

Vortrag D G U, Berlin 1999

## Mikrobiologische Aspekte der allogenen Knochentransplantation

L. Frommelt, Hamburg

Sehr geehrter Herr Vorsitzender,  
Meine Damen und Herren,

### 1 Einleitung

In der Revision- und der Rekonstruktionschirurgie besteht ein Bedarf an Knochentransplantaten, der bislang nicht für alle Indikationen durch Knochenersatzmaterialien gedeckt werden kann. Aus Umfragen, die federführend von Jerosch bzw. Knaepler [1,2] durchgeführt wurden, ergibt sich ein jährlicher Bedarf von ca. 20. bis 25.000 Transplantaten für die Bundesrepublik Deutschland, wobei sich diese Erhebungen auf Hüftkopftransplantate beziehen. Auch wenn diese Zahlen nicht aktuell sind, zeigen sie doch die Dimension des Problems auf. Dieser Bedarf wird überwiegend aus Knochenbanken an Krankenhäusern gedeckt, die die Transplantate für den Eigenbedarf bereitstellen. Im weiteren beziehe ich mich auf Hüftkopftransplantate von Lebendspendern. Die Anforderungen an Knochentransplantate von Multiorganspendern sind grundsätzlich gleich, die Ausgangssituation unterscheidet sich jedoch deutlich.

Allogene Knochentransplantate sind biologischer Herkunft und bergen damit die Gefahr, daß Mikroorganismen mit dem Transplantat übertragen werden. Dies schließt Bakterien, Viren, Protozoen und unkonventionelle Erreger, wie das Creutzfeld-Jacob-Agens ein.

### 2 Infektionsrisiken und rechtliche Bestimmungen

Da im Bewußtsein der breiten Öffentlichkeit die Angst vor HIV-Infektionen besonders groß ist und gute Möglichkeiten der Detektion nach einer Transplantation bestehen, ist die Absicherung der Transplantate in diesem Bereich besonders intensiv betrieben worden.

Im Gegensatz dazu sind bakterielle Infektionen schwer von dem allgemeinen Risiko abzugrenzen, das jeder Eingriff am Knochen beinhaltet. Zu beachten ist aber, daß die zu erwartende Infektion in aller Regel eine Fremdkörperinfektion ist, sei es durch gleichzeitige Implantation von Endoprothesen oder durch das Transplantat selbst.

Protozoeninfektionen lassen sich dagegen gut durch anamnestiche Daten epidemiologisch abgrenzen und auch die Übertragung des Creutzfeld-Jacob-Agens scheint bei sorgfältiger Anamnese vernachlässigbar zu sein. [3]

Die Übertragung von Infektionserregern viraler Infektionen, wie Hepatitis B und C sowie HIV-Erkrankungen, ist gut belegt. [4,5,6] Das hat dazu geführt, daß die Anforderungen an die Sicherheit der Transplantate durch Richtlinien stetig gestiegen ist. Die Richtlinie zum Führen einer Knochenbank der Bundesärztekammer [7] hat dem durch Überarbeitung Rechnung getragen, wie auch andere, internationale Richtlinien. In Deutschland kommt hinzu, daß ein Knochentransplantat ein sog. Fertigarzneimittel im Sinne des Gesetzes (AMG) ist. Wird das Transplantat außerhalb der Klinik, in der es gewonnen wird, benutzt, bedarf es einer Zulassung und einer Herstellungsgenehmigung, wie ein Antibiotikum oder eine Aspirin-tablette.

Das Bestreben muß es sein, ein solches Arzneimittel so sicher für den Empfänger herzustellen, wie es dem gegenwärtigen Stand von Wissenschaft und Technik entspricht, unabhängig davon, was in Richtlinien, Verordnungen oder Gesetzen nachzulesen ist.

In der Richtlinie der Bundesärztekammer ist ein Kanon relevanter Infektionskrankheiten aufgeführt, die auch für die Transfusionsmedizin Bedeutung haben. [8] Im Gegensatz zu Blutprodukten, ist bei Knochentransplantaten die Möglichkeit der Übertragung von Bakterien aufgrund der Gewinnung größer und die Bakterien werden ohne Schutz durch die Abwehr des Empfängers direkt an den potentiellen Infektionsort „transplantiert“.

Werden Bakterien übertragen, denkt man unwillkürlich an „Ansteckung“ und „großen“ Seuchen. Bei Knochen transplantationen können aber auch geringe Keimzahlen zu einer Infektion führen. Die Gefahr sind Fremdkörperinfektionen, die durch sehr geringe Keimmengen hervorgerufen werden können. [9] Relevante Kontaminationen sind aus der Hautflora des Patienten oder des OP-Teams möglich und können in einem Bereich, in dem sich Menschen bewegen, durch hygienische Maßnahmen vermindert, aber nicht gänzlich vermieden werden.

### 3 Instrumente der Infektionsprophylaxe

Das Instrumentarium zur Infektionsprophylaxe besteht aus vier wesentlichen Elementen: (1) Der Feststellung der Spendetauglichkeit durch klinische Untersuchung unter Einschluß der Anamnese. (2) Dem Selbstausschluß von Spendern aus Risikogruppen. (3) Der Quarantänelagerung bis zur Durchführung von Nachuntersuchungen (z. B. 2. HIV-Testung). (4) Laboruntersuchungen (klinisch-chemische, infektionsserologische und bakteriologische Untersuchungen).

#### 3.1 Klinische Untersuchung und Spendertauglichkeit

Eine sehr effektive Maßnahme ist die klinische Untersuchung zusammen mit dem Selbstausschluß von Spendern. Das Risiko wird hier über epidemiologische Kriterien und einen Untersuchungsbefund drastisch minimiert. Nachteil ist, daß dieses Verfahren subjektiv ist und einen erfahrenen Untersucher sowie einen verlässlichen Patienten voraussetzt. Verwirrte und demente Patienten sollten grundsätzlich ausgeschlossen werden. Die Anamnesefähigkeit des Patienten ist hierbei ein unmittelbares Kriterium zur Risikominimierung.

#### 3.2 Laboruntersuchungen und Transplantatsicherheit

Laboruntersuchungen stehen in dem Geruch durchweg objektive und exakte, aussagekräftige Ergebnisse zu liefern. Dies gilt mit geringen Einschränkungen für klinisch-chemische Untersuchungen, wie z. B. einer Kalium-Bestimmung. Anders bei immunologischen Tests, wie dem Enzymimmunoassay (EIA): Hier wird eine hohe Sensitivität durch eine geringere Spezifität erkauft. Screening-Tests werden zwar so eingestellt, daß sie idealerweise keine falsch negativen Ergebnisse liefern, es ist aber nicht auszuschließen.

Ein Beispiel dafür ist das HIV Typ O, das bei seiner Entdeckung von vielen Testkits nicht erkannt wurde. [10]

Im Verlauf einer Virusinfektion ist in der Regel ein Patient infektiös zu einem Zeitpunkt, zu dem der Test noch nicht positiv sein kann. Es ergibt sich nicht nur bei HIV ein sog. serologisches Fenster, in dem die Marker ein negatives Ergebnis anzeigen, da das Analyt noch nicht, oder in zu geringem Ausmaß vorhanden ist. [11] Dies gilt aber nicht nur für HIV-Infektionen, sondern auch für die meisten Viruserkrankungen wie beispielsweise die Hepatitis C. Hier ist die Begründung für die Quarantänelagerung und dem zeitversetzten 2. HIV-Test.

Molekularbiologische Untersuchungen, die das Virusgenom nachweisen, können helfen diese Lücke zu schließen. Mit einer vorgeschalteten Polymerasekettenreaktion (PCR) kann die Nachweisgrenze dieser hochspezifischen Tests extrem gesteigert werden: Durch eine erregerspezifische PCR kann das Risiko einer HCV-Übertragung durch Blutkonserven von 1:30.000 auf 1:100.000 gesenkt werden. Allogene Blutkonserven werden deswegen mittlerweile überwiegend so getestet und auch für Knochen transplantate müssen diese Verfahren diskutiert werden. [12]

#### 3.3 Verfahren zur Keimreduktion

Ging es bislang darum, potentielle Gefahren durch Auswahl von Spendern auszuschließen, geht es jetzt darum noch vorhandene Erreger zu eliminieren also den Einsatz von Desinfektion- und Sterilisationsverfahren.

Die Wirksamkeit dieser Verfahren hängt davon ab, was sterilisiert wird, wie hoch die Ausgangskeimzahl ist und welche Mikroorganismen abgetötet werden sollen. Andererseits sollen die gewünschten Eigenschaften des Materials erhalten werden. Die Verbrennung eines Transplantates macht es steril, zerstört es aber gleichzeitig.

Ein Sterilisationsverfahren muß erreichen, daß auf 1 Million sterilisierter Einheiten, maximal eine gefunden wird, bei der sich Mikroorganismen nachweisen lassen. Desinfektionsverfahren müssen Mikroorganismen um mehrere Logstufen abreichern und dabei bestimmte Leitkeime sicher eliminieren. Diese Quantifizierung, die von Regelwerken (z. B. DIN, EN, etc.) gefordert wird, macht deutlich welche Bedeutung die Ausgangskeimzahl für Sterilisations- und Desinfektionsverfahren hat.

Die Dampfsterilisation, wie sie z. B. für chirurgische Instrumente durchgeführt wird, wirkt nur dort optimal, wo ein unmittelbarer Kontakt mit dem gespannten Dampf erfolgt. Bei der Sterilisation von Flüssigkeiten (und Hüftköpfen!) muß sichergestellt werden, daß die Behandlungstemperatur im Inneren erreicht wird. [13] Da sich die mechanischen Eigenschaften des Knochens schon bei Bedingungen, wie sie in der Instrumentensterilisation benutzt werden, dramatisch verschlechtern, kann bei einem vollständigem Temperatúrausgleich bei großen Knochenteilen von einer nahezu vollständigen funktionellen Zerstörung des Transplantates ausgegangen werden.

Die chemische Behandlung mit Peressigsäure ist sehr effektiv, was die Keimreduktion anbetrifft, ist aber aufgrund der geringen Eindringtiefe für große Materialien nur geeignet, wenn sichergestellt wird, daß die Peressigsäure auch das Innere z. B. eines Hüftkopfes in ausreichender Konzentration erreicht.

An der Effektivität der Gammabestrahlung müssen insofern Zweifel geäußert werden, als es aktuelle Hinweise gibt, daß die Bestrahlungsdosen, die üblicherweise verwendet werden, zur Virusinaktivierung nicht ausreichend sind. Die Autoren Campbell und Li kommen zu dem Schluß: "It is concluded that gamma irradiation should be disregarded as a significant virus inactivation method for bone allografts." [14]

Die Thermoinkubation wurde von Knaepler und Mitarbeitern [15] in Marburg entwickelt, und ist von seiner Natur her eine Art Pasteurisierung, die in der Lage ist sowohl vegetative Bakterienformen wie auch Viren zu inaktivieren. War anfänglich nur die HIV-Inaktivierung Ziel dieses Verfahrens, hat sich im weiteren gezeigt, daß sich auch andere Erreger damit abreichern lassen.

In eigenen Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß die Erwärmung der Hüftkopftransplantate im Zentrum der Transplantate auf 82 °C die als Kontaminaten auftretenden Keime inaktiviert. Theoretisch kann davon ausgegangen werden, daß auch höhere Bakterienlasten vegetativer Lebensformen im Zentrum der Transplantate abgetötet werden. Dies schließt auch Tuberkulosebakterien ein.

Viren (HIV, Modellviren für HBV und HCV) werden, wie die Untersuchungen am Max-von-Pettenkofer-Institut in München und des Zentrallabors des niederländischen Roten Kreuzes (CLB) zeigen, um über vier Logstufen abgereichert. Van Engelenburg konnte zeigen, daß in vitro bei gleicher Behandlungstemperatur und Einwirkzeit Virusreduktionen von 6 Logstufen möglich sind.

#### 4 Zusammenfassung

Die Knochentransplantation beinhaltet das Risiko, Krankheitserreger zu übertragen. Wie bei Blutprodukten besteht die Möglichkeit dieses Risiko durch Spenderauswahl und, wenn möglich, durch Keimabreicherungsverfahren zu einem vertretbaren Restrisiko zu reduzieren.

Die Risikominimierung erfolgt durch mehrere, nacheinander geschaltete Stufen, so daß die Summe der Verfahren die Sicherheit des Transplantates bestimmt.

Der sorgfältigen Spenderauswahl durch physikalische Untersuchung und Anamnese sorgt dafür, daß Spender, die ein bedeutsames epidemiologisches Risiko haben, Keimträger zu sein, und diejenigen, die klinisch erkrankt sind, von der Spende ausgeschlossen werden.

Laboruntersuchungen schließen mit den erwähnten methodischen Einschränkungen, Spender aus, bei denen das Übertragungsrisiko hoch ist.

Abreicherungsverfahren, wobei zukünftig auch an die Kombination verschiedener Methoden gedacht werden muß, sind in der Lage durch Spenderauswahl und Laboruntersuchungen nicht erfaßte Mikroorganismen abzutöten. Die Effektivität hängt dabei entscheidend davon ab, wie die Keimbelastung des Transplantates vor Behandlung ist. Je geringer die Ausgangsbelastung ist, desto effektiver kann die Keimverringering bis hin zur vollständigen Eliminierung sein. Die Verfahren müssen dabei an die jeweiligen Materialien angepaßt und validiert sein.

## 5 Literatur:

- 1 Jerosch J et al. (1990) Unfallchirurg 93: 334-338
- 2 Knaepler H et al. (1990) Chirurg 61: 833-835
- 3 Sogal A (1999) J Peridontol 70(9): 1053-1063
- 4 Eastlund T (1995) Cell Transplant 4: 455-477
- 5 Tomford WW (1995) J Bone Joint Surg Am 77(11): 1742-1754
- 6 Schrott HE et al. (1996) Unfallchirurg 99: 679-684
- 7 Bundesärztekammer (1996) Deutsches Ärzteblatt 93(A): 2166-2171
- 8 Bundesärztekammer und Paul-Ehrlich-Institut (1996) Bundesgesundheitsblatt
- 9 Zimmerli W et al. (1985) Scand.J.Infect.Dis. 17(3): 303-310
- 10 Gürtler L (1996 II) Lancet 348:176-179
- 11 Frösner G in: Burkhardt F (Hrg.), Mikrobiologische Diagnostik, Stuttgart und New York, 1992
- 12 Gürtler L (1996) Infusionsther. Transfusionsmed. 23: 4-6
- 13 Metak G (1994) Abstrakt: Zentraleuropäischer Unfallkongreß, Budapest
- 14 Campbell DG and Li P (1999) Aust N Z J Surg 69: 517-521
- 15 Knaepler H (1992) Orthop Prax 1: 23-27

## Korrespondenzadresse:

Dr. med. Lars Frommelt  
Institut für Infektiologie, klinische Mikrobiologie  
und Krankenhaushygiene  
ENDO-KLINIK gGmbH  
Holstenstr. 2  
22767 Hamburg

Telefon 0 40 / 31 97 - 12 70  
Telefax 0 40 / 31 97 - 19 09  
e-mail lars.frommelt@t-online.de