytenausbeute / Präparat (Intercept®)

Yield	Prä-IBS	Post-IBS
Anzahl (N)	3718	3192
Mittelwert	5,6	5,7
Standardabweichung	1,2	1,3
Median	5,7	5,8
Yield - Einzelpräparat	Prä-IBS	Post-IBS
Anzahl (N)	1160	857
Mittelwert	4,2	4,0
Standardabweichung	0,6	0,7
Median	4,4	4,1
Yield - Doppelpräparat	Prä-IBS	Post-IBS
Anzahl (N)	2555	2336
Mittelwert	6,2	6,3
Standardabweichung	0,8	0,8
Median	6,1	6,3

4. Ergebnisse

4.1. Demographische Daten

In der Kontrollgruppe wurden am Zentralinstitut für Bluttransfusion der Universitätsklinik Innsbruck insgesamt 522 Patienten mit mindestens 1 Thrombozytenpräparat versorgt.

Davon waren 304 männlich (58.2 %) und 218 weiblich (41.8 %). Der berechnete Mittelwert ($M \pm SD$) lag bei 44.9 ± 27.5 Jahren, der Median bei 53.0 Jahren. In diesem Zeitraum wurden insgesamt 5126 Thrombozytenkonzentrate an hämatologische bzw. onkologisch erkrankte Patienten und Patientinnen verabreicht.

In der Testgruppe, nach Einführung der Pathogeninaktivierung, wurden insgesamt 452 Patienten mit mindestens 1 Thrombozytenpräparat versorgt.

Davon waren 270 männlich (59.7 %) und 182 weiblich (40.3 %). Der berechnete Mittelwert ($M \pm SD$) lag bei 44.7 ± 27.3 Jahren, der Median bei 52.0 Jahren. In diesem Zeitraum wurden insgesamt 4070 Thrombozytenkonzentrate an hämatologisch bzw. onkologisch erkrankte Patienten und Patientinnen verabreicht. (Tabelle 4.1)

Tabelle 4.1: Patientencharakteristika

	Auswertung pro Patient		Auswertung pro Transfusion	
	Prä-IBS	Post-IBS	Prä-IBS	Post-IBS
	N = 522	N = 452	N = 5126	N = 4070
Geschlecht				
Weiblich	218 (41,8 %)	182 (40,3 %)	2067 (40,3 %)	1677 (41,2 %)
Männlich	304 (58,2 %)	270 (59,7 %)	3059 (59,7 %)	2393 (58,8 %)
Summe	522 (100 %)	452 (100 %)	5126 (100 %)	4070 (100 %)
Alter (Jahre)				
Anzahl (N)	522	452	5126	4070
Mittelwert	44,9	44,7	45,9	47,5
Standardabweichung	27,5	27,3	24,3	22,1
Median	53,0	52,0	54,0	53,0
Min - Max	0 - 93	0 - 90	0 - 93	0 - 90
< 1 Jahr	46 (8,8 %)	42 (9,3 %)	115 (2,2 %)	130 (3,2 %)
1 bis 18 Jahre	88 (16,9 %)	70 (15,5 %)	993 (19,4 %)	368 (9,0 %)
19 bis 65 Jahre	246 (47,1 %)	216 (47,8 %)	2798 (54,6 %)	2709 (66,6 %)
> 65 Jahre	142 (27,2 %)	124 (27,4 %)	1220 (23,8 %)	863 (21,2 %)
Summe	522 (100 %)	452 (100 %)	5126 (100 %)	4070 (100 %)
Blutgruppe				
A	225 (43,1 %)	185 (40,9 %)	2389 (46,6 %)	1500 (36,9 %)
AB	26 (5 %)	25 (5,5 %)	328 (6,4 %)	239 (5,9 %)
B	69 (13,2 %)	57 (12,6 %)	596 (11,6 %)	751 (18,5 %)
O	202 (38,7 %)	185 (40,9 %)	1813 (35,4 %)	1580 (38,8 %)
Summe	522 (100 %)	452 (100 %)	5126 (100 %)	4070 (100 %)
Rhesus Status				
Positiv	421 (80,7 %)	360 (79,6 %)	4011 (78,2 %)	3321 (81,6 %)
Negativ	101 (19,3 %)	92 (20,4 %)	1115 (21,8 %)	749 (29,3 %)
Summe	522 (100 %)	452 (100 %)	5126 (100 %)	4070 (100 %)
ABO Match				
Match	384 (73,6 %)	326 (72,1 %)	3808 (74,3 %)	2877 (70,7 %)
Mismatch	138 (26,4 %)	126 (27,9 %)	1318 (25,7 %)	1193 (29,3 %)
Summe	522 (100 %)	452 (100 %)	5126 (100 %)	4070 (100 %)

Die untersuchten Zeiträume zeigen, im Verhältnis zueinander, eine annähernd gleiche Verteilung des Geschlechtes, des Alters, der Blutgruppe, des Rhesus Status und des ABO-Match Status.

Ein weiterer wesentlicher Faktor zur Beurteilung des Ansprechens einer Transfusion ist das Alter des Thrombozytenkonzentrates zum Zeitpunkt der Übertragung auf den Patienten. Daher wurde in Tabelle 4.2 das Alter des Präparates zum Zeitpunkt der Ausgabe bzw. der Transfusion erfasst.

Das Durchschnittsalter der Präparate lag im Mittel bei 3.6 Tagen (Kontrollgruppe) bzw. 3.9 Tagen (Testgruppe), die Standardabweichung bei 1.4 bzw. 1.6.

In der Kontrollgruppe erhielten 463 (88.7%) Patienten 4612 (90%) Präparate, die nicht älter als 5 Tage waren. 59 (11.3%) Patienten erhielten 514 (10%) Präparate, welche älter als 5 Tage waren.

In der Testgruppe erhielten 364 (80.5%) Patienten 3346 (82.2%) Präparate, die nicht älter als 5 Tage waren. 88 (19.5%) Patienten erhielten 724 (17.8%) Präparate, mit einem Alter > 5 Tage.

Die zu beobachtende Verschiebung des Durchschnittsalters in der Testgruppe lässt sich durch die Umstellung der Lagerungsdauer von 5 auf 7 Tage erklären.

Die maximale Lagerungsdauer beträgt 7 Tage nach Entnahme, wobei der Tag der Entnahme als Tag 1 gilt. [129]

Tabelle 4.2: Alter der Thrombozytenkonzentrate

	Auswertung pro Patient		Auswertung pro Transfusion	
	Prä-IBS	Post-IBS	Prä-IBS	Post-IBS
	N = 522	N = 452	N = 5126	N = 4070
Alter Thrombozytenkonz.				
Mittelwert	3,6	3,9	3,5	3,8
Standardabweichung	1,4	1,6	1,4	1,6
Median	4,0	4,0	3,0	4,0
Min - Max	1,0 - 7,0	1,0 - 7,0	1,0 - 7,0	1,0 - 7,0
<= 5 Tage alt	463 (88,7 %)	364 (80,5 %)	4612 (90,0 %)	3346 (82,2 %)
> 5 Tage alt	59 (11,3 %)	88 (19,5 %)	514 (10,0 %)	724 (17,8 %)
Summe	522 (100 %)	452 (100%)	5126 (100 %)	4070 (100 %)

Der Gesamtverbrauch an Thrombozytenkonzentraten im jeweiligen Zeitraum wird in Tabelle 4.3 dargestellt. Der wichtigste Hauptzielparameter ist somit der Verbrauch an Präparaten pro Patient. Die Gleichwertigkeit der Ausgangsprodukte wurde bereits unter Punkte 3.9 (Seite 43 ff.) beschrieben.

In der Kontrollgruppe errechneten wir einen Mittelwert von 9.8 Präparaten, eine Standardabweichung von 15.7 und einen Median von 4.0.

Ähnlich verhält es sich in der Testgruppe mit einem Mittelwert von 9.0 Präparaten, einer Standardabweichung von 15.3 und einen Median von 4.0.

Auch bei der Anzahl der verabreichten Präparate pro Patient zeichnet sich zwischen beiden Untersuchungszeiträumen kein großer Unterschied im prozentualen Verhältnis ab.

Desweiteren wurden die Therapiezyklen pro Patient erfasst, wobei ein transfusionsfreies Intervall von 5 Tagen einen Zyklus abschließt. Innerhalb der Therapiezyklen wurden außerdem die Tage zwischen erster und zweiter Thrombozytentransfusion berechnet.

In der Kontrollgruppe lag der Mittelwert bei 2.6 Zyklen, die Standardabweichung bei 2.7 und der Median bei 1.0.

Das Intervall, zwischen erster und zweiter Transfusion, ergab einen Mittelwert von 1.5 Tagen, eine Standardabweichung von 0.9 und ein Median von 1.5.

In der Testgruppe ergab der Mittelwert 2.3 Zyklen, die Standardabweichung 2.7 und der Median 1.0.

Im Intervall zwischen zwei Transfusionen wurde ein Mittelwert von 1.5 Tagen, eine Standardabweichung von 0.8 und ein Median von 1.3 berechnet.

Table 4.3: Transfundierte Thrombozytenkonzentrate

	Auswertung pro Patient	
	Prä-IBS	Post-IBS
	N = 522	N = 452
Anzahl erhaltener Thrombozytentransfusionen		
Mittelwert	9,8	9,0
Standardabweichung	15,7	15,3
Median	4,0	4,0
Min - Max	1 - 130	1 - 146
1	133 (25,5 %)	130 (28,8 %)
2	83 (15,9 %)	53 (11,7 %)
3 bis 5	81 (15,5 %)	100 (22,1 %)
6 bis 10	83 (15,9 %)	64 (14,2 %)
11 bis 20	76 (14,6 %)	56 (12,4 %)
21 bis 30	30 (5,7 %)	20 (4,4 %)
> 30	36 (6,9 %)	29 (6,4 %)
Summe	522 (100 %)	452 (100 %)
Transfusionszyklen* (5-Tages Intervall)		
Mittelwert	2,6	2,3
Standardabweichung	2,7	2,7
Median	1,0	1,0
Tage zwischen 1. und 2. Thrombozytentransfusion innerhalb eines Zyklus		
Mittelwert	1,5	1,5
Standardabweichung	0,9	0,8
Median	1,5	1,3

Um einen indirekt erhöhten Transfusionsbedarf festzustellen wurde als Nebenzielparameter der Verbrauch an Erythrozyten- und Plasmakonzentraten pro Patient erfasst und ausgewertet.

In Tabelle 4.4 und Tabelle 4.5 wurde zunächst unterschieden, ob eine Transfusion mit Erythrozyten bzw. Plasma bei den erfassten Patienten notwendig war. In weiterer Folge wurde die Anzahl der verabreichten Transfusionen mit der Zahl (N) der gesamten Gruppe berechnet, sowie mit der Gruppe der Patienten, welche zumindest eine Erythrozyten- bzw. Plasmatransfusion erhalten haben.

In der Kontrollgruppe benötigten von den 522 Patienten 476 eine Erythrozytentransfusion. Auf die Gesamtzahl der Patienten bezogen ergab sich ein Mittelwert von 13.7, eine Standardabweichung von 18.8 und ein Median von 8.0 Präparaten. Bezogen auf die 476 Patienten die tatsächlich eine Transfusion erhielten, ergibt sich ein Mittelwert von 15.0, eine Standardabweichung von 19.2 und ein Median von 8.5 Präparaten.

In der Testgruppe erhielten von den 452 Patienten 403 eine Erythrozytentransfusion. Auf die Gesamtzahl der Patienten bezogen ergab sich ein Mittelwert von 13.0, eine Standardabweichung von 17.0 und ein Median von 8.0 Präparaten. Bezogen auf die 403 Patienten die tatsächlich eine Transfusion erhielten, ergibt sich ein Mittelwert von 14.6, eine Standardabweichung von 17.4 und ein Median von 9.0 Präparaten.

Tabelle 4.4: Transfundierte Erythrozytenkonzentrate

	Auswertung pro Patient	
	Prä-IBS	Post-IBS
	N = 522	N = 452
Erythrozytenkonzentrate erhalten		
Ja	476 (91,2 %)	403 (89,2 %)
Nein	46 (8,8 %)	49 (10,8 %)
Summe	522 (100 %)	452 (100 %)
Anzahl transfundierter Erythrozytenkonzentrate		
Anzahl (N)	522	452
Mittelwert	13,7	13,0
Standardabweichung	18,8	17,0
Median	8,0	8,0
Anzahl transfundierter Erythrozytenkonzentrate		
Anzahl (N)	476	403
Mittelwert	15,0	14,6
Standardabweichung	19,2	17,4
Median	8,5	9,0

Ähnliche Werte ergaben sich bei den Plasmakonzentraten. In der Kontrollgruppe benötigten von den 522 Patienten 160 eine Plasmatransfusion. Auf die Gesamtzahl der Patienten bezogen ergab sich ein Mittelwert von 4.4, eine Standardabweichung von 17.0 und ein Median von 0.0 Präparaten. Bezogen auf die 160 Patienten, die tatsächlich eine Transfusion erhielten, ergab sich ein Mittelwert von 14.4, eine Standardabweichung von 28.4 und ein Median von 5.0 Präparaten.

In der Testgruppe erhielten von den 452 Patienten 105 eine Plasmatransfusion. Auf die Gesamtzahl der Patienten bezogen, ergab sich ein Mittelwert von 2.1, eine Standardabweichung von 8.2 und ein Median von 0.0 Präparaten. Bezogen auf die 105 Patienten die tatsächlich eine Transfusion erhielten, ergab sich ein Mittelwert von 9.1, eine Standardabweichung von 15.2 und ein Median von 5.0 Präparaten.

Tabelle 4.5: - Transfundierte Plasmakonzentrate

	Auswertung pro Patient	
	Prä-IBS	Post-IBS
	N = 522	N = 452
Plasmakonzentrate erhalten		
Ja	160 (30,7 5)	105 (23,2 %)
Nein	362 (69,3 %)	347 (76,8 %)
Summe	522 (100 %)	452 (100 %)
Anzahl transfundierter Plasmakonzentrate		
Anzahl (N)	522	452
Mittelwert	4,4	2,1
Standardabweichung	17,0	8,2
Median	0,0	0,0
Anzahl transfundierter Plasmakonzentrate		
Anzahl (N)	160	105
Mittelwert	14,4	9,1
Standardabweichung	28,4	15,2
Median	5,0	5,0

Ein weiterer Nebenzielparameter waren die Transfusionsreaktionen (TR) nach Gabe eines Thrombozytenkonzentrates. In der Kontrollgruppe wurde bei 22 (4.2%) von den 522 Patienten eine Transfusionsreaktion gemeldet und als solche bestätigt. In der Testgruppe wurde bei 20 (4,4%) von den insgesamt 452 Patienten eine TR gemeldet

Tabelle 4.6: Transfusionsreaktionen

Transfusionsreaktionen	Auswertung pro Patient		Auswertung pro Transfusion	
	Prä-IBS	Post-IBS	Prä-IBS	Post-IBS
	N = 522	N = 452	N = 5126	N = 4070
Bestätigt JA	22 (4,2 %)	20 (4,4 %)	30 (0,6 %)	21 (0,5 %)
Bestätigt NEIN	380 (72,8 %)	334 (73,9 %)	4874 (95,1 %)	3872 (95,1 %)
Unbekannt	120 (23,0 %)	98 (21,7 %)	222 (4,3 %)	177 (4,3 %)
Summe	522 (100 %)	452 (100 %)	5126 (100 %)	4070 (100 %)

5. Diskussion

Ausgehend von der Studienhypothese, dass sich in beiden Gruppen keine signifikanten Unterschiede bezüglich Verbrauch an Thrombozytenkonzentraten pro Patient statistisch nachweisen lassen, sollen nun auf Grundlage der erhobenen Daten die Ergebnisse beurteilt werden. Die Auswertung erfolgte mittels deskriptiver Statistik. Das Signifikanzniveau wurde mit 5% festgelegt, somit würde ein p-Wert $> 0,05$ darauf hindeuten, dass zwischen den verglichenen Gruppen ein Unterschied nicht als signifikant betrachtet wird.

In den letzten Jahren publizierte Studien konnten zeigen, dass durch Einsatz der Pathogeninaktivierung die Sicherheit von Blutkomponenten erhöht werden konnte, und das Risiko der Übertragung von potentiell gefährdenden Pathogenen für den Empfänger reduziert wurde. [131-134]

Einige Studien, vor allem die Sprint Studie aus dem Jahr 2004, zeigen mit den erhobenen Daten ein verringertes Corrected Count Increment (CCI) bei den Pathogen inaktivierten Thrombozytenkonzentraten (PIT) gegenüber der Kontrollgruppe (C) der nicht inaktivierten Thrombozytenkonzentraten (11.1×10^3 vs. 16.0×10^3 ; PIT vs. C, $p < 0,001$). Zusätzlich ergab sich ein erhöhter Bedarf an Präparaten (8.4 vs. 6.2; PIT vs. C, $p < 0,001$), bzw. eine verkürzte Zeitspanne zwischen den Transfusionen (1.9 Tage vs. 2.4 Tage, PIT vs. C, $p < 0,001$) bei jenen Patienten, die mit pathogeninaktivierten Thrombozyten versorgt wurden.

Bei der im Jahr 2003 veröffentlichten EuroSprite Studie mit 103 Patienten zeigten sich zwar sowohl bei den inaktivierten (PIT), als auch bei nicht inaktivierten (C) Thrombozytenkonzentraten keine signifikanten Unterschiede zwischen dem 1-Stunden CCI ($13.1 \times 10^3 \pm 5.4 \times 10^3$ vs. $14.9 \times 10^3 \pm 6.2 \times 10^3$; PIT vs. C, $p = 0,11$) und dem 24-Stunden CCI ($7.4 \times 10^3 \pm 5.5 \times 10^3$ vs. $10.6 \times 10^3 \pm 7.1 \times 10^3$; PIT vs. C, $p = 0,02$), jedoch ergab sich ein Unterschied in der Anzahl der transfundierten Plättchen pro Einheit, der Lagerungsdauer und der Patientenkollektive ($p < 0,001$). [12, 13]

Unsere Daten, aus dem Routinebetrieb erhoben, können die aus den erwähnten Studien gewonnenen Ergebnisse nicht bestätigen. Im Vergleich der beiden 21-monatigen Untersuchungszeiträume wurden die demographischen Daten von 522 Patienten der Kontrollgruppe (C) und 452 Patienten der Testgruppe (T) berechnet. Sowohl beim Geschlecht (58.2% m. / 41.8% w. vs. 59.7% m. / 40.3% w.; C vs. T, $p = 0,27$), als auch beim durchschnittlichen Lebensalter (44.9 ± 27.5 vs. 44.7 ± 27.3 ; C vs. T, $p = 0,91$) waren keine signifikanten Unterschiede zu beobachten.

Wenngleich aus der Auswertung der Routedaten keine lückenlose Dokumentation des CCI zur Verfügung stand, deutet das Fehlen eines signifikanten Unterschiedes in der Gesamtzahl an transfundierten Thrombozyten pro Patient in beiden Gruppen auf eine Gleichwertigkeit der Präparate hin. (9.8 ± 15.7 vs. 9.0 ± 15.3 , C vs. T, $p = 0,41$).

Ein weiterer Parameter stellt die Anzahl der benötigten Therapiezyklen dar, wobei bei unseren Berechnungen ein Zyklus als abgeschlossen gilt, wenn ein Patient über 5 Tage hindurch keine weiteren Thrombozytentransfusionen erhalten hatte.

Aus diesen Daten ergab sich aufgrund der Statistik ebenfalls kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen (2.6 Zyklen ± 2.7 vs. 2.3 Zyklen ± 2.7 ; C vs. T, $p=0,20$). Dasselbe gilt auch bei Analyse der durchschnittlichen Zeitspanne zwischen erster und zweiter Transfusion innerhalb eines Therapiezyklus. Auch hier konnten wir keinen signifikanten Unterschied, bezogen auf die Gesamtheit der Patienten mit mindestens 2 Transfusionen, im klinischen Alltag feststellen (1.5 Tage ± 0.9 vs. 1.5 Tage ± 0.8 ; C vs. T, $p = 0,24$).

Um die Gleichwertigkeit der Produkte in der Test-, sowie der Kontrollgruppe zu dokumentieren, wurde zusätzlich zu den klinischen Daten auch herstellungsrelevante Daten wie Yield und Volumen der durch Apherese hergestellten Thrombozytenkonzentrate ausgewertet. Wie unter Punkt 3.9 (Seite 43 ff.) dargestellt, gab es keinen signifikanten Unterschied in der Zusammensetzung der hergestellten Präparate. Somit kann in beiden

Zeiträumen von einem vergleichbaren Yield ($5.8 \times 10^{11} \pm 1.9 \times 10^{11}$ vs. $5.8 \times 10^{11} \pm 2.5 \times 10^{11}$; C vs. T, $p=0,1$) und Volumen ($389.8 \text{ ml} \pm 65.2 \text{ ml}$ vs. $392.4 \text{ ml} \pm 26.6 \text{ ml}$; C vs. T, $p=0,2$) ausgegangen werden. Auch bei der Aufteilung und Berechnung nach Single Dose und Double Dose Einheiten zeigte sich in beiden Gruppen kein signifikanter Unterschied. (Tabelle 3.1 und 3.2 - S. 44 ff.) Somit konnte gezeigt werden, dass durch die Anwendung der PI Technologie die Zusammensetzung der Konzentrate nicht beeinflusst wurde und die Präparate beider Beobachtungszeiträume vergleichbar sind.

Ein weiterer analysierter Wert war das Alter der Präparate am Ausgabetag. (Tabelle 4.2) Mit 19.02.2013, also zwischen den beiden ausgewerteten Zeiträumen, wurde die maximal mögliche Lagerungszeit für Thrombozytenkonzentrate von 5 auf 7 Tage verlängert. Diese Erhöhung hatte zur Folge, dass sich das durchschnittliche Alter der Präparate zum Ausgabezeitpunkt nach oben verschoben hat. Dies zeigt sich auch im sehr signifikanten Unterschied bei beiden Gruppen ($3.6 \text{ Tage} \pm 1.4 \text{ Tage}$ C vs. $3.9 \text{ Tage} \pm 1.6 \text{ Tage}$ T, $P = 0,002$). In der Testgruppe kam es daher zu einer Zunahme von $\sim 8\%$ im Plättchenalter > 5 Tage. Die pathogen inaktivierten Produkte sind also bei Ausgabe im Durchschnitt um einen knappen Tag älter.

Sandgren P. und Diedrich B. verglichen in einer Studie aus dem Jahr 2015 die in vitro Qualität von inaktivierten und nicht inaktivierten Thrombozytenkonzentraten (buffy coat platelet). Gemessen wurden dabei verschiedene Parameter über die Lagerungsdauer von 7 Tagen bei beiden Gruppen. Die Auswertung ihrer Daten zeigte keinen signifikanten Unterschied zu nicht inaktivierten Thrombozytenkonzentraten. [135]

Im Rahmen der Einführung von pathogeninaktivierten Präparaten wird auch von erhöhten Blutungskomplikationen berichtet. Zwei Meta-Analysen von Vamvakas aus den Jahren 2011 und 2012, die jeweils 5 Studien umfassten, zeigten zum Thema Pathogeninaktivierung von Thrombozytenkonzentraten (TK), dass sich seit Beginn der Inaktivierung das Blutungsrisiko bzw. der Thrombozytenbedarf erhöht hat. [15, 136]

Wie oben schon erwähnt, konnten wir durch Auswertung unserer erhobenen Daten keinen signifikanten Unterschied zwischen unseren beiden Gruppen feststellen ($9.8 \text{ TK} \pm 15.7$ vs. $9.0 \text{ TK} \pm 15.3$; C vs. T, $p = 0,41$).

Da uns Daten über Blutungskomplikationen aller Patienten im Beobachtungszeitraum nicht zur Verfügung standen, haben wir den Verbrauch von Erythrozytenkonzentraten sowie Plasmaeinheiten bei Thrombozytenempfängern in beiden Gruppen analysiert und verglichen. Diese von uns festgelegte Nebenzielgröße dient als indirekter Parameter für ein höheres Blutungsrisiko bzw. erhöhten Blutbedarf.

Ausgehend von den Patienten ($n = 476$ vs. 403 ; C vs. T), welche tatsächlich eine Transfusion benötigten, erhielten wir in Bezug auf Erythrozyten (EK) aus unserer Statistik keinen signifikanten Unterschied zwischen Control- und Testgruppe ($15.0 \text{ EK} \pm 19.2$ vs. $14.6 \text{ EK} \pm 17.4$; C vs. T, $p = 0,75$). In Bezug auf den Verbrauch von Plasmakonzentraten (PK) ($n = 160$ vs. 105 ; C vs. T) erhielten wir ähnliche Ergebnisse ($14.4 \text{ PK} \pm 28.4$ vs. $9.1 \text{ PK} \pm 15.2$; C vs. T, $p = 0,08$), die dafür sprechen, dass sich im klinischen Alltag, seit Einführung der Pathogeninaktivierung kein erhöhter Bedarf an Blutbestandteilen bei den Patienten eingestellt hat.

Eine weitere große Studie zum Thema pathogeninaktivierter Thrombozytenkonzentrate mittels Psoralen und UV-A wurde von Knutson F. et al. im Jahre 2015 publiziert. Dabei wurden 19175 transfundierte Präparate einer Hämovigilanz Studie unterworfen; die Präparate wurden über 7 Jahre lang 4067 Patienten verabreicht. Es zeigte sich eine geringe Rate an Transfusionsreaktionen und ein mit konventionellen Präparaten vergleichbares Sicherheitsprofil. [130]

Auch diese Daten wurden, als Nebenzielgröße, im Rahmen unserer retrospektiven Datenerhebung ausgewertet, mit dem Ergebnis, dass sich auch hier kein signifikanter Unterschied zwischen Kontroll- und Testgruppe feststellen ließ. (Per Patient, $p = 0,88$ / Per Transfusion, $p = 0,92$). Allerdings waren auch die Präparate unserer Kontrollgruppe in PAS zu einem Verhältnis 35% vs. 65% Plasma vs. hergestellt PAS. (s. Tabelle 4.6 - S.56)

Ein weiterer Ausblick in die Zukunft, der jedoch in diese Arbeit nicht eingeflossen ist, aber ein interessanter Ansatz für weitere Studien sein könnte, ist sicherlich die Frage nach der Rolle der thrombozytären mircoRNA's und mRNA's in den Zellen. Die Bedeutung bei der Aktivierung und Regulierung von Thrombozyten ist bereits bekannt, jedoch wird sie noch nicht vollständig verstanden.[137] Dies lässt natürlich Raum für die Frage, inwieweit sich die Inaktivierung von Thrombozytenkonzentraten, und mit dieser eben auch die damit verbundene Ausschaltung der genetischen Bausteine, auf die in vivo Funktion der Thrombozyten auswirkt.

Eine interessante Studie zu diesem Thema veröffentlichte Osman, A. et al. im Jahr 2015. Im Zuge seiner wissenschaftlichen Studien nahm er an, dass der Verlust der mircoRNA's durch Pathogeninaktivierung der Thrombozytenkonzentrate, eine Mitwirkung an der Zunahme von Blutungen haben könnte. [138]

6. Zusammenfassung

Wenngleich die Sicherheit von Blutprodukten als hoch eingestuft werden kann, muss sich die Wissenschaft ständig neuen Herausforderungen stellen. Sei es ein neues unbekanntes Agens (Emerging Virus), ein bekannter Virus der nicht getestet wird oder für dessen Nachweis kein Test verfügbar ist, die Gefahr einer bakteriellen Kontamination vor allem von Thrombozytenkonzentraten, oder auch nur das Bestreben das Diagnostische Fenster zu verkleinern.

Ein wichtiger Schritt in diese Richtung war die Einführung von Pathogen Inaktivierungstechniken. Ein System, das auf der Zusammenwirkung von einem künstlichen Psoralen und UVA-Licht basiert, bricht in Pathogenen vorhandene DNA und RNA und kann damit deren Replikation verhindern. Das auf diesem Mechanismus beruhende System (Intercept®, Cerus, Concord, CA, USA) wurde an der Transfusionsmedizin des Universitätsklinikum Innsbruck mit März 2014 für Thrombozytenkonzentrate in die Routine eingeführt.

Die anfängliche Befürchtung, dass durch die Manipulation im Rahmen der Inaktivierung der Produkte zwar die Sicherheit steigen würde, man sich aber diese Risikoreduktion durch einen höheren Bedarf an Präparaten und durch qualitativ mindere Produkte erkaufen würde, konnte durch unsere Daten widerlegt werden. Im Vergleich zweier identer Beobachtungszeiträumen von 21 Monaten vor und unmittelbar nach Einführung dieses Systems blieb die Anzahl der verabreichten Thrombozytenkonzentrate pro Patient vergleichbar und auch ein fehlender Anstieg von verabreichten Erythrozytenkonzentraten sowie Plasmaeinheiten bei Empfängern von Thrombozytenkonzentraten ist ein indirektes Indiz für ein nicht signifikant erhöhtes Blutungsrisiko bei Empfängern von inaktivierten Thrombozytenkonzentraten. Im klinischen Alltag und in weiteren Studien konnte sich die Inaktivierung von potentiellen Pathogenen als geeignetes Mittel etablieren, um die Sicherheit von Blutprodukten weiter zu erhöhen, dabei jedoch keinen Einfluss auf die Qualität der Präparate zu nehmen.

Auch unsere retrospektiv erhobenen Daten am Zentralinstitut für Bluttransfusion der Universitätsklinik Innsbruck zeigten, dass sich seit Einführung der Pathogeninaktivierung der Bedarf an Präparaten pro Patient nicht wesentlich erhöht hat. Im weiteren Verlauf der Überprüfung kam es auch nicht zu häufigeren

Blutungskomplikationen. Die negativen Transfusionsreaktionen sind, wie auch schon in der Studie von Knutson, F. publiziert, gegenüber konventionellen Präparaten nicht zahlreicher geworden.

Die in dieser Dissertation veröffentlichten Daten umfassen nur das hämatologisch / onkologische Patientenkollektiv. Die Daten wurden jedoch für alle Patienten erfasst, die in unseren gewählten 21 monatigen Zeiträumen mit mindestens einem Thrombozytenpräparat versorgt wurden. Auch bei der Betrachtung der gesamten Patientenkollektive (N = 1797 C vs. N = 1694 T) kamen wir zu den gleichen Ergebnissen. Alle Daten, die den Einfluss der Pathogeninaktivierung auf den allgemeinen Transfusionsbedarf von Patienten erfasst haben, sind von Nussbaumer, W. et al 2017 und von Amato, M. et al 2017 zur Publikation eingereicht und die Arbeiten wurde im Februar 2017 bzw. Januar 2017 im Fachmagazin Vox Sanguinis veröffentlicht. [139,140]

7. Tabellenverzeichnis

Tabelle 2.1: Spezifikationen für Intercept©.....	25
Tabelle 3.1: Thrombozytenkonzentrate Volumen.....	44
Tabelle 3.2: Thrombozytenkonzentrate Yield.....	45
Tabelle 3.3: Thrombozytenkonzentrate Volumen angepasst.....	46
Tabelle 3.4:Thrombozytenkonzentrate Yield mit angepassten Volumen.....	47
Tabelle 4.1: Demographische Daten der Patienten.....	49
Tabelle 4.2: Alter der Thrombozytenkonzentrate.....	50
Tabelle 4.3: Anzahl Thrombozytenkonzentrate pro Patient.....	52
Tabelle 4.4:Erythrozytenkonzentrate erhalten.....	54
Tabelle 4.5: Plasmakonzentrate erhalten.....	55
Tabelle 4.6: Transfusionsreaktionen.....	56

8. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 2.1: Foto - Large Volume Set der Firma Cerus©.....	27
Abbildung 2.2: Foto - Thrombozytenkonzentrat 345g.....	28
Abbildung 2.3: Foto - Schweißgerät der Firma Terumo©.....	28
Abbildung 2.4: Foto - Öffnen der sterilen Schweißnaht.....	29
Abbildung 2.5: Foto - Überprüfen des Amotosalengehalts.....	30
Abbildung 2.6: Foto - Überführen des Präparates.....	30
Abbildung 2.7: Foto - Illuminator der Firma Cerus©.....	31
Abbildung 2.8: Grafik - Herstellung der irreversiblen Bindung[33].....	32
Abbildung 2.9: Foto - Einlegen des Bestrahlungssets.....	33
Abbildung 2.10: Foto - Überführen in den CAD Beutel.....	34
Abbildung 2.11: Foto - Agitationsphase 6-16 Stunden.....	35
Abbildung 2.12: Foto – Fertig bestrahltes Thrombozytenkonzentrat.....	35

9. Abkürzungsverzeichnis

ACD	Anticoagulant Citrate Dextrosis
ADP	Adenosindiphosphat
ATP	Adenosintriphosphat
CMV	Cytomegalovirus
CCI	corrected count increment
EBV	Epstein-Barr-Virus
EK	Erythrozytenkonzentrat
Emerging Viruses	Viren als kausales Agens, das eine neue bisher nicht bekannte Infektion verursacht oder wachsende Bedeutung durch Zunahme der Ausbreitung
GFP	Gefrorenes Frischplasma
GvHD	Graft versus Host Disease
HAV	Hepatitis A-Virus
HBV	Hepatitis B-Virus
HBc-Antikörper	Hepatitis B-Coreprotein-Antikörper
HBs-Ag	Hepatitis B-Oberflächen-Antigen
HCV	Hepatitis C-Virus
HGV	Hepatitis G-Virus
HHV-6	Humanes Herpes-Virus-6
HHV-8	Humanes Herpes-Virus-8
HIV	Humanes Immundefizienzvirus
HKT	Hämatokrit
HLA	Humane Leukozytenantigene
HSV	Herpes simplex Virus

HTLV	Humanes T-Zell-Leukamievirus
PAS	Platelet Additiv Solution; Additivlösung für TK-Konzentrate
PAS-Faktor	Wert, der das Verhältnis Plasma /Additivlösung im TK vorgibt
PC	Photochemische Reaktion
PPP	Plättchenarmes Plasma
PPR	percent platelet recovery
PRP	Plättchenreiches Plasma
PUVA	Photochemotherapie mit Psoralen und UV-A
RKI	Robert-Koch-Institut
RNA	Ribonukleinsäure
SARS	Schweres Akutes Respiratorisches Syndrom
TA-GvHD	transfusionsassoziierte Graft versus Host Erkrankung
TE	Transfusionseinheit
TK	Thrombozytenkonzentrat
TGF-s	Transforminggrowthfactor`s
UAW	unerwünschte Arzneimittelwirkung
UVA	langwellige ultraviolette Lichtstrahlung (320-400 nm)
vCJ	Variante Creutzfeldt-Jakob Erkrankung
WNV	West-Nil-Virus
Yield	Thrombozytenzahl / Präparat (Yield x 10 ¹¹)

10. Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich diese Arbeit selbständig verfasst und keine anderen als die darin angegebenen Hilfsmittel benutzt habe.

Ferner erkläre ich, dass diese Arbeit bisher von mir weder an der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München, noch an einer anderen wissenschaftlichen Einrichtung zum Zwecke der Promotion eingereicht wurde.

Amato Marco

11. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen Menschen danken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Als erstes sei genannt Herr Univ.-Dozent Dr. Walter Nussbaumer für die Überlassung des Themas und für die Unterstützung beim Erstellen dieser Arbeit.

Mein Dank gilt Herrn Primar Univ.-Dozent Dr. Harald Schennach für die Tätigkeit in seinem Hause während meines Studiums und für die Möglichkeit meine Dissertation in seinem Hause schreiben zu dürfen.

Herrn Professor Reinhard Henschler möchte ich für die sofortige Bereitschaft danken mein Dissertationsvorhaben gegenüber der LMU München zu vertreten.

Frau Ingrid Springer danke ich für die unterstützende Hilfe und die wohlwollende Atmosphäre während meines Studiums.

Meinen Eltern, meiner Familie und meiner Frau möchte ich für die jahrelange Geduld und ausdauernde Unterstützung während meines Studiums danken. Ohne sie wäre ich nie so weit gekommen.

12. Literaturverzeichnis

1. WHO, http://www.who.int/features/factfiles/blood_transfusion/en/. 2015.
2. Seifried, E., et al., *How much blood is needed?* Vox sanguinis. 100(1): p. 10-21.
3. Theusinger, O.M., S.L. Kind, and B. Seifert, *Patient blood management in orthopaedic surgery: a four-year follow-up of transfusion requirements and blood loss from 2008 to 2011 at the Balgrist University Hospital in Zurich, Switzerland.* Blood Transfusion. 12(2): p. 195.
4. Kotze, A., L. Carter, and A. Scally, *Effect of a patient blood management programme on preoperative anaemia, transfusion rate, and outcome after primary hip or knee arthroplasty: a quality improvement cycle.* British journal of anaesthesia. 108(6): p. 943-952.
5. Brevig, J., et al., *Blood transfusion reduction in cardiac surgery: multidisciplinary approach at a community hospital.* The Annals of thoracic surgery, 2009. 87(2): p. 532-539.
6. Wandt, H., K. Schafer-Eckart, and A. Greinacher, *Platelet transfusion in hematology, oncology and surgery.* Dtsch Arztebl Int. 111(48): p. 809-15.
7. Alvarez, F.E., et al., *Bacterial contamination of cellular blood components. A retrospective review at a large cancer center.* Ann Clin Lab Sci, 1995. 25(4): p. 283-90.
8. Klein, H.G., et al., *Current status of microbial contamination of blood components: summary of a conference.* Transfusion, 1997. 37(1): p.95-101.
9. Soeterboek, A.M., et al., *Sterility testing of blood products in 1994/1995 by three cooperating blood banks in The Netherlands.* Vox Sang, 1997. 72(1): p. 61-2.
10. Marano, G., et al., *Zika virus and the never-ending story of emerging pathogens and transfusion medicine.* Blood Transfusion. 14(2): p. 95.

11. Jutzi, M., M. Räsch, and B. Mansouri Taleghani. *Einführung der Pathogeninaktivierung für Thrombozytenkonzentrate in der Schweiz. Schweiz Med Forum.*
12. van Rhenen, D., et al., *Transfusion of pooled buffy coat platelet components prepared with photochemical pathogen inactivation treatment: the euroSPRITE trial.* Blood, 2003. 101(6): p. 2426-33.
13. McCullough, J., et al., *Therapeutic efficacy and safety of platelets treated with a photochemical process for pathogen inactivation: the SPRINT Trial.* Blood, 2004. 104(5): p. 1534-41.
14. Schlenke, P., et al., *Safety and clinical efficacy of platelet components prepared with pathogen inactivation in routine use for thrombocytopenic patients.* Ann Hematol. 90(12): p. 1457-65.
15. Vamvakas, E.C., *Meta-analysis of the studies of bleeding complications of platelets pathogen-reduced with the Intercept system.* Vox Sang. 102(4): p. 302-16.
16. Osselaer, J.C., et al., *A prospective observational cohort safety study of 5106 platelet transfusions with components prepared with photochemical pathogen inactivation treatment.* Transfusion, 2008. 48(6): p. 1061-1071.
17. Benedum J. Geschichte der Bluttransfusion. In: Mueller-Eckhardt C, Kiefel V (Hrsg.). Transfusionsmedizin. Springer Verlag Berlin Heidelberg New York 2003, 3. Auflage, 3–18.
18. Lower, R., *The method observed in Transfusing the Bloud (!) out of one Animal into another.* Philos Trans 1, 1666. 20: p. 353-358.
19. Müller, N., *Die Transfusionsmedizin in Vergangenheit und Gegenwart.* Rhein. Ärzteblatt, 1979. 33: p. 565-617.
20. Blundell, J., *Experiments on the transfusion of blood by the syringe.* Medico-chirurgical transactions, 1818(P1): p. 56-92.
21. Landsteiner, K., *Zur Kenntnis der antifermentativen, lytischen und agglutinierenden Wirkungen des Blutserums und der Lymphe.* Zbl bakt, 1900. 27(10): p. 357-362.
22. Lewisohn, R., *A new and greatly simplified method of blood transfusion.* Med Rec, 1915. 87: p. 141-142.

23. Renz-Polster H, Krautzig S, Braun J. Basislehrbuch Innere Medizin. Elsevier Urban&Fischer-Verlag, München Jena 2006, 3. Auflage, 323–32, 399–409.
24. Schultze M: Ein heizbarer Objecttisch und seine Verwendung bei Untersuchungen des Blutes. Arch Mikrosk Anat 1865;1:1–42.
25. Duke, W.W., *The relation of blood platelets to hemorrhagic disease.* By W.W. Duke. JAMA, 1983. 250(9): p. 1201-9.
26. Freireich, E.J., *Supportive care for patients with blood disorders.* Br J Haematol, 2000. 111(1): p. 68-77.
27. Gaydos, L.A., E.J. Freireich, and N. Mantel, *The quantitative relation between platelet count and hemorrhage in patients with acute leukemia.* N Engl J Med, 1962. 266: p. 905-9.
28. Dreger P, Schmitz N. Bildung, Aufbau, Funktion und Kinetik hämopoetischer Zellen. In: Mueller-Eckhardt C, Kiefel V (Hrsg.). Transfusionsmedizin. Springer Verlag Berlin Heidelberg New York 2003, 3. Auflage, 20–23, 34–36.
29. Michelson AD. Platelets. Academic Press imprint of Elsevier Verlag, Burlington San Diego London (USA GB Canada) 2007, second edition.
30. Salama A., Huhn D.; Thrombozytentransfusion – Indikationsstellung, Präparate und Begleituntersuchungen. Der Onkologe 1998, SpringerVerlag 1998; 4:185–190.
31. Murphy, S., *Platelet function, kinetics, and metabolism: impact on quality assessment, storage, and clinical use.* McLeod BC. Apheresis principles and practice. Bethesda: American Association of Blood Banks, 1997. 37: p. 123.
32. Allain, J., *Emerging viruses in blood transfusion.* Vox sanguinis, 1999. 78: p. 243-248.
33. Yomtovian, R., et al., *A prospective microbiologic surveillance program to detect and prevent the transfusion of bacterially contaminated platelets.* Transfusion, 1993. 33(11): p. 902-9.

34. Chiu, E.K., et al., *A prospective study of symptomatic bacteremia following platelet transfusion and of its management. Transfusion*, 1994. 34(11): p. 950-4.
35. Goldmann, D.A., *When normal flora turn nasty. Pediatr Infect Dis J*, 1996. 15(10): p. 845-7.
36. Blajchman, M.A., *Bacterial contamination of blood products and the value of pre-transfusion testing. Immunol Invest*, 1995. 24(1-2): p. 163-70.
37. Illert, W.E., W. Sanger, and W. Weise, *Bacterial contamination of single-donor blood components. Transfus Med*, 1995. 5(1): p. 57-61.
38. Leiby, D.A., et al., *A retrospective analysis of microbial contaminants in outdated random-donor platelets from multiple sites. Transfusion*, 1997. 37(3): p. 259-63.
39. Soeterboek, A.M., et al., *Prevalence of bacterial contamination in whole blood after donation. Vox Sang*, 1995. 69(2): p. 149.
40. Blajchman, M.A., *Bacterial contamination and proliferation during the storage of cellular blood products. Vox Sang*, 1998. 74 Suppl 2: p. 155-9.
41. Walther-Wenke, G., et al., *Bacterial contamination of platelet concentrates prepared by different methods: results of standardized sterility testing in Germany. Vox Sang*, 2006. 90(3): p. 177-82.
42. Vamvakas, E.C., *Relative safety of pooled whole blood-derived versus single-donor (apheresis) platelets in the United States: a systematic review of disparate risks. Transfusion*, 2009. 49(12): p. 2743-58.
43. Schrezenmeier, H. and E. Seifried, *Buffy-coat-derived pooled platelet concentrates and apheresis platelet concentrates: which product type should be preferred? Vox Sang*. 99(1): p. 1-15.
44. Vamvakas, E.C., *The relative safety of pooled whole-blood-derived platelets prepared by the buffy-coat method versus single-donor (apheresis) platelets. Clin Lab*. 56(7-8): p. 263-79.

45. Blajchman, M.A. and M. Goldman, *Bacterial contamination of platelet concentrates: incidence, significance, and prevention. Semin Hematol*, 2001. 38(4 Suppl 11): p. 20-6.
46. Goldman, M. and M.A. Blajchman, *Blood product-associated bacterial sepsis. Transfus Med Rev*, 1991. 5(1): p. 73-83.
47. Perez, P., et al., *Determinants of transfusion-associated bacterial contamination: results of the French BACTHEM Case-Control Study. Transfusion*, 2001. 41(7): p. 862-72.
48. Kuehnert, M.J., et al., *Transfusion-transmitted bacterial infection in the United States, 1998 through 2000. Transfusion*, 2001. 41(12): p. 1493-9.
49. Irsch, J. and L. Lin, *Pathogen inactivation of platelet and plasma blood components for transfusion using the INTERCEPT Blood SystemTM. Transfusion Medicine and Hemotherapy*. 38(1): p. 19-31.
50. Lin, L., L. Corash, and J. Osselaer, *Protection against TA-GVHD due to platelet transfusion by using pathogen inactivation with the INTERCEPT Blood System: gamma irradiation is not the only answer. Haematologica*. 95(Suppl 1): p. 230-237.
51. Schulungsordner Fa.Cereus, Training im Blutpendezentrum 2012
52. Cazenave, J.P., et al., *An active hemovigilance program characterizing the safety profile of 7483 transfusions with plasma components prepared with amotosalen and UVA photochemical treatment. Transfusion*. 50(6): p. 1210-9.
53. Agence Francaise de Securite Sanitaire des Produits de Sante. *Rapport Annuel Hemovigilance 2009. Paris, Agence Francaise de Securite Sanitaire des Produits de Sante,. 2009.*
54. Agence Nationale de Securite du Medicament et des Produits de Sante. *Rapport Annuel Hemovigilance 2012. Paris, Agence Nationale de Securite du Medicament et des Produits de Sante. 2012.*
55. *Swissmedic Haemovigilance Annual Report 2012. 2012.*
56. *Swissmedic Haemovigilance Annual Report 2013. 2013.*

57. Knutson, F., et al., *A prospective, active haemovigilance study with combined cohort analysis of 19 175 transfusions of platelet components prepared with amotosalen-UVA photochemical treatment. Vox Sang.*
58. Nussbaumer, W., et al., *Prevention of transfusion of platelet components contaminated with low levels of bacteria: a comparison of bacteria culture and pathogen inactivation methods. Transfusion, 2007. 47(7): p. 1125-33.*
59. Schmidt, M., et al., *Evaluation of the effectiveness of a pathogen inactivation technology against clinically relevant transfusion-transmitted bacterial strains. Transfusion.*
60. *Verordnung der Bundesministerin für Arbeit, Gesundheit und Soziales betreffend den Gesundheitsschutz von Spendern und die Qualitätssicherung von Blut und Blutbestandteilen (Blutspenderverordnung - BSV) StF: BGBl. II Nr. 100/1999, in der jeweils gültigen Fassung. 2010: p. §6 (2) Pkt. 22.*
61. *Bundesgesetzblatt, Bundesgesetz über die Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen in Blutspendeeinrichtungen (Blutsicherheitsgesetz 1999 – BSG 1999). 1999.*
62. *Bundesgesetzblatt, Verordnung der Bundesministerin für Arbeit, Gesundheit und Soziales betreffend den Gesundheitsschutz von Spendern und die Qualitätssicherung von Blut und Blutbestandteilen (Blutspenderverordnung – BSV). 2010.*
63. *Union, A.d.e., Richtlinie zur Festlegung von Qualitäts- und Sicherheitsstandards für die Gewinnung, Testung, Verarbeitung, Lagerung und Verteilung von menschlichem Blut und Blutbestandteilen und zur Änderung der Richtlinie 2001/83/EG. 2003.*
64. *Burgstaler, E.A., J.L. Winters, and A.A. Pineda, Paired comparison of Gambro Trima Accel versus Baxter Amicus single-needle plateletpheresis. Transfusion, 2004. 44(11): p. 1612-20.*

65. Bundesärztekammer: Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten. Deutscher Ärzte-Verlag Köln, 3. überarbeitete und erweiterte Auflage 2003, 2:29–48, 15:241–255., 16:257–282.
66. Mutschler E, Geisslinger G, Kroemer H, Schäfer-Korting M. Mutschler Arzneimittelwirkungen, Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart 2001, 8. Auflage, 1–10, 491–494, 678–681.
67. Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie), Zweite Richtlinienanpassung 2010. Wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer und Paul-Ehrlich-Institut, Köln. 2010.
68. Gebrauchs- und Fachinformation 10559a FAU. Leukozytenarmes Thrombozytenapharesekonzentrat FAU (Zulassungsnummer 10559a/96- 1), Universitätsklinikum Erlangen Überarbeitung 2006, Transfusionsmedizinische und Hämostasiologische Abteilung, Leiter: Prof. Dr. R. Eckstein.
69. Carmen, R., The selection of plastic materials for blood bags. *Transfus Med Rev*, 1993. 7(1): p. 1-10.
70. Duke, WW. The relation of blood platelets to hemorrhagic disease: description of a method for determining the bleeding time and coagulation time and report of three cases of hemorrhagic disease relieved by transfusion. *JAMA* 1910; 55:1185–1192.
71. Picker, S.M., R. Speer, and B.S. Gathof, Evaluation of processing characteristics of photochemically treated pooled platelets: target requirements for the INTERCEPT Blood System comply with routine use after process optimization. *Transfus Med*, 2004. 14(3): p. 217-23.
72. Durchführung präparativer Hämapheresen zur Gewinnung von Blutbestandteilkonzentraten – Empfehlungen zur präparativen Hämapherese der Deutschen Gesellschaft für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie (DGTI)* Matthes G. · Moog R. · Radtke H. · Wiesneth M. · Zingsem J. *Transfus Med Hemother* 2007;34:367-374.

73. Ringwald, J., R. Zimmermann, and R. Eckstein, The new generation of platelet additive solution for storage at 22 degrees C: development and current experience. *Transfus Med Rev*, 2006. 20(2): p. 158-64.
74. de Wildt-Eggen, J., et al., Storage of platelets in additive solutions: effects of magnesium and/or potassium. *Transfusion*, 2002. 42(1): p. 76-80.
75. de Wildt-Eggen, J. and H. Gulliksson, In vivo and in vitro comparison of platelets stored in either synthetic media or plasma. *Vox Sang*, 2003. 84(4): p. 256-64.
76. Gurak, S. and O. Arslan, Efficacy of Fenwal Amicus blood cell separator in double dose platelet collection. *Transfus Apher Sci*, 2007. 36(1): p. 69-72.
77. Yockey, C., et al., Evaluation of the Amicus Separator in the collection of apheresis platelets. *Transfusion*, 1998. 38(9): p. 848-54.
78. Menichella, G., et al., A new blood donation strategy: automated blood collection (ABC). *Int J Artif Organs*, 2001. 24(3): p. 173-7.
79. Daskalakis, M., et al., Evaluation of the performance of Trima Accel(R) v5.2 for the collection of concentrated high-dose platelet products and concurrent plasma from high platelet count donors, in Germany. *J Clin Apher*. 27(2): p. 75-80.
80. Ringwald, J., et al., First comparison of productivity and citrate donor load between the Trima version 4 (dual-stage filler) and the Trima Accel (single-stage filler) in the same donors. *Vox Sang*, 2003. 85(4): p. 267-75.
81. Prins, H.D.B., JCGH; Henrichs, and J.A. HPJ; Loos, Prevention of microaggregate formation by removal of 'buffy coats'. *Vox Sang*. 39: 48-51. 1980.
82. Pietersz, R.N., J.A. Loos, and H.W. Reesink, Platelet concentrates stored in plasma for 72 hours at 22 degrees C prepared from buffycoats of citrate-phosphate-dextrose blood collected in a quadruple-bag saline-adenine-glucose-mannitol system. *Vox Sang*, 1985. 49(2): p. 81-5.

83. Armstrong, B., et al., Introduction to blood *transfusion technology*. *ISBT science series*, 2008. 3(2): p. 254-283.
84. Heddle, N.M., et al., Comparing the efficacy *and safety of apheresis and whole blood-derived platelet transfusions: a systematic review*. *Transfusion*, 2008. 48(7): p. 1447-58.
85. Bundesärztekammer: Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten. Deutscher Ärzte-Verlag Köln, 3. überarbeitete und erweiterte Auflage 2003, 2:29–48, 15:241–255., 16:257–282.
86. Angue, M., et al., [Preparation of leukocyte-depleted human platelet concentrates by centrifugation and filtration of a pool of sterilely connected buffy-coats]. *Rev Fr Transfus Hemobiol*, 1991. 34(1): p. 9-19.
87. Racz, Z. and C. Baroti, Technical aspects of buffy coat removal from whole blood and those of platelet production from single buffy coat units. *Biomed Tech (Berl)*, 1993. 38(11): p. 266-9.
88. Salama A., Huhn D.; Thrombozytentransfusion – Indikationsstellung, Präparate und Begleituntersuchungen. *Der Onkologe* 1998, Springer Verlag 1998; 4:185–190.
89. Hellstern P, Hitzler W. Thrombozytenkonzentrate aus Vollblutspenden – time to say goodbye. *Transfus Med Hemother* 2007; 34:208–210.
90. Brecher, M.E. and S.N. Hay, Bacterial contamination of blood components. *Clin Microbiol Rev*, 2005. 18(1): p. 195-204.
91. Brecher, M.E. and S.N. Hay, Improving platelet safety: bacterial contamination of platelets. *Curr Hematol Rep*, 2004. 3(2): p. 121-7.
92. Ness, P.M. and S.A. Campbell-Lee, Single donor versus pooled random donor platelet concentrates. *Curr Opin Hematol*, 2001. 8(6): p. 392-6.
93. Schrezenmeier, H., et al., Bacterial contamination of platelet concentrates: results of a prospective multicenter study comparing pooled whole blood-derived platelets and apheresis platelets. *Transfusion*, 2007. 47(4): p. 644-52.

94. Ness, P., et al., Single-donor platelets reduce *the risk of septic platelet transfusion reactions*. *Transfusion*, 2001. 41(7): p. 857-61.
95. Benjamin, R.J., et al., Bacterial contamination of *whole-blood-derived platelets: the introduction of sample diversion and prestorage pooling with culture testing in the American Red Cross*. *Transfusion*, 2008. 48(11): p. 2348-55.
96. Barrett BB, Andersen JW, Anderson KC (1993) Strategies for the avoidance of bacterial contamination of blood components. *Transfusion* 33:228–234
97. Wagner, S.J., et al., Diversion of initial blood flow *to prevent whole-blood contamination by skin surface bacteria: an in vitro model*. *Transfusion*, 2000. 40(3): p. 335-8.
98. de Korte, D., et al., Diversion of first blood volume *results in a reduction of bacterial contamination for whole-blood collections*. *Vox Sang*, 2002. 83(1): p. 13-6.
99. Marco, A., Die Pathogeninaktivierung von *Thrombozytenkonzentraten mit Psolaren und UV-A -Review und Implementierung des Verfahrens an der Blutbank Innsbruck-*. 2013: p. 30 ff
100. Fa.Cereus Corporation, Schulungsordner 2012
101. Amotosalen: *Allogeneic Cellular Immunotherapies system, INTERCEPT Plasma System, INTERCEPT Platelet System*, S 59. *BioDrugs*, 2003. 17(1): p. 66-8.
102. Zumberg, M.S., et al., A prospective randomized trial *of prophylactic platelet transfusion and bleeding incidence in hematopoietic stem cell transplant recipients: 10,000/L versus 20,000/microL trigger*. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2002. 8(10): p. 569-76.
103. Wandt, H., G. Ehninger, and W.M. Gallmeier, New strategies for prophylactic *platelet transfusion in patients with hematologic diseases*. *Oncologist*, 2001. 6(5): p. 446-50.
104. Stanworth, S.J., et al., Prophylactic platelet transfusion *for haemorrhage after chemotherapy and stem cell transplantation*. *Cochrane Database Syst Rev*, 2004(4): p. CD004269.

105. Heal, J.M. and N. Blumberg, Optimizing platelet transfusion *therapy*. *Blood Rev*, 2004. 18(3): p. 149-65.
106. Heckman, K.D., et al., Randomized study of prophylactic *platelet transfusion threshold during induction therapy for adult acute leukemia: 10,000/microL versus 20,000/microL*. *J Clin Oncol*, 1997. 15(3): p. 1143-9.
107. Lawrence, J.B., et al., Lowering the prophylactic *platelet transfusion threshold: a prospective analysis*. *Leuk Lymphoma*, 2001. 41(1-2): p. 67-76.
108. Navarro, J.T., et al., Prophylactic platelet transfusion *threshold during therapy for adult acute myeloid leukemia: 10,000/microL versus 20,000/microL*. *Haematologica*, 1998. 83(11): p. 998-1000.
109. Tinmouth, A., et al., Low-dose prophylactic platelet *transfusions in recipients of an autologous peripheral blood progenitor cell transplant and patients with acute leukemia: a randomized controlled trial with a sequential Bayesian design*. *Transfusion*, 2004. 44(12): p. 1711-9.
110. Wandt, H., et al., Safety and cost effectiveness of a $10 \times 10^9/L$ *trigger for prophylactic platelet transfusions compared with the traditional $20 \times 10^9/L$ trigger: a prospective comparative trial in 105 patients with acute myeloid leukemia*. *Blood*, 1998. 91(10): p. 3601-6.
111. Kroll, H. and C. Mueller-Eckhardt, Therapie mit Thrombozyten, in *Transfusionsmedizin*. 2004, Springer. p. 393-406.
112. Slichter, S.J., Evidence-based platelet transfusion *guidelines*. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2007: p. 172-8.
113. Dunstan, R.A., et al., The origin of ABH antigens on *human platelets*. *Blood*, 1985. 65(3): p. 615-9.
114. Ogasawara, K., et al., Study on the expression of ABH *antigens on platelets*. *Blood*, 1993. 82(3): p. 993-9.
115. Santoso, S., V. Kiefel, and C. Mueller-Eckhardt, Blood group A and B determinants are expressed on *platelet glycoproteins IIa, IIIa, and Ib*. *Thromb Haemost*, 1991. 65(2): p. 196-201.

116. Duguesnoy, R.J., et al., ABO compatibility and platelet *transfusions of alloimmunized thrombocytopenic patients*. *Blood*, 1979. 54(3): p. 595-9.
117. Heal, J.M., N. Blumberg, and D. Masel, An evaluation of crossmatching, *HLA, and ABO matching for platelet transfusions to refractory patients*. *Blood*, 1987. 70(1): p. 23-30.
118. Klumpp, T.R., et al., Factors associated with response to *platelet transfusion following hematopoietic stem cell transplantation*. *Bone Marrow Transplant*, 1996. 17(6): p. 1035-41.
119. Heal, J.M., J.M. Rowe, and N. Blumberg, ABO and platelet transfusion revisited. *Ann Hematol*, 1993. 66(6): p. 309-14.
120. Blumberg, N., et al., Association of ABO-mismatched *platelet transfusions with morbidity and mortality in cardiac surgery*. *Transfusion*, 2001. 41(6): p. 790-3.
121. Benjamin, R.J. and J.H. Antin, ABO-incompatible bone marrow transplantation: *the transfusion of incompatible plasma may exacerbate regimen-related toxicity*. *Transfusion*, 1999. 39(11-12): p. 1273-4.
122. Benjamin, R.J., et al., ABO incompatibility as an adverse *risk factor for survival after allogeneic bone marrow transplantation*. *Transfusion*, 1999. 39(2): p. 179-87.
123. Dunstan, R.A., M.B. Simpson, and W.F. Rosse, Erythrocyte antigens on human platelets. *Absence of Rh, Duffy, Kell, Kidd, and Lutheran antigens*. *Transfusion*, 1984. 24(3): p. 243-6.
124. Baldwin, M.L., et al., Alloimmunization to D antigen *and HLA in D-negative immunosuppressed oncology patients*. *Transfusion*, 1988. 28(4): p. 330-3.
125. Lichtiger, B., J. Surgeon, and S. Rhorer, Rh-incompatible platelet transfusion therapy in cancer patients. *A study of 30 cases*. *Vox Sang*, 1983. 45(2): p. 139-43.
126. McLeod, B.C., M.R. Piehl, and R.J. Sasseti, Alloimmunization to RhD by platelet *transfusions in autologous bone marrow transplant recipients*. *Vox Sang*, 1990. 59(3): p. 185-9.

127. Atoyebi, W., et al., *Is it necessary to administer anti-D to prevent RhD immunization after the transfusion of RhD-positive platelet concentrates? Br J Haematol, 2000. 111(3): p. 980-3.*
128. Cid, J., et al., *Absence of anti-D alloimmunization in hematologic patients after D-incompatible platelet transfusions. Transfusion, 2002. 42(2): p. 173-6.*
129. Frauen, B.f.G.u., *Verordnung betreffend Arzneimittel aus menschlichem Blut. BGBl. II Nr.46/2013: p. Anhang B; 1.1 Flüssiglagerung.*
130. Knutson, F., et al., *A prospective, active haemovigilance study with combined cohort analysis of 19,175 transfusions of platelet components prepared with amotosalen-UVA photochemical treatment. Vox Sang. 109(4): p. 343-52.*
131. Stramer, S.L., et al., *Emerging infectious disease agents and their potential threat to transfusion safety. Transfusion, 2009. 49(s2): p. 1S-29S.*
132. Cazenave, J.P., et al., *Use of additive solutions and pathogen inactivation treatment of platelet components in a regional blood center: impact on patient outcomes and component utilization during a 3 year period. Transfusion. 51(3): p. 622-629.*
133. Kerkhoffs, J.L.H., et al., *Clinical effectiveness of leucoreduced, pooled donor platelet concentrates, stored in plasma or additive solution with and without pathogen reduction. British journal of haematology. 150(2): p. 209-217.*
134. Lozano, M., et al., *A multi-centre study of therapeutic efficacy and safety of platelet components treated with amotosalen and ultraviolet A pathogen inactivation stored for 6 or 7 d prior to transfusion. British journal of haematology. 153(3): p. 393-401.*
135. Sandgren, P. and B. Diedrich, *Pathogen inactivation of double-dose buffy-coat platelet concentrates photochemically treated with amotosalen and UVA light: preservation of in vitro function. Vox Sang. 108(4): p. 340-9.*

136. Vamvakas, E.C., *Meta-analysis of the randomized controlled trials of the hemostatic efficacy and capacity of pathogen-reduced platelets. Transfusion. 51(5): p. 1058-71.*
137. Bartel, D. P. (2009). MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *cell, 136(2), 215-233.*
138. Osman, A., Hitzler, W. E., Meyer, C. U., Landry, P., Corduan, A., Laffont, B., ... & Provost, P. (2015). Effects of pathogen reduction systems on platelet microRNAs, mRNAs, activation, and function. *Platelets, 26(2), 154-163.*
139. Amato, M., Schennach, H., Astl, M., Chen, C. Y., Lin, J. S., Benjamin, R. J., & Nussbaumer, W. (2016). Impact of platelet pathogen inactivation on blood component utilization and patient safety in a large Austrian Regional Medical Centre. *Vox Sanguinis.*
140. Nussbaumer, W., Amato, M., Schennach, H., Astl, M., Chen, C. Y., Lin, J. S., Corash, L., Benjamin, R. J. (2017). Patient outcomes and amotosalen/UVA-treated platelet utilization in massively transfused patients. *Vox Sanguinis.*