

# Sind die Risiken allogener Knochentransplantate noch vertretbar?

H. Knaepler<sup>1</sup> und T. von Garrel<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Klinik für Unfallchirurgie, Klinikum Wetzlar-Braunfels, Forsthausstraße 1-3, D-35578 Wetzlar,

<sup>2</sup> Klinik für Unfallchirurgie, Universitätsklinik Marburg, Baldingerstraße, D-35043 Marburg

## Are the Risks of Allogenic Bone Transplantations Tolerable?

**Summary.** With allogenic bone transplants all viral and bacterial germs can be transmitted. Because of this, there are national and international guidelines. If these guidelines are adhered to including precise donor selection and proper blood-sample taking, the risks are tolerable. Using the 80° thermal disinfection system, additional safety and reduction of the risks can be guaranteed. If these rules are used together with the disinfection system, allogenic bone transplantation is still a good procedure.

**Key words:** Allogenic bone transplantation – Risks – Thermal disinfection system

**Zusammenfassung.** Bei der Transplantation allogener Knochen können alle viralen und bakteriellen Krankheitserreger übertragen werden. Aus diesem Grund sind national wie international strenge Richtlinien zur allogenen Knochentransplantation erstellt worden. Unter Beachtung dieser Richtlinien und einer exakten Auswahl der Spender sowie entsprechender serologischer Untersuchungen ist das Risiko tolerabel. Durch Anwendung des 80°-Thermodesinfektionsverfahrens mit dem Lobator SD 1/2 wird eine zusätzliche Sicherheit erzielt. Die Risiken allogener Knochentransplantate sind somit vertretbar, der Nutzen nachgewiesen.

**Schlüsselwörter:** Allogene Knochentransplantation – Risiken – Thermodesinfektionsverfahren

## Einleitung

Knochendefekte stellen ein häufiges und nach wie vor schwieriges Therapieproblem dar. Es ist davon auszugehen, daß sich bei ca. 15% aller Operationen am Skelettsystem die Notwendigkeit zum Knochenersatz ergibt, um Stabilität und Form des betroffenen Skelettabschnitts wiederherstellen zu können [35].

Mittlerweile werden in den USA jährlich ca. 300.000–400.000 allogene Knochentransplantate verwendet [2]. Nach einer Umfrage aus dem Jahre 1990 ist davon auszugehen, daß in Deutschland über 20.000 Transplantationen pro Jahr vorgenommen werden [22]. Während sich in den USA große, überregionale Gewebebanken etabliert haben, die eine Transplantatbereitstellung zu meist auf kommerzieller Basis betreiben, gibt es in Deutschland aufgrund der gesetzlichen Grundlage bislang keine derartigen Organisationsstrukturen. Für eine zentrale Sammlung, Aufbereitung, Lagerung und Verteilung allogener Gewebetransplantate müssen diese als Arzneimittel zu-

**Tabelle 1.** Relevante humanpathogene Erreger, die bei der allogenen Knochentransplantation übertragbar sind

Bakterien	Alle Bakterien können übertragen werden. Am häufigsten sind vegetative Bakterien, vor allem Staphylokokken und Streptokokken.
Viren	Hepatitis-A-Virus, Hepatitis-B-Virus, Hepatitis-C-Virus, Hepatitis-Delta-Virus, Cytomegalievirus, Eppstein Barr Virus, HIV I + II, HTLV-I, Parvovirus, Rabiesvirus
Andere	Treponema pallidum, Trypanosomen, Malariaplasmodien, Mikrofilarien, Babesia microti
Prionen	Creutzfeld-Jacob-Agens

gelassen sein. Wird allogener Knochen jedoch unter fachlicher Aufsicht eines verantwortlichen Arztes gewonnen und vor Ort transplantiert, entfällt diese Zulassungspflicht. Dies bedeutet, daß ein allogenes Knochen transplantat nur klinikintern verwendet werden darf [3]. Aus diesem Grund werden in den meisten größeren unfallchirurgischen und orthopädischen Kliniken eigene Knochenbanken betrieben. Bei den Transplantaten handelt es sich überwiegend um Hüftköpfe, welche beim endoprothetischen Gelenkersatz anfallen und in geringem Umfang um Knochen, der von Organ- und Gewebespendern gewonnen wird [30].

Einen wesentlichen Wandel der allogenen Knochen transplantation und des Knochenbanking hat sich in Deutschland 1990 mit der erstmaligen Veröffentlichung von Richtlinien zum Führen einer Knochenbank durch die Bundesärztekammer vollzogen [34]. Aufgrund der 1988 in den USA erschienenen Veröffentlichung über die HIV-Übertragung durch ein tiefgefrorenes Knochen transplantat [7], wurde in den Richtlinien eine dreimonatige Quarantänelagerung der Transplantate mit anschließender erneuter HIV-Testung des Spenders vorgeschrieben. Um der HIV-Problematik gänzlich aus dem Wege zu gehen und aufgrund der organisatorischen Schwierigkeiten bei der Durchführung des zweiten HIV-Tests, sind nach eigenen Umfragen aus den Jahren 1989 und 1992 ca. 25% der Knochenbanken geschlossen worden. Der Umfang der jährlich durchgeführten Knochen transplantationen verringerte sich um ca. 30% [23]. Zur generellen Erhöhung der Transplantatsicherheit und zur Vermeidung der HIV-Zweitestung begann man in vielen Kliniken Knochen zu autoklavieren [23]. Alternativ zur allogenen Knochen transplantation gelangten vermehrt keramische Knochenersatzmaterialien zum Einsatz.

Mit der zunehmenden Verbreitung der allogenen Knochen transplantation rückten auch die damit verbundenen Gefahren für den Transplantatempfänger mehr ins Bewußtsein [20] (Tabelle 1). Im Vordergrund steht dabei die Übertragung von viralen und bakteriellen Krankheitserregern.

### **Bakterielles Erkrankungsrisiko**

Die Angaben über die bakterielle Besiedlungsrate von allogenen, unter sterilen Bedingungen entnommenen Knochen transplantaten in der Literatur betragen zwischen 1% bis 92% [10, 14, 32]. Diese extreme Spannweite läßt sich am ehesten durch Unterschiede in den mikrobiologischen Untersuchungstechniken erklären [14]. Dabei werden Staphylokokken- und Streptokokkenspezies als häufigste Kontamination angegeben.

Eine bakterielle Kontamination führt nicht zwangsläufig zu einer Infektion beim Empfänger, da es sich zumeist um Bakterienspezies mit niedriger Pathogenität und geringer Keimzahl handelt. Die in der Literatur angegebenen Infektionsraten nach Transplantation von allogenen, kryokonservierten Knochen schwanken zwischen 4 bis 15% [20, 26, 28], wobei keineswegs erwiesen ist, daß die Transplantate allein ursächlich für die Infektion verantwortlich sind.

### **Virales Erkrankungsrisiko**

Über Einzelfälle von Hepatitis und Tollwut durch allogene Gewebetransplantate ist berichtet worden [11, 20]. Analog zum Infektionsrisiko bei Bluttransfusionen und Gabe von Blutderivaten wird heute das Übertragungsrisiko von Hepatitiden bei der allogenen Knochen transplantation mit 1:10.000–50.000 für Hepatitis C und 1:100.000 für Hepatitis B angegeben [17]. Eine Übertragung der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit ist zwar durch allogene Dura mater-Transplantate bekannt, über eine solche Infektion durch allogene Knochen wurde bisher nicht berichtet.

1988 veröffentlichte das Center for Disease Control (CDC) in den USA den ersten Fall einer HIV-Infektion durch ein tiefkühlkonserviertes, allogenes Knochen transplantat [7]. 1990 konnte Buck HIV aus Sehnen- und Knochenmaterial verstorbener AIDS-Patienten nachweisen und außerdem zeigen, daß durch Tiefkühlung oder Gefriertrocknung von Knochen und Bindegewebe die Infektiosität nur graduell reduziert wird [5]. Er berechnete das HIV-Infektionsrisiko für die allogene Knochen transplantation bei strenger Spenderauswahl und serologischer Testung mit 1:1.000.000 [4]. Weitere Berichte über HIV-Infektionen durch allogene Knochen transplantate haben das Risikobewußtsein erheblich verschärft [28, 29].

## **Erkrankungsrisiko bei rhesusinkompatibler Knochentransplantation**

Eine allogene Knochentransplantation bei ABo-Blutgruppenungleichheit kann zwar zum Nachweis einer Antikörperbildung beim Empfänger führen, eine Morbidität ergibt sich daraus nicht [21]. Hingegen wurde in der Literatur mehrfach über das Auftreten eines Morbus haemoliticus neonatorum nach rhesusinkompatibler Knochentransplantation berichtet [16]. Bei rh-negativen Transplantatempfängerinnen in gebärfähigem Alter darf daher kein rh-positiver Knochen verwendet werden. Die Transplantation eines rh-negativen Knochens ist hingegen unbedenklich.

## **Richtlinien zum Führen einer Knochenbank**

In den USA wurde 1976 die American Association of Tissue Banks (AATB) als Dachorganisation großer überregionaler Gewebekbanken gegründet und erstmals mit den Standards for Tissue Banking Richtlinien zum Umgang mit allogenen Gewebetransplantaten erlassen, welche jährlich aktualisiert werden [1, 2]. Für Europa wurden solche Richtlinien 1990 und 1991 mit der Gründung der European Association of Tissue Banks (EATB) und der European Association of Musculo Skeletal Transplantation (EAMST) formuliert [12, 13].

Für Deutschland wurden spezielle Richtlinien zum Betreiben einer Knochenbank erstmals 1990 durch den wissenschaftlichen Beirat der Bundesärztekammer erlassen und zuletzt 1996 in einer 2. Fassung aktualisiert [34, 35].

Da trotz strenger Beachtung der Richtlinien ein virales und bakterielles Infektrisiko bei der allogenen Knochentransplantation nicht sicher auszuschalten ist, wurden zahlreiche Methoden zur Sterilisation und Desinfektion experimentell und klinisch erprobt [25, 27]. Grundsätzlich stehen hierfür chemische, thermische und Bestrahlungsverfahren zur Verfügung [22].

Viele chemische Agentien zeigen eine unzureichende Penetration in den Knochen oder sind wegen toxischer und mutagener Nebenwirkungen nicht vom Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte zugelassen, so daß die chemische Behandlung kaum praktische Anwendung findet [22, 34].

Nach den aktualisierten Richtlinien ist eine validierte Bestrahlung oder Wärmebehandlung gestattet, wenn die HIV-Zweitestung nicht vorgenommen werden kann [18, 35].

## **Bestrahlung**

Die inaktivierende Wirkung der Bestrahlung auf Bakterien und Viren beruht vor allem auf einer Schädigung der DNA und RNA. Um einen ausreichenden bakteriziden und viruziden Effekt zu

erhalten, ist eine Mindeststrahlendosis von 2,5 Megarad erforderlich [22]. Bei dieser Dosisleistung konnte in zahlreichen Versuchen eine deutliche Reduktion der biologischen Transplantatqualitäten, vor allem durch die Zerstörung des BMP und eine erhebliche Festigkeitsabnahme des Knochens nachgewiesen werden. Außerdem wird die Entstehung freier Radikaler mit potentiell mutagenen Eigenschaften durch die Bestrahlung diskutiert. Dennoch findet die Strahlenbehandlung vor allem in den USA breite praktische Anwendung, wobei zumeist nur 1,5 Megarad appliziert werden [2].

## **Thermische Behandlung**

Hitze führt zur Proteinkoagulation und Zerstörung der Nukleinsäuren. Die thermische Behandlung von allogenen Knochentransplantaten wurde breit untersucht [16].

## **Autoklavierung**

Autoklavierte, d. h. mit Temperaturen von über 100°C unter gespanntem Wasserdampf behandelte spongiöse Transplantate zeigen nicht nur einen extremen Festigkeitsverlust, der bis zu 85% beträgt, sondern auch einen Strukturverlust, der eine Beeinträchtigung der Osteokonduktivität zur Folge hat [22].

Die signifikante Unterlegenheit des autoklavierten gegenüber unbehandelten allogenen Knochen beruht vor allem auf der Inaktivierung osteoinduktiver Proteine (z. B. BMP). Urist hat bereits 1967 den völligen Wirkungsverlust von BMP bei Temperaturen von über 100°C beschrieben [31]. Auch bei der klinischen Anwendung zeigte sich die Minderwertigkeit des autoklavierten Knochens [22]. Hinzu kommt, daß Metak in thermophysikalischen Untersuchungen nachgewiesen hat, daß die kliniksübliche Autoklavierung (121°C für 20 Min. oder 134°C für 5 Min.) keine homogene Hitzedurchdringung von größeren Transplantaten wie humane Hüftköpfe erbringt [24]. Durch Wärmebehandlung wird die Antigenität allogener Knochen-Transplantate deutlich vermindert. So konnte Burwell und Gowland keine Immunreaktionen bei Verwendung autoklavierten Knochens nachweisen [6].

## **80°C-Thermobehandlung**

Die Wärmebehandlung von Hüftkopfpräparaten mit 80°C wurde von Knaepler und v. Garrel eingehend untersucht [16, 22]. Als Grundlage für die praktische Anwendung der Wärmebehandlung zur Knochendesinfektion wurde an Hüftköpfen von unterschiedlicher Größe und Dichte im Wasserbad, das innerhalb von 30 Minuten auf 80°C erhitzt wurde, die zeitliche und örtliche Wärmeausdehnung analysiert und die Einwirkungszeit ermittelt, die auch im Zentrum von sehr großen Hüftköpfen für mindestens 10 Minuten zu dieser Temperatur führt.

Die bakterielle Desinfektionswirkung der 80°C Wärmebehandlung wurde durch Inaktivierungsversuche mit hoch angereicherten Suspensionen von klinisch relevanten Bakterienstämmen, die in das Zentrum humaner Hüftköpfe appliziert wurden, nachgewiesen [21].

In gleicher Weise wurde die virale Desinfektionswirkung bestätigt, wobei HIV sowie als Modellvirus für Hepatitis C das BVDV (bovine viral diarrhoea virus) und als Modellvirus für Hepatitis B das CPV (canine parvovirus) verwendet wurden [8, 9, 15].

Die 80°C Wärmebehandlung führt nicht zu einem wesentlichen Festigkeitsverlust des Knochens. Tierexperimentell wies der 80°C erhitzte gegenüber dem autoklavierten Knochen eine deutlich bessere Einheilung auf. Die höhere biologische Wertigkeit beruht zum einen auf die weitgehend erhaltene osteoinduktive Wirkung. Wie verschiedene Untersucher zeigen konnten, besitzt das mit 80°C behandelte Transplantat zwischen 80 bis 50% seiner osteoinduktiven Kapazität [16]. Zum anderen wird die osteokonduktive Wirkung durch die Wärmebehandlung nicht beeinträchtigt. Weiterhin wurde in eigenen Untersuchungen eine Inaktivierung des Rhesusfaktors mit der 80°C-Thermobehandlung nachgewiesen [9].

Auf der Basis dieser umfassenden Grundlagenforschung wurde für den kliniksinternen Einsatz das Marburger Wärmedesinfektionssystem für allogene Hüftkopfpräparate entwickelt (Lobator sd-1). Der auf dem Operationstisch entknorpelte und in den Transplantatbehälter eingebrachte Hüftkopf wird sofort thermobehandelt. Nach der Abkühlungsphase wird die Inkubationsflüssigkeit unter sterilen Bedingungen umgefüllt. Aus ihr werden Proben zur aeroben und anaeroben mikrobiologischen Untersuchung gewonnen. Bis zur Verwertung des Transplantates wird dieses bei -80°C kryokonserviert.

## **Fazit**

Trotz intensiver Forschungs- und Entwicklungsaktivitäten gibt es bis heute keine Substanz, die den anspruchsvollen und umfangreichen Anforderungen an einen idealen Knochenersatz erfüllt. Noch immer stellt das autogene Spongiosatransplantat den Goldstandard dar.

Der allogene Knochenersatz ist heute biologisch die zuverlässigste und wirtschaftlich die kostengünstigste Alternative zum autogenen Ersatz. Allogene Knochentransplantate stehen als Hüftköpfe meist in genügender Menge zur Verfügung und lassen sich intraoperativ ausgezeichnet verarbeiten. Sie erfüllen auch die biomechanischen Anforderungen an einen Knochenersatzstoff. Das unbehandelte, kryokonservierte Transplantat erfordert zur Freigabe eine zweite Blutuntersuchung auf HIV beim Spender 6 Monate nach der Entnahme. Man sollte jedoch eher den internationalen Richtlinien folgen, die eine Zweittestung auch für Hepatitis B und C vorschreiben. Dies bedeutet eine erhebliche Erschwernis im Knochenbankmanagement. Die Thermodesinfektion des allogenen Knochens trägt ganz wesentlich zur bakteriellen und viralen Transplantatsicherheit bei, da sich trotz strikter Beachtung der Knochenbankregularien das Infektionsrisiko nicht vollständig eliminieren lässt.

## Literatur

1. American Association of Tissue Banks (1976) Guidelines for the banking of musculoskeletal tissues. AATB Newslett 3, 2 McLean
2. American Association of Tissue Banks (1997) FDA – Human tissues intended for transplantation. AATB Information Alert Vol VII: 11
3. Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (1997) Kommentar zur Zulassung allogener Gewebetransplantate. BfAM 8/97
4. Buck BE, Malinin TI, Brown MD (1989) Bone transplantation and human immunodeficiency virus: an estimate of risk of acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). Clin Orthop Rel Res 240: 129–135
5. Buck BE, Resnick L, Shan SM, Malinin TI (1990) Human immunodeficiency virus cultured from bone. Clin Orthop Rel Res 251: 249–253
6. Burwell RG, Gowland G (1962) Studies in the transplantation of bone III. J. Bone Jt Surg Br 44: 131–148
7. CDC (1988) Transmission of HIV through bone transplantation: case report and public health recommendations. MMWR 37, 597–599 (1988)
8. CLB (1996) Inactivation of RBC antigens by Telos thermal disinfection system. Final Report – Central Laboratory of the Netherlands Red Cross Blood Transfusion Service, 11/96
9. CLB Savety Services (1996) Final Reports FR3201 FR3202, Central Laboratory of the Netherlands Red Cross Blood Transfusion Service
10. Deijkers RL, Bloem RM, Petit PL, Brand R, Vehmeyer SB, Veen MR (1997) Contamination of bone allografts: analysis of incidence and predisposing factors. J Bone Joint Surg Br 79(1): 161–166
11. Eggen BM, Nordbo SA (1992) Hepatitis C and bone transplantation. N Engl J Med 326: 411
12. European Association of Musculo Skeletal Transplantation (1988) Standards for tissue banking. EAMST
13. European Association of Tissue Banks (1997) General standards for tissue banking, EATB, Berlin
14. Garrel v T, Garbas J, Knaepler H, Mutters R (1993) Optimierung des mikrobiologischen Keimnachweises bei der allogenen Knochentransplantation, in: Becker, Beger, Hartel (Hrsg): Chirurgisches Forum 93 Springer-Verlag Berlin, Heidelberg (1993)
15. Garrel v T, Knaepler H, Gürtler L (1997) Untersuchungen zur Inaktivierung von HIV-1 in humanen Femurköpfen durch Verwendung eines thermischen Desinfektionssystems Lobator SD-1. Unfallchirurg 100: 375–381
16. Garrel v T, Gotzen L (1988) Allogene Knochentransplantation und Knochenbanking. Unfallchirurg 101: 713–727
17. Gürtler L (1994) Blood-borne viral infections. Blood Coagulation and Fibrinolysis 5(3): 5–10
18. Hofmann C, Garrel v T, Gotzen L (1996) Knochenbankmanagement bei Verwendung eines thermischen Desinfektionssystems (Lobator SD-1). Unfallchirurg 99: 498–508
19. Jensen TT (1987) Rhesus immunisation after bone allografting. A case report. Acta Orthop Scand 58: 584
20. Kakaiya R, Müller WV, Gudino M (1991) Tissue transplant-transmitted infections. Transfusion 31(3): 277–284
21. Knaepler H, Ascherl R, Kretschmer V (1990) Immunisierung gegen Blutgruppenantigene durch allogene Knochentransplantation. Chirurg 61: 830–832
22. Knaepler H, Garrel v T, Gotzen L (1994) Untersuchungen zur Desinfektion und Sterilisation allogener Knochentransplantate. Heft Unfallheilk 235: 1–101
23. Knaepler H, Garrel v T, Gürtler L (1994) Die allogene Knochentransplantation – Eine aktuelle Standortbestimmung. Dtsch Ärztebl 15: 1052–1057
24. Metak G, Reeg S, Aschrel R, Gradinger R, Blümerl G (1994) Nicht erreichte Sterilisationstemperatur in großen Knochentransplantaten – eine Warnung bei der Verwendung autoklavierter Knochen. Zentraleuropäischer Unfallkongress 5, 94 Budapest
25. Ranki A, Valle SL, Krohn M et al. (1987) Long latency precedes overt seroconversion in sexually transmitted human-immunodeficiency-virus infection. Lancet: 589–593
26. Regel G, Südkamp NP, Illgner A, Buchenau A, Tscherne H (1992) 15 Jahre allogene Knochentransplantation. Unfallchirurg 95: 1–8
27. Schabel C, Zekeng L, Pau CP, Hu D, Kaptue L, Gürtler L, Dondero T, Tsague JM, Schochtman G, Jaffe H (1994) Sensitivity of United States HIV antibody tests for detection of HIV-1 group O infections. Lancet 344: 1333–1334
28. Schratz HE, Regel G, Lobenhoffer P, Tscherne H (1996) Die Organisation einer Knochen- und Gewebebank. Unfallchirurg 99: 880–888
29. Simonds RJ, Holmberg SD, Hurwitz RL (1992) Transmission of human immunodeficiency virus type 1 from a seronegative organ and tissue donor. N Engl J Med 326: 726–732
30. Torwesten G, Braun M (1993) Kostenanalyse einer Knochenbank. Z Orthop 131: 51–56
31. Urist MR, Silvermann BF, Büring K, Dubuc FL, Rosenberg JM (1967) The bone induction principle. Clin Orthop Rel Res 53: 243
32. Veen MR, Bloem RM, Petit PL (1994) Sensitivity and Negative Predictive Value of Swab Cultures in Musculoskeletal Allograft Procurement. Clin Orthop Rel Res 300: 259–263
33. Wallhäuser G (1987) Praxis der Sterilisation-Desinfektion-Konservierung. Georg Thieme-Verlag Stuttgart
34. Wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer (1990) Richtlinien zum Führen einer Knochenbank. Dtsch Ärztebl 87: 41–45
35. Wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer (1996) Richtlinien zum Führen einer Knochenbank. Dtsch Ärztebl 93, 43/35: 1715–1719