

» Zum Risiko bakteriell bedingter Transfusionsreaktionen durch Thrombozytenkonzentrate

12

Ausgabe 10
2007
hämotherapie

Dr. med. Gabriele Walther-Wenke

DRK-Blutspendedienst West gGmbH
Zentrum für Transfusionsmedizin
Münster

Zusammenfassung

Thrombozytenkonzentrate bergen von allen Blutkomponenten aufgrund ihrer Lagerungsbedingungen das höchste Risiko der bakteriell bedingten Transfusionsreaktion. GMP-gerechte Herstellungsbedingungen, geeignete Hautdesinfektionsverfahren und das Predonation Sampling reduzieren das Risiko des Keimeintrags, gleichwohl schließen sie eine Kontamination nicht aus. Die Detektion von Bakterien mit dem BacT/ALERT-System an einer zeitnah zum Abschluss der Herstellung aus Thrombozytenkonzentraten gezogenen Probe verfolgt das Ziel, Kontamination vor der Abgabe bzw. Transfusion zu erkennen. Der rechtzeitige Ausschluss bakteriell belasteter TK ist das Ziel. Eine Reihe von Studien demonstriert die Machbarkeit in der Routine, allerdings auch die Grenzen der Methode. Langsam sich vermehrende Bakterien zeigen ein spätes positives Signal und bedingt durch falsch negative Kulturen treten schwerwiegende septische Transfusionsreaktionen insbesondere gegen Ende der Haltbarkeitsfrist der TK weiterhin auf. Auch die Studie der GERMS Group zeigt, dass nur eine Teilmenge der kontaminierten TK von der Transfusion auszuschließen ist. Die Rate der bestätigt positiven TK aus Apherese und gepoolten Buffy coats war nicht unterschiedlich, sodass die Präparate als gleichwertig einzustufen sind. Das BacT/ALERT-Screening von TK löst das Problem nur teilweise und die zukünftige Herausforderung wird die Entwicklung eines schnellen, sensitiven und spezifischen Testsystems sein, das zeitnah zur Transfusion verlässliche Ergebnisse liefert. Die Vermeidung septischer Transfusionsreaktionen durch eine qualitätsgesicherte Transfusionspraxis sowie die schnelle Diagnose und umfassende Aufklärung von Verdachtsfällen ist Aufgabe der Kliniker.

Ob sich das Prinzip der Pathogeninaktivierung von Blutkomponenten durchsetzen kann und das Problem der transfusionsassoziierten Sepsis zu lösen vermag, bleibt abzuwarten.

Summary

Of all the blood components, platelet concentrates harbour the highest risk of bacterial transfusion reactions due to the conditions in which they are stored. Although the risk of introducing bacteria can be minimised by manufacturing conditions in compliance with GMP, appropriate skin disinfection methods, and predonation sampling, these precautions cannot entirely rule out such contamination. Use of the BacT/ALERT system to detect bacteria in a sample taken around completion of the platelet concentrate aims to identify contamination before

supplying and transfusing the concentrate. The objective is to exclude bacterially contaminated platelet concentrates at an early stage. While a number of studies have demonstrated the feasibility of this in routine practice, they have also highlighted the method's limitations. Bacteria that replicate slowly show a late positive signal and, due to the false-negative cultures, serious septic transfusion reactions continue to occur, particularly towards the end of the concentrate's shelf-life. The study by the GERMS Group also demonstrates that only some of the contaminated PCs have to be excluded from the transfusion. Since the rate of confirmed positive PCs from apheresis and pooled buffy coats did not differ, the preparations have to be classified as being of equal quality. BacT/ALERT screening only partly solves the problem, and the future challenge will be to develop a quick, sensitive and specific test system which will yield reliable results close to the time of the transfusion. It is the task of the clinician to prevent septic transfusion reactions by ensuring quality assured transfusion practices, making rapid diagnoses, and investigating suspected events thoroughly.

It remains to be seen whether the principle of pathogen inactivation of blood components will become accepted and will be able to solve the problem of transfusion-associated sepsis.

Einführung

Die Übertragung von Bakterien durch Bluttransfusionen stellt das am längsten bekannte transfusionsassoziierte Infektionsrisiko dar und ist ein bis heute ungelöstes Problem.

Die Entwicklung funktionell geschlossener Blutbeutelssysteme, aseptische Techniken bei der Blutspende, kritische Spenderauswahlkriterien und GMP-gerechte Herstellungsbedingungen führten zu einer drastischen Risikoreduktion. Allerdings steht bis heute keine Methode zur Verfü-



gung, die bakterielle Kontamination von Blutkomponenten auszuschließen oder den sicheren Nachweis der Sterilität für jede Blutkomponente vor der Transfusion zu führen.

Für das Blutspenderscreening sind separat gewonnene Blutproben verfügbar, die mit serologischen und molekularbiologischen Methoden unabhängig vom Blutpräparat untersucht werden. Die hier erzielten Fortschritte bei der Reduktion viraler Transfusionsrisiken kontrastieren zu dem vergleichsweise hohen Risiko der Transfusionsreaktion durch Bakterien.

Thrombozytenkonzentrate bergen offensichtlich von allen Blutkomponenten das höchste Risiko der transfusionsassoziierten Sepsis, die derzeit die häufigste infektiös bedingte Transfusionskomplikation darstellt. Die Raumtemperlagerung unter ständiger Agitation bietet vielen Bakterienspezies günstige Wachstumsbedingungen.

Im Vordergrund stehen Keime der residenten, aber auch der transi-

enten Hautflora wie Staphylokokken, Corynebakterien und Bacillusarten (1,2). Nach einer Lagerphase von zwei bis drei Tagen können hohe Keimzahlen im Präparat erreicht werden (3). Die vergleichsweise geringe Pathogenität der Hautkeime ist gefolgt von weniger schwerwiegenden Verläufen (4,5). Allerdings sind auch Enterobakterien wie *E.coli*, Serratien und Klebsiellen als Kontaminanten von Thrombozytenkonzentraten mit einem höheren Risiko der letalen Sepsis beschrieben (4,6,7).

Der klinische Schweregrad eines bakteriell bedingten Transfusionszwischenfalls hängt von einer Reihe von Faktoren ab. Bakterienspezies, Virulenz, Keimzahl und die applizierte Menge der Blutkomponente sind ebenso von Bedeutung wie die Immunitätslage des Empfängers und eine begleitende Antibiotika-Therapie. Die klinische Symptomatik variiert stark. Fieber, Schüttelfrost und Blutdruckabfall zu Beginn, während oder kurz nach der Transfusion sind die häufigsten Symptome.

Schwerwiegende Verläufe beginnen mit Fieber $> 38,5^{\circ}\text{C}$, Blutdruckabfall, Tachykardie, Schwindel und Erbrechen und steigern sich zum septischen Schock mit Oligurie als Zeichen des Nierenversagens und Verbrauchskoagulopathie. Ursache sind Endo- oder Exotoxine der Bakterien, die die entsprechenden Mediatorsysteme aktivieren.

Thrombozytenkonzentraten kommt eine hohe Bedeutung zu, insbesondere im Rahmen der Chemotherapie hämato-onkologischer Erkrankungen. Der Bedarf in Deutschland liegt bei etwa 350.000 therapeutischen Einheiten pro Jahr, wovon 60 % durch Apherese und 40 % aus Vollblutspenden gewonnen werden.

Inzidenz bakteriell bedingter Transfusionsreaktionen

Die wahre Inzidenz von bakterienbedingten Transfusionszwischenfällen ist schwierig einzuschätzen. Eine moderate Symptomatik, insbesondere bei schwerkranken Patienten,



kann fehlgedeutet werden. Die aufklärende Diagnostik wird teilweise unzureichend durchgeführt oder unterbleibt ebenso wie die Meldung an das zuständige Register. Obwohl in Deutschland seit 1998 mit dem Transfusionsgesetz eine gesetzliche Meldepflicht für unerwünschte Arzneimittelwirkungen (UAW) bei Blutprodukten eingeführt wurde, muss bezweifelt werden, dass der Vorgabe entsprochen wird. Für die Jahre 1995 bis 2002 registrierte das PEI fünf tödliche Zwischenfälle durch bakteriell kontaminierte Blutkomponenten (8). Die Mehrzahl der 81 gemeldeten Verdachtsfälle ist als nicht geklärt einzustufen. In den Jahren 1998 bis 2000 wurde in den USA die BaCon-Studie mit dem Ziel durchgeführt, auf der Basis von Fallkriterien, Definitionen und standardisierten Berichtsformularen Daten zu erlangen, die Aufschluss über das Risiko, die inkriminierten Bakterienpezies und begleitende Risikofaktoren geben (7). Die Rate der transfusionsbedingten Bakteriämie wurde auf 1:100.000 TK, die Letalität auf 1:500.000 TK geschätzt. Andere Studien aus USA, Kanada und Frankreich ordnen das Risiko der septischen Reaktion bei 1:5.000 bis 1:50.000 TK und das Todesrisiko bei 1:50.000 bis 1:1 Mio. TK ein. Für Deutschland geben die Hämotherapie-Leitlinien der Bundesärztekammer das Risiko der transfu-

sionsassoziierten Bakteriämie mit 1:900 bis 1:100.000 TK an (9).

Prävention der bakteriellen Kontamination von Blutkomponenten

In Deutschland wurden Maßnahmen etabliert, die der bakteriellen Kontamination von Blutkomponenten vorbeugen sollen. Dazu zählen:

- › Gezielte Erhebung anamnestischer Angaben von Blutspendern, die ein Bakteriämierisiko beinhalten können wie Durchfallerkrankungen, Zahnbehandlungen, Osteomyelitis, Abszesse
- › Hautdesinfektion in zwei Phasen mit einem zugelassenen Desinfektionsmittel unter strikter Einhaltung der Einwirkzeit
- › Predonation Sampling zur Abtrennung des initialen Blutvolumens von 30 bis 40 ml vor der Spende in einen separaten Beutel
- › GMP-gerechte Herstellungsbedingungen mit Kontrolle der Dichtigkeit der Blutbeutel
- › Prüfung steriler Schlauchschweissverbindungen auf Dichtigkeit
- › Einhaltung der vorgeschriebenen Lagerungsbedingungen
- › Personalschulung

Insbesondere die sorgfältige Hautdesinfektion mit einer für die Vorbereitung der Punktionsstelle geeigneten Methode und das Predonation Sampling sind effektive Methoden zur Reduktion des Kontaminationsrisikos (10,11,12,13). Dabei werden Hautbakterien aus den oberflächlichen Schichten mit dem initialen Blutvolumen der Blutspende in einen separaten Beutel abgefangen, dessen Füllung für Laborproben verwendet wird. Das Predonation Sampling wurde 2004 in Deutschland eingeführt und zukünftige Datenerhebungen werden den Nutzen des Verfahrens zeigen.

Die beschriebenen Maßnahmen reduzieren das Kontaminationsrisiko um 30 bis 70 %, allerdings können insbesondere Bakterien aus tieferen Hautstrukturen nach wie vor zu Kontaminationen führen.

Im Vergleich zu anderen Ländern in Europa und Nordamerika sind die Rahmenbedingungen und Arbeitsprozesse in den Herstellungsbereichen der transfusionsmedizinischen Einrichtungen in Deutschland als hervorragend ausgerichtet auf die Ziele Qualität und Sicherheit der Blutkomponenten zu bezeichnen, sodass hier praktisch kein Optimierungspotential ist.



Bakteriendetektion mit dem BacT/ALERT-System

Wünschenswert wäre eine Bakteriendetektionsmethode, die schnell, sensitiv, spezifisch und einfach zu handhaben ist. Mit einer solchen Methode könnten kontaminierte Einheiten von der Transfusion ausgeschlossen werden und gleichzeitig würde, insbesondere angesichts der kurzen Haltbarkeitsfrist von fünf Tagen bei TK, die Patientenversorgung nicht beeinträchtigt. Da die Keimzahl zeitnah zur Herstellung der Blutkomponenten sehr niedrig sein kann (< 1 CFU/ml), ist bei der Probenziehung zur Testung das Risiko des falsch negativen Resultats an einem kleinen Probenvolumen von 5 bis 10 ml nicht gering. Manche Bakterienspezies benötigen in Abhängigkeit von ihrer Wachstumskinetik sehr unterschiedliche Zeiträume zur

Vermehrung und damit bis zum positiven Kultursignal.

Mit dem BacT/ALERT-System liegen aus einer Reihe von Ländern umfangreiche Daten zur Sterilitätstestung von Blutkomponenten vor. BacT/ALERT ist ein automatisiertes Blutkultursystem, das von Bakterien produziertes CO_2 detektiert. Die Nachweisgrenze wird mit 1 CFU/ml angegeben.

Das Prinzip des Bakterien-Screenings von Thrombozytenkonzentraten besteht darin, zeitnah zur Herstellung eine Probe aus dem Präparat zu entnehmen und zu kultivieren. Bei der Abgabe zur Transfusion wird der negative Kulturstatus sichergestellt. Bei einem positiven Kultursignal wird das TK, sofern noch im Bestand vorhanden, blockiert und erneut in einer 2. Kultur untersucht oder aus der Klinik zurückgerufen

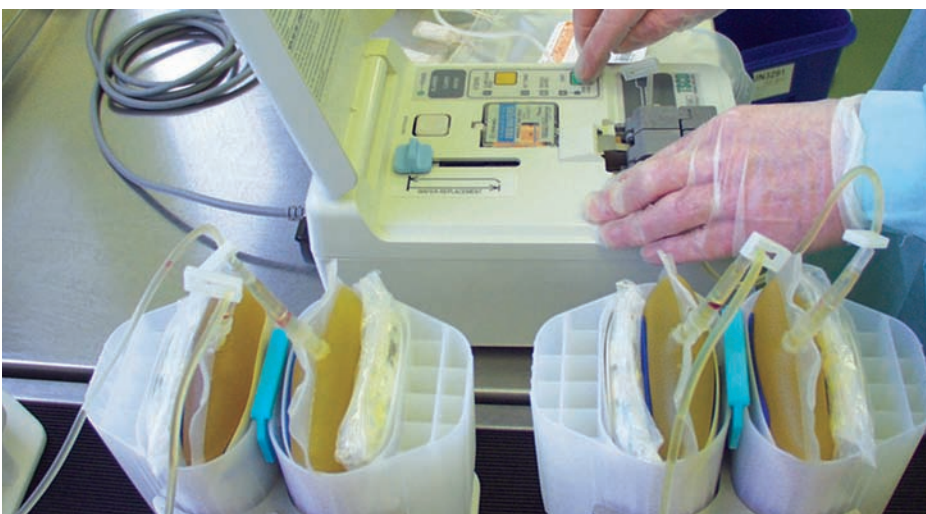
oder im Falle der Transfusion wird überprüft, ob der Empfänger eine Transfusionsreaktion zeigte.

In Deutschland führte eine Arbeitsgruppe der DRK-Blutspendedienste (GERMS Group) eine prospektive multizentrische Studie durch, um die Prävalenz der bakteriellen Kontamination von Thrombozytenkonzentraten zu untersuchen (14). Aus der Herstellung von neun teilnehmenden Zentren wurden 52.243 TK mit dem BacT/ALERT-System an einer Präparateprobe auf Sterilität getestet. Dabei betrug die mittlere Zeit zwischen Venenpunktion und Beginn der Inkubation der Kulturflaschen 18 Stunden.

Hauptziele der Studie waren die Ermittlung der Prävalenz von Bakterien in TK unter den aktuellen Rahmenbedingungen in Deutschland und der Vergleich der Kontaminationsraten von TK aus Apherese und aus gepoolten Buffy coats aus Vollblut.

Die Studie wurde in die Arbeitsprozesse der neun Zentren integriert, da die Machbarkeit der Sterilitätstestung von TK unter Routinebedingungen festgestellt werden sollte.

In die Testung wurden TK aus drei verschiedenen Produktionslinien einbezogen:



Das Keimspektrum der bestätigt positiven TK wurde dominiert von Propionibakterien (**Tabelle 1**). Von den 21 Einheiten aus 13 Apherese wurden 19 überwiegend mit Propionibakterien belastete Einheiten und 10 der 24 Pool-TK transfundiert. Die Kontaminationen mit *S.aureus* und *Serratia marcescens* fielen nach 9 bzw. 13 Stunden Inkubation auf, sodass diese TK nicht abgegeben wurden.

Spontanmeldungen über Transfusionsreaktionen zu den potentiell

oder bestätigt positiven Thrombozytenkonzentraten wurde nicht erstattet. Intensive Nachforschungen bei den zuständigen Ärzten ergaben insgesamt sechs Fälle mit febriler Reaktion, die klinisch als nicht schwerwiegend eingestuft wurden und bei denen kein Kausalzusammenhang mit der Transfusion bzw. einer bakteriellen Kontamination der TK vermutet wurde.

Die Analyse der Auslieferungstage der in der Studie getesteten TK zeigt, dass die Mehrzahl an Tag 2 und

3 der Haltbarkeitsfrist ausgeliefert wurden. Am Ende von Tag 3 der Haltbarkeitsfrist waren 65 % abgegeben. Die Transfusion erfolgte offensichtlich zeitnah zur Auslieferung, denn Rückrufe waren nur bei 1 potentiell positiven Apherese-TK und bei 1 bestätigt positiven Pool-TK erfolgreich.

Zu einem Apherese-TK, das in zwei Einheiten aufgeteilt wurde, kamen Meldungen über schwerwiegende Transfusionsreaktionen (**16**). In einem Fall war eine Patientin mit der Diag-

Ergebnisse der BacT / ALERT-Kulturen

Präparat	Gesamtzahl getestet	Falsch positiv		Potentiell positiv ¹		Bestätigt positiv ²	
		Anzahl	Prozent	Anzahl	Prozent	Anzahl	Prozent
Apherese-TK	15.198*	54	0,36 %	48	0,32 %	13	0,09 %
Plasma-Pool-TK	22.044	54	0,24 %	26	0,12 %	16	0,07 %
T-Sol-Pool-TK	15.001	39	0,26 %	24	0,16 %	8	0,05 %
	52.243	147	0,28 %	98	0,19 %	37	0,07 %

* 3.376 Apherese mit 1 TK
11.822 Apherese mit 2 TK
27.020 Apherese-TK

¹ Apherese-TK vs Pool-TK: Unterschied signifikant $p < 0.001$

² Apherese-TK vs Pool-TK: Unterschied nicht signifikant $p = 0,42$

Keimspezies in potentiell positiven TK (n=98)		Keimspezies in bestätigt positiven TK (n=37)	
<i>Propionibacterium acnes</i>	45	<i>Propionibacterium acnes</i>	20
andere koagulase neg. Staphylokokken:		<i>S. epidermidis</i>	8
<i>S. capitis</i> , <i>S. cohnii</i> , <i>S. hominis</i>	14	<i>S. saccharolyticus</i>	4
Bacillusarten	14	<i>S. capitis</i>	3
<i>S. epidermidis</i>	8	<i>S. aureus</i>	1
Anaerobe Staphylokokken	5	<i>Serratia marcescens</i>	1
coryneforme Bakterien	5		
<i>S. aureus</i>	1		
<i>S. lugdunensis</i>	1		
andere	5		

◀
Tabelle 1



nose NHL betroffen, die nach myeloablativer Chemotherapie und Bestrahlung in Vorbereitung auf eine Knochenmarktransplantation eine Einheit 4,1 Tage nach Abschluss der Herstellung erhielt. Nach der Transfusion kam es zu respiratorischer Insuffizienz und Kreislaufinstabilität. In der Patientenblutkultur wurde *Klebsiella pneumoniae* nachgewiesen, ebenso im Restmaterial aus dem TK-Beutel. Die Patientin verstarb trotz sofortiger Antibiotikagabe an einem septischen Geschehen mit Multiorganversagen nach zehn Tagen. Eine zweite Patientin mit der Diagnose AML erhielt die zweite Einheit aus derselben Apherese 4,2 Tage nach Herstellung und reagierte mit Fieber und Kreislaufkollaps. Nach der Gabe von Katecholaminen und Antibiotika stabilisierte sich der Zustand. Die Blutkultur und das Restmaterial aus dem Präparat enthielten *Klebsiella pneumoniae*.



Eine Reihe von Studien berichtet über die Resultate des Sterilitätscreenings von Thrombozytenkonzentraten mit dem BacT/ALERT-System (**Tabelle 2**).

Eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist aufgrund methodischer Unterschiede nur bedingt gegeben. Der Zeitpunkt der Probenziehung aus dem TK, das Inokulumvolumen und die Kulturmethode (nur aerob oder aerob und anaerob) wurden unterschiedlich gewählt. Das Predonation Sampling wurde nur teilweise eingesetzt. Die Herstellungsmethoden der Thrombozytenkonzentrate variierten von der Gewinnung mittels Apherese über Konzentrate aus einem Vollblut, Poolherstellung aus vier bis sechs Einzelkonzentraten im funktionell geschlossenen System bis hin zu TK aus zuvor gepoolten Buffy coats mit Plasma oder Thrombozytenlagerlösung. Bei einigen Studien wurde in den ersten 12 bis 24 Stunden der Inkubationsfrist eine Abgabesperre vorgenommen, die nur im Notfall ausgesetzt wurde. Alle Studien bestätigen die Machbarkeit des BacT/ALERT-Screenings in der Routine. Allerdings zeigen sie auch die Grenzen der Kultivierungsmethode. Bei geringem Keimeintrag und insbesondere bei langsamer Vermehrung der Bakterien kann es bei Auftreten eines späten positiven Kultursignals zur Abgabe kontaminierter

TK kommen. Dies betrifft vor allem die vorzugsweise in anaerober Kultur nachweisbaren Mikroorganismen wie Propionibakterien, Bacillusarten und Corynebakterien. Einige Studien wurden nur mit aeroben Kulturflaschen durchgeführt, da klinisch als kritisch einzustufende Keime wie *S. aureus*, *S. lugdunensis*, Serratien und Klebsiellen insbesondere bei schneller Vermehrung ein relativ frühes aerobes Signal zeigen. Eine wesentliche Beschränkung des BacT/ALERT-Screenings liegt darin, dass bei der Probenziehung aus dem Präparat kontaminierende Bakterien verpasst werden mit dem Ergebnis des falsch negativen Resultats. Eine frühe Probenziehung und ein relativ kleines Probenvolumen erhöhen das Risiko. So berichten sechs der hier dargestellten Studien über schwerwiegende septische Transfusionskomplikationen durch falsch negativ getestete TK. Zusammenfassend kann das Screening mit der Kultivierungsmethode das Risiko der Transfusion von bakteriell kontaminierten Thrombozytenkonzentraten senken, allerdings im beschränkten Maße.

Weitere Detektionsmethoden

Das Testprinzip des Pall eBDS (Pall Medical) beruht auf der Messung des O₂-Gehalts in der Luft über einer



Überblick über Methoden und Ergebnisse von Studien zum Bact/ALERT-Screening von Thrombozytenkonzentrat

Referenz / Land	Methode	Anzahl und Art der getesteten TK	Testergebnisse	Klinische Angaben
Brecher ME. Transfusion 2003; 43:974-978 (17) USA	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 4 ml aerob und 4 ml anaerob ➤ Probenziehung an Tag 2 der Haltbarkeitsfrist und bei Abgabe bzw. am Verfalldatum ➤ kein Predonation Sampling 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 2.397 Apherese-TK aus 1.480 Apheresen 5 Tage Haltbarkeitsfrist 	<ul style="list-style-type: none"> 7 (0,29 %) bestätigt positiv 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 4 TK mit Propionibakterien transfundiert ➤ keine TR
Macauley A. Transfusion Medicine 2003; 13:189-195 (18) Nordirland	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 5–7 ml aerob und anaerob ➤ Probenziehung an Tag 2 der Haltbarkeitsfrist ➤ kein Predonation Sampling 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 3.285 Pool-TK aus 4 Buffy coats ➤ 1.600 Apherese-TK 5 Tage Haltbarkeitsfrist 	<ul style="list-style-type: none"> 12 (0,36 %) bestätigt positiv 1 (0,06 %) bestätigt positiv 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 1 TK mit Propionibakterien transfundiert ➤ keine TR
Munksgaard L. Transfusion 2004; 44:1166-1173 (19) Dänemark	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 10 ml aerob ➤ Probenziehung 3 – 30 Stunden nach Venenpunktion ➤ kein Predonation Sampling 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 20.761 Pool-TK aus 4 Buffy-coats ➤ 1296 Apherese-TK 7 Tage Haltbarkeitsfrist 	<ul style="list-style-type: none"> 70 (0,32 %) bestätigt positiv 0 bestätigt positiv 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 26 TK mit Propionibakterien und Corynebakterien transfundiert ➤ keine TR
Larsen CP. Vox Sanguinis 2005; 88: 93-97 (20) Norwegen	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 5 – 10 ml aerob ➤ Probenziehung 24 Stunden nach der Entnahme ➤ kein Predonation Sampling 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 36.896 TK 84 % Pool-TK aus 4 Buffy coats 16 % Apherese-TK 6,5 Tage Haltbarkeitsfrist 	<ul style="list-style-type: none"> 12 (0,03 %) bestätigt positiv 29 TK (0,08 %) mit positiver 1. Kultur nicht nachgetestet 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ keine TR
Fang CT. Transfusion 2005; 45:1845-1852 (21) USA	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 4 ml aerob ➤ Probenziehung bis spätestens 4 Stunden nach Herstellung ➤ kein Predonation Sampling 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 350.658 Apherese-TK 5 Tage Haltbarkeitsfrist 	<ul style="list-style-type: none"> 68 (0,019 %) bestätigt positiv 12-Stunden TK-Quarantäne nach Inkubationsbeginn 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ kein TK mit bestätigt positiver Kultur transfundiert ➤ 3 septische TR durch negativ getestete TK mit <i>S. lugdunensis</i>, <i>S. epidermidis</i>, koagulase negative Staphylokokken
Te Boekhorst PAW. Transfusion 2005; 45:514-519 (22) Niederlande	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 5 – 10 ml in aerober und anaerober Kultur ➤ Probenziehung 2 Stunden nach Herstellung ➤ kein Predonation Sampling 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 28.104 Pool-TK aus 5 Vollbluten mit Additivlösung 5 Tage Haltbarkeitsfrist 	<ul style="list-style-type: none"> 185 (0,65 %) Kulturen mit Keimnachweis, keine Untersuchung in 2. Kultur 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 113 TK mit positivem positivem Kulturergebnis transfundiert, ohne TR ➤ 2 septische TR durch negativ getestete TK mit <i>Bacillus cereus</i>
Kleinman H. Transfusion 2006; 46:1787-1794 (23) USA	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 4 ml in aerober Kultur ➤ Probenziehung 24 Stunden nach Herstellung ➤ Predonation Sampling bei einer Teilmenge der Apheresen 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 122.971 Apherese-TK ➤ 13.579 Pool-TK Probe von TK aus Vollblut vor Pooling gezogen 5 Tage Haltbarkeitsfrist 	<ul style="list-style-type: none"> 21 (0,017 %) bestätigt positiv 1 (0,007 %) 24 Stunden TK-Quarantäne nach Inkubationsbeginn 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Abgabe von nur 1 TK mit bestätigt positiver Kultur ➤ keine TR




Überblick über Methoden und Ergebnisse von Studien zum BacT/ALERT-Screening von Thrombozytenkonzentrat

Referenz/Land	Methode	Anzahl und Art der getesteten TK	Testergebnisse	Klinische Angaben
De Korte D. Transfusion 2006; 46:476-485 (24) Niederlande	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 5 – 10 ml in aerober und anaerober Kultur ➤ Probenziehung 2-12 Stunden nach Herstellung ➤ Predonation Sampling bei Teilmenge 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 8.000 Apherese-TK ➤ 113.093 Pool-TK aus 5 Buffy coats 5 Tage Haltbarkeitsfrist 	18 (0,23 %) bestätigt positiv 835 (0,74 %) bestätigt positiv bei Teilmenge mit Predonation Sampling 0,32 % bestätigt positiv, ohne Predonation Sampling 0,78 % bestätigt positiv	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 40 % der TK mit positivem Kultursignal transfundiert ➤ 2 Fälle mit Fieber nach Transfusion ➤ 2 septische TR durch negativ getestete TK mit <i>Bacillus cereus</i> (bereits von Te Boekhorst berichtet)
Ramirez-Arcos S. Transfusion 2007; 47:421-429 (25) Kanada	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 3,5 – 10 ml in aerober Kultur ➤ Probenziehung 14 – 30 Stunden nach Herstellung ➤ kein Predonation Sampling ➤ methodische Unterschiede zwischen den Testeinrichtungen 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 82.004 Apherese-TK 5 Tage Haltbarkeitsfrist 	6 (0,0073 %) bestätigt positiv	<ul style="list-style-type: none"> ➤ bestätigt positive TK nicht transfundiert ➤ 2 schwerwiegende septische TR durch TK mit <i>Serratia marcescens</i>/<i>Salmonella sp.</i> durch negativ getestete TK
Eder AF. Transfusion 2007; 47:1134-1142 USA	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 4 – 5 ml in aerober Kultur ➤ Probenziehung spätestens 24 Stunden nach Herstellung ➤ Predonation Sampling 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 1.004.206 Apheresen mit 1.496.134 Apherese-TK 5 Tage Haltbarkeitsfrist 	186 (0,018 %) bestätigt positiv 12 Stunden TK-Quarantäne nach Inkubationsbeginn	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 1 bestätigt positives TK transfundiert ohne TR ➤ Im Testzeitraum 20 Fälle mit transfusionsassoziierter Sepsis, davon 3 tödliche Verläufe mit negativ getesteten TK durch <i>S.lugdunensis</i>, <i>S.aureus</i> (2) alle am Tag 5 der Haltbarkeitsfrist

 >
Tabelle 2

TR = Transfusionsreaktion

Probe aus dem zu untersuchenden TK und weist den O₂-Verbrauch durch die metabolische Aktivität und das Wachstum von Bakterien nach. Über eine sterile Schlauchschweißverbindung wird 16 bis 24 Stunden nach der Spende eine Probe von 2 ml aus dem Präparatebeutel in einen Probenbeutel überführt. Nach weiteren 24 bis 30 Stunden Inkubation bei 35 °C erfolgt eine Einpunkt-

messung mit einem Oxygen-Analyser. Die Nachweisgrenze liegt bei 1 bis 100 CFU/ml in Abhängigkeit von der Wachstumskinetik der Bakterien. In den USA ist das System zugelassen. Die Testung von 118.067 TK zeigte 118 initial positive Testergebnisse, von denen 23 bestätigt wurden (27). An einem TK wurde die Kontamination mit *S. epidermidis* nicht erfasst. In einer Kontaminati-

onsstudie erfasste das PALL eBDS nach 24 Stunden Inkubation 97,5 % und nach 30 Stunden Inkubation 100 % der mit verschiedenen Bakterienspezies gespickten Probenbeutel als positiv (28). Im direkten Vergleich von BacT/ALERT und Pall eBDS zeigten beide Methoden eine vergleichbare Sensitivität. Ob dieses unter Routinebedingungen zu bestätigen ist, muss offen bleiben.



Foto:

E. Petershofen für www.transfusionspraxis.de



Das Scan-System™ (Hemosystem, Marseille, Frankreich) basiert auf der Markierung bakterieller Genome mit Fluoreszenzfarbstoff und deren Detektion in einem Zytometriesystem. Es erlaubt die schnelle Detektion von Bakterien in TK in 90 Minuten. Aus Spiking-Studien wird geschlossen, dass das System mit einer Sensitivität von 103 CFU/ml Bakterien nachweisen kann (29,30). Daten aus umfangreichen Testen unter Blutbank-Routinebedingungen stehen noch aus. Das System ist in den USA ebenfalls zugelassen.

Basierend auf dem Nachweis bakterieller 16S rDNA wurde eine PCR entwickelt und in Spiking-Studien bezüglich ihrer Sensitivität überprüft (31,32). Danach ermöglicht die Methode den schnellen Nachweis einer bakteriellen Kontamination auch bei niedriger Keimzahl etwa 24 Stunden nach Abschluss der TK-Präparation. Die Methode hat das Potential, vor der Abgabe von TK eingesetzt zu werden und beansprucht etwa drei Stunden Testdauer. Bisher liegen nur experimentelle Daten vor und eine Testkonfiguration für die Routine ist nicht absehbar.

Für die Zukunft ist eine Weiterentwicklung der Screening-Methoden zur Kontaminationstestung zu erwarten, um dem Risiko der bakteriellen Transfusionsreaktion im Sinne des Vorsorgeprinzips zu begegnen.

Maßnahmen bei der Transfusion

Bei der Transfusionsvorbereitung, Durchführung sowie Registrierung und Aufklärung von Transfusionsreaktionen sind eine Reihe von qualitätssichernden Maßnahmen zu beachten, die das Risiko der bakteriell bedingten Transfusionsreaktion reduzieren können. Dazu zählen:

- › Koordination von Beschaffung und Bedarf mit dem Ziel der Begrenzung der Lagerungsdauer bis zur Anwendung
- › Visuelle Kontrolle der Blutkomponenten auf Leckage, Flocken, Gerinnsel, Trübung und Dunkel-färbung von EK als mögliche Zeichen einer Verkeimung
- › Aseptisches Arbeiten, Einführen des Transfusionsbestecks kurzfristig vor Beginn der Transfusion, Beschränkung des Gebrauchs von Transfusionsbestecken auf maximal sechs Stunden
- › Engmaschige Überwachung des Patienten, frühzeitiger Abbruch der Transfusion bei Zeichen der Unverträglichkeit
- › Einleitung der aufklärenden Diagnostik bei Verdachtsfällen: Patientenblutkulturen, Kulturen aus inkriminierten Blutbeuteln
- › Meldung von UAW-Verdachtsfällen gemäß den einschlägigen Vorgaben

Insbesondere die umfassende Analyse von septischen Transfusionsreaktionen kann dazu beitragen, präventive Strategien weiterzuentwickeln und deren Wirksamkeit einzuschätzen.

Ein grundsätzlich anderes und weitaus umfassenderes Ziel verfolgt das Konzept der Pathogeninaktivierung. Es fokussiert auf Viren, Parasiten, Leukozyten und Bakterien als Kontaminanten von Blutkomponenten. Ob es gelingen wird, Pathogeninaktivierungsverfahren für Blutkomponenten breit zu etablieren, die bei optimalem Erhalt der biologischen Funktion der Blutbestandteile und ohne Risiko für den Empfänger wirksam sind, wird die Zukunft zeigen. Mit der Arzneimittel-Zulassung eines Thrombozytenkonzentrats, das einem Pathogeninaktivierungsverfahren unterzogen wird, ist in Deutschland der erste Schritt in diese Richtung getan.

Die Literaturhinweise finden Sie im Internet zum Download unter: www.drk.de/blutspende