




Firma  
Curea Medical GmbH  
Herrn C. Schulte  
Zum Eichberg 2  
37339 Berlingerode

  
**Akkreditiertes analytisches  
Labor und Beratungsstelle**  
Humboldtallee 34A  
D-37073 Göttingen

**Dr. med. Ulrich Schmelz**  
Tel.: 05 51 / 39 4973  
E-Mail: [Ullischmelz@aol.com](mailto:Ullischmelz@aol.com)

**Labor:**  
Telefon: 05 51 / 39-4970  
Fax: 05 51 / 39-4957

**Datum 30. März 2012**

## Fachgutachten

### Bestimmung des Resorptionspotentials der Wundauflagen „curea P1“ und „curea P2“ im Hinblick auf Vollblut, Plasma, Serum und physiologischer Kochsalzlösung

#### 1. Einführung und Fragestellung:

Im Rahmen dieses Gutachtens soll das Resorptionspotential der Wundauflagen „curea P1“ und „curea P2“ (Curea Medical GmbH, Berlingerode) im Hinblick auf folgende wundrelevante Flüssigkeiten geprüft werden:

- Vollblut
- Plasma
- Serum
- Kochsalzlösung w=0,9% (physiologisch)

Im Hinblick auf Wundexsudate ist bevorzugt mit einer salz- und eiweißreichen Zusammensetzung zu rechnen. Ein Wundexsudat entspricht daher am ehesten der Plasmafraktion.

Im Hinblick auf frische Wunden kann jedoch eine Nachblutung auftreten, welche in verschiedenen Fällen vor dem Hintergrund einer Wundclearance erwünscht ist. Daher ist eine Prüfung des Resorptionspotentials der Wundauflagen vor allem gegenüber Vollblut relevant, da ohne eine ausreichende Resorption zwar der flüssige Anteil des Blutes (Plasma) resorbiert wird, jedoch möglicherweise die Blutzellen in der Wunde angereichert werden. Die Anreicherung von Zellbestandteilen des Blutes kann durch Hämolysephänomene verschiedene Gewebskinine freisetzen, die proinflammatorisch wirken. Ferner wird die Gerinnung ausgelöst, wodurch die Granulationsphase der Wunde verzögert werden kann.

Um diese Nachteile auszuschließen, ist es relevant, daß eine 1:1 Resorption von Blut durch die oben bezeichneten Wundauflagen erfolgt.

Daher wird der Schwerpunkt der Betrachtung in diesem Gutachten auf die Blutresorption gelegt. Parallel dazu wird vergleichend die Resorptionskapazität der Wundauflagen gegenüber Plasma, Serum und physiologischer Kochsalzlösung geprüft.

## **2. Durchführung der Untersuchung:**

Es wird ein Volumen von 200mL der zu prüfenden Flüssigkeit (Vollblut, Plasma, Serum und physiologische Kochsalzlösung) in je einer Kristallisierschale eines Durchmessers von 300mm vorgelegt.

### **Vollblut:**

Verwendung von Vollblutmaterial nach Hemmung der Gerinnung durch Natriumcitrat. Citrat bindet koordinativ Calciumionen (als Chelatkomplex). Da Calciumionen den Gerinnungsfaktor IV repräsentieren und dieser an sämtlichen prokoagulatorischen Prozessen beteiligt ist, wird durch eine Komplexbindung der Calciumionen eine antikoagulatorische Wirkung erzeugt.

### **Plasma:**

Es wird Vollblutmaterial mit EDTA-Kaliumsalz versetzt. EDTA bindet koordinativ neben Calciumionen auch Magnesiumionen und erzeugt demnach ähnlich der Verwendung von Citrat zunächst eine antikoagulatorische Wirkung. Da neben Calcium auch Magnesiumionen gebunden werden, werden zusätzlich enzymatische Kofaktoren der Gerinnungskaskade inaktiviert, wodurch die Gerinnungseiwieße vor Veränderungen (sekundären Koagulationsphänomenen) geschützt sind und in der flüssigen Phase verbleiben.

Durch Zentrifugation wird die Zellfraktion abgetrennt, im Überstand verbleibt die flüssige Phase des Blutes mit sämtlichen Eiweißen, einschließlich der (inhibierten) Gerinnungsproteine.

### **Serum:**

Vollblutmaterial wird nativ mit Glasperlen versetzt. Die Fremdoberfläche (Glas) löst innerhalb von Minuten die extrinsische Gerinnungskaskade aus, wodurch die Zellbestandteile zusammen mit den Gerinnungseiweißen als roter Thrombus gebunden werden.

Im Überstand verbleibt eine Salzlösung, die noch Nichtgerinnungseiwieße (lösliche Enzyme, Albumin und Globuline, darunter auch Antikörper) enthält.

### **Physiologische Kochsalzlösung:**

Diese repräsentiert ausschließlich die wäßrige Fraktion des Blutes

Die zu prüfende Wundaufgabe (curea P1, curea P2) wird zunächst gewogen und anschließend mit der Resorptionsseite in die zu prüfende Flüssigkeit gelegt. Nach einem Zeitintervall von 60 Minuten wird die Wundaufgabe aus der Flüssigkeit genommen und durch Abtupfen von Anhaftungen befreit.

Anschließend wird die Masse nach Resorption bestimmt und durch Differenzbildung die resorbierte Masse ermittelt.

Für jede Prüfflüssigkeit und jedes Produkt wird ein Test mit je 2 Prüfkörpern parallel durchgeführt.

Im Hinblick auf die Prüfflüssigkeit Vollblut wird die Erythrozytenzahl mittels einer Neubauer-Zählkammer vor der Resorption und nach der Resorption (im in der Kristallisierschale verbliebenen Volumen) mikroskopisch bestimmt (nach entsprechender Aufbereitung des Blutes mit Haeym'scher Lösung, d.h. isotonische Natriumsulfat / Quecksilber(II)chlorid-Lösung). Auf diese Weise kann ermittelt werden, ob es durch die Resorption zu einer Anreicherung der Erythrozytenfraktion im verbliebenen Restvolumen kommt.

Nach erfolgter Resorption wird der Resorptionskern der mit Vollblut beaufschlagten Wundaufgaben nach einem Zeitintervall von 24 Stunden bei 36°C geöffnet. Es erfolgt eine mikroskopische Beurteilung des Resorptionsmaterials. Hierzu wird ein Aliquot des Resorptionsmaterials 1:1 mit Hayem'scher Lösung verdünnt, anschließend wird ein Tropfen auf einem Objektträger ausgestrichen und eine Färbung nach Pappenheim durchgeführt.

Auf diese Weise kann beurteilt werden, ob eine Hämolyse im Resorptionskern nach erfolgter Resorption in einem Zeitintervall von 24 Stunden eingetreten ist.

### 3. Ergebnisse:

#### 3.1 Ergebnis der Vollblut-Resorption:

Produkt:	Masse initial	Masse nach Resorption	Resorbierte Masse	N(Ery) vor Resorption	N(Ery) nach Resorption
P1 (A)	4,52 g	72,83 g	68,31 g	10,12*10 <sup>6</sup> /µL	8,21*10 <sup>6</sup> /µL
P1 (B)	4,44 g	71,20 g	66,76 g	10,12*10 <sup>6</sup> /µL	8,77*10 <sup>6</sup> /µL
P2 (A)	4,73 g	68,75 g	64,02 g	10,12*10 <sup>6</sup> /µL	9,22*10 <sup>6</sup> /µL
P2 (B)	4,68 g	70,75 g	66,07 g	10,12*10 <sup>6</sup> /µL	9,28*10 <sup>6</sup> /µL

Anmerkung: Die Erythrozytenzahl (N(Ery)) wurde in der Prüfflüssigkeit initial, d.h. vor der Resorption und nach erfolgter Resorption ermittelt.

Logarithmus der Erythrozytenzahl vor Resorption:

7,01

Logarithmus der Erythrozytenzahl nach Resorption:

Log.Differenz:

P1 (A)	6,91	-0,10
P1 (B)	6,94	-0,07
P2 (A)	6,96	-0,05
P2 (B)	6,97	-0,04

Mittelwert der Änderung der Erythrozytenzahl:

P1	6,93	-0,08
P2	6,97	-0,04

In sämtlichen Proben waren Hämolysephänomene im Resorptionskern nach Exposition über 24h bei 36°C abwesend.

### 3.2 Ergebnis der Plasma-Resorption:

Produkt:	Masse initial	Masse nach Resorption	Resorbierte Masse
P1 (A)	4,51 g	76,44 g	71,93 g
P1 (B)	4,45 g	75,10 g	70,65 g
P2 (A)	4,71 g	74,77 g	70,06 g
P2 (B)	4,69 g	76,24 g	71,55 g

### 3.3 Ergebnis der Serum-Resorption:

Produkt:	Masse initial	Masse nach Resorption	Resorbierte Masse
P1 (A)	4,53 g	81,02 g	76,49 g
P1 (B)	4,51 g	80,10 g	75,59 g
P2 (A)	4,73 g	82,15 g	77,42 g
P2 (B)	4,74 g	81,69 g	76,95 g

### 3.4 Ergebnis der Kochsalzlösungs-Resorption:

Produkt:	Masse initial	Masse nach Resorption	Resorbierte Masse
P1 (A)	4,51 g	89,04 g	84,53 g
P1 (B)	4,49 g	90,10 g	85,61 g
P2 (A)	4,74 g	91,25 g	85,61 g
P2 (B)	4,70 g	90,90 g	86,20 g

## 4. Interpretation und Bewertung:

Bei Betrachtung der Ergebnisse unter Punkt 3.1 wird deutlich, daß eine Vollblutresorption im Verhältnis 1:1 im Hinblick auf die Produkte „curea P1“ und „curea P2“ erfolgt. Eine Anreicherung von zellulären Bestandteilen des Blutes im nach Resorption verbliebenen Volumen erfolgt demnach nicht. Es wurde im Gegenteil eine geringe Abnahme der Anzahldichte ( $\log 0,08$  bei curea P1, bzw.  $\log 0,04$  bei curea P2) beobachtet.

Über eine Expositionszeit von 24h bei 36°C erfolgte keine Hämolyse des resorbierten Vollblutes, d.h. eine Liberalisierung von Gewebskininen, die möglicherweise aus der Wundaufgabe in die Wunde zurück diffundieren könnten, tritt nicht auf.

Erwartungsgemäß wurde eine höhere Gesamtresorptionskapazität im Hinblick auf die zellfreien Flüssigkeiten (Plasma, Serum und Kochsalzlösung) festgestellt (Punkte 3.2, 3.3 und 3.4). Die Resorptionskapazität steigt mit sinkendem Eiweißgehalt der Flüssigkeit, da mit sinkendem Eiweißgehalt der Anteil des nicht in Hydrathüllen gebundenen, freien Wassers steigt.

Bei Fragen können Sie mich direkt unter 0551/394973 oder 0175/9150334 erreichen.

Mit freundlichen Grüßen

A handwritten signature in black ink, reading 'Ulrich Schmelz'. The signature is written in a cursive style with a prominent 'U' and 'S'.

Dr.med. Dipl.-Chem. Dipl.-Ing.(FH) Ulrich F. Schmelz  
Ärztlicher Leiter des akkreditierten Labors