

Aus dem
Institut für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie mit Blutbank
der Medizinischen Fakultät
der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

**Veränderung der Hämoglobinkonzentration bei der
Thrombozytenspende, festgestellt im Rahmen der Evaluierung
einer nichtinvasiven Messmethode**

D i s s e r t a t i o n

Zur Erlangung des Doktorgrades

Dr. med.

(doctor medicinae)

an der Medizinischen Fakultät
der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

vorgelegt von Alexander Kühn

aus Essen

Magdeburg 2018

Dokumentationsblatt

Bibliographische Beschreibung:

Kühn, Alexander:

Veränderung der Hämoglobinkonzentration bei der Thrombozytenspende, festgestellt im Rahmen der Evaluierung einer nichtinvasiven Messmethode. – 2018. – 53 Bl., 13 Abb., 10 Tab., 8 Formeln, 1 Anlage.

Kurzreferat:

Der weltweite Bedarf an Blut und Blutprodukten ist nach wie vor ungebrochen. Um die freiwilligen Spender vor Komplikationen und Folgeerkrankungen zu schützen und die Qualität der Produkte sicherzustellen, sind die Blutspendedienste an zahlreiche Richtlinien und gesetzliche Auflagen gebunden. Zu den zentralen Voraussetzungen zählt dabei die Bestimmung der Hämoglobinkonzentration. Damit steht auch die Weiterentwicklung adäquater Messverfahren im Fokus von Wissenschaft und Industrie. Die Firma LMB verspricht mit dem Gerät NBM200 eine präzise, schnelle, kostengünstige und vor allem nichtinvasive Bestimmung der Hämoglobinkonzentration. Ziel dieser Arbeit war es, das nichtinvasive Messverfahren mit dem bisherigen Goldstandard, einer venösen Bestimmung, zu vergleichen. Dazu erfolgte die parallele Bestimmung der Hämoglobinkonzentration bei 97 potentiellen Spendern. Die statistische Auswertung ergab eine Standardabweichung von 0,78 mmol/l bei einem 95 % Konfidenzintervall von -1,38 bis + 1,68 mmol/l. Diese statistische Abweichung erschien für eine zuverlässige Entscheidung über die Spendetauglichkeit nicht geeignet. Zudem erfolgte eine zweite nichtinvasive Bestimmung der Hämoglobinkonzentration nach stattgefundenener Thrombozytapheresse bei n=86 Spendern. Dabei wurde die Veränderung der Hämoglobinkonzentration während einer Thrombozytapheresse untersucht. In der statistischen Auswertung fiel eine geringe (-1,5 %), aber signifikante ($p < 0,05$) Abnahme der Hämoglobinkonzentration während der Spende auf. Trotz intensiver Betrachtung möglicher Ursachen konnte in der vorliegenden Arbeit kein statistisch signifikanter Einflussfaktor für die Abnahme der Hämoglobinkonzentration gefunden werden.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	2
Abkürzungsverzeichnis	4
1 Einleitung	5
1.1 Allgemeiner Überblick Blutspende.....	5
1.2 Spendersicherheit und gesundheitliche Risiken.....	6
1.2.1 Blutspende allgemein.....	6
1.2.2 Thrombozytenspende.....	7
1.3 Historische Entwicklung der Blutuntersuchung und Hämoglobinbestimmung.....	9
1.4 Zielsetzung und Fragestellung der Arbeit	12
2 Material und Methoden.....	13
2.2 Patienten.....	13
2.1 Untersuchungsablauf.....	13
2.3 Geräte	15
2.3.1 CELLDYN Emerald	15
2.3.2 NBM 200	17
2.4 Berechnung zusätzlicher Werte	19
2.5 Statistische Methoden	19
3 Ergebnisse	20
3.1 Patienten.....	20
3.2 Statistische Auswertung der Messergebnisse	26
3.2.1 Diagramm zum Vergleich von nichtinvasiv und Referenzmethode	26
3.2.2 t-Test.....	28
3.2.3 Bland-Altman-Diagramm	29
3.2.4 Kontingenztafel.....	31
3.2 Statistische Auswertung der Hb-Veränderung bei Thrombozytenspende.....	33
4. Diskussion.....	36
4.1.1 Zusammenfassung der Vergleichsmessung	36
4.1.2 Evaluation der Messmethoden.....	36
4.1.3 Diskussion der Vergleichsmessung	38
4.2 Untersuchung der Hb-Änderung bei der Thrombozytenspende	42
5. Zusammenfassung.....	46
Literatur	47
Danksagung	51

Abbildungs-, Tabellen- und Formelverzeichnis	52
Ehrenerklärung	53
Darstellung des Bildungsweges	54
Anlagen.....	55

Abkürzungsverzeichnis

ACD - Acidcitrate-dextrose (Gerinnungshemmer und Blutstabilisator)

BMI - Body-Mass-Index

DRK - Deutsches Rotes Kreuz

EDTA - Ethylendiamintetraessigsäure (Gerinnungshemmer in Blutproben)

EK - Erythrozytenkonzentrat

Hb - Hämoglobin

Hkt - Hämatokrit

NPV - negative predictive value, negativer Vorhersagewert

PBM - Patient Blood Management

POCT - Point of care Testing

PPV - positive predictive value, positiver Vorhersagewert

TE - Transfusionseinheiten

TFG - Transfusionsgesetz

TK - Thrombozytenkonzentrat

WHO - Weltgesundheitsorganisation

1 Einleitung

1.1 Allgemeiner Überblick Blutspende

Die Transfusion von Blutkomponenten ist in der Medizin bekanntermaßen seit langem eine bewährte und oft unvermeidbare Therapieoption bei Erkrankungen unterschiedlichster Genese. Trotz zeitintensiver und aufwändiger Forschungen zum Thema Blutersatzstoffen ist die moderne Medizin immer noch auf die freiwillige Spende von Vollblut und Blutkomponenten angewiesen.

Die Bedeutung der Blutspende wird deutlich, wenn man aktuelle Zahlen betrachtet. So wurden im Jahr 2016 in Deutschland etwa 3,5 Mio. Erythrozytenkonzentrate und ca. 738.000 Transfusionseinheiten (TE) Plasma verbraucht. Der Verbrauch von Thrombozytenkonzentraten ist zwar mit etwa 479.000 auffallend geringer, jedoch im langfristigen Verlauf betrachtet steigend. Da die Eigenblutspende inzwischen nur noch einen vernachlässigbaren Anteil ausmacht, mussten 2016 etwa 4 Mio. Vollblutspenden und etwa 2,8 Mio. Apheresespenden durchgeführt werden, um den Bedarf an Blutprodukten decken zu können. Im Bereich der Vollblutspenden kann seit 2012 ein Rückgang der benötigten Vollblutspenden verzeichnet werden. Der Bedarf an Apheresespenden ist jedoch im gleichen Zeitraum weiterhin hoch und zeigt eine leicht steigende Tendenz. (Henseler 2017)

Aufgrund des großen Marktes mit Blut und Blutprodukten, bei dem staatlich kommunale und gemeinnützige Unternehmen (staatlich, kommunal und Bundeswehr: 21 %; DRK: 72 %) sowie private, gewinnorientierte Unternehmen (ca. 7,5 %) in Konkurrenz stehen, muss letztendlich auch der Punkt der Kosteneffizienz bedacht werden.

Diese Zahlen zeigen, dass der Bedarf an Blutspenden nach wie vor ungebrochen ist und die Blutspende damit auch im Fokus von Wissenschaft und Industrie steht. Im Zentrum der Bemühungen sind dabei insbesondere die Weiterentwicklung und Bereitstellung von Geräten, die die Blutspende sicherer und angenehmer für die Spender machen. Strikte gesetzliche Auflagen (Transfusionsgesetz) und die Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen (Bundesärztekammer 2017) sollen die freiwilligen Spender dabei vor Komplikationen und Folgeerkrankungen schützen. Daneben muss auch eine best-

mögliche Qualität der Blutprodukte sichergestellt sein, um die hohen Arzneimittelstandards zu erfüllen und einen Therapieerfolg zu ermöglichen.

Eine technische Neuentwicklung, welche verspricht, die Anforderungen im Blutspendewesen erfüllen zu können, wurde 1999 von der israelischen Firma Orsense in den USA patentiert (Fine 2002). Das Gerät NBM200 soll zuverlässig und nichtinvasiv die Hämoglobinkonzentration von Patienten und potentiellen Spendern ermitteln. Inzwischen wird es bereits nach Angaben des Herstellers in über 40 Ländern in zahlreichen Blutspendediensten eingesetzt. In Deutschland wird das Gerät von der Firma LMB vertrieben.

1.2 Spendersicherheit und gesundheitliche Risiken

1.2.1 Blutspende allgemein

Der hippokratische Leitsatz „primum nihil nocere“ ist nach wie vor das oberste Prinzip für die Blutspende. Insbesondere die Gesundheit des freiwilligen Spenders nimmt einen zentralen Stellenwert in den Richtlinien und Gesetzen ein (Bundesärztekammer 2017). Trotz größtmöglicher Bemühungen, das Risiko gesundheitlicher Beeinträchtigungen zu minimieren, können Nebenwirkungen durch die Spende von Blut und Blutprodukten entstehen. Zu den häufigsten Komplikationen zählt dabei der Eisenmangel und die daraus folgende Anämie (Mast 2014). Darunter versteht man im Allgemeinen eine zu niedrige Hämoglobinkonzentration. Obwohl einige neuere Studien verschiedene Grenzwerte empfohlen haben (Beutler 2006), hat sich die Definition einer Expertenkommission der Weltgesundheitsorganisation von 1968 weiterhin durchgesetzt. Man spricht von Anämie bei Erwachsenen bei einer Hämoglobinkonzentration von weniger als 8,07 mmol/l für Männer und 7,45 mmol/l für nicht schwangere Frauen. (WHO 1968) Die Beeinträchtigungen durch eine manifeste Anämie sind vielfältig und gravierend. Die Symptome reichen von allgemeiner Abgeschlagenheit und neurologischen Problemen bis hin zu Dyspnoe und Tachykardie. Aber selbst ein asymptomatischer Verlauf mit niedriger Hämoglobinkonzentration stellt für die Blutspender und die Blutspendeeinrichtung ein Problem dar. Bei Spendetauglichkeitsuntersuchungen in den USA mussten bis zu 10 % der potentiellen Spender aufgrund eines zu niedrigen Hb abgewiesen werden. Bei wie-

derholten Blutspendern war in der Regel ein Eisenmangel die Ursache für die zu niedrige Hämoglobinkonzentration (Mast 2014). Diese Spender sind vorerst von der Spende ausgeschlossen. In Zeiten eines großen Bedarfs an Blutprodukten ist das zwar bedauerlich, aber für die Gesundheit des Spenders unvermeidbar. Die Sicherheit der Blutspende wurde in den letzten Jahrzehnten mit verschiedensten Maßnahmen stetig verbessert; beispielsweise sollen durch eine ärztliche Voruntersuchung und Kontrolle verschiedener Laborparameter die Risiken für den Spender minimiert und eine hohe Qualität der Blutprodukte sichergestellt werden. Neben der Bestimmung der immunologischen Merkmalen und einem infektiologischen Screening muss eine Kontrolle der Vitalparameter des Spenders erfolgen (Bundesärztekammer 2017). Um gesundheitliche Risiken für den Spender möglichst auszuschließen, werden neben der aktuellen Anamnese auch Blutdruck, Puls, Temperatur und die Hämoglobinkonzentration unmittelbar vor der Spende ermittelt (Bundesärztekammer 2010). Während Blutdruck, Puls und Temperatur ohne großen Aufwand erhoben werden können, war für den Hämoglobinwert bislang eine invasive Blutentnahme notwendig. Eine ausreichende Hämoglobinkonzentration vor der Spende soll die Komplikation des Eisenmangels bzw. der Anämie im Verlauf möglichst ausschließen. Um vom Arzt zur Spende zugelassen zu werden, müssen Männer einen Mindestwert von 8,37 mmol/l (135 g/l), Frauen einen Mindestwert von 7,75 mmol/l (125 g/l) aufweisen. Gemäß der Richtlinie für Hämotherapie wird seit 2017 zudem eine Hämoglobinkonzentration unter 11,16 mmol/l (180 g/l) bei allen Arten der Hämapheresepende (Ausnahme: Erythrozytapherese) empfohlen (Bundesärztekammer 2017). Eine sichere und einfache Methode zur Bestimmung der Hämoglobinkonzentration vereinfacht nicht nur den Ablauf in der Blutspendeeinrichtung, sondern trägt auch zur Sicherheit des Spenders bei. Um diesen nicht zu gefährden, müssen die erhobenen Messwerte präzise und richtig sein.

1.2.2 Thrombozytenspende

Zu den wichtigsten Aufgaben eines jeden lebenden Organismus zählt die Aufrechterhaltung der Homöostase im Flüssigkeits- und Elektrolythaushalt. Im menschlichen Körper sorgen ständig zahlreiche Regel- und Kontrollmechanismen für möglichst konstante Verhältnisse im Flüssigkeitshaushalt. Die festen /korpuskulären Bestandteilen im Blut sind nur relativ langsam regulierbar, während das System des Blutplasmas auch kurzfristig angepasst werden kann. Zu den zentralen Aufgaben des Blutplasmas gehören die

Aufrechterhaltung des kolloidosmotischen Drucks, die Transportfunktion und die Abwehr- und Gerinnungsfunktion (Klinke et al. 2010). Diese Funktionen können bei Störungen im Plasmasystem zu ernsthaften Erkrankungen führen. Insbesondere Gerinnungs- und Durchblutungsstörungen infolge einer veränderten Blutviskosität sind gefürchtete Komplikationen (Kiesewetter et al. 1986). Zum Schutz des Spenders sollte darauf geachtet werden, dass Veränderungen in der Viskosität möglichst gering gehalten werden. Ein entscheidender Parameter für die Viskosität ist der Hämatokrit. Betrachtet man nur den vergleichsweise kurzen Zeitbereich einer Spende unter physiologischen Bedingungen, korreliert dieser mit der Hämoglobinkonzentration im Blut. Ein artifizieller Eingriff in dieses System ist demnach mit Risiken behaftet. Sowohl die Plasmaspende wie auch die Thrombozytenspende stellen einen solchen Eingriff dar.

Um den Spender vor Viskositätsveränderungen und den damit verbundenen Risiken zu schützen, wird seit der letzten Richtlinienovellierung eine Hämoglobinkonzentration von unter 11,16 mmol/l (sowie ein Hämatokrit $\leq 0,52$ l/l.) für alle Hämapheresespenden außer der Erythrozytapherese empfohlen (Bundesärztekammer 2017).

Die Studienlage zur Veränderung der Hämoglobinkonzentration während einer Apheresepende zeigte sich kontrovers. Bei der Plasmaspende wurde eine steigende Hämoglobinkonzentration beobachtet (Evers et al. 2014). Bei der Thrombozytapherese konnte sowohl ein Anstieg wie auch ein Abfall der Hämoglobinkonzentration nach einer Thrombozytenspende beobachtet werden (Love et al. 1993; Beyan et al. 2003; Das et al. 2009; Altuntas et al. 2008). Insbesondere bei der Thrombozytenspende ist nicht letztendlich geklärt, wodurch der Anstieg oder Abfall der Hämoglobinkonzentration zu erklären ist. Neben einem Verdünnungseffekt durch das infundierte ACD werden auch andere Einflussgrößen, wie verwendeter Zellseparator mit unterschiedlichem Verlust an Erythrozyten im Schlauchsystem und Ausgangshämoglobinkonzentration diskutiert (Das et al. 2009). Von besonderem Interesse ist zudem das quantitative Ausmaß der Veränderung, um eine mögliche Gefahr für den Spender auszuschließen oder abschätzen zu können.

1.3 Historische Entwicklung der Blutuntersuchung und Hämoglobinbestimmung

Die Untersuchung des Blutes zur Diagnostik, Therapie und Prognose hat in der Medizin eine lange Geschichte. Die erste schriftlich belegte Untersuchung des Blutes zu medizinischen Zwecken fand schon im antiken Griechenland um etwa 400 v. Chr. statt. Im *Corpus hippocraticum* wurde erstmals die Theorie der Viersäftelehre vorgestellt. Dabei standen die vier Körperflüssigkeiten: schwarze und gelbe Galle, Weißschleim und Blut im Zentrum der Aufmerksamkeit (Mayer et al. 2003). Doch erst mit der Entdeckung des korrekten Blutkreislaufes 1628 durch den englischen Arzt William Harvey (1578-1657) wurden die Grundlagen für eine wissenschaftliche Untersuchung des Blutes gelegt. Infolge der steten Weiterentwicklung der Mikroskopie konnte 1658 Jan Swammerdam erstmals rote Blutkörperchen erkennen, veröffentlichte seine Entdeckung aber nicht (Hajdu 2003). Die Veröffentlichung der Entdeckung erfolgte acht Jahre später (1666) von Malphigi. Eine erste Zeichnung und eine genaue Beschreibung der roten Blutkörperchen fertigte der Niederländer Antoni van Leeuwenhoek an. Erst wesentlich später, 1842, entdeckte der Franzose Alfred Donné die Thrombozyten (Hajdu 2003).

Damit begannen auch die Untersuchungen zur Übertragbarkeit von Blut. Richard Lower experimentierte 1665 mit Transfusionen bei Hunden. Jean-Baptiste Denis und Edmund King berichteten von erfolgreichen Transfusionen von Schafsblut auf den Menschen. (Fastag et al. 2013). Die erste erfolgreiche Blutübertragung von Mensch zu Mensch gelang 1825 durch den englischen Physiologen und Geburtshelfer James Blundell an einer ausgebluteten Wöchnerin. Diese Behandlung galt jedoch als sehr umstritten und gefährlich (Baskett 2002). Zahlreiche Versuche mit Milch und anderen Substanzen als Blutersatz wurden vergeblich durchgeführt, bis sich salzhaltige Lösungen schließlich durchgesetzt hatten.

1862 wurde durch den Biochemiker Felix Hoppe-Seyler eine kristallisierbare Struktur gefunden. Diesem Farbstoff der roten Blutkörperchen gab er den Namen „Hämoglobin“. Weiterhin beschrieb er bereits die Unterschiede im Absorptionsspektrum des Hämoglobins in Abhängigkeit vom Oxygenierungszustand. (Hoppe-Seyler 1864). Schon kurz darauf begannen die ersten Versuche Hämoglobin auch quantitativ zu bestimmen. Die von Welcker 1854 beschriebene und von Tallquist gegen 1900 weiterentwickelte Methode, Blutstropfen auf einem Filterpapier mit einer Farbskala zu vergleichen, gab einen

ersten orientierenden Eindruck über Hämoglobinkonzentration (Heilmeyer 2013; Betke et al. 1968).

Interessanterweise wurde dieses Verfahren von der WHO im Jahr 2001 erneut aufgegriffen. Es wurde ein Test auf den Markt gebracht, der Blutstropfen auf einem Filterpapier mit einer Farbskala vergleicht (Marn und Critchley 2016). Damit soll es möglich sein, eine Anämie kostengünstig und effizient zu diagnostizieren, auch wenn, wie in Entwicklungsländern, kein Labor zur Verfügung steht (Ingram 2000).

Der Hämatokrit wurde von Sven Gustav Hedin 1891 durch Zentrifugation entdeckt. Er bestimmte so erstmal den Anteil der Erythrozyten am Gesamtblut und machte so auch eine genauere Schätzung der Hämoglobinkonzentration möglich (Heilmeyer 2013).

Eine indirekte quantitative Messung der Hämoglobinkonzentration machte aber erst die Entwicklung der Kupfersulfatmethode möglich (Oppermann 1949). Bereits 1884 konnte erstmals das spezifische Gewicht des Vollblutes von Roy und Lloyd bestimmt werden. Dabei wurden einzelne Blutstropfen in verschiedene Testlösungen mit einem bestimmten spezifischen Gewicht gegeben. Ist das spezifische Gewicht des Blutes größer als das der Testflüssigkeit sinkt der Tropfen zu Boden, ist er kleiner, steigt er an die Oberfläche. Bei gleichem spezifischem Gewicht schwebt der Blutstropfen in der Testflüssigkeit. Roy und Lloyd benutzten für ihre Experimente zahlreiche Substanzen wie beispielsweise Glycerin-Wassergemische und verschiedene Gummilösungen, die sich jedoch als ungeeignet herausstellten. 1892 entdeckte Hammerschlag bei der Verwendung von Chloroform-Benzolgemischen den Zusammenhang zwischen dem spezifischen Gewicht und der Hämoglobinkonzentration des Blutes. Moore und van Slyke veröffentlichten 1930 erstmals eine Formel zur Berechnung des Gesamteiweißgehaltes aus dem spezifischen Gewicht im Serum. Im Rahmen des 2. Weltkrieges wurde nach einer einfachen und zuverlässigen Feldmethode zur Bestimmung der Hämoglobinkonzentration und des Gesamteiweißes gesucht. Die Amerikaner Phillips und van Slyke verwendeten dabei erstmals Kupfersulfat, welches aufgrund der Bildung von Schwermetallkomplexen besonders gut sichtbare Tropfen bildete, die sich kaum mit der Testlösung vermischten. Da man davon ausging, dass die Differenz des spezifischen Gewichts von Plasma und Gesamtblut ausschließlich vom Hämoglobingehalt abhing, konnte dieser mit einer weiteren Formel relativ einfach bestimmt werden. Mit Hilfe eines Nomoграмms konnten bei bekanntem spezifischem Gewicht von Plasma und Vollblut die

Werte für Eiweiß und Hämoglobinkonzentration direkt abgelesen werden (Oppermann 1949).

Diese Methode war jedoch ungenauer und relativ umständlich. Schon 1902 stellte Hermann Sahli ein einfacheres Hämoglobinometer vor. Dieses basierte auf einer gefärbten Vergleichspipette und einer skalierten Testpipette. Mittels Salzsäure wurde das Hämoglobin der Testperson in Hämatin umgewandelt und anschließend so lange verdünnt, bis die Färbung der beiliegenden Vergleichspipette entsprach. Auf einer Skala der Testpipette konnte dann die Hämoglobinkonzentration abgelesen werden. Aufgrund der sehr einfachen Anwendung und der geringen Kosten erfreut sich diese Methode in Indien immer noch einer relativ großen Beliebtheit, wenn ein Labor nicht zu Verfügung steht (Balasubramaniam und Malathi 1992; Anand et al. 2009).

Durchgesetzt hat sich jedoch die Cyanohämoglobinmethode. Dabei werden die Erythrozyten lysiert und anschließend wird das Hämoglobin zu Hämiglobin oxidiert. Das entstandene bräunliche Hämiglobin kann nun photometrisch bei 546nm gemessen werden (Gressner und Arndt 2013). Auch in den aktuellen vollautomatischen Hämatologie Analyzern wird diese Methode in geringfügigen Abwandlungen erfolgreich angewendet und gilt allgemein immer noch als Referenzmethode für den klinischen Gebrauch (Zwart et al. 1996).

Mit der Entwicklung von nichtinvasiven Messungen der Hämoglobinkonzentration sollen Geräte mit einem vollständig neuen Messprinzip auf den Markt gebracht werden. Im Gegensatz zu allen bisherigen Methoden soll die Hämoglobinkonzentration „in vivo“ ohne Punktion gemessen werden können.

Damit folgt auch die Messung der Hämoglobinkonzentration dem allgemeinen Trend hin zu nichtinvasiven Messgeräten. Diese sind z.B. bei der Sauerstoffsättigung schon vielfach erprobt und werden zahlreich im Klinikalltag eingesetzt (Barker und Tremper 1987). Aktuell werden nichtinvasive Messgeräte auch für andere Parameter (wie z.B. Glukosekonzentration) entwickelt (Lipson et al. 2009). Es bleibt jedoch noch abzuwarten, ob diese nichtinvasiven Messverfahren in Studien valide Ergebnisse liefern können. Zudem sollte vor einer Markteinführung überprüft werden, ob Präzision und Störanfälligkeit der Geräte im Routinebetrieb tolerierbar sind.

1.4 Zielsetzung und Fragestellung der Arbeit

Das Ziel dieser Arbeit war es, das neue nichtinvasive Hb-Messverfahren unter Routinebedingungen mit dem bisherigen Referenzverfahren zu vergleichen. Dies geschah vor dem Hintergrund, dass die bisherige Studienlage sehr uneinheitlich war. Dabei sollte neben Anwendbarkeit und Patientenkomfort insbesondere die Qualität der Messergebnisse bewertet werden.

Im Zuge dieser Messungen wurden auch die Veränderungen in der Zusammensetzung des Blutes während der Thrombozytapherese untersucht. Als Marker diente dabei der quantitative Hämoglobinwert, der nichtinvasiv vor und nach der Spende an unselektierten Spendern bestimmt wurde. Ziel war dabei die Quantifizierung der Veränderung der Hämoglobinkonzentration während einer Thrombozytenspende. Darüber hinaus sollten mögliche Einfluss- und Störgrößen für eine Veränderung ermittelt werden.

2 Material und Methoden

2.2 Patienten

Die probandenbezogenen Daten wie Alter, Geschlecht, Größe und Gewicht wurden mittels eines Fragebogens (siehe Anlage) ermittelt, auf dem auch das Einverständnis schriftlich festgehalten wurde. Zusammen mit den Messergebnissen und den Spendeprotokollen wurden so 97 Datensätze erhoben. Ein Datensatz beinhaltet folgende Parameter:

- Laufende Nummer zur Identifizierung innerhalb der Studie
- Geburtsdatum zur Bestimmung des Alters
- Geschlecht, Größe und Gewicht zur statistischen Analyse und Berechnung des Blutvolumens
- Hämoglobinkonzentration nichtinvasiv vor und nach der Spende, venöse Hämoglobinkonzentration der Referenzmethode (vor Spende)
- Aus dem Spendeprotokoll: verwendeter Zellseparator, Volumen des entstandenen Präparates, Thrombozytenzahl und Hämatokrit vor und nach der Spende, Menge an verbrauchten ACD (aufgeschlüsselt in infundiertes ACD und ACD im Präparat), Separationsvolumen

2.1 Untersuchungsablauf

Nach einer kurzen mündlichen Aufklärung, dem Ausfüllen des Fragebogens und der schriftlichen Einwilligung wurde mit der ersten nichtinvasiven Messung begonnen. Die Hämoglobin Konzentration wurde dabei mit dem Gerät NBM 200 (LMB Technologie GmbH, Schwaig, Deutschland) ermittelt. Unmittelbar danach wurde aus einer Armvene eine mit EDTA antikoagulierte Blutprobe entnommen und mit dem Analysegerät CELL-DYN Emerald (ABBOTT GmbH & Co. KG Wiesbaden, Deutschland) ausgewertet. Die Probanden, welche die Spendekriterien erfüllten, begannen daraufhin mit der Thrombozytapherese. Nach erfolgreicher Spende wurde die Hämoglobin Konzentration

erneut nichtinvasiv mit dem NBM 200 bestimmt und die Trinkmenge während der Spende auf dem Fragebogen festgehalten.

Alle nichtinvasiven Messungen wurden durch die gleiche Person vorgenommen. Dabei wurde streng auf die Einhaltung der Vorgaben und Anweisungen des Herstellers geachtet. In einer Schulung der Vertriebsfirma wurde der korrekte Ablauf des Messverfahrens eingeübt und gezielt auch auf Problemfälle eingegangen. Die Entnahmen der zugehörigen venösen Blutproben fanden durch die betreuenden Ärzte des Instituts im Routinebetrieb statt. Dabei handelte es sich um venöses Vollblut, welches mit K3EDTA antikoaguliert wurde. Bis zur Analyse wurden die Blutproben bei Zimmertemperatur auf einem Rollenmischer aufbewahrt. Die Analyse der Blutproben erfolgte innerhalb von einer Stunde nach Entnahme durch das diensthabende Fachpersonal des Instituts.

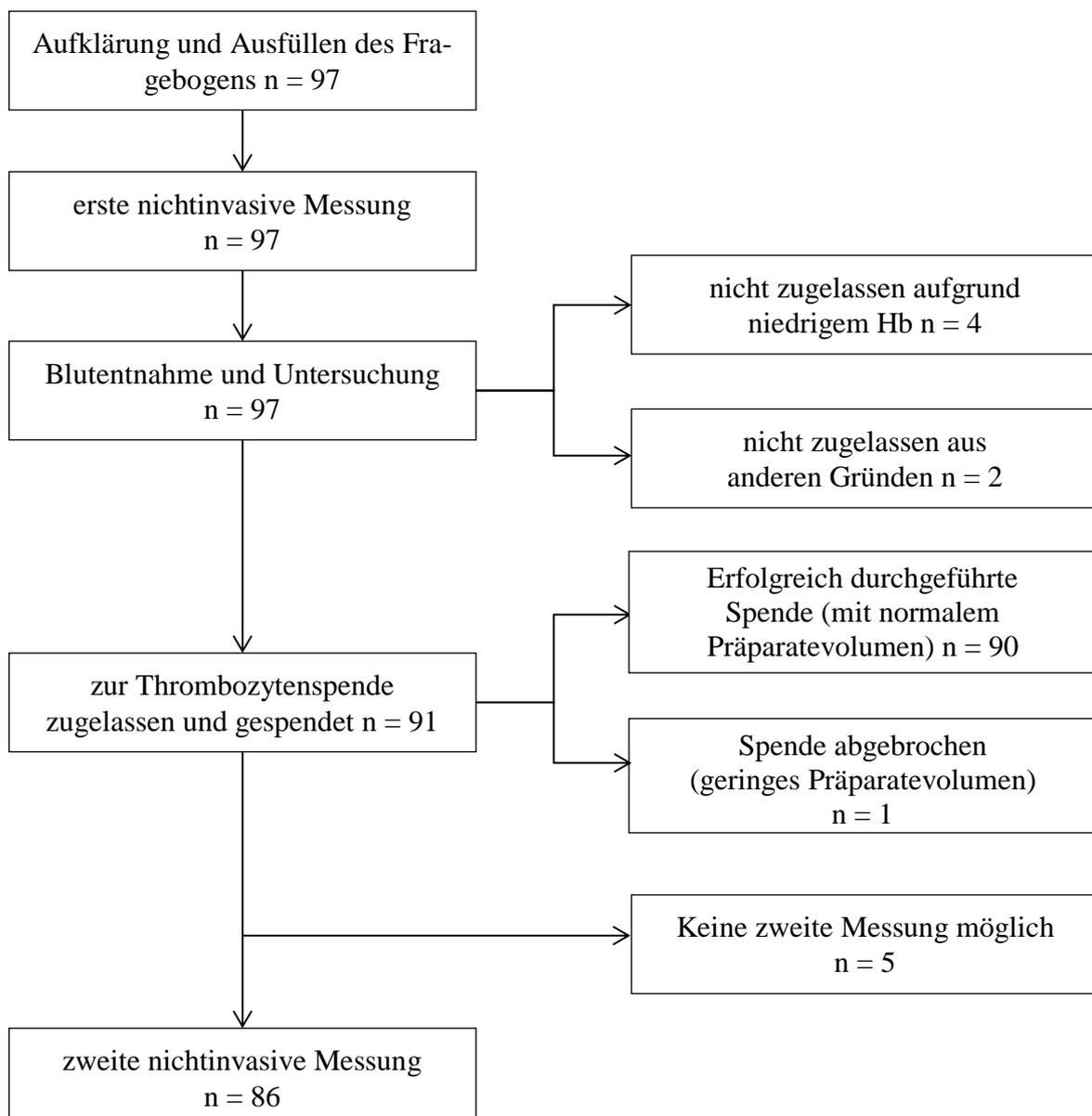


Abbildung 1: Schema des Untersuchungsablaufs mit der entsprechenden Anzahl (n) vollständiger Datensätze.

2.3 Geräte

2.3.1 CELLDYN Emerald

Als Referenzgerät in dieser Datenerhebung diente das Analysegerät CELL-DYN Emerald von Abbott Laboratories. Dabei handelt es sich um einen kompakten Hämatologie Analyzer für den Gebrauch bei mittelgroßem Probenaufkommen. Er ermöglicht die quantitative Messung der folgenden Parameter:

Abkürzung	Messparameter
WBC	Leukozyten
NEU%, NEU#	Neutrophile Granulozyten als absolute Konzentration (/µl) und Anteil an den Gesamtleukozyten
LYM%, LYM#	Lymphozyten als absolute Konzentration (/µl) und Anteil an den Gesamtleukozyten
MON%, MON#	Monozyten als absolute Konzentration (/µl) und Anteil an den Gesamtleukozyten
EOS%, EOS#	Eosinophile Granulozyten als absolute Konzentration (/µl) und Anteil an den Gesamtleukozyten
BAS%, BAS#	Basophile Granulozyten als absolute Konzentration (/µl) und Anteil an den Gesamtleukozyten
RBC	Konzentration der Erythrozyten
HGB	Hämoglobinkonzentration
HCT	Hämatokrit
MCV, MCH, MCHC, RDW	Erythrozytenparameter und Erythrozytenverteilungsbreite
PLT	Konzentration der Thrombozyten
MPV	Durchschnittliches Thrombozytenvolumen

Tabelle 1: Messparameter des Analysegeräts CELLDYN Emerald

Das Gerät greift dabei auf drei unterschiedliche Messprinzipien zurück: Impedanzmessung, Durchflusszytometrie und Absorptionsspektrophotometrie.

Die Zählung der korpuskulären Partikel (Zellen in einer leitenden Flüssigkeit) basiert auf der Veränderung der elektrischen Impedanz. Eine Zelle, die durch eine kleine Kapillare geführt wird, verursacht eine messbare Veränderung, die proportional zu Größe und Volumen der Zelle ist.

Mit Hilfe der Durchflusszytometrie, werden die Zellen weiter differenziert. Dabei wird die verdünnte Probe mit einem Laser bestrahlt und durch verschieden angeordnete Dioden das Vorwärts- und Seitwärtsstreulicht gemessen. Diese Messwerte ermöglichen dann eine genauere Differenzierung der Zellen.

Die Bestimmung des Gesamthämoglobingehaltes erfolgt nach dem Prinzip der Cyano-hämoglobinmethode. Hierbei wird eine Lyse der Erythrozyten herbeigeführt um anschließend das freigesetzte Hämoglobin (Fe^{2+}) mit Kaliumcyanid zu Hämoglobin (Fe^{3+}) zu oxidieren (THOMAS, 1998a). Hämoglobin hat ein charakteristisches Absorptionsspektrum bei 540nm welches mit einer LED Lichtquelle und einem Photodetektor gemessen werden kann. Das Gerät führt eine Leerwertmessung durch und errechnet aus der gemessenen Absorption die Hämoglobinkonzentration der Probe (U.S. Food and Drug Administration 2011).

Das International Council for Standardisation in Haematology empfiehlt diese Art der quantitativen Hämoglobinbestimmung als Referenzmethode für Routinemessungen beim Menschen (Zwart et al. 1996). Des Messergebnis kann in mmol/ oder g /dl angegeben werden.

Dieses Gerät hat sich bereits in vielen Anwendungsbereichen bewährt, sodass ausreichende und belastbare Daten zu Präzision und Richtigkeit der Messungen vorliegen (Khoo et al. 2013).

2.3.2 NBM 200

Mit dem Gerät NBM200 der Firma LMB kann der Hämoglobin Gehalt der potentiellen Spender nichtinvasiv durch die Haut gemessen werden. Es besteht aus einer Bedien- und Recheneinheit und einer kabelgebundenen, ringförmigen Sensoreinheit, die am Daumen angebracht wird. Mittels einer pneumatischen Fingermanschette wird kurzzei-

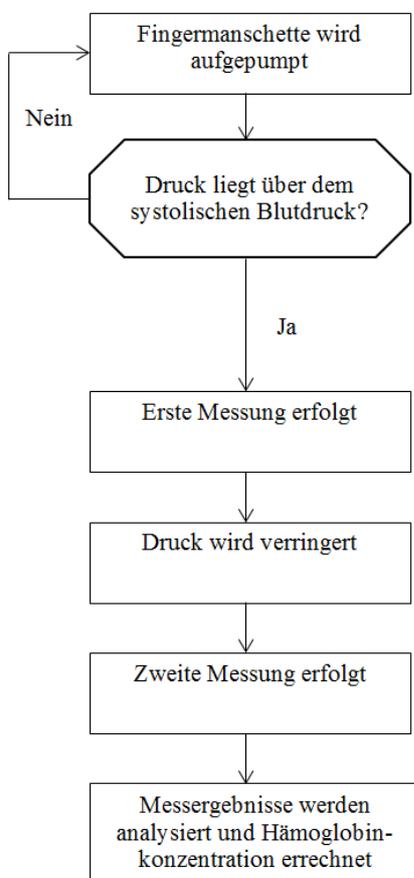


Abbildung 2: Ablaufschema einer Messung (modifiziert nach Fine 2002)

tig der lokale Blutfluss angehalten indem der Druck der Manschette für 5 Sekunden auf ca. 220 mmHg erhöht wird. Anschließend wird der erste optische Messvorgang gestartet. Ein Lichtstrahl wird dabei durch das aufgestaute Blut im Finger abgeschwächt. Der Sensor nimmt innerhalb von 5 Sekunden bei zahlreichen Einzelmessungen die Intensität und Wellenlänge (im Wellenbereich von 600 bis 940nm) des detektierten Lichts wahr (Glisic 2015).

Anschließend wird durch ein Ventil der Druck aus der Manschette abgelassen. Eine Blutzirkulation ist wieder ungehindert möglich. Im Anschluss wird eine zweite Messreihe analog zur ersten gestartet. Die gesammelten Daten aus beiden Messreihen werden an die vorkalibrierte Recheneinheit weitergegeben, die daraus eine Hämoglobinkonzentration berechnet. Ein Messvorgang dauert etwa 90 Sekunden und misst neben der Hämoglobinkonzentration auch die Pulsrate (Fine 2002).

Die Bedienung des Gerätes ist einfach gehalten. Nach dem Einschalten erfolgt ein automatischer Selbsttest des Gerätes und bereits nach einigen Sekunden ist die erste Messung möglich. Dazu wird lediglich das Geschlecht des Probanden eingegeben und mittels Startknopf die Messung begonnen. Nach dem Messvorgang wird die Hämoglobinkonzentration und Pulsrate auf dem Display angezeigt. Mit einem Gewicht von ca. 1kg ist das Gerät leicht zu transportieren.

Die Vorteile der nichtinvasiven Messung liegen klar in der Anwendung und im Patientenkomfort. Für eine Bestimmung der Hämoglobinkonzentration ist damit keine Punkti-

on mehr notwendig. Der damit verbundene Schmerz entfällt völlig; ebenso das Infektionsrisiko, wie bei einer venösen oder kapillären Punktion möglich. Mit ca. 90 Sekunden für eine Patientenmessung arbeitet das Gerät zudem vergleichsweise schnell.

Für den Messbereich der Hämoglobinkonzentration von 3,7-11,2 mmol/l beschreibt der Hersteller (LMB Technologie GmbH, Schwaig, Deutschland) eine Präzision von $\pm 0,75$ mmol/l (Glisic 2015). Bei der Pulsrate wird ein Messbereich von 30-240 bpm (bei ± 3 bpm) angegeben.



Abbildung 3: Hämoglobin Messgerät NBM200 der Firma LMB. Foto mit freundlicher Genehmigung der Firma LMB zur Verfügung gestellt.

2.4 Berechnung zusätzlicher Werte

BMI

Der Body-Mass-Index hat sich in der Medizin bewährt, um das Gewicht in Relation zur Körpergröße zu beurteilen. Dabei wurde das Gewicht des Spenders (in kg) durch das Quadrat der Körpergröße (in m) geteilt (Yumuk et al. 2015).

Blutvolumen

Des Weiteren wurde noch das Individuelle Blutvolumen eines jeden Probanden errechnet. Dazu wurde die Formel nach Nadler (Kretschmer et al. 2008) genutzt:

$$\text{Blutvolumen [ml]}(\text{Männer}) = \left(\begin{array}{l} 0,3669 * \text{Körpergröße}^3 [\text{m}^3] \\ + 0,03219 * \text{Körpergewicht [kg]} \\ + 0,6041 \end{array} \right) * 1000$$

Formel 1: Blutvolumen der Männer nach Nadler in ml.

$$\text{Blutvolumen [ml]}(\text{Frauen}) = \left(\begin{array}{l} 0,3561 * \text{Körpergröße}^3 [\text{m}^3] \\ + 0,03308 * \text{Körpergewicht [kg]} \\ + 0,1833 \end{array} \right) * 1000$$

Formel 2: Blutvolumen der Frauen nach Nadler in ml.

2.5 Statistische Methoden

Die statistische Auswertung der Daten erfolgt mit dem Programm SPSS Statistics 22 für Windows von IBM. Sämtliche Testentscheidungen basieren auf einen Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$.

3 Ergebnisse

3.1 Patienten

Die Untersuchung fand von April 2014 bis zum Januar 2015 im Routinebetrieb des Instituts für Transfusionsmedizin der Otto-von-Guericke Universität statt. In dieser Zeit nahmen insgesamt 97 freiwillige, zufällig ausgewählte Thrombozytenspender im Alter von 18 bis 63 Jahre an der Studie teil. Eine Vorselektion fand dabei nicht statt. Es nahmen sowohl Erstspender – vor der ersten Thrombozytenkonzentratspende fand im Mindestabstand von vier Wochen eine Vollblutspende statt – wie auch Wiederholungsspender teil.

Aufgrund der Rahmenbedingungen ist davon auszugehen, dass das Probandenkollektiv klinisch gesund ist. Außerdem wurde sichergestellt, dass jeder Proband im Zeitraum der Untersuchungen jeweils nur einmal an der Studie teilnehmen kann.

Geschlecht

Der überwiegende Teil der untersuchten Thrombozytenspender (m = 77,3 %; w = 22,3 %) war männlich. Das entspricht in etwa dem lokalen Kollektiv der Thrombozytenspende.

Alter

Das Durchschnittsalter der freiwilligen Spender betrug zum Zeitpunkt der Spende etwa 42,5 Jahre. Der jüngste Spender war 18, der älteste 63 Jahre.

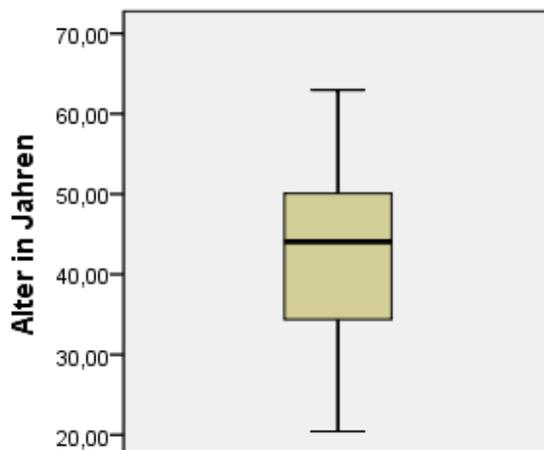


Abbildung 4: Boxplotdiagramm der Altersverteilung aller Spender in Jahren.

Größe und Gewicht

Zudem wurde auf dem Fragebogen auch Gewicht und Größe abgefragt: Die durchschnittliche Größe der Spender betrug 178 cm (min: 156, max: 204 cm), das durchschnittliche Gewicht 85 kg (min: 56 kg, max.: 120 kg).

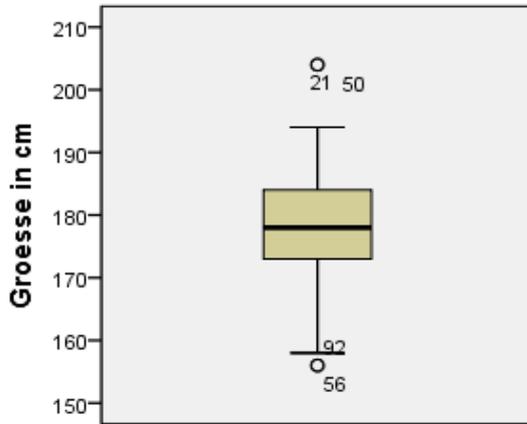


Abbildung 5: Boxplotdiagramm der Verteilung der Körpergröße in cm.

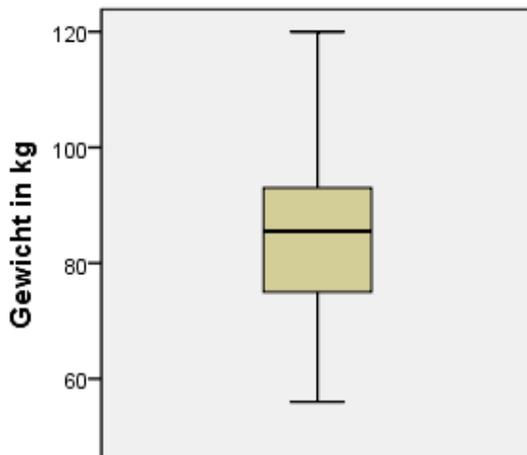


Abbildung 6: Boxplotdiagramm der Verteilung des Körpergewichts in kg.

BMI

Der durchschnittliche Body-Mass Index (BMI, Gewicht in kg geteilt durch Größe in m im Quadrat) lag bei 26,87.

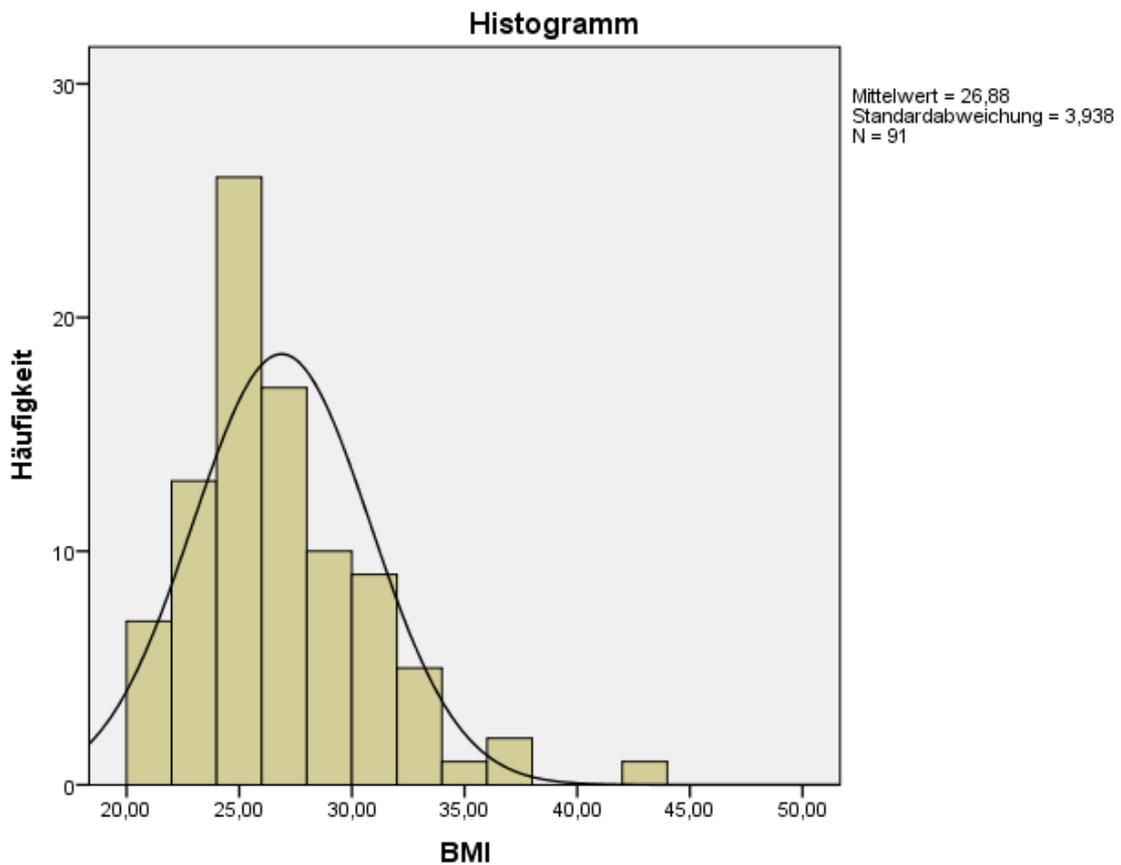


Abbildung 7: Histogramm der Häufigkeitsverteilung nach BMI mit Normalverteilungskurve nach Gauss.

Legt man die BMI Einteilung mit einem Normwert von 20-25 zugrunde (Berrington de Gonzalez et al. 2010) waren 30 Spender (33 %) im Normbereich. Unter dem Normbereich (BMI < 25) war kein Spender, über dem Normbereich waren 61 Spender (67 %). Die untersuchte Gruppe war im Durchschnitt also leicht übergewichtig. Dabei ist zu beachten, dass ein zu niedriges Gewicht für die Thrombozytenspende aufgrund von damit verbundenen Kreislaufproblemen eher unerwünscht ist.

Blutvolumen

Das nach Nadler errechnete Blutvolumen lag geschlechterübergreifend zwischen 3550 ml und 6720 ml Blut. Der Mittelwert betrug 5323 ml.

Trinkmenge

Die Trinkmenge während der Spende variierte sehr stark. Einige Spender verzichteten komplett auf Getränke, während andere bis zu 2 Liter Flüssigkeit während der Spende zu sich nahmen. Die durchschnittliche Trinkmenge lag bei ca. 430 ml. Dabei wurde die Art der Getränke nicht berücksichtigt.

Spendeprotokoll

Zur späteren Datenanalyse wurden aus dem Spendeprotokoll noch weitere Parameter ausgewertet. Dazu zählten:

- Hämatokrit vor Spende und nach der Spende sowie dessen Differenz
- Thrombozytenkonzentration vor und nach der Spende
- Volumen und ACD-Gehalt des entstanden Präparats
- Gesamtverbrauch und Menge an infundiertem ACD.

Diese Daten stammen ausschließlich aus den Spendeprotokollen, die während der Spende von dem diensthabenden Fachpersonal angefertigt wurden. Grundlage dafür bildeten die ermittelten Messwerte des Zellseparators. Zum Zeitpunkt der Untersuchung waren drei unterschiedliche Modelle gleichzeitig in Betrieb. Aufgrund dessen unterschieden sich auch die angefertigten Protokolle in Bezug auf die aufgeführten Messwerte. Leider konnte nicht jedes Modell die gleichen Messwerte ermitteln, sodass sich die Fallzahlen bei einigen wenigen Parametern unterscheiden.

Deskriptive Statistiken

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
HK vor der Spende	64	37,8	55,0	45,292	3,4519
HK nach der Spende	48	38	52	45,96	3,108
HK Differenz	48	-,90	2,00	,8396	,63102
Thrombozyten vor Spende in Tsd./ μ l	64	207	425	291,66	49,514
Thrombozyten nach Spende in Tsd./ μ l	64	103	318	197,92	46,800
ACD an Spender in ml	82	33	538	343,60	86,186
ACD im Präparat in ml	63	30	198	75,79	26,246
Separationsvolumen in ml	66	155	6564	3828,95	948,032
ACD Gesamtverbrauch in ml	91	46	657	434,47	101,476
Präparatevolumen in ml	90	219	486	435,13	52,357

Tabelle 2: Datensätze aus dem Spendeprotokoll

Messergebnisse:

Grundlage für den Vergleich der herkömmlich bewährten, invasiven Methode mit der nichtinvasiven Methode waren die nahezu zeitgleich erhobenen Datensätze beider Messmethoden. Das genaue Vorgehen wurde im Material und Methoden Teil beschrieben.

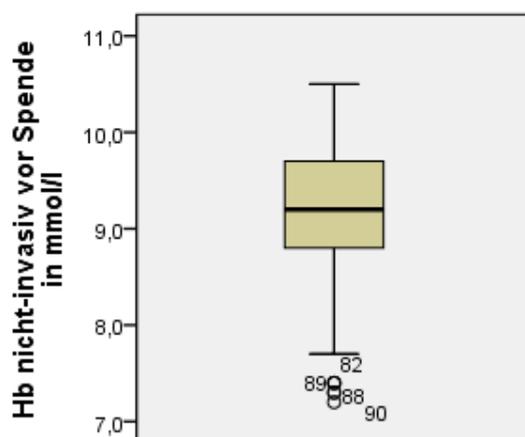


Abbildung 8: Boxplotdiagramm der Hämoglobinkonzentration nichtinvasiv in mmol/l.

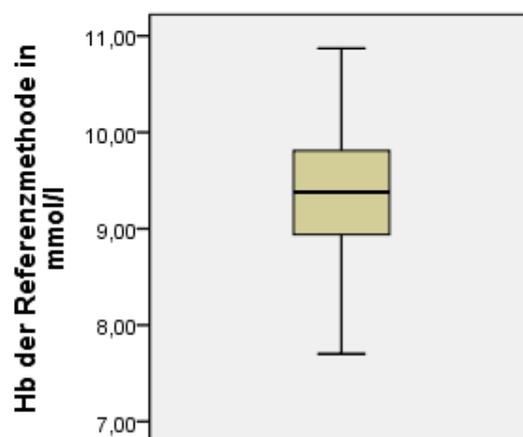


Abbildung 9: Boxplotdiagramm der Hämoglobinkonzentration der Referenzmethode in mmol/l

Der statistische Mittelwert der nichtinvasiven Messungen betrug 9,144 mmol/l (95 % CI: 8,898 - 9,300). Die Standardabweichung betrug 0,7726 mmol/l. Die Verteilung der Messwerte folgte weitgehend der Normalverteilung.

Auch die Messwerte der invasiven Methode waren weitgehend normalverteilt: der Mittelwert war mit 9,2974 mmol/l (CI: 9,1485 - 9,4464) etwas höher als der nicht invasive. Die Standardabweichung betrug 0,73908 mmol/l.

Damit waren die Voraussetzungen für eine weitere statistische Auswertung gegeben.

3.2 Statistische Auswertung der Messergebnisse

3.2.1 Diagramm zum Vergleich von nichtinvasiv und Referenzmethode

Um einen ersten Überblick über den Zusammenhang zwischen den nichtinvasiv gemessenen und den herkömmlich gemessenen Werte zu erhalten, wurden die Messwertpaare in einem Diagramm gegeneinander aufgetragen:

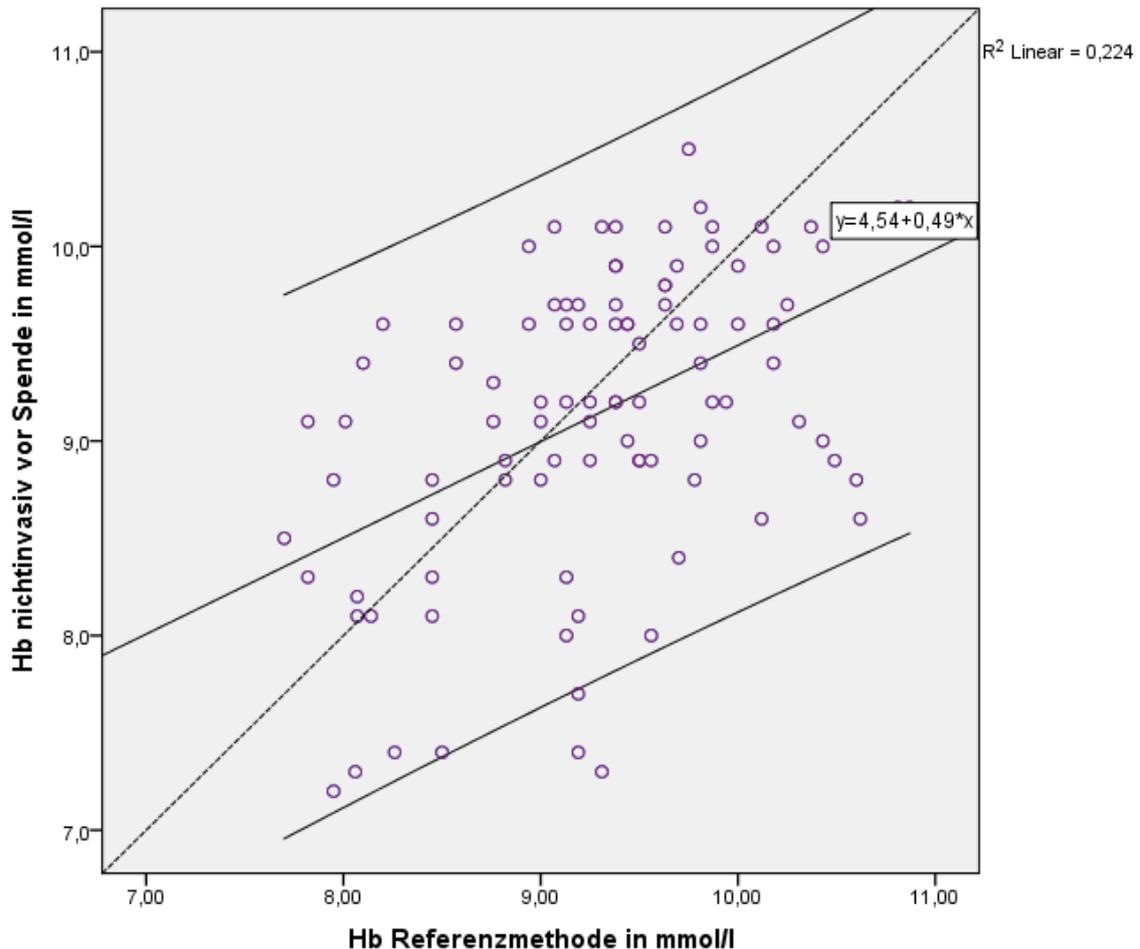


Abbildung 10: Diagramm der nichtinvasiven Hämoglobinkonzentration und der Hämoglobinkonzentration des Referenzverfahrens in mmol/l

Auf der X-Achse wurden die Messwerte des Referenzverfahrens in mmol/l aufgetragen, auf der y-Achse die Werte des nichtinvasiven Verfahrens. Die gestrichelte Linie beschreibt dabei einen perfekten linearen Zusammenhang ($x=y$), während die durchgezogene, mittlere Linie den ermittelten linearen Zusammenhang mit den zugehörigen 95 % Konfidenzintervallen darstellt.

In dieser Grafik lässt sich bereits erkennen, dass die beiden Messverfahren Unterschiede aufweisen. Tendenziell wurden beim nichtinvasiven Messverfahren im unteren Hb-bereich (< 9 mmol/l) höhere Werte gemessen als in der Referenzmethode. Im oberen Messbereich (>9 mmol/l) waren die Werte der nichtinvasiven Methode tendenziell niedriger als die der Referenzmethode.

Außerdem ist ersichtlich, dass die Streubreite der Messpunkt relativ groß ist. Damit erscheint auch der Konfidenzintervall (oberste und unterste Linie) recht breit.

3.2.2 t-Test

Da die Korrelation in den vorrangigen Analysen eher gering erschien, wurde ein zweiseitiger t-Test durchgeführt. Dabei sollte untersucht werden, ob sich die Mittelwerte der beiden Messverfahren statistisch signifikant unterscheiden. Damit sollten systematische Messfehler im nichtinvasiven Verfahren ausgeschlossen werden.

Statistik für Stichproben mit paarigen Werten

		Mittelwert	H	Standardabweichung	Standardfehler Mittelwert
Paar 1	Hb nichtinvasiv vor Spende	9,144	97	,7726	,0784
	Hb Referenzmethode	9,2974	97	,73908	,07504

Tabelle 3: Mittelwerte beider Messverfahren in mmol/l

Test für Stichproben mit paarigen Werten

	Paarige Differenzen					t	df	Sig. (2-seitig)
	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler Mittelwert	95 % Konfidenzintervall der Differenz				
				Unterer	Oberer			
Paar 1 Hb nichtinvasiv vor Spende – Hb Referenzmethode	-,15309	,77627	,07882	-,30955	,00336	-1,942	96	,055

Tabelle 4: zweiseitiger t-Test.

Bei dem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$ wird die Nullhypothese (Mittelwerte sind gleich) üblicherweise verworfen. Hier betrug das Signifikanzniveau 0,055. Es konnte also kein signifikanter Unterschied der Mittelwerte beider Messungen gefunden werden. Dieses Ergebnis spricht gegen einen systematischen Messfehler.

Korrelationen für Stichproben mit paarigen Werten

		H	Korrelation	Sig.
Paar 1	Hb nichtinvasiv vor Spende & Hb Referenzmethode	97	,473	,000

Tabelle 5: Korrelation.

Aufgefallen ist, dass die Korrelation der Stichproben mit 0,473 eher gering war.

3.2.3 Bland-Altman-Diagramm

Zur graphischen Darstellung wurde ein Bland-Altman-Diagramm angefertigt. Es handelt sich dabei um eine visuelle Darstellungsmethode für den Vergleich zweier Messmethoden und hat sich insbesondere für die Konkordanzanalyse bewährt. Diese Art der Darstellung gewährt einen guten Überblick über systematische Messfehler, Schwankungsbreite und den Zusammenhang von Streuung und Höhe der Werte (Bland und Altman 1986).

Dazu wurde die Differenz der aller vollständigen Messwertpaare (n=97) gebildet und gegen den Mittelwert aufgetragen:

$$S(x, y) = \left(\frac{S_{invasiv} + S_{nichtinvasiv}}{2}, S_{invasiv} - S_{nichtinvasiv} \right)$$

Formel 3: Bland-Altman-Diagramm.

Die Differenzen schwanken erwartungsgemäß um den Nullwert, der Mittelwert ist leicht positiv und beträgt + 0,1531 mmol. Die Spannbreite liegt dabei zwischen - 1,4 mmol und + 2,02 mmol.

Des Weiteren wurde zu jedem der Messpaare ein zugehöriger Mittelwert gebildet.

Zur visuellen Betrachtung werden die errechneten Differenzen auf der Y-Achse aufgetragen. Die zugehörigen Mittelwerte bilden die X-Achse. Die Interpretation wird durch drei horizontale Hilfslinien erleichtert. Die jeweils oberste und unterste Linie beschreibt die Konfidenzintervalle, in denen 95 % der zukünftig zu messenden Differenzen zu erwarten wären.

$$\text{Mittelwert der Differenzen} = \pm 1,96 * \text{Standardabweichung}$$

Formel 4: Konfidenzintervalle im Bland-Altman-Diagramm.

Die mittlere Linie veranschaulicht den Mittelwert der Differenzen.

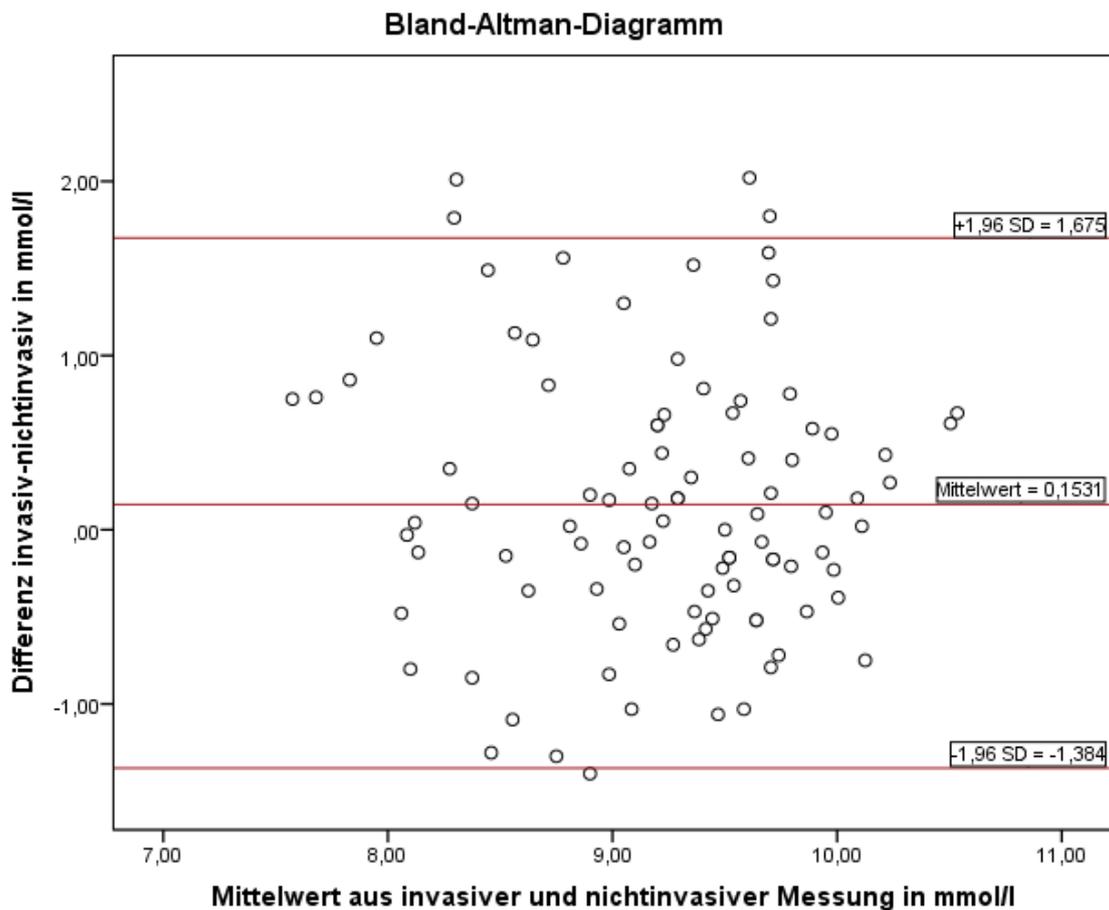


Abbildung 11: Bland-Altman-Diagramm.

In diesem Diagramm konnte gezeigt werden, dass die beiden Messmethoden im Mittel nur um +0,1531 mmol voneinander abweichen. Dieser relativ geringe Wert in der Abweichung der Mittelwerte und die gleichmäßige und symmetrische Verteilung der Punkte sprechen gegen einen systematischen Messfehler.

Aufgefallen ist jedoch das verhältnismäßig große Konfidenzintervall ($\alpha = 0,05$) mit [-1,384; +1,675 mmol/l].

95 % der zukünftig zu erwarteten Messwerte weichen demnach bis zu -1,4 mmol/l nach unten bzw. +1,7 mmol/l nach oben von der eingesetzten Referenzmethode ab. Diese relativ breite Streuung ist auch nicht durch einzelne Ausreißer zu erklären.

3.2.4 Kontingenztafel

Um die Validität der neuen Methode in der vorliegenden Spender-Population darzustellen, wurde eine Kontingenztafel erstellt. Sie stellt die absoluten und relativen Häufigkeiten der zugelassenen und nicht zugelassenen Spender in Abhängigkeit von der Messmethode dar (Hilgers et al. 2007). Als entscheidendes Kriterium wurde die Hämoglobinkonzentration genommen, die für eine Zulassung zur Spende notwendig war. Die erforderliche Konzentration betrug den Richtlinien entsprechend für männliche Spender 8,4 mmol/l, für Frauen 7,8 mmol/l.

			Referenzmethode		Gesamtsumme
			nicht zugelassen	zugelassen	
nicht-invasiv	nicht zugelassen	Anzahl	1	10	11
	zugelassen	% des Gesamtergebnisses	1,0 %	10,3 %	11,3 %
	zugelassen	Anzahl	3	83	86
		% des Gesamtergebnisses	3,1 %	85,6 %	88,7 %
Gesamtsumme		Anzahl	4	93	97
		% des Gesamtergebnisses	4,1 %	95,9 %	100,0 %

Tabelle 6: Kontingenztafel nichtinvasiv und Referenzmethode.

Da sich die nichtinvasive Messmethode zum Zeitpunkt der Studie noch im Evaluationsverfahren befand, wurde im Routinebetrieb der Wert der Referenzmethode als Entscheidungskriterium für die Spendetauglichkeit herangezogen. Es wurden insgesamt 93 Spender (95,9 %) zugelassen, 4 Spender (4,1 %) erreichten die notwendige Hämoglobinkonzentration nicht und wurden daher nicht zur Spende zugelassen.

Anhand der Messergebnisse der nichtinvasiven Methode wären 86 Spender (88,7 %) zugelassen worden. 11 Spender (11,3 %) hätten nicht zur Spende zugelassen werden dürfen.

Der überwiegende Teil der Spender (83 Spender, 85,6 %) wurden bei beiden Messmethoden übereinstimmend als spendetauglich identifiziert. Ein Spender (1,0 %) wurde bei beiden Messmethoden übereinstimmend abgelehnt. Insgesamt stimmten die Entschei-

dungen also bei 84 Spendern (86,6 %) überein. Bei 13 Spendern (13,4 %) kamen die beiden Messmethoden zu unterschiedlichen Ergebnissen mit daraus folgenden Zulassungsentscheidungen.

In zehn Fällen (10,3 %) ermittelte die nichtinvasive Methode zu niedrige Werte. Diese Spender wurden dann, dem Referenzverfahren entsprechend, doch zur Spende zugelassen (falsch positiv). Im Gegensatz dazu wären 3 Spender (3,1 %) im nicht invasiven Verfahren zugelassen worden, die in der Referenzmethode abgelehnt wurden (falsch negativ).

Anhand dieser Ergebnisse wurde Sensitivität und Spezifität der nicht invasiven Methode errechnet (Weiß und Rzany 2008):

$$\text{Sensitivität} = \frac{\text{richtig positiv}}{\text{richtig positiv} + \text{falsch negativ}}$$

Formel 5: Sensitivität.

Die Sensitivität beschreibt den Anteil der korrekt abgewiesenen Spender an der Gesamtheit der (in der Referenzmethode) nicht zugelassenen Spender an. Sie betrug 0,25.

$$\text{Spezifität} = \frac{\text{richtig negativ}}{\text{falsch positiv} + \text{richtig negativ}}$$

Formel 6: Spezifität.

Die Spezifität beschreibt den Anteil an korrekt zugelassenen Spendern an der Gesamtheit der (in der Referenzmethode) zugelassenen Spender. Sie betrug 0,89.

Neben Sensitivität und Spezifität zählen auch der positive und negative prädiktive Wert zu den elementaren statistischen Kennzahlen um einen neuen Test zu charakterisieren. Der positive prädiktive Wert (PPV) beschreibt den Anteil der korrekt von der Spende ausgeschlossenen Personen von der Gesamtmenge der (mit der neuen Methode) ausgeschlossenen Spender (Weiß und Rzany 2008). Er betrug hier: 0,09.

$$\text{positiver prädikativer Wert} = \frac{\text{richtig positiv}}{\text{richtig positiv} + \text{falsch positiv}}$$

Formel 7: positiver prädiktiver Wert.

Im Gegensatz dazu beschreibt der negative prädiktive Wert (NPV) den Anteil der korrekt als tauglich identifizierten Personen an der Gesamtheit der (in der neuen Methode) tauglichen Spender. Er betrug hier: 0,97.

$$\text{negativer prädiktiver Wert} = \frac{\text{richtig negativ}}{\text{richtig negativ} + \text{falsch negativ}}$$

Formel 8: negativer prädiktiver Wert.

3.2 Statistische Auswertung der Hb-Veränderung bei Thrombozytenspende

Die erste nichtinvasive Messung fand vor der Thrombozytenspende statt, um die Spendetauglichkeit sicherzustellen. Zusätzlich dazu wurde unmittelbar nach erfolgreicher Thrombozytenspende noch eine zweite nichtinvasive Messung durchgeführt. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Rahmenbedingungen (gleicher Daumen, gleicher Untersucher) sich nicht verändern. Bei 11 Personen der ursprünglich 97 Teilnehmer konnte keine Thrombozytenspende durchgeführt werden. Eine zweite Messung erfolgte hier nicht. Insgesamt lagen demnach 86 vollständige, zusammengehörige Messwertpaare vor.

Nichtinvasive Messungen			
		Hb vor Spende	Hb nach Spende
N	Gültig	97	86
	Fehlend	0	11
Mittelwert		9,144	9,036
Median		9,200	9,200
Perzentile	25	8,800	8,700
	50	9,200	9,200
	75	9,700	9,600

Tabelle 7: Statistische Parameter.

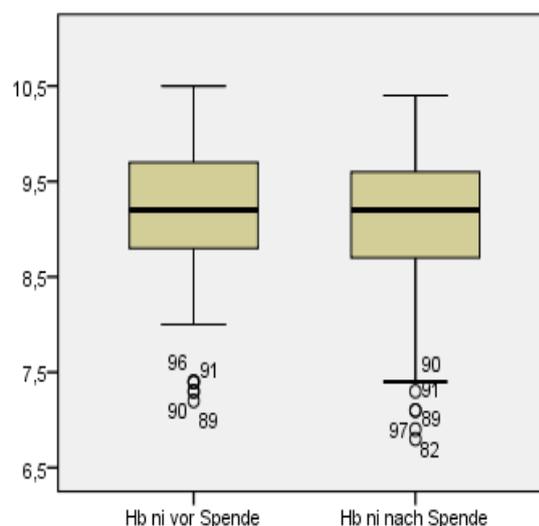


Abbildung 12: Boxplotvergleich der Hämoglobinkonzentration vor und nach Spende in mmol/l.

Bei der Betrachtung der Verteilung der Messwerte ließen sich auf den ersten Blick keine größeren Unterschiede feststellen. Um jedoch zu untersuchen, ob sich die gemessene Hämoglobinkonzentration während der Spende verändert hat, erschien es sinnvoll, zuerst die Mittelwerte zu betrachten. Dabei fiel eine geringe Abnahme des Mittelwerts von 0,141 mmol/l zwischen den beiden Messungen auf. Im nachfolgenden gepaarten t-Test konnte gezeigt werden, dass sich die Hämoglobinkonzentration während der Spende signifikant verändert ($p < 0,05$).

Test für Stichproben mit paarigen Werten

	Paarige Differenzen					t	df	Sig. (2-seitig)
	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler Mittelwert	95% Konfidenzintervall der Differenz				
				Unterer	Oberer			
vor Spende – nach Spende	,1407	,6061	,0654	,0107	,2707	2,153	85	,034

Tabelle 8: t-Test vor und nach Spende.

Als Ursache für die beobachtete Abnahme der Hämoglobinkonzentration kamen zahlreiche Faktoren in Frage. In einer explorativen Datenanalyse wurde versucht, einen statistischen Zusammenhang mit diesen Parametern zu finden.

Getestet wurde auf eine Korrelation zwischen der Abnahme der Hämoglobinkonzentration und folgenden Parametern:

- Hämoglobinkonzentration vor Spende (und nach der Spende)
- Hämatokrit vor Spende und nach der Spende sowie dessen Differenz
- Trinkmenge während der Spende
- Thrombozytenkonzentration vor und nach der Spende
- Volumen und ACD-Gehalt des entstanden Präparats
- Alter, Größe, Gewicht und errechnetes Blutvolumen des Spenders
- Gesamtverbrauch und Menge an infundiertem ACD

Ein statistisch signifikanter Zusammenhang konnte jedoch nur bei Hb und Hk Konzentration jeweils vor und nach der der Spende festgestellt werden. Ein hoher Hb ($>9\text{mmol/l}$) vor der Spende sprach eher für eine Abnahme der Hämoglobinkonzentration während der Spende. Eine hoher Hb ($>9,6\text{ mmol/l}$) nach der Spende deutete auf eine Zunahme hin. Da Hämoglobinkonzentration und Hämatokrit physiologisch direkt miteinander korrelieren, war ein analoger Zusammenhang zu erwarten.

Im Institut für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie wurden zum Zeitpunkt der Studie drei unterschiedliche Zellseparatoren eingesetzt. Dazu zählten „COBE Spectra®“ und „Trima Accel®“ von Terumo BCT sowie „COM.TEC®“ von Fresenius-Kabi.

Deskriptive Statistiken

Abhängige Variable: Hb Differenz vor-nach

Gerät	Mittelwert	Standardabweichung	H
Cobe Spectra	-,140	,7691	10
Com.Tec	-,195	,6108	20
Trima Accel	-,121	,5836	56
Gesamtsumme	-,141	,6061	86

Tabelle 9: Abhängigkeit der Hb-Differenz vom Zellseparator.

Bei allen drei Geräten fiel die Hämoglobinkonzentration während der Spende ab. Die Hämoglobinkonzentration sank am stärksten bei COM.TEC und am geringsten bei der Trima Accel. Die Unterschiede im Mittelwert waren jedoch zu gering, um bei den ebenfalls geringen Fallzahlen von einem statistisch signifikanten Ergebnis zu sprechen. Zudem waren die Fallzahlen für die drei Gerätegruppen zu unterschiedlich, um sie belastbar miteinander zu vergleichen. Ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem verwendeten Gerät und dem Ausmaß des Abfalls der Hämoglobinkonzentration konnte in dieser Arbeit nicht hergestellt werden.

4. Diskussion

4.1.1 Zusammenfassung der Vergleichsmessung

In dieser Studie wurde das neue nichtinvasive Hämoglobin Messgerät (NBM200) im Routinebetrieb des Instituts für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie der Otto-von-Guericke-Universität im Vergleich zu dem bisherigen Referenzmodell (Abbott Emerald) evaluiert. Es sollte gezeigt werden, dass bei unbestreitbaren Vorteilen in der Anwendung und im Patientenkomfort, auch die erhobenen Messwerte valide und belastbar sind. Dazu wurden der nichtinvasiv gemessene Hämoglobinwert und der venöse Hämoglobinwert bei 97 potentiellen Spendern miteinander verglichen. In der statistischen Analyse zeigten sich jedoch nur moderate Übereinstimmungen der beiden Messverfahren. Systematische Messfehler des nichtinvasiven Gerätes konnten ausgeschlossen werden. Ein statistisch signifikanter Zusammenhang der Messabweichung mit den erhobenen Spenderdaten konnte nicht gefunden werden. Insgesamt erschien die nichtinvasive Messmethode bezüglich Genauigkeit und Präzision der Referenzmethode unterlegen.

4.1.2 Evaluation der Messmethoden

Präklinische Fehlermöglichkeiten

Zu den häufigsten Ursachen von Messfehlern zählen Fehler und Probleme in der Probengewinnung und Probenbehandlung (Guder et al. 2008). Durch standardisiertes Vorgehen, insbesondere bei der Probengewinnung wurde versucht, die Fehlermöglichkeiten zu minimieren. Die venöse Blutentnahme erfolgte nach den Regeln der ärztlichen Kunst durch den zuständigen Arzt nach einer kurzen orientierenden Untersuchung. Aus organisatorischen Gründen konnte jedoch nicht sichergestellt werden, dass alle Blutentnahmen durch den gleichen Arzt durchgeführt wurden.

Die Proben wurden nach kurzer Lagerung (unter 1h) bereits durch das routinierte Fachpersonal analysiert. Die Materialien für die Blutentnahme waren bei allen Spendern identisch.

Die Analyse einer kapillären Blutprobe wäre ebenfalls denkbar gewesen, wurde aber aufgrund der zusätzlichen Nachteile verworfen. Für die Thrombozytenspende waren neben dem Hämoglobinwert noch andere Parameter aus der venösen Blutprobe notwendig. Eine kapilläre Punktion wäre also nur zusätzlich zur Blutentnahme möglich gewesen. Da keinerlei Mehrwert zu erwarten war, wurde auf den Aufwand und die zusätzliche Beeinträchtigung der Spender verzichtet. Zudem wären durch die Analyse von kapillären Blutproben weitere Fehlermöglichkeiten hinzugekommen.

Fehlermöglichkeiten des Referenzverfahrens

Das in dieser Studie benutzte Referenzverfahren war die Cyanohämoglobinmethode. Diese wurde mit Hilfe des Analysegeräts „CELL-DYN Emerald“ durchgeführt, welches auch im Routinebetrieb die Hämoglobinkonzentrationen für potentielle Spender ermittelt. Es handelte es sich dabei um einen professionellen und weit verbreiteten Hämatologie Analyser von Abbott Laboratories. Durch ständige interne und externe Qualitätssicherungsmaßnahmen konnten valide Messergebnisse sichergestellt werden. Die Bedienung erfolgte durch ausgebildetes Fachpersonal. Bei der Auswahl der Referenzmethode wurde darauf geachtet, dass es sich um ein Verfahren handelt, welches sich bereits bewährt hat und wissenschaftlich evaluiert ist (Khoo et al. 2013). Um einen direkten Vergleich mit dem neuen Verfahren zu ermöglichen wurde das Messverfahren als Referenz gewählt, welches die gleichen Aufgaben bereits zufriedenstellend erfüllt. Sowohl das zu testende Gerät wie auch das Referenzgerät sollten für ähnliche Einsatzbereiche konzipiert sein.

Fehlermöglichkeiten NBM200

Auch bei den nichtinvasiven Messungen wurde konsequent versucht, Fehlermöglichkeiten so gering wie möglich zu halten. Alle Messungen wurden durch die gleiche geschulte Person vorgenommen. Auch mögliche Störfaktoren wie Unterschiede im Ablauf oder schwankende Umgebungsbedingungen (Temperatur) wurden vermieden. Dabei wurde streng auf die Einhaltung der Vorgaben und Anweisungen des Herstellers geachtet.

Dennoch wurde versucht, die Versuchsbedingungen bestmöglich an die Routinebedingungen im alltäglichen Gebrauch anzupassen. Eine Selektion oder Mehrfachmessung einzelner Spender fand nicht statt.

Evaluation des Fragebogens

Das Einverständnis und die spezifischen Daten der Spender wurden mithilfe eines Fragebogens abgefragt und dokumentiert. Um den Umfang des Fragebogens möglichst gering zu halten, wurde darauf geachtet, nur für die Messergebnisse potentiell relevante Daten zu erheben. Neben dem Datenschutz wurden so auch die Motivation der Teilnehmer und ein reibungsloser Ablauf sichergestellt. Unklarheiten und Fragen beim Ausfüllen des Fragebogens wurden unmittelbar geklärt.

Diese Methode der Datenerhebung erschien am sinnvollsten, da auf diese Weise sowohl die Vollständigkeit, wie auch die Aktualität der Daten am ehesten gegeben waren.

In zukünftigen Studien wäre zu überlegen, weitere spenderspezifische Einflussfaktoren zu untersuchen. Auf diese Weise könnten Stör- und Einflussgrößen des Messverfahrens identifiziert werden und bei zukünftigen Untersuchungen berücksichtigt oder ausgeschlossen werden. Zu überlegen wäre außerdem, ob die Fallzahl erhöht werden könnte. Dadurch würde die Statistik noch aussagekräftiger und individuelle Schwankungen würden weniger ins Gewicht fallen.

4.1.3 Diskussion der Vergleichsmessung

Aufgrund der offensichtlichen Vorteile von nichtinvasiven Hämoglobin Messungen sind zahlreiche Anwendungsmöglichkeiten denkbar. Die Verwendung als POCT im klinischen Bereich (Martin et al. 2016) ist ebenso möglich, wie der Einsatz im präklinischen Bereich (Praxis, Notarzt). Durch die geringe Belastung des Patienten wäre sogar ein Einsatz im Monitoring denkbar (Kim et al. 2014). Die Vorteile in der Geschwindigkeit, Mobilität und Kosteneffizienz sind jedoch insbesondere für Blutspendeinstitutionen interessant. Es ist daher nicht verwunderlich, dass ein Großteil der bisherigen Studien im Umfeld von Blutbanken und Transfusionszentren durchgeführt wurde (Kim et al. 2013; Pinto et al. 2013).

Da es sich bei dem vorgestellten Gerät NBM200 um eine relativ neue Entwicklung handelte, war auch die Studienlage hierzu noch unklar. Es lagen bereits einige Studien vor, in denen die neue nichtinvasive Messmethode mit den bereits etablierten Messmethoden (venös, kapillar) verglichen wurde, jedoch waren die Ergebnisse und Schlussfolgerungen uneinheitlich. Es gab Studien, die die nicht invasive Messmethode uneingeschränkt empfehlen, während andere Studien den Routinegebrauch ablehnten oder zumindest als kritisch betrachteten.

In einer vergleichbaren Studie von Pinto M. et al. (Pinto et al. 2013) „*The new noninvasive occlusion spectroscopy hemoglobin measurement method*“ wurden ebenfalls die Hb Werte von 201 potentiellen Blutspendern untersucht. Die nichtinvasiven Messwerte wurden mit den kapillären (Haemocue Hb201) und venösen (CellDyn Ruby, Abbott Laboratories) Messwerten verglichen. Die Autoren kamen zu dem Ergebnis, dass die nichtinvasiven Messwerte sogar präziser als die kapillären Messwerte waren. Aufgrund der Präzision und der besseren Durchführbarkeit empfahlen die Autoren die nichtinvasive Methode mit dem Gerät „NBM200“.

Im Gegensatz dazu gab es auch kritische Studienergebnisse, die mit der oben genannte Studie im Widerspruch standen. Die koreanische Studie „*Comparison of the Accuracy of Noninvasive Hemoglobin Sensor (NBM-200) and Portable Hemoglobinometer (HemoCue) with an Automated Hematology Analyzer (LH500) in Blood Donor Screening*“ von Kim et al. (Kim et al. 2013) kam zu dem Ergebnis, dass die nichtinvasive Methode (NBM200) der venösen und kapillären Methode unterlegen ist. Die Übereinstimmung von nichtinvasiver und Referenzmethode bei 506 potentiellen Blutspendern wurde nur als „moderat“ bezeichnet. Ein Einsatz in der Routine ist für die Autoren nur mit akribischer Sorgfalt möglich.

Auch die in dieser Arbeit vorliegenden Ergebnisse lassen erkennen, dass die nichtinvasive Methode mit dem NBM200 der bisherigen, invasiven Methode (venös) in der Präzision unterlegen ist. In der statistischen Auswertung der Messergebnisse wurde eine Standardabweichung von 0,78 bei einem 95 % Konfidenzintervall von -1,38 bis +1,68 mmol/l ermittelt. Anwendungsbezogen bedeutet das, dass 95 % der zukünftig zu erwartenden Messwerte bis zu 1,4 mmol/l nach unten und 1,7 mmol/l nach oben von dem Messwert des Referenzmessverfahrens abweichen können. Aus klinischer Sicht kann eine Abweichung in diesem Ausmaß durchaus bedeutend sein.

Insbesondere eine falsch hohe Messung bei einem niedrigen wahren Wert kann problematisch werden. Durch eine fälschliche Zulassung zur Spende kann die Gesundheit des freiwilligen Spenders gefährdet werden. Ihm drohen dabei sowohl akute wie auch langfristige vermeidbare Risiken. Eine der häufigsten Komplikationen ist die chronische Eisenmangelanämie. Auch in dieser Studie wären mit dem nicht-invasiven Messverfahren drei Spender (3,1 % der Gesamtteilnehmer) zur Spende zugelassen worden, obwohl eine ausreichende Hämoglobinkonzentration nicht vorlag. Diese Teilnehmer hätten mit ihrer Spende ihre Gesundheit gefährdet. Ein solches Vorgehen ist mit dem ärztlichen Grundprinzip „nihil nocere“ (nicht zu schaden) und den Konzepten der Spendersicherheit kaum zu vereinbaren.

Auch eine falsch niedrige Messung bei einer wahren hohen Hämoglobinkonzentration ist für alle Beteiligten nachteilig. Wenn die Messungengenauigkeit den Entscheidungsbereich betrifft, wird der potentielle Spender fälschlicherweise abgewiesen. Besonders in Zeiten, in denen es an Blutprodukten mangelt, ist eine falsche Zurückstellung von Spendern hinderlich. Dem Blutspendedienst entstehen außerdem Kosten für die Testung und Verwaltung, die vermieden werden könnten. Auch für den potentiellen Spender ist eine Zurückstellung unerfreulich. Bei einer zu hohen Rückstellungsquote sinkt die Bereitschaft zu spenden, was meist auch das Umfeld der Spender beeinflusst.

Die Ursache für die nur moderate Übereinstimmung der beiden Messverfahren konnte in dieser Arbeit nicht gefunden werden. Neben individuellen Stör- und Einflussgrößen der Spender wären auch Probleme mit dem Messverfahren als Ursache denkbar. Eine Herausforderung ist, dass das Hämoglobin bei der nichtinvasiven Messung nur hinter mehreren physiologischen Schichten erfasst werden kann. Dazu gehören insbesondere die Haut, das subkutane Bindegewebe, Blutgefäße aber auch Plasmaproteine und die Erythrozytenmembran stellen Hindernisse für eine optische Messung dar. Zudem ist fraglich, in wie weit die aktuelle Stoffwechsellage und Durchblutung des Daumens einen Einfluss auf den Messwert hat. Theoretisch ist bekannt, dass neben der Durchblutung auch zahlreiche andere Faktoren wie Sättigung des Hämoglobins oder die Größe der Gefäße die optischen Eigenschaften verändern können (Kienle et al. 1996). Die konkreten Auswirkungen auf das hier verwendete, nichtinvasive Messverfahren sind jedoch noch weitestgehend unklar.

Obwohl die nicht invasive Messmethode dem Referenzverfahren zum Zeitpunkt der Untersuchung unterlegen war, bleibt abzuwarten, ob weitere Entwicklungen im Bereich der optischen Messungen die Ergebnisse in zukünftigen Studien verbessern können.

Trotz der angesprochenen Probleme im Messverfahren sind in dieser Arbeit auch die Vorteile des neuen Messverfahrens deutlich geworden. Die Anwendung des Geräts gestaltete sich unproblematisch und die Bedienung war nahezu intuitiv. Es gab keinerlei Messabbrüche oder Zwischenfälle. Das Gerät war wartungsarm und mit ca. 1 kg Gewicht einfach zu transportieren. Die reine Messzeit lag bei ca. 90 Sekunden und erschien den meisten Spendern als „recht lange“. Verglichen mit dem Referenzverfahren, welches eine venöse Blutentnahme einschloss, war der nichtinvasive Wert jedoch äußerst schnell verfügbar. Die Stromversorgung erfolgte über einen haushaltsüblichen Schuko-Stecker und das Gerät war innerhalb einiger Sekunden einsatzbereit. Durch diese enorm gesteigerte Mobilität im Vergleich zum Referenzgerät erschließen sich neue Einsatzbereiche. Es wäre eine schnelle und unkomplizierte Hämoglobinbestimmung bei Außenterminen möglich. So könnte eine Spende direkt vor Ort beim potentiellen Spender, beispielsweise am Arbeitsplatz oder bei öffentlichen Großereignissen ermöglicht werden. Der Komfort für den Spender kann damit gesteigert werden und neue potentielle Spender können leichter erreicht werden. Zurzeit wird dies über eine kapilläre Hämoglobinbestimmung realisiert, die jedoch eine zusätzliche Punktion benötigt. Gerade die Tatsache, dass die Messung schmerzfrei und ohne nennenswerte gesundheitliche Risiken durchführbar war, wurde von allen Teilnehmern als angenehm empfunden. Die überwiegende Mehrheit zeigte sich gegenüber der nichtinvasiven Messung sehr aufgeschlossen. Es gab keine potentiellen Spender, die die Teilnahme an diese Studie ablehnten.

Insgesamt wurde das Gerät von den Teilnehmern erwartungsgemäß positiv angenommen. In welchem Maße der gesteigert Patientenkomfort die Spendebereitschaft tatsächlich erhöhen könnte, wäre noch zu untersuchen.

Ein weiterer, aber nicht unwichtiger Punkt im derzeitigen deutschen Gesundheitssystem ist der Kostenfaktor. Der durchschnittliche Preis pro Messung mittels NBM 200 wurde in einer Studie von (Pinto et al. 2013) mit durchschnittlich 1,13 USD angegeben. Dem gegenüber stehen die Kosten einer Vergleichsmessung mit den herkömmlichen Laborchemischen Verfahren. Aufgrund der Vielfalt an Geräten und Messsystemen ist die Angabe eines Vergleichspreises nicht ohne Weiteres möglich. Einen Anhalt bietet jedoch

die Gebührenordnung für Ärzte, welche für eine venöse Blutentnahme 2,33 € und die Hämoglobinbestimmung 3,50 € (jeweils im einfachen Satz) veranschlagt (Verband der Privaten Krankenversicherung 2017). Die nichtinvasive Messung ist damit also deutlich günstiger als das bisherige Referenzverfahren. Im Rahmen der zunehmenden Privatisierung und des allgemeinen Kostendrucks im Gesundheitswesen ist der Anreiz groß, Kosten einzusparen. Die Reduktion der Kosten darf jedoch nicht zu Lasten der freiwilligen Spender gehen. Deren Sicherheit muss weiterhin oberste Priorität behalten. Erst wenn beide Verfahren nachgewiesen gleichwertig sind, sollte der Kostenfaktor in die Entscheidung mit einbezogen werden.

Trotz der unbestrittenen Vorteile in der Anwendung und im Spenderkomfort kann es die invasive Messung nicht gänzlich ersetzen. Der Komfort der Spender ist der Sicherheit in jedem Fall unterzuordnen.

Zu überlegen wäre jedoch ein Einsatz in Kombination mit anderen, präziseren Verfahren. Denkbar wäre beispielsweise, zuerst eine orientierende, nichtinvasive Messung durchzuführen und nur bei Ergebnissen im Grenzbereich eine zusätzliche, invasive Messung durchzuführen.

Zudem bleibt abzuwarten, ob weitere Entwicklungen im Bereich der optischen Messverfahren die Ergebnisse in zukünftigen Studien verbessern können.

4.2 Untersuchung der Hb-Änderung bei der Thrombozytenspende

Neben der Vergleichsmessung mit dem Referenzverfahren wurde noch eine zweite Messreihe angefertigt. Dabei wurde die Hämoglobinkonzentration nach der Thrombozytenspende nochmals nichtinvasiv gemessen. In der statistischen Auswertung fiel eine signifikante Abnahme der Hämoglobinkonzentration während der Spende auf. Im Mittel fiel der Wert um 0,14 mmol/l. Bei einem durchschnittlichen Ausgangswert von 9,14 mmol/l entspricht das einer Reduktion um ca. 1,5 %.

Der Effekt einer Spende von Blutkomponenten auf die Zusammensetzung der Gesamtblutmenge ist schon lange Gegenstand medizinischer Forschungen. Bereits 1964 wurde in einer Studie (Kliman et al. 1964) mit vier Plasmaspendern die Hämoglobinkonzentration vor und nach einer Plasmapheresespende untersucht. Dabei konnte ein geringer Anstieg beobachtet werden. Auch neuere Studien konnten diese Ergebnisse bei Plasmaspende bestätigen (Evers et al. 2014).

Im Gegensatz dazu ist die Studienlage bei Thrombozythapheresespenden uneinheitlich. Überwiegend wird eine kurzfristige Abnahme der Konzentration der korpuskulären Bestandteile und der Hämoglobinkonzentration im Blut beschrieben (Das et al. 2009; Tendulkar und Rajadhyaksha 2009; Beyan et al. 2003). Jedoch konnte vereinzelt auch ein Anstieg der Hämoglobinkonzentration ermittelt werden (Love et al. 1993).

Die vorliegende Arbeit kann eine Abnahme der Hämoglobinkonzentration nach Thrombozythapheresespenden bestätigen, wengleich die Abnahme geringer ist, als in anderen Studien (vgl. Tabelle 10). Dabei bleibt zu erwähnen, dass neben einer erheblich größeren Fallzahl die vorgestellten Werte mittels Blutprobe erhoben wurden. Vergleichbare Arbeiten mit nichtinvasiven Messverfahren lagen derzeit nicht vor.

Autor und Jahr	Veränderung (in mmol/l)	Veränderung (in % des Ausgangswertes)	Gesamt- Teilnehmerzahl (n)
Beyan et al. 2003	-0,57	-6,2	265
Das et al. 2009	-0,5	-5,8	457
Tendulkar und Rajadhya- ksha 2009	-0,25	-2,9	237
Love et al. 1993	+0,29	+3,2	104
vorliegende Arbeit	-0,14	-1,5	86

Tabelle 10: Übersicht der bisherigen Studien

Die Ursache für den Abfall der Hämoglobinkonzentration ist nicht restlos geklärt. Nahelegend ist ein Verdünnungseffekt durch das im Aphereseprozess notwendige ACD, welches dem Spender infundiert wird. In der Arbeit von Das et al. konnte ein statisti-

scher Zusammenhang zwischen dem Absinken der Hämoglobinkonzentration und den Parametern Ausgangshämoglobin, infundiertes ACD und Blutverlust hergestellt werden. Ein Zusammenhang mit der Menge an infundierter Kochsalzlösung war nicht zu finden. Zudem wurde ein signifikanter Unterschied im Abfall bei den verschiedenen Apheresemaschinen („COBE Spectra ®“ und „Trima Accel ®“ von Terumo BCT sowie „COM.TEC ®“ von Fresenius-Kabi) gefunden (Das et al. 2009).

Auch in dieser Arbeit wurden die bereits beschriebenen Einflussfaktoren (Ausgangshämoglobin, infundiertes ACD, Modell des Zellseparators) untersucht. Zusätzlich wurden die Faktoren

Hämatokrit vor Spende und nach der Spende sowie dessen Differenz,

Trinkmenge, Volumen und ACD-Gehalt des entstanden Präparats,

Thrombozytenkonzentration vor und nach der Spende,

Gesamtverbrauch und Menge an infundiertem ACD sowie

Alter, Größe, Gewicht und errechnetes Blutvolumen des Spenders

in einer explorativen Datenanalyse untersucht.

Bei den bereits bekannten Einflussfaktoren konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen Ausgangshämoglobinkonzentration und Hb-Abfall bestätigt werden. Eine hohe Ausgangshämoglobinkonzentration deutete auf einen größeren Hb Abfall hin.

Die Testwerte für „infundiertes ACD“ und „Modell des Zellseparators“ waren überraschenderweise nicht signifikant. Bei dem Wert für „infundiertes ACD“ konnte keine Korrelation gefunden werden. Auch die Unterschiede im Mittelwert des Abfalls bei der Hämoglobinkonzentration waren nur minimal (bis zu 0,074 mmol/l). Die bereits in anderen Arbeiten beschriebene Abhängigkeit der Hb-Differenz vom benutzten Zellseparator konnte hier nicht bestätigt werden. Anhand der vorliegenden Daten erscheinen die drei verwendeten Geräte in Bezug auf den Abfall der Hämoglobinkonzentration nahezu gleichwertig.

Bei diesen Analysen ist jedoch zu beachten, dass die Fallzahlen mit $n = 86$ relativ gering erschienen. Insbesondere bei Veränderungen mit einem geringen Ausmaß, wird durch die geringe Fallzahl die Aussagekraft der Statistiken eingeschränkt. In zukünftigen Untersuchungen wäre daher eine größere Stichprobe empfehlenswert.

Zudem ist zu bemerken, dass die Messwerte der Hämoglobinkonzentrationen mit dem nicht invasiven Verfahren ermittelt wurden. Die in dieser Arbeit durchgeführten Vergleiche mit dem venösen Referenzverfahren zeigten eine Standardabweichung von 0,78 mmol/l. Damit ist fraglich ob, die nicht invasive Messung ausreichend ist, um Unterschiede mit so geringem Ausmaß aufzudecken oder auszuschließen. Ein Verfahren mit größerer Präzision könnte in nachfolgenden Untersuchungen belastbarere Ergebnisse liefern.

5. Zusammenfassung

Der Bedarf an Blut und Blutprodukten ist trotz intensiver Forschungen im Bereich der Blutersatzstoffe und des Patient Blood Management weiterhin hoch. Um diesen Bedarf auch langfristig decken zu können, sind die Blutspendedienste auf die Vollblut und Apheresespenden freiwilliger Spender angewiesen. Dabei steht die Spendersicherheit an oberster Stelle. Eine zuverlässige und präzise Untersuchung der Spender vor der Spende ist daher unerlässlich. Zu den häufigsten Rückstellungsgründen zählt die Anämie, die im Rahmen der gesetzlich vorgeschriebenen Spendetauglichkeitsuntersuchungen durch eine Bestimmung der Hämoglobinkonzentration ausgeschlossen werden muss. Bisher erfolgte diese Bestimmung aus einer invasiven Blutprobe (kapillär oder venös). Die Firma LMB verspricht mit dem Gerät NBM200 eine präzise, schnelle, kostengünstige und vor allem nichtinvasive Bestimmung der Hämoglobinkonzentration. In der vorliegenden Arbeit wurde das nichtinvasive Messverfahren mit dem bisherigen Goldstandard, einer venösen Bestimmung verglichen. Bei 97 potentiellen Spendern wurde dazu parallel die Hämoglobinkonzentration venös und nichtinvasiv bestimmt.

Die statistische Auswertung ergab eine Standardabweichung von 0,78 mmol/l bei einem 95 % Konfidenzintervall von -1,38 bis +1,68 mmol/l. Diese statistische Abweichung erschien für eine zuverlässige Entscheidung über die Spendetauglichkeit nicht geeignet. Zudem erfolgte eine zweite nichtinvasive Bestimmung der Hämoglobinkonzentration nach stattgefundener Thrombozytapheresspende bei n=86 Spendern. Dabei wurde die Veränderung der Hämoglobinkonzentration während einer Thrombozytapheresspende untersucht. In der statistischen Auswertung fiel eine geringe (-1,5 %), aber signifikante ($p < 0,05$) Abnahme der Hämoglobinkonzentration während der Spende auf. Trotz intensiver Betrachtung möglicher Ursachen konnte in der vorliegenden Arbeit kein statistisch signifikanter Einflussfaktor für die Abnahme der Hämoglobinkonzentration gefunden werden.

Literatur

1. Altuntas F, Sari I, Kocyigit I, Kaynar L, Hacıoglu S, Ozturk A, Oztekin M, Solmaz M, Eser B, Cetin M, Unal A Comparison of Plateletpheresis on the Fenwal Amicus and Fresenius Com.Tec Cell Separators. *Transfusion medicine and hemotherapy : offizielles Organ der Deutschen Gesellschaft für Transfusionsmedizin und Immunhamatologie* 35:368–373 (2008).
2. Anand H, Mir R, Saxena R Hemoglobin color scale a diagnostic dilemma. *Indian journal of pathology & microbiology* 52:360–362 (2009).
3. Balasubramaniam P, Malathi A Comparative study of hemoglobin estimated by Drabkin's and Sahli's methods. *Journal of postgraduate medicine* 38:8–9 (1992).
4. Barker SJ, Tremper KK Pulse oximetry: applications and limitations. *International anesthesiology clinics* 25:155–175 (1987).
5. Baskett TF James Blundell: The first transfusion of human blood. *Resuscitation* 52:229–233 (2002).
6. Berrington de Gonzalez A, Hartge P, Cerhan JR et al Body-mass index and mortality among 1.46 million white adults. *The New England journal of medicine* 363:2211–2219 (2010).
7. Betke K, Boroviczény KG v., Busch D, Grundmann E, Heilmeyer L, Heimpel H, Hoffmann G, Hunstein W, Keiderling W, Matthes M, Merker H, Müller W, Pfannenstiel P *Blut und Blutkrankheiten*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg (1968).
8. Beutler E The definition of anemia: What is the lower limit of normal of the blood hemoglobin concentration? *Blood* 107:1747–1750 (2006).
9. Beyan C, Çetin T, Kaptan K, Nevruz O Effect of plateletpheresis on complete blood count values using three different cell separator systems in healthy donors. *Transfusion and Apheresis Science* 29:45–47 (2003).
10. Bland JM, Altman DG Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet (London, England)* 1:307–310 (1986).
11. Bundesärztekammer Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie) (2010).
12. Bundesärztekammer (Hrsg) Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Richtlinie Hämotherapie): Aufgestellt gemäß §§12a und 18 Transfusionsgesetz von der Bundesärztekammer im Einvernehmen mit dem Paul-Ehrlich-Institut. Deutscher Ärzte-Verlag, Köln (2017).
13. Das SS, Chaudhary R, Verma SK, Ojha S, Khetan D Pre- and post- donation haematological values in healthy donors undergoing plateletpheresis with five different systems. *Blood transfusion = Trasfusione del sangue* 7:188–192 (2009).

14. Evers J, Ehren N, Engelen T, Hansen M, Luethje K, Taborski U Course of Hemoglobin and Hematocrit during and after Preparatory Plasmaphereses without and with Infusion of NaCl 0.9% 500 ml. *Transfus Med Hemother* 41:1 (2014).
15. Fastag E, Varon J, Sternbach G Richard Lower: The Origins of Blood Transfusion. *The Journal of Emergency Medicine* 44:1146–1150 (2013).
16. Fine I Non-invasive method and system of optical measurements for determining the concentration of a substance in blood. Google Patents (2002).
17. Glisic A LMB Datenblatt NBM 200: Nicht-invasive Hämoglobinmessung für Blutbanken (2015).
18. Gressner AM, Arndt T Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik. Springer Berlin Heidelberg (2013).
19. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B Samples: From the Patient to the Laboratory ; The impact of preanalytical variables on the quality of laboratory results. Wiley-VCH, Hoboken (2008).
20. Hajdu SI The Discovery of Blood Cells. *Ann Clin Lab Sci* 33:237–238 (2003).
21. Heilmeyer L Blut und Blutkrankheiten: Teil 1 Allgemeine Hämatologie und Physiopathologie des Erythrocytären Systems. Springer Berlin Heidelberg (2013).
22. Henseler O Tabellen Gewinnung, Herstellung, Import, Export und Verbrauch 2016 und Auswertungen über mehrere Jahre.
https://www.pei.de/SharedDocs/Downloads/blut/berichte-blutprodukte-21-transfusionsgesetz/pei-bericht-transfusionsgesetz-tabellen-abbildungen-2016.zip?__blob=publicationFile&v=4. Zugegriffen: 11. März 2018 (2017).
23. Hilgers R-D, Bauer P, Scheiber V Einführung in die Medizinische Statistik. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg (2007).
24. Hoppe-Seyler F Ueber die chemischen und optischen Eigenschaften des Blutfarbstoffs. *Virchows Archiv* 29:233–235 (1864).
25. Ingram CF Clinical use of WHO haemoglobin colour scale: Validation and critique. *Journal of Clinical Pathology* 53:933–937 (2000).
26. Khoo T-L, Xiros N, Guan F, Orellana D, Holst J, Joshua DE, Rasko JEJ Performance evaluation of the Abbott CELL-DYN Emerald for use as a bench-top analyzer in a research setting. *International journal of laboratory hematology* 35:447–456 (2013).
27. Kienle A, Lilge L, Vitkin IA, Patterson MS, Wilson BC, Hibst R, Steiner R Why do veins appear blue?: A new look at an old question. *Appl. Opt.* 35:1151 (1996).
28. Kiesewetter H, Jung F, Ladwig KH, Waterloh E, Roebruck P, Schneider R, Kottitschke G, Bach R Predictability of hemorheological parameters with respect to the incidence of vascular disease: Concept of the Aachen-study. *Klinische Wochenschrift* 64:653–662 (1986).

29. Kim MJ, Park Q, Kim MH, Shin JW, Kim HO Comparison of the Accuracy of Noninvasive Hemoglobin Sensor (NBM-200) and Portable Hemoglobinometer (HemoCue) with an Automated Hematology Analyzer (LH500) in Blood Donor Screening. *Ann Lab Med* 33:261 (2013).
30. Kim S-H, Lilot M, Murphy LS-L, Sidhu KS, Yu Z, Rinehart J, Cannesson M Accuracy of Continuous Noninvasive Hemoglobin Monitoring. *Anesthesia & Analgesia* 119:332–346 (2014).
31. Kliman A, Carbone PP, Gaydos LA, Freireich EJ Effects of Intensive Plasmapheresis on Normal Blood Donors. *Blood* 23:647–656 (1964).
32. Klinker R, Pape H-C, Kurtz A, Silbernagl S, Baumann R, Brenner B, Gay R, Rothenburger A (Hrsg) *Physiologie*. Thieme, Stuttgart (2010).
33. Kretschmer V, Gombotz H, Rump G *Transfusionsmedizin - klinische Hämotherapie: Kurzlehrbuch für Klinik und Praxis ; 54 Tabellen*. Thieme (2008).
34. Lipson J, Bernhardt J, Block U, Freeman WR, Hofmeister R, Hristakeva M, Lenosky T, McNamara R, Petrusek D, Veltkamp D, Waydo S Requirements for calibration in noninvasive glucose monitoring by Raman spectroscopy. *Journal of diabetes science and technology* 3:233–241 (2009).
35. Love E, Pendry K, Hunt L Analysis of pre- and post-donation haematological values in plateletpheresis donors. *Vox Sanguinis* 65:209–211 (1993).
36. Marn H, Critchley JA Accuracy of the WHO Haemoglobin Colour Scale for the diagnosis of anaemia in primary health care settings in low-income countries: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Global Health* 4:e251-e265 (2016).
37. Martin JR, Camp CL, Stitz A, Young EY, Abdel MP, Taunton MJ, Trousdale RT Noninvasive Hemoglobin Monitoring: A Rapid, Reliable, and Cost-Effective Method Following Total Joint Replacement. *The Journal of Bone & Joint Surgery* 98:349–355 (2016).
38. Mast AE Low hemoglobin deferral in blood donors. *Transfusion Medicine Reviews* 28:18–22 (2014).
39. Mayer JG, Goehl K, Odo (Hrsg) *Kräuterbuch der Klostermedizin: Der "Macer floridus" ; Medizin des Mittelalters*. Reprint-Verl. Leipzig, Holzminden (2003).
40. Oppermann A Über die Kupfersulfatmethode zur Gesamteiweißbestimmung im Serum: *Klinische Wochenschrift*. *Klin Wochenschr* 27:602–606 (1949).
41. Pinto M, Barjas-Castro ML, Nascimento S, Falconi MA, Zulli R, Castro V The new noninvasive occlusion spectroscopy hemoglobin measurement method: A reliable and easy anemia screening test for blood donors. *Transfusion* 53:766–769 (2013).
42. Tendulkar A, Rajadhyaksha S Comparison of plateletpheresis on three continuous flow cell separators. *Asian J Transfus Sci* 3:73 (2009).

43. U.S. Food and Drug Administration substantial equivalence determination decision summary. http://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/reviews/K110381.pdf. Zugegriffen: 01. September 2018 (2011).
44. Verband der Privaten Krankenversicherung Die Gebührenordnung für Ärzte (GOÄ). PKV (Verband der Privaten Krankenversicherung) (2017).
45. Weiß C, Rzany B (Hrsg) Basiswissen Medizinische Statistik. Springer Medizin Verlag Heidelberg, Berlin, Heidelberg (2008).
46. WHO Nutritional anaemias. Report of a WHO scientific group. World Health Organization technical report series 405:5–37 (1968).
47. Yumuk V, Tsigos C, Fried M, Schindler K, Busetto L, Micic D, Toplak H European Guidelines for Obesity Management in Adults. *Obesity facts* 8:402–424 (2015).
48. Zwart A, van Assendelft OW, Bull BS, England JM, Lewis SM, Zijlstra WG Recommendations for reference method for haemoglobinometry in human blood (ICSH standard 1995) and specifications for international haemoglobinocyanide standard (4th edition). *Journal of Clinical Pathology* 49:271–274 (1996).

Danksagung

Mein ganz außerordentlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Marcell U. Heim für die Vergabe des Promotionsthemas und die stets fördernde Betreuung und Motivation bei der praktischen und theoretischen Bearbeitung Arbeit. Für seine Unterstützung bei Fragen und Problemen sowie seine stets hilfreichen Ratschläge bin ich sehr dankbar.

Weiterhin möchte ich mich recht herzlich bei den Mitarbeitern des Instituts für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie für die Unterstützung im praktischen Teil der Arbeit und die Bereitstellung der Spendeprotokolle bedanken.

Mein Dank gilt zudem dem Institut für Biometrie und Medizinische Informatik für die Unterstützung bei der statistischen Bearbeitung der Daten.

Nicht zuletzt danke ich meiner Familie für die kontinuierliche Ermutigung und Unterstützung während des Studiums und bei dieser Arbeit.

Mein ganz besonderer Dank gilt auch meiner Lebenspartnerin, die mich während meines bisherigen Lebensweges und auch besonders bei der Entstehung dieser Promotion mit viel Geduld und Unterstützung begleitet hat.

Abbildungs-, Tabellen- und Formelverzeichnis

Abbildung 1: Schema des Untersuchungsablaufs	14
Abbildung 2: Ablaufschema einer Messung	17
Abbildung 3: Hämoglobin Messgerät NBM200 der Firma LMB	18
Abbildung 4: Durchschnittliche Größe.....	21
Abbildung 5: Durchschnittliches Gewicht	21
Abbildung 6: Häufigkeitsverteilung nach BMI	22
Abbildung 7: Hämoglobin Referenzmethode.....	24
Abbildung 8: Hämoglobin nichtinvasiv	24
Abbildung 9: Diagramm Hb nichtinvasiv und Referenzverfahren.....	26
Abbildung 10: Bland-Altman-Diagramm.....	30
Abbildung 12: Boxplotvergleich vor und nach Spende.....	33
Abbildung 13: Patientenfragebogen zur Datenerhebung.....	55
Tabelle 1: Messparameter CELLDYN Emerald	15
Tabelle 2: Datensätze aus dem Spendeprotokoll.....	24
Tabelle 3: Mittelwerte beider Messverfahren.....	28
Tabelle 4: zweiseitiger t-Test	28
Tabelle 5: Korrelation.....	28
Tabelle 6: Kontingenztabelle nichtinvasiv und Referenzmethode	31
Tabelle 7: Statistische Parameter.....	33
Tabelle 8: t-Test vor und nach Spende	34
Tabelle 9: Abhängigkeit der Hb-Differenz vom Zellseparator	35
Tabelle 10: Übersicht der bisherigen Studien.....	43
Formel 1: Blutvolumen Männer nach Nadler.....	19
Formel 2: Blutvolumen Frauen nach Nadler	19
Formel 3: Bland-Altman-Diagramm	29
Formel 4: Konfidenzintervalle im Bland-Altman-Diagramm	29
Formel 5: Sensitivität.....	32
Formel 6: Spezifität	32
Formel 7: positiver prädiktiver Wert	32
Formel 8: negativer prädiktiver Wert	33

Ehrenerklärung

Ich erkläre, dass ich die der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität zur Promotion eingereichte Dissertation mit dem Titel

„Veränderung der Hämoglobinkonzentration bei der Thrombozytenspende, festgestellt im Rahmen der Evaluierung einer nichtinvasiven Messmethode“

im Institut für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie

mit Unterstützung durch Prof. Dr. med. Marcell U. Heim

ohne sonstige Hilfe durchgeführt und bei der Abfassung der Dissertation keine anderen als die dort aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Bei der Abfassung der Dissertation sind Rechte Dritter nicht verletzt worden.

Ich habe diese Dissertation bisher an keiner in- oder ausländischen Hochschule zur Promotion eingereicht. Ich übertrage der Medizinischen Fakultät das Recht, weitere Kopien meiner Dissertation herzustellen und zu vertreiben.

Magdeburg, den 21. Februar 2019

Alexander Kühn

Darstellung des Bildungsweges

Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Datenschutzgründen nicht enthalten.

Anlagen

Dokumentationsbogen v.1.2	Datum:
Validierung der nicht invasiven Hämoglobin-Messung	Uhrzeit:

1. Patientenangaben

Name, Vorname Geb. Datum:

Geschlecht: m
 w

Spendertyp: TK
 Plasma

2. Hb Werte

Vor Spende: mmol/l

Referenzwert (Emerald) mmol/l

Nach Spende mmol/l

Zeitlicher Abstand (ca.) Minuten

Trinkmenge (ca.) , Infusion? Liter

3. Temperatur des Fingers

kalt
 Körpertemperatur
 warm

4. Angaben zum Produkt

Konservnummer:

5. Bemerkungen:

Hiermit willige ich ein, an der Studie zur **Validierung der nicht invasiven Hämoglobin-Messung bei Thrombozyten und Plasmaspendern** teilzunehmen. Ich erkläre mich einverstanden, dass meine personenbezogenen Daten in **anonymisierter Form** erhoben, verarbeitet und veröffentlicht werden. Ich habe keine weiteren Fragen.

Unterschrift

Abbildung 13: Patientenfragebogen zur Datenerhebung