

F. Münch¹, N. Kwapil^{1,3}, J. Müller²,
R. A. Cesnjevar¹, R. Zimmermann⁴,
E. Eckert², T. Göen²

¹ Kinderherzchirurgische Abteilung,
Universitätsklinikum Erlangen,
Loschgestraße 15, 91054 Erlangen,
Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-
Nürnberg (FAU),
(Leiter: Prof. Dr. R. Cesnjevar)

² Institut und Poliklinik für Arbeits-,
Sozial- und Umweltmedizin,
Henkestr. 9–11, 91054 Erlangen,
Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-
Nürnberg (FAU),
(Direktor: Prof. Dr. med. H. Drexler)

³ WKK Perfusionservice GmbH & Co.KG,
Werner-von-Braun-Str. 5,
55129 Mainz-Hechtsheim

⁴ Transfusionsmedizinische und
Hämostaseologische Abteilung,
Universitätsklinikum Erlangen,
Krankenhausstraße 12, 91054 Erlangen,
Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-
Nürnberg (FAU),
(Leiter: Prof. Dr. H. Hackstein)

Anwendung der maschinellen Autotransfusion zur Verringerung der Exposition gegenüber toxikologisch bedenklichen Phthalaten aus gelagerten Blutbeuteln

Die vorliegende Studie wurde in Teilen zur Erfüllung der Voraussetzungen zum Erwerb des Doktorgrades „Dr. rer. biol. hum.“ an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg (FAU) durchgeführt.

ZUSAMMENFASSUNG

Hintergrund: Die Transfusion von Erythrozytenkonzentraten (EK) geht mit Nebenwirkungen einher, welche u. a. auch durch Lagerungsschäden an Erythrozyten hervorgerufen werden. Mehrere Studien konnten den Nachweis erbringen, dass die negativen Effekte durch Anwendung einer maschinellen Autotransfusion (MAT) minimiert werden können. Die Auswirkungen der MAT-Anwendung auf die DEHP (Di-(2-(ethylhexyl)-phthalat)-assoziierte

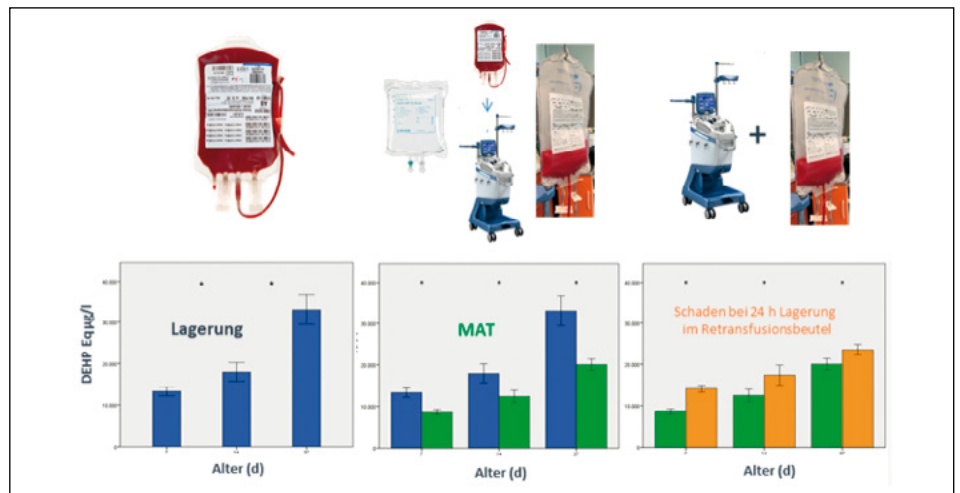


Abb. 1: Abstractgrafik

Migration aus Blutbeuteln bei gelagerten Erythrozyten wurde in dieser Studie untersucht. Weiterhin wurde analysiert, ab welchem Lagerungszeitraum eine MAT-Anwendung indiziert scheint.

Material und Methode: In der vorliegenden prospektiven In-vitro-Vergleichsstudie wurden 30 gelagerte EK auf DEHP und das Abbauprodukt MEHP (Mono-(2-ethylhexyl)-phthalat) vor dem Waschen (M1), unmittelbar nach dem Waschen (M2) sowie 24 h nach der Waschung (M3) untersucht. Die EK wurden nach ihrer unterschiedlichen Lagerungsdauer in 3 Subgruppen aufgeteilt (Gruppe 1: 7 Tage (n = 10); Gruppe 2: 14 Tage (n = 10); Gruppe 3: 37 Tage (n = 10)) und ungewaschen oder nach Waschung mit einem MAT-Gerät (Xtra, LivaNova) untersucht. Die Analysen erfolgten mit Hilfe der Flüssigkeitschromatographie-Tandemmassenspektrometrie (LC-MS/MS). Für die Auswertung wurde

die DEHP- und MEHP-Belastung zu einem DEHP-Äquivalent (DEHP Eq) zusammengefasst, berechnet aus den jeweiligen Molekulargewichten. Die statistische Auswertung der DEHP-assoziierten Migration erfolgte mit einem verbundenen t-Test und die Subgruppenanalyse mit einer univariaten ANOVA-Analyse nach Bonferroni-Korrektur.

Ergebnis: Das DEHP Eq betrug in ungewaschenen EK (M1) in der Gruppe 1 (7 Tage): $13.273 \pm 1508 \mu\text{g/l}$, Gruppe 2 (14 Tage): $17.974 \pm 2920 \mu\text{g/l}$ und Gruppe 3 (37 Tage): $33.060 \pm 4949 \mu\text{g/l}$. In allen 3 Gruppen kam es durch die MAT-Anwendung zu einer signifikanten Reduktion des DEHP Eq (M2 = Gruppe 1: $34 \pm 5 \%$; Gruppe 2: $31 \pm 5 \%$ und Gruppe 3: $39 \pm 8 \%$). Nach dem Waschen und Lagern über 24 Stunden bei Raumtemperatur im mitgelieferten MAT-Retransfusionsbeutel kam es in allen Gruppen zu einem er-

Frank Münch
ORCID-iD: 0000-0002-2790-0418

Robert Cesnjevar
ORCID-iD: 0000-0002-3575-6647

Thomas Göen
ORCID-iD: 0000-0002-8226-9227

Frank Münch
ECCP, MCT, Perfusionist
Universitätsklinikum Erlangen
Abteilung Kinderherzchirurgie
Leitung Kardiotechnik
Loschgestraße 15
91054 Erlangen
Telefon: +49 (0) 9131 85-34014
Fax: +49 (0) 9131 85-34024
E-Mail: frank.muench@uk-erlangen.de
http://www.kinderherzchirurgie.uk-erlangen.de/

neuten signifikanten Anstieg der DEHP Eq-Belastung [Gruppe 1 (7 Tage): $14.095 \pm 1225 \mu\text{g/l}$ ($+5395 \pm 971 \mu\text{g/l}$); Gruppe 2 (14 Tage): $17.413 \pm 3119 \mu\text{g/l}$ ($+4955 \pm 2543 \mu\text{g/l}$); Gruppe 3 (37 Tage): $23.586 \pm 1886 \mu\text{g/l}$ ($+3558 \pm 1756 \mu\text{g/l}$)].

Diskussion: Durch die Anwendung der MAT ist es möglich, die DEHP-Belastung von gelagerten EK, unabhängig von ihrer Lagerzeit, signifikant zu verringern. Der erneute Anstieg nach dem Waschen, welcher auf nicht DEHP-freie MAT-Einmalprodukte zurückzuführen ist, konterkariert den Erfolg durch die MAT-Anwendung.

SCHLÜSSELWORTE

Maschinelle Autotransfusion, gelagerte Erythrozytenkonzentrate, Lagerungsschäden, DEHP-Belastung, Phthalate, Weichmacher

ABSTRACT

Background: Transfusion of erythrocyte concentrates (EC) is associated with side effects caused by storage damage to the erythrocytes. Several studies have shown that these negative effects can be minimized by using mechanical (autotransfusion) rinsing (MAT). The effects of MAT application on DEHP (di-2-(ethylhexyl) phthalate) associated migration in stored erythrocytes are investigated. Further analysis was done to determine how many storage days would recommend MAT before transfusion.

Material and method: In this prospective in vitro comparative study, 30 stored EC were tested for DEHP and its degradation product MEHP (mono-(2-ethylhexyl) phthalate) before washing (M1), immediately after washing (M2) and 24h after washing (M3). The EC were further divided into three subgroups according to their storage time (7 days ($n = 10$); 14 days ($n = 10$); 37 days ($n = 10$)) and all EC were analysed with and without the application of a MAT device (Xtra, LivaNova). The analyses were performed using liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). For the evaluation, the determined DEHP and MEHP levels were combined to a calculated DEHP equivalent level (DEHP Eq), based on the molecular weights of the respective analytes. The statistical evaluation of the DEHP associated migration and the subgroup analysis was performed with a linked t-test and a single factor ANOVA analysis after Bonferoni correction, respectively.

Results: DEHP Eq in unwashed EC (M1) was $13,273 \pm 1,508 \mu\text{g/l}$ in the 7-day group, $17,974 \pm 2,920 \mu\text{g/l}$ in the 14-day group and $33,060 \pm 4,949 \mu\text{g/l}$ in the 37-day group. In

all three groups a significant reduction in DEHP Eq was observed following the MAT washing procedure (M2 = 7-day group: $34 \pm 5\%$; 14-day group: $31 \pm 5\%$ and 37-day group: $39 \pm 8\%$). However, after washing and storing for 24 hours at room temperature in the provided MAT transfusion bag, a significant increase in DEHP exposure in all groups (7-day group: $14,095 \pm 1,225 \mu\text{g/l}$ ($+5,395 \pm 971 \mu\text{g/l}$); 14-day group: $17,413 \pm 3,119 \mu\text{g/l}$ ($+4,955 \pm 2,543 \mu\text{g/l}$); 37-day group: $23,586 \pm 1,886 \mu\text{g/l}$ ($+3,558 \pm 1,756 \mu\text{g/l}$)) was detectable.

Discussion: MAT enables a significant reduction in the DEHP load of stored EC. The recurrent increase after washing, which is due to non-DEHP-free disposable MAT products, counteracts the success of prior MAT application.

KEYWORDS

Mechanical rinsing, stored packed red blood cells, storage damage, DEHP, phthalate, plasticizers

EINLEITUNG

Ein Großteil der im Klinikalltag benötigten Medizinprodukte (Bauteilkomponenten, medien- und blutführende Schläuche, Blutkonservenbeutel) bestehen aus Polyvinylchlorid (PVC). Durch die Zugabe von Additiven wird die PVC-Matrix so verändert, dass sie die geforderten Eigenschaften für medizinische Kunststoffe aufweisen (Flexibilität, Transparenz, Stabilität). Dabei sollte das medizinische PVC im direkten und indirekten Kontakt mit dem menschlichen Organismus verträglich sein. Medizinisches PVC besteht zu bis zu 40 % seines Gesamtgewichts aus Weichmachern, welche allerdings keine chemische Bindung mit der PVC-Matrix eingehen und so vergleichsweise leicht wieder aus ihr herausgelöst werden können. Patienten, die beispielsweise durch eine Bluttransfusion, eine Hämodialyse oder eine extrakorporale Zirkulation behandelt werden, kommen mit vielen verschiedenen medizinischen Einwegprodukten aus Weich-PVC in Berührung. Diese setzen dabei signifikante Mengen an Weichmachern in das Kontaktmedium frei, welche dann vom Patienten aufgenommen werden [1]. Gegenüber den am häufigsten verwendeten Weichmachern, DEHP (Di-2-(ethylhexyl) phthalat) und anderen Phthalaten, bestehen schwerwiegende toxikologische Bedenken hinsichtlich ihrer Wirkung auf endokrine Funktionen, die wiederum zu Entwicklungs- und Reproduktionsschädigungen führen können [2–6].

DEHP wird darüber hinaus als möglicherweise krebserregend für den Menschen eingestuft [7]. Folgerichtig wurde bereits 2005 der Einsatz von DEHP und einigen anderen Phthalaten in Spielzeug und Babyartikeln von der Europäischen Union (EU) verboten [8]. In Medizinprodukten dagegen wird DEHP bis heute, auch bei besonders sensiblen Patientengruppen wie Schwangeren, Neugeborenen und Säuglingen, eingesetzt [9]. Die Europäische Verordnung Nr. 2017/745 für Medizinprodukte empfiehlt, dass die Konzentration von CMR-Stoffen (C: carcinogen; M: mutagen; R: reproduktionstoxisch) in Medizinprodukten (Kategorie 1A oder 1B) wie z. B. DEHP 0,1 % nicht überschreiten sollten. Ein unabhängiger wissenschaftlicher Ausschuss der Europäischen Kommission postuliert jedoch nach wie vor, dass die Vorteile von DEHP in Medizinprodukten vermutlich gegenüber den Risiken einer Exposition von Patienten überwiegen [4, 10]. Die von der Europäischen Kommission festgelegte tolerierbare tägliche Aufnahmemenge (tolerable daily intake, TDI) von DEHP liegt bei $50 \mu\text{g/kg}$ Körpergewicht und wird nachweislich bereits bei einfachen und kurzen medizinischen Eingriffen, z. B. mittels extrakorporaler Zirkulation (EKZ), um ein Vielfaches überschritten [1, 11–13]. Eine Ursache sind die verwendeten DEHP-haltigen Schläuche der EKZ. Diese können durch alternative Weichmacher ersetzt werden, was die DEHP-Exposition des EKZ-Sets ca. um den Faktor 100 reduziert [12, 13]. Ein viel größeres Problem, vor allem in der Behandlung von Säuglingen und Kindern, stellen die verwendeten Blutprodukte dar, da z. B. die Lagerung von Erythrozyten aktuell fast ausschließlich in DEHP-haltigen PVC-Beuteln stattfindet. Je nach Lagerdauer migriert hierbei DEHP und dessen Abbauprodukt Mono-2-ethylhexylphthalat (MEHP) in die zu transfundierenden Erythrozyten und führt somit direkt zu einer inneren Belastung der behandelten Patienten [1, 14] (Abb. 2).

Die Transfusion von EK ist neben der DEHP-Belastung noch mit anderen Nebenwirkungen assoziiert. Bedingt durch die unphysiologische Lagerung bestehen je nach Lagerzeit Zellfunktionsstörungen mit eingeschränktem Metabolismus. Es gibt in der Literatur mehrere Ansätze zur Nachbehandlung von gelagerten EK, um die negativen Effekte der nicht vermeidbaren Lagerungsschäden zu reduzieren. Neben verschiedenen neuartigen Additivlösungen [15, 16] steht die MAT-Behandlung von EK vor einer Transfusion zur Verfügung. Huber

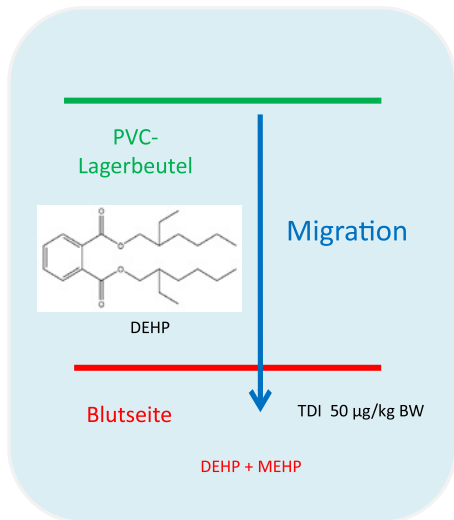


Abb. 2: Problemstellung bei Verwendung DEHP-haltiger Lagerbeutel für Blutprodukte

et al. wählten hierbei den Ansatz einer bikarbonatgepufferten Hämofiltrationslösung ohne Kalium zur MAT-Behandlung von EK und konnten neben der Verbesserung des Säure-Base-Haushaltes im Lagermedium eine verbesserte Stabilität der Ery-

throzyten nachweisen [17]. MAT-Geräte, die umgangssprachlich auch als Cell-Saver bezeichnet werden, sind in vielen Krankenhäusern routinemäßig zur operativen Blutaufbereitung im Einsatz und stehen somit für eine EK-Waschung vor einer möglichen Transfusion zur Verfügung.

FRAGESTELLUNG

Die vorliegende prospektive In-vitro-Vergleichsstudie untersucht die Reduktion von freigesetzten Additiven mittels maschineller Autotransfusion bei einer definierten Lagerdauer von Erythrozytenkonzentraten.

GESETZLICHE RAHMENBEDINGUNGEN ZUR ANWENDUNG DER MAT

Im Transfusionsgesetz (TFG) wird neben allgemeinen Regelungen des Transfusionswesens im Gesetz selbst auf die Regelung von Details in den Richtlinien nach § 12a und 18 TFG verwiesen. Die aktuelle Richtlinie „Hämotherapie“ von der Bundesärztekammer im Einvernehmen mit dem Paul-

Ehrlich-Institut enthält neben allgemeinen Informationen zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten einen speziellen Abschnitt (3.2.1.3) „gewaschene Erythrozytenkonzentrate“. In einem geschlossenen System kann unter der Verwendung einer isotonischen Lösung das gelagerte Erythrozytenkonzentrat mehrfach gewaschen werden. Die anschließende Resuspendierung kann in einer isotonischen Kochsalzlösung oder alternativ in einer Additivlösung erfolgen [18]. Gewaschen werden dürfen allerdings nur EK, die den allgemeinen Anforderungen der Transfusionsrichtlinie entsprechen. Die anschließende Lagerungsdauer hängt von der durchgeführten Validierung des Prozesses ab, in dem der Hämatokrit, der Gesamt-Hb, die Hämolyserate und der Proteingehalt bestimmt werden (Tab. 1).

MASCHINELLE AUTOTRANSFUSION

Die Durchführung der maschinellen Autotransfusion (MAT) für den klinischen Alltag ist wissenschaftlich sehr gut untersucht.

Erythrozytenkonzentrate			Saugerblut
	Erythrozytenkonzentrate in Additivlösung	Gewaschene Erythrozytenkonzentrate	Maschinelle Autotransfusion
Lagerung	4 °C ± 2 °C	4 °C ± 2 °C	Es entsteht kein lagerungsfähiges Produkt.
Haltbarkeitsdauer	Entsprechend Validierung, in der Regel 28–49 Tage, je nach Additivlösung und Verfahren	entsprechend Validierung	Retransfusion bis höchstens 6 Stunden nach Beginn der Sammlung möglich
Prüfparameter	Prüfkriterium	Prüfkriterium	Prüfkriterium
Visuelle Kontrolle	Beutel intakt, keine Hämolyse erkennbar	Beutel intakt, keine Hämolyse erkennbar	
Hämatokrit	0,50–0,70 l/l	0,50–0,75 l/l	Sollwert >50 %
Volumen	gemäß Spezifikation	gemäß Spezifikationen	
Gesamt-Hb	>40 g/Einheit oder ≥2,48 mmol/Einheit Der Gesamt-Hb der von der Spezifikation abweichenden Präparate darf den Grenzwert um höchstens 5 % unterschreiten	>40 g/Einheit oder ≥2,48 mmol/Einheit	
Leukozyten	<1 x 10 ⁶ /Einheit		
Hämolyserate	<0,8 % der Erythrozytenmasse	<0,8 % der Erythrozytenmasse	
Proteingehalt		<0,5 g/Einheit	Eliminationsrate von Gesamteiweiß oder Albumin (Sollwert >90 % des Ausgangswertes)
Mikrobiologische Kontrolle	kein Wachstum, bei Wachstum sind Befund und Antibiogramm dem behandelnden Arzt auch nach erfolgter Anwendung mitzuteilen	kein Wachstum, bei Wachstum sind Befund und Antibiogramm dem behandelnden Arzt auch nach erfolgter Anwendung mitzuteilen	

Tab. 1: Bedingungen zur Blutaufbereitung: modifiziert nach der Richtlinie für Hämotherapie [19]

MAT-Geräte werden in verschiedenen operativen Disziplinen zur intraoperativen Sauerblutauflbereitung angewandt. Das Funktionsprinzip basiert auf einer Zentrifugation, welche die einzelnen Blutbestandteile nach ihren Sedimentationskoeffizienten auftrennt. Intraoperativ gesammeltes Sauerblut enthält aktivierte Bestandteile und Spüllösung, wird gewaschen und anschließend in Erythrozytenkonzentrat und Abfallblut aufgespalten. Eine gröbendefinierte Waschglocke führt dem zentrifugierten EK eine Waschlösung zu, um die Erythrozyten zu umspülen und hierbei störende Bestandteile im Sammelblut abzutrennen. Überschüssiges Volumen wie z. B. Plasma und Zelltrümmer werden aus der Glocke in den Abfallbeutel geleitet, um sie zu verwerfen. Reine Erythrozyten stehen auf diese Weise aufbereitet für die Patientenretransfusion zur Verfügung.

MATERIAL UND METHODEN

Studiendesign

In der vorliegenden prospektiven In-vitro-Vergleichsstudie wurden 30 leukozytendepletierte in-linegefilterte EK in einer Phosphat-Adenin-Glukose-Guanosin-Saline-Mannitol-Stabilisierungslösung (PAGGS-M) untersucht. Die verwendeten EK wurden von der transfusionsmedizinischen und hämostaseologischen Abteilung des Universitätsklinikums Erlangen zur Qualitätssicherung zur Verfügung gestellt. Alle EK erfüllten die gesetzlichen und klinikinternen Vorgaben zur Herstellung, Prüfung und Lagerung von Erythrozyten. Die Aufteilung der EK erfolgte nach Länge der Lagerzeit (Gruppe 1: 7 Tage (n = 10); Gruppe 2: 14 Tage (n = 10); Gruppe 3: 37 Tage (n = 10)). Untersucht wurde der Einfluss der MAT auf die DEHP-Migration. Hierzu wurden in den EK sowohl der Gehalt des

Weichmachers DEHP und dessen Abbauprodukt MEHP an 3 verschiedenen Messzeitpunkten untersucht: vor (M1), unmittelbar nach (M2) sowie 24 h nach MAT (M3). Alle Waschungen erfolgten unter gleichen Bedingungen und mit einem für EK-Waschungen zugelassenen MAT-Gerät [20]. Das MAT-Gerät wurde mit einer 175 ml Latham-Glocke (Bowl Set X/175, LivaNova) und einem Reservoir (Xres T Blood Collection Reservoir Filtered 40µm Top Outlet, LivaNova) bestückt.

Versuchsablauf

Über ein DEHP-freies Infusionssystem (Intrafix, Braun) wurde das Reservoir mit 1000 ml DEHP-freier, Jonosteril-Voll-elektrolyt-Infusionslösung (Fresenius Kabir) vorgefüllt, angereichert mit 25.000 I.E. Heparin (Heparin-Natrium-25000-ratiopharm, Ratiopharm). Das zu waschende EK wurde mit einem ebenfalls DEHP-freien Transfusionsbesteck (Sangofix, B. Braun), unter Umgehung des Tiefenfilters, mit 150 mmHg Vakuum in das Reservoir gesaugt. Mittels 3-Wege-Hahn vor dem Reservoir wurde eine Probe (M1) entnommen (Abb. 3).

Das MAT-Gerät wurde mit dem standardisierten Waschprogramm „Programm optimal“ (Popt) betrieben. Vor der MAT-Waschung wurde das Reservoir händisch geschwenkt, um eine optimale Durchmischung zu erreichen und anschließend die Zentrifuge mit 5600 U/min gestartet. Initial wurde die Glocke mit 300 ml/min Reservoirblut gefüllt. Im Anschluss wurden 1000 ml Waschlösung mit einer Geschwindigkeit von 450 ml/min zum Waschen zugeführt. Geleert wurde die Zentrifuge mit 400 ml/min über die „Leeren“-Linie, an deren Ende sich ein Retransfusionsbeutel befindet. Nach der ersten aufbereiteten Glocke reichte das verbleibende Volumen im Reservoir nicht aus, um eine zweite komplette Glocke aus dem Reservoir zu füllen. Aus diesem Grund wurde das Programm „letzte Glocke“ gewählt. Hierbei wird das Volumen aus dem Reservoir komplett in die Waschglocke gesaugt und der Rest wurde mit dem schon aufbereiteten Volumen aus dem Retransfusionsbeutel befüllt, um eine optimale Waschung zu erreichen. Nach Abschluss des Zyklus „letzte Glocke“ wurde das aufbereitete EK im Retransfusionsbeutel beprobt (M2). Das gewaschene EK wurde vom MAT-Gerät diskonnektiert und bis zur Messung (M3) für 24 h bei Raumtemperatur im mitgelieferten Retransfusionsbeutel gelagert. Nach dieser Zeit erfolgte eine leichte Durchmischung der Lösung mit der anschließenden Abnahme der Probe M3 (Abb. 3).

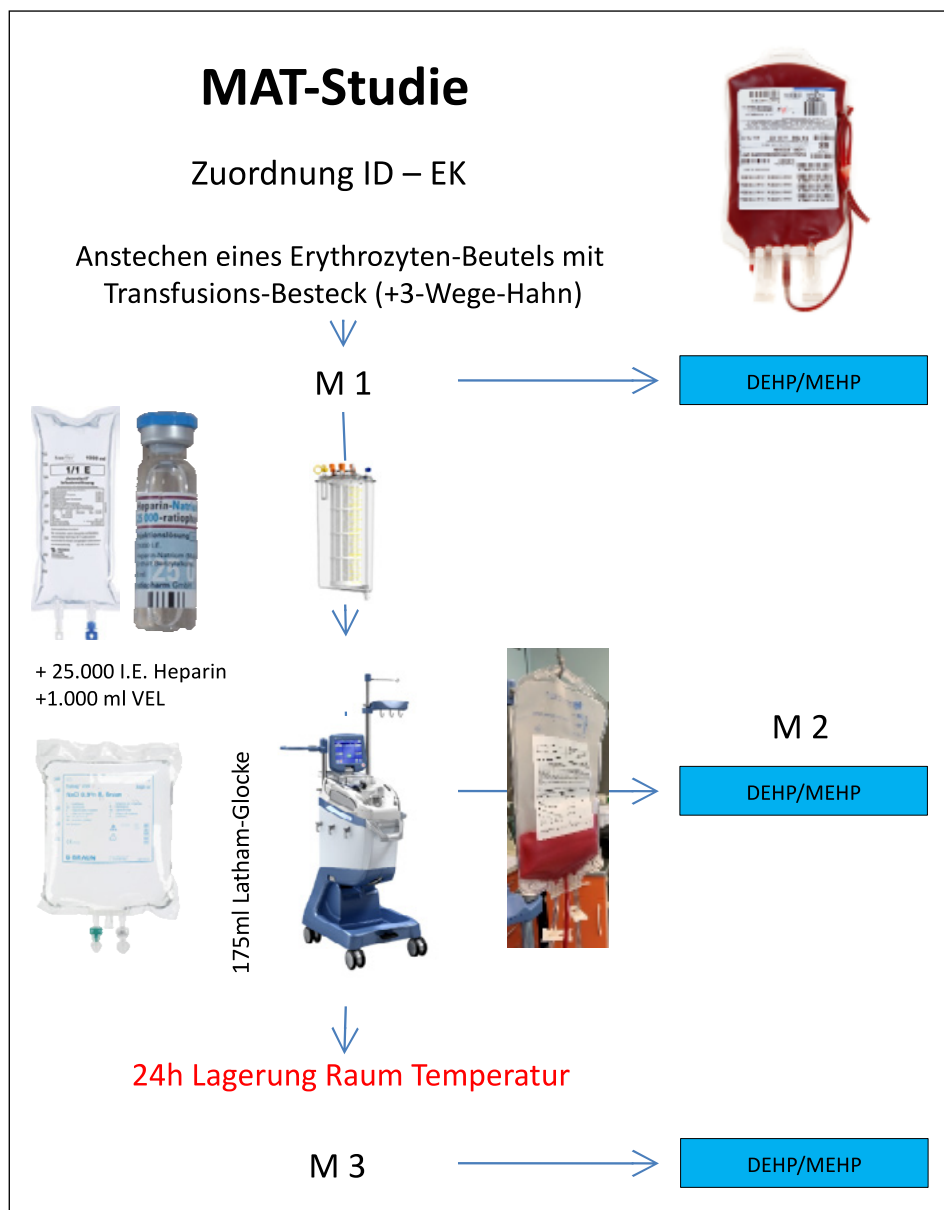


Abb. 3: Schematische Darstellung des Versuchsablaufs

Analysen

Alle 90 gewonnenen Blutproben (M1; M2; M3) wurden jeweils in eine 5 ml-Glasküvette überführt und bis zur Analyse bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagert. Die anschließende Analyse auf DEHP und MEHP erfolgte mittels Flüssigkeitschromatographie und nachgeschalteter Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS) [21, 22]. Die Quantifizierungsgrenzen (limit of quantitation; LOQ) für DEHP und MEHP lagen bei 5 bzw. $2\text{ }\mu\text{g/l EK}$.

Statistik

Zur vergleichbaren Beurteilung der Gesamtbelastung von DEHP in den EK-Proben wurde ein DEHP-Äquivalent (DEHP Eq) unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Molekularmassen von DEHP und dem Abbauprodukt MEHP ermittelt. Somit errechnete sich ein Umrechnungs-faktor 1,403 bei der proportionalen Gegenüberstellung der Molekulargewichte.

$$\frac{\text{DEHP} = 390,56 \frac{\text{g}}{\text{mol}}}{\text{MEHP} = 278,35 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} = 1,403$$

Daraus folgte die Berechnung der DEHP-Äquivalente:

$$\text{DEHP Eq} [\mu\text{g/l}] = \text{DEHP} [\mu\text{g/l}] + 1,403 * \text{MEHP} [\mu\text{g/l}]$$

Zur statistischen Auswertung wurden die Werte des DEHP Eq in SPSS für Windows (Version 24 SPSS Inc., USA) überführt. Die statistische Auswertung erfolgte mit einem gepaarten t-Test zwischen den Messzeitpunkten. Für die Subgruppenanalyse in Bezug auf das Alter der gelagerten Erythrozyten wurde eine univariaten ANOVA-Analyse durchgeführt. Als Post-hoc-Tests wurden gepaarte t-Tests verwendet, wobei die p-Werte mittels der Bonferroni-Methode adjustiert wurden. Für alle Variablen ist der Mittelwert \pm Standardabweichung (SD) mit einem Konfidenzintervall von 95 % (CI95) angegeben. Alle Tests wurden zweiseitig mit einem Signifikanzniveau von $\alpha = 0,05$ durchgeführt.

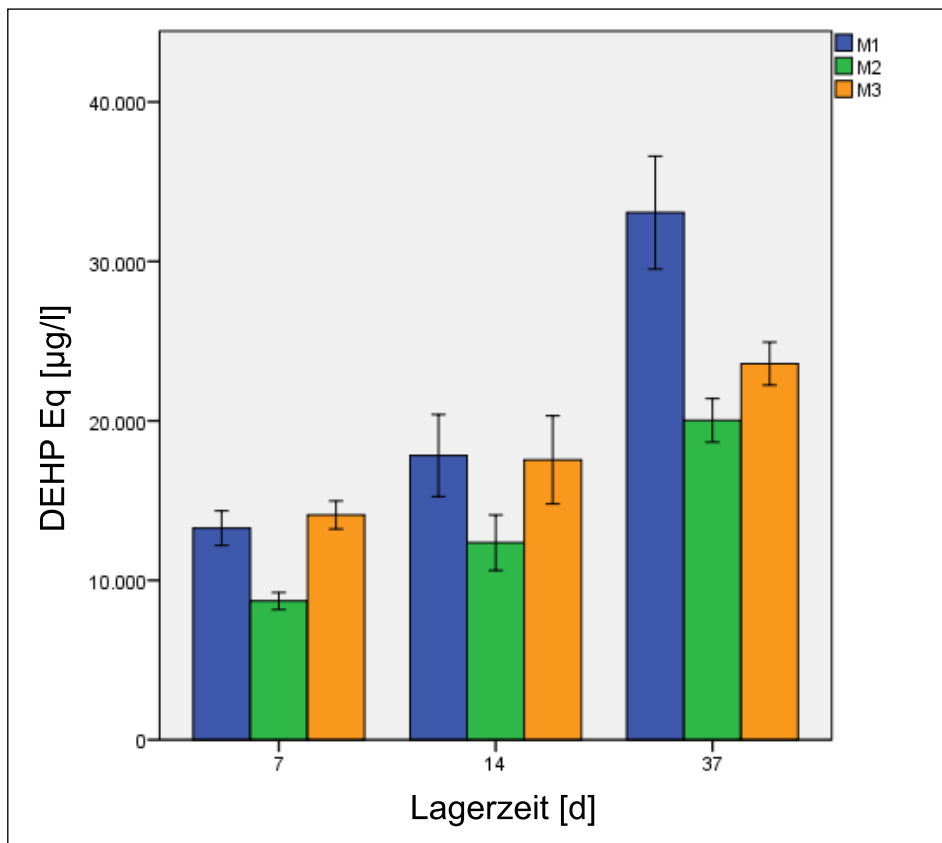


Abb. 4: Vor dem Waschen (M1; blauer Balken) versus nach MAT (M2; grüner Balken) sowie DEHP Eq-Anstieg während der 24-Stunden-Lagerung im mitgelieferten MAT-Retransfusionsbeutel (M3; oranger Balken); Mittelwert mit Standardabweichung

ERGEBNISSE

Das DEHP Eq betrug in ungewaschenem EK (M1) in der Gruppe 1 (7 Tage): $13.273 \pm 1508\text{ }\mu\text{g/l}$, Gruppe 2 (14 Tage): $17.974 \pm 2920\text{ }\mu\text{g/l}$ und in Gruppe 3 (37 Tage): $33.060 \pm 4949\text{ }\mu\text{g/l}$. In allen 3 Gruppen kam es durch die MAT-Anwendung im Vergleich zu M1 zu einer signifikanten Reduktion des DEHP Eq zum Messzeitpunkt M2 (Gruppe 1 (7 Tage $-34 \pm 5\%$): $8700 \pm 750\text{ }\mu\text{g/l}$, Gruppe 2 (14 Tage $-31 \pm 5\%$): $12.361 \pm 1947\text{ }\mu\text{g/l}$ und Gruppe 3 (37 Tage $-39 \pm 8\%$): $20.029 \pm 1910\text{ }\mu\text{g/l}$). Nach dem Waschen und Lagern für 24 Stunden bei Raumtemperatur im mitgelieferten MAT-Retransfusionsbeutel (MAT-Set, LivaNova) kam es in allen 3 Gruppen beim Messzeitpunkt M3 zu einem erneuten signifikanten Anstieg der

DEHP Eq-Belastung (Gruppe 1 (7 Tage): $14.095 \pm 1225\text{ }\mu\text{g/l}$ ($+5395 \pm 971\text{ }\mu\text{g/l}$); Gruppe 2 (14 Tage): $17.413 \pm 3119\text{ }\mu\text{g/l}$ ($+4.955 \pm 2543\text{ }\mu\text{g/l}$); Gruppe 3 (37 Tage): $23.586 \pm 1886\text{ }\mu\text{g/l}$ ($+3558 \pm 1756\text{ }\mu\text{g/l}$)) (Abb. 4; Tab. 2). In der univariaten ANOVA-Analyse zeigen sich in der Gesamtbeurteilung (M1 vs. M3) der Versuchsreihe, dass nur in der Gruppe 3 (37 Tage) die DEHP-Belastung durch MAT-Waschung signifikant verringert wird (Tab. 2).

DISKUSSION

Eine DEHP-Belastung durch DEHP-haltige Erythrozytenlagerbeutel wurde bereits von mehreren Autoren beschrieben [1, 14, 23–25]. Eine Strategie zur Senkung der DEHP-Belastung von EK ist eine möglichst kurze Lagerzeit, alternativ kann eine

Gruppe	M1 (n = 10)	M2 (n = 10)	M3 (n = 10)	2-sample paired t-test [CI95] M1 M2	2-sample paired t-test [CI95] M1 M3	2-sample paired t-test [CI95] M2 M3
	MW \pm SD [$\mu\text{g/l}$]	MW \pm SD [$\mu\text{g/l}$]	MW \pm SD [$\mu\text{g/l}$]			
7 Tage	13.273 \pm 1508	8700 \pm 750	14.095 \pm 1225	<0,001 [3792; 5354]	0,124 [-1919; 274]	<0,001 [-6090; -4701]
14 Tage	17.974 \pm 2920	12.361 \pm 1947	17.413 \pm 3119	<0,001 [4460; 6766]	0,777 [-1873; 2406]	<0,001 [-6910; -3001]
37 Tage	33.060 \pm 4949	20.029 \pm 1910	23.586 \pm 1886	<0,001 [9494; 16.569]	<0,001 [6328; 12.619]	<0,001 [-4814; -2301]

MW \pm SD (Mittelwerte \pm Standardabweichung); Signifikante Unterschiede (Rot)

Tab. 2: DEHP Eq zu den verschiedenen Messzeitpunkten und Studiengruppen

Nachbehandlung der EK durch MAT erfolgen. In der vorliegenden Studie wurde die Migrationsrate des Weichmachers DEHP und dessen Abbauprodukt MEHP unter Berücksichtigung der Lagerzeit der EK (7; 14; 37 Tage) und der MAT-Behandlung ermittelt. Durch die MAT-Anwendung konnte unabhängig von der Lagerzeit, eine signifikante Reduktion der DEHP-Belastung in den behandelten EK nachgewiesen werden. Somit kann aus Sicht der Autoren eine MAT-Behandlung von gelagerten EK jeglichen Alters zur Verringerung der DEHP-Belastung empfohlen werden. Die Ergebnisse aus der vorgeschalteten Pilotstudie unserer Arbeitsgruppe mit einem älteren MAT-Gerät konnten wir somit reproduzieren [14]. Die behandelten EK der Pilotstudie waren mit $31,2 \pm 8,8$ Tagen im Vergleich zur vorliegenden Studie mit $19,3 \pm 13$ Tagen deutlich älter. Nach MAT-Behandlung der Blutkonserven konnte eine Reduktion des DEHP-Gehaltes um $49 \pm 17\%$ sowie des MEHP-Gehalts um $83 \pm 10\%$ vs. eines DEHP-Gehalts um $37 \pm 20\%$ und des MEHP-Gehalts $89 \pm 2\%$ in der vorliegenden Studie ermittelt werden. Erschreckenderweise wurden unsere Bemühungen, die DEHP-Belastung in den EK zu reduzieren, offenbar durch DEHP-haltige Komponenten des MAT-Waschsystems konterkariert (Abb. 5). Die DEHP-Belastung in allen 3 Gruppen ist nach einer Aufbewahrungszeit von 24 h in den MAT-Beuteln bei Raumtemperatur wieder signifikant angestiegen (Gruppe 1: (7 Tage) $38 \pm 5\%$; Gruppe 2 (14 Tage) $28 \pm 11\%$ und Gruppe 3: (37 Tage) $15 \pm 7\%$). Für die Gruppen 1 und 2 mit 7 Tage und 14 Tage alten EK näherte sich dieser der ursprünglichen DEHP-Belastung vor der MAT-Behandlung wieder an. Somit würde nach einer Aufbewahrungszeit bis zur Transfusion des gewaschenen EK von 24 Stunden im mitgelieferten Retransfusionsbeutel nur noch bei länger gelagerten EK eine signifikante Reduktion der DEHP-Belastung durch die MAT-Behandlung erreicht werden. Hier muss allerdings entgegengehalten werden, dass MAT-hergestellte Blutprodukte im klassischen Sinne nicht lagerungsfähig sind und die gesetzlichen Vorgaben eine Transfusion innerhalb von 6h vorsehen [18, 26, 27].

Bezogen auf die Studienergebnisse darf bezweifelt werden, dass die Medizinproduktehersteller ihrer Verpflichtung nachgegangen sind, vermehrt gleichwertige alternative Medizinprodukte anzubieten, um damit die Nachfrage nach DEHP-freien Medizinprodukten zu erhöhen [25]. Die

neue Medical Device Regulation (MDR) verlangt eine Begründung für die Verwendung von CMR-Stoffen in Medizinprodukten [28]. Während die BfArM aktuell noch bei Anwendern und Herstellern auf eine Art Selbstverpflichtung setzt, alternative DEHP-freie Medizinprodukte zu verwenden. Außerdem wird gefordert, dass DEHP-haltige Medizinprodukte nicht bei Risikogruppen angewendet werden dürfen, wenn Alternativprodukte zur Verfügung stehen. Wenn auf DEHP bei Risikogruppen verzichtet werden soll, muss die Frage der logistischen Umsetzbarkeit diskutiert werden. Was hinderte die Hersteller bisher daran, die Medizinprodukte nicht umgehend auf Alternativen umzustellen? So könnten alle Patienten vorbeugend geschützt werden, auch wenn aktuell noch keine belastbaren Humanstudien vorliegen, die eine allgemeine Patientengefährdung nach dem heutigen Wissensstand belegen. Allerdings sollten die Effekte von DEHP auf das endokrine System nicht bagatellisiert werden [2–6, 29]. Bezogen auf Blutlagerbeutel konnten van der Meer und Mitarbeiter, die systematische Nicht-Umsetzung von Absichtserklärungen bzw. Selbstverpflichtung der Blutbanken und Industrie auf alternative Medizinprodukte umzusteigen, feststellen. Hierfür wurden 15 Blutbanken aus 9 Ländern befragt, ob sie auf DEHP-haltige Lagerbeutel verzichten würden. Einige Blutbanken würden eine kürzere Lagerzeit und wiederum andere eine höhere Hämolyserate innerhalb der gesetzlichen Vorgaben in Kauf nehmen. Obwohl einige

Studien sogar zeigen konnten, dass alternative Kunststoffbeutel in Kombination mit neuen alternativen Lagerlösungen die Erythrozytenqualität sogar verbessern, würden es 8 der befragten Blutbanken nicht umsetzen, da sie die damit verbundenen aufwändigen In-vitro-Validierungen scheuen. Darüber hinaus würden 14 von 15 Zentren erst dann eine Umstellung auf alternative Lagerbeutel vornehmen, wenn die gesetzlichen Vorgaben es fordern, um die aktuell höheren Kosten der Alternativen bis dahin einzusparen [30].

Zusätzliche positive Nebeneffekte durch Waschen gelagerter Erythrozyten

Die Lagerung von EK ist immer mit dem Verlust von 2,3-Diphosphoglycerat und einer zunehmenden Zellschädigung durch Zellabbau mit Freisetzung von Kalium, erhöhtem Laktat und Veränderungen des Elektrolythaushaltes sowie einer Verformung von Erythrozyten verbunden. Es gibt in der Literatur mehrere Ansätze zur Nachbehandlung gelagerter EK, um die nicht vermeidbaren Lagerungsschäden zu reduzieren. Neben verschiedenen neuartigen Additivlösungen steht eine MAT-Behandlung zur Verfügung [14, 31–35]. Kwapił et al. konnten in einem Seitenarm der vorliegenden Studie nachweisen, dass eine MAT von gelagerten EK für einen wiederkehrenden Metabolismus der Erythrozyten sorgt. Bei der Verwendung einer Vollelektrolytlösung mit Glukose als Waschlösung konnte sogar ein Anstieg des Adenosintriphosphat-Gehalts (ATP) sowie die wie-

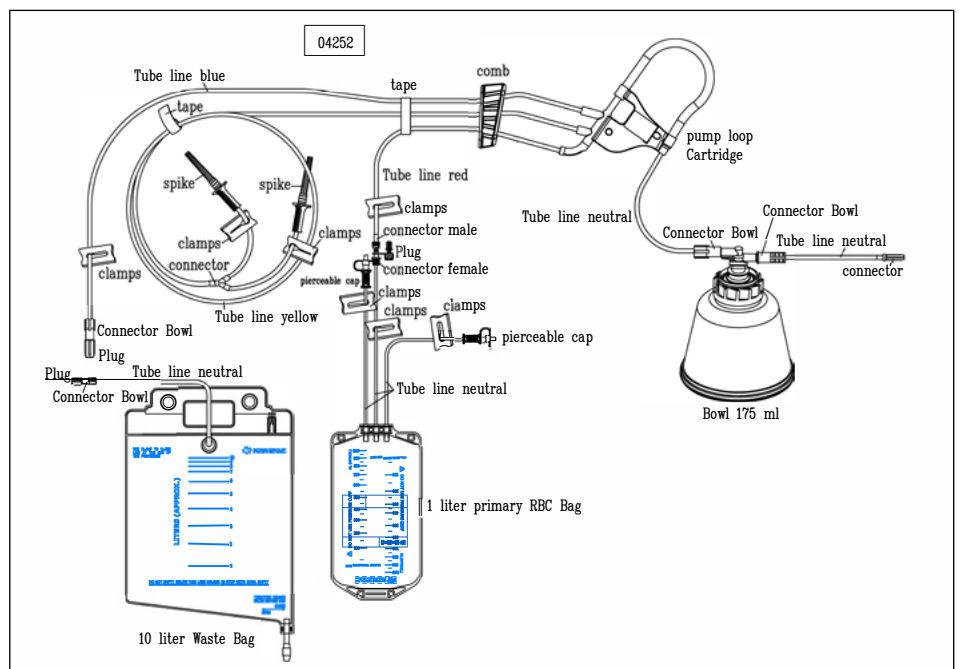


Abb. 5: Produktionszeichnung Waschset für 175 ml Waschglocke (Xtra; LivaNova). Die Waschglocke ist mehrheitlich aus Polycarbonat. Schlauchkomponenten und Beutelsind aus PVC (DEHP-haltig)

derkehrende Funktion der Natrium-Kalium-Pumpe nach der MAT-Behandlung gemessen werden. Das ATP in den Erythrozyten ist mit der Überlebenswahrscheinlichkeit der Erythrozyten nach der Transfusion gleichzusetzen [36]. Durch eine vorherige MAT-Behandlung konnten überschüssige Lagerungsmedien und lagerbedingte Abbauprodukte signifikant reduziert werden (Kalium-, Laktat-, Glukose- und Citrat-Konzentration). Ein weiterer Vorteil des Waschens mit der Vollelektrolytlösung war das physiologischere Elektrolytspektrum der gewaschenen EK [37].

LIMITATION DER STUDIE

Die 24-Stunden-Nachbeobachtungszeit im Retransfusionsbeutel übersteigt die gesetzlich zulässige Lagerung zur Retransfusion von gewaschenen bzw. geöffneten EK deutlich. Allerdings wurde diese verlängerte Lagerzeit aus wissenschaftlich methodischen Erwägungen gewählt, um mögliche Remigrationseffekte hinreichend zuverlässig zu detektieren.

SCHLUSSFOLGERUNG

Eine DEHP-Belastung durch DEHP-haltige Erythrozytenlagerbeutel ist seit den 1980er Jahren bekannt. In der vorliegenden Studie konnte nachgewiesen werden, dass es grundsätzlich möglich ist, durch Nachbehandeln von EK eine signifikante Reduktion der DEHP-Belastung unabhängig von der Lagerzeit zu erreichen. Somit kann aus Sicht der Autoren eine MAT-Behandlung von gelagerten EK jeglichen Alters zur Verringerung der Patienten-DEHP-Belastung empfohlen werden. Der DEHP-Anstieg nach dem Waschen war auf DEHP-haltige MAT-Einmalprodukte zurückzuführen. Diese Problematik muss mit dem Hersteller der Systeme kritisch diskutiert werden. Bevor ein DEHP-haltiges MAT-Wasch-Set bei Risikogruppen Anwendung findet, sollte deshalb genau geprüft werden, ob der medizinische Nutzen überwiegt oder besser alternative Medizinprodukte ohne relevante Nachteile für den Patienten zur Verfügung stehen [4]. Für die Verwendung DEHP-haltiger Medizinprodukte sind die gesetzlichen Richtlinien eindeutig. Von dem Einsatz DEHP-haltiger Medizinprodukte darf keine nennenswerte DEHP-Exposition ausgehen.

FAZIT FÜR DIE PRAXIS

Vorteile der MAT-Behandlung von gelagerten EK:

- MAT reduziert die DEHP-Belastung von Erythrozytenkonzentraten signifikant.
- EK, die ≥ 37 Tage gelagert wurden, sollten immer mit einer Vollelektrolytlösung mit Glukose gewaschen werden, um ein „aufgefrischtes“ phthalatarmes physiologisches Erythrozyten-Konzentrat zu erhalten.
- MAT von Erythrozytenkonzentraten erhöht die Überlebenswahrscheinlichkeit der transfundierten Erythrozyten

INTERESSENKONFLIKTE

Die verwendeten Einmalprodukte wurden durch LivaNova Deutschland GmbH zur Verfügung gestellt. Die Studie folgte den Richtlinien der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg (FAU) zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis und wurde gemäß den Vorgaben der Denkschrift der Deutschen Forschungsgemeinschaft zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis durchgeführt. Von Seiten des Medizintechnikunternehmens gab es zu keiner Zeit Einflussmöglichkeiten. Ein Interessenkonflikt lag der Studie somit zu keinem Zeitpunkt vor. Dieser Beitrag beinhaltet keine Studien an Menschen oder Tieren. Die Transfusionsmedizin des Universitätsklinikums Erlangen stufte die Studie als Qualitätssicherungsuntersuchung ein, sodass es für die Durchführung keines dezidierten Ethikvotums bedurfte.

LITERATUR

- [1] Eckert E, Müller J, Höllner C, Purbojo A, Cesnjevar R, Göen T, Münch F: Plasticizer exposure of infants during cardiac surgery. *Toxicol Lett.* 2020;330:7-13. doi: 10.1016/j.toxlet.2020.04.004.
- [2] Radke EG, Glenn BS, Braun JM, Cooper GS: Phthalate exposure and female reproductive and developmental outcomes: a systematic review of the human epidemiological evidence. *Environ Int.* 2019; 130:104580. doi: 10.1016/j.envint.2019.02.003.
- [3] Radke EG, Glenn BS, Braun JM, Cooper GS: Phthalate exposure and male reproductive outcomes: A systematic review of the human epidemiological evidence. *Environ Int.* 2018;121(Pt 1):764-93. doi: 10.1016/j.envint.2018.07.029.
- [4] European-Commission: The Safety of Medical Devices Containing DEHP-Plasticized PVC or other Plasticizers on Neonates and other Groups Possibly at Risk. https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/emerging/docs/scenih_r_047.pdf (2015). Accessed 23.09.2020 2020.

- [5] Chen J, Wu S, Wen S, Shen L, Peng J, Yan C et al.: The Mechanism of Environmental Endocrine Disruptors (DEHP) Induces Epigenetic Transgenerational Inheritance of Cryptorchidism. *PLoS One.* 2015; 10(6):e0126403. doi: 10.1371/journal.pone.0126403.
- [6] Rowdhwil S: Toxic Effects of Di-2-ethylhexyl Phthalate: An Overview. *Biomed Res Int.* 2018;2018:1750368. doi: 10.1155/2018/1750368.
- [7] IARC 1AfRoC. Some chemicals present in industrial and consumer products, food and drinking-water: Di(2-ethylhexyl) phthalate. *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans.* 2013;101:149-284.
- [8] Union E. Directive 2005/84/EC of the European Parliament and of the Council 2005.
- [9] Su PH, Chang YZ, Chang HP, Wang SL, Huang HI, Huang PC et al.: Exposure to di(2-ethylhexyl) phthalate in premature neonates in a neonatal intensive care unit in Taiwan. *Pediatric critical care medicine: a journal of the Society of Critical Care Medicine and the World Federation of Pediatric Intensive and Critical Care Societies.* 2012;13(6):671-7. doi: 10.1097/PCC.0b013e3182455558.
- [10] Testai E, Hartemann P, Rastogi SC, Bernauer U, Piersma A, De Jong W et al.: The safety of medical devices containing DEHP plasticized PVC or other plasticizers on neonates and other groups possibly at risk (2015 update). *Regul Toxicol Pharmacol.* 2016; 76:209-10. doi: 10.1016/j.yrtph.2016.01.013.
- [11] Klapproth A, Göen T, Eckert E, Schäffer TE, Cesnjevar R, Münch F: Migration of additives (DEHP & TOTM) from Ph.i.s.i.o[®]-coated PVC materials in medical devices (in German). *Kardiotechnik.* 2017; 1(1):1-10.
- [12] Münch F, Höllner C, Klapproth A, Eckert E, Ruffer A, Cesnjevar R et al: Effect of phospholipid coating on the migration of plasticizers from PVC tubes. *Chemosphere.* 2018; 202:742-749. doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.03.136.
- [13] Eckert E, Münch F, Göen T, Purbojo A, Müller J, Cesnjevar R: Comparative study on the migration of di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) and tri-2-ethylhexyl trimellitate (TOTM) into blood from PVC tubing material of a heart-lung machine. *Chemosphere.* 2016; 145:10-16. doi: 10.1016/j.chemosphere.2015.11.067.
- [14] Münch F, Zimmermann R, Adler W, Purbojo A, Höllner C, Cesnjevar RA, Ruffer A: Reduction of exposure to plasticizers in stored red blood cell units. *Perfusion.* 2020; 35(1):32-38. doi: 10.1177/0267659119851403.
- [15] Lagerberg JW, Vlaar R, Go M, de Korte D: In vitro evaluation of the quality of blood products collected and stored in systems completely free of di(2-ethylhexyl) phthalate-plasticized materials. *Transfusion.* 2015; 55(3):522-31. doi: 10.1111/trf.12870.
- [16] Yang P, Zhou J, Kang Y, Gong L, Zhang J, Yu J et al.: Mannitol-adenine-phosphate: a novel solution for intraoperative blood salvage. *Transfusion.* 2014; 54(4):1146-52. doi: 10.1111/trf.12370.
- [17] Huber D, Witt L, Sumpelmann R, Heinze L, Müller T, Lichtinghagen R et al.: Comparison of bicarbonate-buffered fluid and isotonic saline solution as Cell Saver washing fluids for packed red blood cells. *Paediatric anaesthesia.* 2013;23(11):1021-26. doi: 10.1111/pan.12232.

- [18] Cichutek K: Richtlinie zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten. In: *Gesundheit ABdBf*, editor. Bundesanzeiger 2017.
- [19] Paul-Ehrlich-Institut BiEmd. Richtlinie zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Richtlinie Hämotherapie). 2017.
- [20] LivaNova. Gebrauchsanweisung Xtra Softwareversion 1.06. 2011. pl.
- [21] Höllerer C, Müller J, Göen T, Eckert E: Isomeric separation and quantitation of di-(2-ethylhexyl) trimellitates and mono-(2-ethylhexyl) trimellitates in blood by LC-MS/MS. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2017;1061-1062:153-62. doi: 10.1016/j.jchromb.2017.07.014.
- [22] Eckert E, Müller J, Göen T: Simultaneous determination of polyvinylchloride plasticizers di(2-ethylhexyl) phthalate and tri(2-ethylhexyl) trimellitate and its degradation products in blood by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2015; 1410:173-180. doi: 10.1016/j.chroma.2015.07.083.
- [23] Rael LT, Bar-Or R, Ambruso DR, Mains CW, Slone DS, Craun ML et al.: Phthalate esters used as plasticizers in packed red blood cell storage bags may lead to progressive toxin exposure and the release of pro-inflammatory cytokines. *Oxid Med Cell Longev*. 2009; 2(3):166-171.
- [24] Inoue K, Kawaguchi M, Yamanaka R, Higuchi T, Ito R, Saito K, et al.: Evaluation and analysis of exposure levels of di(2-ethylhexyl) phthalate from blood bags. *Clin Chim Acta*. 2005; 358(1-2):159-166. doi: 10.1016/j.cccn.2005.02.019.
- [25] BfArM: DEHP als Weichmacher in Medizinprodukten aus PVC. https://www.bfarm.de/SharedDocs/Risikoinformationen/Medizinprodukte/DE/dehp_2016.html#1 (2016). Accessed 10.08.2020 2020.
- [26] *Gesundheit ABdBf*. Erlaubnisfreie Gewinnung und Anwendung von Blut im Rahmen der maschinellen Autotransfusion (MAT). *Bundesgesundheitsblatt – Gesundheitsforschung – Gesundheitsschutz*. 2014; 57(5):595. doi: 10.1007/s00103-014-1949-9.
- [27] Singbartl G. W-WG: *Transfusionspraxis* Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2014; SpringerMedizin. doi: DOI 10.1007/978-3-642-55428-5.
- [28] Parlament E: Verordnung (EU) 2017/745 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 5. April 2017 über Medizinprodukte, zur Änderung der Richtlinie 2001/83/EG, der Verordnung (EG) Nr. 178/2002 und der Verordnung (EG) Nr. 1223/2009 und zur Aufhebung der Richtlinien 90/385/EWG und 93/42/EWG des Rates. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/?uri=CELEX%3A32017R0745> (2017). Accessed 18.08.2020 2020.
- [29] Humans IWGotEoCRt. Some chemicals present in industrial and consumer products, food and drinking-water. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum*. 2013; 101:9-549.
- [30] van der Meer PF, Devine DV. Alternatives in blood operations when choosing non-DEHP bags. *Vox sanguinis*. 2017; 112(2):183-4. doi: 10.1111/vox.12479.
- [31] Refaai MA, Conley GW, Henrichs KF, McRae H, Schmidt AE, Phipps RP et al.: Decreased Hemolysis and Improved Platelet Function in Blood Components Washed With Plasma-Lyte A Compared to 0.9% Sodium Chloride. *American journal of clinical pathology*. 2018; 150(2):146-53. doi: 10.1093/ajcp/aqy036.
- [32] Bennett-Guerrero E, Kirby BS, Zhu H, Herman AE, Bandarenko N, McMahon TJ: Randomized study of washing 40- to 42-day-stored red blood cells. *Transfusion*. 2014; 54(10):2544-52. doi: 10.1111/trf.12660.
- [33] Gruber M. BA, Frauendorf M., Seyfried T., Hansen E: Washing of banked blood by three different blood salvage devices. *Transfusion*. 2013;53(5):1001-9. doi: 10.1111/j.1537-2995.2012.03853.x.
- [34] Swindell CG, Barker TA, McGuirk SP, Jones TJ, Barron DJ, Brawn WJ, et al.: Washing of irradiated red blood cells prevents hyperkalemia during cardiopulmonary bypass in neonates and infants undergoing surgery for complex congenital heart disease. *European journal of cardio-thoracic surgery: official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery*. 2007; 31(4):659-64. doi: 10.1016/j.ejcts.2007.01.014.
- [35] Smith HM, Farrow SJ, Ackerman JD, Stubbs JR, Sprung J: Cardiac arrests associated with hyperkalemia during red blood cell transfusion: a case series. *Anesthesia and analgesia*. 2008;106(4):1062-9, table of contents. doi: 10.1213/ane.0b013e318164f03d.
- [36] Hogman CF, Meryman HT: Storage parameters affecting red blood cell survival and function after transfusion. *Transfusion medicine reviews*. 1999;13(4):275-96.
- [37] Kwapil MK N, Cesnjevar R, Stein J, Wenzel F, Münch F: Qualitätsverbesserung durch Waschen von gelagerten Erythrozyten-Konzentraten. 48. Internationale Jahrestagung der DGfK und 11. Fokustagung Herz der DGfK und DGTHG. Wiesbaden: Kardioteknik; 2019: 8.