

# **1 Aufgabenstellung**

Die Einrichtung eines Qualitätsmanagementsystems (QM-System) für die Anwendung von Blutprodukten nach dem neusten Stand der medizinischen Wissenschaft und Technik wurde erst im Jahre 1998 mit einer Übergangsfrist bis zum Juli 2000 durch das Transfusionsgesetz in Deutschland vorgeschrieben. Die Hauptaufgabe in der vorliegenden Arbeit bestand bereits im Jahre 1995 darin, lange bevor der Gesetzgeber Qualitätsmaßnahmen vorgab, freiwillig die höchstmögliche Qualität aller hergestellten Blutprodukte auf wissenschaftlicher Basis zu optimieren und das Institut für Transfusionsmedizin der Charité auf eine internationale Akkreditierung durch das College of American Pathologists (CAP) vorzubereiten. Dies ist eine notwendige Voraussetzung für eine klinisch relevante Kooperation auf internationaler Ebene. Die Akkreditierung erforderte die Etablierung eines QM-Systems, wie es in den USA bereits seit 30 Jahren besteht, unter Berücksichtigung der nationalen Bestimmungen und Regelungen für die Blutgruppenbestimmung und Bluttransfusion. Am 14.02.1997 wurde das Institut für Transfusionsmedizin vom CAP akkreditiert und im Jahr 2003 ist die Akkreditierung nach der Fusion auch auf das Virchow Klinikum erweitert worden. Außer dem Institut für Transfusionsmedizin der Charité sind bisher keine weiteren transfusionsmedizinischen Einrichtungen in Deutschland international akkreditiert.

## **1.1 Einleitung**

Die heute praktizierte Transfusionsmedizin ist das Resultat einer langwierigen Entwicklung von fast 400 Jahren (Greenwalt 1997). Es ist in Wirklichkeit unbekannt, wer als erster mit Transfusionsversuchen begonnen hat. Es existieren Hinweise, dass möglicherweise ein Arzt namens Libavius in Halle 1615 als erster eine erfolgreiche humane Transfusion von einem jungen zu einem alten Mann durchgeführt hat (Scheel 1802). Die meist zitierte humane Transfusion fand am 15. Juni 1666 statt. Es wurde eine direkte Übertragung von Lammblood auf den Menschen durchgeführt. Wegen des tödlichen Ausgangs wurde mit einem Anwendungsstopp auf diesem Gebiet für die folgenden 150 Jahre reagiert. Die erste dokumentierte allogene humane Transfusion wurde am 26. September im Jahre 1818 vorgenommen (Blundell 1818). Das Auftreten fataler hämolytischer Transfusionsreaktionen bei diesen Versuchen paralyisierte erneut die weitere Entwicklung der Transfusionsmedizin über das gesamte 19. Jahrhundert. Das 20. Jahrhundert begann dagegen mit der bisher revolutionärsten Entdeckung auf dem Gebiet der Transfusionsmedizin und

Immunhämatologie. Die Entdeckung der Blutgruppen A, B und „C“ bzw. 0 von Landsteiner im Jahre 1900 war die Basis für die weitere Entwicklung der Transfusionsmedizin (Landsteiner 1900). Für diese Entdeckung erhielt er 1930 den Nobelpreis. Die weiteren wesentlichen Entdeckungen folgten im Jahre 1905 durch die direkte Bluttransfusion über eine arteriovenöse Anastomose und im Jahr 1907 durch die Einführung der serologischen Verträglichkeitsprobe (Kreuzprobe). Der Weg zur Blutkonservierung wurde durch den Einsatz von Natriumcitrat im 1. und 2. Weltkrieg zur Verwendung des entnommenen Blutes über einige Tage, die Einführung des ersten Stabilisators ACD (acid-citrate-dextrose) im Jahr 1943 und die Verwendung von Blutbeuteln in den 50' er Jahren geebnet. Zuvor waren Glasflaschen verwendet worden. Das ursprünglich angewandte Natriumcitrat wurde später durch eine Mischung von Natriumcitrat und Zitronensäure ersetzt. Citrat ist bis heute das weltweit am meisten verwendete Antikoagulanzen. Für die Aufrechterhaltung des Energiestoffwechsels von Erythrozyten und Thrombozyten ist Glukose notwendig. Bei der Suche nach einer Möglichkeit, die Karamellisierung der Glukose in der Glukosecitrat-Lösung zu unterbinden, wurde die Lösung mit Zitronensäure angesäuert. Damit konnte auch die Lagerung von Erythrozyten von 14 bis auf 21 Tage verlängert werden. Die spätere Zugabe von Natriumphosphat führte zur Verminderung der durch den niedrigen pH-Wert an den Erythrozyten verursachten Schäden. Durch den Zusatz von Adenin konnte die Lagerung der Erythrozyten bis zu 35 Tagen verlängert werden. Eine längere Verwertbarkeit der Erythrozyten wurde schließlich durch die Anwendung von Additivlösungen, z.B. Mannitol oder Adsol, erreicht. Alle diese Schritte waren Voraussetzungen für eine optimale Blutfraktionierung und der jetzigen modernen Blutkomponententherapie (Greenwalt 1997). Leider führte die skandalöse Übertragung von HIV durch Blutkomponenten zum Tod von circa 3000 Patienten allein in Deutschland, vor allem mit angeborener Hämophilie. Dies führte zur Novellierung des Arzneimittelgesetzes (AMG) im Jahre 1994 (Arzneimittelgesetz 1998). Das Arzneimittelgesetz hat den primären Zweck, für eine optimale Arzneimittelsicherheit zu sorgen. Es enthält Vorschriften, die verhüten sollen, bedenkliche oder verfälschte Arzneimittel in Verkehr zu bringen, sowie Gefahren für die Arzneimittelsicherheit entstehen zu lassen. Wesentliche Vorschriften für die Sicherheit der Arzneimittel sind in der Betriebsverordnung für pharmazeutische Unternehmer enthalten (Betriebsverordnung für pharmazeutische Unternehmer 1995). Diese regeln die ordnungsgemäße Herstellung von Arzneimitteln und die Sicherung ihrer Qualität unter **GMP** (= Good – Manufacturing – Practice)-Bedingungen (Richtlinien für eine gute Herstellungspraxis in medizinischen Laboratorien 1996).

Die ursprünglichen von der Weltgesundheitsorganisation herausgegebenen GMP-Regeln sind von der Europäischen Gemeinschaft und der Pharmaceutical Inspections Convention (PIC) fortgeschrieben und harmonisiert worden (Jansen 1997). Diese enthalten in der Regel nur allgemeine Forderungen an das Qualitätssicherungssystem: das Personal, die Einrichtung der Räume, die Hygiene, die Herstellung und Prüfung der Ausgangsmaterialien und Arzneimittel. Da nicht alle Besonderheiten der verschiedenen Produkte in diesen Regeln berücksichtigt werden können, sind zusätzlich spezifische Richtlinien für Blutprodukte herausgegeben worden. Der Europäische Rat hat 1989 eine spezielle Richtlinie 89/381/EWG mit besonderen Vorschriften für Arzneimittel aus menschlichem Blut beschlossen. Darin wird ausdrücklich auf die Vorschriften des Europäischen Arzneimittelbuches und auf die Empfehlungen des Europarates und der WHO hingewiesen.

Somit bestehen für die Herstellung von Blutkomponenten dieselben Regelwerke wie für andere Arzneimittel. Zusätzlich ist die Herstellung und Anwendung von Blut durch das Transfusionsgesetz (TG) seit dem Jahre 1998 geregelt (Transfusionsgesetz 1998).

Obwohl die Qualitätssicherung das primäre Ziel aller Bluttransfusionszentralen ist, waren bis dahin auf diesem Gebiet in Deutschland praktisch keine Verpflichtungen festgelegt. Die Begriffe Qualität, Qualitätsmanagement (QM) und Qualitätssicherung (QS) sind militärischen Ursprungs im englischen Sprachraum und fanden erst in den letzten Jahren eine zunehmende Beachtung in Deutschland (Haeckel 1998).

In besonderem Maße ist das Labor Akkreditierungsprogramm (LAP) des College of American Pathologists (CAP) geeignet, diese Aufgabe zu erfüllen, da sich CAP seit Jahrzehnten um diese Aufgabe bereits verdient gemacht hat und in Zusammenarbeit mit der American Association of Blood Banks ein spezielles Programm für die Transfusionsmedizin entwickelt hat (College of American Pathologists 1993). Gerade die Zusammenarbeit mit dieser renommierten Fachgesellschaft hat die Kompetenz für Herstellung und Kontrolle von Blutprodukten entscheidend beeinflusst. Außerdem müssen die Inspektoren des Akkreditierungsprogramms selbst in einem akkreditierten Labor arbeiten. So wird sichergestellt, dass sie mit der Materie absolut vertraut sind. Das LAP stellt auch für die Transfusionsmedizin eine detaillierte, fachspezifische Checkliste zur Überprüfung aller relevanten Maßnahmen zur Sicherstellung der Prozess- und Ergebnisqualität zur Verfügung. Damit können alle Teilprozesse von der Probengewinnung über die Tests im Institut bis hin zur Lagerung von Blutkonserven in den perfektionierten Prüfprozess aufgenommen und damit kontinuierlich überwacht werden. Die erfolgreiche Akkreditierung bestätigt einem Prüflabor die Kompetenz, bestimmte Prüfungen oder Konformitätsbewertungen fachgerecht und zuverlässig durchzuführen.

## 1.2 Definitionen von Begriffen

Qualität wird als Gesamtheit von Eigenschaften und Merkmalen eines Produktes oder einer Tätigkeit definiert, um festgelegte und vorgegebene Bedingungen zu erfüllen (Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz (ZLG) bei Arzneimitteln und Medizinprodukten 2004).

Die Normenreihe **ISO 9000** wird seit 1987 von der „International Organization for Standardization“ (ISO) erarbeitet und aktualisiert. Sie regelt die Einführung, Erhaltung und laufende Überprüfung von innerbetrieblichen Qualitätsmanagementsystemen. Der Grundsatz dieser Normenreihe besteht darin, dass Qualität nicht erprüft werden kann, sondern produziert werden muss. Im gesamten Prozess der Herstellung eines Produktes oder der Erbringung einer Dienstleistung soll Fehlerfreiheit bestehen. Die **ISO 9000** wurde von der Europäischen Normungsorganisation übernommen und überarbeitet (**DIN EN ISO 9000 : 2000**).

Für die Schaffung des EG-Binnenmarktes wurden die Normen der Reihe **DIN EN 45 000** entwickelt. Diese Normen sollen dazu beitragen, Vertrauen in die gegenseitige Anerkennung der Arbeitsergebnisse von Laboratorien, Akkreditierungs- und Zertifizierungsstellen zu bilden. Die Normen dieser Reihen und das Prinzip der „**Guten Labor Praxis**“ (**GLP**) sind die Basis für die Akkreditierung eines Laboratoriums.

Die **Akkreditierung** ist eine vertrauensbildende Maßnahme und bestätigt dem Labor, bestimmte Verfahren und Tätigkeiten auf der Basis eines Qualitätsmanagementsystems kompetent durchzuführen, um Fehler zu finden und Produkte zu verbessern (ZLG 2004). Unter **Qualitätssicherung** ist die Gesamtheit aller Maßnahmen zu verstehen, die zur Optimierung der Aussagekraft diagnostischer Leistungen führen. In allen Arbeitsschritten des Untersuchungsganges, von der Gewinnung des Untersuchungsmaterials bis zur Interpretation des Befundes, soll ein möglichst hoher Grad an Zuverlässigkeit und Genauigkeit erzielt werden.

**Qualitätsmanagement** (QM) ist ein Organisationssystem, das sicherstellen soll, dass Güter, Dienstleistungen und Prozesse den Anforderungen entsprechend abgearbeitet werden (ZLG 2004). Qualitätsmanagement dient zur Schaffung von Vertrauen in die eigenen Produkte und soll dem Management (Führungskräften, Leitern, Betreuern) ermöglichen, den aktuellen **Ist-** in einen erwünschten **Soll-Zustand** zu überführen. Qualitätsmanagementsysteme dienen auch der kontinuierlichen Verbesserung der Produkte, der Verfahren und Abläufe in Unternehmen. Sie ermöglichen Fehler zu finden und können so zur Kostensenkung beitragen.

Die Akkreditierung ist die Bestätigung durch externe Prüfer, dass eine Einrichtung über ein Qualitätssicherungssystem verfügt und dass alle Herstellungs- und Prüfprozesse auf kompetente Weise überwacht sind.

Die Aufgaben eines Qualitätsmanagementsystems sind somit im medizinischen Laborbereich die Erzielung von korrekten und reproduzierbaren Laborergebnissen und die fachgerechte ärztliche Interpretation der Befunde. Damit sollen sowohl eine sichere Therapie als auch eine zuverlässige, rückverfolgbare Erhebung von Daten im Rahmen der klinischen Prüfung von Produkten gewährleistet werden (ZLG 2004).

### **1.3 Gründe für die Akkreditierung**

Akkreditierungen werden unter anderem von der Europäischen Kommission gezielt für die Harmonisierung der Arbeitsprozesse und Ergebnisse, sowie Vergleichbarkeit der Produkte eingesetzt (ZLG 2004). Im Rahmen des Gesamtkonzeptes der Europäischen Kommission für die Konformitätsbewertung ist die Forderung nach dem Aufbau nationaler Akkreditierungsstrukturen und einheitlichen Regeln für die Arbeit von Laboratorien festgelegt (EU 1990). Auf diese Weise sollen Zuverlässigkeit, höchste fachliche Kompetenz, Unabhängigkeit und Transparenz der Arbeitsweise von Laboratorien und Zertifizierungsstellen im gesamten europäischen Wirtschaftsraum sichergestellt werden. Eine Akkreditierung setzt die Vorhaltung eines Qualitätsmanagementsystems voraus und trägt dazu bei, eine höhere Sicherheit bei komplexen Abläufen zu erreichen, Kosten zu reduzieren, den Mitarbeitern eigenverantwortliches Handeln im Rahmen klarer Vorgaben zu ermöglichen und das Vertrauen der Patienten, Mitarbeiter, Führungskräfte und Träger in der Einrichtung zu stärken. Das System wird unter Berücksichtigung nationaler und internationaler Normen von qualifizierten Fachexperten erarbeitet und laufend kontrolliert. Ein Qualitätssystem bedarf einer umfassenden Dokumentation aller Abläufe im Laboratorium. Dabei können alle Abläufe jederzeit analysiert, überwacht und optimiert werden. Die Etablierung standardisierter Abläufe im Laboratorium erfordert zunächst einen erheblichen personellen, finanziellen und organisatorischen Aufwand. Später können jedoch Qualität sowie die Wirtschaftlichkeit gesteigert werden.

Entsprechend dem Gesamtkonzept der Europäischen Union (EU) ist die Akkreditierung von Laboratorien auch ein wesentlicher Baustein des gesamten Sicherheitskonzeptes für die Reinheit und Qualität der Produkte. Schließlich wird mit der Akkreditierung durch eine autorisierte Stelle auf nationaler und/oder internationaler Ebene eine Akzeptanz der Produkte, einschließlich aller im System integrierten Untersuchungsergebnisse gewährleistet. Für den Gesundheitsschutz von Patienten, Mitarbeitern, Anwendern und

Dritten ist die Qualität von außerordentlicher Bedeutung und wird in den Richtlinien 93/42/EWG des Rates vom 14.06.1993 über Medizinprodukte ausdrücklich gefordert (Schorn 1995). Somit werden die zur Konformitätsbewertung herangezogenen Untersuchungen mit höchster beruflicher Zuverlässigkeit und größter erforderlicher Sachkenntnis durchgeführt. Das Vorgehen bei klinischen Prüfungen muss hierbei dem Stand von Wissenschaft und Technik entsprechen.

#### **1.4 Akkreditierungsstand im Ausland**

Die Akkreditierung medizinischer Laboratorien wird z.B. in den USA seit mehr als 30 Jahren vom CAP durchgeführt. Das Programm führte zur Erarbeitung der "Standards of Accreditation" (Peters 1997). Seit 1988 sind alle Laboratorien der USA einschließlich der Kleinlaboratorien in Arztpraxen durch ein Bundesgesetz, den „Clinical Laboratory Improvement Act“, verpflichtet, sich bei der zuständigen Bundesbehörde registrieren zu lassen (US Department of Health 1988). Die größeren Laboratorien müssen an Ringversuchen teilnehmen und unterliegen staatlichen Inspektionen. Alternativ können sie sich einer Akkreditierung durch das CAP unterziehen. Gegenwärtig werden weltweit mehr als 20 000 Laboratorien vom CAP akkreditiert und überwacht.

Auch in einigen europäischen Ländern existieren bereits gesetzliche Grundlagen für die Akkreditierung medizinischer Laboratorien oder befinden sich in Vorbereitung. Als Beispiel seien hier Belgien, Österreich, die Schweiz, die Niederlande und Skandinavien genannt. Im Sinne des Gesamtkonzeptes der Europäischen Kommission wird angestrebt, ein einheitliches Regelwerk zu bilden und eine gegenseitige Anerkennung zu erreichen. Eine europaweite Akkreditierungspflicht besteht derzeit nur für HLA-Laboratorien (wichtig für Transplantationen). Diese wird durch die **EFI** (European Foundation of Immunogenetics) vorgenommen (ZLG 2004).

#### **1.5 Akkreditierungsstand in Deutschland**

Deutschland hat kein Akkreditierungsgesetz und damit keine zentrale Akkreditierungsstelle. Es gibt mehrere Anbieter für diese Leistungen und bereits zahlreiche Akkreditierungen. Im GMP wird Qualität vom medizinischen Leistungserbringer gefordert. Die etablierten staatlichen und privaten Akkreditierungsstellen betätigen sich auf unterschiedlichen Gebieten und stimmen sich mit dem Deutschen Akkreditierungsrat (DAR) ab (Kruse-Jarres 1995). Dieser wird von Bund, Ländern und der deutschen Wirtschaft getragen und ist bemüht, die Zusammenarbeit zwischen den Akkreditierungsstellen zu koordinieren und international ein transparentes und effizientes deutsches Akkreditierungssystem zu vertreten.

Der DAR setzt sich aus Vertretern der staatlichen Akkreditierungsstellen und der Bundesländer-Arbeitskreise des gesetzlich geregelten Bereiches sowie aus Vertretern der Akkreditierungsstellen des privaten Bereiches zusammen. Darüber hinaus gehören ihm aus Gründen des allgemeinen politischen Interesses bzw. als regelsetzende Stelle Vertreter verschiedener Bundesministerien und des Deutschen Instituts für Normung (DIN) an.

Bisher gibt es für medizinische Laboratorien in der Bundesrepublik Deutschland weder eine gesetzliche noch eine standesrechtliche Verpflichtung, sich akkreditieren oder zertifizieren zu lassen. Akkreditierungen und Zertifizierungen erfolgen auf freiwilliger Basis (Kruse-Jarres 1995, ZLG 2004).

### **1.6 Stand des Institutes für Transfusionsmedizin der Charité vor der Akkreditierung**

Vor der Einführung des Qualitätsmanagementsystems, den damit verbundenen Schulungen, den internen sowie externen Qualitätskontrollen und Audits zur Vorbereitung der Akkreditierung des Institutes durch das College of American Pathologists waren in den Laboratorien, wie in allen Bluttransfusionszentralen in Deutschland, keine offiziellen Standardarbeitsanweisungen vorhanden. Das Know How war meistens nur in „den Köpfen“ der Laborleiter und der medizinisch technischen Assistenten gespeichert, die Qualität war sehr stark von der Güte und Arbeitsweise der messenden Personen abhängig. Die Vorgaben im Hinblick auf die Qualität waren nicht immer definiert (Kruse-Jarres 1995). Die Herkunft und die Chargenbezeichnung aller Testreagenzien wurden allerdings dokumentiert (Betriebsverordnung für pharmazeutische Unternehmer 1995). Alle serologischen Untersuchungen einschließlich Reaktionsausfall und Kontrollen wurden vollständig protokolliert. Die Dokumentation von Blutgruppen- und Antikörperbefunden, insbesondere Eintragungen in die Ausweise wurden vom zuständigen Arzt überprüft und unterzeichnet (Arbeitskreis Blut beim Robert-Koch-Institut 1994). Die Ausweise müssen Untersuchungsstelle und Protokoll-Nummer erkennen lassen. Die Laboratorien nahmen an nationalen Ringversuchen teil, soweit sie angeboten wurden (Instand), täglich fanden interne Qualitätskontrollen statt. Die Wissenschaft war gut koordiniert, Schwerpunkte waren jedoch vorwiegend Kongressbeiträge und weniger Publikationen in internationalen Zeitschriften.

Der Stand der Qualitätssicherung und der allgemeinen technischen Voraussetzungen am Institut für Transfusionsmedizin der Charité war vor der Akkreditierung auf dem in Deutschland üblichen Niveau.

Dies war der Anlass, die vorliegende Arbeit zu beginnen. Gleichzeitig wurden durch Gesetzesinitiative notwendige Änderungen zur verpflichtenden Auflage gemacht.

### **1.7 Voraussetzung für die CAP – Akkreditierung**

Im Mittelpunkt stand die Etablierung eines Qualitätsmanagementsystems unter Berücksichtigung nationaler Vorgaben mit folgenden Schwerpunkten:

1. Motivation und Schulung sowie regelmäßige Fortbildung aller Mitarbeiter, zunächst insbesondere der leitenden Mitarbeiter (Einführung eines Schulungsplanes)
2. Institutsorganigramm mit der Zuweisung von Funktion und Verantwortlichkeit
3. Erstellung von Standardarbeitsanweisungen (SOP) durch die Gebietsexperten und Freigabe durch ein Fachgremium im Institut
4. Einführen von Qualitätssicherungsmaßnahmen, z.B. regelmäßige Überwachung von Testmethoden, Produkten, Reagenzien, Medien und Geräten, auch durch Inprozesskontrollen (Kontrollkarten)
5. Teilnahme an Interne und externe Qualitätskontrolle (Ringversuche)
6. Laufende detaillierte Dokumentation, einschließlich der Dokumentation von Fehlern und Archivierung der Daten
7. Erhöhung der Personalsicherheit
8. Verbesserung der Patientenfürsorge
9. Durchführung von Interne und externe Audits (Begehung durch Experten)
10. Die gesamten CAP-Unterlagen und Bestimmungen waren nur in Englischer Sprache zugänglich und mussten übersetzt werden. In zahlreichen Schulungen wurde dieses Wissen den Mitarbeitern vermittelt. Hier war der Verfasser maßgeblich involviert.

### **1.8 Optimierung der Qualitätskriterien der hergestellten Blutkomponenten**

Die Richtlinien und Regelungen für die Blutkomponenten zur Transfusion sind in den europäischen Ländern unterschiedlich. In Deutschland sind alle Blutzubereitungen (Blutkomponenten) durch das Arzneimittelgesetz als Fertig-Arzneimittel definiert und unterliegen grundsätzlich den gleichen gesetzlichen Regelungen wie Arzneimittel, deren Zulassung durch die zuständige Bundesoberbehörde, das Paul-Ehrlich-Institut (PEI), obligatorisch ist (Paul-Ehrlich Institut 1994). Die Blutkomponenten unterscheiden sich jedoch in vielen Merkmalen von den klassischen Arzneimitteln, die üblicherweise in jeder Charge die gleichförmige Qualität des fertigen Produktes aufweisen. Im Gegensatz dazu sind Blutkomponenten Einzelzubereitungen, deren Chargenfreigabe sinnvollerweise nicht im Paul-Ehrlich-Institut durchgeführt wird. Daher legt das Paul-Ehrlich-Institut bei der Zulassung ein besonderes Gewicht auf die Einhaltung des allgemein anerkannten Standes von Wissenschaft und Technik bei der Spenderauswahl und den Prüfmethode zur Kontrolle der Qualität an Stichproben. Die frühere und gegenwärtige Praxis der Qualitätskontrolle

einschließlich der verwendeten Tests und ihre Aussagefähigkeit hinsichtlich der hergestellten Blutkomponenten basieren meistens auf Erfahrungswerten und nicht auf Ergebnissen kontrollierter Studien. Somit sind die Qualitätskriterien für die analytische Prüfung der unterschiedlichen Blutkomponenten bisher nicht vollständig definiert.

Die praktische Umsetzung der Inhalte der Akkreditierung bestand unter anderem darin, die Qualität der aktuell hergestellten Blutprodukte zu optimieren. Bis dahin und während dieser Arbeit wurden in Deutschland fast ausschließlich Buffy coat-arme Blutprodukte hergestellt und verwendet. Im Rahmen der Akkreditierung und im Hinblick auf eine Neuzulassung für die hergestellten Blutprodukte sollte die **Leukozytendepletion** von Vollblut unter verschiedenen Bedingungen optimiert und validiert werden. Weiterhin sollten der Effekt der **Bestrahlung** auf Blutprodukte und der **Lagerungsschaden** bestrahlter und unbestrahlter Blutprodukte untersucht werden.

Eine Vollbluteinheit enthält etwa  $2-4 \times 10^9$  Leukozyten und ein Erythrozytenkonzentrat enthält nach Zentrifugation und Entfernung des Buffy coats etwa  $0,8-3 \times 10^9$  Leukozyten (Anderson 1992). Durch eine weitere Reduktion der Leukozyten durch Filtration auf unter  $1 \times 10^6$  Zellen pro Erythrozytenkonzentrat wird die Qualität des Präparates verbessert, das Risiko einer Immunisierung gegen Leukozytenantigene (HLA-Antigene) stark reduziert und die Übertragung zellständiger Viren weitgehend verhindert (Brecher 1993). Das effektivste Verfahren für die Abreicherung von Leukozyten ist die Filtration (Anderson 1992). Es werden verschiedene Filter verwendet, die aus mehreren Schichten, nicht gewebter, synthetischer Faser aufgebaut sind. Der Filtrationsmechanismus beruht im wesentlichen auf dem Siebeffekt und der Adhäsion der Leukozyten. Die Effizienz der Abreicherung ist dabei abhängig von dem verwendeten Filter (Fasertyp und Aufbau), der Zusammensetzung des Präparates, der Temperatur und dem Filtrationszeitpunkt (Manara 1985). Der günstigste Zeitpunkt für die Filtration ist bisher jedoch nicht klar definiert. Das Optimum für die Filtration scheint jedoch zwischen 6 und 24 Stunden nach Blutannahme zu liegen, da die Leukozytenreduktionsrate innerhalb der ersten zwei Stunden weniger als 99% beträgt und für die Phagozytose bei kontaminierenden Bakterien eine Lagerung von ca. 6 Stunden bei Raumtemperatur empfohlen wird. Für die frühzeitige Filtration spricht die Tatsache, dass die Freisetzung von Zytokinen aus den Leukozyten verhindert wird und vor allem die Entfernung der Granulozyten vor dem spontanen Zerfall (Muyllé 1994). Zur Bestimmung der Filtrationseffizienz sollte der optimale Zeitpunkt bestimmt werden.

Die transfundierten Lymphozyten tragen genauso wie der Empfängerorganismus die Potenz der Immunabwehr in sich, können sich vermehren und gegen das „Fremdantigen Wirt/Empfänger“ reagieren. Nach dem heutigen Stand der Erkenntnisse ist die

Gammabestahlung der Blutprodukte vor der Transfusion die einzig genutzte und anerkannte Methode, immunkompetente Lymphozyten zu zerstören bzw. ihre Proliferationsfähigkeit aufzuheben und eine transfusionsassoziierte GvHR (Graft-versus-Host-Reaktion) zu verhindern (Ferrara 1950, Moroff 1986, Murphy 1993). Die Diskussionen über die optimale Dosis war nicht abgeschlossen (Button 1981, Leitman 1993) und die Bestrahlungsdosis lag zwischen 15 und 50 Gy.

Obwohl bis heute die genaue Zahl überlebens- und proliferationsfähiger Lymphozyten für die Auslösung der Erkrankung unbekannt ist, wurde Anfang der siebziger Jahre in der Literatur die kritische Konzentration mit  $10^7$  bis  $10^8$  Lymphozyten/ kg (van Bekkum 1972, von Fliedner 1982, Leitman 1985) angegeben. Anderen Autoren zufolge wird diese Zahl (auch als sogenannter CILL-Wert = Critical Immunogenic Load of Leucocytes bezeichnet) bei kleiner  $10^7$  (Rubinstein 1973, Brubaker 1983) und sogar bei kleiner  $10^5$  Lymphozyten/ kg angesetzt (Pelszynski 1994). Mehrere Untersuchungsgruppen (Leitman 1985, Holland 1989, Norfolk 1995) fanden in Standardseparationen Mengen von  $10^7$  bis  $10^9$  Lymphozyten pro Transfusionseinheit.

Die Wirksamkeit bisheriger Standardmaßnahmen zur Verringerung der Zahl lebens- und funktionsfähiger Lymphozyten, wie die Zentrifugation mit Entfernung des Buffy coats, das Waschen der Erythrozytenkonzentrate, das Einfrieren der Blutkomponenten und sogar die Filtration mit speziellen Leukozytenfiltern vor Transfusionen ist demzufolge unzureichend für die Prävention einer GvHR (Meryman 1986, Akahoshi 1992).

Darüber hinaus war der Stellenwert der oben erwähnten Maßnahmen als Ergänzung zur Bestrahlung der Produkte nicht endgültig geklärt. Weiterentwicklung der Methoden und Einführung neuer Materialien (vor allem bei den Leukozytenfiltern) könnten zu grundlegenden Änderungen im Vorgehen bei der Bereitstellung von leukozytenarmen Blutkomponenten führen. In dieser Arbeit werden Untersuchungen von in-line gefilterten und zusätzlich bestrahlten Erythrozytenkonzentraten vorgestellt und die Relevanz bestimmter Veränderungen über eine gewisse Lagerungsdauer beurteilt.

Als Folge der Lagerung der Blutprodukte außerhalb des Organismus kommt es auch unter optimalen Bedingungen zu komplexen Veränderungen, die in ihrer Gesamtheit als Lagerungsschaden bezeichnet werden. Diese Veränderungen zeigen sich unter anderem durch funktionelle Beeinträchtigungen und Freisetzung zellulärer Inhaltsstoffe. Für Erythrozyten gilt der ATP-Gehalt während der Lagerung als wichtigster in vitro Surrogatmarker für die Überlebensfähigkeit der Erythrozyten in der Zirkulation nach der Transfusion (Vorstand und Wissenschaftlicher Beirat des Bundesärztekammer 2001, 2003).

Thrombozyten werden als geeignet zur Transfusion betrachtet, wenn der pH-Wert im Konzentrat zwischen 6,5 und 7,4 beträgt. Zur analytischen Prüfung der Wirksamkeit gelagerter Thrombozyten wurden bisher Methoden empfohlen, die in vitro die Funktionalität der Thrombozyten reflektieren sollen, wie die Aggregation der Thrombozyten oder die durchflusszytometrische Bestimmung von Aktivierungsmarkern (Schmitz 1998).

Für GFP (gefrorene Frischplasma) gilt die Aktivität von Faktor VIII als geeignet für die Funktionalität dieses Arzneimittels (Vorstand und Wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer 2001, 2003).

Für alle Blutkomponenten (Erythrozyten, Thrombozyten und GFP) wird die Bestimmung weiterer Parameter empfohlen, um die Qualität des Arzneimittels überzeugend darzustellen und auch mögliche Nebenwirkungen früh und rechtzeitig zu erkennen (Wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer und Paul-Ehrlich-Institut 1996, 2000, 2003; Vorstand und Wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer 2001, 2003). Aus diesem Grund sollten im Rahmen der vorliegenden Arbeit die vom Paul-Ehrlich-Institut vorgeschriebenen Qualitätskontrollparameter der aktuell hergestellten Blutprodukte erweitert und validiert werden.