

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

DISSERTATION

Qualifizierung von postmortalen Blutproben
Qualification of postmortem blood samples

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät

Charité - Universitätsmedizin Berlin

von

Gudrun Larscheid

Datum der Promotion: 30.11.2023

Inhaltsverzeichnis	Seite
I. Abbildungsverzeichnis	4
II. Abkürzungsverzeichnis	5
III. Abstract (Deutsch)	6
IV. Abstract (Englisch)	8
V. Manteltext	
1. Einleitung	9
1.1. Forschungsstand	9
1.1.2. Testalgorithmen	12
1.2. Bedeutung der Arbeit für das Fachgebiet und Fragestellung	15
2. Methodik	16
2.1. Prämortale Blutproben	16
2.2. Postmortale Blutproben	17
2.3. Bestimmung der IgG Konzentration	17
2.4. Statistische Auswertung	19
3. Ergebnisse	19
3.1. Spendereigenschaften	19
3.2. IgG Konzentrationen in prä-mortalen Blutproben	20
3.3. IgG Konzentrationen in postmortalen Blutproben	20
3.4. Vergleich der IgG Konzentrationen in prä- und postmortalen Blutproben	20
3.5. Einflussfaktoren auf die Differenz der IgG Konzentrationen in prä- und postmortalen Blutproben	21
3.5.1. Postmortale Zeit der Blutprobe	21
3.5.2. Spenderalter	21
3.5.3. Todesursache	22
3.5.4. Karzinomerkkrankung	23
3.5.5. Autoimmunerkrankung	23
3.5.6. Hämolysegrad der Blutproben	23
3.5.7. Materialart der prä-mortalen Blutprobe	23
3.6. Zusammenfassung	24
4. Diskussion und klinische Anwendungen	25
4.1. Empfehlungen zur Neubewertungen postmortaler Blutproben	27

4.2. Vorschlag eines modifizierten Testalgorithmus	28
4.3. Limitationen der Arbeit und weiterführende Fragen	31
5. Fazit	32
6. Literaturverzeichnis	33
VI. Eidesstattliche Versicherung	37
VII. Anteilserklärung an der erfolgten Publikation	38
VIII. Auszug aus der Journal Summary List	39
IX. Publikation	42
X. Lebenslauf	50
XI. Publikationsliste	52
XII. Danksagung	53

Abbildungsverzeichnis

Seite

Abbildung 1

30

Testalgorithmus für die Diagnostik postmortalen Blutproben

I. Abkürzungsverzeichnis

EDQM	European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare of the Council of Europe
HBc	Hepatitis B-core (Antigen)
HBsAg	Hepatitis B-surface-Antigen
HBV	Hepatitis B-Virus
HCV	Hepatitis C-Virus
HIV	Humanes Immundefizienz Virus
IgG	Immunglobulin G
IQR	Inter-Quartal-Ranges
NAT	Nukleinsäure Amplifikationstest
SD	Standard Deviation, Standardabweichung
TPHA	Treponema Pallidum Hämagglutination
ZTB	Zentrum für Transfusionsmedizin und Zelltherapie Berlin

II. Abstract (Deutsch)

Hintergrund und Fragestellung: Bei Gewebespendern erfolgt entsprechend der gesetzlichen Vorgaben eine infektionsserologische Testung auf HIV, Hepatitis B und C, sowie Syphilis. Bevorzugt wird hierfür bei verstorbenen Spendern prämortales Blut verwendet. Ist eine solche Blutprobe nicht vorhanden, ist eine Testung von postmortalem Blut nur dann zulässig, wenn dies bis zu 24 Stunden nach dem Tod gewonnen wurde. Der Verlust potentieller Gewebespenden, bei denen kein Blut innerhalb dieser 24 Stunden gewonnen werden kann, ist für viele Gewebespenden vor dem Hintergrund eines Mangels an Gewebetransplantaten ein relevantes Problem. Daher ist eine Qualifizierung von postmortalen Blutproben anzustreben und damit deren Eignung für eine infektionsserologische Testung zu bestimmen. Die Gesamt IgG Konzentration der Blutprobe scheint dabei in erster Linie geeignet zu sein, da die infektionsserologischen Testungen spezifisches IgG detektieren. Damit stellt das Gesamt IgG einen sinnvollen Surrogatmarker dar, dessen Korrelation mit der postmortalen Zeit und verschiedenen Spendercharakteristika untersucht wurde.

Material und Methoden: Bei 100 konsekutiven Gewebespendern der Universitätsgewebekbank der Charité – Universitätsmedizin Berlin zwischen Januar und Juni 2020 wurden prä- und postmortale Blutproben gewonnen. Nach Zentrifugation wurde im Plasma die Gesamt IgG Konzentration mit dem AU480 Chemistry Analyzer (Beckman Coulter Ireland Inc., Clare, Irland) nach dem Prinzip einer Immun-Turbidimetrie gemessen. Die Messwerte wurden erfasst und statistisch ausgewertet.

Ergebnisse: Die Gesamt IgG Konzentration (Normwert ≥ 6 g/l) in den prämortalen Blutproben betrug im Mittel 8,9 g/l (Median 8,9 g/l, SD $\pm 3,7$ g/l, Spannweite 1,5 bis 23,8 g/l), in den korrespondierenden postmortalen Blutproben desselben Spenders 7,2 g/l (Median 6,7 g/l, SD $\pm 3,2$ g/l, Spannweite 0,6 bis 18,2 g/l). Es fand sich eine signifikante Reduktion der IgG Konzentration in den postmortalen Blutproben von im Mittel 1,7 g/l (16,3%) ($\pm 2,6$ g/l, Median 1,6 g/l, Spannweite -7,7 bis 10,1 g/l). Eine Korrelation mit der postmortalen Zeit und verschiedenen Spendercharakteristika fand sich mit den durchgeführten statistischen Analysen nicht.

Schlussfolgerung: Das Gesamt IgG erscheint als Parameter zur Qualifizierung postmortalen Blutproben geeignet, da es neben der einfachen Messbarkeit keinen Zusammenhang mit der postmortalen Zeit zeigt. Bei einer Gesamt IgG Konzentration im Normbereich sollten im Falle einer bestehenden Infektionserkrankung auch spezifische Immunglobuline vorhanden sein. Werden infektionsserologische Untersuchungen mit NAT Testungen kombiniert, erhöht sich die Sicherheit hinsichtlich falsch negativer Testergebnisse.

III. Abstract (Englisch)

Background and Objective: In accordance with legal requirements, tissue donors are tested for HIV, hepatitis B and C, and syphilis. Preferably, pre-mortem blood of deceased donors is used for this purpose. If such a blood sample is not available, testing of post-mortem blood is only permitted if it was obtained up to 24 hours after death. The loss of potential tissue donors from whom blood cannot be obtained within these 24 hours is a relevant problem for many tissue donors against the background of a shortage of tissue transplants. Therefore, a qualification of post-mortem blood samples should be aimed at and thus their suitability for infection serological testing determined. The total IgG concentration of the blood sample seems to be suitable in the first place, since infection serological tests detect specific IgG. Thus, total IgG represents a surrogate marker whose correlation with postmortem time and various donor characteristics has been investigated.

Material and methods: Pre- and post-mortem blood samples were obtained from 200 consecutive tissue donors at the University Tissue Bank of Charité - Universitätsmedizin Berlin between January and June 2020. After centrifugation, the total IgG concentration in plasma was measured using the AU480 Chemistry Analyzer (Beckman Coulter Ireland Inc., Clare, Ireland) according to the principle of immunoturbometry. The measured values were recorded and statistically analyzed.

Results: The total IgG concentration (normal value ≥ 6 g/l) in the pre-mortem blood samples was on average 8.9 g/l (median 8.9 g/l, SD ± 3.7 g/l, range 1.5 to 23.8 g/l), in the corresponding post-mortem blood samples from the same donor 7.2 g/l (median 6.7 g/l, SD ± 3.2 g/l, range 0.6 to 18.2 g/l). There was a significant reduction in IgG concentration in the postmortem blood samples of 1.7 g/l (16.3%) on average (± 2.6 g/l, median 1.6 g/l, range -7.7 to 10.1 g/l). A correlation with post-mortem time and various donor characteristics was not found with the statistical analyses performed.

Conclusion: Total IgG appears to be suitable as a parameter for the qualification of post-mortem blood samples, since it shows no correlation with post-mortem time in addition to being easy to measure. If the total IgG concentration is within the normal range, specific immunoglobulins should also be present in the case of an existing infectious disease. If infectious serological examinations are combined with NAT tests, the safety with regard to false negative test results is increased.

IV. Manteltext

1. Einleitung

Die Transplantation allogener Gewebe ist für die Behandlung zahlreicher Erkrankungen alternativlos. Seit dem Inkrafttreten des Gewebegesetzes in Deutschland im Jahre 2007, die aufgrund einer europäischen Richtlinie für die Mitgliedsstaaten der Europäischen Union verpflichtend war, unterliegen Einrichtungen, sogenannte Gewebereinrichtungen, die sich mit der Entnahme von menschlichen Geweben, deren Präparation, Konservierung, Testung und Abgabe von Gewebetransplantaten beschäftigen, einheitlichen gesetzlichen Regelungen [5, 6, 7]. Die deutsche Gesetzgebung hat damit humane Gewebetransplantate, als sogenannte Gewebezubereitungen, dem Arzneimittelgesetz und dessen Regelungen unterstellt [1, 2]. Das wesentliche Ziel der umfangreichen gesetzlichen Regularien ist der Schutz des Transplantatempfängers durch qualitätssichernde Maßnahmen in den Gewebereinrichtungen. Die Einhaltung hoher Standards in diesen Einrichtungen unterliegt der Aufsichts- und Erlaubnispflicht der zuständigen Landesbehörde. Die Genehmigung zur Abgabe von Gewebezubereitungen an transplantierende medizinische Einrichtungen erfolgt nach umfassender Risikoprüfung durch das Paul-Ehrlich-Institut in seiner Funktion als zuständige Bundesoberbehörde.

1.1. Forschungsstand

Im Mittelpunkt aller Aktivitäten der Gewebereinrichtungen muss die Vermeidung der Übertragung von Erkrankungen mit den Gewebetransplantaten vom Spender zum Empfänger stehen. Die Form der Konservierung der Gewebezubereitung spielt insbesondere für die mögliche Übertragung von Infektionserregern eine wesentliche Rolle. Wenn eine Dezellularisierung oder Avitalisierung des Gewebetransplantates nicht möglich ist, ohne seine notwendigen biologischen Eigenschaften irreversibel zu schädigen, ist dieses Risiko klinisch besonders relevant [26, 30]. Kainer et al. untersuchten im Jahre 2002 bei 250 Empfängern von allogenen Knochen- transplantaten das Auftreten von transplantatassoziierten Infektionen. Bei 4 Patienten (1,6%) wurden solche Infektionen nachgewiesen. Ein Transplantatempfänger verstarb an einer Sepsis mit *Clostridium sordelli*. Diese Infektion konnte zweifelsfrei auf das allogene Knochen- transplantat, welches nur kryokonserviert und nicht einem terminalen Desinfektions- bzw. Sterilisationsverfahren unterzogen wurde,

zurückgeführt werden [17]. Neben solchen transplantatassoziierten mikrobiologischen Infektionen ist die Vermeidung einer Übertragung einer systemischen viralen Erkrankung wichtig. Eine Übersichtsarbeit von 2012 berichtete über 9 Fälle einer HIV Übertragung, 10 Fällen einer HCV Übertragung und einem Fall einer HBV Übertragung mit allogenen muskuloskelettalen Gewebetransplantaten [14]. Auch wenn diese Fälle teilweise in einem Zeitraum auftraten, wo infektionsserologische Testungen des Spenders noch nicht erfolgten, ist die Übertragung solcher humanpathogenen Viren weiterhin von Relevanz.

Der Bedarf an allogenen Geweberansplantaten nimmt weltweit zu [16, 11]. Dies liegt im Wesentlichen zum einen an der steigenden Lebenserwartung in entwickelten Ländern, zum anderen an verbesserten Operationstechniken, die zu einer Erweiterung der Indikationen geführt hat [10].

Die Verfügbarkeit allogener Gewebetransplantate liegt häufig unter dem Bedarf. Zahlreiche Gewebe zu Transplantationszwecken können nur bei verstorbenen Spendern gewonnen werden, die keine medizinischen Kontraindikationen für eine solche Spende aufweisen. Dies ist ein wesentlicher Grund für deren begrenzte Verfügbarkeit. Eine relevante Verbesserung der Versorgungssituation ist daher nur durch eine Steigerung der Anzahl an Gewebespenden möglich. Neben einer Weiterentwicklung der dafür notwendigen Infrastruktur, die im Gegensatz zur Organspende in Deutschland nicht einheitlich festgelegt ist, stellt die gesetzlich bestimmte Obergrenze von 24 Stunden für die Gewinnung einer postmortalen Blutprobe eine wesentliche Hürde dar [2].

Im Rahmen einer Gewebespende muss immer auch eine Blutprobe des Spenders gewonnen werden, die zur Untersuchung auf Infektionskrankheiten verwendet wird. Bei im Krankenhaus verstorbenen Patienten, die nach ihrem Tod Gewebe spenden, steht häufig, aber auch bei weitem nicht immer, eine Rückstellprobe im Labor zur Verfügung, die zur Diagnostik zu Lebzeiten verwendet wurde. Diese Rückstellproben können dann von der Gewebereinrichtung, die die Gewebespende realisiert, für die Testung auf Infektionserkrankungen verwendet werden. Ist eine solche Rückstellprobe nicht vorhanden und lässt sich innerhalb von 24 Stunden nach dem Tod eines potentiellen Gewebespenders keine postmortale Blutprobe gewinnen, so kommt dieser für eine Gewebespende nicht mehr in Frage, selbst wenn es seinem mutmaßlichen Willen entsprechen würde und keine medizinischen Kontraindikationen vorhanden sind. Die Festlegung der Obergrenze von 24 Stunden für die

Verwendbarkeit einer postmortalen Blutprobe im Rahmen einer Direktive der Europäischen Union erfolgte im Jahr 2006 nicht nach streng wissenschaftlichem Erkenntnismaterial, was zu dieser Zeit nur in sehr begrenztem Umfang zur Verfügung stand, sondern ist eher als eine Kompromissentscheidung der zuständigen Europäischen Gremien zu sehen [6, 7]. Es ging bei der Entscheidung im Wesentlichen darum, falsch negative Testergebnisse und damit eine potentielle Gefährdung der Gewebetransplantatempfänger durch die Übertragung einer Infektionserkrankung wie einer viralen Hepatitis oder einer HIV Erkrankung auf ein Minimum zu reduzieren. Während die maximal mögliche postmortale Zeit zur Gewinnung von Gewebespenden zwischen 36 Stunden, z.B. für muskuloskelettale und kardiovaskuläre Gewebe, und 72 Stunden bei Augenhornhäuten liegt, bleibt das Zeitfenster für die postmortale Blutprobe auf 24 Stunden begrenzt. Zahlreiche Gewebespenden, bei denen keine prä-mortale Blutprobe verfügbar ist, können nicht realisiert werden, da in der etablierten Infrastruktur der Spendergewinnung sehr häufig eine relevante Verzögerung der Meldung von potentiellen Gewebespendern von mehr als 24 Stunden unvermeidbar ist. Es ist daher anzustreben, das Intervall für die Gewinnung einer postmortalen Blutprobe auf 72 Stunden zu erweitern. Seit mehreren Jahren widmet sich aus diesem Grund die Universitätsgewebekbank bzw. das Institut für Transfusionsmedizin der Charité in verschiedenen Studien der Fragestellung der Validität von Testungen auf Infektionserkrankungen mittels serologischen Untersuchungen und NAT (Nucleic Acid Amplification Test) in postmortalem Blut.

Wilkemeyer et al. berichteten 2012 über eine retrospektive Analyse der infektionsserologischen Untersuchungen aus prä- und postmortalen Blutproben von 487 Augenhornhautspendern. Es zeigten sich in 21 Fällen Diskrepanzen zwischen den Einzelbefunden, von denen 4 als falsch negativ und 17 als falsch positiv bewertet wurden. Diese falsch positiven Befunde traten in der Untergruppe auf, bei denen die postmortale Zeit der Blutprobengewinnung zwischen 24 und 66 Stunden lag. Als mögliche Ursache für die falsch negativen Befunde in den postmortalen Proben wurde die Verwendung eines Testassays, der nicht für solche Blutproben validiert war, diskutiert [32].

Kalus et al. führten entsprechend Validierungsstudien mittels Spiking für postmortale Blutproben mit einem etablierten und moderaten Testsystem, dem automatischen BEP III System von Siemens, durch. Es zeigten sich in diesen Studien keine falsch negativen und keine falsch positiven Ergebnisse für Anti-HIV $\frac{1}{2}$, HBsAg, Anti-HBc,

Anti-HCV und TPHA in den Untersuchungsgruppen. 2 Proben zeigten vor dem Spiken ein falsch positives Ergebnis für TPHA, was auf eine starke Hämolyse zurückgeführt wurde [17, 18].

Aus oben dargestellten Ergebnissen aus dem Institut für Transfusionsmedizin der Charité – Universitätsmedizin Berlin zu Untersuchungen in postmortalen Blutproben lässt sich ableiten, dass die postmortale Zeit nicht der einzige und damit entscheidende Einflussfaktor auf die Validität infektionsserologischer Untersuchungsergebnisse ist.

1.1.2. Testalgorithmen

Aktuell schreiben die gesetzlichen Vorgaben und wissenschaftlichen Leitlinien mindestens die Testung von Anti-Hepatitis B Surface Antigen (HBsAg), Anti-Hepatitis B Core Antikörper (Anti-HBc), Anti-Hepatitis C Antikörpern (Anti-HCV), Anti-Humanes Immundefizienz Virus Antikörper (Anti-HIV) und einen Suchtest auf Antikörper gegen *Treponema pallidum* (z.B. TPHA – *Treponema Pallidum* Hämagglutination Test, Anti-Lues Antikörper) vor [2, 8, 24, 31].

Humanes Immundefizienz-Virus Typ 1 und 2 (HIV)

HIV (Typ 1 mit 3 Subtypen) gehört zu den Retroviren und zur den Lentiviren. HIV ist ein etwa 100 nm großes, umhülltes, einzelsträngiges RNA-Virus und die Ursache des erworbenen Immunschwächesyndroms (AIDS) [23].

Der folgende HIV-Testalgorithmus entspricht der Empfehlung des aktuellen EDQM-Leitfadens [8]:

- Antigen-Kombinationstest (4. oder 5. Generation), einschließlich des Nachweises von Anti-HIV-1/2-Antikörpern und des HIV-1 p24-Antigens. Für die Freigabe eines Gewebetransplantates sollten beide Parameter negativ sein.
- Wird ein Test der 3. Generation verwendet, muss zusätzlich ein HIV-1-RNA-Test (qualitativ oder quantitativ, Empfindlichkeitsgrenze ≤ 50 IU/ ml) durchgeführt werden. Für die Freigabe eines Gewebetransplantates sollten beide Parameter negativ sein.
- Nicht-negative (d. h. schwach reaktive oder grenzwertige) serologische Screening-Ergebnisse können mit demselben Test in zweifacher Ausführung wiederholt werden. Sind die Wiederholungsergebnisse eindeutig negativ, können die gespendeten Gewebe freigegeben werden.
- Reaktive Proben können mit einem anderen serologischen Test mit gleicher oder höherer Empfindlichkeit erneut getestet werden. Spenden, deren

Blutproben in diesem Test nicht reaktiv und negativ auf HIV-1-RNA negativ sind, können für die klinische Verwendung freigegeben werden.

- Wird ein HIV-1-RNA-Test durchgeführt und ist das Ergebnis reaktiv, können die Spenden nicht für die klinische Verwendung freigegeben werden, unabhängig von den serologischen Ergebnissen. Auch bei kurzem virologischen Zeitfenster für eine sogenannte Serokonversion kann der HIV-1-RNA-Test bereits vor den serologischen Tests positive Ergebnisse liefern.

Hepatitis B-Virus

Das menschliche Hepatitis B-Virus gehört zu den Hepadnaviren und hat ein doppelsträngiges DNA-Genom. Die infektiösen Viruspartikel sind etwa 42 nm groß, kugelförmig und haben eine äußere Lipidhülle. Das HBsAg ist in der Virushülle verankert und wird an der Membran des endoplasmatischen Retikulums als virales Protein abgespalten, und somit als freie HBsAg-Partikel (20 nm) im Serum nachweisbar. Eine relevante Schwierigkeit bei der HBV Diagnostik ist das Auftreten einer okkulten Hepatitis B-Infektion. Eine okkulte Hepatitis B-Infektion ist definiert als Konstellation mit negativem HBs Antigen und positivem, aber auch negativem Anti-HBc-IgG-Status bei HBV-DNA Nachweis im Serum und Lebergewebe. Das Vorhandensein von Anti-HBc im Serum ist daher ein wichtiger Parameter für die Detektion einer okkulten Hepatitis B-Infektion, obwohl etwa 20 % dieser Fälle negativ für Anti-HBc sind [21]. Derzeit ist die einzige zuverlässige Methode der Nachweis von HBV-DNA durch NAT zur Detektion einer okkulten Hepatitis B-Infektion. Der folgende HBV-Testalgorithmus entspricht der Empfehlung des aktuellen EDQM-Leitfadens [8]:

- Testung auf HBsAg und Antikörpern gegen HBc. Sind beide Testparameter eindeutig negativ, können die gespendeten Gewebe zur Transplantation freigegeben werden.
- Wenn Anti-HBc reaktiv ist, muss zusätzlich mit einer hochsensitiven HBV-NAT-Methode (Standard derzeit Nachweisgrenze ≤ 12 IU/mL) untersucht werden.
- Ist Anti-HBc positiv und sind HBsAg und die HBV NAT negativ, können die gespendeten Gewebe freigegeben werden.
- Eine HBV-DNA-Positivität führt in jedem Fall zum Verwurf des gespendeten Gewebes, also auch bei negativen Befunden für HBsAg und Anti-HBc, da von einer okkulten Hepatitis B-Infektion ausgegangen werden muss.

Hepatitis C-Virus

Das Hepatitis C-Virus ist ein einzelsträngiges RNA-Virus mit einem Durchmesser von etwa 60-70 nm, das aus einem Kapsid und einer Hülle besteht. Kombinierte Antikörper-Antigen-Nachweistests wie für HIV sind derzeit nicht im Handel erhältlich, und die Sensitivität von HCV-Antigentests reicht nicht aus, um eine frühe Infektion sicher nachzuweisen. Das Vorhandensein von Anti-HCV Antikörpern kann auf eine akute, chronische oder zurückliegende Infektion hinweisen. Die Serokonversionsphase beträgt etwa 2 Monate, daher ist ein HCV-RNA-Test neben der serologischen Untersuchung ein obligatorischer Bestandteil des hier empfohlenen Algorithmus. Der nachfolgende HCV-Testalgorithmus entspricht der Empfehlung des aktuellen EDQM-Leitfadens [8]:

- Testung auf Anti-HCV-Antikörper.
- Testung auf HCV-RNA (NAT, Sensitivität ≤ 50 IU/ml); Bei negativem Anti-HCV und negativer HCV NAT ist eine Freigabe der Gewebe zur klinischen Anwendung möglich.
- Wenn Anti-HCV-reaktiv ist und gleichzeitig die HCV-RNA-NAT ein negatives Ergebnis ergibt, spricht dies entweder für eine unspezifische Antikörper-Testreaktion (im Sinne eines falsch positiven Ergebnisses) oder eine ausgeheilte bzw. behandelte Infektion. Ein solcher Antikörperbefund sollte durch eine Immunoblotanalyse bestätigt werden. Bei negativem HCV-Immunoblot ist eine Verwendung der Gewebe möglich.
- Wenn der HCV-Immunoblot positiv ist, also das Anti-HCV Ergebnis bestätigt ist, könnten die gespendeten Gewebe nur dann für die klinische Verwendung freigegeben werden, wenn zwei negative HCV-RNA-Ergebnisse im Abstand von sechs Monaten vorliegen, da kein Infektionsrisiko für den Empfänger besteht. Diese Überlegung trifft damit nur auf Lebendspenden zu, bei denen so eine ausgeheilte HCV Infektion bzw. eine abgeschlossene erfolgreiche HCV-Behandlung nachgewiesen werden kann. Die aktuellen Regularien verbieten aber eine Transplantation von Geweben bei positivem Anti HCV Befund.

Syphilis

Syphilis ist eine sexuell übertragbare Krankheit, die durch das Bakterium *Treponema pallidum* verursacht wird. Es gibt keine gut validierten, kommerziell verfügbaren NAT Tests. Serologische Tests sind daher derzeit die gebräuchlichsten und etablierten diagnostischen Methoden. Sie werden für das Screening, die Diagnose und die

Kontrolle der Behandlung eingesetzt. Diese serologischen Tests lassen sich in zwei Gruppen unterteilt, die als nicht-treponemale und treponemale Tests bezeichnet werden. Bei den nicht-treponemalen Tests wird nach Antikörpern (IgG oder IgM) als Folge des Zellschadens durch die Infektion gesucht. Die treponemalen Tests weisen spezifische Antikörper gegen *Treponema pallidum* nach. Die treponemalen Tests werden erst einige Wochen nach der Infektion positiv und bleiben auch nach erfolgreicher Behandlung reaktiv. Zu den treponemalen Tests gehören der *Treponema pallidum* Hämagglutinationstest (TPHA), der *Treponema pallidum* Partikel Agglutinationstest (TPPA), der *Treponema*-Enzym Immunoassay (EIA), der Chemilumineszenz-Immunoassay (CLIA) und der Immunoblot [3].

Der nachfolgende Syphilis-Testalgorithmus entspricht der Empfehlung des aktuellen EDQM-Leitfadens [8]:

- Bei negativem treponemalen Test, und negativem oder nicht erfolgtem nicht-treponemalen Test ist eine Freigabe der Gewebe zur klinischen Anwendung möglich. Es besteht keine bzw. eine inaktive/ ausgeheilte Syphilisinfektion.
- Bei negativem treponemalen Test, und positivem nicht-treponemalen Test ist eine Freigabe der Gewebe zur klinischen Anwendung nach sorgfältiger Risikoabwägung möglich. Es könnte ein falsch positives Ergebnis des unspezifischen Testes aber auch ein falsch negatives Ergebnis des spezifischen Testes vorliegen. Ein spezifischer Bestätigungstest ist sinnvoll.
- Bei positivem treponemalen Test sollte ein Bestätigungstest (Immunoblot) erfolgen, um eine aktive von einer ausgeheilten Infektion (sogenannte Serumnarbe) unterscheiden zu können. Bei Verdacht auf eine aktive Syphilisinfektion ist eine Freigabe der Gewebe zur klinischen Anwendung nicht möglich.

1.2. Bedeutung der Arbeit für das Fachgebiet und Fragestellung

Der Ansatz dieser Arbeit war die Fragestellung, wie eine postmortale Probe sinnvoll zu charakterisieren ist, um deren Eignung für eine infektionsserologische Testung zu überprüfen. Die meisten infektionsserologischen Tests weisen spezifische Immunglobulin G (IgG) Antikörper nach. Daher erschien es uns sinnvoll, den Gesamt IgG Gehalt postmortaler Blutproben zu bestimmen. Durch den Vergleich mit den Werten aus korrespondierenden prämortalen Blutproben ließen sich eventuelle Einflussfaktoren auf Differenzen erkennen.

2. Methodik

Bei 100 konsekutiven Gewebespendern der Universitätsgewebekbank der Charité wurden zwischen Januar und Juni 2020 neben prämortale gewonnenen Blutproben auch postmortale Blutproben zum Zeitpunkt der Gewebespende, in den meisten Fällen isolierte Augenhornhautspenden, gewonnen. Bei 29 Gewebespendern war eine postmortale Blutentnahme zu einem zweiten, späteren Zeitpunkt möglich [20].

2.1. Prämortale Blutproben

Bei den verwendeten prämortalen Blutproben handelt es sich um Rückstellproben aus der klinischen Routinediagnostik, die im Labor (Labor Berlin GmbH, Berlin, Deutschland) standardmäßig bei $+4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ für mehrere Tage gekühlt aufbewahrt wurden. Bei den verwendeten Proben handelte es sich um Heparin- und EDTA Plasmen (BD Vacutainer®, Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, USA) die nach Zentrifugation und Testung aufrechtstehend aufbewahrt wurden. Im Zusammenhang mit der Gewebespende wurden diese Proben aus dem Labor abgeholt, aufrechtstehend und gekühlt transportiert und in der Universitätsgewebekbank erneut zentrifugiert bei 5000 RPM für 5 Minuten (Hettich Zentrifuge EBA 200, Tuttlingen, Deutschland). Der Plasmaüberstand wurde anschließend mittels steriler Einwegpipette in ein steriles Blutdiagnostikröhrchen ohne Zusätze (BD Vacutainer® Becton Dickinson and Company, Franklin Lakes, USA) gegeben, mit der eindeutigen Spendenkennnummer und der Materialart (Heparin oder EDTA) beschriftet. Das so aufbereitete Blutplasma wurde bis zur Testung gefroren bei einer Temperatur unter -20°C aufbewahrt. Für alle Proben wurde der Zeitraum zwischen Blutentnahme beim Spender und der Aufbereitung in der Universitätsgewebekbank in Stunden berechnet und dokumentiert. Diese Zeit entspricht der prämortalen Zeit der jeweiligen Blutprobe. Die Bestimmung der Gesamt IgG Konzentration erfolgte zeitgleich mit der infektionsserologischen Testung des Gewebespenders in einem Zeitraum von 1 bis 4 Tagen nach der Gewebespende. Die Proben wurden hierfür aufgetaut und dem Diagnostiklabor (Infektionsserologisches Labor, ZTB - Zentrum für Transfusionsmedizin und Zelltherapie Berlin, Deutschland) übergeben.

2.2. Postmortale Blutproben

Die postmortalen Blutproben wurden durch eine Punktion der Vena subclavia mit einer großlumigen Kanüle gewonnen. Es wurden nur Gewebespende in diese Studie eingeschlossen, bei denen bei der Punktion sicher Blut aspiriert wurde. Die Blutproben wurden von erfahrenen Mitarbeitern der Universitätsgewebebank im Rahmen der Gewebespende gewonnen. Das postmortale Blut wurde in Serumröhrchen überführt (S-Monovette® Serum Gel, Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) und gekühlt in die Universitätsgewebebank transportiert. Dort wurden diese Blutproben identisch zu den Laborrückstellproben aufbereitet und das Serum in Röhrchen ohne Zusatz bei Temperaturen unter -20°C bis zur Diagnostik gelagert. Für alle Proben wurde die Zeit zwischen dem Tod des Spenders (irreversibler Herz-Kreislauf-Stillstand) und der Probenaufbereitung in der Universitätsgewebebank in Stunden berechnet. Diese Zeit entspricht der postmortalen Zeit der Blutprobe. Die postmortalen Blutproben wurden zwischen 4 und 30 Tagen gefroren aufbewahrt und dann am Tag der Gesamt IgG Messung aufgetaut.

Bei den postmortalen Blutproben erfolgten eine visuelle Beurteilung des Serumüberstandes nach Zentrifugation und eine Einteilung des Hämolysegrades in keine, gering bis moderate und starke Hämolyse.

2.3. Bestimmung der IgG Konzentration

Die Gesamt IgG Konzentration wurde mit dem AU480 Chemistry Analyzer (Beckman Coulter Ireland Inc., Clare, Irland) im ZTB bestimmt. Mit demselben Gerät erfolgt die Routinebestimmung des IgG Gehaltes von Blutspenderproben. Das zugrundeliegende Prinzip der Messung ist eine Immun-Turbidimetrie. Dabei reagiert das im Plasma enthaltene IgG mit im Testsystem befindlichem anti-human IgG und bildet unlösliche Aggregate. Die dadurch entstehende Trübung der Probe wird photometrisch gemessen und ist proportional zur IgG Konzentration. Der Automat gibt die gemessene IgG Konzentration dann mit einem Wert in g/l an.

Neben der Messung des IgG Gehaltes wurde der Hämolysegrad jeder Plasmaprobe bestimmt. Hierfür wurde der Überstand der Blutprobe nach Zentrifugation visuell begutachtet und in drei Kategorien eingeteilt, 1: keine Hämolyse, 2: geringe Hämolyse, 3: deutliche Hämolyse.

Für die 100 Gewebespende, von denen alle Augenhornhäute und 6 zusätzlich Knochengewebe gespendet haben, wurde die Todesursache bzw. die direkt zum Tode führende Grunderkrankung erfasst und einer von 5 Kategorien zugeordnet, um eine sinnvolle statistische Auswertung zu ermöglichen. Diese Kategorien waren:

- Erkrankungen der Lunge (z.B. respiratorische Insuffizienz, chronische obstruktive Lungenerkrankung),
- Herz-Kreislauf-Erkrankungen (z.B. Herzversagen, Herzinsuffizienz),
- Erkrankungen des Gehirns (z.B. cerebrale Ischämie, Hämorrhagien),
- Multiorganversagen (z.B. im Rahmen eines metastasierten Tumorleidens, bei einer dekompensierten Leberinsuffizienz) und
- ein septisch bedingtes Multiorganversagen.

Die Kategorisierung erfolgte aufgrund der verfügbaren medizinischen Unterlagen, wie z.B. aktuelle Epikrisen und Verlegungsberichte, sowie einer dokumentierten und standardisierten Kontraindikationsprüfung hinsichtlich der Gewebespende durch eine Befragung der Behandler der entlassenden Station. Für eine Augenhornhautspende stellen eine Karzinomerkrankung sowie eine bakterielle systemische Infektion keine Kontraindikationen dar. Verstorbene Patienten mit Erkrankungen, die eine klare Kontraindikation für eine Gewebespende darstellen, wurden grundsätzlich ausgeschlossen. Daher wurden keine Spender mit malignen Erkrankungen des lymphatischen bzw. des blutbildenden Systems, mit übertragbaren Infektionserkrankungen wie z.B. eine virale Hepatitis, einer nicht sicher ischämischen neurodegenerativen Erkrankung, einer systemischen nicht bakteriellen Infektion und einer unklaren Grunderkrankung bzw. einer unklaren Todesursache in diese Studie eingeschlossen. Zu den Ausschlussgründen für eine Gewebespende zählt auch eine mehr als 50%ige Hämodilution durch Transfusionen von Blutprodukten.

Neben der Erfassung und Kategorisierung der Todesursache erfolgte auch eine klinische Einschätzung einer möglicherweise vorhandenen Immunsuppression. Von einer vorliegenden Immunsuppression wurde bei Patienten mit einer todesursächlichen Karzinomerkrankung, einer durchgeführten Chemotherapie bis 12 Wochen vor dem Tod und einer bestehenden Autoimmunerkrankung mit entsprechender medikamentösen Behandlung ausgegangen und diesem Spender dieses Merkmal zugeordnet.

2.4. Statistische Auswertung

Die IgG Konzentrationen und alle spenderbezogenen Informationen wurden mit Excel® (Microsoft) erfasst. Dieses Programm wurde auch für die Berechnung der deskriptiven Statistik verwendet.

Die anderen statistischen Berechnungen, z.B. von Signifikanzen erfolgten mit den Programmen SAS 9.4M5, SPSS 26 und R 3.63.

Der T Test für unabhängige und gepaarte Proben wurde für den Vergleich der mittleren Unterschiede verwendet. Hierbei wurde von einer statistischen Signifikanz von einem P-Wert $\leq 0,05$ ausgegangen. Die statistische Überprüfung der Normalverteilung erfolgte mit den Testen nach Shapiro-Wilk und Levene.

Die Differenz der IgG Werte wurde durch die Subtraktion des postmortalen IgG Wertes vom prämortalen Wert gebildet. Ein positiver Wert dieser Differenz bedeutet, dass der prämortale Wert höher als der postmortale Wert war und umgekehrt. Für die Beurteilung der Unterschiede in den IgG Konzentrationen wurde ein lineares Regressionsmodell verwendet. In diesem Modell stellte die IgG Differenz die von der Zeit abhängige Variabel dar.

3. Ergebnisse

3.1. Spendereigenschaften

Die in diese Studie eingeschlossenen 100 Gewebespende waren im Durchschnitt 75,2 Jahre alt (SD 9,3 Jahre, Median 77,0 Jahre, IQR 69-82,5 Jahre). Bei den 32 Frauen und 68 Männern lag die postmortale Zeit im Mittel bei 25,9 Stunden (SD 12,3 Stunden, Median 24 Stunden, Spannweite 6 bis 64 Stunden). Bei der Kategorisierung der Todesursache wurden 26 Spender der Gruppe der respiratorischen Erkrankungen zugeordnet, 23 den kardio-zirkulatorischen Erkrankungen, 14 den cerebralen Erkrankungen, 12 der Gruppe mit führendem Multiorganversagen und 25 Spender der Gruppe mit einer todesursächlichen bakteriellen Sepsis. Von den 43 Spendern mit einer Karzinomerkrankung erhielten 9 in den letzten 3 Monaten vor ihrem Versterben eine Chemotherapie und wurden daher als immunsupprimiert eingestuft. 6 Spender litten an einer Autoimmunerkrankung, die nicht todesursächlich war, aber einer medikamentösen Therapie bedurfte.

3.2. IgG Konzentrationen in prämortalen Blutproben

Die mittlere IgG Konzentration aller prämortalen Proben lag bei 8,9 g/l (Median 8,9 g/l, SD 3,7 g/l, Spannweite 1,5 bis 23,8 g/l). In 80 Prozent der prämortalen Blutproben lag die IgG Konzentration im definierten Normbereich von ≥ 6 g/l mit im Mittel 10,0 g/l (Median 9,3 g/l, SD 3,3 g/l). In den restlichen 20 Prozent lag diese Konzentration mit im Mittel 4.5 ± 1.2 g/l (Median 4.8 g/l) unterhalb des Normwertes.

3.3. IgG Konzentrationen in postmortalen Blutproben

Die mittlere IgG Konzentration aller postmortalen Proben lag bei 7,2 g/l (Median 6,7 g/l, SD 3,2 g/l, Spannweite 0,6 bis 18,2 g/l). In 56 Prozent der postmortalen Blutproben lag die IgG Konzentration im definierten Normbereich von ≥ 6 g/l. In den restlichen 44 Prozent lag diese Konzentration unterhalb des Normwertes.

Bei 29 Spendern konnte eine zweite postmortale Blutprobe gewonnen werden. Diese zweite Blutabnahme erfolgte im Mittel 26,9 Stunden nach der ersten postmortalen Abnahme. Bei dieser Gruppe von 29 Spendern lag die mittlere IgG Konzentration in den entsprechenden prämortalen Blutproben bei 8,0 g/l (SD $\pm 3,4$, Median 8,1 g/l). In der ersten postmortalen Blutprobe lag dieser Wert bei 6,9 g/l (SD $\pm 3,1$, Median 5,9 g/l), in der zweiten postmortalen Blutprobe bei 5,5 g/l (SD $\pm 2,7$, Median 5,4 g/l). Bei all diesen 29 Spendern lag die IgG Konzentration mit im Mittel 1,8 g/l in der zweiten postmortalen Blutprobe unter dem Wert der ersten postmortalen Blutprobe. Dies entspricht einer Verminderung der IgG Konzentration um 25,4%.

3.4. Vergleich der IgG Konzentrationen in prä- und postmortalen Blutproben

Der Differenz der IgG Konzentrationen der prä- und postmortalen Blutproben war im Mittel 1,7 g/l, was einer Erniedrigung von 16,3% entspricht ($\pm 2,6$ g/l, Median 1,6 g/l, Spannweite - 7,7 bis 10,1 g/l). Bei 36 Spendern betrug diese Differenz weniger als 10%, bei 23 Spendern lag sie zwischen 10% und 25% und bei 33 Spendern zwischen 25% und 50%. Bei 8% der Spender lag die Differenz zwischen der IgG Konzentration in prä- und postmortalen Blutproben über 50%.

Die IgG Konzentrationen in den postmortalen Blutproben war damit statistisch signifikant niedriger, verglichen mit den Werten der gepaarten prämortalen Proben ($p < 0,0001$, CI 1,18 – 2,24, t-Wert 6,46).

Allerdings waren von den 56 Spendern mit einer IgG Konzentration in den postmortalen Proben über dem unteren Referenzwert von 6 g/l bei 53 auch die Werte

der vergleichenden prämortalen Blutprobe über diesem Wert. Damit waren statistisch bei etwa jedem zweiten Spender die IgG Konzentration in der prä- und postmortalen Blutprobe im Normbereich.

3.5. Einflussfaktoren auf die Differenz der IgG Konzentrationen in prä- und postmortalen Blutproben

3.5.1. Postmortale Zeit der Blutprobe

Eine statistisch signifikante Differenz der postmortalen Zeit für die IgG Werte wurde nicht gefunden ($p = 0,143$, CI -1,1, 7.5, t-value = 1,48).

In den 56 postmortalen Proben mit einem normalen IgG Wert, also einem IgG Wert ≥ 6 g/l, betrug die mittlere postmortale Zeit 24,8 Stunden (SD $\pm 11,9$ Stunden, Median 23 Stunden, Spannweite 6 bis 58 Stunden). In den übrigen 44 postmortalen Blutproben mit einer IgG Konzentration unter 6 g/l lag die postmortale Zeit im Mittel bei 27,1 Stunden (SD $\pm 12,9$ Stunden, Median 24 Stunden, Spannweite 9 bis 64 Stunden).

Auch in der Gruppe der 29 Spender, bei denen eine zweite postmortale Blutprobe gewonnen wurde, konnte keine statistische Korrelation für die postmortale Zeit mit der IgG Konzentration gefunden werden. Bei 7 der 29 Spender betrug die Differenz des IgG Wertes der ersten und zweiten postmortalen Blutprobe weniger als 10%. Die zweite Probengewinnung erfolgte bei diesen 7 Spendern im Mittel nach 44,8 Stunden (SD $\pm 8,9$ Stunden). Bei den anderen 22 Spendern mit einer zweiten postmortalen Blutprobe betrug die Differenz des IgG Wertes der ersten und zweiten postmortalen Blutprobe mehr als 10%. Hier lag die postmortale Zeit der zweiten Probengewinnung bei 51,6 Stunden (SD $\pm 19,4$ Stunden).

3.5.2. Spenderalter

Für die Untersuchung eines Zusammenhanges zwischen Spenderalter und IgG Konzentration wurden die 100 Spender in 3 Gruppen eingeteilt: < 60 Jahre, zwischen 60 und 80 Jahre und > 80.

Bei 11 Spendern betrug das Lebensalter weniger als 60 Jahre. Der Mittelwert der IgG Konzentration in den prämortalen Blutproben lag bei 8,5 g/l (SD $\pm 2,9$ g/l), in den postmortalen Blutproben bei 5,8 g/l (SD $\pm 2,6$ g/l).

Bei 49 Spendern lag das Lebensalter zwischen 60 und 80 Jahren. Der Mittelwert der IgG Konzentration in den prä-mortalen Blutproben lag bei 8,5 g/l (SD \pm 3,7 g/l), in den post-mortalen Blutproben bei 7,0 g/l (SD \pm 3,3 g/l).

Bei 40 Spendern mit einem Lebensalter über 80 Jahren lag der Mittelwert der IgG Konzentration in den prä-mortalen Blutproben bei 9,4 g/l (SD \pm 3,9 g/l), in den post-mortalen Blutproben bei 7,8 g/l (SD \pm 3,2 g/l).

In allen Altersgruppen fand sich passend zu der Grundgesamtheit der 100 Spender ein statistisch signifikanter Unterschied für die IgG Konzentration in prä- und post-mortalen Blutproben mit einem p Wert von $< 0,0002$ bzw. $0,0007$ und $0,0001$.

3.5.3. Todesursache

Bei den 26 an respiratorischen Erkrankungen verstorbenen Patienten lag der Mittelwert der IgG Konzentration in den prä-mortalen Blutproben bei 9,2 g/l (SD \pm 3,5 g/l), in den post-mortalen Blutproben bei 8,0 g/l (SD \pm 3,4 g/l).

Bei den 14 an cerebralen Erkrankungen verstorbenen Patienten lag der Mittelwert der IgG Konzentration in den prä-mortalen Blutproben bei 8,5 g/l (SD \pm 3,6 g/l), in den post-mortalen Blutproben bei 7,1 g/l (SD \pm 3,4 g/l).

In der Gruppe der 25 Spender mit einer todesursächlichen bakteriellen Sepsis lag der Mittelwert der IgG Konzentration in den prä-mortalen Blutproben bei 8,3 g/l (SD \pm 3,6 g/l), in den post-mortalen Blutproben bei 5,9 g/l (SD \pm 2,8 g/l).

Bei allen diesen 3 Krankheitsgruppen war die Differenz zwischen den IgG Konzentrationen der prä- und post-mortalen Blutproben statistisch signifikant ($p = 0,005$, $p < 0,007$, $p < 0,0001$).

Bei den 12 Spendern mit einem führenden und damit todesursächlichen Multiorganversagen lag der Mittelwert der IgG Konzentration in den prä-mortalen Blutproben lag bei 11,7 g/l (SD \pm 5,2 g/l), in den post-mortalen Blutproben bei 8,2 g/l (SD \pm 3,1 g/l). Diese Gruppe war für eine valide statistische Signifikanzberechnung zu klein.

Nur in der Gruppe der 23 an kardio-zirkulatorischen Erkrankungen verstorbenen Patienten konnte keine statistisch signifikante Differenz der IgG Werte gefunden werden ($p > 0,3$). Hier war die IgG Konzentration in den prä-mortalen Blutproben im Mittel 7,9 g/l (SD \pm 2,7) und in den post-mortalen Blutproben 7,2 g/l (SD \pm 3,1 g/l).

3.5.4. Karzinomerkrankung

57 Spender hatten keine Karzinomerkrankung. Bei diesen Spendern war die mittlere IgG Konzentration der prämortalen Blutprobe 8,3 g/l (SD \pm 3,3 g/l), in der postmortalen Blutprobe 7,2 g/l (SD \pm 3,2).

43 Spender litten an einer Karzinomerkrankung. In dieser Gruppe war die mittlere IgG Konzentration der prämortalen Blutprobe 9,6 g/l (SD \pm 4,1 g/l), in der postmortalen Blutprobe 7,2 g/l (SD \pm 3,2). In beiden Gruppen war die Differenz der IgG Konzentrationen passend zu der Grundgesamtheit statistisch signifikant ($p < 0,0008$ bzw. $p < 0,0001$).

Von den 43 Spendern mit einer Karzinomerkrankung erhielten 9 in den letzten 3 Monaten vor ihrem Versterben eine Chemotherapie und wurden daher als immunsupprimiert eingestuft. Bei diesen Spendern war die mittlere IgG Konzentration der prämortalen Blutprobe 9,6 g/l (SD \pm 4,2 g/l), in der postmortalen Blutprobe 8,0 g/l (SD \pm 3,7). Bei dieser Gruppe fand sich weder eine niedrigere IgG Konzentration verglichen mit den Spendern ohne Karzinomerkrankung, noch war die Differenz der prä- und postmortalen Proben statistisch signifikant ($p < 0,022$).

3.5.5. Autoimmunerkrankung

6 Spender litten an einer klinisch relevanten und damit immunsuppressiv behandlungsbedürftigen Autoimmunerkrankung, die nicht todesursächlich war. Bei diesen Spendern lag die mittlere IgG Konzentration der prämortalen Blutproben bei 9,0 g/l (SD \pm 4,4 g/l), der postmortalen Blutproben bei 7,4 g/l (SD \pm 2,0 g/l). Die IgG Konzentration bei den anderen 94 Spendern ohne eine Autoimmunerkrankung war mit 8,9 g/l in den prämortalen Blutproben (SD \pm 3,7) und 7,2 g/l in den postmortalen Blutproben (SD \pm 3,3) nahezu identisch.

3.5.6. Hämolysegrad der Blutproben

In der Gruppe mit IgG Werten ≥ 6 g/l betrug der Wert der Hämolyse 1,9 bei denen mit IgG Konzentrationen unter 6 g/l 2,3. Der Unterschied war statistisch nicht signifikant.

3.5.7. Materialart der prämortalen Blutprobe

Bei den prämortalen Blutproben handelte es sich um Blutproben, die zu Lebzeiten des Patienten für Routinelabordiagnostik abgenommen und ins Labor geschickt wurden.

Diese Blutproben werden in der Regel bis zu 7 Tage im Labor für eventuell notwendige Nachuntersuchungen aufbewahrt. Damit waren als prämortale Blutproben nur EDTA- und Heparinplasma verfügbar, weil diese Materialien standardmäßig in den Spenderkrankenhäusern für die Diagnostik bei den Patienten verwendet werden.

Im Vergleich der Gruppen mit EDTA- bzw. Heparinplasma, in denen die prämortalen IgG Konzentrationen < 6 g/l und ≥ 6 g/l betragen, fand sich kein statistisch signifikanter Unterschied ($p = 0,128$, t-Wert = 1,5; $p = 0.632$, t-Wert = 0,5).

3.6. Zusammenfassung

Zusammenfassend fand sich eine signifikante Reduktion der IgG Konzentration in den postmortalen Blutproben. Ein Zusammenhang mit dem Zeitpunkt der Gewinnung der postmortalen Blutprobe, also der postmortalen Zeit, fand sich mit den durchgeführten statistischen Analysen nicht.

Wegen der fehlenden Korrelation der Reduktion der IgG Konzentration mit der postmortalen Zeit und der zum Teil geringen Größe der Untergruppen der verschiedenen Spendercharakteristika (Geschlecht, Alter, Todesursache, Karzinomerkrankung und Autoimmunerkrankung) war die Durchführung einer Multivarianzanalyse nicht sinnvoll.

Ein Einfluss der Materialart (EDTA oder Heparinplasma) auf den Wert der IgG Konzentration konnte nicht gefunden werden.

4. Diskussion und klinische Anwendungen

In allen untersuchten 200 Blutproben war die Bestimmung der IgG Konzentration gelungen. Während in 80% der prämortalen Blutproben die IgG Konzentration über dem Grenzwert von 6 g/l lag, war dies bei den korrespondierenden postmortalen Proben nur in 56% der Fall. Im Mittel lag die IgG Konzentration in den postmortalen Blutproben um 1,7 g/l, niedriger, entsprechend 16,3%. Auch wenn die IgG Konzentration in den postmortalen Blutproben geringer war, ergaben die statistischen Analysen keine Korrelation mit der postmortalen Zeit.

Für die Stabilität der Immunglobuline im Blut nach dem Tod sprachen bereits die Arbeiten von Edler et al. aus dem Jahre 2011. Hier wurden postmortale Blutproben Verstorbener mit einer HIV, Hepatitis B oder Hepatitis C Erkrankung mittels serologischer und NAT Testung wiederholt analysiert. Alle positiven Ergebnisse blieben in dieser Studie über eine postmortale Zeit von mindestens 48 Stunden nachweisbar [4].

Für die Abnahme der Gesamt IgG Konzentration in den postmortalen Blutproben ergab sich kein erkennbarer Einfluss der untersuchten Spendercharakteristika. Auch die Todesursache und das Vorliegen einer mutmaßlichen krankheitsbedingten bzw. medikamentösen Immunsuppression zeigten keinen sicheren negativen Effekt auf die IgG Konzentration. Aus den dargelegten Studienergebnissen kann man damit schlussfolgern, dass neben der postmortalen Zeit auch die Spendercharakteristika keinen alleinigen Rückschluss auf die Eignung einer postmortalen Blutprobe für infektionsserologische Testungen erlauben.

Frühere Arbeiten sahen in der Hämolyse, die in postmortalen Blutproben oft und ausgeprägt auftritt, den entscheidenden Qualitätsparameter. Wegen einer Zunahme des Hämolysegrades mit längerem postmortalen Zeitintervall wurden in diesen Arbeiten häufig die Empfehlung gegeben, die postmortale Zeit für die Probengewinnung auf 12 bis 24 Stunden zu begrenzen. Novick et al. beschrieb bereits 1996 eine Rate von positiven Testergebnissen von 25% bei den Proben mit einer postmortalen Zeit von weniger als 12 Stunden. War die postmortale Zeit über 36 Stunden stieg die Rate positiver Ergebnisse auf 54,5% [22]. Stanworth et al. fanden in einer retrospektiven Auswertung der infektionsserologischen Testung von 1833 Gewebespendern eine Zunahme positiver Befunde von 3,5 auf 14% in der Gruppe mit einer postmortalen Zeit über 24 Stunden [29]. Heim et al. führten vergleichende infektionsserologische Testungen in prä- und postmortalem Blut desselben Spenders

durch. Bei nur 16 von 33 Spendern waren die Ergebnisse übereinstimmend. Neben zahlreichen falsch positiven Befunden war in einem Fall in der postmortalen Probe das Anti-HCV falsch negativ. Auch in dieser Studie wurde in der schlechten Qualität der postmortalen Blutproben mit ausgeprägter Hämolyse eine mögliche Ursache für die schlechte Übereinstimmung der gepaarten Untersuchungsergebnisse gesehen [13]. In unserer Untersuchung konnte kein Einfluss des Hämolysegrades der Blutprobe, neben der postmortalen Zeit, auf die Gesamt IgG Konzentration gefunden werden. Es kann daher davon ausgegangen werden, dass andere Veränderungen im postmortalen Blut zu falschen Ergebnissen etablierter infektionsserologischer Testsysteme führen.

Vor dem Hintergrund der im Mittelpunkt stehenden Sicherheit des Empfängers eines Gewebetransplantates, haben neben den infektionsserologischen Testungen auch NAT Untersuchungen auf Infektionserreger eine zunehmende Bedeutung. In Deutschland ist bisher für Gewebespendern nur die NAT Testung auf Hepatitis C wegen des relativ großen diagnostischen Fensters bis zur Serokonversion und damit möglichem Anti-HCV Nachweises vorgeschrieben [2]. Bereits 2010 wurde von Pruß und Mitarbeitern auf die Bedeutung der NAT Testung von Gewebespendern hingewiesen [25]. In Kooperation mit dem Institut für Transfusionsmedizin und dessen Universitätsgewebekbank der Charité – Universitätsmedizin Berlin untersuchten Gubbe und Mitarbeiter die Eignung der NAT Technik zur Untersuchung auf HIV, HCV, HBV und HAV in postmortalen Blutproben. Hierfür wurden postmortale Blutproben von 32 Augenhornhautspendern, die serologisch und mittels NAT negativ auf HIV, Hepatitis A, B und C entsprechend einschlägiger Standards der Weltgesundheitsorganisation WHO gespickt und erneut mittels NAT getestet. Die Spezifität und Sensitivität der erfolgten Messungen lag bei 100%. Unterschiede bei den Ergebnissen der NAT Testungen und der internen Testkontrollen zeigten sich zwischen prä- und postmortalen Blutproben nicht. Die postmortalen Blutproben, die eine ausgeprägte Hämolyse zeigten bzw. deren Abnahmezeitpunkt über 24 Stunden lag, zeigten gleichwertige Ergebnisse. Ebenso konnte kein Unterschied zwischen Serum und Plasma als Testmaterial gefunden werden [12]. Ein wesentlicher Vorteil der NAT Testung ist das Mitführen einer Positivkontrolle in jedem Testansatz, im Sinne einer internen Testvalidierung. Im Gegensatz zu infektionsserologischen Untersuchungen können so bei jeder einzelnen Testung falsch negative Ergebnisse erkannt werden.

Aus den bisher veröffentlichten und hier dargestellten Arbeiten zur infektionsserologischen - und NAT Testung postmortalen Blutes von Gewebespendern lassen sich drei wesentliche Schlussfolgerungen ziehen:

1. Diese Testungen sind valide nach aktuellen Teststandards möglich.
2. Falsch positive Ergebnisse kommen wesentlich häufiger vor als falsch negative.
3. Ein sicherer Zusammenhang mit der postmortalen Zeit der getesteten Blutprobe lässt sich nicht feststellen.

Die Ergebnisse der hier vorgestellten eigenen Arbeit mit einem in allen Fällen nachweisbaren und in etwa 50% der Fälle normwertigen Gesamt IgG Konzentrationen in postmortalen Blutproben unterstützen alle diese drei Schlussfolgerungen.

4.1. Empfehlungen zur Neubewertungen postmortaler Blutproben

Der Europäischen Kommission sind die hohen Verluste an potentiellen Gewebespendern durch die Begrenzung des Zeitraums für die Gewinnung von postmortalen Blutproben auf 24 Stunden, die 2006 eingeführt wurde, in den letzten Jahren zunehmend bewusst. Es wurde daher 2019 eine Umfrage unter den europäischen Gewebebanken durchgeführt, um den Verlust an potentiellen Spendern zu quantifizieren [9]. Die Ergebnisse der Umfrage zeigten einen erheblichen Verlust an potenziellen Spendern, weil es nicht möglich war, bis zu 24 Stunden postmortal Blutproben zu entnehmen. Dies war bei 38 % der antwortenden Gewebeeinrichtungen der Fall, von denen 4 die Zahl der eingeschlossenen Spender hätten mehr als verdoppeln können, wenn Blutproben, die später als 24 Stunden postmortal entnommen wurden, hätten akzeptiert werden können.

Eine europäische Expertengruppe kam nach Beurteilung der Umfrageergebnisse und die neuesten wissenschaftlichen Erkenntnisse zu der Entscheidung, dass die derzeitigen europäischen Rechtsvorschriften überarbeitet werden sollten, um das Screening von Blutproben zu ermöglichen, die so bald wie möglich nach dem Tod, spätestens jedoch 48 Stunden nach dem Tod, entnommen werden [4, 20]. Nachstehend sind die wichtigsten Anforderungen der Expertenkommission aufgeführt, die dazu beitragen sollen, die Eignung und folglich die Akzeptanz von postmortal gewonnenen Blutproben zu gewährleisten (<https://www.gapp-ja.eu/publications>):

- a. Die Kühlung des Leichnams muss innerhalb von 12 Stunden nach dem Tod erfolgen.
- b. Das Blut sollte aus großen Blutgefäßen oder dem Herzen entnommen werden.
- c. Die Blutprobe muss so schnell wie möglich gekühlt werden.
- d. Die Blutprobe muss so schnell wie möglich zentrifugiert und separiert werden.
- e. Das Aussehen der Blutprobe vor und nach der Abtrennung muss visuell überprüft werden, um eine Hämolyse oder andere Merkmale festzustellen, die die Genauigkeit bzw. die Zuverlässigkeit der Testergebnisse beeinträchtigen könnten.
- f. Das abgetrennte Serum/ Plasma ist bei $+4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ zu lagern oder unter -20°C einzufrieren.
- g. Um die Eignung einer Probe festzustellen und vor allem das Risiko eines falsch-negativen Ergebnisses aufgrund einer Verschlechterung des Zielmoleküls zu minimieren, kann ein geeigneter Test in Betracht gezogen werden, der auf eine Verschlechterung der Probe hinweisen könnte, z. B. ein Test auf Gesamtimmunglobuline und/ oder Gesamtprotein. Wenn jedoch solche zusätzlichen Tests in Betracht gezogen werden, müssen ihre Grenzen klar bekannt sein und geeignete Ausgangswerte festgelegt werden, wozu auch die Einholung ähnlicher prämortaler Ergebnisse oder anderer relevanter Informationen gehört, die bei der Eignungsbewertung helfen könnten. Hinsichtlich dieser Aussage wurde auf die der Dissertationsschrift zugrundeliegende Veröffentlichung als wissenschaftliche Grundlage verwiesen [20].
- h. Die Eignung von postmortal entnommenen Proben für das molekulare Screening mittels NAT muss ebenfalls in Betracht gezogen werden. Die Einbeziehung einer internen Kontrolle in jeden einzelnen molekularen Screeningtest hilft, die Eignung der Proben sicherzustellen. Molekulare Screeningassays, die nicht bei jeder untersuchten Probe eine interne Kontrolle enthalten, dürfen nicht verwendet werden.

4.2. Vorschlag eines modifizierten Testalgorithmus

Hinsichtlich der Motivation dieser Studie, die Gewinnung von Gewebespenden nicht an der Begrenzung der postmortalen Zeit auf 24 Stunden scheitern zu lassen, käme, unter Berücksichtigung der oben ausgeführten Empfehlungen, folgendes Vorgehen für eine valide Testung auf Infektionen des Spenders mit HIV, Hepatitis B und C, sowie Syphilis in postmortalen Blutproben in der klinischen Routine mit dem aktuellen wissenschaftlichen Kenntnisstand in Frage:

Es erfolgt eine Bestimmung der Gesamt IgG Konzentration in der postmortalen Blutprobe. Ist dieser Wert oberhalb des unteren Grenzwertes von 6 g/l bzw. nur knapp darunter, wird die Probe als geeignet angesehen und für die infektionsserologische Testung verwendet. Ist die Gesamt IgG Konzentration deutlich unter dem unteren Grenzwert von 6 g/l wird die Probe als ungeeignet angesehen. Damit käme bei diesen Spendern eine Gewebespende nicht in Frage.

Die geeigneten postmortalen Proben werden einer für postmortale Blutproben validierten infektionsserologischen Testung unterzogen. Zusätzlich erfolgt eine NAT Untersuchung auf HIV, HBV und HCV Genom in der postmortalen Blutprobe. Zeigen sich hierbei positive Untersuchungsergebnisse, so kommt der Gewebespende nicht in Frage, auch wenn es sich im Vergleich zwischen serologischen und NAT Ergebnissen um falsch positive Befunde handeln könnte. Bedenkt man aber, dass z.B. bei einer HCV Infektion der Antikörper im Blut des infizierten nachweisbar sein könnte, die Virus RNA jedoch nicht, ist diese Entscheidung vor dem Hintergrund der maximalen Sicherheit für den Transplantatempfänger alternativlos. Sind serologische und NAT Befunde übereinstimmend negativ, ist eine Verwendung der Spendergewebe hinsichtlich der Sicherheit bzgl. einer übertragbaren Infektion möglich. Die eigene Abbildung 1 veranschaulicht den vorgeschlagenen Algorithmus in Form eines Flussdiagrammes. Wichtig für die hier vorgeschlagene Vorgehensweise ist die Verwendung von für postmortale Blutproben validierter Testsysteme. Das Paul-Ehrlich-Institut hat, als oberste Aufsichtsbehörde für Gewebezubereitungen, Empfehlungen für die Validierung solcher Tests veröffentlicht:

https://www.pei.de/SharedDocs/Downloads/DE/regulation/blut/spendertestung/pei-anforderungen-validierung-nat.pdf?__blob=publicationFile&v=4.

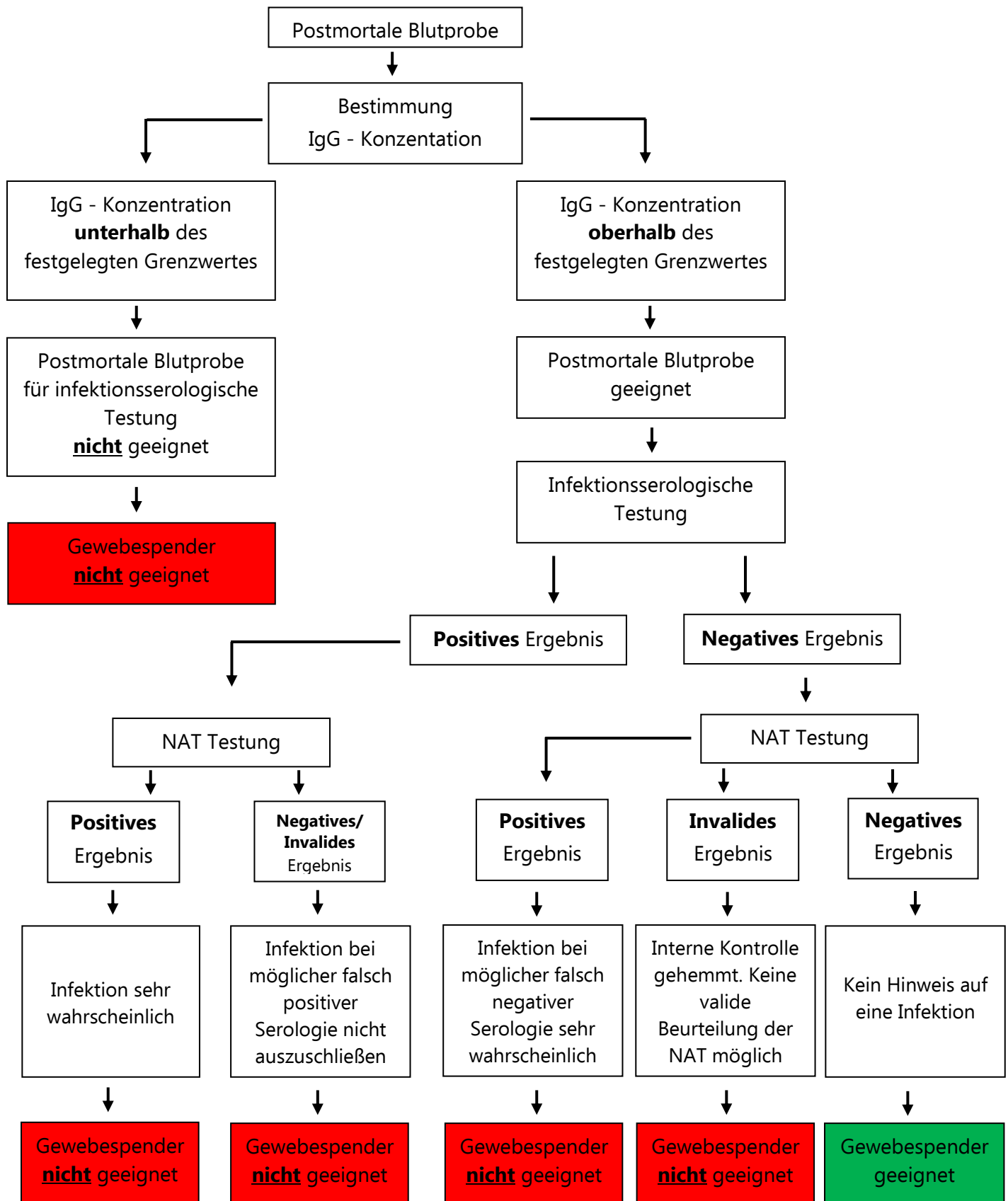


Abbildung 1: Testalgorithmus für die Diagnostik postmortaler Blutproben

Besonders für Spendergewebe, die einem viruswirksamen Inaktivierungsverfahren unterzogen werden, ist der hier vorgeschlagene Testalgorithmus unserer Einschätzung nach unkritisch. Pruß et al. veröffentlichten im Jahre 2001 eine Validierungsstudie, die eine effektive Inaktivierung verschiedener Viren mit einer Behandlung von Knochentransplantaten mit Peressigsäure und Ethanol zeigte. Die wesentlichen und klinisch relevanten biomechanischen Eigenschaften bleiben dabei erhalten, wie die Arbeit von Rauh et al. zeigte [27]. Auch für Augenhornhauttransplantate ist ein solches Vorgehen der Testung als sicher anzusehen, da Übertragungen von HIV, Hepatitis B und C sowie Syphilis aufgrund der Blut- und Lymphgefäßfreiheit des transplantierten Gewebes äußerst unwahrscheinlich sind. Hoft et al. beschrieben 1997 die wahrscheinliche Übertragung einer Hepatitis B Infektion von 2 Spendern auf 2 Empfänger [15]. Eine Transmission von HIV und HCV wurde in der Literatur nicht beschrieben. Schwarz et al. berichteten 1987 über die Transplantation zweier Augenhornhäute eines für HIV serologisch positiven Organ- und Gewebespenders. Beide Augenhornhauttransplantatempfänger blieben über den Nachbeobachtungszeitraum Anti-HIV negativ [28].

In Anbetracht der Tatsache, dass bei 56% der Spender die IgG Konzentration in der postmortalen Blutprobe über dem unteren Grenzwert von 6 g/l lag, erscheint es realistisch, dass mit einem solchen neuen Test- und Bewertungsalgorithmus nur noch die Hälfte der potentiellen Gewebespenders, die alleine wegen einer fehlenden Blutprobe ausgeschlossen werden müssen, zukünftig verloren wären. Damit wäre eine signifikante Steigerung an Gewebespendern denkbar, ohne damit die Sicherheit der Transplantatempfänger zu gefährden.

4.3. Limitationen der Arbeit und weiterführende Fragen

In dieser Arbeit wurde nur das Gesamt IgG als Parameter zur Bewertung der postmortalen Blutprobe untersucht. Auch wenn das Gesamt IgG zweifelsfrei als der wesentlichste Parameter für die Beurteilung der Eignung einer postmortalen Blutprobe für infektionsserologische Untersuchungen erscheint, ist es doch nur ein Teil der im Blut vorhandenen Proteine. Es ist daher sinnvoll, noch andere im Blutplasma bzw. -serum vorhandene Proteine zu analysieren und mit der IgG Konzentration und der postmortalen Zeit zu korrelieren. Dies könnte initial über die Bestimmung des Gesamteiweißes geschehen und weiter zu einer systematischen Analyse der einzelnen Proteingruppen mittels Elektrophorese führen.

Im Sinne einer Methodenvalidierung sollte im Rahmen einer weiteren Untersuchung ein Spiking postmortaler Blutproben mit verschiedenen bekannten Immunglobulinkonzentrationen erfolgen. Damit können inhibierende Einflüsse der Blutprobe auf die Messung der IgG Konzentration untersucht werden.

Außerdem erscheint es sinnvoll, prä- und postmortale Blutproben hinsichtlich spezifischer Immunglobuline vergleichend zu untersuchen. Aufgrund einer hohen Durchseuchung mit bestimmten humanpathogenen Viren, wie z.B. Herpes simplex Virus, Epstein- Barr Virus und verschiedenen Adenoviren, ergeben sich hier mehrere Testoptionen.

5. Fazit

Bereits zum jetzigen Zeitpunkt kommt man mit der alleinigen Bestimmung des Gesamt IgG Konzentration dem Ziel einer validen Qualifizierung postmortaler Blutproben entscheidend näher.

6. Literaturverzeichnis

1. Bundesgesetzblatt. Gesetz über die Spende, Entnahme und Übertragung von Organen und Geweben (Transplantationsgesetz - TPG). Fassung vom 19.Oktober 2012; BGBl; 2012: 192.
2. Bundesgesetzblatt. Verordnung über die Anforderungen an Qualität und Sicherheit der Entnahme von Geweben und deren Übertragung nach dem Transplantationsgesetz (TPG-Gewebeverordnung - TPG-GewV). Fassung vom 26.März 2008; BGBl; 1998: 512.
3. Dunseth C, Ford B, Krasowski M. Traditional versus reverse syphilis algorithms: A comparison at a large academic medical center. *Practical Laboratory Medicine* 8 (2017) 52–59.
4. Edler C, Wulff B, Schröder AS, Wilkemeyer I, Polywka S, Meyer T, Kalus U, Pruss A. A prospective time-course study on serological testing for human immunodeficiency virus, hepatitis B virus and hepatitis C virus with blood samples taken up to 48 h after death. *Med Microbiol* 2011; 60: 920-6.
5. European Union: Commission Directive 2006/17/EC of 8 February 2006 implementing Directive 2004/23/EC of the European Parliament and of the Council as regards certain technical requirements for the donation, procurement and testing of human tissues and cells. *Official Journal of the European Union*, 9.2.2006; 38: 40-52.
6. European Union: Commission Directive 2006/86/EC of 24 October 2006 implementing Directive 2004/23/EC of the European Parliament and of the Council as regards traceability requirements, notification of serious adverse reactions and events and certain technical requirements for the coding, processing, preservation, storage and distribution of human tissues and cells. *Official Journal of the European Union*, 25.10.2006; 294: 32-50.
7. European Union: Directive 2004/23/EC of the European Parliament and of the Council of 31 March 2004 on setting standards of quality and safety for the donation, procurement, testing, processing, preservation, storage and distribution of human tissues and cells. *Official Journal of the European Union*, 7.4.2004; 102: 48-58.
8. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare of the Council of Europe (EDQM). Donor testing: Markers for infectious diseases: Guide to

the quality and safety of tissues and cells for human application. Strasbourg: Council of Europe; 2022. p. 91–100.

9. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare of the Council of Europe (EDQM). Understanding post-mortem blood testing practices for tissue donation. PA/PH/TO (22) 1 Work Package 8 / GA 2018 53 01: https://www.edqm.eu/documents/52006/327142/Understanding+post-mortem+blood+testing+practices+for+tissue+donation+-+Complementary+information_received+in+the+survey.pdf/d57462f8-fb47-d065-bb9c-1b2bd4536864?t=1647261211095
10. Flockerzi E , Maier P, Böhringer D, Reinshagen H, Kruse F, Cursiefen C , Reinhard R, Geerling G, Torun N, Seitz B. Trends in Corneal Transplantation from 2001 to 2016 in Germany: A Report of the DOG-Section Cornea and its Keratoplasty Registry. *Am J Ophthalmol.* 2018 Apr; 188: 91-98.
11. Gain P, Jullienne R, He Z, Aldossary M, Acquart S, Cognasse F, Thuret G. Global Survey of Corneal Transplantation and Eye Banking. *JAMA Ophthalmol.* 2016 Feb; 134(2): 167-73.
12. Gubbe K, Scharnagl Y, Grosch S, Tonn T, Schmidt M, Hourfar KM, Karl A, Seifried E, Wilkemeyer I, Kalus U. Validation of Virus NAT for HIV, HCV, HBV and HAV. *Transfus Med Hemother* 2012; 39: 381–5.
13. Heim A, Wagner D, Rothämel T, Hartmann U, Flik J, Verhagen W. Evaluation of serological screening of cadaveric sera for donor selection for cornea transplantation. *J Med Virol* 1999; 58: 291-5.
14. Hinsenkamp L, Muylle T, Eastlund D, Fehily L, Noël D, Strong M. Adverse reactions and events related to musculoskeletal allografts: reviewed by the World Health Organisation Project NOTIFY. *International Orthopaedics* 2012; 36: 633-41.
15. Hoft RH, Pflugfelder SC, Forster RK, Ullman S, Polack FM, Schiff ER. Clinical evidence for hepatitis B transmission resulting from corneal transplantation. *Cornea* 1997; 16: 132-7.
16. Humphreys C, Maru K, Yeung S, Rocha G, Chan C. Canadian demand and access to corneal transplantation: a provincial comparison. *Cell Tissue Bank.* 2021 Nov; 12: 1–9.

17. Kainer MA, Linden JV, Whaley DN, Holmes HT, Jarvis WR, Jernigan DB, Archibald LK. Clostridium infections associated with musculoskeletal-tissue allografts. *N Engl J Med* 2004; 350: 2564-71.
18. Kalus U, Wilkemeyer I, Caspari G, Schroeter J, Pruss A. Validation of the Serological Testing for Anti-HIV-1/2, Anti-HCV, HBsAg, and Anti-HBc from Post-mortem Blood on the Siemens-BEP-III Automatic System. *Transfus Med Hemother* 2011; 38: 365-72.
19. Kalus U, Wilkemeyer I, Pruss A, Caspari G. Validation of Serological Testing for Anti-Treponema pallidum from Postmortem Blood on the Siemens-BEP-III Automatic. *Transfus Med Hemother* 2013; 40(6):403-8.
20. Larscheid G, Schulz T, Herbst H, Trögel T, Eulert S, Pruß A, Schroeter J. Comparison of Total Immunoglobulin G in Ante- and Postmortem Blood Samples from Tissue Donors. *Transfus Med Hemother* 2021;48:32-38.
21. Makvandi M. Update on occult hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol.* 2016 Oct; 22(39): 8720–34.
22. Novick SL, Schragar JA, Nelson JA, Anderson ME, Baskin BL. Comparison of two hepatitis B surface antigen and two HIV-1 (p24) antigen enzyme immunoassay kits using hemolyzed cadaveric blood specimens. *Transplant Proc* 1996; 28: 2925-6.
23. Popovic M, Sarngadharan MG, Read E, Gallo RC. Detection, isolation, and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLVIII) from patients with AIDS and pre-AIDS. *Science.* 1984 May; 224(4648): 497–500.
24. Pruss A, Chandrasekar A, Sánchez-Ibáñez J, Lucas-Samuel S, Kalus U, Rabenau H. Algorithms for the Testing of Tissue Donors for Human Immunodeficiency Virus, Hepatitis B Virus, and Hepatitis C Virus. *Transfus Med Hemother* 2021;48:12–21.
25. Pruss A, Caspari G, Krüger DH, Blümel J, Nübling CM, Gürtler L, Gerlich WH. Tissue donation and virus safety: more nucleic acid amplification testing is needed. *Transpl Infect Dis* 2010; 12: 375-86.
26. Pruss A, Hansen A, Kao M, Gürtler L, Pauli G, Benedix F, von Versen R. Comparison of the efficacy of virus inactivation methods in allogeneic avital bone tissue transplants. *Cell Tissue Bank.* 2001; 2(4): 201-15.
27. Rauh J, Despang F, Baas J, Liebers C, Pruss A, Gelinsky M, Günther KP, Stiehler M. Comparative biomechanical and microstructural analysis of native

- versus peracetic acid-ethanol treated cancellous bone graft. *Biomed Res Int.* 2014; 784-702.
28. Schwarz, A, Hoffman F, L'age-Stehr J, Tegzess AM, Offermann G. Human immunodeficiency virus transmission by organ donation: Outcome in cornea and kidney recipients. *Transplantation* 1987; 44: 21-4.
29. Stanworth SJ, Warwick RM, Ferguson M, Barbara JA. A UK survey of virological testing of cadaver tissue donors. Microbiology Working Group of the NIBSC steering group on Tissue/Cell Banking and Engineering. *Vox Sang* 2000; 79(4): 227-30.
30. Tugwell BD, Patel PR, Williams IT, Hedberg K, Chai F, Nainan OV, Thomas AR, Woll JE, Bell BP, Cieslak PR. Transmission of hepatitis C virus to several organ and tissue recipients from an antibody-negative donor. *Ann Intern Med* 2005; 143: 648-54.
31. US Food and Drug Administration. Guidance for industry: Eligibility determination for donors of human cells, tissues, and cellular and tissue-based products (HCT/Ps) – Appendix 2. 2007; 2019 Mar 21.
www.fda.gov/downloads/biologicsbloodvaccines/guidancecomplianceregulatory-information/guidances/tissue/ucm091345.pdf
32. Wilkemeyer I, Pruss A, Kalus U, Schroeter J. Comparative infectious serology testing of pre- and post-mortem blood samples from cornea donors. *Cell Tissue Bank* 2012;13: 447-52.

V. Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Gudrun Larscheid, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Qualifizierung von postmortalen Blutproben/ Qualification of post-mortem Blood Samples“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe. Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

VI. Anteilserklärung an der erfolgten Publikation

Zur Vorbereitung auf das Thema führte die Doktorandin Gudrun Larscheid eine umfassende Literaturrecherche zum Thema Testung postmortalen Blutproben bei Gewebespendern zur Erhebung des aktuellen Forschungsstandes durch. Die wesentlichen Erkenntnisse wurden ausführlich mit Herrn Prof. Dr. med. Axel Pruß und Dr. med. Jan Schroeter besprochen.

Anschließend erstellte die Doktorandin die Konzeption der Studie in enger Abstimmung mit Herrn Prof. Dr. med. Axel Pruß und Dr. med. Jan Schroeter.

An der Publikation "Comparison of Total Immunoglobulin G in Ante- and Postmortem Blood Samples from Tissue Donors" (Transfusion Medicine and Haemotherapy, 2021;48:48-59) hatte die Doktorandin folgende Anteile:

Die Gewinnung der Gewebespenden dieser Studie erfolgte vollumfänglich durch die Doktorandin selbst. Die postmortalen Blutabnahmen und die Aufbereitung der Blutproben sowie die Beauftragung der IgG Messungen erfolgte überwiegend durch die Doktorandin, neben Frau T. Trögel und Herrn Dr. rer. nat. T. Schulz. Die Erhebung aller Primärdaten der Gewebespenden durch Einsicht in die medizinischen Unterlagen und durch eine standardisierte Befragung der behandelnden Ärztinnen und Ärzte erfolgte vollumfänglich durch die Doktorandin. Die Zusammenstellung der Befundberichte der IgG Messwerte des Labors erfolgte größtenteils durch die Doktorandin zusammen mit Herrn Dr. rer. nat. T. Schulz. Die Doktorandin erfasste sämtliche Daten, die Grundlage dieser Publikation waren, in Excel Tabellen. Sie führte alle Berechnungen der deskriptiven Statistik selbstständig durch und erstellte mit den Ergebnissen die Tabellen 1 und 2 der o.g. Publikation.

Die Doktorandin erstellte das Manuskript, das in Diskussion zunächst mit Dr. med. J. Schroeter und anschließend in Abstimmung mit allen Koautoren überarbeitet wurde.

Die Kommunikation mit dem Journal und den Reviewern erfolgte durch die Doktorandin. Die Überarbeitung des eingereichten Manuskriptes erfolgte durch die Doktorandin in Abstimmung mit allen Mitautoren.

Unterschrift, Datum und Stempel des erstbetreuenden Hochschullehrers

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

VII. Auszug aus der Journal Summary List

Journal Data Filtered By: **Selected JCR Year: 2019** Selected Editions: SCIE,SSCI
 Selected Categories: **"HEMATOLOGY"** Selected Category Scheme: WoS
Gesamtanzahl: 63 Journale

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
1	BLOOD	165,117	17.543	0.205320
2	CIRCULATION RESEARCH	51,539	14.467	0.071470
3	Journal of Hematology & Oncology	6,732	11.059	0.015550
4	Lancet Haematology	2,446	10.406	0.011070
5	LEUKEMIA	25,819	8.665	0.048640
6	Blood Cancer Journal	2,800	8.023	0.010400
7	HAEMATOLOGICA	17,314	7.116	0.034660
8	AMERICAN JOURNAL OF HEMATOLOGY	10,629	6.973	0.023080
9	ARTERIOSCLEROSIS THROMBOSIS AND VASCULAR BIOLOGY	32,385	6.604	0.032080
10	STEM CELLS	20,554	6.022	0.024110
11	CRITICAL REVIEWS IN ONCOLOGY HEMATOLOGY	8,477	5.833	0.014250
12	BLOOD REVIEWS	3,040	5.823	0.005280
13	JOURNAL OF CEREBRAL BLOOD FLOW AND METABOLISM	19,492	5.681	0.024230
14	BRITISH JOURNAL OF HAEMATOLOGY	23,759	5.518	0.033130
15	BONE MARROW TRANSPLANTATION	13,085	4.725	0.015830
16	Blood Advances	3,312	4.584	0.015930
17	SEMINARS IN HEMATOLOGY	2,234	4.379	0.003270
17	THROMBOSIS AND HAEMOSTASIS	15,589	4.379	0.020570
19	CYTOTHERAPY	6,557	4.218	0.008100
20	JOURNAL OF THROMBOSIS AND HAEMOSTASIS	17,598	4.157	0.025190

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
21	BIOLOGY OF BLOOD AND MARROW TRANSPLANTATION	12,667	3.853	0.023760
22	JOURNAL OF LEUKOCYTE BIOLOGY	16,995	3.757	0.017010
23	Blood Transfusion	1,905	3.662	0.003730
24	Experimental Hematology & Oncology	633	3.492	0.001420
25	Therapeutic Advances in Hematology	679	3.456	0.001500
26	PLATELETS	3,276	3.378	0.005580
27	TRANSFUSION MEDICINE REVIEWS	1,409	3.328	0.002980
28	HEMATOLOGY-ONCOLOGY CLINICS OF NORTH AMERICA	2,581	3.107	0.004920
29	CURRENT OPINION IN HEMATOLOGY	2,701	3.097	0.004850
30	STEM CELLS AND DEVELOPMENT	7,874	3.082	0.010280
31	Hematology-American Society of Hematology Education Program	2,981	3.000	0.006680
32	HAEMOPHILIA	5,450	2.990	0.006390
33	LEUKEMIA & LYMPHOMA	8,640	2.969	0.013770
34	SHOCK	7,919	2.960	0.010370
35	ANNALS OF HEMATOLOGY	5,734	2.904	0.010750
36	SEMINARS IN THROMBOSIS AND HEMOSTASIS	4,074	2.892	0.005260
37	THROMBOSIS RESEARCH	10,616	2.869	0.017410
38	HEMATOLOGICAL ONCOLOGY	1,372	2.832	0.003500
39	EXPERIMENTAL HEMATOLOGY	5,153	2.820	0.005650
40	TRANSFUSION	13,708	2.800	0.020860
41	BEST PRACTICE & RESEARCH CLINICAL HAEMATOLOGY	1,342	2.792	0.001600

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
42	Expert Review of Hematology	1,459	2.573	0.004060
43	Current Hematologic Malignancy Reports	899	2.531	0.002580
44	BLOOD CELLS MOLECULES AND DISEASES	3,020	2.460	0.003180
45	PEDIATRIC BLOOD & CANCER	11,805	2.355	0.023440
46	VOX SANGUINIS	3,368	2.347	0.005020
47	Clinical Lymphoma Myeloma & Leukemia	2,374	2.298	0.005580
48	Thrombosis Journal	773	2.295	0.001890
49	INTERNATIONAL JOURNAL OF HEMATOLOGY	4,046	2.245	0.006200
50	EUROPEAN JOURNAL OF HAEMATOLOGY	4,515	2.220	0.006720
51	LEUKEMIA RESEARCH	5,918	2.214	0.006910
52	TRANSFUSION MEDICINE	1,433	2.159	0.002390
53	International Journal of Laboratory Hematology	1,844	2.141	0.003750
54	BLOOD PURIFICATION	2,062	2.116	0.003080
55	MICROCIRCULATION	2,462	2.110	0.002700
56	JOURNAL OF THROMBOSIS AND THROMBOLYSIS	2,794	2.054	0.005740
57	TRANSFUSION MEDICINE AND HEMOTHERAPY	1,223	1.937	0.002610
58	CLINICAL HEMORHEOLOGY AND MICROCIRCULATION	2,147	1.741	0.002180
59	Turkish Journal of Hematology	452	1.685	0.000690
60	Hematology	1,373	1.650	0.002050
61	JOURNAL OF CLINICAL APHERESIS	1,365	1.629	0.001670

VIII. Publikation

G. Larscheid, T. Schulz, H. Herbst, T. Trögel, S. Eulert, A. Pruß, J.Schroeter.
Comparison of Total Immunoglobulin G in Ante- and Postmortal Blood Samples from
Tissue Donors, *Transfusion Medicine and Hemotherapy* 2021;48(1): page 32-38.
<https://doi.org/10.1159/000513662>

IX. Lebenslauf

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

X. Publikationsliste

G. Larscheid, T. Schulz, H. Herbst, T. Trögel, S. Eulert, A. Pruß, J.Schroeter.
Comparison of Total Immunoglobulin G in Ante- and Postmortal Blood Samples from
Tissue Donors, Transfusion Medicine and Hemotherapy 2021;48(1): page 32-38.

G. Larscheid, A. Pruß, J. Schroeter, H. Herbst, Erfolgreich: Gewebekbanken und
Pathologie koordinieren gemeinsam. Patho, Mitgliedermagazin des BDP, 2/2016,
page 8-9.

XI. Danksagung

Ich danke meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Axel Pruß, Institutsdirektor (komm.), Institut für Transfusionsmedizin, Charité - Universitätsmedizin Berlin, sehr herzlich für die freundliche Überlassung des Themas. Seine hervorragende Betreuung, die unermüdliche fachliche und menschliche Unterstützung und die professionellen Ratschläge in allen Phasen der Arbeit waren für mich außerordentlich hilfreich.

Ein besonderer Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. med. Hermann Herbst, meinem Vorgesetzten und Ärztlichen Direktor des Fachbereiches für Pathologie/Vivantes, Netzwerk für Gesundheit GmbH, der mich bei der Erstellung der Arbeit bestärkt hat und mich immer wieder zur Promotion ermutigte. Durch seinen Einfluss habe ich angefangen, mich auch wissenschaftlich mit dem Thema Gewebespende zu beschäftigen.

Allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Universitätsgewebebank der Charité – Universitätsmedizin Berlin, insbesondere Herrn OA Dr. med. Jan Schroeter, danke ich für die Hilfe bei der praktischen Umsetzung zur Gewinnung von Ergebnissen, der kritischen Diskussion und den erfahrenden Lösungsvorschlägen bei Problemen.

Allen Menschen, die ich jetzt nicht aufgeführt habe, danke ich ebenfalls für die guten Wünsche, Beistand bei schwierigen Momenten, emotionale Unterstützung und Geduld.