

Aus dem Institut für Transfusionsmedizin  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Untersuchungen zum Verlauf der Gerinnungsfaktorenaktivität im aufgetauten Einzelspender-Frischplasma, aufgetauten S/D-Pool-Plasma sowie im rekonstruierten S/D-Pool-Plasma während der Lagerung bei vier Grad Celsius über sechs Tage

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Dipl.-Med. Michael Schuster

aus Altenburg

Gutachter: 1. Priv.-Doz. Dr. med. A. Pruß  
2. Prof. Dr. med. G. Matthes  
3. Prof. Dr. med. H. Schenk

Datum der Promotion: 08.04.2011

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>6</b>
1.1	Plasmen zur therapeutischen Anwendung.....	6
1.2	Spezifikation zugelassener Plasmen zur therapeutischen Anwendung .....	10
1.3	Lagerung von aufgetauten Plasmen bei + 4 °C .....	12
<b>2</b>	<b>Ziel- und Aufgabenstellung</b> .....	<b>15</b>
<b>3</b>	<b>Material und Methoden</b> .....	<b>16</b>
3.1	Studiendesign .....	16
3.1.1	Anzahl und Art der Präparate .....	16
3.1.2	Auftauen, Rekonstruktion, Lagerung und Probennahme .....	16
3.1.3	Laborparameter, Untersuchungszeitpunkte und zeitlicher Ablauf der Messungen.....	17
3.2	Präparatearten .....	17
3.2.1	Gefrorenes Einzelspender-Frischplasma (GFP) .....	17
3.2.2	Gefrorenes S/D-Pool-Plasma (GSDP) .....	18
3.2.3	Lyophilisiertes S/D-Pool-Plasma (LSDP) .....	19
3.3	Laborparameter .....	20
3.3.1	Gerinnungsfaktoren .....	21
3.3.1.1	Fibrinogen .....	21
3.3.1.2	Faktor II, Faktor V, Faktor VII und Faktor X .....	21
3.3.1.3	Faktor VIII, Faktor IX, Faktor XI und Faktor XII .....	22
3.3.1.4	Faktor XIII .....	22
3.3.1.5	V. Willebrand-Faktor-Antigen .....	23
3.3.1.6	V. Willebrand-Faktor-Aktivität.....	23
3.3.2	Mikrobiologische Untersuchungen .....	23
3.4	Statistische Auswertung.....	24
<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b> .....	<b>25</b>
4.1	Fibrinogen im aufgetauten Einzelspender-Frischplasma, aufgetauten S/D-Pool-Plasma und im rekonstruierten S/D-Pool-Plasma .....	26
4.2	Faktor II im aufgetauten Einzelspender-Frischplasma, aufgetauten S/D-Pool-Plasma und im rekonstruierten S/D-Pool-Plasma .....	27
4.3	Faktor V im aufgetauten Einzelspender-Frischplasma, aufgetauten	

	S/D-Pool-Plasma und im rekonstruierten S/D-Pool-Plasma .....	28
4.4	Faktor VII im aufgetauten Einzelspender-Frischplasma, aufgetauten S/D-Pool-Plasma und im rekonstruierten S/D-Pool-Plasma .....	29
4.5	Faktor VIII im aufgetauten Einzelspender-Frischplasma, aufgetauten S/D-Pool-Plasma und im rekonstruierten S/D-Pool-Plasma .....	30
4.6	Faktor IX im aufgetauten Einzelspender-Frischplasma, aufgetauten S/D-Pool-Plasma und im rekonstruierten S/D-Pool-Plasma .....	31
4.7	Faktor X im aufgetauten Einzelspender-Frischplasma, aufgetauten S/D-Pool-Plasma und im rekonstruierten S/D-Pool-Plasma .....	32
4.8	Faktor XI im aufgetauten Einzelspender-Frischplasma, aufgetauten S/D-Pool-Plasma und im rekonstruierten S/D-Pool-Plasma .....	33
4.9	Faktor XII im aufgetauten Einzelspender-Frischplasma, aufgetauten S/D-Pool-Plasma und im rekonstruierten S/D-Pool-Plasma .....	34
4.10	Faktor XIII im aufgetauten Einzelspender-Frischplasma, aufgetauten S/D-Pool-Plasma und im rekonstruierten S/D-Pool-Plasma .....	35
4.11	V. Willebrand-Faktor-Antigen Blutgruppe 0 im aufgetauten Einzelspender- Frischplasma, aufgetauten S/D-Pool-Plasma und im rekonstruierten S/D-Pool-Plasma .....	36
4.12	V. Willebrand-Faktor-Antigen Blutgruppen A/B/AB im aufgetauten Einzelspender-Frischplasma und aufgetauten S/D-Pool-Plasma .....	37
4.13	V. Willebrand-Faktor- Aktivität Blutgruppe 0 im aufgetauten Einzelspender- Frischplasma, aufgetauten S/D-Pool-Plasma und im rekonstruierten S/D-Pool-Plasma .....	38
4.14	V. Willebrandfaktor-Aktivität Blutgruppen A/B/AB im aufgetauten Einzelspender-Frischplasma und aufgetauten S/D-Pool-Plasma .....	39
4.15	Übersicht der Messwertverteilungen und Signifikanzberechnungen im aufgetauten Einzelspender-Frischplasma, aufgetauten S/D-Plasma und im lyophilisierten S/D-Plasma .....	40
4.15.1	0 Stunden versus 6 Stunden.....	40
4.15.2	0 Stunden versus 144 Stunden.....	45
4.15.3	Darstellung aller Messwerte von 0 bis 144 Stunden .....	51
4.16	Blutkulturen im aufgetauten Einzelspender-Frischplasma, aufgetauten S/D-Plasma und im lyophilisierten S/D-Plasma .....	63

<b>5</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>64</b>
5.1	Parameter ohne statistisch signifikante Verminderungen von Aktivitäten, Antigen oder Konzentration nach der Lagerung bei + 4 °C über 6 Tage .....	64
5.2	Parameter mit statistisch signifikanten Verminderungen von Aktivitäten, Antigen oder Konzentration nach der Lagerung bei + 4 °C nach 6 Stunden.....	65
5.3	Parameter mit statistisch signifikanten Verminderungen von Aktivitäten, Antigen oder Konzentration nach der Lagerung bei + 4 °C über 6 Tage .....	66
5.3.1	Faktor VIII-Aktivität.....	66
5.3.2	Aktivitäten der Faktoren II, V, VII, IX, X und XI sowie die Konzentration von Fibrinogen .....	68
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>72</b>
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>76</b>
<b>8</b>	<b>Anhang .....</b>	<b>81</b>
8.1	Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen und Symbole.....	81
8.2	Verzeichnis der Abbildungen .....	83
8.3	Verzeichnis der Tabellen .....	84

**Eidesstattliche Erklärung**

**Danksagung**

**Lebenslauf**

**Publikationsliste**

## **1 Einleitung**

### **1.1 Plasmen zur therapeutischen Anwendung**

Die Gabe von Frischplasma zur Therapie des haemorrhagischen Schocks reicht bis in die 40er Jahre des 20. Jahrhunderts zurück. Unmittelbar nach Beginn des zweiten Weltkrieges bemühte sich die US-Regierung intensiv um die Bereitstellung von Blut für die Front. Zu jener Zeit gab es zwei Blutprodukte - Vollblut und Flüssigplasma - doch keines der beiden entsprach den Anforderungen nach längerer Lagerbarkeit mit stabilen Qualitätskriterien. Am 2. Dezember 1940 stellte Strumia eine gefriergetrocknete Form von Plasma vor, das jahrelang steril blieb und mit Wasser rekonstruiert werden konnte. Dieses Trockenplasma wurde von den amerikanischen Streitkräften im zweiten Weltkrieg an allen Fronten in großem Umfang zur Behandlung gefechtsbedingter Blutverluste erfolgreich angewendet (Starr, 1999). Auch die Bundeswehr griff bis 1975 auf dieses Trockenplasma zurück. Von 1962 bis 1969 wurden vom Blutspendedienst der Bundeswehr 115.000 Einheiten hergestellt (Putzker et al., 2004). Der medizinische Dienst der Nationalen Volksarmee der DDR stellte sowohl gefrorenes Frischplasma als auch Trockenplasma zur therapeutischen Anwendung zur Verfügung (Bormann, 1986).

Durch die Einrichtungen des Blutspende- und Transfusionswesens der DDR wurde bis zur Wiedervereinigung ein Trockenplasma (Human-Trockenplasma für alle Blutgruppen, 60 Monate lyophilisiert haltbar) in Verkehr gebracht (Barz et al., 2004).

1952 führten Walter und Murphy den Urtyp des Blutbeutels aus Kunststoff ein, der seit Anfang der 60er Jahre als Doppelbeutel in den transfusionsmedizinischen Einrichtungen der BRD verwendet wird (Walter und Murphy, 1952). Damit wurde die Herstellung von Erythrozytenkonzentrat und gefrorenem Plasma vom Einzelspender im geschlossenen System möglich. 1966 eröffnete die Firma Baxter das erste europäische Plasmazentrum in Wien.

Der Einsatz von Frischplasma ist heute bei verschiedenen Indikationen zentraler Bestandteil der Hämotherapie. Grundsätzlich ist die Gabe von Plasma immer dann angezeigt, wenn

- bei komplexen Koagulopathien infolge manifester Blutungen oder drohender schwerer Blutungen vor invasiven Eingriffen die Aktivitäten der Gerinnungsfaktoren und -inhibitoren angehoben werden müssen bzw.

- die Gerinnungsfaktoren V und XI bzw. die ADAMTS13 (derzeit noch keine Konzentrate verfügbar) angehoben werden müssen.

Ausführliche Hinweise zu Indikationen und konkreten Anwendungsvorgaben sowie zu Einschränkungen in klinischen Situationen, fehlende Indikationen und Kontraindikationen - teilweise unter Angabe des Evidenzlevels - finden sich in den aktuellen Querschnitts-Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten (Querschnitts-Leitlinien der Bundesärztekammer, 2009/1). Die dort aufgeführten Indikationen, fehlende Indikationen und Kontraindikationen werden in der nachfolgenden Übersicht zusammengefasst:

#### **Indikationen:**

- Verlust- und Verdünnungskoagulopathie bei schwerem akutem Blutverlust
- disseminierte intravasale Gerinnung
- Lebererkrankung (unter besonderen klinischen Bedingungen)
- thrombotisch-thrombozytopenische Purpura (TTP)
- adultes hämolytisch-urämisches Syndrom (HUS)
- hereditärer Faktor V- und Faktor XI-Mangel

#### **Fehlende Indikationen:**

- prophylaktische postoperative Gabe bei Patienten mit kardiopulmonalen Bypass-Operationen mit Quick-Werten  $> 50 \%$  oder Fibrinogenspiegeln  $> 1 \text{ g/l}$  und fehlenden Zeichen mikrovaskulärer Blutungen
- prophylaktische perioperative Gabe bei Patienten mit Lebertransplantation und Quickwerten  $\geq 50 \%$
- prophylaktische Gabe vor Leberpunktion, Parazentese, Thorakozentese oder Punktion zentraler Venen bei Patienten mit Hepatopathie und Koagulopathie
- prophylaktische Gabe bei akutem Leberversagen ohne Blutungskomplikationen zur Besserung der Prognose
- disseminierte intravasale Gerinnung (DIC) ohne Koagulopathie und/oder ohne Blutungskomplikationen
- akute Pankreatitis
- prophylaktische Gabe von Plasma bei Frühgeborenen

- partieller Plasmaaustausch bei Neugeborenen mit Polyzythämie und Hyperviskositätssyndrom
- hämolytisch-urämisches Syndrom bei Kindern
- Verbrennungen ohne Blutungskomplikationen und ohne Koagulopathie
- Plasmaaustausch bei Guillain-Barré-Syndrom
- primärer Volumenersatz
- parenterale Ernährung
- Substitution von Immunglobulinen
- Mangelzustände von Gerinnungsfaktoren und Inhibitoren, die mit Konzentraten wirksamer und verträglicher behandelt werden können, z. B. Hämophilie A und B, schwere kumarininduzierte Blutung, mit Ausnahme von Notfällen bei fehlender rechtzeitiger Verfügbarkeit von Konzentraten oder bei Kontraindikationen gegen Konzentrate (z. B. PPSB bei heparininduzierter Thrombozytopenie, Typ II)
- Hämostasestörungen, die mit Plasma grundsätzlich nicht wirksam behandelt werden können: Thrombozytopenie, Thrombozytopathie, Hyperfibrinolyse

**Kontraindikationen:**

- Plasmaunverträglichkeit
- nachgewiesener IgA-Mangel

Die in einer konkreten klinischen Situation erforderliche Plasmamenge ist nach folgender Formel zu berechnen:

1 ml Plasma/kg Körpergewicht erhöht die Aktivität der Gerinnungsfaktoren und Inhibitoren bzw. den Quick-Wert:

- um 1 % bei fehlender Umsatzsteigerung,
- um 0,5 % - 1 % bei Umsatzsteigerung.

(Querschnitts-Leitlinien der Bundesärztekammer, 2009/2)

Eine therapeutische Wirkung kann nur durch die Transfusion ausreichend hoher Dosen erzielt werden (Kujovich, 2005), die unter Berücksichtigung der o. g. Formel und einer konkreten Zielsetzung (z. B. Erhöhung des Quickwertes von 40 % auf 60 %) ermittelt werden muss.

Des Weiteren muss Plasma schnell mit einer Geschwindigkeit von 30 ml/min - 50 ml/min verabreicht werden (Querschnitts-Leitlinien der Bundesärztekammer, 2009/3).

Plasmen werden AB0-gleich transfundiert. In Ausnahmesituationen kann auch eine AB0-kompatible Transfusion erfolgen. Die möglichen Varianten sind in Tabelle 1 zusammengefasst (Richtlinien der Bundesärztekammer, 2007/1).

Tabelle 1: AB0-Verträglichkeitsregeln der Plasmatransfusion

(Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie). Gesamtnovelle 2005 mit Änderungen und Ergänzungen 2007; Deutscher Ärzteverlag 2007; S. 61.)

Blutgruppe des Patienten	kompatibles Plasma
A	A oder AB
B	B oder AB
AB	AB
0	0, A, B oder AB

Plasma wird überwiegend in Akut- und Notfallsituationen bei hohem Blutverlust mit Verlust- und Verdünnungskoagulopathie sowie bei disseminierter intravasaler Gerinnung transfundiert. Statistische Auswertungen konnten zeigen, dass 34 % der erfassten Trauma-Patienten infolge von Unfällen oder Gefechtsschädigungen mit Verlust- und Verdünnungskoagulopathie nach schwerem akutem Blutverlust zur Erstversorgung aufgenommen wurden (Maegele et al., 2007). In diesen Situationen ist nach Indikationsstellung ein unverzüglicher Therapiebeginn dringend erforderlich.

Der Umgang mit gefrorenem Plasma nach dem Auftauen ist in den „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“ und in den „Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten“ geregelt. In den Richtlinien ist aufgetautes Plasma zur sofortigen Transfusion vorgesehen. Eine weitere Lagerung unter Kühlung ist somit ausgeschlossen (Richtlinien der Bundesärztekammer, 2007/1).

In den Leitlinien wird ausgeführt: „... GFP soll innerhalb kurzer Zeit nach dem Auftauen über ein Transfusionsgerät mit Standardfilter (DIN 58360, Porengröße 170 - 230 µm) transfundiert werden. Aufgetautes GFP darf nicht wieder für Transfusionszwecke eingefroren werden ...“ (Leitlinien der Bundesärztekammer, 2003). Eine praktikable und vorausschauende Lagerung aufgetauter oder rekonstruierter Plasmen zur sofortigen

Transfusion ist unter den aktuell gegebenen Lagerungsvorgaben nicht möglich. Auftauen und Rekonstruktion von Plasmen erfolgt somit in praxi erst bei bestehender klinischer Indikation. Berücksichtigt man des Weiteren die Auftauzeiten - ein Auftauzyklus mit dem weit verbreiteten Plasmatherm III® dauert 30 Minuten - ergibt sich für die Patienten eine deutliche zeitliche Verzögerung zwischen Indikationsstellung und Therapiebeginn (von Heymann et al., 2006).

Für einen sofortigen Therapiebeginn wäre demzufolge eine Lagerung von Plasmen im aufgetauten oder rekonstruierten Zustand erforderlich, ohne dass bei der unter Umständen mehrtägigen Lagerung ein signifikanter Abfall der Konzentration der wirksamen Bestandteile des Plasmas erfolgt.

Nach Abschluss der hier vorgelegten Studie erschien Mitte 2009 die 4. überarbeitete Auflage der Querschnitts-Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten. Hier findet sich folgende neue Regelung: „Aufgetaute, resp. mit Wasser rekonstruierte Plasmapräparate müssen innerhalb von 6 Stunden angewendet werden ...“. Eine Regelung zu den Lagerbedingungen wird nicht getroffen (Querschnitts-Leitlinien der Bundesärztekammer, 2009/4).

## **1.2 Spezifikation zugelassener Plasmen zur therapeutischen Anwendung**

Plasma zur therapeutischen Anwendung stand in Deutschland zum Zeitpunkt der Studie in Form von vier zugelassenen Präparationen zur Verfügung:

**Gefrorenes Einzelspender-Frischplasma (GFP)** wird aus Vollbluteinzelspenden oder mittels Apherese (maschinelle Plasmapherese oder Multikomponentenspende) gewonnen und unverzüglich nach Gewinnung unter - 30 °C gefroren. Zur Minimierung des Risikos einer Übertragung von HIV, HBV und HCV sind eine Quarantänelagerung und eine anschließende erneute negative infektionsserologische Untersuchung des Spenders vorgeschrieben, bevor eine Freigabe zur Anwendung erfolgen kann.

**Gefrorenes S/D-Pool-Plasma (GSDP)** wird durch Poolen von 500 bis 1600 Einzelspenderplasmen hergestellt. Durch die S/D-Behandlung werden lipidumhüllte Viren, zu denen auch HIV, HBV und HCV gehören, vollständig eliminiert. Jede Einzelspende wird zur Minimierung des Übertragungsrisikos der nicht lipidumhüllten Viren HAV und

Parvovirus B19 mittels NAT auf das Vorhandensein dieser Viren getestet. Ultrazentrifugation des Pools führt zu vollständiger Zellfreiheit.

Anschließend wird der Pool portioniert und bei - 30 °C gefroren. Eine Quarantänelagerung entfällt.

**Lyophilisiertes S/D-Pool-Plasma (LSDP)** wird durch Poolen von gefrorenen zwischengelagerten und kontrolliert aufgetauten Einzelspenderplasmen hergestellt. Nach einer Filtration wird der Pool einer S/D-Behandlung unterzogen, die lipidumhüllte Viren, zu denen auch HIV, HBV und HCV gehören, vollständig eliminiert. Nach einer weiteren Filtration des Pools erfolgt eine Portionierung in Glasflaschen und die Lyophilisation des Plasmas. Lyophilisiertes S/D Pool-Plasma kann, im Gegensatz zu gefrorenen Plasmen, bei + 2 °C bis + 25 °C gelagert werden.

**Methylenblau-Licht-behandeltes Einzelspenderplasma (MLP)** wird aus leukozytenreduzierten Einzelplasmen gewonnen, die mit Methylenblau versetzt und mit Rotlicht (590 nm) bestrahlt werden. Damit wird eine effiziente Virusinaktivierung erreicht. Die Plasmen werden anschließend unter - 30 °C gefroren. Eine Quarantänelagerung entfällt.

Plasmen zur therapeutischen Anwendung unterliegen strengen Qualitätskontrollen.

Die Qualitätskriterien und Prüfzeitpunkte sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

Tabelle 2: Qualitätskriterien und Prüfzeitpunkte für GFP

(Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie). Gesamtnovelle 2005 mit Änderungen und Ergänzungen 2007; Deutscher Ärzteverlag 2007; S. 44.)

Prüfparameter	Prüfkriterium	Prüfzeitpunkt
Volumen	gemäß Zulassung	nach Herstellung
Faktor VIII-Gehalt	≥ 0,7 U/ml (Pooltestung) ≥ 70 % des Ausgangswertes (Einzelproben)	im ersten Monat nach Herstellung und am Ende der ermittelten Haltbarkeit
Restleukozyten	< 0,1 x 10 <sup>9</sup> /l	nach Herstellung
Restleukozyten für leukozytendepletierte Plasmen	< 1 x 10 <sup>6</sup> /Einheit*	nach Herstellung
Restthrombozyten	< 50 x 10 <sup>9</sup> /l	nach Herstellung
Resterythrozyten	< 6 x 10 <sup>9</sup> /l	nach Herstellung
Visuelle Kontrolle	unversehrt, keine sichtbaren Ausfällungen	alle hergestellten Einheiten werden vor dem Tieffrieren geprüft
Sterilität	steril	nach Herstellung oder während oder am Ende der ermittelten Haltbarkeit

\*Die Restleukozytenzahl der von der Spezifikation abweichenden Präparate darf 1 x 10<sup>7</sup> pro Einheit nicht überschreiten.

### 1.3 Lagerung von aufgetauten Plasmen bei + 4 °C

In der Literatur sind aktuell nur wenige Studien zum Verlauf von Gerinnungsfaktoren-Aktivitäten in unterschiedlichen Plasmapräparationen bei einer Lagerung von + 4 °C publiziert.

Gregor et al. untersuchten unter anderem die Aktivitäten der Faktoren V und VIII sowie die Fibrinogen-Konzentration in GFP während einer Lagerung von 28 Tagen bei + 4 °C.

Fibrinogen zeigte keinen signifikanten Abfall der Konzentration am Ende der Lagerzeit. Die Aktivität von Faktor V fiel nach 28 Tagen Lagerung um 58 % und die von Faktor VIII um 36 % ab (Gregor et al., 1993).

Eine Arbeitsgruppe um Downes lagerte GFP für 5 Tage bei + 4 °C. Die Aktivitäten der Gerinnungsfaktoren II, V, VII, VIII, und X sowie die Fibrinogen-Konzentration wurden im 24-Stunden-Rhythmus gemessen. Fibrinogen sowie die Faktoren II, V, VII und X zeigten keinen statistisch signifikanten Abfall ihrer Konzentration bzw. Aktivitäten. Lediglich die Faktor VIII-Aktivität fiel von 107 % ± 26 % auf 63 % ± 16 % (Downes et al., 2001).

Einen Abfall der Faktor VIII-Aktivität von 99 % ± 4,7 % auf 77 % ± 4,3 % in Octaplas<sup>®</sup> (Octaplas<sup>®</sup> ist ein gefrorenes S/D-Pool-Plasma) und von 101 % ± 5,7 % auf 66 % ± 9,6 % in GFP nach einer Lagerung im aufgetauten Zustand bei + 4 °C über 48 Stunden findet sich bei Heger et al. (Heger et al., 2005).

Ähnliche Ergebnisse wie die Untersuchungen von Downes et al. zeigt die Studie von Sidhu et al. Diese Arbeitsgruppe untersuchte in 20 mittels Apherese gewonnenen GFP die Fibrinogen-Konzentration und die Aktivitäten der Faktoren II, V, VII, VIII, X und XI während einer Lagerung bei + 4 °C über 5 Tage. Am Tag 5 wurden für Fibrinogen und die Faktoren II, VII, X und XI keine statistisch signifikanten Verminderungen der Konzentration bzw. der Aktivitäten festgestellt. Faktor V sank von 95,4 % auf 87 % und die Faktor VIII-Aktivität verminderte sich von 89,5 % auf 76,7 % (Sidhu et al., 2006).

In der aktuellen Literatur fanden sich zum Studienzeitpunkt keine Veröffentlichungen zum Verlauf der Aktivitäten von Gerinnungsfaktoren in rekonstruierten lyophilisierten Pool-Plasmen während einer Lagerung bei + 4 °C über mehrere Stunden oder Tage.

Die Ergebnisse (zum Studienzeitpunkt nur für GFP und Octaplas<sup>®</sup>) der ausgeführten Studien lassen somit den Schluss zu, dass Konzentration und Aktivitäten von Gerinnungsfaktoren in Plasmen zur therapeutischen Anwendung während einer mehrtägigen Lagerung bei + 4 °C nur geringfügig abnehmen und insbesondere die in den aktuellen Richtlinien nur für Faktor VIII vorgegebene Minimalanforderung (Faktor VIII-Aktivität ≥ 70 % des Ausgangswertes bei Einzelspenderproben bzw. ≥ 0,7 U/ml in der Pooltestung) möglicherweise nicht unterschritten wird (Richtlinien der Bundesärztekammer, 2007/2).

Der Anwendungsregelung, die eine sofortige Transfusion nach Auftauen vorschreibt, liegt jedoch die Annahme zugrunde, dass die Aktivitäten von Gerinnungsfaktoren bei einer Lagerung im aufgetauten Zustand unter die Minimalanforderung der Richtlinien für

die Faktor VIII-Aktivität fällt. Diese Annahme bezieht sich insbesondere auf ältere Untersuchungen von Carlebjörk et al. (Carlebjörk et al., 1983) und Kakaiya et al. (Kakaiya et al., 1984), die in ihren Untersuchungen feststellten, dass die Faktor VIII-Aktivität bei einer Lagerung von mehr als 6 Stunden bei + 4 °C auf Restaktivitäten von 55% - 65 % abfällt. Ein einmal aufgetautes oder rekonstruiertes Präparat kann daher bei Nichtanwendung nicht zwischengelagert oder zeitlich versetzt angewendet werden. Aktuell müssen solche Plasmen verworfen werden.

In Deutschland wurden im Jahr 2008 1.132.55 Einheiten Plasma an Patienten transfundiert, 31.605 Einheiten sind beim Anwender verfallen (Henseler, 2009). Das entspricht einem wirtschaftlichen Verlust von ca. 1.264.200 Euro und einem Verlust von ca. 7.900 Litern wertvollen Spenderplasmas.

## 2 Ziel- und Aufgabenstellung

Das Ziel der Untersuchung war die Beantwortung der Frage, inwieweit es nach kontrolliertem Auftauen bzw. Rekonstruktion von Plasmen zur therapeutischen Anwendung und nachfolgender Lagerung bei + 4 °C über 6 Tage zu einem Abfall der Aktivitäten, der Antigene und der Konzentration von Gerinnungsfaktoren kommt.

Kann mit den nachfolgenden Untersuchungsergebnissen gezeigt werden, dass die Stabilität von Gerinnungsfaktoren nach 6 Tagen Lagerung bei + 4 °C, insbesondere unter Berücksichtigung der aktuell nur für Faktor VIII gültigen Minimalanforderung (Faktor VIII-Aktivität  $\geq 70$  % des Ausgangswertes bei Einzelspenderproben bzw.  $\geq 0,7$  U/ml in der Pooltestung) noch akzeptabel ist, wäre eine vorausschauende Bereitstellung von aufgetauten bzw. rekonstruierten Plasmen zur sofortigen Transfusion - insbesondere zur Therapie von Patienten mit Massiv- bzw. Akutblutungen - über mehrere Tage möglich. Des Weiteren würde sich der Verfall von Plasmen deutlich reduzieren.

Zur Beantwortung der o. g. Fragestellung ergeben sich für die Arbeit nachstehende Aufgaben:

1. Erstellung eines geeigneten Studiendesigns
2. Einbeziehung der am häufigsten angewendeten Plasmen
3. Lagerung der Plasmen bei + 4 °C über mindestens 6 Tage
4. Messung der Aktivitäten, der Konzentration und der Antigene aller Gerinnungsfaktoren zu Beginn, während und am Ende der Lagerzeit
5. Prüfung aller untersuchten Plasmen auf Sterilität am Ende der Lagerzeit
6. Statistische Auswertung des Verlaufs der gemessenen Aktivitäten, der Konzentration und der Antigene und Quantifizierung eines möglichen Abfalls am Ende der Lagerzeit

### **3 Material und Methoden**

#### **3.1 Studiendesign**

##### **3.1.1 Anzahl und Art der Präparate**

In der Studie wurden 20 gefrorene Einzelspender-Frischplasmen (GFP; je 5 Plasmen der Blutgruppen A, AB, B und 0), 20 gefrorene S/D-Pool-Plasmen (GSDP; je 5 Plasmen der Blutgruppen A, AB, B und 0) und 5 lyophilisierte S/D-Pool-Plasmen (LSDP) der Blutgruppe 0 untersucht.

##### **3.1.2 Auftauen, Rekonstruktion, Lagerung und Probennahme**

Alle gefrorenen Plasmen wurden mit dem Plasmaauftauferät Plasmatherm III<sup>®</sup> (Barkey, Leopoldshöhe, Deutschland) nach Herstellervorschrift aufgetaut. Die Rekonstruktion der LSDP erfolgte nach Herstellervorschrift mit dem mitgelieferten Wasser zur Injektion unter leicht kreisenden Bewegungen der Präparateflasche bis zur vollständigen Auflösung der lyophilisierten Plasmen. Zur mehrfachen Probenentnahme wurden alle Plasmen mit einem Transferadapter mit Durchstichmembran versehen. Diese Eröffnung der Plasmapräparate erfolgte unter sterilen Bedingungen unter einer Sicherheitswerkbank („BSK4 Antair“, ANTHOS, USA).

Anschließend wurden die Proben bei + 4 °C über 6 Tage in einer begehbaren Kühlzelle (Viessmann Kältetechnik, Hof/Saale, Deutschland) gelagert. Die Lagertemperatur wurde kontinuierlich über das Temperaturüberwachungssystem der Kühlzelle (Alarmspezifikation + 4 °C ± 2 °C) überwacht und zusätzlich durch einen Temperaturschreiber (Thermoscript, Kirsch, Offenburg, Deutschland) fortlaufend dokumentiert. Kühlzelle und Temperaturschreiber wurden vor Inbetriebnahme im Rahmen des QM-Systems des Institutes für Medizinische Diagnostik Oderland qualifiziert. Nur zur unmittelbaren Probennahme wurden die Plasmen aus der Kühlzelle entnommen. Für jeden Untersuchungszeitpunkt wurden unter der o. g. Sicherheitswerkbank 10 ml Plasma mittels steriler Einwegspritze (10 ml Omnifix, Braun, Melsungen, Deutschland) und steriler Kanüle (Sterican Gr. 1, Braun, Melsungen, Deutschland) über die vorher desinfizierte Durchstichmembran des Transferadapters entnommen. Vor jeder Probennahme wurden alle Plasmen manuell durchmischt.

### **3.1.3 Laborparameter, Untersuchungszeitpunkte und zeitlicher Ablauf der Messungen**

Zum Parameterspektrum der Studie gehörten die Messung der Aktivitäten der Faktoren II, V, VII, VIII, IX, X, XI, XII und die des v. Willebrand-Faktors, die Messung der Fibrinogen-Konzentration sowie die Antigen-Bestimmungen des v. Willebrand-Faktors und des Gerinnungsfaktors XIII.

Für die Studie wurden folgende Messzeitpunkte (in Stunden) nach Auftauen bzw. Rekonstruktion festgelegt: 0 (unmittelbar nach Auftauen oder Rekonstruktion), 6, 24, 48, 72, 96, 120 und 144.

Den 20 GFP-Spendern wurde unmittelbar vor der Plasmapherese 20 ml Vollblut über eine separate Venenpunktion entnommen (10 ml-S-Monovetten, Natriumzitrat, No.02.1067.001, Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland). Nach der Zentrifugation wurde das Zitratplasma bei - 30 °C gefroren. Aus diesen Proben wurde der Spender-Ausgangswert für die Aktivität des Gerinnungsfaktors VIII gemessen.

Nach 24, 72 und 144 Stunden wurden alle Präparate mikrobiologisch auf eventuelle Kontaminationen untersucht.

Auftauen bzw. Rekonstruktion, Lagerung und die Messungen zu den vorgegebenen Zeitpunkten erfolgten zeitlich versetzt für jede Plasmaart separat.

Die Messung der Proben zur Bestimmung des Spender-Ausgangswertes für die Aktivität des Gerinnungsfaktors VIII erfolgte in einer Serie.

## **3.2 Präparatearten**

### **3.2.1 Gefrorenes Einzelspender-Frischplasma (GFP)**

Die gefrorenen Einzelspender-Frischplasmen stammten aus dem Routineherstellungsprozess des Instituts für Transfusionsmedizin der Charité am Campus Mitte. Die Spender wurden entsprechend aufgeklärt und willigten in die Verwendung des gespendeten Plasmas zu Forschungs- bzw. Qualitätskontrollzwecken ein. Die Studie wurde durch die Ethikkommission der Charité genehmigt (Vorgangs-Nr. EA2/007/07). Spenderauswahl und Laboruntersuchungen vor Freigabe der Spende erfolgten nach den aktuell gültigen Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie) (Richtlinien der Bundesärztekammer 2007/3).

Die entsprechend der Richtlinie geforderten Kriterien zur Spendetauglichkeit sind in der gleichnamigen Verfahrensanweisung (SOP-Nr. QK-20/9) des Institutes für Transfusionsmedizin der Charité am Campus Mitte zusammengefasst.

Das in der Studie untersuchte Plasma wurde durch maschinelle Plasmapherese gewonnen. Gemäß Haemonetics-GFP-Protokoll wurden ein Blutzellseparator MCS+ (Haemonetics GmbH, Deutschland), ein Plasmapherese-Einmalset (Haemonetics GmbH, Deutschland) und ein Infusionslösungsbeutel mit 250 ml Natriumzitat 4 % (Haemonetics GmbH, Deutschland) verwendet. Das Mischungsverhältnis von Vollblut und Natriumzitat betrug 1 : 16. Die vorgewählte Plasmamasse betrug 680 g. Aus der gewonnenen Plasmamasse wurden 3 Frischplasma-Konserven mit je ca. 226 g hergestellt. Eine Frischplasma-Konserve pro Spende wurde für die Studie bereitgestellt und als Studienpräparat gesondert deklariert.

Unmittelbar nach der Plasmapherese wurden die einzelnen Frischplasma-Konserven im Plasmafreezer KPE 24/80 (Cryotech, Mannheim, Deutschland) für 50 Minuten bei - 80 °C schockgefroren und anschließend für 4 Monate bei - 30 °C in einem Tiefkühlschrank mit Temperaturüberwachung (Revco, Ashville, NC, USA) quarantänege lagert. Nach erneut negativer infektionsserologischer Testung des Spenders erfolgte die Freigabe für den Arzneimittelverkehr sowie für die Nutzung der ausgewählten GFP im Rahmen der vorliegenden Studie. Die dargestellten Herstellungsabläufe unter besonderer Berücksichtigung der gültigen GMP-Kriterien und der Identitätssicherung sind in der Verfahrensanweisung „Maschinelle Plasmapherese“ (SOP-Nr. H-O112/14) des Instituts für Transfusionsmedizin der Charité am Campus Mitte detailliert beschrieben und können dort nachvollzogen werden.

### **3.2.2 Gefrorenes S/D-Pool-Plasma (GSDP)**

Als Vertreter für diese Plasmaart wurde Octaplas® LG in die Studie einbezogen. Octaplas® LG wird von der OCTAPHARMA GmbH (Langenfeld, Niederlassung Dessau, Deutschland) hergestellt und vertrieben. Es wird durch Poolen von bis zu 1.500 Einzelspenden (Einzelspenden von Vollblut nach Zentrifugation und Abtrennen der Zellen oder mittels Apherese) einer Blutgruppe gewonnen. Die Spender wurden nach den Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie) infektionsserologisch untersucht. Zusätzlich erfolgte eine Untersuchung mittels NAT auf HBV und HAV. Darüber hinaus werden die Plasmapools

nur bei einem Gehalt an Parvovirus B19 Genom von  $\leq 10$  IE/ $\mu$ L in Verkehr gebracht. Zur Gewährleistung einer wirksamen Immunneutralisation (Virusneutralisation) garantiert die OCTAPHARMA GmbH einen definierten Mindestgehalt an neutralisierenden Antikörpern gegen HAV, HEV und Parvovirus B19. Im weiteren Produktionsverlauf wird der Plasmapool einer S/D-Virusinaktivierung unterzogen. Durch die Behandlung mit dem Lösungsmittel (Solvens) TNBP und dem Detergens Triton-X 100 werden lipidumhüllte Viren (HIV, HBV und HCV) vollständig eliminiert. Das S/D-Verfahren eliminiert auch neu in Erscheinung getretene lipidumhüllte Viren, wie z. B. SARS- oder WN-Viren. Weitere Verfahrensschritte tragen zusätzlich zur Virusreduktion bei. So werden zellständige Viren durch Filtrationsschritte zusammen mit den im Plasma vorhandenen Restzellen entfernt. Nach der Filtration werden über eine Öl- und Festphaseextraktion die S/D-Reagenzien entfernt. Auch dieser Herstellungsschritt führt nachweislich zu einer zusätzlichen Abreicherung von lipidumhüllten und nicht lipidumhüllten Viren. Am Ende des Herstellungsprozesses wird der behandelte Pool in 200 ml-Portionen konfektioniert und erneut gefroren. Bei mindestens  $-18$  °C ist Octaplas® LG 30 Monate haltbar (Gebrauchsinformation Octaplas®, 2009).

### **3.2.3 Lyophilisiertes S/D-Pool-Plasma (LSDP)**

Lyophilisiertes S/D-Pool-Plasma (LSDP) vom DRK-Blutspendedienst West (Institut Hagen, Deutschland) war zum Zeitpunkt der Durchführung der Studie das einzige in Deutschland zugelassene lyophilisierte Humanplasma.

Es handelt sich um ein Poolplasma. Die Basis für den Pool bildete Plasma aus Vollbluteinzelspenden. Es wurden ausschließlich Spenden gesunder Spender verwendet, die für die nachfolgend aufgeführten infektiologischen Marker negativ getestet wurden: HIV  $\frac{1}{2}$ -Ak, HIV1-Genom, HBc-Ak, HBs-Ag, HCV-Ak, HCV-Genom und Ak gegen *Treponema pallidum*. Zusätzlich wird beim DRK-Blutspendedienst West jede Blutspende auf virale Genomäquivalente für Hepatitis A, Hepatitis B und Parvovirus B 19 mittels NAT getestet.

Vor der Weiterverarbeitung werden die Einzelspenderplasmen gefroren und bei  $-30$  °C zwischengelagert. Die gefrorenen Einzelplasmen werden unter kontrollierten Bedingungen aufgetaut, filtriert und gepoolt. Zur Herstellung eines Pools werden ca. 200 kg Plasma verarbeitet. Der Pool wurde dann einer S/D-Behandlung unterzogen. Durch die Behandlung mit dem Lösungsmittel (Solvens) TNBP und dem Detergens Tri-

ton-X 100 werden lipidumhüllte Viren (HIV, HBV und HCV) vollständig eliminiert. Nach erneuter Filtration über einen 0,2 µm-Filter wurden die S/D-Reagenzien über eine Öl- und Festphasenextraktion entfernt. Im weiteren Herstellungsverlauf wurden Einzelportionen von 200 ml Plasma unter sterilen Bedingungen in Glasflaschen überführt. Die Glasflaschen wurden zur Vorbereitung auf die Gefriertrocknung auf unter - 30 °C gefroren. Im Weiteren wurde dem Produkt im Vakuum unter stufenweiser Erhöhung der Temperatur von - 45 °C auf + 5 °C über mehrere Tage sämtliches Wasser durch Sublimation entzogen. Etikettierung und Konfektionierung beendeten den Herstellungsprozess. Lyophilisiertes S/D-Pool-Plasma kann bei + 2 °C bis + 25 °C gelagert werden. Für die Studie wurden 5 Plasmen der Blutgruppe 0 einer Verpackungseinheit, d. h. eines Pools, herangezogen (Gebrauchsinformationen lyophilisiertes S/D-Pool-Plasma 2007).

### **3.3 Laborparameter**

Für detaillierte Angaben zu den einzelnen Testen und den verwendeten Analysensystemen wird auf die Herstellervorschriften und die laborinternen Arbeitsvorschriften sowie auf die Gerätehandbücher verwiesen. Nachfolgend werden nur die Grundprinzipien der verwendeten Teste beschrieben.

Alle verwendeten Teste sind kommerziell erhältlich, CE gekennzeichnet und gehören zum Leistungsumfang des Instituts für Medizinische Diagnostik Oderland (Frankfurt/Oder, Deutschland). Vor Einführung in die Patientenroutine wurden die nachfolgend aufgeführten Analysensysteme qualifiziert und die verwendeten Teste im Rahmen des laborinternen Qualitätsmanagementsystems validiert und für die Patientenroutine ärztlich freigegeben. Alle Teste unterliegen der ständigen Qualitätssicherung nach den aktuell gültigen Richtlinien zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen der BÄK und sind im Akkreditierungsumfang (Akkreditierung nach DIN EN ISO 15189 durch die DAP) des Labors enthalten.

### **3.3.1 Gerinnungsfaktoren**

### **3.3.2 Fibrinogen**

Die Fibrinogen-Konzentration (in g/l; Referenzbereich: 2,4 bis 5,0) wurde quantitativ und vollautomatisch mit der Methode nach CLAUSS bestimmt. Das im Fibrinogen-C-Kit (Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim, Deutschland) enthaltene Thrombinreagenz bewirkt die Umwandlung von Fibrinogen zu Fibrin. Da Thrombin im Überschuss zugesetzt wird, ist diese Methode für Fibrinogen spezifisch. Die Gerinnungszeit ist umgekehrt proportional zur Fibrinogenkonzentration und wurde turbidimetrisch auf dem hämostaseologischen Messsystem ACL-TOP (Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim, Deutschland) bestimmt (Packungsbeilage, 2007).

#### **3.3.2.1 Faktor II, Faktor V, Faktor VII und Faktor X**

Zur Messung der Aktivitäten von Faktor II (in %; Referenzbereich: 80 bis 130), Faktor V (in %; Referenzbereich: 60 bis 140), Faktor VII (in %; Referenzbereich: 50 bis 130) und Faktor X (in %; Referenzbereich: 75 bis 130) kam eine modifizierte vollautomatische Thromboplastinzeit nach QUICK unter Nutzung von Faktor II-, Faktor V-, Faktor VII- und Faktor X-Mangelplasma zur Anwendung. Plasmaprobe und Faktorenmangelplasma (Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim, Deutschland) wurden gemischt und die Gerinnung mit RecombiPlasTin® (Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim, Deutschland) aktiviert. Die Verkürzung der Gerinnungszeit ist proportional zur Aktivität des untersuchten Faktors. Sie wurde turbidimetrisch auf dem hämostaseologischen Messsystem ACL-TOP (Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim, Deutschland) bestimmt (Packungsbeilage Faktor II, 2005. Packungsbeilage Faktor V, 2004. Packungsbeilage Faktor VII, 2005. Packungsbeilage Faktor X, 2004.).

### **3.3.2.2 Faktor VIII, Faktor IX, Faktor XI und Faktor XII**

Zur Messung der Aktivitäten von Faktor VIII (in %; Referenzbereich: 50 bis 150), Faktor IX (in %; Referenzbereich: 65 bis 150), Faktor XI (in %; Referenzbereich: 65 bis 150) und Faktor XII (in %; Referenzbereich: 50 bis 150) kam eine modifizierte, aktivierte und vollautomatische partielle Thromboplastinzeit (aPTT) unter Nutzung von Faktor VII-, Faktor IX-, Faktor XI- und Faktor XII-Mangelplasma (Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim, Deutschland) zur Anwendung. Plasmaprobe, Faktorenmangelplasma und das partiell aktivierte Thromboplastin SynthASil<sup>®</sup> (Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim, Deutschland) wurden gemischt und die Gerinnung mit 20 mmolarer CaCl<sub>2</sub>-Lösung aktiviert. Die Verkürzung der Gerinnungszeit ist proportional zur Aktivität des untersuchten Faktors. Sie wurde turbidimetrisch auf dem ACL-TOP (Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim Deutschland) bestimmt (Packungsbeilage Faktor VIII, 2004. Packungsbeilage Faktor IX, 2004. Packungsbeilage Faktor XI, 2004. Packungsbeilage Faktor XII, 2005).

### **3.3.2.3 Faktor XIII**

Für die Faktor XIII-Antigen- Bestimmung (in % der Norm im Vergleich zu einem Kalibrationsplasma; Referenzbereich: 80 bis 150) wurde ein vollautomatischer turbidimetrischer Latex-Immunoassay (Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim, Deutschland) zur quantitativen Bestimmung von Faktor XIII-Antigen verwendet. Latexgebundene polyklonale Faktor XIII-Antikörper binden hochspezifisch an der A-Untereinheit von Faktor XIII. Der Grad der Agglutination nimmt proportional zur Faktor XIII-Antigen-Konzentration im Messansatz zu. Die Bestimmung erfolgt durch die Messung der durch die Agglutination bedingten Abnahme der Lichtdurchlässigkeit auf dem ACL-TOP (Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim, Deutschland) (Packungsbeilage, 2005).

### **3.3.2.4 V. Willebrand-Faktor-Antigen**

Die v. Willebrand-Faktor-Antigen-Bestimmung (in % der Norm im Vergleich zu einem Kalibrationsplasma; Referenzbereiche: Blutgruppe 0 40 bis 126 , Blutgruppe A/AB/B 50 bis 164) erfolgte unter Nutzung eines vollautomatischen turbidimetrischen Latex-Immunoassay (Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim, Deutschland). Latexgebundene polyklonale Antikörper gegen v. Willebrand-Faktor-Antigen binden an diesem. Der Grad der Agglutination nimmt proportional zur v. Willebrand-Faktor-Antigen-Konzentration im Messansatz zu. Die Bestimmung erfolgt durch die Messung der durch die Agglutination bedingten Abnahme der Lichtdurchlässigkeit auf dem ACL-TOP (Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim, Deutschland) (Packungsbeilage, 2004).

### **3.3.2.5 V. Willebrand-Faktor-Aktivität**

Zur Messung der v. Willebrand-Faktor-Aktivität (in % der Norm im Vergleich zu einem Kalibrationsplasma; Referenzbereiche: Blutgruppe 0 40 bis 126, Blutgruppe A/AB/B 50 bis 164) wurde ein vollautomatischer turbidimetrischer Latex-Immunoassay (Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim, Deutschland) verwendet. Latexgebundene polyklonale Antikörper gegen die Thrombozytenbindungs-Domäne (Glykoprotein Ib-Rezeptor) des v. Willebrand-Faktors binden an dieser. Der Grad der Agglutination nimmt proportional zur v. Willebrand-Faktor-Aktivität im Messansatz zu. Die Bestimmung erfolgt durch die Messung der durch die Agglutination bedingten Abnahme der Lichtdurchlässigkeit auf dem ACL-TOP (Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim, Deutschland) (Packungsbeilage, 2000).

### **3.3.3 Mikrobiologische Untersuchungen**

Nach 24, 72 und 144 Stunden (Abschluss der Lagerung) wurden für jedes Plasma eine aerobe und eine anaerobe Blutkultur angelegt. Dazu wurden eine Blutkulturflasche BACTEC Plus Aerobic/F\* und eine Blutkulturflasche BACTEC Plus Anaerobic/F\* (Becton Dickinson and Company, Sparks Maryland, USA) unter der Sicherheitswerkbank mit je 10 ml Plasma beimpft. Anschließend wurden alle Blutkulturen 7 Tage bei + 35 °C im BACTEC-Blutkultur-Automat 9050 (Becton Dickinson and Company, Sparks Maryland, USA) bebrütet. Der Blutkulturautomat arbeitet nach dem Prinzip der CO<sub>2</sub>-Detektion. Bei

der Vermehrung der meisten Mikroorganismen entsteht CO<sub>2</sub>, welches als Indikator für das Wachstum von Mikroorganismen im Flüssigmedium genutzt wird. Über einen Fluoreszenzsensor am Boden jeder Flasche wird kontinuierlich im Abstand von 10 Minuten der CO<sub>2</sub>-Gehalt gemessen und über eine geräteinterne Software ausgewertet. Beim Auftreten eines positiven Signals folgen eine Mikroskopie und die Subkultivierung auf festen Kulturmedien zur Art- und Resistenzbestimmung. Auf eine methodische Beschreibung des weiteren Vorgehens wird an dieser Stelle verzichtet, da alle Blutkulturen steril getestet worden sind und das weitere Vorgehen somit nicht zum methodischen Portfolio der Arbeit gehört.

Wird nach dem Bebrütungszeitraum kein positives Signal gemeldet, erfolgt eine makroskopische Begutachtung der Blutkulturflaschen. Bei Auffälligkeiten (Wölbung des Septums oder Plasmagerinnung) wird die Blutkultur wie bei positivem Signal weiterbearbeitet. Liegen keine Auffälligkeiten vor, wird ein negativer Befund erstellt (Arbeitsvorschrift, 2002).

### **3.4 Statistische Auswertung**

Zur Testung auf Unterschiede zwischen einzelnen Messwerten eines Parameters zu den von uns definierten Referenz-Messzeitpunkten (unmittelbar nach dem Auftauen 0 Stunden, nach 6 Stunden und am Ende der Lagerung nach 144 Stunden) wurde der Wilcoxon-Test herangezogen. Ein  $p \leq 0,05$  wurde als statistisch signifikant definiert. Die graphische Darstellung erfolgte mittels Box-Whisker-Plots. Die Verteilung der Messwerte zu den verschiedenen Messzeitpunkten wurde mittels Median und 25 %- und 75 %-Quartil angegeben (Botz und Lienert, 2008).

Alle statistischen Berechnungen erfolgten mit SPSS (Version 14, SPSS, Inc., Chicago, Illinois, USA) und SAS (Version 9.1, SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA). Beide Programme sind für die Charité-Universitätsmedizin Berlin lizenziert.

## 4 Ergebnisse

In den Kapiteln 4.1 bis 4.14 werden die Verläufe der einzelnen Parameter für den Zeitraum 0 Stunden bis 144 Stunden pro Plasmaart (GFP, GSDP und LSDP) im Vergleich zueinander mittels Box-Whisker-Plots graphisch dargestellt. Die durchgezogenen Linien kennzeichnen den physiologischen Referenzbereich für jeden Parameter. Ausreißer werden mittels Kreis bzw. Stern gekennzeichnet.

Eine gestrichelte Linie (bei 70 % Aktivität, respektive 0,7 U/ml) markiert die aktuell in Deutschland nur für die Faktor VIII-Aktivität in Pool-Plasmen gültige Minimalanforderung. Sie wurde zusätzlich auch in den Box-Plots der anderen Faktoren-Aktivitäten hinterlegt.

Die Messwertverteilungen (Quartil-Darstellungen) und die Signifikanzberechnungen (p-Werte) zu den Messzeitpunkten 0 Stunden versus 6 Stunden und 0 Stunden versus 144 Stunden pro Plasmaart sind im Kapitel 4.15 tabellarisch zusammengefasst. Ein tabellarischer Überblick über alle Messwerte zu allen Zeitpunkten und für alle Plasmaarten (in Quartil-Darstellung) findet sich ebenfalls im Kapitel 4.15.

#### 4.1 Fibrinogen im aufgetauten Einzelspender-Frischplasma, aufgetauten S/D-Pool-Plasma und im rekonstruierten S/D-Pool-Plasma

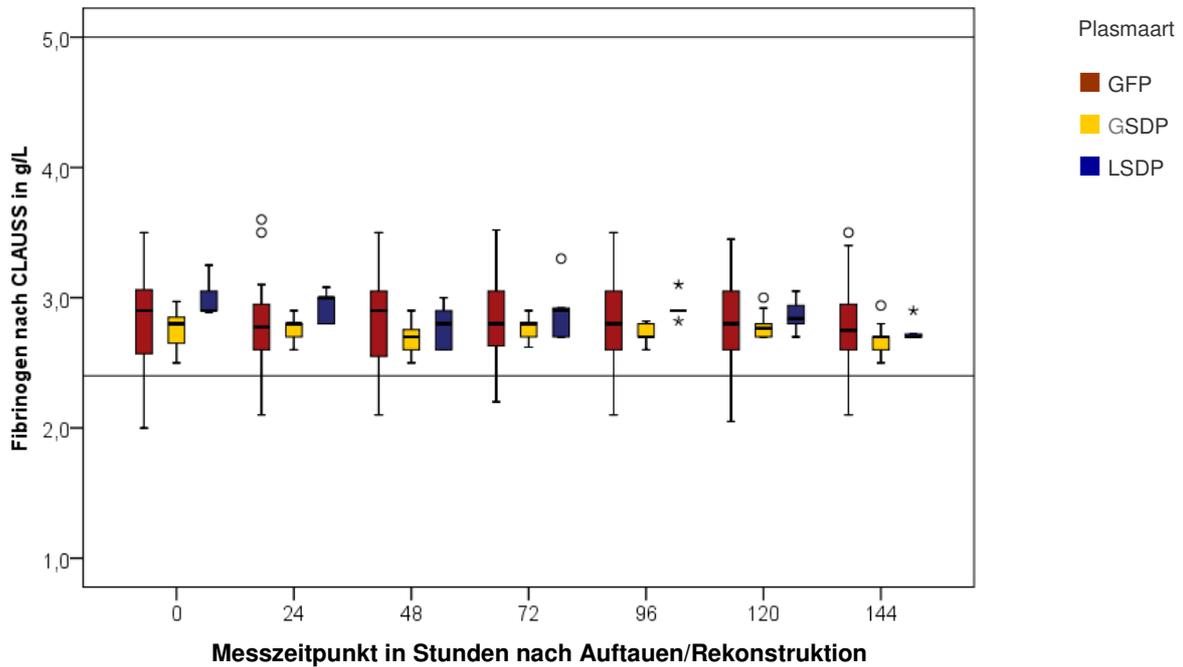


Abbildung 1: Verlauf von Fibrinogen im GFP, GSDP und LSDP von 0 h bis 144 h

Die Fibrinogen-Konzentration lag im GFP nach dem Auftauen bei 2,90 g/l und nach 144 Stunden bei 2,75 g/l. Dieser Abfall ist statistisch nicht signifikant.

Im GSDP wurde nach dem Auftauen eine Konzentration von 2,80 g/l und nach 144 Stunden eine Konzentration von 2,70 g/l gemessen. Der geringfügige Abfall ist jedoch statistisch signifikant. Im LSDP wurde ebenfalls ein statistisch signifikanter Abfall der Fibrinogen-Konzentration von 2,90 g/l nach dem Auftauen auf 2,70 g/l nach 144 Stunden nachgewiesen. Die gemessenen Werte befinden sich zu jedem Messzeitpunkt im physiologischen Referenzbereich für die Fibrinogen-Konzentration.

## 4.2 Faktor II im aufgetauten Einzelspender-Frischplasma, aufgetauten S/D-Pool-Plasma und im rekonstruierten S/D-Pool-Plasma

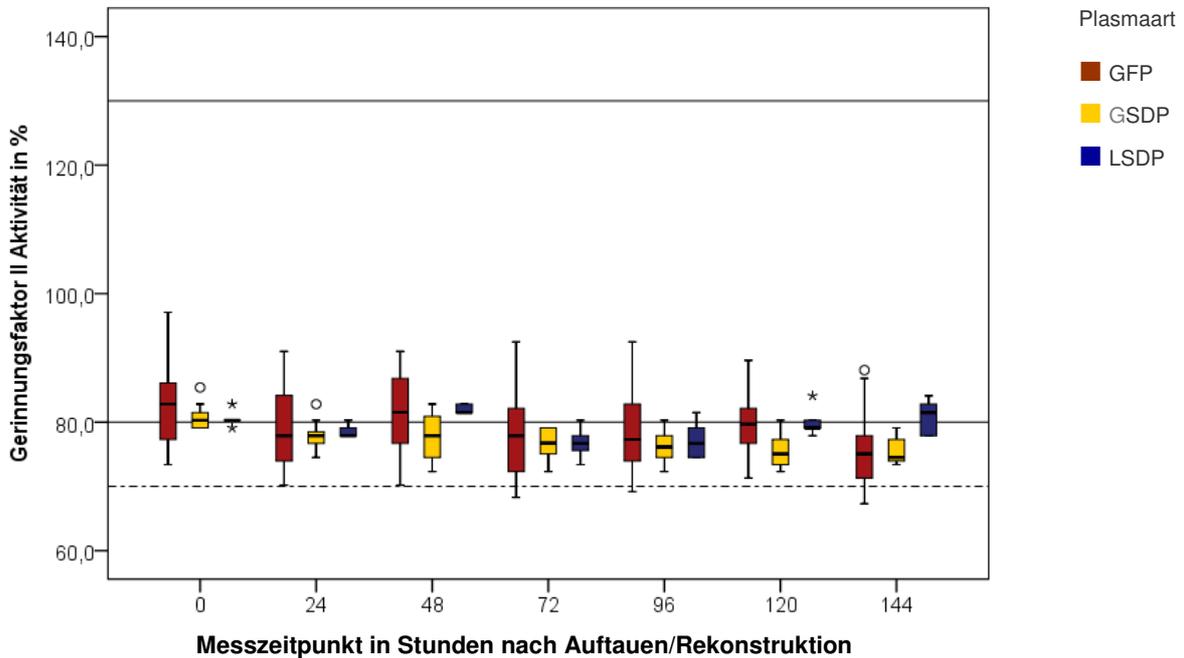


Abbildung 2: Verlauf von Faktor II im GFP, GSDP und LSDP von 0 h bis 144 h

Die Faktor II-Aktivität lag im GFP nach dem Auftauen bei 82,8 % und nach 144 Stunden bei 75,1 %. Im GSDP lag die Faktor II-Aktivität nach dem Auftauen bei 80,3 % und nach 144 Stunden bei 74,5 %. Im LSDP wurde nach Rekonstruktion eine Faktor II-Aktivität von 80,3 % und nach 144 Stunden von 81,5 % ermittelt. Ein statistisch signifikanter Abfall der Aktivität war im GFP und im GSDP zu verzeichnen.

### 4.3 Faktor V im aufgetauten Einzelspender-Frischplasma, aufgetauten S/D-Pool-Plasma und im rekonstruierten S/D-Pool-Plasma

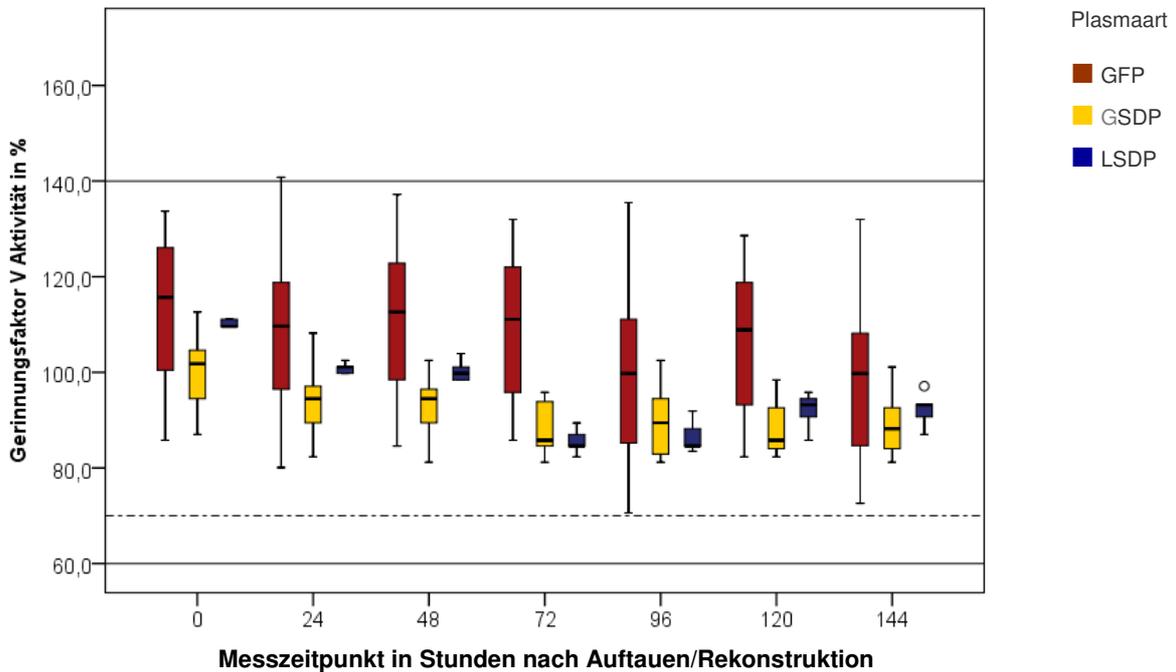


Abbildung 3: Verlauf von Faktor V im GFP, GSDP und LSDP von 0 h bis 144 h

Die Aktivität von Faktor V lag im GFP nach dem Auftauen bei 115,7 % und nach 144 Stunden bei 99,8 %. Im GSDP lag die Aktivität von Faktor V nach dem Auftauen bei 101,8 % und nach 144 Stunden bei 88,2 %. Im LSDP wurde nach Rekonstruktion eine Aktivität von Faktor V von 109,6 % und nach 144 Stunden von 93,2 % ermittelt. Für alle Plasmaarten war ein statistisch signifikanter Abfall der Faktor V-Aktivität zu verzeichnen.

Alle gemessenen Werte befinden sich jedoch zu jedem Messzeitpunkt im physiologischen Referenzbereich für die Faktor V-Aktivität.

#### 4.4 Faktor VII im aufgetauten Einzelspender-Frischplasma, aufgetauten S/D-Pool-Plasma und im rekonstruierten S/D-Pool-Plasma

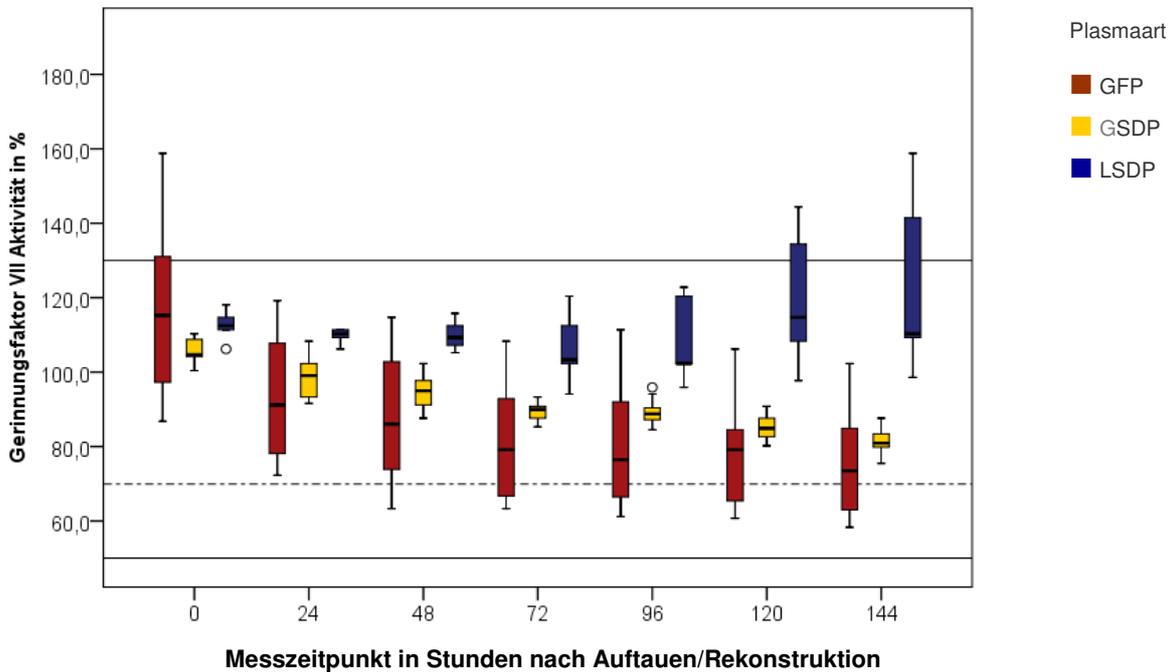


Abbildung 4: Verlauf von Faktor VII im GFP, GSDP und LSDP von 0 h bis 144 h

Die Faktor VII-Aktivität lag im GFP nach dem Auftauen bei 115,3 % und nach 144 Stunden bei 73,5 %. Im GSDP lag die Faktor VII-Aktivität nach dem Auftauen bei 104,7 % und nach 144 Stunden bei 80,9 %. Im LSDP wurde nach Rekonstruktion eine Faktor VII-Aktivität von 112,5 % und nach 144 Stunden von 110,3 % ermittelt. Ein statistisch signifikanter Abfall der Faktor VII-Aktivität war im GFP und im GSDP zu verzeichnen. In allen Plasmen unterschritten die Messwerte zu keinem Zeitpunkt den physiologischen Referenzbereich für die Faktor VII-Aktivität.

#### 4.5 Faktor VIII im aufgetauten Einzelspender-Frischplasma, aufgetauten S/D-Pool-Plasma und im rekonstruierten S/D-Pool-Plasma

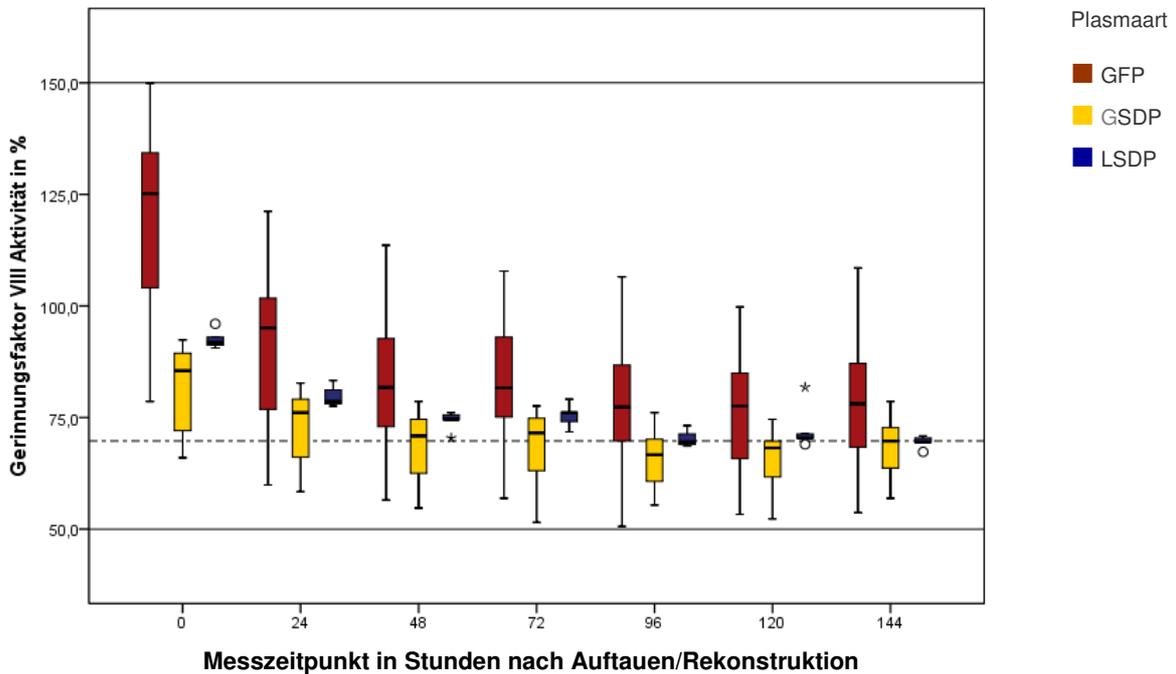


Abbildung 5: Verlauf von Faktor VIII im GFP, GSDP und LSDP von 0 h bis 144 h

Die Aktivität von Faktor VIII lag im GFP nach dem Auftauen bei 125,2 % und nach 144 Stunden bei 78,1 %. Im GSDP lag die Aktivität von Faktor VIII nach dem Auftauen bei 85,5 % und nach 144 Stunden bei 69,7 %. Im LSDP wurde nach Rekonstruktion eine Aktivität von Faktor VIII von 91,8 % und nach 144 Stunden von 69,5 % festgestellt. Für alle Plasmaarten wurde ein statistisch signifikanter Abfall der Faktor VIII-Aktivität ermittelt.

Für den Spender-Ausgangswert (nur für GFP-Spender, siehe unter 3.1.3) wurde eine Faktor VIII-Aktivität von 115 % (88 % - 126 %) ermittelt.

#### 4.6 Faktor IX im aufgetauten Einzelspender-Frischplasma, aufgetauten S/D-Pool-Plasma und im rekonstruierten S/D-Pool-Plasma

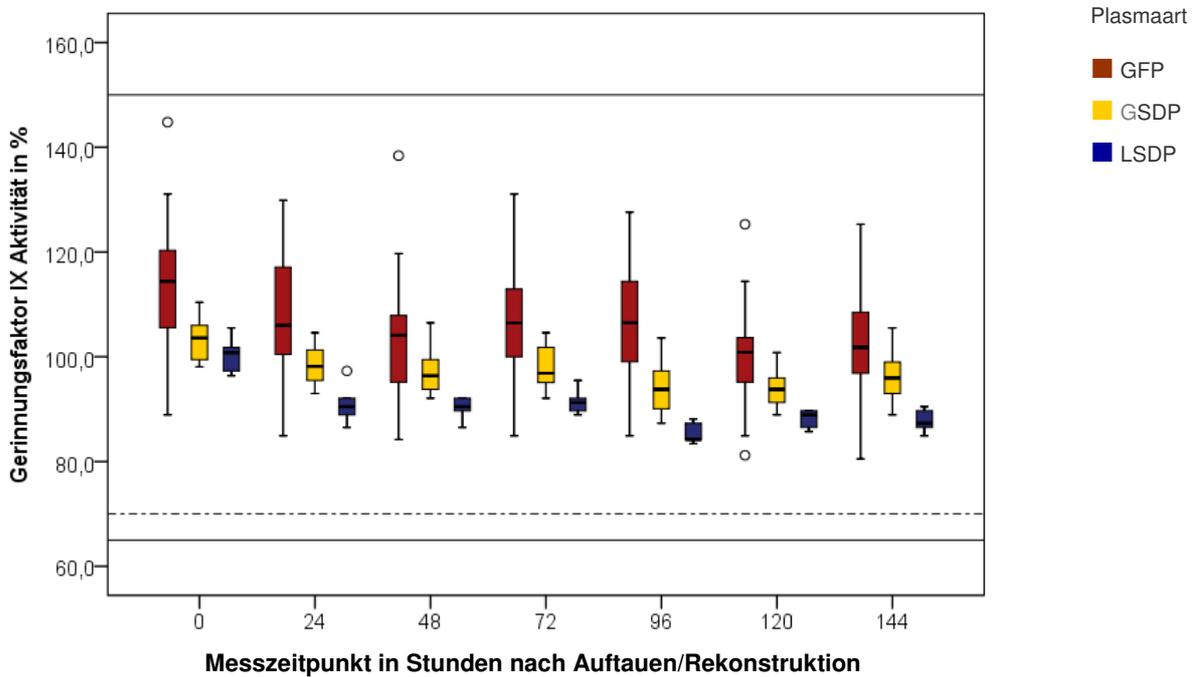


Abbildung 6: Verlauf von Faktor IX im GFP, GSDP und LSDP von 0 h bis 144 h

Die Faktor IX-Aktivität lag im GFP nach dem Auftauen bei 114,4 % und nach 144 Stunden bei 101,8 %. Im GSDP lag die Faktor IX-Aktivität nach dem Auftauen bei 103,6 % und nach 144 Stunden bei 96 %. Im LSDP wurde nach Rekonstruktion eine Faktor IX-Aktivität von 100,8 % und nach 144 Stunden von 87,3 % festgestellt. Für alle Plasmaarten wurde ein statistisch signifikanter Abfall der Faktor IX-Aktivität ermittelt.

In allen Plasmen unterschritten die Messwerte zu keinem Zeitpunkt den physiologischen Referenzbereich für die Faktor IX-Aktivität.

#### 4.7 Faktor X im aufgetauten Einzelspender-Frischplasma, aufgetauten S/D-Pool-Plasma und im rekonstruierten S/D-Pool-Plasma

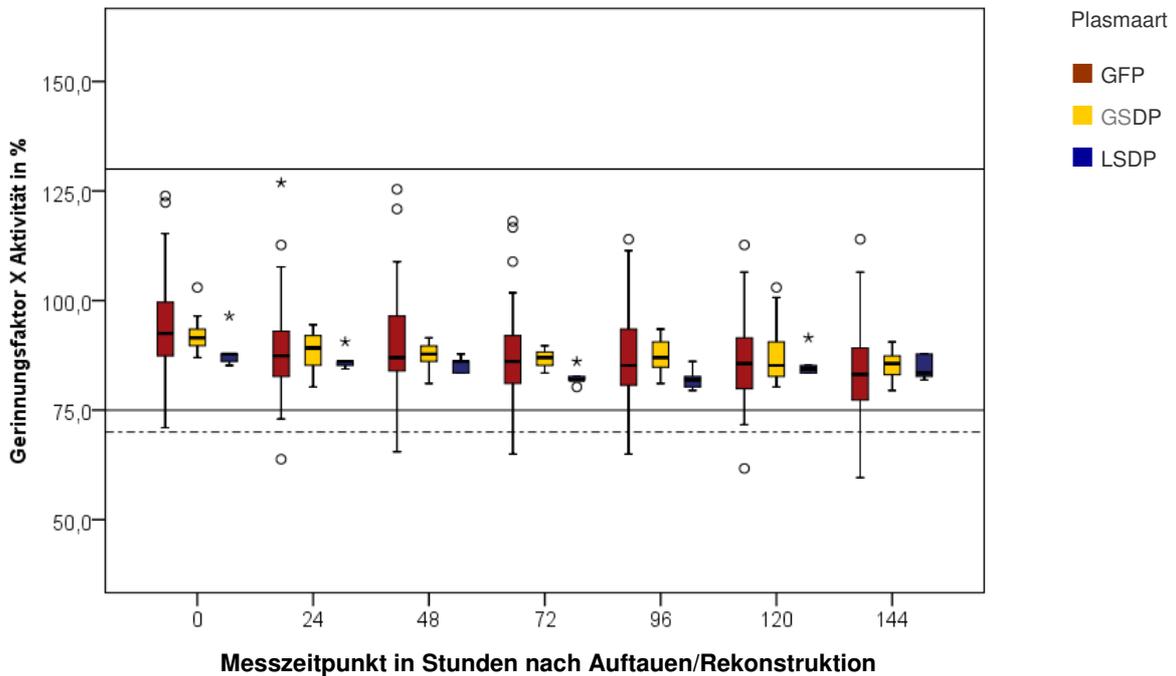


Abbildung 7: Verlauf von Faktor X im GFP, GSDP und LSDP von 0 h bis 144 h

Die Faktor X-Aktivität lag im GFP nach dem Auftauen bei 92,5 % und nach 144 Stunden bei 83,20 %. Im GSDP lag die Faktor X-Aktivität nach dem Auftauen bei 91,5 % und nach 144 Stunden bei 85,7 %. Im LSDP wurde nach Rekonstruktion eine Faktor X-Aktivität von 87,8 % und nach 144 Stunden von 83,5 % ermittelt.

Im GFP und im GSDP wurde ein statistisch signifikanter Abfall der Faktor X-Aktivität festgestellt. Im LSDP waren die Veränderungen im Vergleich 0 Stunden versus 144 Stunden statistisch nicht signifikant.

#### 4.8 Faktor XI im aufgetauten Einzelspender-Frischplasma, aufgetauten S/D-Pool-Plasma und im rekonstruierten S/D-Pool-Plasma

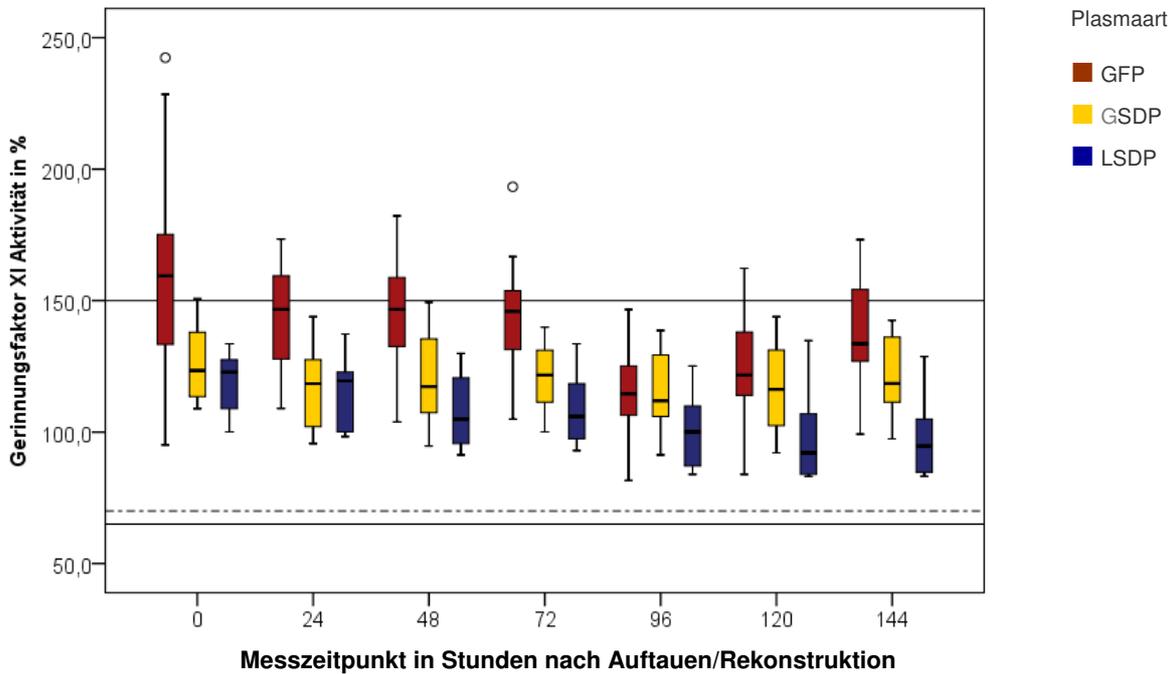


Abbildung 8: Verlauf von Faktor XI im GFP, GSDP und LSDP von 0 h bis 144 h

Die Faktor XI-Aktivität lag im GFP nach dem Auftauen bei 159,5 % und nach 144 Stunden bei 133,6 %. Im GSDP lag die Faktor XI-Aktivität nach dem Auftauen bei 123,4 % und nach 144 Stunden bei 118,5 %. Im LSDP wurde nach Rekonstruktion eine Faktor XI-Aktivität von 122,8 % und nach 144 Stunden von 94,7 % ermittelt. Der Abfall der Aktivität von Faktor XI ist im GFP ( $p$  0,0452) grenzwertig statistisch signifikant. Im GSDP und LSDP ist die Verminderung statistisch nicht signifikant.

In allen Plasmen unterschritten die Messwerte zu keinem Zeitpunkt den physiologischen Referenzbereich für die Faktor XI-Aktivität.

#### 4.9 Faktor XII im aufgetauten Einzelspender-Frischplasma, aufgetauten S/D-Pool-Plasma und im rekonstruierten S/D-Pool-Plasma

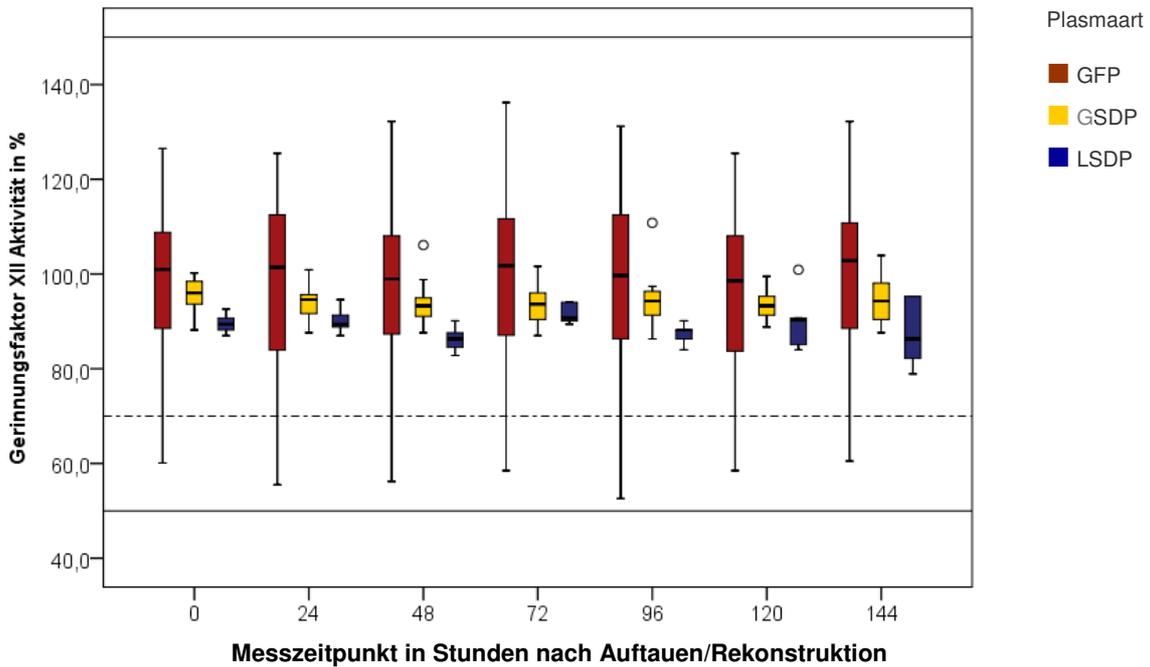


Abbildung 9: Verlauf von Faktor XII im GFP, GSDP und LSDP von 0 h bis 144 h

Die Faktor XII-Aktivität lag im GFP nach dem Auftauen bei 101 % und nach 144 Stunden bei 102,8 %. Im GSDP lag die Faktor XII-Aktivität nach dem Auftauen bei 96 % und nach 144 Stunden bei 94,3 %. Im LSDP wurde nach Rekonstruktion eine Faktor XII-Aktivität von 89,4 % und nach 144 Stunden von 86,3 % ermittelt.

Für alle Plasmaarten konnte ein statistisch nicht signifikanter Abfall der Faktor XII-Aktivität nachgewiesen werden.

Die Messwerte unterschritten in allen Plasmaarten zu keinem Zeitpunkt den physiologischen Referenzbereich für die Faktor XII-Aktivität.

#### 4.10 Faktor XIII im aufgetauten Einzelspender-Frischplasma, aufgetauten S/D-Pool-Plasma und im rekonstruierten S/D-Pool-Plasma

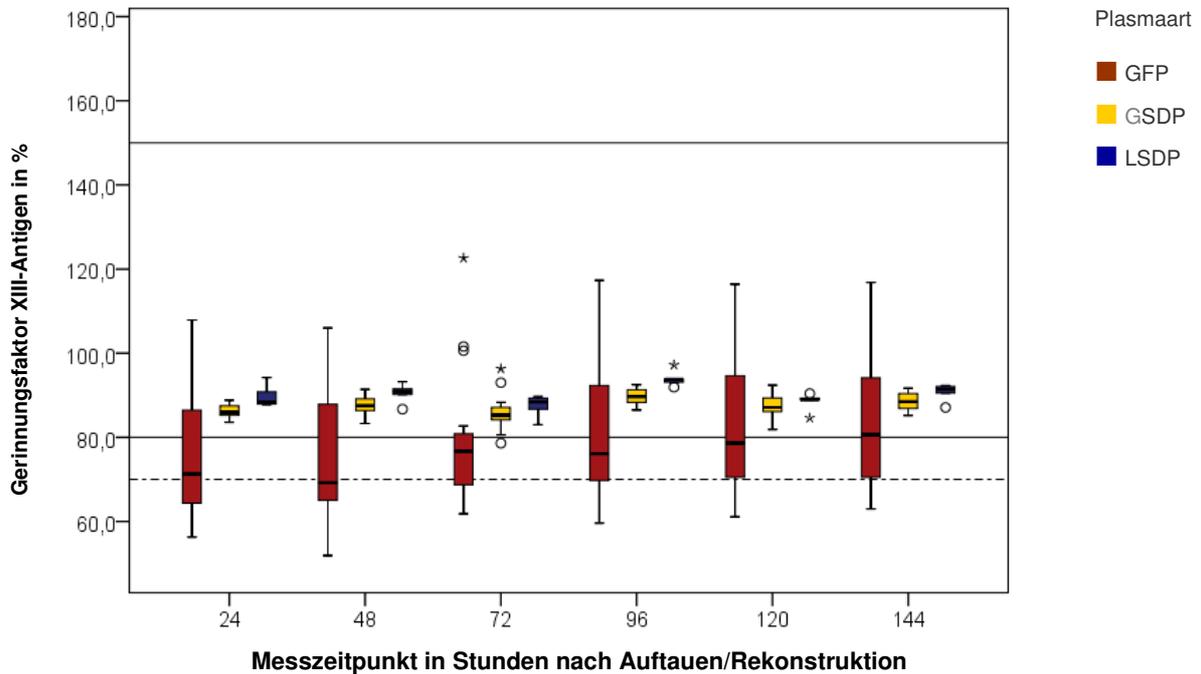


Abbildung 10: Verlauf von Faktor XIII im GFP, GSDP und LSDP von 0 h bis 144 h

Das Faktor XIII-Antigen lag im GFP nach dem Auftauen bei 75 % und nach 144 Stunden bei 80,7 %. Im GSDP lag das Faktor XIII-Antigen nach dem Auftauen bei 90 % und nach 144 Stunden bei 88,5 %. Im LSDP wurde nach Rekonstruktion ein Faktor XIII-Antigen von 94,4 % und nach 144 Stunden von 91,4 % festgestellt.

Die Verminderung des Faktor XIII-Antigens im LSDP ist mit  $p = 0,0465$  grenzwertig statistisch relevant. Im GFP und im GSDP sind die Abfälle statistisch nicht signifikant.

#### 4.11 V. Willebrand-Faktor-Antigen Blutgruppe 0 im aufgetauten Einzelspender-Frischplasma, aufgetauten S/D-Pool-Plasma und im rekonstruierten S/D-Pool-Plasma

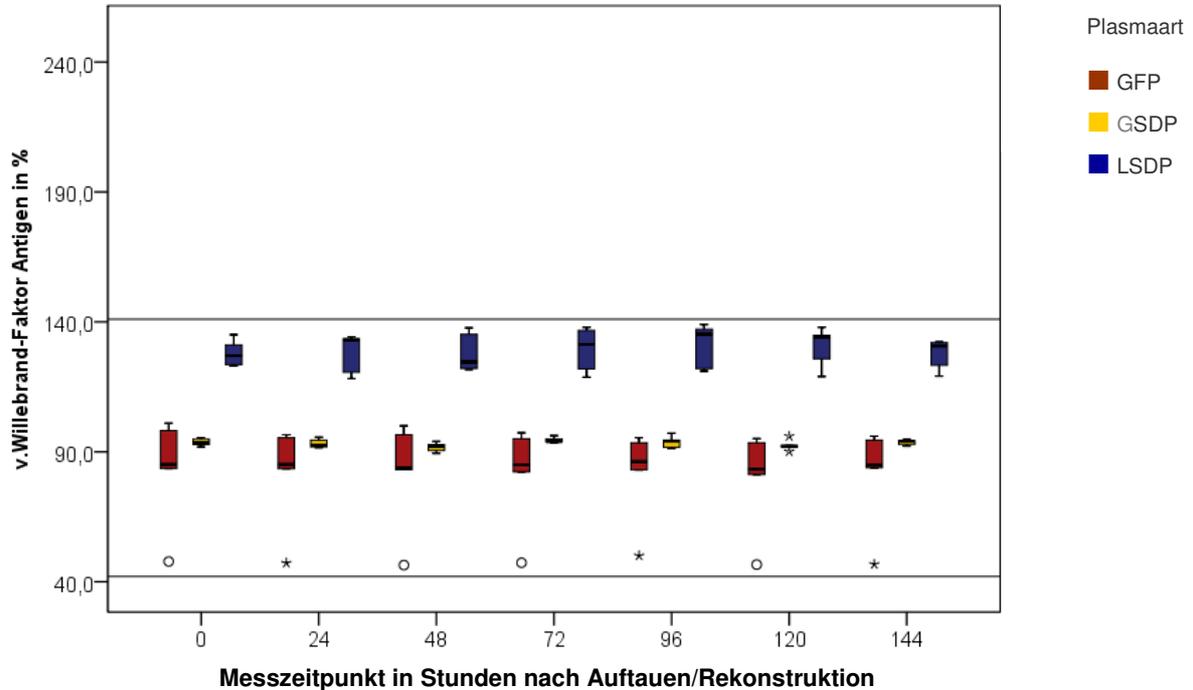


Abbildung 11: Verlauf von v. Willebrand-Faktor-Antigen, BG 0, im GFP, GSDP und LSDP von 0 h bis 144 h

Das v. Willebrand-Faktor-Antigen lag im GFP nach dem Auftauen bei 85,1 % und nach 144 Stunden bei 84,9 %. Im GSDP lag es nach dem Auftauen bei 93,4 % und nach 144 Stunden bei 94,1 %. Im LSDP wurde nach Rekonstruktion ein v. Willebrand-Faktor-Antigen von 127 % und nach 144 Stunden von 130,7 % ermittelt. In allen Plasmaarten konnte kein statistisch signifikanter Abfall festgestellt werden. Die Messwerte unterschritten in allen Plasmaarten zu keinem Zeitpunkt den physiologischen Referenzbereich für das v. Willebrand-Faktor-Antigen.

#### 4.12 V. Willebrand-Faktor-Antigen Blutgruppen A/B/AB im aufgetauten Einzelspender-Frischplasma und aufgetauten S/D-Pool-Plasma

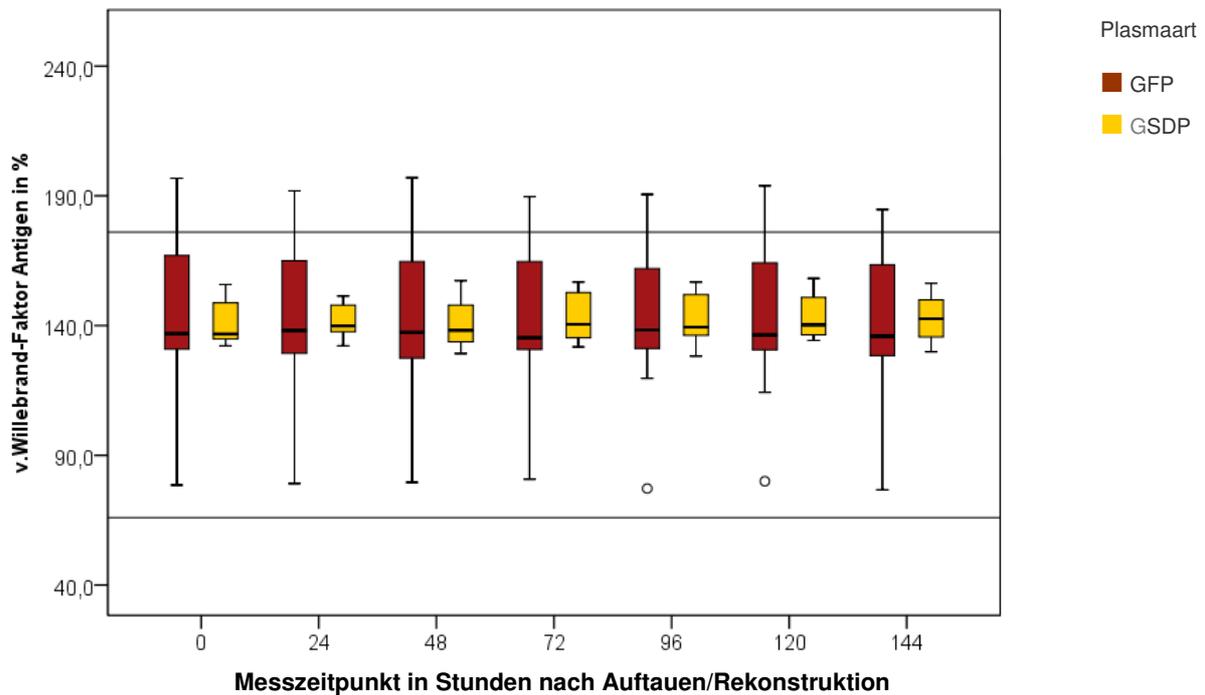


Abbildung 12: Verlauf von v. Willebrand-Faktor-Antigen, BG A/B/AB, im GFP und GSDP von 0 h bis 144 h

Das v. Willebrand-Faktor-Antigen lag im GFP nach dem Auftauen bei 136,9 % und nach 144 Stunden bei 135,9 %. Im GSDP lag es nach dem Auftauen bei 135,8 % und nach 144 Stunden bei 142,6 %. In beiden Plasmaarten konnte kein statistisch signifikanter Abfall festgestellt werden. Die Messwerte unterschritten in beiden Plasmaarten zu keinem Zeitpunkt den physiologischen Referenzbereich für das v. Willebrand-Faktor-Antigen.

#### 4.13 V. Willebrand-Faktor- Aktivität Blutgruppe 0 im aufgetauten Einzelspender-Frischplasma, aufgetauten S/D-Pool-Plasma und im rekonstruierten S/D-Pool-Plasma

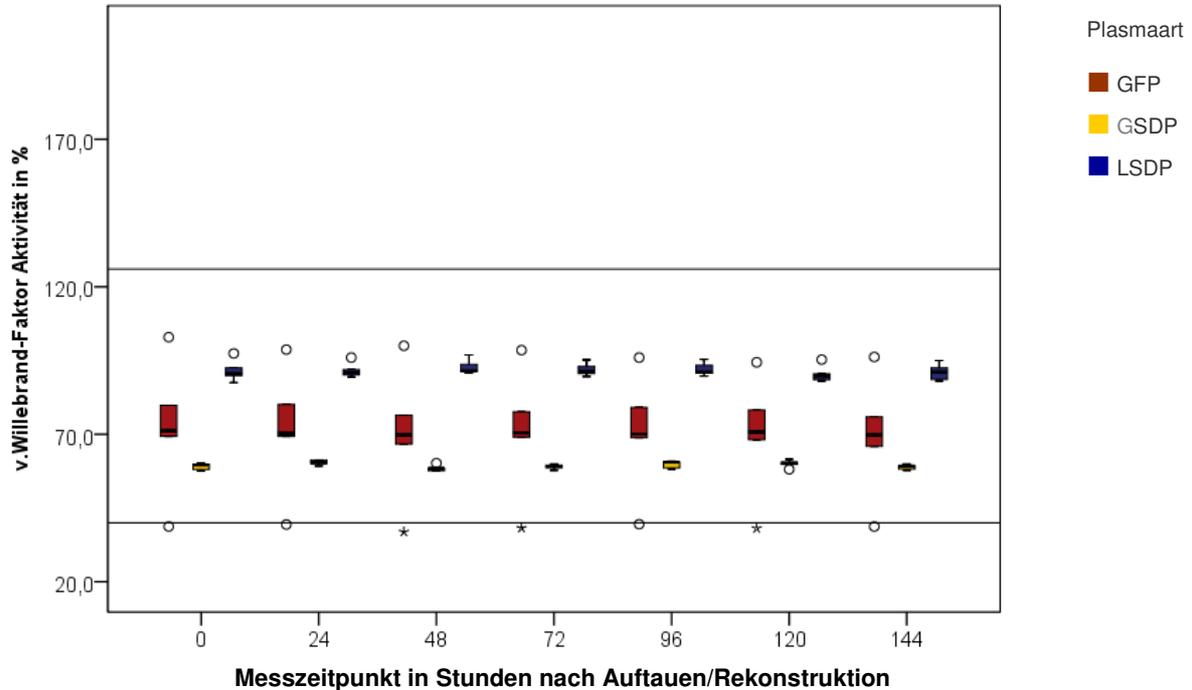


Abbildung 13: Verlauf von v. Willebrand-Faktor-Aktivität, BG 0, im GFP, GSDP und LSDP von 0 h bis 144 h

Die v. Willebrand-Faktor-Aktivität lag im GFP nach dem Auftauen bei 71,2 % und nach 144 Stunden bei 69,8 %. Im GSDP lag sie nach dem Auftauen bei 59,6 % und nach 144 Stunden bei 59,2 %. Im LSDP wurde nach Rekonstruktion eine v. Willebrand-Faktor-Aktivität von 90,6 % und nach 144 Stunden von 91,1 % ermittelt. In allen Plasmaarten konnte kein statistisch signifikanter Abfall festgestellt werden. Die Messwerte unterschritten in allen Plasmaarten zu keinem Zeitpunkt den physiologischen Referenzbereich für die v. Willebrand-Faktor-Aktivität.

#### 4.14 V. Willebrand-Faktor-Aktivität Blutgruppen A/B/AB im aufgetauten Einzelspender-Frischplasma und aufgetauten S/D-Pool-Plasma

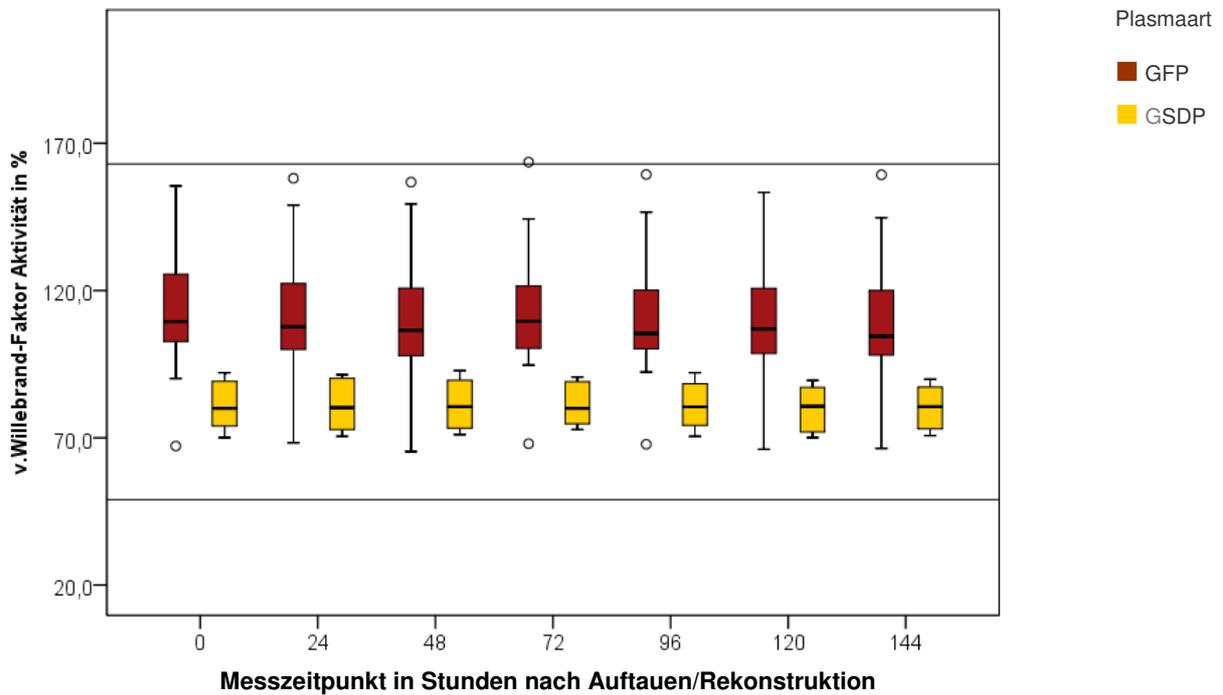


Abbildung 14: Verlauf von v. Willebrand-Faktor-Aktivität, BG A/B/AB, im GFP und GSDP von 0 h bis 144 h

Die v. Willebrand-Faktor-Aktivität lag im GFP nach dem Auftauen bei 109,4 % und nach 144 Stunden bei 104,5 %. Im GSDP lag sie nach dem Auftauen bei 80 % und nach 144 Stunden bei 80,6 %.

In beiden Plasmaarten konnte kein statistisch signifikanter Abfall festgestellt werden. Die Messwerte unterschritten in beiden Plasmaarten zu keinem Zeitpunkt den physiologischen Referenzbereich für die v. Willebrand-Faktor-Aktivität.

#### 4.15 Übersicht der Messwertverteilungen und Signifikanzberechnungen im aufgetauten Einzelspender-Frischplasma, aufgetauten S/D-Plasma und im lyophilisierten S/D-Plasma

##### 4.15.1 0 Stunden versus 6 Stunden

Tabelle 3: Quartilen und Signifikanzen für GFP, Zeitpunkt 0 h versus 6 h nach Auftauen

Gerinnungsfaktor	Zeitpunkt	Quartil	Median	Quartil	p
		25		75	
Fibrinogen nach CLAUSS in g/l	0h	2,5550	<b>2,9000</b>	3,0800	0,5333
	6h	2,5300	<b>2,8100</b>	2,9150	
Gerinnungsfaktor II- Aktivität in %	0h	77,0000	<b>82,8000</b>	86,4500	0,0776
	6h	81,5000	<b>85,4000</b>	90,6500	
Gerinnungsfaktor V- Aktivität in %	0h	100,1250	<b>115,7000</b>	126,4750	0,1890
	6h	105,6500	<b>122,0000</b>	132,0000	
Gerinnungsfaktor VII-Aktivität in %	0h	97,0250	<b>115,2500</b>	131,3750	0,4247
	6h	95,9000	<b>109,3000</b>	125,2750	
Gerinnungsfaktor VIII-Aktivität in %	0h	103,2500	<b>125,1500</b>	134,3000	0,0987
	6h	100,5750	<b>109,4500</b>	121,9750	
Gerinnungsfaktor IX- Aktivität in %	0h	105,0750	<b>114,4000</b>	121,6500	0,4089
	6h	102,2500	<b>110,9000</b>	118,1500	
Gerinnungsfaktor X- Aktivität in %	0h	86,7500	<b>92,5000</b>	100,7250	0,9676
	6h	85,4750	<b>91,5000</b>	104,8000	
Gerinnungsfaktor XI- Aktivität in %	0h	132,2000	<b>159,4500</b>	177,8000	0,0741
	6h	102,2500	<b>110,9000</b>	118,1500	
Gerinnungsfaktor XII-Aktivität in %	0h	87,4000	<b>100,9500</b>	109,0000	0,7454
	6h	85,2750	<b>98,2000</b>	110,8000	
Gerinnungsfaktor XIII-Antigen in %	0h	70,4250	<b>75,0000</b>	96,4000	0,2393
	6h	66,3250	<b>69,6500</b>	87,4500	

Tabelle 3: Quartilen und Signifikanzen für GFP, Zeitpunkt 0 h versus 6 h  
nach Auftauen

(Fortsetzung von Seite 40)

<b>Gerinnungsfaktor</b>	<b>Zeitpunkt</b>	<b>Quartil 25</b>	<b>Median</b>	<b>Quartil 75</b>	<b>p</b>
<b>v. Willebrand-Faktor- Aktivität in % Blutgruppe 0</b>	<b>0h</b>	54,000	<b>71,2000</b>	91,3500	0,0630
	<b>6h</b>	53,000	<b>70,4000</b>	89,3500	
<b>v. Willebrand-Faktor- Aktivität in % Blutgruppen A/B/AB</b>	<b>0h</b>	101,9000	<b>109,4000</b>	129,7000	0,0710
	<b>6h</b>	102,1000	<b>108,0000</b>	127,4000	
<b>v. Willebrand-Faktor- Antigen in % Blutgruppe 0</b>	<b>0h</b>	65,7000	<b>85,1000</b>	99,6000	0,1250
	<b>6h</b>	64,5500	<b>83,9000</b>	95,4000	
<b>v. Willebrand-Faktor- Antigen in % Blutgruppen A/B/AB</b>	<b>0h</b>	130,6000	<b>136,9000</b>	178,4000	0,0610
	<b>6h</b>	128,4000	<b>139,8000</b>	171,9000	

Tabelle 4: Quartilen und Signifikanzen für GSDP, Zeitpunkt 0 h versus 6 h nach Auftauen

Gerinnungsfaktor	Zeitpunkt	Quartil 25	Median	Quartil 75	p
Fibrinogen nach CLAUSS in g/l	0h	2,6250	<b>2,8000</b>	2,8750	0,3141
	6h	2,6250	<b>2,7000</b>	2,8000	
Gerinnungsfaktor II- Aktivität in %	0h	79,1000	<b>80,3000</b>	81,5000	0,0126
	6h	80,3000	<b>81,5000</b>	82,8000	
Gerinnungsfaktor V- Aktivität in %	0h	93,8500	<b>101,8000</b>	104,9500	0,3337
	6h	99,8000	<b>103,2000</b>	106,7000	
Gerinnungsfaktor VII-Aktivität in %	0h	104,2000	<b>104,7000</b>	109,0500	0,6734
	6h	102,5500	<b>106,2000</b>	109,0500	
Gerinnungsfaktor VIII-Aktivität in %	0h	71,4750	<b>85,5000</b>	89,4000	0,1130
	6h	70,5250	<b>78,3500</b>	85,3750	
Gerinnungsfaktor IX- Aktivität in %	0h	99,2250	<b>103,6000</b>	106,2500	0,0030
	6h	96,6250	<b>98,5500</b>	102,7000	
Gerinnungsfaktor X- Aktivität in %	0h	89,7000	<b>91,5000</b>	93,5000	0,9782
	6h	89,9250	<b>92,5000</b>	92,5000	
Gerinnungsfaktor XI- Aktivität in %	0h	112,7000	<b>123,4000</b>	138,2750	0,4324
	6h	110,9000	<b>121,2000</b>	132,0000	
Gerinnungsfaktor XII-Aktivität in %	0h	93,4750	<b>96,0000</b>	98,6250	0,2907
	6h	92,1500	<b>97,7500</b>	102,4000	
Gerinnungsfaktor XIII-Antigen in %	0h	89,3500	<b>90,0000</b>	91,6750	0,2286
	6h	87,5250	<b>89,3000</b>	91,8000	
v. Willebrand-Faktor- Aktivität in % Blutgruppe 0	0h	57,8500	<b>59,6000</b>	60,0000	0,1880
	6h	59,1500	<b>59,5000</b>	61,2000	

Tabelle 4: Quartilen und Signifikanzen für GSDP, Zeitpunkt 0 h versus 6 h  
nach Auftauen

(Fortsetzung von Seite 42)

<b>Gerinnungsfaktor</b>	<b>Zeitpunkt</b>	<b>Quartil 25</b>	<b>Median</b>	<b>Quartil 75</b>	<b>p</b>
<b>v. Willebrand-Faktor- Aktivität in % Blutgruppen A/B/AB</b>	<b>0h</b>	73,7000	<b>80,0000</b>	89,2000	0,2610
	<b>6h</b>	73,5000	<b>78,9000</b>	88,7000	
<b>v. Willebrand-Faktor- Antigen in % Blutgruppe 0</b>	<b>0h</b>	92,3500	<b>93,4000</b>	95,1000	0,3670
	<b>6h</b>	90,3000	<b>91,5000</b>	94,9500	
<b>v. Willebrand-Faktor- Antigen in % Blutgruppen A/B/AB</b>	<b>0h</b>	134,8000	<b>135,8000</b>	150,0000	0,3670
	<b>6h</b>	131,8000	<b>136,6000</b>	151,7000	

Tabelle 5: Quartilen und Signifikanzen für LSDP, Zeitpunkt 0 h versus 6 h nach Rekonstruktion

Gerinnungsfaktor	Zeitpunkt	Quartil 25	Median	Quartil 75	p
Fibrinogen nach CLAUSS in g/l	0h	2,8950	<b>2,9000</b>	3,1500	0,8294
	6h	2,8000	<b>2,9000</b>	3,0500	
Gerinnungsfaktor II- Aktivität in %	0h	79,7000	<b>80,3000</b>	81,5500	0,0170
	6h	82,8000	<b>84,1000</b>	84,1000	
Gerinnungsfaktor V- Aktivität in %	0h	109,6000	<b>109,6000</b>	111,1000	0,1351
	6h	106,7000	<b>108,2000</b>	111,1500	
Gerinnungsfaktor VII- Aktivität in %	0h	108,8000	<b>112,5000</b>	116,4000	0,7533
	6h	106,7500	<b>111,4000</b>	116,3500	
Gerinnungsfaktor VIII- Aktivität in %	0h	90,9000	<b>91,8000</b>	94,5000	0,0119
	6h	75,6000	<b>78,1000</b>	79,8500	
Gerinnungsfaktor IX- Aktivität in %	0h	96,8500	<b>100,8000</b>	103,6500	0,0157
	6h	93,0000	<b>93,8000</b>	95,5500	
Gerinnungsfaktor X- Aktivität in %	0h	85,6500	<b>87,8000</b>	92,1500	0,2812
	6h	87,8000	<b>89,7000</b>	91,0500	
Gerinnungsfaktor XI- Aktivität in %	0h	104,5000	<b>122,8000</b>	130,5500	1,0000
	6h	111,4500	<b>115,1000</b>	128,3500	
Gerinnungsfaktor XII- Aktivität in %	0h	87,6000	<b>89,4000</b>	91,6500	0,6004
	6h	86,6500	<b>92,0000</b>	95,6500	
Gerinnungsfaktor XIII- Antigen in %	0h	92,1000	<b>94,4000</b>	96,4500	0,4633
	6h	91,3500	<b>93,9000</b>	94,3500	
v. Willebrand-Faktor- Aktivität in % Blutgruppe 0	0h	88,700	<b>90,600</b>	94,950	0,6761
	6h	88,100	<b>89,100</b>	94,500	
v. Willebrand-Faktor- Antigen in % Blutgruppe 0	0h	123,300	<b>127,000</b>	133,100	0,8345
	6h	122,400	<b>125,900</b>	131,320	

Statistisch signifikante Abfälle fanden sich nur für die Aktivität des Gerinnungsfaktors IX im GSDP (nach dem Auftauen 103,6 % und nach 6 Stunden 98,6 %) sowie für die Aktivitäten der Gerinnungsfaktoren VIII (nach dem Auftauen 91,8 % und nach 6 Stunden 78,1 %) und IX (nach dem Auftauen 100,8 % und nach 6 Stunden 93,8 %) im LSDP.

#### **4.15.2 0 Stunden versus 144 Stunden**

Die Ergebnisse der nachfolgenden Tabellen wurden bereits in den Abschnitten 4.1 bis 4.14 beschrieben. Die Tabellen dienen lediglich der Übersicht.

Tabelle 6: Quartilen und Signifikanzen für GFP, Zeitpunkt 0 h versus 144 h nach Auftauen

Gerinnungsfaktor	Zeitpunkt	Quartil 25	Median	Quartil 75	p
Fibrinogen nach CLAUSS in g/l	0h	2,555	<b>2,900</b>	3,080	0,4005
	144h	2,600	<b>2,750</b>	2,975	
Gerinnungsfaktor II- Aktivität in %	0h	77,000	<b>82,800</b>	86,450	0,0011
	144h	71,300	<b>75,050</b>	77,900	
Gerinnungsfaktor V- Aktivität in %	0h	100,125	<b>115,700</b>	126,475	0,0199
	144h	84,075	<b>99,750</b>	108,875	
Gerinnungsfaktor VII-Aktivität in %	0h	97,025	<b>115,250</b>	131,375	< 0,0001
	144h	62,350	<b>73,500</b>	85,100	
Gerinnungsfaktor VIII-Aktivität in %	0h	103,250	<b>125,150</b>	134,300	< 0,0001
	144h	67,850	<b>78,100</b>	87,725	
Gerinnungsfaktor IX- Aktivität in %	0h	105,075	<b>114,400</b>	121,650	0,0071
	144h	95,775	<b>101,800</b>	110,450	
Gerinnungsfaktor X- Aktivität in %	0h	86,750	<b>92,500</b>	100,725	0,0149
	144h	77,300	<b>83,150</b>	89,450	
Gerinnungsfaktor XI- Aktivität in %	0h	132,200	<b>159,450</b>	177,800	0,0452
	144h	126,600	<b>133,550</b>	154,625	
Gerinnungsfaktor XII-Aktivität in %	0h	87,400	<b>100,950</b>	109,000	0,6650
	144h	88,350	<b>102,800</b>	110,800	
Gerinnungsfaktor XIII-Antigen in %	0h	70,425	<b>75,000</b>	96,400	0,6263
	144h	69,800	<b>80,650</b>	95,825	
v. Willebrand-Faktor- Aktivität in % Blutgruppe 0	0h	54,000	<b>71,200</b>	91,350	0,1250
	144h	52,300	<b>69,800</b>	86,050	
v. Willebrand-Faktor- Aktivität in % Blutgruppen A/B/AB	0h	101,900	<b>109,400</b>	129,700	0,0530
	144h	97,200	<b>104,500</b>	128,300	

Tabelle 6: Quartilen und Signifikanzen für GFP, Zeitpunkt 0 h versus 144 h  
nach Auftauen

(Fortsetzung von Seite 47)

Gerinnungsfaktor	Zeitpunkt	Quartil 25	Median	Quartil 75	p
v. Willebrand-Faktor- Antigen in % Blutgruppe 0	0h	65,700	<b>85,100</b>	99,600	0,1880
	144h	65,300	<b>84,900</b>	95,250	
v. Willebrand-Faktor- Antigen in % Blutgruppen A/B/AB	0h	130,600	<b>136,900</b>	178,400	0,0780
	144h	124,200	<b>135,900</b>	177,700	

Tabelle 7: Quartilen und Signifikanzen für GSDP, Zeitpunkt 0 h versus 144 h nach Auftauen

Gerinnungsfaktor	Zeitpunkt	Quartil 25	Median	Quartil 75	p
Fibrinogen nach CLAUSS in g/l	0h	2,625	<b>2,800</b>	2,875	0,0295
	144h	2,600	<b>2,700</b>	2,800	
Gerinnungsfaktor II- Aktivität in %	0h	79,100	<b>80,300</b>	81,500	< 0,0001
	144h	73,675	<b>74,500</b>	77,600	
Gerinnungsfaktor V - Aktivität in %	0h	93,850	<b>101,800</b>	104,950	< 0,0001
	144h	83,775	<b>88,200</b>	93,550	
Gerinnungsfaktor VII-Aktivität in %	0h	104,200	<b>104,700</b>	109,050	< 0,0001
	144h	79,675	<b>80,900</b>	83,600	
Gerinnungsfaktor VIII-Aktivität in %	0h	71,475	<b>85,500</b>	89,400	0,0002
	144h	63,000	<b>69,700</b>	73,225	
Gerinnungsfaktor IX- Aktivität in %	0h	99,225	<b>103,600</b>	106,250	< 0,0001
	144h	93,000	<b>95,950</b>	99,000	
Gerinnungsfaktor X- Aktivität in %	0h	89,700	<b>91,500</b>	93,500	< 0,0001
	144h	82,900	<b>85,650</b>	87,600	
Gerinnungsfaktor XI- Aktivität in %	0h	112,700	<b>123,400</b>	138,275	0,3227
	144h	111,150	<b>118,500</b>	136,100	
Gerinnungsfaktor XII-Aktivität in %	0h	93,475	<b>96,000</b>	98,625	0,3854
	144h	90,250	<b>94,300</b>	98,450	
Gerinnungsfaktor XIII Antigen in %	0h	89,350	<b>90,000</b>	91,675	0,4300
	144h	86,825	<b>88,500</b>	90,400	
v. Willebrand-Faktor- Aktivität in % Blutgruppe 0	0h	57,850	<b>59,600</b>	60,000	1,0000
	144h	58,000	<b>59,200</b>	59,650	

Tabelle 7: Quartilen und Signifikanzen für GSDP, Zeitpunkt 0 h versus 144 h  
nach Auftauen

(Fortsetzung von Seite 48)

<b>Gerinnungsfaktor</b>	<b>Zeitpunkt</b>	<b>Quartil 25</b>	<b>Median</b>	<b>Quartil 75</b>	<b>p</b>
<b>v. Willebrand-Faktor- Aktivität in % Blutgruppen A/B/AB</b>	<b>0h</b>	73,700	<b>80,000</b>	89,200	0,4890
	<b>144h</b>	72,800	<b>80,600</b>	87,800	
<b>v. Willebrand-Faktor- Antigen in % Blutgruppe 0</b>	<b>0h</b>	92,350	<b>93,400</b>	95,100	1,0000
	<b>144h</b>	92,550	<b>94,100</b>	94,450	
<b>v. Willebrand-Faktor- Antigen in % Blutgruppen A/B/AB</b>	<b>0h</b>	134,800	<b>135,800</b>	150,000	0,1010
	<b>144h</b>	135,600	<b>142,600</b>	151,600	

Tabelle 8: Quartilen und Signifikanzen für LSDP, Zeitpunkt 0 h versus 144 h nach Rekonstruktion

Gerinnungsfaktor	Zeitpunkt	Quartil 25	Median	Quartil 75	p
Fibrinogen nach CLAUSS in g/l	0h	2,895	<b>2,900</b>	3,150	0,0322
	144h	2,700	<b>2,700</b>	2,810	
Gerinnungsfaktor II- Aktivität in %	0h	79,700	<b>80,300</b>	81,550	0,9153
	144h	77,900	<b>81,500</b>	83,450	
Gerinnungsfaktor V- Aktivität in %	0h	109,600	<b>109,600</b>	111,100	0,0107
	144h	88,850	<b>93,200</b>	95,150	
Gerinnungsfaktor VII-Aktivität in %	0h	108,800	<b>112,500</b>	116,400	1,0000
	144h	103,950	<b>110,300</b>	150,150	
Gerinnungsfaktor VIII-Aktivität in %	0h	90,900	<b>91,800</b>	94,500	0,0119
	144h	68,400	<b>69,500</b>	70,650	
Gerinnungsfaktor IX- Aktivität in %	0h	96,850	<b>100,800</b>	103,650	0,0122
	144h	85,700	<b>87,300</b>	90,100	
Gerinnungsfaktor X- Aktivität in %	0h	85,650	<b>87,800</b>	92,150	0,1960
	144h	82,300	<b>83,500</b>	87,800	
Gerinnungsfaktor XI- Aktivität in %	0h	104,500	<b>122,800</b>	130,550	0,1437
	144h	83,950	<b>94,700</b>	116,800	
Gerinnungsfaktor XII-Aktivität in %	0h	87,600	<b>89,400</b>	91,650	0,6752
	144h	80,550	<b>86,300</b>	95,300	
Gerinnungsfaktor XIII-Antigen in %	0h	92,100	<b>94,400</b>	96,450	0,0465
	144h	88,800	<b>91,400</b>	92,200	
v. Willebrand-Faktor- Aktivität in % Blutgruppe 0	0h	88,700	<b>90,600</b>	94,950	1,0000
	144h	88,350	<b>91,100</b>	93,750	
v. Willebrand-Faktor- Antigen in % Blutgruppe 0	0h	123,300	<b>127,000</b>	133,100	1,0000
	144h	121,200	<b>130,700</b>	132,150	

#### 4.15.3 Darstellung aller Messwerte von 0 bis 144 Stunden

Tabelle 9: Quartilen für GFP, Zeitpunkt 0 h bis 144 h nach Auftauen

Gerinnungsfaktor	Zeitpunkt	Quartil	Median	Quartil
		25		75
Fibrinogen nach CLAUSS in g/l	0h	2,555	<b>2,900</b>	3,080
	24 h	2,600	<b>2,775</b>	2,975
	48 h	2,525	<b>2,900</b>	3,075
	72 h	2,615	<b>2,800</b>	3,075
	96 h	2,600	<b>2,800</b>	3,075
	120 h	2,600	<b>2,800</b>	3,075
	144 h	2,600	<b>2,750</b>	2,975
Gerinnungsfaktor II-Aktivität in %	0h	77,000	<b>82,800</b>	86,450
	24 h	73,675	<b>77,900</b>	85,475
	48 h	76,700	<b>81,550</b>	86,800
	72 h	72,300	<b>77,900</b>	82,475
	96 h	73,675	<b>77,300</b>	83,450
	120 h	76,700	<b>79,700</b>	82,475
	144h	71,300	<b>75,050</b>	77,900
Gerinnungsfaktor V-Aktivität in %	0h	100,125	<b>115,700</b>	126,475
	24 h	96,125	<b>109,650</b>	118,800
	48 h	97,775	<b>112,600</b>	123,200
	72 h	95,150	<b>111,100</b>	122,000
	96 h	84,900	<b>99,750</b>	111,850
	120 h	92,550	<b>108,900</b>	118,800
	144 h	84,075	<b>99,750</b>	108,875

Tabelle 9: Quartilen für GFP, Zeitpunkt 0 h bis 144 h nach Auftauen  
(Fortsetzung von Seite 51)

<b>Gerinnungsfaktor</b>	<b>Zeitpunkt</b>	<b>Quartil 25</b>	<b>Median</b>	<b>Quartil 75</b>
<b>Gerinnungsfaktor VII-Aktivität in %</b>	<b>0h</b>	97,025	<b>115,250</b>	131,375
	<b>24 h</b>	77,475	<b>91,200</b>	108,525
	<b>48 h</b>	73,375	<b>86,050</b>	103,050
	<b>72 h</b>	66,625	<b>79,150</b>	93,075
	<b>96 h</b>	66,175	<b>76,450</b>	92,200
	<b>120 h</b>	65,400	<b>79,150</b>	85,250
	<b>144 h</b>	62,350	<b>73,500</b>	85,100
<b>Gerinnungsfaktor VIII-Aktivität in %</b>	<b>0h</b>	103,250	<b>125,150</b>	134,300
	<b>24 h</b>	76,475	<b>95,100</b>	102,725
	<b>48 h</b>	72,825	<b>81,750</b>	92,850
	<b>72 h</b>	74,850	<b>81,650</b>	93,000
	<b>96 h</b>	69,175	<b>77,350</b>	87,225
	<b>120 h</b>	65,050	<b>77,600</b>	85,775
	<b>144 h</b>	67,850	<b>78,100</b>	87,725
<b>Gerinnungsfaktor IX-Aktivität in %</b>	<b>0h</b>	105,075	<b>114,400</b>	121,650
	<b>24 h</b>	98,875	<b>106,000</b>	117,900
	<b>48 h</b>	94,075	<b>104,100</b>	108,150
	<b>72 h</b>	98,200	<b>106,450</b>	114,225
	<b>96 h</b>	98,175	<b>106,500</b>	114,400
	<b>120 h</b>	94,075	<b>100,850</b>	104,125
	<b>144 h</b>	95,775	<b>101,800</b>	110,450

Tabelle 9: Quartilen für GFP, Zeitpunkt 0 h bis 144 h nach Auftauen  
(Fortsetzung von Seite 52)

<b>Gerinnungsfaktor</b>	<b>Zeitpunkt</b>	<b>Quartil 25</b>	<b>Median</b>	<b>Quartil 75</b>
<b>Gerinnungsfaktor X-Aktivität in %</b>	<b>0h</b>	86,750	<b>92,500</b>	100,725
	<b>24 h</b>	82,300	<b>87,400</b>	93,250
	<b>48 h</b>	83,725	<b>87,000</b>	97,000
	<b>72 h</b>	80,700	<b>86,100</b>	92,250
	<b>96 h</b>	80,500	<b>85,200</b>	93,500
	<b>120 h</b>	79,700	<b>85,650</b>	91,500
	<b>144 h</b>	77,300	<b>83,150</b>	89,450
<b>Gerinnungsfaktor XI-Aktivität in %</b>	<b>0h</b>	132,200	<b>159,450</b>	177,800
	<b>24 h</b>	127,800	<b>146,650</b>	160,625
	<b>48 h</b>	132,450	<b>146,650</b>	161,075
	<b>72 h</b>	131,225	<b>145,950</b>	155,075
	<b>96 h</b>	106,150	<b>114,600</b>	126,325
	<b>120 h</b>	114,000	<b>121,700</b>	138,950
	<b>144 h</b>	126,600	<b>133,500</b>	154,625
<b>Gerinnungsfaktor XII-Aktivität in %</b>	<b>0h</b>	87,400	<b>100,950</b>	109,000
	<b>24 h</b>	83,075	<b>101,400</b>	112,500
	<b>48 h</b>	87,150	<b>98,950</b>	108,225
	<b>72 h</b>	85,225	<b>101,750</b>	112,475
	<b>96 h</b>	86,025	<b>99,700</b>	112,875
	<b>120 h</b>	82,400	<b>98,550</b>	108,225
	<b>144 h</b>	88,350	<b>102,800</b>	110,800

Tabelle 9: Quartilen für GFP, Zeitpunkt 0 h bis 144 h nach Auftauen  
(Fortsetzung von Seite 53)

<b>Gerinnungsfaktor</b>	<b>Zeitpunkt</b>	<b>Quartil 25</b>	<b>Median</b>	<b>Quartil 75</b>
<b>Gerinnungsfaktor XIII-Aktivität in %</b>	<b>0h</b>	70,425	<b>75,000</b>	96,400
	<b>24 h</b>	63,725	<b>71,300</b>	87,575
	<b>48 h</b>	64,775	<b>69,200</b>	88,325
	<b>72 h</b>	68,150	<b>76,700</b>	81,775
	<b>96 h</b>	68,625	<b>76,100</b>	94,250
	<b>120 h</b>	68,700	<b>78,650</b>	96,475
	<b>144 h</b>	69,800	<b>80,650</b>	95,825
<b>v. Willebrand Faktor- Aktivität in % Blutgruppe 0</b>	<b>0h</b>	54,000	<b>71,200</b>	91,350
	<b>24 h</b>	54,350	<b>70,300</b>	89,400
	<b>48 h</b>	51,800	<b>69,800</b>	88,200
	<b>72 h</b>	53,600	<b>70,500</b>	88,050
	<b>96 h</b>	54,150	<b>70,100</b>	87,550
	<b>120 h</b>	53,150	<b>70,800</b>	86,300
	<b>144 h</b>	52,300	<b>69,800</b>	86,050
<b>v. Willebrand Faktor- Aktivität in % Blutgruppen A/B/AB</b>	<b>0h</b>	101,900	<b>109,400</b>	129,700
	<b>24 h</b>	100,000	<b>107,700</b>	128,600
	<b>48 h</b>	97,600	<b>106,500</b>	126,100
	<b>72 h</b>	100,300	<b>109,500</b>	129,300
	<b>96 h</b>	99,900	<b>105,400</b>	126,900
	<b>120 h</b>	98,500	<b>107,000</b>	128,000
	<b>144 h</b>	97,200	<b>104,500</b>	128,300

Tabelle 9: Quartilen für GFP, Zeitpunkt 0 h bis 144 h nach Auftauen  
(Fortsetzung von Seite 54)

<b>Gerinnungsfaktor</b>	<b>Zeitpunkt</b>	<b>Quartil 25</b>	<b>Median</b>	<b>Quartil 75</b>
<b>v. Willebrand- Faktor- Antigen in % Blutgruppe O</b>	<b>0h</b>	65,700	<b>85,100</b>	99,600
	<b>24 h</b>	65,350	<b>85,100</b>	96,000
	<b>48 h</b>	64,750	<b>83,700</b>	98,300
	<b>72 h</b>	64,800	<b>85,000</b>	96,150
	<b>96 h</b>	66,500	<b>86,200</b>	94,450
	<b>120 h</b>	63,950	<b>83,300</b>	94,300
	<b>144 h</b>	65,300	<b>84,900</b>	95,250
<b>v. Willebrand- Faktor- Antigen in % Blutgruppen A/B/AB</b>	<b>0h</b>	130,600	<b>136,900</b>	178,400
	<b>24 h</b>	129,000	<b>138,100</b>	175,000
	<b>48 h</b>	125,100	<b>137,400</b>	174,000
	<b>72 h</b>	127,600	<b>135,300</b>	176,600
	<b>96 h</b>	130,500	<b>138,300</b>	174,500
	<b>120 h</b>	130,400	<b>136,400</b>	177,400
	<b>144 h</b>	124,200	<b>135,900</b>	177,700

Tabelle 10: Quartilen für GSDP, Zeitpunkt 0 h bis 144 h nach Auftauen

Gerinnungsfaktor	Zeitpunkt	Quartil	Median	Quartil
		25		75
Fibrinogen nach CLAUSS in g/l	0h	2,625	<b>2,800</b>	2,875
	24 h	2,700	<b>2,800</b>	2,800
	48 h	2,600	<b>2,700</b>	2,778
	72 h	2,700	<b>2,800</b>	2,815
	96 h	2,700	<b>2,700</b>	2,800
	120 h	2,700	<b>2,765</b>	2,800
	144 h	2,600	<b>2,700</b>	2,800
Gerinnungsfaktor II- Aktivität in %	0h	79,100	<b>80,300</b>	81,500
	24 h	76,700	<b>77,900</b>	78,800
	48 h	73,950	<b>77,900</b>	81,200
	72 h	74,775	<b>76,750</b>	79,100
	96 h	74,500	<b>76,150</b>	77,900
	120 h	73,400	<b>75,050</b>	77,600
	144h	73,675	<b>74,500</b>	77,600
Gerinnungsfaktor V- Aktivität in %	0h	93,850	<b>101,800</b>	104,950
	24 h	88,825	<b>94,500</b>	97,750
	48 h	88,225	<b>94,500</b>	96,775
	72 h	84,600	<b>85,800</b>	94,175
	96 h	82,600	<b>89,450</b>	94,500
	120 h	83,775	<b>85,800</b>	94,200
	144 h	83,775	<b>88,200</b>	93,550
Gerinnungsfaktor VII- Aktivität in %	0h	104,200	<b>104,700</b>	109,500
	24 h	93,300	<b>99,050</b>	102,300
	48 h	91,000	<b>95,000</b>	98,150
	72 h	87,200	<b>90,000</b>	90,800
	96 h	87,000	<b>88,800</b>	90,600
	120 h	82,475	<b>84,900</b>	87,600
	144 h	79,675	<b>80,900</b>	83,600

Tabelle 10: Quartilen für GSDP, Zeitpunkt 0 h bis 144 h nach Auftauen  
(Fortsetzung von Seite 56)

<b>Gerinnungsfaktor</b>	<b>Zeitpunkt</b>	<b>Quartil 25</b>	<b>Median</b>	<b>Quartil 75</b>
<b>Gerinnungsfaktor VIII- Aktivität in %</b>	<b>0h</b>	71,475	<b>85,500</b>	89,400
	<b>24 h</b>	64,200	<b>76,100</b>	79,350
	<b>48 h</b>	61,800	<b>70,900</b>	74,850
	<b>72 h</b>	62,900	<b>71,550</b>	75,225
	<b>96 h</b>	60,500	<b>66,650</b>	70,275
	<b>120 h</b>	60,200	<b>68,200</b>	69,800
	<b>144 h</b>	63,000	<b>69,700</b>	73,225
<b>Gerinnungsfaktor IX- Aktivität in %</b>	<b>0h</b>	99,225	<b>103,600</b>	106,250
	<b>24 h</b>	95,500	<b>98,150</b>	101,550
	<b>48 h</b>	93,800	<b>96,400</b>	100,125
	<b>72 h</b>	94,900	<b>96,850</b>	101,800
	<b>96 h</b>	89,500	<b>93,800</b>	97,300
	<b>120 h</b>	91,300	<b>93,800</b>	96,175
	<b>144 h</b>	93,000	<b>95,950</b>	99,000
<b>Gerinnungsfaktor X- Aktivität in %</b>	<b>0h</b>	89,700	<b>91,500</b>	93,500
	<b>24 h</b>	84,825	<b>89,200</b>	92,250
	<b>48 h</b>	85,650	<b>87,800</b>	90,125
	<b>72 h</b>	85,200	<b>87,000</b>	88,475
	<b>96 h</b>	84,600	<b>87,000</b>	90,600
	<b>120 h</b>	82,700	<b>85,200</b>	90,600
	<b>144 h</b>	82,900	<b>85,650</b>	87,600
<b>Gerinnungsfaktor XI- Aktivität in %</b>	<b>0h</b>	112,700	<b>123,400</b>	138,275
	<b>24 h</b>	100,625	<b>118,400</b>	128,700
	<b>48 h</b>	107,150	<b>117,300</b>	136,375
	<b>72 h</b>	111,150	<b>121,700</b>	131,700
	<b>96 h</b>	105,400	<b>111,900</b>	130,200
	<b>120 h</b>	102,250	<b>116,200</b>	133,650
	<b>144 h</b>	111,150	<b>118,500</b>	136,100

Tabelle 10: Quartilen für GSDP, Zeitpunkt 0 h bis 144 h nach Auftauen  
(Fortsetzung von Seite 57)

<b>Gerinnungsfaktor</b>	<b>Zeitpunkt</b>	<b>Quartil 25</b>	<b>Median</b>	<b>Quartil 75</b>
<b>Gerinnungsfaktor XII- Aktivität in %</b>	<b>0h</b>	93,475	<b>96,000</b>	98,625
	<b>24 h</b>	91,475	<b>94,600</b>	95,825
	<b>48 h</b>	90,575	<b>93,300</b>	95,125
	<b>72 h</b>	90,250	<b>93,650</b>	96,350
	<b>96 h</b>	91,300	<b>94,300</b>	96,525
	<b>120 h</b>	91,300	<b>93,300</b>	95,300
	<b>144 h</b>	90,250	<b>94,300</b>	98,450
<b>Gerinnungsfaktor XIII- Antigen in %</b>	<b>0h</b>	89,350	<b>90,000</b>	91,675
	<b>24 h</b>	85,225	<b>85,950</b>	87,500
	<b>48 h</b>	86,325	<b>87,550</b>	89,175
	<b>72 h</b>	84,025	<b>85,300</b>	87,100
	<b>96 h</b>	88,250	<b>89,700</b>	91,400
	<b>120 h</b>	86,050	<b>87,100</b>	89,375
	<b>144 h</b>	86,825	<b>88,500</b>	90,400
<b>v. Willebrand-Faktor- Aktivität in % Blutgruppe 0</b>	<b>0h</b>	57,850	<b>59,600</b>	60,000
	<b>24 h</b>	59,650	<b>60,400</b>	61,250
	<b>48 h</b>	57,650	<b>58,400</b>	59,350
	<b>72 h</b>	58,250	<b>59,100</b>	59,700
	<b>96 h</b>	58,400	<b>60,500</b>	60,750
	<b>120 h</b>	58,950	<b>60,200</b>	61,000
	<b>144 h</b>	58,000	<b>59,200</b>	59,650
<b>v. Willebrand-Faktor- Aktivität in % Blutgruppen A/B/AB</b>	<b>0h</b>	73,700	<b>80,000</b>	89,200
	<b>24 h</b>	72,500	<b>80,200</b>	90,300
	<b>48 h</b>	73,200	<b>80,600</b>	89,900
	<b>72 h</b>	74,000	<b>80,000</b>	89,300
	<b>96 h</b>	74,000	<b>80,500</b>	89,300
	<b>120 h</b>	71,400	<b>80,700</b>	87,300
	<b>144 h</b>	72,800	<b>80,600</b>	87,800

Tabelle 10: Quartilen für GSDP, Zeitpunkt 0 h bis 144 h nach Auftauen  
(Fortsetzung von Seite 58)

<b>Gerinnungsfaktor</b>	<b>Zeitpunkt</b>	<b>Quartil 25</b>	<b>Median</b>	<b>Quartil 75</b>
<b>v. Willebrand-Faktor- Antigen in % Blutgruppe 0</b>	<b>0h</b>	92,350	<b>93,400</b>	95,100
	<b>24 h</b>	91,750	<b>92,600</b>	95,050
	<b>48 h</b>	89,950	<b>92,000</b>	93,400
	<b>72 h</b>	93,750	<b>94,000</b>	95,550
	<b>96 h</b>	91,500	<b>94,100</b>	95,850
	<b>120 h</b>	91,050	<b>92,100</b>	94,200
	<b>144 h</b>	92,550	<b>94,100</b>	94,450
<b>v. Willebrand-Faktor- Antigen in % Blutgruppen A/B/AB</b>	<b>0h</b>	134,800	<b>136,800</b>	149,100
	<b>24 h</b>	137,500	<b>139,900</b>	149,200
	<b>48 h</b>	133,300	<b>138,200</b>	151,000
	<b>72 h</b>	134,000	<b>140,500</b>	152,800
	<b>96 h</b>	134,400	<b>139,400</b>	152,000
	<b>120 h</b>	136,200	<b>140,300</b>	153,800
	<b>144 h</b>	135,600	<b>142,600</b>	151,600

Tabelle 11: Quartilen für LSDP, Zeitpunkt 0 h bis 144 h nach Auftauen

Gerinnungsfaktor	Zeitpunkt	Quartil	Median	Quartil
		25		75
Fibrinogen nach CLAUSS in g/l	0h	2,895	<b>2,900</b>	3,150
	24 h	2,800	<b>3,000</b>	3,040
	48 h	2,600	<b>2,800</b>	2,950
	72 h	2,700	<b>2,900</b>	3,110
	96 h	2,860	<b>2,900</b>	3,000
	120 h	2,750	<b>2,840</b>	2,995
	144 h	2,700	<b>2,700</b>	2,810
Gerinnungsfaktor II- Aktivität in %	0h	79,700	<b>80,300</b>	81,550
	24 h	77,900	<b>77,900</b>	79,700
	48 h	81,500	<b>81,500</b>	82,800
	72 h	74,500	<b>76,700</b>	79,100
	96 h	74,500	<b>76,700</b>	80,300
	120 h	78,500	<b>79,100</b>	82,200
	144h	77,900	<b>81,500</b>	83,450
Gerinnungsfaktor V- Aktivität in %	0h	109,600	<b>109,600</b>	111,100
	24 h	99,800	<b>101,100</b>	101,800
	48 h	98,400	<b>99,800</b>	102,500
	72 h	83,450	<b>84,600</b>	88,200
	96 h	84,050	<b>84,600</b>	90,050
	120 h	88,250	<b>93,200</b>	95,150
	144 h	88,850	<b>93,200</b>	95,150
Gerinnungsfaktor VII- Aktivität in %	0h	108,800	<b>112,500</b>	116,400
	24 h	107,750	<b>110,300</b>	111,400
	48 h	106,200	<b>109,300</b>	114,150
	72 h	98,200	<b>103,300</b>	116,450
	96 h	99,100	<b>102,300</b>	121,600
	120 h	103,000	<b>114,700</b>	139,400
	144 h	103,950	<b>110,300</b>	150,150

Tabelle 11: Quartilen für LSDP, Zeitpunkt 0 h bis 144 h nach Auftauen  
(Fortsetzung von Seite 60)

Gerinnungsfaktor	Zeitpunkt	Quartil	Median	Quartil
		25		75
Gerinnungsfaktor VIII- Aktivität in %	0h	90,900	<b>91,800</b>	94,500
	24 h	77,850	<b>78,600</b>	82,250
	48 h	72,500	<b>74,600</b>	75,850
	72 h	72,950	<b>76,100</b>	77,600
	96 h	68,800	<b>69,500</b>	72,250
	120 h	69,700	<b>70,400</b>	76,550
	144 h	68,400	<b>69,500</b>	70,650
Gerinnungsfaktor IX- Aktivität in %	0h	96,850	<b>100,800</b>	103,650
	24 h	87,700	<b>90,500</b>	94,700
	48 h	88,100	<b>90,500</b>	92,100
	72 h	89,300	<b>91,300</b>	93,800
	96 h	83,800	<b>84,200</b>	87,700
	120 h	86,100	<b>88,900</b>	89,700
	144 h	85,700	<b>87,300</b>	90,100
Gerinnungsfaktor X- Aktivität in %	0h	85,650	<b>87,800</b>	92,150
	24 h	84,800	<b>86,100</b>	88,350
	48 h	83,500	<b>86,100</b>	86,950
	72 h	81,100	<b>81,900</b>	84,400
	96 h	79,900	<b>81,900</b>	84,400
	120 h	83,500	<b>84,400</b>	88,350
	144 h	82,300	<b>83,500</b>	87,800
Gerinnungsfaktor XI- Aktivität in %	0h	104,500	<b>122,800</b>	130,550
	24 h	99,200	<b>119,500</b>	130,050
	48 h	93,450	<b>104,900</b>	125,250
	72 h	95,200	<b>105,900</b>	126,000
	96 h	85,500	<b>100,100</b>	117,500
	120 h	83,550	<b>92,100</b>	120,850
	144 h	83,950	<b>94,700</b>	116,800

Tabelle 11: Quartilen für LSDP, Zeitpunkt 0 h bis 144 h nach Auftauen  
(Fortsetzung von Seite 61)

Gerinnungsfaktor	Zeitpunkt	Quartil	Median	Quartil
		25		75
Gerinnungsfaktor XII- Aktivität in %	0h	87,600	<b>89,400</b>	91,650
	24 h	87,900	<b>89,400</b>	92,950
	48 h	83,650	<b>86,300</b>	88,850
	72 h	89,750	<b>90,700</b>	94,000
	96 h	85,150	<b>88,200</b>	89,150
	120 h	84,550	<b>90,300</b>	95,800
	144 h	80,550	<b>86,300</b>	95,300
Gerinnungsfaktor XIII- Antigen in %	0h	92,100	<b>94,400</b>	96,450
	24 h	87,850	<b>88,400</b>	92,500
	48 h	88,450	<b>90,900</b>	92,350
	72 h	84,850	<b>88,400</b>	89,500
	96 h	92,500	<b>93,800</b>	95,500
	120 h	86,750	<b>89,000</b>	89,850
	144 h	88,800	<b>91,400</b>	92,200
v. Willebrand-Faktor- Aktivität in % Blutgruppe 0	0h	88,700	<b>90,600</b>	94,950
	24 h	89,800	<b>90,900</b>	93,950
	48 h	91,050	<b>91,500</b>	95,300
	72 h	90,100	<b>91,200</b>	94,100
	96 h	90,200	<b>91,100</b>	94,400
	120 h	88,300	<b>89,800</b>	92,900
	144 h	88,350	<b>91,100</b>	93,750
v. Willebrand-Faktor- Antigen in % Blutgruppe 0	0h	123,300	<b>127,000</b>	133,100
	24 h	119,400	<b>133,100</b>	133,900
	48 h	121,900	<b>124,600</b>	136,450
	72 h	120,300	<b>131,300</b>	137,300
	96 h	121,550	<b>135,300</b>	138,100
	120 h	122,400	<b>134,000</b>	136,350
	144 h	121,200	<b>130,700</b>	132,150

#### **4.16 Blutkulturen im aufgetauten Einzelspender-Frischplasma, aufgetauten S/D-Plasma und im lyophilisierten S/D-Plasma**

Zu den festgelegten Zeitpunkten (24 h und 72 h) und am Ende der Lagerung (144 h) waren alle aeroben und anaeroben Blutkulturen steril.

## 5 Diskussion

Der Übersichtlichkeit halber werden in der Diskussion die Parameter in Bezug auf signifikante Änderungen unterschieden. Während im ersten Teil die Befunde ohne signifikante Änderungen erläutert werden, erfolgt danach eine Diskussion der signifikant veränderten Parameter unter besonderer Beachtung von Faktor VIII.

Die Tatsache, dass sämtliche Plasmen über den gesamten Zeitraum steril blieben, unterstreicht das sterile Arbeiten bei der Probengewinnung und schließt den Einfluss einer bakteriellen Kontamination auf die Messwerte aus.

### 5.1 Parameter ohne statistisch signifikante Verminderungen von Aktivitäten, Antigen oder Konzentration nach der Lagerung bei + 4 °C über 6 Tage

In allen drei untersuchten Plasmaarten wurden für das v. Willebrand-Faktor-Antigen und die v. Willebrand-Faktor-Aktivität keine statistisch signifikanten Verminderungen festgestellt. Dies bestätigen die von Buchta et al. (Buchta et al., 2004) und einer Arbeitsgruppe um Smith (Smith et al., 2000) veröffentlichten Daten.

Für die Aktivität des Gerinnungsfaktors XII und das Gerinnungsfaktor XIII-Antigen wurden im GFP und im GSDP keine statistisch signifikanten Verminderungen am Ende der Lagerzeit nachgewiesen. Der Abfall des Faktor XIII-Antigens im LSDP von 94,4 % nach 0 Stunden auf 91,4 % nach 144 Stunden ist mit  $p = 0,0465$  zwar statistisch grenzwertig signifikant, aber aus klinischer Sicht und insbesondere aus der Sicht der Wirksamkeit im Patienten durchaus vernachlässigbar. Die Stabilität des Antigens von Faktor XIII in aufgetautem GFP nach 24 Stunden Lagerung bei + 4 °C konnte auch durch Osselaer et al. nachgewiesen werden (Osselaer et al., 2008). Cardigan et al. (Cardigan et al., 2005) untersuchten die Faktor XII-Aktivität in Vollblut nach einer Lagerung von 24 Stunden bei + 4 °C. Auch unter diesen Bedingungen konnte keine signifikante Verminderung nachgewiesen werden.

Die vorliegenden Daten lassen zusammenfassend den Schluss zu, dass eine Lagerung von Plasma bei + 4 °C über 6 Tage keinen statistisch signifikanten Einfluss auf die Aktivität von Gerinnungsfaktor XII und auf die v. Willebrand-Faktor-Aktivität sowie auf das v. Willebrand-Faktor-Antigen und das Faktor XIII-Antigen in allen untersuchten Plasmaarten hat.

Im GFP konnte für die Fibrinogen-Konzentration ein statistisch nicht signifikanter Abfall nach 144 Stunden Lagerung nachgewiesen werden. Ähnliche Ergebnisse zur Stabilität von Fibrinogen finden sich bei Lamboo et al. (Lamboo et al., 2007), Sidhu et al. (Sidhu et al., 2006) und in den Ergebnissen einer Arbeitsgruppe um Downes (Downes et al., 2001).

Zusätzlich zu den Faktoren XII und XIII und dem v. Willebrand-Faktor konnte im GSDP kein statistisch signifikanter Abfall für die Aktivität von Faktor XI nachgewiesen werden. Im LSDP wurde der größte Anteil von nicht signifikanten Veränderungen verzeichnet. Hier wurden auch für die Faktoren II, VII, X und XI keine statistisch signifikanten Verminderungen nachgewiesen.

## **5.2 Parameter mit statistisch signifikanten Verminderungen von Aktivitäten, Antigenen oder Konzentration nach der Lagerung bei + 4 °C nach 6 Stunden**

In den untersuchten Plasmaarten wurden für fast alle Parameter keine statistisch signifikanten Abfälle von Aktivitäten, Antigenen oder Konzentration der Gerinnungsfaktoren nach 6 Stunden Lagerung festgestellt. Lediglich für die Aktivität des Gerinnungsfaktors IX im GSDP (nach dem Auftauen 103,6 % und nach 6 Stunden 98,6 %) sowie für die Aktivitäten der Gerinnungsfaktoren VIII (nach dem Auftauen 91,8 % und nach 6 Stunden 78,1 %) und IX (nach dem Auftauen 100,8 % und nach 6 Stunden 93,8 %) im LSDP wurden statistisch signifikante Abfälle der Aktivität nachgewiesen. Aus klinischer Sicht sind diese Abfälle als sehr geringfügig einzuschätzen und daher vernachlässigbar. Der weitere Aktivitätsverlauf wird nachfolgend beschrieben.

Eine Arbeitsgruppe um v. Heymann lagerte aufgetautes GFP bei + 25 °C über 6 Stunden.

Sie untersuchten unter anderem die Aktivitäten von Faktor V, Faktor VII und Faktor VIII, sowie die Konzentration von Fibrinogen. Nach 6 Stunden wurden keine statistisch signifikanten Verminderungen festgestellt (v. Heymann et al., 2006).

### **5.3 Parameter mit statistisch signifikanten Verminderungen von Aktivitäten, Antigenen oder Konzentration nach der Lagerung bei + 4 °C über 6 Tage**

#### **5.3.1 Faktor VIII-Aktivität**

Im Gegensatz zu allen anderen Gerinnungsfaktoren existiert in Deutschland für Faktor VIII in Plasmen eine bereits mehrfach zitierte Qualitäts-Minimalanforderung. Aus diesem Grund werden die Veränderungen in der Faktor VIII-Aktivität nachfolgend separat diskutiert.

Die Aktivität von Faktor VIII fiel im GFP von 125,2 % (0 Stunden) auf 78,1 % (144 Stunden) um 47,1 %. Im GSDP fiel die Aktivität von 85,5 % (0 Stunden) auf 69,7 % (144 Stunden) um 15,8 % und im LSDP von 91,8 % (0 Stunden) auf 69,5 % (144 Stunden) um 22,3 %. Für alle Plasmaarten wurde ein statistisch signifikanter Abfall der Faktor VIII-Aktivität nach Lagerung über 144 Stunden ermittelt.

Im GFP war der Abfall der Aktivität um 47,1 % dabei im Vergleich zum GSDP (15,8 %) und LSDP (22,3 %) mit Abstand am größten.

Vergleichbare Daten für GFP veröffentlichten Downes et al.. Sie beschrieben eine Verminderung der Faktor VIII-Aktivität um 44 % (von 107 %  $\pm$  26 % auf 63 %  $\pm$  16 %) während der Lagerung von GFP bei + 4 °C über 5 Tage (Downes et al., 2001).

Einen deutlich geringeren Abfall der Faktor VIII-Aktivität um nur 12,8 % von 89,5 %  $\pm$  4,9 % auf 76,7 %  $\pm$  4,8 % in GFP während einer Lagerung bei + 1 °C bis + 6 °C über 5 Tage fanden Sidhu et al.. Nach ihrer Empfehlung könnte aufgetautes GFP innerhalb von 24 Stunden ohne Einfluss auf das Behandlungsergebnis am Patienten angewendet werden (Sidhu et al., 2006).

Heger et al. stellten bereits nach 48 Stunden eine Verminderung der Faktor VIII-Aktivität um 35 % im GFP von 101 %  $\pm$  5,7 % auf 66 %  $\pm$  9,6 % nach einer Lagerung im aufgetauten Zustand bei + 4 °C fest. Die Autoren schlussfolgerten aus ihren Untersuchungen, dass GFP zumindest für einen Zeitraum von 8 Stunden bei + 4 °C gelagert werden kann, ohne dass ein Wirkungsverlust im Patienten eintreten würde (Heger et al., 2005).

Für den Spender-Ausgangswert (nur für GFP-Spender, siehe unter 3.1.3) wurde eine Faktor VIII-Aktivität von 115 % ermittelt. Der Verlauf des Abfalls der Faktor VIII-Aktivität im GFP wird im Weiteren daher nur noch in Bezug auf den Spender-Ausgangswert diskutiert. Unter dieser Voraussetzung bedeutet das für die Faktor VIII-Aktivität einen Abfall auf 67,9 % des Spender-Ausgangswertes nach 6 Tagen Lagerung bei + 4 °C. Damit wird die Minimalforderung von 70 % grenzwertig unterschritten. Betrachtet man die zwi-

schen 0 Stunden und 144 Stunden liegenden Messzeitpunkte, so unterschreitet die Aktivität von Faktor VIII zwischen den Zeitpunkten 72 Stunden (71 % des Spender-Ausgangswertes) und 96 Stunden (67,2 % des Spender-Ausgangswertes) den Grenzwert. Es erscheint jedoch in diesem Zusammenhang durchaus sinnvoll, den Sachverhalt aus klinischer Sicht im Vergleich mit den Qualitätsanforderungen für die Pool-Plasmen zu diskutieren.

Die Diskussion des Verlaufs der Aktivität des Faktors VIII in GSDP und LSDP erfolgt in Bezug auf die für Poolplasmen gültige Minimalforderung: Faktor VIII-Aktivität im Pool  $\geq 0,7$  U/ml (respektive  $\geq 70$  %). Im GSDP fiel die Aktivität von Faktor VIII um 15,8 % und lag am Ende der Lagerung mit 69,7 % mathematisch gesehen genau auf dem Grenzwert für Pool-Plasmen.

In den Untersuchungen der Arbeitsgruppe um Buchta fällt die Aktivität von Faktor VIII im GSDP nach 6 Tagen Lagerung um 13 % von 66 % nach 0 Stunden auf 53 % nach 144 Stunden und unterschreitet damit deutlich den für Faktor VIII gültigen Grenzwert von 70 %. Besonders auffällig ist in den von Buchta et al. veröffentlichten Daten die Ausgangsaktivität von 66 % nach 0 Stunden. Sie liegt eindeutig unter der in Deutschland gültigen Minimalanforderung für die Aktivität von Faktor VIII in Pool-Plasmen (Buchta et al., 2004).

Heger et al. beschreiben bereits nach einer Lagerung bei + 4 °C über 48 Stunden einen Abfall der Faktor VIII-Aktivität um 22 % im GSDP (Octaplas<sup>®</sup>) von 99 %  $\pm$  4,7 % auf 77 %  $\pm$  4,3 % (Heger et al., 2005).

Im LSDP lag die Faktor VIII-Aktivität im Rahmen der eigenen Untersuchungen nach 6 Tagen mit 69,5 % mathematisch gesehen ebenfalls genau auf dem für Pool-Plasmen gültigen Grenzwert. Vergleichsdaten für LSDP liegen nicht vor.

Der Absolut-Wert der Faktor VIII-Aktivität im GFP lag nach der Lagerung über 6 Tage bei 78,1 % und unterschreitet somit die für Pool-Plasmen gültige Minimalanforderung nicht.

Unter ausschließlicher Betrachtung der Faktor VIII-Aktivität und unter Berücksichtigung der für GFP vom Einzelspender und für Pool-Plasmen gültigen Minimalanforderungen können folgende Schlussfolgerungen getroffen werden:

1. Bei einer Lagerung von GFP bei + 4 °C bis zu 72 h wird der für Faktor VIII gültige Grenzwert nicht unterschritten.
2. GSDP und LSDP könnten möglicherweise bis zu 144 Stunden bei + 4 °C nach dem Auftauen gelagert werden, ohne den gültigen Grenzwert zu unterschreiten.

### **5.3.2 Aktivitäten der Faktoren II, V, VII, IX, X und XI sowie die Konzentration von Fibrinogen**

Da außer für Faktor VIII keine Minimalanforderungen existieren, werden die Endaktivitäten nach 6 Tagen in Bezug auf die für Faktor VIII in Pool-Plasmen gültige Minimalanforderung diskutiert.

Im GFP fanden sich nach 144 Stunden statistisch signifikante Abfälle der Aktivitäten der Faktoren II, V, VII, IX, X und XI.

Sidhu et al. hingegen fanden im Rahmen der Untersuchungen in GFP während einer Lagerung bei + 1 °C bis + 6 °C über 5 Tage für die Aktivität von Faktor II einen nicht signifikanten Abfall um lediglich 2,4 % von 90,9 % auf 88,5 % (Sidhu et al., 2006). Auch Downes et al. beschreiben einen nicht signifikanten Abfall der Faktor II-Konzentration nach einer Lagerung über 5 Tage (Downes et al., 2001).

Ein so geringer Abfall konnte durch die eigenen Untersuchungen nicht nachvollzogen werden. Die Aktivität von Faktor II fiel um 7,45 %. Unabhängig von diesen Unterschieden lag in den eigenen Untersuchungen die Aktivität von Faktor II nach 144 Stunden bei 75,05 % und damit oberhalb der für Faktor VIII gültigen Minimalforderung. Betrachtet man jedoch die Faktor II-Aktivität unserer Versuche auch nach 5 Tagen Lagerung, so findet sich ein Abfall um 3,1 %. Dieser Abfall nach 5 Tagen ist mit den Ergebnissen von Sidhu et al. durchaus vergleichbar.

Ein ähnliches Vergleichsergebnis findet sich für die Aktivität von Faktor V. Durch Sidhu et al. wurde ein signifikanter Abfall um 8,8 % nach 5 Tagen ermittelt (Sidhu et al., 2006). In den eigenen Untersuchungen fiel die Aktivität von Faktor V nach 5 Tagen um 6,8 % und nach 6 Tagen um 15,95 % im Vergleich zum Messwert unmittelbar nach dem Auftauen.

Downes et al. beschreiben dagegen keinen signifikanten Abfall der Faktor V-Aktivität nach 5 Tagen (Downes et al., 2001).

Mit einer Endaktivität von 99,75 % liegt der Faktor V sehr deutlich über der für Faktor VIII gültigen Minimalanforderung. Des Weiteren befinden sich alle gemessenen Werte zu jedem Messzeitpunkt im physiologischen Referenzbereich für die Faktor V-Aktivität. Für die Aktivität von Faktor VII stellte die Arbeitsgruppe um Sidhu einen nichtsignifikanten Aktivitätsabfall um lediglich 3,6 % fest (Sidhu et al., 2006). Dies konnte durch eigene Daten nicht nachvollzogen werden. Bereits nach 5 Tagen fiel die Aktivität von Faktor VII um 36,1 % und erreichte nach 6 Tagen Lagerung einen Wert von 73,5 %. Sie liegt aber damit noch oberhalb der für Faktor VIII gültigen Minimalanforderung.

In der Literatur finden sich keine vergleichbaren Daten für Faktor IX nach einer Lagerung über 5 oder 6 Tage. Der Aktivitätsabfall ist statistisch signifikant. Die Endaktivität liegt aber mit 101,8 % sehr deutlich oberhalb der für Faktor VIII gültigen Minimalanforderung. Die Messwerte unterschritten zu keinem Zeitpunkt den physiologischen Referenzbereich für die Faktor IX-Aktivität.

Ebenfalls nicht signifikant beschreiben Sidhu et al. den Aktivitätsabfall für die Faktoren X und XI (Sidhu et al., 2006). In den eigenen Untersuchungen wurden jedoch signifikante Aktivitätsabfälle nachgewiesen. Faktor X fiel um 9,3 % von 92,5 % auf 83,2 % und Faktor XI fiel um 26,0 % von 159,5 % auf 133,5 % nach 6 Tagen. Für die Faktoren X und XI wurden damit aber ebenfalls Aktivitäten deutlich über der Minimalanforderung für Faktor VIII bestimmt.

Im GSDP zeigten sich für die Faktoren II, V, VII, IX, X und Fibrinogen statistisch signifikante Abfälle nach 144 Stunden.

Vergleichbare Daten wie bei Sidhu et al. (Sidhu et al., 2006) für GFP nach einer Lagerung über 5 Tage bei + 1 °C bis + 6 °C finden sich in der aktuellen Literatur für GSDP nur bei Buchta et al. (Buchta et al., 2004).

Die Ergebnisse nach 6 Tagen Lagerung bei + 4 °C werden in der nachfolgenden Tabelle den eigenen Daten gegenübergestellt.

Tabelle 12: Gegenüberstellung der Aktivitäten der Gerinnungsfaktoren II, V, VII, IX und X sowie der Fibrinogen-Konzentration, Eigene Daten versus Buchta et al.

<b>Gerinnungsfaktor</b>	<b>Tag 6 Buchta et al.</b>	<b>Tag 6 Eigene Daten</b>
<b>Gerinnungsfaktor II-Aktivität in %</b>	97 (92 - 102)	74,5 (73,7 - 77,6)
<b>Gerinnungsfaktor V-Aktivität in %</b>	61 (59 - 64)	88,2 (83,8 - 93,6)
<b>Gerinnungsfaktor VII-Aktivität in %</b>	117 (107 - 127)	80,9 (79,7 - 83,6)
<b>Gerinnungsfaktor IX-Aktivität in %</b>	75 (72 - 79)	96,0 (93,0 - 99,0)
<b>Gerinnungsfaktor X-Aktivität in %</b>	99 (92 - 108)	85,7 (83,0 - 87,6)
<b>Fibrinogen nach CLAUSS in g/l</b>	2,7 (2,6 – 2,8)	2,7 (2,6 – 2,8)

Bis auf die Faktor V-Aktivität finden sich auch in den Ergebnissen dieser Arbeitsgruppe nur Werte oberhalb des Grenzwertes für Faktor VIII. Die von Buchta et al. gemessene Aktivität für Faktor V ist im Vergleich mit den eigenen Daten deutlich niedriger und unterläuft nach 6 Tagen den für Faktor VIII gültigen Grenzwert. Der Abfall der Konzentration von Fibrinogen ist zwar in den eigenen Untersuchungen statistisch signifikant, aber aus klinischer Sicht vernachlässigbar. Die von Buchta et al. dazu veröffentlichten Daten sind mit den eigenen vergleichbar.

Statistisch signifikante Verminderungen wurden im LSDP nur für die Gerinnungsfaktoren V, IX und Fibrinogen festgestellt.

Vergleichsdaten wie für GFP oder GSDP lagen zum Zeitpunkt der eigenen Untersuchungen in der Literatur nicht vor. Die Fibrinogen-Konzentration fällt von 2,9 g/l auf 2,7 g/l um 0,2 g/l. Die Aktivität von Faktor V fällt um 16,4 % von 109,6 % auf 93,2 % und Faktor IX fällt um 13,5 % von 100,8 % auf 87,3 %. Die Aktivitäten aller genannten Faktoren unterschreiten den Grenzwert für Faktor VIII nicht.

In der Zusammenschau erscheinen die in den eigenen Untersuchungen gemessenen Endaktivitäten (nach 6 Tagen) der unter 5.3 diskutierten Gerinnungsfaktoren aus klini-

scher Sicht und auch aus pharmazeutisch-regulatorischer Sicht akzeptabel. Kein Parameter (außer Faktor VIII im GFP) unterschreitet die Minimalanforderung für Faktor VIII in Pool-Plasmen.

Der Einfluss der Lagerung über 6 Tage bei + 4 °C auf die Aktivität und Konzentration der untersuchten Gerinnungsfaktoren ist statistisch signifikant.

Ein nachweisbarer Wirkungsverlust am Patienten ist aber nicht zu erwarten.

## 6 Zusammenfassung

Der Einsatz von Plasma zur therapeutischen Anwendung ist auch in heutiger Zeit ein wesentliches therapeutisches Mittel bei der Behandlung schwerwiegender Defekte des Hämostasesystems. Insbesondere die Therapie massiver Blutverluste im Rahmen von Polytraumen mit nachfolgender Verdünnungs- bzw. Verbrauchskoagulopathie ist ohne den gezielten Einsatz von Plasma zur therapeutischen Anwendung in Kombination mit anderen Blutkomponenten und Plasmaderivaten nicht erfolgreich durchführbar. Die zum Zeitpunkt der Studie zugelassenen Plasmen reichten von quarantänegelegertem gefrorenen Frischplasma (GFP), welches mittels Plasmapherese vom gesunden Blutspender gewonnen wurde, über gefrorene S/D-Pool-Plasmen (GSDP), die einem standardisierten Herstellungsprozess (inklusive einer effizienten Virusinaktivierung) unterworfen wurden bis hin zu lyophilisierten S/D-Pool-Plasmen, welche durch ihre einfache Lagerungsform bei Raumtemperatur (Lagerspezifikation + 2 °C bis + 25 °C) insbesondere in militärischen Einsatzgebieten Anwendung finden. Ende 2007 wurden die letzten lyophilisierten S/D-Pool-Plasmen durch den DRK-Blutspendedienst West in Verkehr gebracht. Dieses Plasma wurde in der Folgezeit durch ein quarantänegelegertes lyophilisiertes Einzelspender-Plasma (LyoPlas N-w) ersetzt (Bux et al., 2009).

Bis zum Inkrafttreten der neuen Querschnitts-Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten in 2009, die eine Anwendung von Plasmen bis maximal 6 Stunden nach dem Auftauprozess bzw. der Rekonstruktion mit Wasser ermöglichen, war Plasma nur zur sofortigen Anwendung zugelassen. Dieser Sachverhalt stellt den Kliniker in der Praxis vor zwei Hauptprobleme. Einerseits kann Plasma erst nach erfolgter Indikationsstellung bereitgestellt werden. Der Bereitstellungsprozess verzögert dabei deutlich den Therapiebeginn, der aber zur erfolgreichen Behandlung massiver Blutverluste im Rahmen von Polytraumen mit nachfolgender Verdünnungs- bzw. Verbrauchskoagulopathie unverzüglich erfolgen muss. Andererseits müssen einmal bereitgestellte und nicht mehr für weitere sofortige Transfusionen nutzbare Plasmen verfallen.

Es sollte daher in der vorgelegten Arbeit untersucht werden, inwieweit nach kontrolliertem Auftauen oder Rekonstruktion die Lagerung der ausgewählten Plasmaarten (GFP, GSDP und LSDP) bei + 4 °C über 6 Tage einen Abfall der Aktivitäten, Antigene oder der Konzentration von Gerinnungsfaktoren induziert.

Für die Untersuchungen wurden von 20 gesunden Blutspendern (je 5 der Blutgruppen 0, A, B und AB) Frischplasmen mittels Standard-Plasmapherese gewonnen und nach 4

Monaten Quarantänelagerung für die Studie bereitgestellt. Zum Vergleich wurden 20 gefrorene S/D-Pool-Plasmen in der gleichen Blutgruppenverteilung sowie 5 lyophilisierte S/D-Pool-Plasmen der Blutgruppe 0 in die Untersuchung einbezogen. Direkt nach dem Auftauen sowie nach 6, 24, 48, 72, 96, 120 und 144 Stunden wurden die Aktivitäten der Faktoren II, V, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII, die v. Willebrand-Faktor-Aktivität, sowie das v. Willebrand-Faktor-Antigen, das Faktor XIII-Antigen und die Fibrinogenkonzentration auf dem hämostaseologischen Analysensystem ACL-TOP (Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim, Deutschland) gemessen.

Die Messungen ergaben in den untersuchten Plasmaarten für fast alle Parameter keinen statistisch signifikanten Abfall nach 6 Stunden Lagerung. Lediglich für die Aktivität des Gerinnungsfaktors IX im GSDP (nach dem Auftauen 103,6 % und nach 6 Stunden 98,6 %) sowie für die Aktivitäten der Gerinnungsfaktoren VIII (nach dem Auftauen 91,8 % und nach 6 Stunden 78,1 %) und IX (nach dem Auftauen 100,8 % und nach 6 Stunden 93,8 %) im LSDP wurden statistisch signifikante Abfälle nachgewiesen. Aus klinischer Sicht sind diese Abfälle als sehr geringfügig einzuschätzen und daher vernachlässigbar.

Insofern ist die Vorgabe der neuen Querschnitts-Leitlinien, Plasmen zur therapeutischen Anwendung innerhalb von 6 Stunden anzuwenden, korrekt und zu unterstreichen.

Im GFP fanden sich nach 144 Stunden statistisch signifikante Abfälle der Aktivität der Faktoren II, V, VII, VIII, IX, X und XI. Einen starken Abfall zeigten jedoch nur Faktor VII und Faktor VIII, deren Absolut-Werte nach 144 Stunden um 41,8 % auf 73,5 % (Faktor-VII) bzw. um 47,1 % auf 78,1 % (Faktor-VIII) abfielen. In Bezug auf die aktuell gültige Minimalanforderung (nur für Faktor VIII) bedeutet das für die Faktor VIII-Aktivität einen Abfall auf 67,9 % des Spender-Ausgangswertes nach 6 Tagen Lagerung bei + 4 °C.

Im GSDP zeigten sich für die Faktoren II, V, VII, VIII, IX und X statistisch signifikante Abfälle nach 144 Stunden, wobei die Reduktionen der Aktivität von Faktor VII um 23,8 % und von Faktor VIII um 15,8 % am höchsten waren. Die Aktivität von Faktor VIII lag mit 69,7 % nach 6 Tagen Lagerung bei + 4 °C fast genau auf der für Pool-Plasmen gültigen Minimalforderung von  $\geq 0,7$  U/ml (respektive  $\geq 70$  %). Alle Faktoren unterschritten jedoch in keinem Fall die für die Faktor VIII-Aktivität gültige Minimalanforderung.

Die lyophilisierten S/D-Pool-Plasmen zeigten die geringsten statistisch signifikanten Verminderungen der untersuchten Gerinnungsfaktoren. So waren lediglich die oben beschriebenen Abfälle nach 6 Stunden und statistisch signifikante Verminderungen der

der Aktivitäten der Gerinnungsfaktoren , V, VIII, IX und der Fibrinogen-Konzentration sowie ein grenzwertig signifikanter Abfall ( $p$  0,0465) des Gerinnungsfaktor XIII-Antigens nach 144 Stunden zu verzeichnen. Die Faktor VIII-Aktivität lag nach 6 Tagen Lagerung mit 69,5 % ebenfalls fast genau auf dem Grenzwert. Alle anderen Faktoren lagen grundsätzlich deutlich oberhalb dieses Qualitätsgrenzwertes.

Die Messungen der von Willebrand-Faktor-Aktivität und des v. Willebrand-Faktor-Antigens zeigten für alle Präparate und alle Blutgruppen keine signifikanten Unterschiede nach der Lagerung über 6 Tage im Vergleich zu den Werten nach Auftauen oder Rekonstruktion. Alle Plasmaarten waren zu den festgelegten Kontrollzeitpunkten und am Ende der Lagerung steril.

Betrachtet man die Ergebnisse abschließend aus pharmazeutisch-regulatorischer Sicht, so fällt die Aktivität von Faktor VIII im GFP zwischen 72 und 96 Stunden unter die geforderten 70 % des Spender-Ausgangswertes. Es erscheint jedoch in diesem Zusammenhang durchaus sinnvoll, den Sachverhalt aus klinischer Sicht im Vergleich mit den Qualitätsanforderungen für die Pool-Plasmen zu diskutieren. Der Absolut-Wert der Faktor VIII-Aktivität im GFP lag nach der Lagerung über 6 Tage bei 78,1 % und unterschreitet somit die für Pool-Plasmen gültige Minimalanforderung nicht. Dies gilt auch für alle anderen Gerinnungsfaktoren im GFP. Aufgetaute und bei + 4 °C über 6 Tage gelagerte GFP könnten somit auch als therapeutisch effizient eingestuft werden. Insofern sollte zumindest über die Nutzung von GFP nach einer Lagerung bis maximal 72 Stunden entschieden werden.

Der Einsatz von bei + 4 °C über 6 Tage gelagerten S/D-Pool-Plasmen und lyophilisierten S/D-Pool-Plasmen erscheint hingegen grundsätzlich akzeptabel, da hier die Vorgabe von  $\geq 0,7$  U/l erreicht wird. Insofern sollten die Hersteller dieser Produkte über eine entsprechende Erweiterung der Gebrauchs- und Fachinformation diskutieren.

Unter Berücksichtigung der vorliegenden Datenlage erscheint die Lagerung von allen Plasmaarten bis zu 72 Stunden bei + 4 °C möglich. Somit könnte in Akut- und Unfallkliniken unter Berücksichtigung einer retrospektiven Verbrauchsstatistik (z. B. durchschnittlicher Verbrauch an Plasmen zu therapeutischen Anwendung innerhalb von 24 Stunden) ein definierter Bestand an aufgetauten oder rekonstruierten Plasmen bei + 4 °C vorgehalten werden.

Damit ist ein immenser logistischer Vorteil für die Versorgung von Akutpatienten zu postulieren, da innerhalb dieses Zeitfensters die therapeutische Maximalversorgung zu erwarten ist.

Des Weiteren ist mit einem deutlichen Rückgang der Verfallsrate von Plasmen zur therapeutischen Anwendung zu rechnen.

Zur weiteren Absicherung der Lagerfähigkeit von GFP sollten weiterführende Untersuchungen zum Verlauf der Faktor-VIII-Aktivität im Zeitfenster von 24 bis 96 Stunden erfolgen.

## 7 Literaturverzeichnis

Arbeitsvorschrift des Instituts für Medizinische Diagnostik Oderland. Kultureller Erregernachweis aus Blut (außer Mykobakterien und Pilze). Verfahren: E8QV068C. Version B:1-9, 2002

Barz D, Fünfhausen G, Machalet G, Thierbach V, Wilms K. Die Entwicklung der Transfusionsmedizin in der DDR. *Transfusion Medicine and Hemotherapy* Vol. 31 suppl 2 2004;55-68.

Bormann R. Die Bluttransfusion. In: *Feldchirurgie*. Militärverlag der DDR. 1986; 437–456.

Bortz J, Lienert G. *Kurzgefasste Statistik für die klinische Forschung – Leitfaden für die verteilungsfreie Analyse kleiner Stichproben*. Springer Verlag Berlin 2008;45.

Buchta C, Felfernig M, Höcker P et al. Stability of coagulation factors in thawed, solvent/detergent-treated plasma during storage at 4 °C for 6 days. *Vox Sang* 2004;87:182-186.

Bux J, Hoburg A, Dickhörner D, Scheel E. Gefriergetrocknetes Plasma-Renaissance eines Klassikers. *Hämotherapie* 2009; 13: 33-37.

Cardigan R, Lawrie AS, Mackie IJ et al. The quality of fresh-frozen plasma produced from whole blood stored at 4 °C overnight. *Transfusion* 2005; 45:1342-1348.

Carlebjörk G, Blombäck M, Akerblom O. Improvement of plasma quality as raw material for factor VIII : C concentrates. *Vox Sang* 45 1983;233-242.

Deutsche Packungsbeilage für Fibrinogen. Version 12/2007. Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim, Deutschland

Deutsche Packungsbeilage für Faktor II. Version 05/2005. Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim, Deutschland

Deutsche Packungsbeilage für Faktor V. Version 06/2004. Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim, Deutschland

Deutsche Packungsbeilage für Faktor VII. Version 02/2005. Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim, Deutschland

Deutsche Packungsbeilage für Faktor VIII. Version 06/2004. Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim, Deutschland

Deutsche Packungsbeilage für Faktor IX. Version 06/2004. Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim, Deutschland

Deutsche Packungsbeilage für Faktor X. Version 02/2004. Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim, Deutschland

Deutsche Packungsbeilage für Faktor XI. Version 09/2004. Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim, Deutschland

Deutsche Packungsbeilage für Faktor XII. Version 06/2005. Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim, Deutschland

Deutsche Packungsbeilage für Faktor XIII-Antigen. Version 09/2005. Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim, Deutschland

Deutsche Packungsbeilage für von Willebrand Faktor-Aktivität. Version 09/2000. Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim, Deutschland

Deutsche Packungsbeilage für von Willebrand-Faktor-Antigen. Version 07/2004. Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim, Deutschland

Downes A, Wilson E, Yomtovian R, Sarode R. Serial measurement of clotting factors

in thawed plasma stored for 5 days. Transfusion 2001;41:570.

Gebrauchsinformation und Fachinformation Octaplas® LG. OCTAPHARMA GmbH Langenfeld; Deutschland 2009

Gebrauchsinformationen und Fachinformationen lyophilisiertes S/D-Pool-Plasma DRK-Blutspendedienst West 2007

Gregor S, Harvey MS, Briet E, Brand A. Coagulation parameters of CPD fresh-frozen plasma and CPD cryoprecipitate-poor plasma after storage at 4 degrees C for 28 days. Transfusion 1993;33:735-738.

Heger A, Römisch J, Svae T E. Stability of solvent/detergent-treated plasma and single-donor fresh-frozen plasma during 48 h after thawing. Transfusion and Apheresis Science 2005; 33,257-267.

Henseler O. Auswertung der Meldungen nach § 21 TFG für 2008. [www.pei.de](http://www.pei.de)

Kakaiya RM, Morse EE, Panek S. Labile coagulation factors in thawed fresh frozen plasma prepared by two methods. Vox sang 1984;46:44-46.

Kujovich J L. Hemostatic defects in end stage liver disease. Crit Care Med 2005;21:563-587.

Lambo M, Poland DC, Eikenboom JC et al. Coagulation parameters of thawed fresh-frozen plasma during storage at different temperatures. Transfus Med 2007; 17:182-186.

Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten. Deutscher Ärzteverlag 2003;74.

Maegele J B, Lefering R, Yucel N, et al. Early coagulopathy in multiple injury: an analysis from the German Trauma Registry an 8724 patients. Injury 38. 2007;298-304.

Osselaer JC, Debry C, Goffaux M et al. Coagulation function in fresh-frozen plasma prepared with two photochemical treatment methods: methylene blue and amotosalen. *Transfusion* 2008 ; 48:108-117.

Putzker M, Klose T, Brandt D. Transfusionsmedizinische Einrichtungen der Bundeswehr. *Transfusion Medicine and Hemotherapy* Vol. 31 suppl 2. 2004;48–54.

Querschnitts-Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten. Deutscher Ärzteverlag 2009/1; S. 71-82.

Querschnitts-Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten. Deutscher Ärzteverlag 2009/2; S. 73.

Querschnitts-Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten. Deutscher Ärzteverlag 2009/3; S. 73.

Querschnitts-Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten. Deutscher Ärzteverlag 2009/4; S. 71.

Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie). Gesamtnovelle 2005 mit Änderungen und Ergänzungen 2007. Deutscher Ärzteverlag 2007/1; S.49.

Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie) Gesamtnovelle 2005 mit Änderungen und Ergänzungen 2007; Deutscher Ärzteverlag 2007/2; S. 44.

Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie) Gesamtnovelle 2005 mit Änderungen und Ergänzungen 2007; Deutscher Ärzteverlag 2007/3;13-27.

Sidhu S R, Le T, Brimhall B, Thompson H. Study of Coagulation Factor Activities in

Apheresed Thawed Fresh Frozen Plasma at 1 – 6 °C for Five Days. Journal of Clinical Apheresis 2006;21:224-226.

Smith JF, Ness PM, Moroff G, Luban NL. Retention of coagulation factors in plasma frozen after extended holding at 1 °C - 6°C. Vox Sang 2000;78:28-30.

SOP-Nr. H-O112/14. Maschinelle Plasmapherese

SOP-Nr. QK-20/9. Spendertauglichkeit

Starr D. Blut Stoff für Leben und Kommerz. Gerling Akademie Verlag 1999;133-143.

von Heymann C, Pruss A, Sander M et al. Thawing Procedures and Time Course of Clotting Factor Activity in Fresh-Frozen Plasma: A Controlled Laboratory Investigation. Anesthesia & Analgesia 103 2006;970.

Walter CW, Murphy WP. A closed gravity technique for the preservation of whole blood in ACD solution utilizing plastic equipment. Surg Gyn 94 1952;687-692.

## 8 Anhang

### 8.1 Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen und Symbole

ADAMTS13	A disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13
Ag	Antigen
Ak	Antikörper
BÄK	Bundesärztekammer
CE	Conformité Européenne
DAP	Deutsches Akkreditierungssystem Prüfwesen GmbH
DIC	Disseminated intravascular coagulation
GFP	Gefrorenes Einzelspender-Frischplasma
GMP	Good manufacturing practice
GSDP	Gefrorenes S/D-Pool-Plasma
h	Stunde(n)
HAV	Hepatitis-A-Virus
HBV	Hepatitis-B-Virus
HCV	Hepatitis-C-Virus
HEV	Hepatitis-E-Virus
HIV	human immunodeficiency virus
HUS	Hämolytisch-urämisches Syndrom
IgA	Immunglobulin A
LSDP	lyophilisiertes S/D-Pool-Plasma
MLP	Methylenblau-Licht-behandeltes Einzelspenderplasma
NAT	Nukleinsäure-Amplifikationstechnik
o. g.	oben genannt(en)
p	p-Wert (Ergebnis eines statistischen Signifikanztests)
PPSB	Humane Plasmafraktion, die <b>P</b> rothrombin (Faktor II), <b>P</b> rokonvertin (Faktor VII), <b>S</b> tuart-Power-Faktor (Faktor X) und antihämophiles Globulin <b>B</b> (Faktor IX) enthält
QM	Qualitätsmanagement
SARS	Severe acute respiratory syndrome
S/D	Solvens/ Detergens

SOP	Standard Operating Procedure
TNBP	Tri-n-butylphosphat
TPHA	Treponema-pallidum-Hämagglutinationstest
TTP	Thrombotisch-thrombozytopenische Purpura
WN	West-Nil-Fieber

## 8.2 Verzeichnis der Abbildungen

- Abbildung 1: Verlauf von Fibrinogen im GFP, GSDP und LSDP von 0 h bis 144 h
- Abbildung 2: Verlauf von Faktor II im GFP, GSDP und LSDP von 0 h bis 144 h
- Abbildung 3: Verlauf von Faktor V im GFP, GSDP und LSDP von 0 h bis 144 h
- Abbildung 4: Verlauf von Faktor VII im GFP, GSDP und LSDP von 0 h bis 144 h
- Abbildung 5: Verlauf von Faktor VIII im GFP, GSDP und LSDP von 0 h bis 144 h
- Abbildung 6: Verlauf von Faktor IX im GFP, GSDP und LSDP von 0 h bis 144 h
- Abbildung 7: Verlauf von Faktor X im GFP, GSDP und LSDP von 0 h bis 144 h
- Abbildung 8: Verlauf von Faktor XI im GFP, GSDP und LSDP von 0 h bis 144 h
- Abbildung 9: Verlauf von Faktor XII im GFP, GSDP und LSDP von 0 h bis 144 h
- Abbildung 10: Verlauf von Faktor XIII im GFP, GSDP und LSDP von 0 h bis 144 h
- Abbildung 11: Verlauf von v. Willebrand-Faktor-Antigen, BG 0, im GFP, GSDP und LSDP von 0 h bis 144 h
- Abbildung 12: Verlauf von v. Willebrand-Faktor-Antigen, BG A/B/AB, im GFP und GSDP von 0 h bis 144 h
- Abbildung 13: Verlauf von v. Willebrand-Faktor-Aktivität, BG 0, im GFP, GSDP und LSDP von 0 h bis 144 h
- Abbildung 14: Verlauf von v. Willebrand-Faktor-Aktivität, BG A/B/AB, im GFP und GSDP von 0 h bis 144 h

### 8.3 Verzeichnis der Tabellen

- Tabelle 1: AB0-Verträglichkeitsregeln der Plasmatransfusion
- Tabelle 2: Qualitätskriterien und Prüfzeitpunkte für GFP
- Tabelle 3: Quartilen und Signifikanzen für GFP, Zeitpunkt 0 h und 6 h nach Auftauen
- Tabelle 4: Quartilen und Signifikanzen für GSDP, Zeitpunkt 0 h und 6 h nach Auftauen
- Tabelle 5: Quartilen und Signifikanzen für LSDP, Zeitpunkt 0 h und 6 h nach Rekonstruktion
- Tabelle 6: Quartilen und Signifikanzen für GFP, Zeitpunkt 0 h und 144 h nach Auftauen
- Tabelle 7: Quartilen und Signifikanzen für GSDP, Zeitpunkt 0 h und 144 h nach Auftauen
- Tabelle 8: Quartilen und Signifikanzen für LSDP, Zeitpunkt 0 h und 144 h nach Rekonstruktion
- Tabelle 9: Quartilen für GFP, Zeitpunkt 0 h bis 144 h nach Auftauen
- Tabelle 10: Quartilen für GSDP, Zeitpunkt 0 h bis 144 h nach Auftauen
- Tabelle 11: Quartilen für LSDP, Zeitpunkt 0 h bis 144 h nach Auftauen
- Tabelle 12: Gegenüberstellung der Aktivitäten der Gerinnungsfaktoren II, V, VII, IX und X sowie der Fibrinogen-Konzentration, Eigene Daten versus Buchta et al.

### **Eidesstattliche Erklärung**

„Ich, Michael Schuster, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Untersuchungen zum Verlauf der Gerinnungsfaktorenaktivität im aufgetauten Einzelspender-Frischplasma, aufgetauten S/D-Pool-Plasma sowie im rekonstruierten S/D-Pool-Plasma während der Lagerung bei vier Grad Celsius über sechs Tage“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum

Unterschrift

## **Danksagung**

Ich danke Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Axel Pruß für die Überlassung des Themas sowie für seine beharrliche und zielführende Motivation beim Schreiben der Arbeit.

Großer Dank gilt Marion Reiß und Sandra Sadlau aus dem Institut Für Medizinische Diagnostik Oderland für die Durchführung der Messungen.

Katrin Schindler und Bärbel Schröder aus dem Institut für Medizinische Diagnostik Oderland danke ich recht herzlich für die stilistische Hilfe und die orthografische Korrektur meiner Arbeit.

An dieser Stelle möchte ich meiner Frau, Martina Schuster, ganz lieben Dank sagen. Mit bewundernswerter Geduld hat sie mich bei der Prüfung der fachlichen Inhalte auf Richtigkeit intensiv unterstützt.

## **Lebenslauf**

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

## **Lebenslauf**

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

## Publikationsliste

Schoenfeld H, Pruss A, Keller M, Schuster M, Meinck K, Neuner B, von Heymann C. Lyophilised plasma: evaluation of clotting factor activity over 6 days after reconstitution for transfusion. J Clin Pathol. 2010;63(8):726-30.

von Heymann C, Keller MK, Spies C, Schuster M, Meinck K, Sander M, Wernecke KD, Kieseewetter H, Pruss A. Activity of clotting factors in fresh-frozen plasma during storage at 4 degrees C over 6 days. Transfusion. 2009;49(5):913-20.

Schuster M, Richter E, Matthes G. Verlängerte Lagerung von Thrombozytapheresekonzentraten bei Raumtemperatur mittels Acetatlösungen. Infusionstherapie und Transfusionsmedizin. 1993; 20 (suppl 3): 8-9.