

# Nukleinsäure-Amplifikationstests für HIV, HBV und HCV bei Gewebespendern: Sinnvoll oder überflüssig?

Axel Pruß<sup>a</sup> Gregor Caspari<sup>b</sup> Detlev H. Krüger<sup>c</sup> Johannes Blümel<sup>d</sup> C. Micha Nübling<sup>d</sup>  
Ernst-Markus Quenzel<sup>e</sup> Ulrich Kalus<sup>a</sup> Wolfram Gerlich<sup>f</sup> Lutz Gürtler<sup>g</sup>

<sup>a</sup> Gewebebank, Institut für Transfusionsmedizin, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Mitte, Berlin,

<sup>b</sup> Zentrale Einrichtung Medizinaluntersuchungsamt und Krankenhaushygiene, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel,

<sup>c</sup> Institut für Virologie (Helmut-Ruska-Haus), Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Mitte, Berlin,

<sup>d</sup> Abteilung Virologie, Paul-Ehrlich-Institut, Langen,

<sup>e</sup> Institut für Transfusionsmedizin, Helios-Klinikum Schwerin,

<sup>f</sup> Institut für Medizinische Virologie, Justus-Liebig-Universität Gießen,

<sup>g</sup> Institut für Medizinische Virologie, Universitätsklinikum Frankfurt, Frankfurt/M., Deutschland

## Schlüsselwörter

Allograft · Gewebebank · Virussicherheit · NAT · HIV · HCV · HBV

## Zusammenfassung

Mit der Umsetzung der EU-Richtlinien 2004/23/EG und 2006/17/EG im Gewebegesetz sowie den begleitenden Verordnungen (Arzneimittel- und Wirkstoffherstellungsverordnung, Transplantationsgesetz-Gewebeverordnung) wurden die grundlegenden Anforderungen an die Virussicherheit der Gewebespenden allgemein definiert. Während infektionsserologische Testungen (Anti-HIV 1/2, Anti-HCV, Hepatitis-B-Oberflächenantigen, Anti-Hepatitis-B-Core-Antigen, *Treponema pallidum*-Hämagglutinationsassay) vorgeschrieben sind, wird der Nukleinsäure-Nachweis für HIV, HBV und HCV nicht explizit gefordert. Anhand in der Literatur berichteter Virusübertragungen, gewebespezifischer Besonderheiten sowie Herstellungs- und gegebenenfalls Inaktivierungsverfahren wird eine Bewertung des Stellenwertes des HIV/HCV/HBV-Nachweises mittels Nukleinsäure-Amplifikationstechniken (NAT) bei Spendern unterschiedlicher Gewebe vorgenommen und mit den Erfahrungen des Blutspendewesens verglichen. Muskuloskeletale Gewebe besitzen infolge des zumeist hohen Blutgehalts der Gewebe, des umfangreichen Entnahmespektrums, der bisher beschriebenen Übertragungen, der unterschiedlichen Herstellungsverfahren sowie der hohen Spender-Empfänger-Ratio ein signifikantes Risiko, HIV/HCV/HBV zu übertragen. Daher sollte bei Spendern muskuloskeletaler Gewebe, die keinem effektiven Virusinaktivierungsverfahren unterzogen werden, eine HIV-, HBV- und HCV-NAT-Testung erfolgen. Kardiovaskuläres Gewebe hat bei Durchführung der serologischen Testung ein sehr geringes Restrisiko der HIV/HCV/HBV-Übertragung. Aufgrund der fehlenden Möglichkeit einer effektiven Virusinaktivierung (Erhalt der Gewebemorphologie) und der Spender-Empfänger-Ratio von bis zu 1:10 sollte die HIV-, HCV- und HBV-NAT jedoch als zusätzliche Sicherheitsmaßnahme erfolgen. Augenhornhäute besitzen aus physiologisch-morphologischer sowie epidemiologischer Sicht das geringste HIV/HCV/HBV-Übertragungsrisiko, jedoch sollte die HCV-NAT durchgeführt werden. Eine Quarantänelagerung der Gewebe eines Spenders kann bei negativem Ergebnis der HIV/HCV/HBV-NAT grundsätzlich entfallen. Aufgrund der vielfältigen Synergieeffekte mit der Transfusionsmedizin bietet es sich für Gewebebanken an, die Testung der infektionsserologischen bzw. molekularbiologischen Laborparameter in Kooperation mit Blutspendediensten durchzuführen.

## Key Words

Allograft · Tissue bank · Virus safety · HIV · HBV · HCV · Nucleic acid testing

## Summary

*Nucleic Acid Amplification Tests for HIV, HBV, and HCV in Tissue Donors: Useful or Dispensable?*

With the conversion of the EU-Guidelines 2004/23/EC and 2006/17/EC in the tissue law as well as the accompanying regulations (AMWHV, TPG-GewV), the fundamental requirements were defined for the virus safety of tissue donations. While serologic testing (anti-HIV 1/2, anti-HCV, hepatitis B surface antigen, anti-hepatitis B core antigen, *Treponema pallidum* hemagglutination assay) is compulsory, nucleic acid analysis for HIV, HBV and HCV is not explicitly required. On the basis of virus transmissions, tissue-specific characteristics as well as manufacture and, where applicable, inactivating procedures reported in the literature, an evaluation was made of the significance of HIV/HCV/HBV detection by nucleic acid amplification techniques (NAT) in donors of various tissues and compared with the experiences with blood donations. Musculoskeletal tissues possess a significant risk of transmitting HIV/HCV/HBV as a result of the mostly high blood content in tissues, the comprehensive extraction spectrum, the transmissions described to date, the different manufacturing processes as well as the high donor-recipient ratio. Therefore, with donated musculoskeletal tissues that do not undergo an effective virus-inactivating procedure, HIV-, HCV- and HBV-NAT testing should be performed. Serological testing assures that cardiovascular tissue has a very small residual risk of HIV/HCV/HBV transmission. Due to the impossibility of an effective virus inactivation (preservation of the tissue morphology) and a donor-recipient ratio of up to 1:10, HIV-, HCV- and HBV-NAT should, however, be performed as an additional safety precaution. Corneas possess the smallest HIV/HBV/HCV transmission risk from a physiological, morphological as well as an epidemiological viewpoint; however, HCV-NAT should be performed. In principle, quarantine storage of the tissues from a donor can be omitted in cases of negative HIV/HCV/HBV-NAT results. Due to the multifaceted synergistic effects with transfusion medicine, an obvious choice for tissue banks is the implementation of infectious serology and/or molecular-biological laboratory parameters in cooperation with blood bank services.

## Einleitung

Trotz verstärkter Bemühungen, Alternativen zur allogenen Transplantation von muskuloskelettalen und kardiovaskulären Geweben sowie Augenhornhaut zu entwickeln, sind humane Gewebe für die Behandlung ausgedehnter Gewebedefekte weiterhin unverzichtbar.

Durch Auswahl der Spender (Anamnese, körperliche Untersuchung, Laboruntersuchungen) und sorgfältige Führung der Gewebeeinheiten werden die Risiken der Infektionsübertragung zum Schutz der Empfänger minimiert.

Derzeit wird die Frage diskutiert, in welchem Maße zusätzliche Untersuchungen des Gewebespenders auf die Genome von HIV, HCV und HBV mittels Nukleinsäure-Amplifikationstechniken (NAT) die Sicherheit der Gewebeübertragung weiter verbessern können und ob dieser Sicherheitsgewinn die Nachteile der zusätzlichen Untersuchungen (Inhibitionseffekte durch postmortale Blutproben und damit keine Freigabe der Gewebe, hohe Kosten) rechtfertigen kann.

Zu einer analogen Thematik, der Untersuchung von Blut- und Plasmaspenden für die Herstellung von Blutprodukten und Plasmaderivaten, gibt es mit der Hämotherapie-Richtlinie der Bundesärztekammer (BÄK) ein verbindliches Regelwerk, das durch Stufenpläne des Paul-Ehrlich-Instituts (PEI) und Voten des Arbeitskreises Blut ergänzt und weiterentwickelt wird. Das Standardverfahren der Testung auf HCV- und HIV-Infektionen ist der Antikörpertest, der positiv wird, wenn das Immunsystem des Spenders mit dem jeweiligen Virus reagiert. Bei HBV wird auf einen Bestandteil der Virushülle (HBV-Oberflächenantigen (HBsAg)) getestet. Frisch HCV- und HIV-infizierte Spender können infektiös sein, bevor der Antikörpertest positiv wird (serologische Latenzperiode bzw. diagnostisches Fenster). Für HBV-infizierte Spender trifft dies für eine kurze Phase zu, bevor der HBsAg-Test positiv wird, sowie möglicherweise in einer späteren Phase der Infektion, nachdem der Test wieder negativ geworden ist. Diese Lücken der Routinetestung lassen sich entweder durch zusätzliche Tests oder eine sogenannte Quarantänelagerung verringern. Bei HCV und HIV lässt sich das serologische Fenster durch eine empfindliche Untersuchung auf Virusgenom weitgehend, wenn auch nicht vollständig schließen. Beim HBV ist der Zeitgewinn vor dem positiven HBsAg-Test noch stärker als bei der HIV- und der HCV-Testung von der Empfindlichkeit der NAT abhängig, weil bereits auf einen Virusbestandteil getestet wird. Die mögliche späte Infektiosität bei wieder negativem HBsAg-Test wird fast vollständig durch einen zusätzlichen Antikörpertest, den Anti-Hepatitis-B-Core-Antigen (HBc)-Test, erfasst. Anti-HBc erfasst allerdings generell bei Spendern eine zurückliegende Infektion mit HBV, wobei Blutprodukte der Spender in den allermeisten Fällen nicht mehr infektiös sind.

Bei der Quarantänelagerung wird vor der Freigabe der Gewebe der Lebendspender nach einem angemessenen Zeitraum noch einmal getestet, so dass eine frische Infektion

durch einen bei der Zweittestung positiven Anti-HCV-, Anti-HIV-, HBsAg- oder Anti-HBc-Test erkannt würde. Bei Leichenspendern wird, soweit möglich, der Empfänger eines Organs nach einer angemessenen Frist auf HIV-, HBV- und HCV-Parameter nachuntersucht, bevor die Gewebe zur Transplantation freigegeben werden. Sowohl zusätzliche Testung als auch Quarantäne führen zu einer aufwendigeren Logistik, möglicher Aussonderung von knappen Gewebetransplantaten und hohen zusätzlichen Kosten, die dem Sicherheitsgewinn gegenübergestellt werden müssen.

Als dritte Sicherheitsmaßnahme gibt es für einige Gewebe die Möglichkeit einer Pathogeninaktivierung.

In der einschlägigen Europäischen Richtlinie 2006/17/EG (als eine Durchführungsrichtlinie der dem Gewebegesetz zugrunde liegenden Richtlinie 2004/23/EG) werden für die Testung von Gewebespendern nur die Standardtestung mittels Anti-HCV, Anti-HIV und HBsAg sowie ein Anti-HBc-Test gefordert. In Deutschland existieren zwei geweberelevante Richtlinien der BÄK, eine zum «Führen einer Knochenbank» [1] und eine zum «Führen einer (Augen-)Hornhautbank» [2], die strengere Anforderungen, insbesondere in Bezug auf die NAT-Testung, stellen.

In der vorliegenden Arbeit wird versucht, anhand der gewebespezifischen Spendercharakterisierung, Untersuchungsverfahren sowie Herstellungs- und Inaktivierungsverfahren eine Bewertung der Virus-NAT bei Gewebespendern vorzunehmen, diese dem aktuellen Stand der medizinischen Wissenschaft auf dem Gebiet der Virusdiagnostik gegenüberzustellen und Algorithmen zur Gewährleistung der Virussicherheit zu entwickeln.

## Erfahrungen aus dem Blutspendewesen

Bis zum Beginn der 1980er-Jahre war mit der Gabe von überlebenswichtigen Blutprodukten und Plasmaderivaten unmittelbar das Risiko einer Virushepatitis verbunden. Mit dem Aufkommen von HIV und dem erworbenen Immundefektsyndrom (AIDS) wurden neue Anstrengungen zur Vermeidung von Infektionen unternommen. Viele Plasmapools aus oft mehreren zehntausend Plasmen enthielten zu Beginn der HIV-Epidemie infektiöse Spenden und es kam zu Übertragungen durch die nicht ausreichend inaktivierten Endprodukte. Daher wurden Verfahren zur zuverlässig validierten Virusinaktivierung der daraus hergestellten Produkte entwickelt. Um den Sicherheitsspielraum dieser Verfahren zu erhöhen, wurde bereits die Viruslast im Ausgangsplasmapool weitestgehend begrenzt. Es wurden Verfahren eingesetzt, die das Virus oder seine Bestandteile mit sehr hoher Empfindlichkeit erfassten, zum Beispiel mit NAT wie der Polymerase-Kettenreaktion (PCR). Aus Kostengründen und weil aufgrund der nachgeschalteten Virusinaktivierung nicht unbedingt jede niedrigtitrige Spende erfasst werden musste, wurden für das Screening mittels NAT-Testung zunächst mehrere

Proben zusammengeführt (gepoolt) und in einem zweiten Schritt die für ein positives Ergebnis verantwortliche Spende identifiziert.

Blutspendedienste, die aus Vollblutspenden sowohl zelluläre Blutprodukte als auch Plasma zur Herstellung von Plasmaderivaten gewannen, sahen sich mit der Frage konfrontiert, ob die aus der Testung des Plasmas gewonnene Information der frischen Infektion nicht auch Auswirkungen auf die zellulären Produkte haben müsse. Es ging dabei nicht mehr darum, die Viruslast zu begrenzen, sondern möglichst jede serologisch nicht erfasste Infektion zu erkennen, was höhere Anforderungen an die Sensitivität der NAT-Tests und deren Durchführung stellte.

Da seronegativ getestete frische HCV-Infektionen des Spenders aus Rückverfolgungsuntersuchungen (nach Serokonversion des Spenders wurden in Deutschland durch Rückverfolgung 38 Infektionen der Empfänger von 1990 bis 1997 dokumentiert) als großes Infektionsproblem der Blutspende bekannt waren, führte das PEI 1998 die NAT auf HCV-Genome für zelluläre Blutprodukte verbindlich ein [3, 4]. Dabei wurde die minimale Empfindlichkeit für die Einzelspende vorgegeben, die Möglichkeit des Pooling und die Festlegung der Poolgröße und Logistik wurde den Anwendern überlassen. Bei der HCV-Infektion lässt sich die Zeit bis zum Nachweis von HCV im Plasma von Blutspendern durch einen zusätzlichen NAT um 41–60 Tage auf 15–22 Tage verkürzen [5].

Eine analoge Reduzierung des serologischen Fensters ist auch für den im Blutspendewesen am meisten gefürchteten Infektionserreger, das HIV, möglich. Untersuchungen der Interorganizational Task Force on Nucleic Acid Amplification Testing of Blood Donors in den USA zeigten eine Reduktion des diagnostischen Fensters für HIV durch Einführung der HIV-NAT um 10–15 Tage auf zirka 10 Tage [5]. Obwohl die Häufigkeit von HIV-Infektionen durch Blutprodukte auch ohne NAT-Testung bereits auf weniger als 1:1 000 000 geschätzt wurde (4 dokumentierte HIV-Übertragungen durch Blutprodukte von 1998 bis 2000), ordnete das PEI 2003 die Einführung der HIV-1-NAT für zelluläre Blutprodukte und gefrorenes Frischplasma an [6].

Bei HBV wird mit dem HBsAg-Test (im Gegensatz zur HCV- und HIV-Antikörpertestung) ein Virusbestandteil nachgewiesen, der noch dazu gegenüber den kompletten HBV-Partikeln in hohem Überschuss gebildet wird. Dennoch besteht ein sehr wesentliches Restrisiko, da bei Erreichen der Nachweisgrenze der besten verfügbaren HBsAg-Tests im Mittel bereits 2000 (in einem seltenen Fall sogar 100 000) Viruspartikel/ml Plasma vorliegen. Verschärft wird das Problem dadurch, dass der Zeitraum der Verdoppelung der Viruslast im Plasma in der Frühphase viel länger als bei HCV oder HIV ist und daher ein infektiöser Spender mehrere Wochen HBsAg-negativ sein kann. Deswegen hängt die Verkürzung des serologischen Fensters bei HBV in sehr viel stärkerem Maße als bei HCV und HIV von der Empfindlichkeit der NAT ab. Ein weiterer Vorteil der HBV-NAT liegt in der Detektion von Virusmutatio-

nen, die mit dem klassischen HBsAg-Test nicht nachweisbar sind. Eine Arbeit über die NAT-Ergebnisse der Blutspendedienste des Deutschen Roten Kreuzes (DRK) von 1997 bis 2005 an 31 524 571 Spenden zeigt, dass bei 23 dieser Spenden HCV-, bei 7 dieser Spenden HIV-1- und bei 43 dieser Spenden HBV-Infektionen mittels alleiniger NAT-Testung gefunden werden konnten [7]. Bei HBV wären 21/43 Spenden auch mit dem 2006 in Deutschland für alle Blutspender eingeführten Anti-HBc-Test gefunden worden. Die Anzahl der verbliebenen 22/43 nur HBV-NAT-positiven Spenden ist damit mit den 23 alleinig HCV-NAT-positiven Spenden vergleichbar. Insofern bringt die zusätzliche freiwillige NAT-Testung auf HBV für die Frühphase der Infektion einen ähnlich hohen Sicherheitsgewinn wie bei HCV. Inwieweit diese Daten auf andere Blutspendeorganisationen mit anders zusammengesetzten Spenderpopulationen übertragen werden können, ist allerdings nicht klar. Es gibt aber keine Anhaltspunkte, dass bei diesen Organisationen die HBV-NAT von geringerem Wert ist. Bei HBV besteht ein zusätzliches Infektionsproblem. Früher glaubte man, mit dem Verschwinden des HBsAg oder spätestens mit dem Erscheinen des Anti-HBs sei die HBV-Infektion ausgeheilt. Das erneute Aufflackern der Infektion bei Immunsuppression oder Transplantation zeigt aber, dass meistens die Infektion vom Immunsystem nur mehr oder weniger gut in Schach gehalten wird und das Virus weiter in der Leber, möglicherweise auch in anderen Organen, persistiert. In einem kleinen Teil dieser «okkult» infizierten HBV-Träger kann trotz nicht nachweisbarem HBsAg eine geringe Menge Virus im Blut vorliegen und zu Übertragungen führen. Die Phase nach dem Verschwinden des HBsAg, die im klassischen Sinn ausgeheilte Hepatitis B, wird in den meisten Fällen langfristig vom Anti-HBc-Test erfasst. Dieser Test erfasst neben den wenigen infektiösen auch alle aufgrund eines ausreichend hohen Anti-HBs-Titers nicht infektiösen Spender, was zwar zu einer hohen Sicherheit, aber auch zu einem hohen Verwurf bzw. Ausschluss von Spendern führt. In der Blutspende wurde deshalb die Möglichkeit eröffnet, den Spender trotz Nachweises von Anti-HBc wieder zur Spende zuzulassen, wenn er ein Anti-HBs von mindestens 100 IE/l hat und eine sehr empfindliche NAT auf HBV negativ ist [8]. Während nicht alle Autoren eine flächendeckende HBV-NAT-Testung in den USA empfehlen [5, 9], ist sie in Japan vorgeschrieben. In Deutschland wird sie auf freiwilliger Basis für viele Blutspenden durchgeführt [7].

Die German Red Cross Study Group berechnete für ihre Organisation auf der Grundlage infektionsserologischer Befunde und HIV/HCV/HBV-NAT-Tests (Minipool) (31,5 Millionen Spenden, 1997–2005) das Risiko einer HIV-, HCV- bzw. HBV-Übertragung durch transfundierte Blutkomponenten (zelluläre Bestandteile oder Plasma) [7]. Danach liegt dieses für HIV bei 1:4,300 000, für HCV bei 1:10 880 000 und für HBV bei 1:360 000. Andere Autoren kommen zu anderen Abschätzungen des Restrisikos in Abhängigkeit von der NAT-Testung [10, 11].

In einer Untersuchung des PEI konnte vor kurzem belegt werden, dass auch die virale Kontamination von großen Plasmapools durch flächendeckende Einführung der HIV/HCV/ HBV-NAT deutlich reduziert werden konnte. Waren im Jahr 1996 17,8% von 873 untersuchten Pools HCV-RNA-, 0,8% HIV-1-RNA- und 0,5% HBV-DNA-positiv, war im Jahr 2006 lediglich einer von 331 Pools HCV-RNA-positiv. Hier lag außerdem ein sehr niedriger Titer (<10 IU/ml) vor. HIV- und HBV-Genome waren nicht nachweisbar [12].

Trotz des unbestreitbaren Nutzens des NAT-Screenings müssen die Kosten der Einführung der Dreifach-PCR erwähnt werden, die pro Blutprodukt bei >2 EUR im 96-Pool und >7 EUR im 24-Pool liegen. Die Vorgehensweise des Pooling setzt ein umfangreiches Validierungsprogramm auf der Grundlage der durch das PEI vorgegebenen Empfindlichkeitsgrenzen in den Pools (HIV-1-RNA: 10 000 IU/ml; HCV-RNA: 5000 IU/ml, jeweils bezogen auf die Einzelblutspende) sowie der zutreffenden Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP)-Leitfäden CPMP/ICH/281/95 und CPMP/ICH/381/95 voraus. Weitere Details zur Validierung der NAT-Techniken finden sich in einer PEI-Bekanntmachung aus dem Jahr 2000 [13]. In vielen Blutspendediensten Deutschlands sowie in vielen anderen Ländern hat sich die Untersuchung der Spenden in sogenannten Minipools (z.B. 10, 24, 48 oder 96 Proben/Pool) bewährt [10].

Wesentliche Grundlage der Vermeidung des Risikos von Virusübertragung sind auch weiterhin die Durchführung einer Spenderanamnese, der Ausschluss von Risikopersonen sowie klinische und infektionsserologische Untersuchungen. Schließlich ist für gefrorenes Frischplasma zur Transfusion auch weiterhin eine Quarantänelagerung von 4 Monaten durch das PEI vorgeschrieben.

Zusammengefasst lassen sich hinsichtlich der Virus-NAT folgende Schlussfolgerungen aus den Erfahrungen des deutschen Blutspendewesens ziehen:

- Die Einführung des Nachweises von HIV- und HCV-Genom mittels NAT reduziert die diagnostische Lücke wesentlich.
- Spenderproben können für die NAT-Testung gepoolt werden, wenn das Verfahren des Pooling sowie die NAT-Tests in ihrer Sensitivität validiert wurden, weil die Infektionsphase mit einer Viruskonzentration unterhalb der Empfindlichkeitsgrenze bei HIV und HCV sehr kurz ist.
- Die HBV-NAT erhöht die Sicherheit von Blutprodukten, auch wenn eine serologische Untersuchung auf HBsAg und Anti-HBc erfolgt. Jedoch hängt die Effizienz der NAT für HBV sehr von der Nachweisgrenze ab.
- Die aktuellen Risiken der Übertragung von HIV oder HCV durch Blutprodukte sind mit 1:4 300 000 bzw. 1:10 880 000 extrem gering und für HBV mit 1:360 000 zwar deutlich höher, aber immer noch sehr gering.

Versucht man nunmehr, diese Erfahrungen auf das Gebiet der Gewebespende zu übertragen, stellen sich diverse Besonderheiten dar.

## Besonderheiten der Gewebespende

### *Gewebespende*

Der «klassische» Lebendspender ist nur in wenigen Bereichen des Tissue Banking anzutreffen. Exemplarisch sei auf die Spende von Femurköpfen nach Totalendoprothese des Hüftgelenkes sowie auf die Amnionspende hingewiesen. Jährlich werden in Deutschland zirka 20 000 allogene Femurköpfe in orthopädischen/unfallchirurgischen Kliniken und vermutlich zirka 350 Amnien in Verbrennungskliniken bzw. ophthalmologischen Bereichen transplantiert. Femurkopf-Spender sind Patienten, nicht selten in höherem Alter und aus transfusionsmedizinischer Sicht in der Regel «Erstspender», die primär nicht beabsichtigen zu spenden, sondern erst wenige Tage vor der Operation über die Möglichkeit der Gewebespende informiert werden. Bei der Amnionspende werden die Mütter erst kurz vor der Geburt des Kindes über die Möglichkeit der Spende informiert. Damit besitzt dieses unselektierte Spenderklientel möglicherweise ein höheres Durchseuchungsrisiko als erstmalig Blutspendewillige bzw. Erstspender [14, 15], ist jedoch hinsichtlich der Virus-Risikofaktoren durch den aufklärenden Arzt genauso wie der Blutspendewillige zu befragen und kann entsprechend untersucht werden. Ein Poolen der Spenderblutproben erzeugt, wenn keine benachbarte Blutbank vorhanden ist, erhebliche logistische Probleme. Des Weiteren können für die Erstellung eines 24er-Pools in Abhängigkeit von den intraoperativ gewonnenen Geweben mindestens 4 Wochen vergehen. Hier wäre eine Zusammenarbeit mit einem Blutspendedienst anzustreben oder eine Einzeltestung vorzunehmen, was angesichts des höheren Preises der Gewebe vertretbar erscheint. Schließlich ist darauf hinzuweisen, dass die sogenannte Spender-Empfänger-Ratio (auf wie viele verschiedene Empfänger die Gewebetransplantate eines Spenders übertragen werden können) im Normalfall 1:1 beträgt.

Gewebe von verstorbenen Spendern, sogenannten Leichenspendern, wird in mehreren klinischen Fachgebieten transplantiert. Das Spektrum reicht von muskuloskelettalen Geweben (Knochen, Knorpel, Sehnen, Bänder, Faszien) über Augenhornhaut (Cornea) bis hin zu kardiovaskulären Allografts (Aorten- und Pulmonalklappe, Perikard, Venen, Arterien). Pro Jahr werden in Deutschland etwa 17 000–20 000 solcher Gewebe transplantiert. Bei diesen Spendern ist die Erfassung der Anamnese naturgemäß problematisch, da sie sich ausschließlich auf Angaben der Angehörigen (die meist für solche Fragen zu diesem Zeitpunkt nicht gut ansprechbar sind) bzw. der behandelnden Ärzte beschränken muss. Bei Multitransfunden sind die serologischen und NAT-Ergebnisse wegen der eingetretenen Verdünnung von begrenzter Aussagekraft. Untersuchungen von Zou et al. [15] zeigen auf, dass Gewebespende hinsichtlich der HIV/HCV/HBV-Raten zwar eine geringere Durchseuchung hatten als die Normalpopulation, jedoch eine höhere als Erstblutspender. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangen Yao et al. [16] in einer Untersuchung an

12 415 Spendern von muskuloskelettalem Gewebe in Australien. Die Spender-Empfänger-Ratio ist bei Augenhornhäuten 1:2, bei kardiovaskulären Transplantaten 1:1 bis 1:10 und bei muskuloskelettalem Geweben bis zu 1:40.

Prämortale Blutproben des Spenders liegen meistens nicht vor, insbesondere dann, wenn es sich nicht um Multiorgan-spender handelt (z.B. Spender aus rechtsmedizinischen Instituten) und Blutproben vom stationären Aufenthalt nicht mehr zur Verfügung stehen bzw. zu alt sind. Diese Proben sollten nicht älter als 7 Tage sein und bei +2 bis +8 °C gelagert worden sein. Die Serum- bzw. Plasmatrennung muss nach der Abnahme erfolgt sein. Stehen diese prämortalen Proben nicht zur Verfügung, muss auf postmortales Blut zurückgegriffen werden, dessen Entnahme nur bis zu 24 h post mortem erfolgen kann (Transplantationsgesetz-Gewebeverordnung (TPG-GewV)). Es könnte überlegt werden, dass die verantwortliche Person der Gewebereinrichtung (§ 20 c des Arzneimittelgesetzes (AMG)) Abweichungen von diesen präanalytischen Vorgaben im Rahmen einer Gesamtrisikobewertung (z.B. dringende Indikation für eine Cornea bei nur geringfügiger zeitlicher Abweichung der prämortalen Probengewinnung von den Vorgaben) akzeptieren kann. Serologische Testverfahren weisen erfahrungsgemäß mit zunehmender Dauer der Post-mortem-Blutentnahme höhere Unspezifitäten auf. Hier könnte eine entsprechend validierte und sensitive HIV/HBV/HCV-NAT aus der Einzelprobe mit interner Kontrolle gegebenenfalls ausreichend aussagefähig sein, jedoch sind diesbezügliche Untersuchungen abzuwarten. Schließlich ist bei postmortalen Entnahmen nach 24 h die bakterielle Kontaminationsgefahr hoch und im Besonderen abzuwägen. Zudem ist in der Leiche von einem Abbau der Virusnukleinsäure auszugehen.

Viele der in Europa verfügbaren Testkits für die Infektionsserologie und Virus-NAT sind ohnehin nicht für post mortem gewonnene Proben validiert. Speziell Hämolyseeffekte können die NAT, aber auch serologische Tests beeinflussen [17, 18]. Für die Untersuchung postmortal gewonnener Proben sind nur wenige NAT-Tests validiert und Conformaté Européenne (CE)-gekennzeichnet, wie z.B. die AmpliScreen Testfamilie von Roche. Hier ist ein verändertes Aufarbeitungsprotokoll zu befolgen, um eine mögliche Inhibition der Amplifikation zu vermeiden. Oft ist das Spenderblut durch Multi-transfusionen verdünnt. All diese Umstände müssen in die Gesamtrisikobewertung vor Freigabe der Gewebe einbezogen werden. Möglichkeiten der standardisierten Testung von post-mortalem Blut werden jedoch zunehmend entwickelt [19].

Es erscheint sinnvoll, nicht nur die NAT, sondern die gesamte infektionsserologische Testung von Gewebespendern in Kooperation mit einer transfusionsmedizinischen Einrichtung durchzuführen, die einen eigenen Blutspendedienst und somit das gleiche Laboruntersuchungsspektrum vorhält. Einerseits besteht in dieser Kooperation eine sehr gute Logistik und Fachkompetenz, die den gesetzlichen Anforderungen des AMG, des TPG bzw. der Arzneimittel- und Wirkstoffherstellungsverordnung (AMWHV) entsprechen, andererseits können die Kosten

bei Integration der Gewebespendertests in die Tagesroutine eines Blutspendedienstes niedrig gehalten werden.

Es bleibt festzuhalten, dass

- Gewebespendern in der Regel unselektierte Erstspender sind, die im Fall der Lebendspende erst unmittelbar perioperativ, im Fall der Leichenspende (außer bei vorhandenem Organ-/Gewebespende-Pass) in der Regel nicht mit der Spendemöglichkeit konfrontiert werden und damit ein möglicherweise höheres Infektionsübertragungsrisiko im Vergleich zu erstmalig Blutspendewilligen aufweisen,
- die Anamneseerhebung bei Leichenspendern nur durch Befragung von behandelnden Ärzten sowie Angehörigen, Partnern und Freunden erfolgt und meist nicht alle Risikofaktoren erfassen kann,
- bei Leichenspendern meistens nur postmortale Blutproben gewonnen werden, deren diagnostischer Wert eingeschränkt sein kann,
- die Kooperation der Gewebebank mit einem Blutspendedienst auf dem Gebiet der Labortestung der Spender die effizienteste und kostengünstigste Lösung sein dürfte,
- die Spender-Empfänger-Ratio bei Leichenspendern bis zu 1:40 betragen kann, bei Lebendspendern jedoch zumeist nur 1:1 ist.

#### *Virusübertragungen durch Gewebetransplantate*

Bisher wurden nur sehr wenige Übertragungen durch klinisch relevante Viren beschrieben. Eine Zusammenstellung der bisher beschriebenen Übertragungen für muskuloskelettales Gewebe zeigt Tabelle 1.

Bemerkenswert ist die Beobachtung, dass die berichteten Virusübertragungen bis auf eine Ausnahme (gewaschene Bone-Tendon-Bone-Transplantate) durch nicht prozessierte bzw. nicht inaktivierte Gewebe erfolgten. Bei Empfängern von Geweben desselben infektiösen Spenders, die prozessiert (mechanische Präparationen, Spülungen zur Reinigung und Entfernung der Restblutmenge) und abschließend lyophilisiert worden sind, wurden keine Infektionen festgestellt. Für die Infektionsübertragung durch unprozessierte bzw. nicht inaktivierte Gewebe spricht auch ein Bericht von Marthy und Richter, die HIV in gefrorenen Rippentransplantaten, die bei einem HIV-infizierten Patienten zu Studienzwecken 44 h post-mortem entnommen worden waren, nachweisen konnten [30]. Auch humanes HIV-2 blieb trotz Einfrier-/AuftauprozEDUREN in allogenen Knochengewebe nachweisbar [31].

Die Übertragung von nicht viralen Erregern durch allogene muskuloskeletale Gewebe ist ebenfalls beschrieben worden. Untersuchungen der Centers for Disease Control and Prevention (CDC) in US-amerikanischen Gewebebanken zeigten, dass im Zeitraum 2000–2002 (ca. 2 Millionen muskuloskeletale Transplantationen) insgesamt 26 Patienten transplantatbedingte Infektionen erlitten. 13/26 Patienten wurden durch allogene Sehnen (8), Femurkondylen (2), Spongiosa (2) und

**Tab. 1.** HIV-, HCV- und HBV-Übertragungen durch muskuloskeletale Gewebe und Haut

Virus	Jahr	Gewebe, das zur Übertragung führte	Autor
HIV	1984	4 Knochentransplantate; gefrierkonserviert, nicht sterilisiert, keine HIV-Testung; Anm.: 8 Transplantate desselben Spenders ohne Infektion der Empfänger	Schratt [20]
HIV	1984	1 Knochentransplantat; gefrierkonserviert, nicht sterilisiert, keine HIV-Testung	CDC [21]
HIV	1985	3 Knochentransplantate; gefrierkonserviert, nicht sterilisiert; Anm.: 25 Transplantate desselben Spenders (Sehnen, Bänder, Knochen) nach Ethanol und/oder Lyophilisation ohne Infektion der Empfänger	Simonds [22]
HIV	1987	1 Hauttransplantat; gefrierkonserviert, nicht sterilisiert, transplantiert bevor (positives) HIV-Test-Ergebnis vorlag	Clarke [23]
HIV	1996	1 Femurkopf-Transplantat; gefrierkonserviert, nicht sterilisiert, keine HIV-Testung	Li [24]
HCV	1985	1 Femurkopf-Transplantat; gefrierkonserviert, nicht sterilisiert, keine HCV-Testung	Eggen [26]
HCV	1986–1990	2 Knochentransplantate; gefrierkonserviert, nicht sterilisiert, keine HCV-Testung; Anm.: retrospektive Untersuchung, beide Empfänger polytransfundiert, drei Knochentransplantate desselben Spenders führten nicht zur Infektion	Pereira [27]
HCV	1991	1 Knochentransplantat, 2 Bone-Tendon-Transplantate, gefrierkonserviert, nicht sterilisiert, Anti-HCV-Test (first generation) negativ	Conrad [25]
HCV	2000	3 Bone-Tendon-Bone-Transplantate; gefrierkonserviert, gewaschen, anti-HCV-negativ, keine HCV-NAT; 1 Tibialis anterior-Sehne; kryokonserviert, anti-HCV negativ, keine HCV-NAT; Anm.: 16 Knochentransplantate desselben Spenders nach Prozessierung und Bestrahlung (16,4–19,7 kGy) ohne Infektion der Empfänger	Tugwell [28]
HBV	1954	1 Knochentransplantat; gefrierkonserviert, nicht sterilisiert, keine HBV-Testung	Shutkin [29]

**Tab. 2.** HCV- und HBV-Übertragungen durch Cornea und kardiovaskuläre Gewebe

Virus	Jahr	Gewebe, das zur Übertragung führte	Autor
HBV	1984	2 Cornea-Transplantate; keine HBV-Testung, HBsAg-Nachweis aus Rückstellprobe des Spenders 9 Monate nach Infektion, HBV-Status der Empfänger bei Transplantation nicht bekannt	Hoft [33]
HBV	1990	1 Aortenklappen-Allograft; kryokonserviert, Spender war bekannt positiv für HBsAg	Morris [34]
HCV	2000	1 Vena-saphena-Transplantat; kryokonserviert, gewaschen, Antibiotika, Anti-HCV-negativ, keine HCV-NAT	Tugwell [28]

Menisci (1) mit *Clostridium septicum* bzw. *Clostridium sordelli* infiziert. Alle Gewebe waren zwar aseptisch entnommen, jedoch keinem terminalen Desinfektions- bzw. Sterilisationsverfahren unterzogen worden. Weitere 11/26 Patienten waren mit Gram-negativen Bakterien infiziert worden, in zwei Fällen konnte der Erreger nicht eindeutig ermittelt werden. Die übertragenen Transplantate waren zumeist frisch oder gefrierkonserviert, in einem Fall auch gefriergetrocknet [32]. Folglich sind bei muskuloskeletalen Geweben die Übertragungen von Bakterien, verglichen mit Viren, die größere Gefahr.

HIV-, HCV- bzw. HBV-Übertragungen durch Cornea bzw. kardiovaskuläre Gewebe sind Raritäten, was vor allem auf die Blut- und Lymphgefäßfreiheit sowie den bradytrophen Stoffwechsel der Zellen der Augenhornhaut bzw. das umfassende Prozessieren sowie die geringe Anzahl an Transplantationen bei den kardiovaskulären Geweben zurückzuführen sein dürfte. Eine Übersicht zeigt Tabelle 2.

Vermutlich aufgrund der sehr geringen oder fehlenden Viruslast, da physiologisch keine Blutzellen in die Cornea penetrieren können, hat die Übertragung von Augenhornhäuten HIV- bzw. HCV-infizierter Spender nicht zur Infektion des Empfän-

gers geführt [17, 21, 22, 27, 35–37]. Bis heute sind keine HIV- bzw. HCV-Übertragungen durch Corneae beschrieben worden. In der Studie von Sengler et al. [38] waren bei 6 HBV- bzw. 6 HCV-NAT-positiven Spendern Virusgenome im Corneagewebe (zentral und corneoskleraler Ring) nicht nachweisbar. Lediglich im Kulturmedium konnten in zwei Fällen mittels hochsensitiver NAT niedrige HCV-Genommengen (50–100 Kopien/ml) gefunden werden. Im Gegensatz hierzu fanden Lee et al. [39] in 7 von 29 Corneae von HCV-seropositiven Spendern HCV-Genom. Dieser Befund spräche somit für die Durchführung der HCV-NAT als weitere Sicherheitsmaßnahme bei Corneaspendern. Glasser [40] berichtete 1998 im Rahmen einer Untersuchung der Eye Bank Association of America (EBAA), dass bei der Transplantation von mehr als 400 000 ausschließlich serologisch getesteten Corneatransplantaten in einem 12-jährigen Beobachtungszeitraum in den USA keine HIV-, HBV- bzw. HCV-Infektionen nachgewiesen wurden. Die in Tabelle 2 aufgeführte HBV-Übertragung aus dem Jahr 1984 [33] ist plausibel, jedoch nicht schlüssig bewiesen. Klinisch relevante Virusübertragungen durch Augenhornhäute wurden vereinzelt für Herpes-simplex-Viren