

**Aus der Klinik für Herz- und Gefäßchirurgie
des Universitätsklinikums Schleswig Holstein, Campus Kiel
(Direktor: Prof. Dr. med. J. Cremer)**

**Keimspektrum von Homografts im Rahmen der Prozessierung
und deren antibiotisch/antimykotischer Dekontamination**

Eine Single Center Studie über 2571 Homografts

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät des

Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel

Vorgelegt von

Torsten Morschheuser

aus Kiel

Kiel 2013

Referent: Prof. Dr. med. J. Cremer, Klinik für Herz- und Gefäßchirurgie

Korreferent: Prof. Dr. med. N. Frey, Klinik für Innere Medizin III mit den Schwerpunkten
Kardiologie und Angiologie

Tag der mündlichen Prüfung: 11. September 2013
Zum Druck genehmigt, Kiel den 11. September 2013

Gez. Prof. Dr. med. Johann Roider
Vorsitzender des Ausschusses für Promotion

**Aus der Klinik für Herz- und Gefäßchirurgie
des Universitätsklinikums Schleswig Holstein, Campus Kiel
(Direktor: Prof. Dr. med. J. Cremer)**

**Keimspektrum von Homografts im Rahmen der Prozessierung
und deren antibiotisch/antimykotischer Dekontamination**

Eine Single Center Studie über 2571 Homografts

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät des
Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel

Vorgelegt von
Torsten Morschheuser
aus Kiel

Kiel 2013

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	
1.1 Historische Betrachtung	8 - 9
1.2 Gesetzliche Grundlagen	9 - 10
1.3 Kardiovaskuläre Gewebespende	10
1.4 Voraussetzungen für Herstellung, Lagerung und Vertrieb kardiovaskulärer Allografts	10 - 11
1.5 Technologie der Herstellung kardiovaskulärer Homografts	11 - 12
1.6 Qualitätsprüfungen und Freigabe der Gewebe	12
1.7 Anwendungsgebiete	12 - 13
2. Fragestellung	
2.1 -2.7	14
3. Material und Methoden	
3.1 Homograft	15
3.1.1 Allgemeine Voraussetzungen	15
3.1.2. Spenderkriterien	16
3.1.3 Transport und Eingangskontrolle der Gewebe mit erforderlichen Begleituntersuchungen	17
3.1.4 Herstellung der antibiotisch-antimykotischen Lösung zur Dekontamination der präparierten Homografts	18 - 19
3.1.5 Präparation der Homografts	19 -20
3.1.6 Präparation von Aorten- und/oder Pulmonalklappen	20 - 21
3.1.7 Präparation von arteriellen und venösen Homografts	21 – 22
3.1.8 Makroskopische Beurteilung der Homografts hinsichtlich ihrer Qualität mittels Hopkins Score	23
3.1.9 Herstellen des Einfriermediums für Homografts	23 - 24
3.1.10 Kryokonservierung von Homografts	24 - 26
3.2. Mikrobiologische Kontrollen der Homografts	26 - 27
3.3. Untersuchtes Kollektiv von Homografts hinsichtlich Verteilung Herzklappen, zentralen und peripheren Gefäßen	27 - 28

4. Ergebnisse	
4.1 Periphere Arterien	29
4.1.1 Positiver Nachweis vor Behandlung und negativer Nachweis nach Behandlung der peripheren Arterien	29
4.1.2 Positiver Nachweis vor Behandlung und positiver Nachweis nach Behandlung der peripheren Arterien mit entsprechendem Keimspektrum und dessen Verteilung	29
4.1.3 Keimspektrum in der Befundkonstellation Positiv/Positiv der peripheren Arterien	31
4.1.4 Ergebnis	32
4.2 Aorta ascendens/Arcus aorta /Aorta descendens	33
4.2.1 Positiver Nachweis vor Behandlung und negativer Nachweis nach Behandlung von Aorta ascendens/Arcus aorta /Aorta descendens mit entsprechendem Keimspektrum und dessen Verteilung	33
4.2.2 Positiver Nachweis vor Behandlung und positiver Nachweis nach Behandlung von Aorta ascendens/Arcus aorta /Aorta descendens	33
4.2.3 Keimspektrum in der Befundkonstellation Positiv/Positiv von Aorta ascendens/Arcus aorta /Aorta descendens	35
4.2.4 Ergebnis	35
4.3 Aortenklappen	36
4.3.1 Positiver Nachweis vor Behandlung und negativer Nachweis nach Behandlung der Aortenklappen mit entsprechendem Keimspektrum und dessen Verteilung	36
4.3.2 Positiver Nachweis vor Behandlung und positiver Nachweis nach Behandlung der Aortenklappen	36
4.3.3 Keimspektrum in der Befundkonstellation Positiv/Positiv der Aortenklappen	38
4.3.4 Ergebnis	38
4.4 Pulmonalklappen	39
4.4.1 Positiver Nachweis vor Behandlung und negativer Nachweis nach Behandlung der Pulmonalklappen mit entsprechendem	39

Keimspektrum und dessen Verteilung	
4.4.2 Positiver Nachweis vor Behandlung und positiver Nachweis nach Behandlung der Pulmonalklappen	39
4.4.3 Keimspektrum in der Befundkonstellation Positiv/Positiv der Pulmonalklappen	40
4.4.4 Ergebnis	41
4.5 Arteria Pulmonalis Bifurkationen	42
4.5.1 Positiver Nachweis vor Behandlung und negativer Nachweis nach Behandlung der Arteria Pulmonalis Bifurkationen mit entsprechendem Keimspektrum und dessen Verteilung	42
4.5.2 Positiver Nachweis vor Behandlung und positiver Nachweis nach Behandlung der Arteria Pulmonalis Bifurkationen	42
4.5.3 Ergebnis	44
4.6 Periphere Venen	45
4.6.1 Positiver Nachweis vor Behandlung und negativer Nachweis nach Behandlung der peripheren Venen mit entsprechendem Keimspektrum und dessen Verteilung	45
4.6.2 Positiver Nachweis vor Behandlung und positiver Nachweis nach Behandlung der peripheren Venen	45
4.6.3 Keimspektrum in der Befundkonstellation Positiv/Positiv der peripheren Venen	47
4.6.4 Ergebnis	47
4.7 Ergebnisübersicht	48
4.7.1 Abhängigkeit der Kontamination von der Entnahmetechnik im Zusammenhang mit erfolgreicher Dekontamination	48
4.7.2 Prozentuale Häufigkeit von Keimen nach peripherer Gefäßentnahme in absteigender Häufigkeit	48
4.7.3 Prozentuale Häufigkeit von Keimen nach zentraler Gewebeentnahme in Prozent in absteigender Häufigkeit	48
4.7.4 Übersicht der Keimbesiedlung in Abhängigkeit vom Zugang zentral/peripher im arteriellen System	49

4.7.5 Statistische Signifikanz der Verteilung des Keimspektrums in absoluten Zahlen in Abhängigkeit des Zuganges wie in Grafik 13 dargestellt (Chi-Quadrat nach Pearson)	49
4.7.6 Übersicht der Keimbesiedlung in Abhängigkeit vom Zugang zentral/peripher im arteriellen und venösem System	50
4.7.7 Statistische Signifikanz (Chi-Quadrat nach Pearson)	50
5. Diskussion	51 - 55
6. Zusammenfassung	56 - 57
7. Literaturverzeichnis	58- 62
8. Anhang	63 - 68
9. Danksagung	69
10. Lebenslauf	70-71

1. Einleitung

1.1 Historische Entwicklung

Der therapeutische Einsatz von Homografts (menschliche Gewebe, zum Beispiel Blutgefäße oder auch Herzklappen) hat sich mittlerweile seit vielen Jahren als Therapiekonzept in der kardiovaskulären Chirurgie etabliert (1).

Der spätere Nobelpreisträger Alexis Carrel aus Chicago/USA berichtete 1912 erstmals über den erfolgreichen Einsatz eines venösen Homografts in einem tierexperimentellen Modell. Der verwandte Homograft blieb 2 Jahre funktionsfähig (2). Gross berichtete 1948 erstmalig über eine klinische Anwendung von Homografts. Im Rahmen der Vorbereitung führte er Arbeiten zur Konservierung und Implantation arterieller Homografts im Tiermodell durch. Nach Abschluß der Vorbereitung wurden bei insgesamt 12 Patienten arterielle Homografts zur Implantation gebracht. Indikation zur Operation war in 3 Fällen eine Korrektur einer Aortenisthmusstenose, bei 9 Patienten bestand die Indikation in einer Palliation einer Fallot'schen Tetralogie (3).

In den folgenden 50-er Jahren des letzten Jahrhunderts kam es dann zu einer raschen Entwicklung in der Gefäßchirurgie, bedingt durch den vermehrten Einsatz von Homografts. Geeignete künstliche Gefäßprothesen kamen erst später zum Einsatz. Der Einsatz von Homografts erlaubte nunmehr operative Eingriffe in immer weiteren Einsatzgebieten der Gefäßchirurgie. Wegbereiter hierfür waren sicher auch Oudot und Dubost, die unabhängig voneinander 1950 und 1951 über erstmalig durchgeführte therapeutische Bauchaortenersatz-Operationen mittels Homografts berichteten (4).

1962 wurden von Donald Ross in London die ersten orthotopen Implantationen einer allogenen Aortenklappe vorgenommen (5).

1966 beschrieb Ross als weitere Indikation für den Einsatz von Homografts die Rekonstruktion des rechtsventrikulären Ausflusstraktes (6) und 1967 die Autotransplantation der Aortenklappe mit der Pulmonalklappe und den Ersatz der Pulmonalklappe mittels Homograft (sog. „Ross Operation“) zur Behandlung von Aortenklappenerkrankungen (7).

Ebenfalls 1962 beschrieb Brian Barrett-Boyes aus Neuseeland den Ersatz einer Aortenklappe mittels Homograft (8).

1975 wurden erstmalig in Brisbane/Australien Homografts einer standardisierten antibiotischen Dekontamination und einer standardisierten Konservierung zugeführt (O'Brien et al.).

Seither hat sich die Implantation von Homografts neben der Verwendung von biologischen (sog. Xenografts, Verwendung von Klappen oder Gefäßen einer anderen Spezies) oder mechanischen Prothesen etabliert.

Heute stellt die Implantation von Gefäßen oder Herzklappen als Homografts eine wichtige und teilweise alternativlose Behandlungsoption bei Patienten mit Infektionen bei oftmals zuvor implantierten mechanischen Herzklappen oder Gefäßprothesen mit Kunststoff-Anteil dar.

Die guten hämodynamischen Eigenschaften der Homografts, verbunden mit einer den als Alternative zur Verfügung stehenden künstlichen Herzklappen oder Gefäßen überlegenen Resistenz gegenüber Infektionen, werden als weiterer Vorteil dieser Gewebe angesehen. Ebenso ist keine Gerinnungshemmung auf Grund der implantierten Gewebe erforderlich (14).

Die begrenzte Verfügbarkeit, bedingt durch eine Spenderabhängigkeit und damit einhergehender unerlässlicher Zustimmung zur Gewebeentnahme, ein aufwendiges Präparationsverfahren, mögliche Spender oder Präparations-bedingte Kontaminationen sowie Lagerungsverfahren stellen jedoch limitierende Faktoren für den Einsatz von Homografts dar. Da es sich um menschliches Gewebe handelt, das nur mit Zustimmung des Spenders oder seiner Angehörigen verwandt werden darf, sind detaillierte gewebegesetzliche Regularien unerlässlich. Dieser wichtige Aspekt soll nachfolgend noch gesondert erörtert werden.

1.2 Gesetzliche Grundlagen

Die Fragestellung dieser vorliegenden Arbeit nimmt auf die geänderte Gesetzeslage insofern Rücksicht, daß nur vergleichbare Daten für die zubereiteten Homografts Verwendung finden, die sowohl im TPG als auch im Gewebegesetz (15) dokumentiert wurden.

Das vom 20.07.2007 von der damaligen Bundesregierung entworfene und anschließend vom deutschen Bundesrat beschlossene Gewebegesetz setzt die Europäische Geweberichtlinie 2004/23/EG des Europäischen Parlaments und des Rates im deutschen Recht um und schafft damit die rechtlichen Rahmenbedingungen für die Zell- und Gewebemedizin (16,17,18,19,20).

Bis zum Inkrafttreten des Gewebegesetzes am 01. August 2007 waren die Regelungen des Transplantationsgesetzes (TPG) in seiner aktuellen Fassung für den Umgang mit Herzklappen und Gefäßen menschlichen Ursprungs verbindlich. Herzklappen und Gefäße waren von der weiten Definition des Organbegriffes gemäß § 1 Abs. 1 Satz TPG in alter

Fassung und der Ausnahmeregelung in § 3 Abs. 2, Nr. 8 Arzneimittelgesetz alter Fassung erfasst. Seit Inkrafttreten des Gewebegesetzes unterfallen Herzklappen und Gefäße u.a. durch die neu eingeführte Definition der Gewebezubereitung in § 4 Abs. 30 AMG dem Arzneimittelbegriff. Dies ist für die Fragestellung dieser Arbeit im Weiteren von Relevanz.

Hieraus ergaben sich für die Praxis wesentliche Änderungen hinsichtlich der Prozessierung der Gewebespende zur Gewebezubereitung, welche fortan den GMP-Regeln unterliegen, Gewebezubereitungen sind nunmehr Arzneimittel und bedürfen der Genehmigung durch das Paul Ehrlich Institut.

1.2.1 Kardiovasculäre Gewebespende

Im Gegensatz zu Organen können menschliche Gewebe nach entsprechender Präparation und Konservierung über längere Zeit gelagert werden. Deshalb wurde am UKSH-Campus Kiel 1989 eine Gewebebank etabliert und in den folgenden Jahren kontinuierlich ausgebaut.

Die Gewebe, aus denen kardiovasculäre Homografts hergestellt werden, rekrutieren sich von folgenden Spendern:

Multiorganspender, bei denen von vornherein feststeht, dass das Herz nicht für eine Transplantation, zum Beispiel auf Grund einer bekannten koronaren Herzerkrankung, geeignet ist, die Herzklappen aber für eine Klappenspende in Betracht kommen. Eine entsprechende Einwilligung liegt vor.

Patienten, die aus verschiedenen Gründen ein neues Herz transplantiert bekommen, das explantierte Herz zwar seine eigentliche Funktion nicht mehr erfüllen konnte, die Herzklappen aber intakt sind und so einer Gewebespende bei vorliegender Einwilligung des Patienten zugeführt werden können.

Andere Spender, wie zum Beispiel Herz-Kreislauf Verstorbene, wurden in Kiel nicht in nennenswertem Umfang rekrutiert (38) und sind bei der Untersuchung auf Grund der unterschiedlichen Ausgangslage und Kontaminationsfähigkeit nicht berücksichtigt worden.

1.4 Voraussetzungen für Herstellung, Lagerung und Vertrieb kardiovaskulärer Homografts

Homografts resultieren aus Gewebespenden unterschiedlicher Herkunft. Es ist uneingeschränkt notwendig, dass, bevor eine Spende realisiert werden kann, das Einverständnis des Spenders oder eines Bevollmächtigten oder nächsten Angehörigen schriftlich vorliegt (vgl. § 3 Abs. 1 Satz 1 Nr. 1 TPG), dass der (Hirn-)tod des Spenders

festgestellt wurde (vgl. § 3 Abs. 1 Satz 1 Nr. 2 TPG), und dass die Gewebeentnahme durch einen Arzt (vgl. § 3 Abs. 1 Satz 1 Nr. 3) (21) beziehungsweise durch eine qualifizierte Person unter Verantwortung und nach fachlicher Weise eines Arztes (vgl. § 3 Abs. 1 Satz 2 TPG) (22,23) vorgenommen wird. Zusätzlich muß die Einrichtung bzw. das Entnahmeteam über eine Erlaubnis der zuständigen Landesbehörde gemäß § 20b AMG (18) verfügen. Diese liegt dem UKSH-Campus Kiel in vorläufiger Form vor (LGASH 211-113.11).

Das entnommene Gewebe ist gemäß § 4 Abs. 30 AMG als Gewebezubereitung und in der Folge als Arzneimittel definiert, die entsprechenden Regelungen sind daher zu beachten, die eigentliche Entnahme muß entsprechend der Vorgaben der Arzneimittel- und Wirkstoffherstellungsverordnung (AMWHV) u.a. unter sterilen Bedingungen entnommen und transportiert werden und an einen Mitarbeiter der Gewebebank übergeben werden. Bei dieser Übergabe sind entsprechend den arzneimittelrechtlichen Vorgaben alle Dokumente der Identifikation des Spenders sowie die erforderlichen ärztlichen Informationen und Laborergebnisse sowie ggf. Blut/Serumproben zu übergeben.

1.5 Technologie der Herstellung kardiovaskulärer Homografts

Eine Einrichtung, die Gewebe oder Gewebezubereitungen be- oder verarbeitet, konserviert, lagert oder in den Verkehr bringt, benötigt eine Erlaubnis der zuständigen Landesbehörde nach § 20 c AMG (19). Wenn alle Eingangsbedingungen und Voraussetzungen erfüllt sind, kann der eigentliche Herstellungsprozeß beginnen.

Die Gewinnung der Homografts erfolgt durch anatomische Präparation auf der Basis einer Standard Operating Procedure (Standardarbeitsanweisung; SOP). Dies gewährleistet eine standardisierte Behandlung der Gewebe, Einzelschritte können hierbei jederzeit rückverfolgt werden.

Nach durchgeführter Präparation und Kontrolle der Funktionsfähigkeit des Homografts erfolgt eine 24-stündige Antibiotika-Behandlung bei + 4 Grad Celsius. Die Zusammensetzung dieser Lösung, die Dauer der Behandlung sowie die Temperatur sind vom Gesetzgeber trotz umfangreicher anderer Forderungen nicht definiert oder gefordert.

Im Rahmen der Qualitätssicherheit und Prüfung auf Kontamination der Gewebe werden zu unterschiedlichen Zeiten in der Herstellungsfolge mikrobiologische Abstrichkontrollen durchgeführt.

Nach abgeschlossener antibiotischer Behandlung erfolgt eine computergestützte und fest definierte, jederzeit nachvollziehbare Kryokonservierung der Homografts und abschließende

Überführung in die Gasphase von flüssigem Stickstoff zur endgültigen Lagerung bis zur Implantation bei – 170 Grad Celsius. Die maximale Lagerzeit ist ebenfalls nicht gesetzlich definiert, hier erfolgt eine maximale Lagerung bis zur Implantation von 5 Jahren.

1.6 Qualitätsprüfungen und Freigabe der Gewebe

Die Gewebezubereitung Herzklappe oder Blutgefäß ist ein an anatomische Strukturen gebundenes biologisches Arzneimittel. Aus diesem Grund sieht der Gesetzgeber folgende Untersuchungen des Spenderblutes vor: Hepatitis, HBV-PCR, HCV-PCR, HIV –Ag und Ab sowie Lues Serologie.

Zusätzlich werden in Kiel mikrobiologische Untersuchungen nach Beendigung der Präparation vor Beginn der antibiotischen Behandlung und eine 2. Kontrolle vor Beginn der Kryokonservierung in Form von Abstrichkontrollen der Präparate durchgeführt. Ebenso werden histologische Kontrollen aus Muskulatur des rechten und linken Ventrikels sowie Segmente der A. Pulmonalis und Aorta ascendens bei Herzklappen-Spende durchgeführt, bei Gefäßspende werden jeweils 2 Gefäßringe pro Präparat histologisch untersucht.

Bis zum Vorliegen aller Befunde verbleiben die kryokonservierten Homografts in einem separaten Quarantäne-Stickstofftank, bis ggf. eine endgültige Freigabe der Homografts zur Implantation durch eine sachkundige Person nach §§ 14 und 15 AMG (20,21) erfolgen kann.

Die Abgabe von freigegebenen Homografts kann nur erfolgen, sofern eine diesbezügliche Genehmigung nach § 21 a AMG (17) vorliegt. Auch diese liegt dem UKSH-Campus Kiel durch die Landesbehörde Schleswig Holstein in vorläufiger Form vor.

1.7 Anwendungsgebiete

Der Ersatz von Herzklappen wird beim Menschen heute überwiegend durch mechanische, biokompatible Klappen oder bioprothetische Substitute durchgeführt, jedoch stellen Homografts auch heute bei bestimmten Indikationen das Behandlungsverfahren der Wahl dar. Ein weiterhin bestehender Mangel an Homografts stellt oftmals einen limitierenden Faktor dar, genaue Zahlen über den Mangel liegen zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht vor.

Hauptanwendungsgebiete für Herzklappen als Homografts sind infektiöse Endocarditis (9), Säuglinge, Kleinkinder und junge Erwachsene sowie bei der „Ross“-Operation. Hierzu zählen junge Frauen mit Kinderwunsch, sportlich aktive Patienten mit entsprechenden Ambitionen oder auch Patienten mit einer Kontraindikation für orale Antikoagulation, die bei anderen

Herzklappen (s.o.) von den Fachgesellschaften in den entsprechenden Leitlinien empfohlen wird.

Im Bereich der Gefäße finden Homografts bei Infektionen von Arterien als auch Infektionen von implantierten Gefäßprothesen als Ersatz ihren Einsatz (10). Auch hier stellt eine begrenzte Verfügbarkeit oftmals den limitierenden Faktor dar.

2. Fragestellung

Die Verwendung von Homografts als Herzklappen-Ersatz oder Gefäßersatz stellt heute ein etabliertes Verfahren dar. Limitiert wird dieser Einsatz jedoch durch eine begrenzte Verfügbarkeit, die auch durch eine Besiedlung mit unterschiedlichen Keimen zu stande kommt. Eine antibiotische Behandlung zur Minimierung der Keimbesiedlung bis hin zu einer Keimfreiheit scheint eine Möglichkeit zu sein, weniger Homografts auf Grund einer Besiedlung verwerfen zu müssen. Ziel dieser retrospektiven Arbeit ist, folgende Fragen zu klären :

- 2.1 Wie hoch ist der Anteil an Homografts, die nach der Präparation mit Keimen besiedelt sind?
- 2.2 Läßt sich durch eine 24-stündige Behandlung eine signifikante Reduktion der Keimbesiedlung dieser Homografts erreichen?
- 2.3 Sind die im Rahmen dieser Behandlung zum Einsatz gebrachten Antibiotika wirksam?
- 2.4 Welches Keimspektrum ist im Rahmen einer Homograftspende vorliegend?
- 2.5 Ist die angewandte Methode zur Homograft-Herstellung als sicher hinsichtlich einer Keimbesiedlung anzusehen oder ist die Kontaminationsrate im Rahmen des Herstellungsprozesses als zu hoch anzusehen?
- 2.6 Gibt es eine unterschiedliche Rate an Keimnachweisen in Abhängigkeit der Entnahmelokalisation (Thorako-abdominell versus peripherer Gefäßentnahme)?
- 2.7 Ist eine antibiotische Behandlung als Prophylaxe im Rahmen der Herstellung von Homografts als sinnvoll anzusehen?

3. Material und Methoden

3.1 Homograft

3.1.1 Allgemeine Vorraussetzungen

Folgende Vorraussetzungen beziehungsweise Daten lagen zur Rekrutierung von Organspendern zur Gewinnung von Homografts vor:

Spendereinwilligung (bzw. durch Angehörige) erhalten schriftlich oder mündlich, den gesetzlichen Vorgaben des Transplantationsgesetzes und Gewebegesetzes in aktueller Fassung folgend :

- eine Registrierungsnummer, vergeben durch Eurotransplant (sog. ET . Nr.), Leiden, Niederlande
- Spendernachname, Geburtsname, Vorname, Geschlecht in der zentralen Datei von Eurotransplant
- Blutgruppe, Rhesus Faktor
- Spendertyp: Es wird unterschieden zwischen heart beating donor, non heart beating donor und Domino heart (Explantiertes Herz, welches nach stattgefundenener Herztransplantation keine weitere Verwendung findet und die notwendigen Spendervoraussetzungen erfüllt)
- Todesursache, Herzstillstandszeit,
- Spenderklinik, Explantationszeit und –datum
- Serologie: Hepatitis, HBV-PCR, HCV-PCR, HIV-AG und AB sowie Lues Serologie

Für die Gewinnung von Homografts gilt zur Zeit ein maximales Spenderalter von 65 Jahren, es werden sowohl männliche als auch weibliche Spender für eine Homograftspende akzeptiert.

Die maximale Zeit zwischen Explantation der für eine Homograftspende vorgesehenen Gewebe und Beginn der Präparation ist zur Zeit auf 40 Stunden festgelegt, sofern in dieser Zeit eine kontinuierliche, lückenlos nachweisbare Kühlung der Gewebe mittels Eis vorlag.

3.1.2 Spenderkriterien

Im Gegensatz zu Organen können menschliche Gewebe nach entsprechender Präparation und Konservierung über längere Zeit gelagert werden. Am UKSH - Schleswig Holstein, Campus Kiel, wurde 1989 eine Gewebebank etabliert, die in den folgenden Jahren kontinuierlich ausgebaut wurde.

Die Gewebe, aus denen kardiovaskuläre Homografts hergestellt werden, rekrutieren sich von folgenden Spendern:

- Multiorgan Spender, bei denen von vornherein feststeht, dass das Herz nicht für eine Transplantation, zum Beispiel auf Grund einer bekannten koronaren Herzerkrankung geeignet ist, die Herzklappen aber für eine Klappenspende in Betracht kommen. Eine entsprechende Einwilligung liegt vor.

- Patienten, die aus verschiedenen Gründen ein neues Herz transplantiert bekommen, das explantierte Herz zwar seine eigentliche Funktion nicht mehr erfüllen konnte, die Herzklappen aber intakt sind und so einer Gewebespende bei vorliegender Einwilligung des Patienten zugeführt werden können.

- Andere Spender, wie zum Beispiel Herz-Kreislauf Verstorbene, wurden in Kiel nicht in nennenswerten Umfang rekrutiert und sind bei der Untersuchung auf Grund der unterschiedlichen Ausgangslage und Kontaminationsfähigkeit nicht berücksichtigt worden.

- Klinisch darf kein Anhalt für eine Sepsis oder eine maligne Erkrankung vorliegen. Eine Zugehörigkeit zu einer HIV-Risikogruppe führt genauso wie das Vorliegen einer Autoimmunerkrankung zum Ausschluß des Spenders für eine Homograftspende. Eine vor Explantation durchgeführte Herz-Lungen-Wiederbelebung führt nicht automatisch zum Ausschluß einer Homograft-Spende.

3.1.3 Transport und Eingangskontrolle der Gewebe mit erforderlichen Begleituntersuchungen

Die Herzen werden in 3 Beuteln unter sterilen Bedingungen im Operationssaal verpackt, um dann unverzüglich in die Gewebebank des UKSH-Campus Kiel gesandt zu werden, damit die Ischämiezeit möglichst gering gehalten wird.

Die postmortale Ischämiezeit bis zum Beginn der Präparation wurde auf max. 40 Stunden nach Kreislaufstillstand begrenzt. Diese Zeitspanne beruht auf den Ergebnissen eigener Erfahrungen.

Der Transport der Herzen zur Klappenbank erfolgt in Styropor-Transportbehältern, die Kühlung des Organs wird durch Eis vorgenommen, die Lagerungstemperatur im Labor beträgt ebenfalls +4° Celsius.

Nach der Ankunft des Organs erfolgt die Kontrolle der Begleitdaten mit den zuvor übermittelten Daten und die Kontrolle der Transportbehälter auf Unversehrtheit. Unmittelbar vor Präparationsbeginn wird die antibiotisch/antimykotische Lösung zur Dekontamination des Homografts, wie unter 3.1.5 beschrieben, angesetzt.

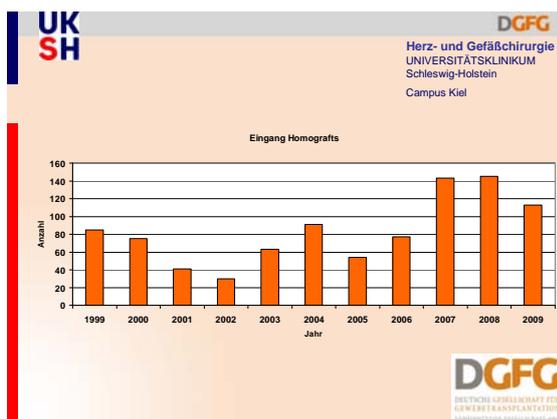


Abb. 1 Entwicklung der eingegangenen Gewebespenden in ganzen Kalenderjahren

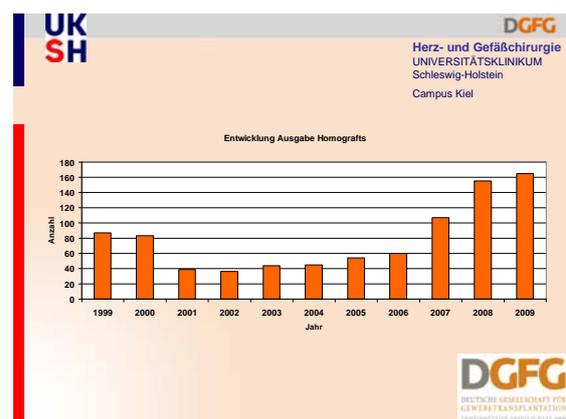


Abb. 2 Entwicklung der zur Implantation vergebenen Homografts der Gewebebank des UKSH-Campus Kiel in ganzen Kalenderjahren

3.1.4 Herstellen der antibiotisch-antimykotischen Lösung zur Dekontamination der präparierten Herzen

Das Ansetzen der antibiotischen-antimykotischen Lösung erfolgt in den eigens hierzu zur Verfügung stehenden Laborräumen, die ausschließlich für die Präparation und Kryokonservierung dieser Gewebe genutzt werden, der Gewebebank Kiel des UKSH-Campus Kiel, unter Laminar-Air-flow Bedingungen.

Die Zusammensetzung der antibiotisch/antimykotischen Lösung sowie deren Anwendung beruht auf eigenen Erfahren der Gewebebank Kiel. Hiervon abweichende Lösungen und Verfahren sind beschrieben (24,25,26,27,28). Die Zusammensetzung der antibiotisch/antimykotischen Lösung mit den entsprechenden Konzentrationen sowie Einwirkzeit sind dem Paul-Ehrlich-Institut (PEI), Berlin gemeldet und in der erforderlichen Herstellungserlaubnis, in der zur Zeit vorliegenden vorläufigen Form des PEI dokumentiert und genehmigt (29).

Folgende Antibiotika/Antimykotika, mit den unten genannten Konzentrationen, werden verwandt:

- Gentamycinsulfat (Gentamycin[®] – Ratiopharm 40 SF[®], Firma Ratiopharm, Deutschland);
- Piperacillin- Natrium (Pipril 1g[®]; Firma Lederle, Deutschland);
- Flucloxacillin Natrium (Staphylex 1g[®], Firma SmithKline Beecham Pharma GmbH, Vertretung Deutschland);
- Metronidazol (Metronidazol[®] Ratiopharm 500[®], Firma Ratiopharm, Deutschland);
- Amphotericin B
- Human Albumin 20 % (Firma Centeon, Vertretung Deutschland);
- Medium M 199[®] (Firma Seromed, Deutschland);
- Aqua dest.

Benötigtes Einmalmaterial: 1 OP-Abdecktuch, 1 Becherglas 200 ml, 6 Codan[®] Spikes (Firma Fresenius, Deutschland), 2 Kanülen, 1 Spritze steril 1 ml, 3 Spritzen steril 10 ml, 2 Spritzen steril 20 ml (alle Firma Fresenius[®], Deutschland), 2 sterile Behälter 50 ml.

Die Antibiotika/Antimykotika werden entsprechend den Herstellerinformationen unter der Laminar Air Flow gelöst.

Danach werden in ein steriles Becherglas (200 ml) folgende Mengen der zuvor angesetzten Antibiotika/Antimykotika pipettiert:

0,4 ml Gentamycin [®]	entspricht 16 mg Gentamycin
2 ml Pipril [®]	entspricht 200 mg Piperacillin
4 ml Staphylex [®]	entspricht 400 mg Flucloxacillin
8 ml Metronidazol [®]	entspricht 40 mg Metronidazol
4 ml Amphotericin B [®]	entspricht 40 mg Amphotericin B
82 ml M 199	
100 ml Human Albumin 20 %	

Die Lösung wird auf 2 sterile Bechergläser unter der Lamina Air flow verteilt.

3.1.5 Präparation der Homografts

Die Präparation der Homografts erfolgt im Reinbereich, dort unter der Laminar Air flow (Nuair Laminar-Flow Sicherheitswerkbank Klasse II nach DIN 12950, Teil 10, Typ A/B3 / Hersteller: Nuair Typen Nr. NU 425/400EGS, Bj: 1994 der Firma Zapf; Deutschland, Modell NU 425-400E)

Das Einschleusen des Personals durch die Personalschleuse in den Arbeitsbereich erfolgt nach den Standardarbeitsanweisungen der Gewebebank (SOP), ebenso das Einbringen der benötigten Arbeitsmaterialien in den Bereich. Folgende Arbeitsschritte schließen sich chronologisch an :

- Öffnen der Transportbox und erneute Kontrolle auf Unversehrtheit des Transportbehälters sowie Kontrolle der Kühlung (ausreichender Eisvorrat),
- Kontrolle des äußeren Beutels der 3 Transportbeutel mit anschließendem Öffnen des Beutels außerhalb der Laminar Air flow, Desinfektion des nun erreichbaren 2 Beutels mit Bacilol[®].

Anschließend führt der Präparator eine chirurgische Händedesinfektion mit folgendem, sterilen Ankleiden durch.

Jetzt wird der zuvor bereits desinfizierte 2. Beutel entnommen und in die Laminar-Air-flow verbracht, danach Eröffnen des 2. Beutels und Entnahme des inneren Beutels mit erneuter makroskopischer Kontrolle auf Unversehrtheit sowie makroskopischer Kontrolle der Transportflüssigkeit auf Auffälligkeiten (Trübung etc).

Eröffnen des inneren Beutels und Entnahme des Herzens bzw. der Gefäße mit eingehender makroskopischer Begutachtung hinsichtlich Verletzungen oder anderen Auffälligkeiten.

3.1.6 Präparation von Aorten- und/oder Pulmonalklappe

Danach beginnt die eigentliche Präparation der Homografts mit dem Absetzen der Herzspitze mittels einer großen Metzenbaumschere unterhalb der Atrio-Ventrikulären-Klappenebene. Jetzt kann eine Inspektion von rechtem u. linkem Ventrikel, Trikuspidalklappe sowie Mitralklappe erfolgen. Im Rahmen der weiteren Präparation schließt sich die laterale Durchtrennung des Klappenannulus sowie des posterioren Segels der Mitralklappe an. Zusätzlich wird nicht notwendige Muskulatur des rechten als auch des linken Vorhofes entfernt. Die Trikuspidalklappe kann nicht als Homograft verwendet werden und wird verworfen. Die Trennung der A. pulmonalis mit ihrer Bifurkation von der Aorta ascendens sowie das Durchtrennen der rechten und linken Coronararterie mittels kleiner Metzenbaumschere schließt sich an. Ein cirka 5 mm langer Stumpf der Coronararterien wird belassen, er wird jedoch nicht mittels Ligatur verschlossen, da die zur Verfügung stehenden Nahtmaterialien nicht eingefroren werden dürfen. Nun wird die Trennung von Aortenbasis und Basis der A. pulmonalis mittels kleiner Metzenbaumschere durchgeführt. Es finden sich jetzt die isolierte Pulmonalklappe mit der A. pulmonalis und ihrer Bifurkation sowie die isolierte Aortenklappe mit der Aorta ascendens in unterschiedlicher Länge in Abhängigkeit von der Explantationstechnik. Eine Fotodokumentation mittels Polaroid® Macro 5 SLR (Polaroid®; USA) wird im Rahmen der Qualitätssicherung nach Präparation vor Entnahme der 2. Abstriche für mikrobiologische Kontrollen durchgeführt. Die Fotos werden vom Assistenten angefertigt.

Anschließend erfolgt ein Funktionsprüfung der Klappen mit einem mit 200 ml sterilem NaCl 0,9 % gefülltem Becherglas hinsichtlich einer eventuellen Insuffizienz.

Am Ende der Präparation, vor Beginn der antibiotischen Behandlung, werden erste mikrobiologische Kontrollabstriche entnommen, nachdem Gewebeproben im Rahmen der

Qualitätskontrolle für die histologische Begutachtung entnommen wurden. Der Wattetupfer der Abstrichröhrchen wird primär am Klappenannulus der Pulmonalklappe angesetzt, es erfolgt ein zirkuläres Umfahren des gesamten Anulus, danach entsprechend Abstrich mit diesem Tupfer am äußeren Rand der Klappe und anschließendem Verbringen in das Transportmedium, auch unter der Laminar-Air-flow.

Im Bereich der Aortenklappe erfolgt eine Abstrichentnahme in gleicher Technik.

Die Einlagerung der Homografts erfolgt jetzt in die am Beginn angesetzte antibiotische Lösung unter Lamina-Air-flow in verschließbare sterile Bechergläser, die danach für 24 Stunden bei + 4° C im Kühlschrank verbleiben. Dieser Kühlschrank ist ebenfalls, wie vom Gesetzgeber vorgegeben, kontinuierlich temperaturüberwacht.

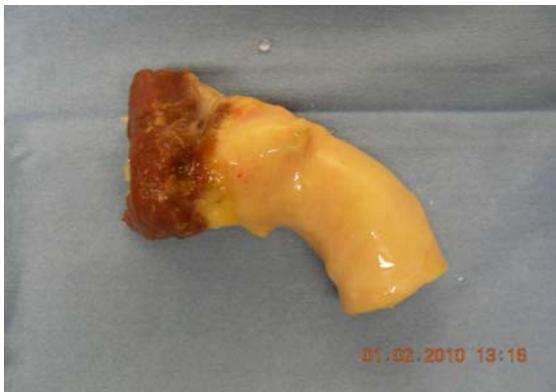


Abb.3: Aortenklappen Homograft



Abb.4: Pulmonalklappen Homograft

3.1.7 Präparation von arteriellen und venösen Gefäßen

Die Vorbereitung zur Präparation von Gefäßen erfolgt wie unter Punkt 3.1.6 beschrieben.

Nach Einbringen in die Laminar-Air-flow erfolgt eine makroskopische Kontrolle der Gefäße auf eventuell entnahmebedingte Verletzungen, intravasale Blutkoagel oder Anomalien. Danach wird überflüssiges, im Rahmen der Entnahme verbliebenes, Gewebe entfernt, so dass nur noch Gefäße verbleiben. An den Schnitträndern werden jetzt ca. 0,3-0,5 cm Gefäßsegmente zur histologischen Untersuchung entnommen, gleichzeitig werden durch diese Entnahme die Schnittränder begradigt.

Eine Fotodokumentation mittels Polaroid® Macro 5 SLR (Polaroid®; USA) wird im Rahmen der Qualitätssicherung nach Präparation vor Entnahme der 2 Abstriche für mikrobiologische Kontrollen durchgeführt. Die Fotos werden vom Assistenten angefertigt.

Am Ende der Präparation vor Beginn der antibiotischen Behandlung werden erste mikrobiologischen Kontrollabstriche entnommen. Der Wattetupfer der Abstrichröhrchen wird

primär an der Adventitia des Gefäßes angesetzt und über die gesamten Länge geführt, anschließend erfolgt ein Abstrich von der Intima des Gefäßes, sofern der Durchmesser des Gefäßes dies zulässt. Im Anschluß erfolgt das Verbringen in das Transportmedium, auch unter der Laminar-Air-flow.

Die Einlagerung der Homografts erfolgt jetzt in die am Beginn angesetzte antibiotische Lösung unter Lamina Air flow in verschließbare sterile Bechergläser, die danach für 24 Stunden bei + 4° C im Kühlschrank verbleiben. Dieser Kühlschrank ist ebenfalls, wie vom Gesetzgeber vorgegeben, kontinuierlich temperaturüberwacht.



Abb. 5: Arteria femoralis



Abb.6: Vena saphena



Abb. 7: Aortenbifurkation



Abb. 8: Aorta descendens



Abb. 9 Arcus aortae



Abb.10: Arteria Pulmonalis Bifurkation

3.1.8 Makroskopische Beurteilung der Homografts hinsichtlich ihrer Qualität

Die Beurteilung der Homograftqualität erfolgt gemäß dem Scoring-System der Gewebebank des UKSH-Campus Kiel in Anlehnung an den sog. Hopkins-Score in 5 Qualitätsstandards (11). Diese Einteilung erfolgt nach makroskopischen Kriterien als auch den histologischen Befunden folgend.

Grad 0: Bikuspidale Klappen oder anderer angeborener Defekt, große Klappenfenestrationsen oder eingerissene Klappen oder Gefäße, Intimiablösung in den Homografts, ausgeprägte Atherome auf den Klappen, zu kurzer Konduit oder Verletzung der Kommissuren, insuffiziente Klappen;

Grad 1: Bis zu 30 % der Mitralklappe mit Atheromen belegt, signifikante Atherome auf der Aortenintima, stark verfettetes Myokard, Kontusion des Myocards nahe des Klappenringes, leichte Verletzung der Kommissuren oder Verkalkung, erhebliche arteriosklerotische Wandveränderungen, feststellbare Klappenfenestrationsen;

Grad 2: leichte Klappenfenestrationsen, bis zu 15 % der Mitralklappe mit Atheromen belegt, kleine Kontusionsherde in deutlicher Entfernung zum Klappenring, kleine Atherome auf den Klappen, feststellbare arteriosklerotische Wandveränderungen;

Grad 3: Einige kleine Atheromherde auf der Mitralklappe, Klappen ohne Fenestrationsen, Verletzungen, Atheromen, keine Kontusion, normales Myocard, Aortenhomograft ohne Atherome oder Verletzungen, leichte arteriosklerotische Veränderungen im Frühstadium;

Grad 4: Klappen und Gewebe ohne jegliche pathologische Veränderungen, keine arteriosklerotischen Veränderungen.

Es wurden nur Homografts, die Grad 3 oder 4 erfüllten zur weiteren Herstellung als Homograft akzeptiert.

3.1.9 Herstellen des Einfriermediums für die Homografts

Die Zusammensetzung der Konservierungs-Lösung sowie deren Anwendung beruht auf eigenen Erfahrungen der Gewebebank Kiel. Hiervon abweichende Lösungen und Verfahren sind beschrieben. Die Auswirkungen und Erfahrungen wurden bei der Zusammensetzung der Lösung berücksichtigt (30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38).

Die Zusammensetzung der erforderlichen Konservierungs-Lösung mit den entsprechenden Konzentrationen sowie Einwirkzeit sind dem Paul-Ehrlich-Institut (PEI), Berlin gemeldet und

in der erforderlichen Herstellungserlaubnis, in der zur Zeit vorliegenden vorläufigen Form des PEI dokumentiert und genehmigt (29) und wie folgt beschrieben:

Einschleusen des Personals durch die Personalschleuse in den Reinbereich sowie Einbringen der benötigten Arbeitsmaterialien in den Arbeitsbereich und anschließende chirurgische Händedesinfektion des Präparators und sterilem Ankleiden. Benötigte Materialien für die Herstellung des Einfriermediums:

- Medium M 199 ; Seromed[®], Log Nr. 139 W
- Dimethylsulfoxid[®] (DMSO), Firma Merck[®], Deutschland
- Human Albumin 20% 100 ml; Centeon[®], Deutschland

Einbringen der Lösungen in die Laminar-Air-Flow und danach pipettieren von

- 68 ml Medium M 199
- 12 ml Dimethylsulfoxid
- 80 ml Human Albumin 20%

in ein 200 ml Becherglas.

3.1.10 Kryokonservierung der Homografts

Die Kryokonservierung der Homografts beginnt mit der Entnahme der präparierten Bifurkation aus dem mit Antibiotikallösung gefüllten Gefäß. Das Öffnen der Hemofreeze-bags sowie das Befüllen des inneren Beutels mit 80 ml der zuvor hergestellten Einfrierlösung, Beschriften des inneren Beutels mit sterilisiertem Stift unter Angabe von Durchmesser, Länge sowie Herstellungsdatum kann nun unter der Laminar Air flow erfolgen. Der Homograft wird in den inneren Beutel verbracht.

Das Verschweißen des Beutels mittels NPBI[®] Hemofreeze Sealer (Hemofreeze Sealer - Folienschweißgerät WD3; der Firma Fresenius NBPI Dreieich, Deutschland) muß aus technischen Gründen außerhalb der Laminar Air flow innerhalb des Arbeitsbereiches durchgeführt werden. Aus diesem Grund ist eine Desinfektion des Beutels mit Alkohol nach verschweißen erforderlich.

Das Einbringen des inneren Beutels in den äußeren Beutel und Beschriftung des Beutels mit sterilisiertem Stift unter Angabe von Durchmesser, Länge sowie Herstellungsdatum und das

Verschweißen des Beutels mittels NPBI Hemofreeze Sealer erfolgt analog dem inneren Beutel.

Nach Verpackung der Homografts in oben genannter Weise erfolgt die Kryokonservierung mit computergesteuertem Freezer (ICECUBE 1610[®], Firma Sylab, Österreich). Der Einfriervorgang erfolgt programmgesteuert über 100 min bis zum Erreichen einer Temperatur von – 80° C.

Prozessdatum: 30.09.2011 13:22:08		87-11		Druckdatum: 30.09.2011 14:51:25				
				Seite 1				
Probe / Patient: 87-11		Benutzer: Morschheuser		Gerätetype: 14S				
Proben-ID:		Frierprogramm: Homograft_3.frz		VersionsNr.: V 1.10				
Memo1:		Programm-Datum: 12.06.2009 15:10:18		SerienNr: 14SS19ZN02618R				
Memo2:								
Liste Frierprogramm			Ereignisse während Ausführung					
Segm	EndTemp [°C]	Abs.Zeit [min.]	Rel.Temp [°C]	Rel.Zeit [min.]	Rampe [°C/min]	EventZeit [min.]	Dauer [min.]	Beschreibung
0	15,00	0,00				0,00		Lüfter ein
1	-7,00	23,00	-22,00	23,00	-0,96	87,00		Prozess fertig
2	-45,00	26,00	-38,00	3,00	-12,67	87,02		Akustik ein
3	-47,00	27,00	-2,00	1,00	-2,00	87,02		Stop gedrückt
4	-47,00	28,00	0,00	1,00	0,00	87,03		Lüfter aus
5	-51,00	40,00	-4,00	12,00	-0,33	87,03		Akustik aus
6	-100,00	87,00	-49,00	47,00	-1,04	87,03		Programm gestoppt
Autoseeding: gesperrt								
Autotrigger: gesperrt								
Fehler/Restart: Kritischer Temperaturbereich: -15,00 bis 5,00 °C								
Kritischer Zeitbereich: 15,00 bis 60,00 sek								
maximale unkritische Ausfallzeit: 5 sek								
Restarttemp: vorgegebene Temp -20,00 °C								
Programm: Homograft_3.frz			Benutzer: Morschheuser			87-11_2011-09-30_13-22-08.PRC		

Die Temperaturvorgaben sind in Abb. 11 ersichtlich

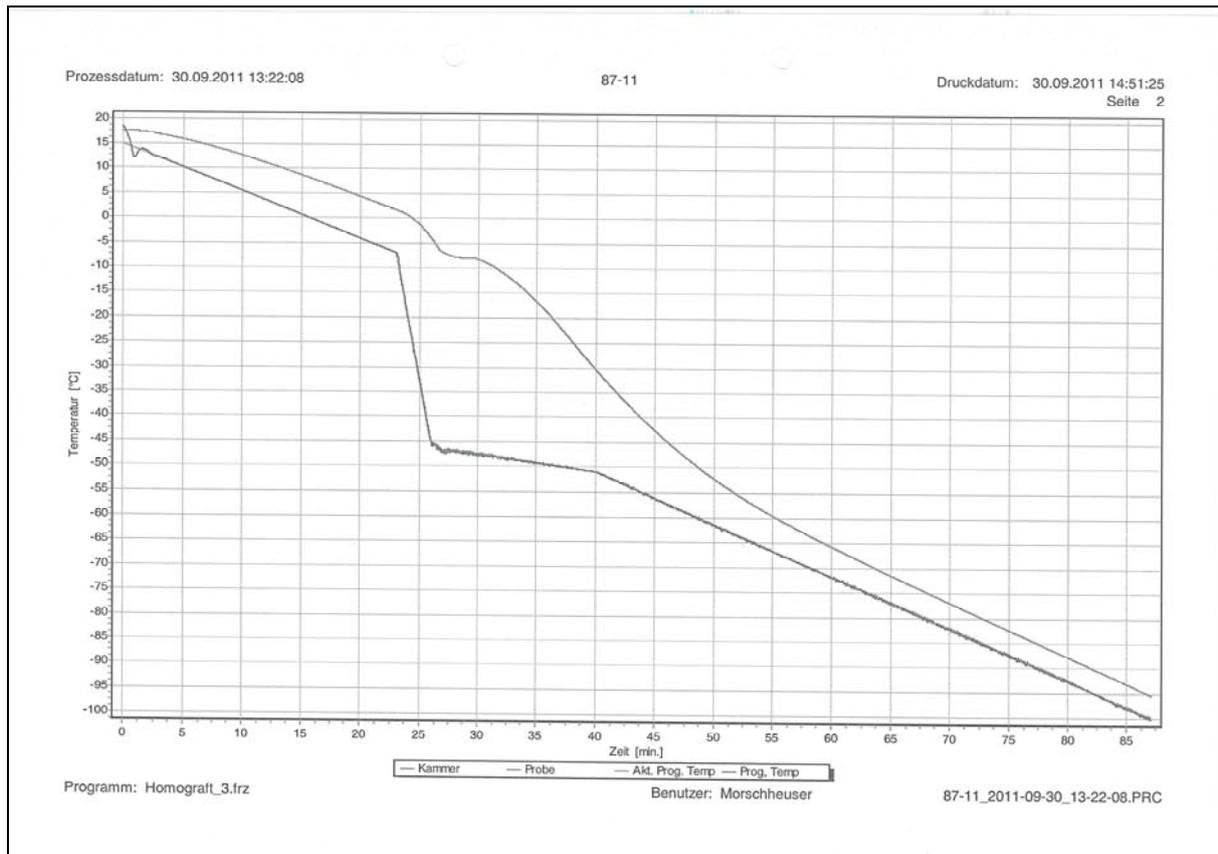


Abb. 12: Temperaturnormkurve der Kryokonservierung von Homografts

Anschließend erfolgt die Überführung der gefrorenen Homografts in die Gasphase (Temp. ca. -120 – -150 °C) eines Stickstofflagertanks (Apollo 150, Messer Griesheim, Deutschland) zur endgültigen Lagerung bis zur Implantation.

3.2 Mikrobiologische Kontrolle

Die mikrobiologischen Kontrollen wurden alle im Institut für Infektionsmedizin des UKSH-Campus Kiel, Direktor Herr Prof. Dr. H. Fickenscher, Arnold Heller Straße 3 (Haus 32), 24105 Kiel, durchgeführt. Hinsichtlich der Materialgewinnung und des Transportes wurden die entsprechenden Verfahrensrichtlinien der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie beachtet.

Es wurden je Homograft 2 Abstrichkontrollen im Rahmen der Herstellung durchgeführt. Die 1. Kontrolle erfolgte nach Abschluß der Präparation unmittelbar vor Beginn der antibiotisch/antimykotischen Behandlung. Der 2. Abstrich wurde nach antibiotischer Behandlung und Spülung, wie unter 3.1.11 beschrieben, unmittelbar vor Verschweißen des inneren Beutels entnommen.

Der Nachweis aerober Keime erfolgte wie unter Tab. 1 beschrieben

Verfahren	Methode	Testbezeichnung
Abstrichtest	Nachweis aerober Keime	Columbia Blutkulturplatten
Abstrichtest	Nachweis aerober Keime	MacConkey Agarplatten
Abstrichtest	Nachweis aerober Keime	Thioglykolat-Medium

Tabelle 1: Nachweisverfahren für aerobe Keime

Der Nachweis anaerober Keime erfolgte wie unter Tab. 2 beschrieben

Verfahren	Methode	Testbezeichnung
Abstrichtest	Nachweis anaerober Keime	Columbia Blutkulturplatten
Abstrichtest	Nachweis anaerober Keime	KV-Schaedler Agar

Tabelle 2: Nachweisverfahren für anaerobe Keime

3.3 Untersuchte Homografts

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung wurden vom 01.04.1998 bis zum 01.04.2010 insgesamt 2571 Homografts gewonnen. Hierbei handelt es sich im Einzelnen um 847 Aortenklappen, 820 Pulmonalklappen, 128 Segmente der A. Pulmonalis, 395 Segmente der Aorta ascendens mit oder ohne Arcus aortae, Aorta descendens mit oder ohne Bifurkation der Aorta. Diese Homografts wurden über einen thorakal/abdominellen Zugang explantiert.

Weiter konnten 254 periphere Arterien (A.Iliaca communis, A.femoralis) sowie 127 V. saphena magna Segmente hergestellt werden. Diese peripheren Gefäße wurden separat durch zusätzliche Schnitte entnommen. Eine weitere Unterteilung in Entnahme aus dem rechten oder linken Bein erfolgte nicht. Alle Homografts wurden im Rahmen einer Organspende im Operationsaal in unterschiedlichen Spenderkliniken entnommen, sämtlich unter 3.1.2 und 3.1.3 genannte Voraussetzungen sind erfüllt. Eine Untersuchung der unterschiedlichen Spenderkliniken hinsichtlich Keimspektrum wurde nicht durchgeführt.

Darstellung der Kliniken, in denen im Untersuchungszeitraum Homografts implantiert wurden, die in der Gewebebank des UKSH-Campus Kiel hergestellt wurden



Abb. 13: Standorte der Kliniken, in denen im Untersuchungszeitraum hergestellte Homografts implantiert wurden

4. Ergebnisse

4.1. Periphere Arterien

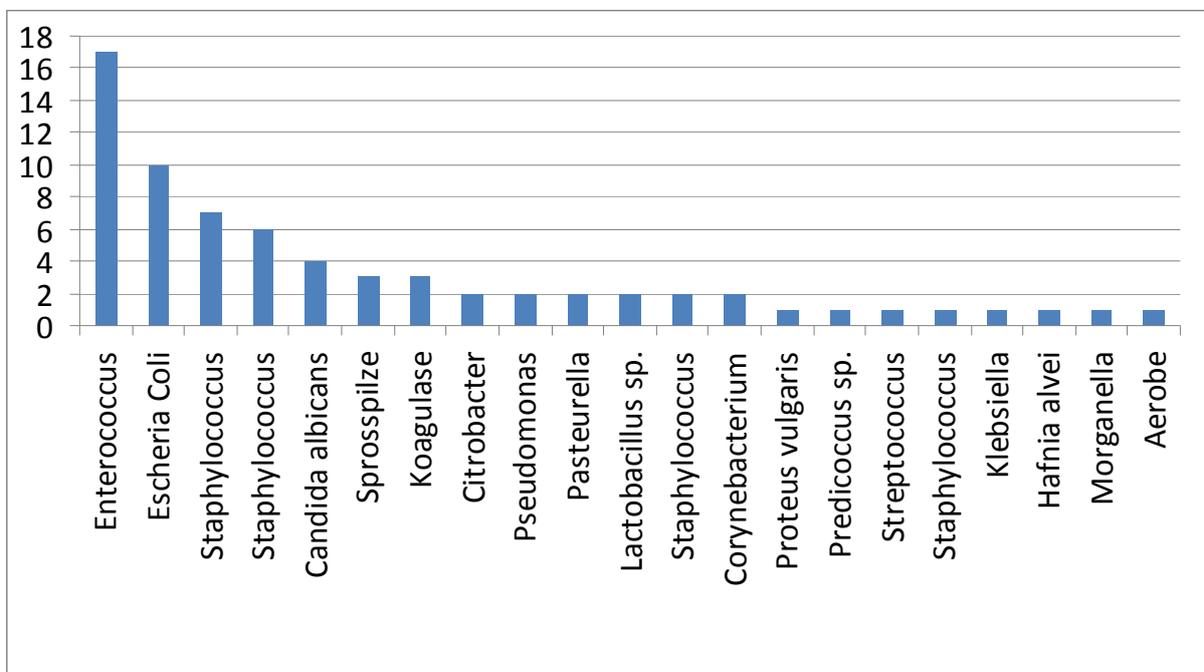
Es wurden im Beobachtungszeitraum insgesamt 254 arterielle Homografts aus Segmenten der A. Iliaca dextra oder sinistra sowie der A. femoralis dextra oder sinistra bearbeitet. Eine genauere anatomische Zuordnung lässt sich nicht treffen, da die Explantation von einem speziellen Explantationsteam durchgeführt wurde.

Bei diesem Kollektiv wurden insgesamt bei 68 Präparaten Keime und/oder Pilze in unterschiedlichen Stadien der Herstellung nachgewiesen.

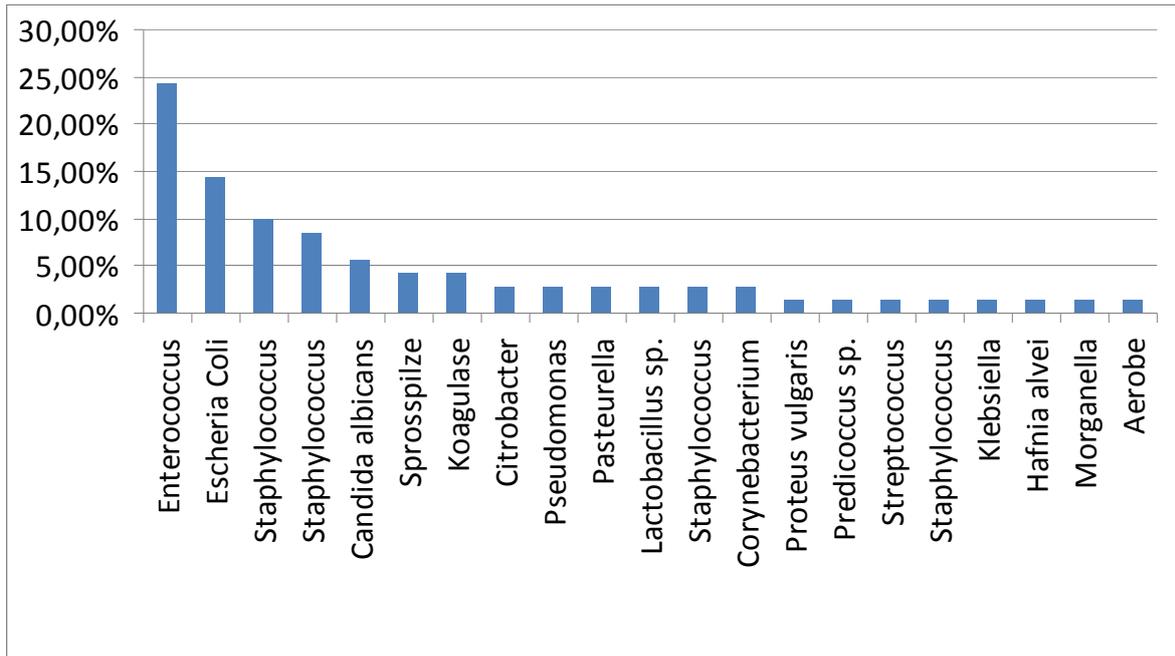
4.1.1 Positiver Nachweis vor Behandlung und negativer Nachweis nach Behandlung der peripheren Arterien mit entsprechendem Keimspektrum und dessen Verteilung

In 59 Fällen konnten Keime und/oder Pilze vor Beginn der 24-stündigen antibiotisch/antimykotischen Dekontamination nachgewiesen werden, nach Dekontamination waren diese nicht mehr nachgewiesen worden. Dies entspricht 23,23 % von allen Präparaten aus dieser Gruppe.

Grafik 1 und 2: Keimspektrum in der Befundkonstellation Positiv/Negativ der peripheren Arterien in absoluten Zahlen des Vorkommens und der prozentualen Verteilung



Grafik 1: Verteilung des Keimspektrums vor Präparation in absoluten Zahlen bei peripheren Arterien



Grafik 2: Prozentuale Verteilung des Keimspektrums vor Präparation bei peripheren Arterien

4.1.2 Positiver Nachweis vor Behandlung und positiver Nachweis nach Behandlung der peripheren Arterien

In 3 Fällen wurden Keime und/oder Pilze vor und nach der 24-stündigen antibiotisch/antimykotischen Dekontamination nachgewiesen. Dies entspricht 1,18 % von allen Präparaten aus dieser Gruppe.

4.1.3 Keimspektrum in der Befundkonstellation Positiv/Positiv der peripheren Arterien

Die einzelnen Keime sind in Tabelle 1 dargestellt.

Nachgewiesener Keim/Pilz	Anzahl	Prozent	Prozentualer Anteil von allen Arterien
Enterococcus faecium	3	100 %	1,2 %

Tab.1: Ergebnisübersicht der Keimverteilung bei peripheren Arterien in der Konstellation positiv/positiv

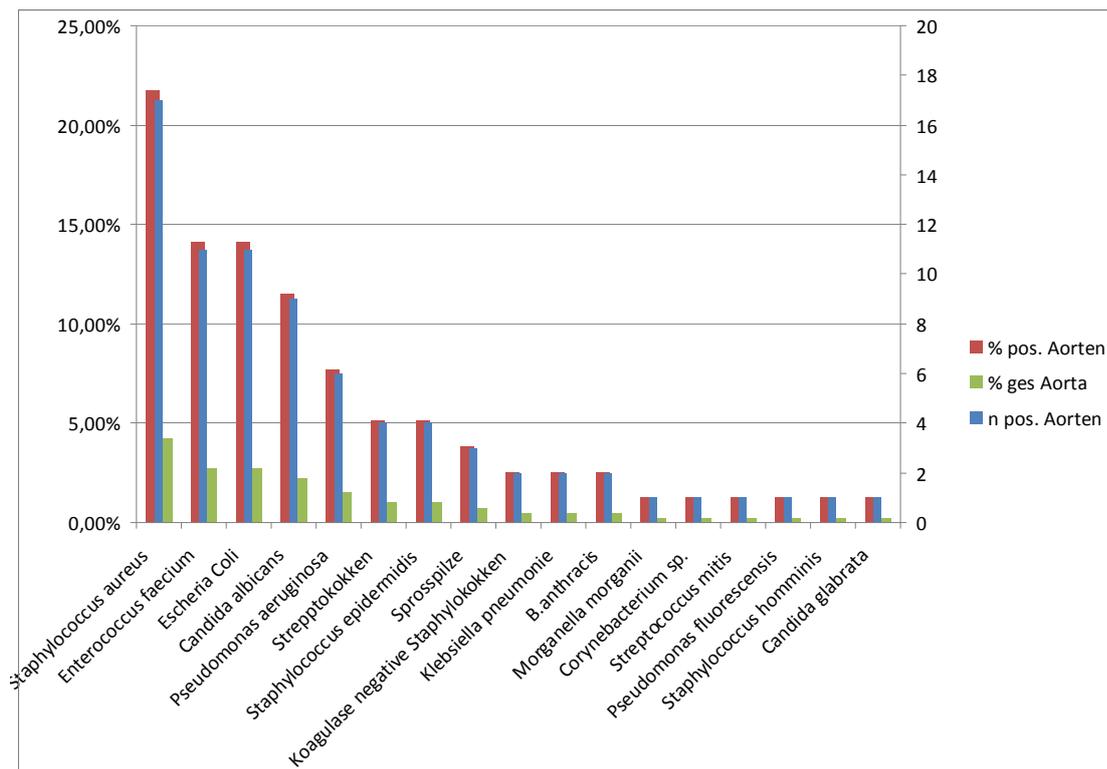
4.1.7 Ergebnis: In 26,77 % konnte eine Kontamination mit Bakterien und/oder Pilzen in dieser Gruppe nachgewiesen werden. Eine erfolgreiche Dekontamination konnte nach 24-stündiger Behandlung in 86,76 % erreicht werden. Dadurch konnten 23,23 % mehr Homografts zur Implantation zur Verfügung gestellt werden als ohne Behandlung.

4.2 Aorta ascendens/Arcus aortae/Aorta descendens

Es wurden im Beobachtungszeitraum insgesamt 395 arterielle Homografts aus Segmenten der Aorta ascendens, Arcus aorta oder Aorta descendens hergestellt. Bei diesem Kollektiv wurden insgesamt in 66 Präparaten Keime und oder Pilze in unterschiedlichen Stadien der Herstellung nachgewiesen.

4.2.1 Positiver Nachweis vor Behandlung und negativer Nachweis nach Behandlung von Aorta ascendens/Arcus aorta /Aorta descendens mit entsprechendem Keimspektrum und dessen Verteilung

In 55 Fällen konnten Keime und/oder Pilze vor Beginn der 24-stündigen antibiotisch/antimykotischen Dekontamination nachgewiesen werden, nach Dekontamination waren diese nicht mehr nachgewiesen worden. Dies entspricht 13,8 % von allen Präparaten.



Grafik 4: Keimspektrum der nach Explantation vor Präparation kontaminierten Aorten Segmente mit absoluter Zahl, prozentualer Aufteilung der Kontaminationen in der Gruppe aller explantierten Aorten sowie prozentualer Aufteilung des Keimspektrums innerhalb der Gruppe der Kontaminatione

4.2.2 Positiver Nachweis vor Behandlung und positiver Nachweis nach Behandlung von Aorta ascendens/Arcus aorta/Aorta descendens

In 5 Fällen wurden Keime und/oder Pilze vor und nach der 24-stündigen antibiotisch/antimykotischen Dekontamination nachgewiesen. Dies entspricht 1,25 % von allen Präparaten aus dieser Gruppe.

4.2.3 Keimspektrum in der Befundkonstellation Positiv/Positiv von Aorta ascendens/Arcus aorta/Aorta descendens

Die einzelnen Keime sind in Tabelle 2 dargestellt.

Nachgewiesener Keim/Pilz	Anzahl	Prozent	Prozent von allen explant. Aorten Segmenten
Enterococcus faecium	6	100 %	1,5 %

Tab.2: Ergebnisübersicht der Keimverteilung bei Segmenten der Aorta in der Konstellation positiv/positiv

4.2.4 Ergebnis: In 16,7 % konnte eine Kontamination mit Bakterien und/oder Pilzen in dieser Gruppe nachgewiesen werden. Eine erfolgreiche Dekontamination konnte nach 24-stündiger Behandlung in 83,33 % erreicht werden. Dadurch konnten 13,75 % mehr Homografts zur Implantation zur Verfügung gestellt werden als ohne Behandlung.

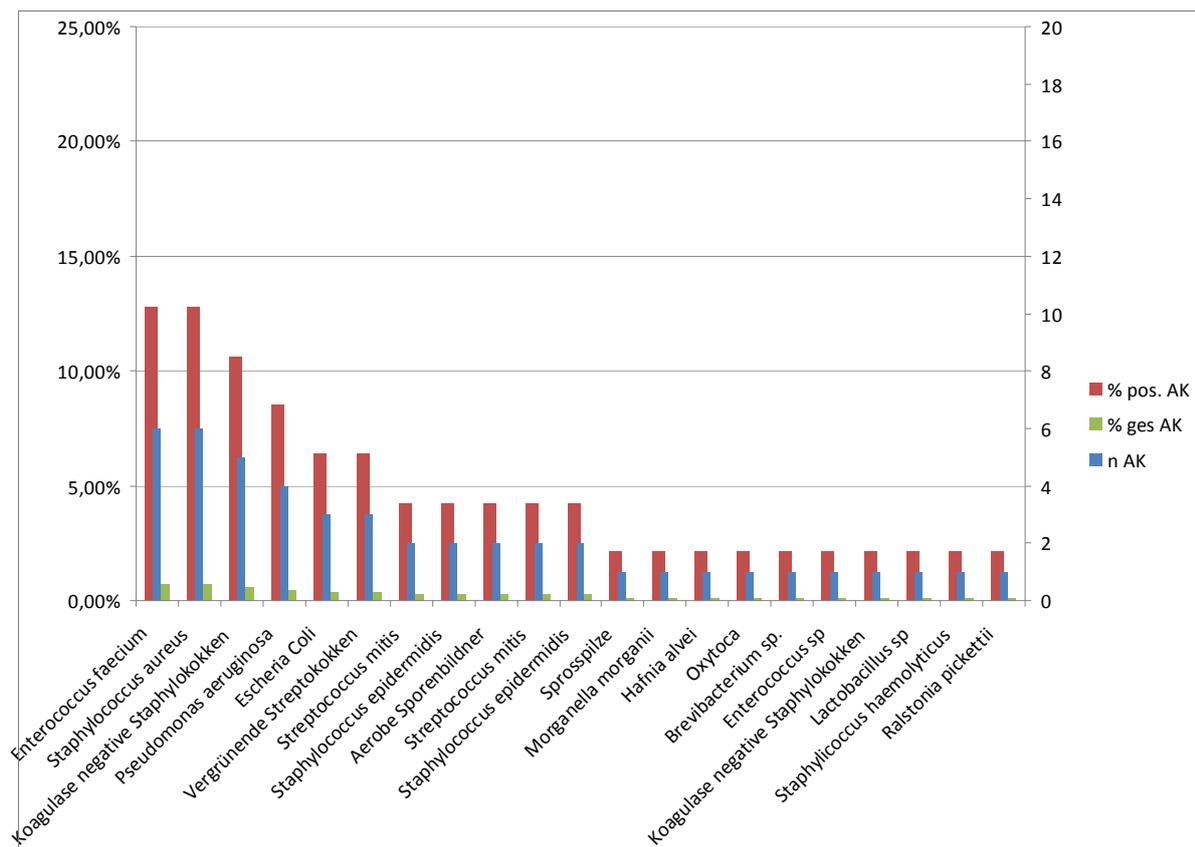
4.3 Aortenklappen

Es wurden im Beobachtungszeitraum insgesamt 847 Aortenklappen hergestellt. Bei diesem Kollektiv wurden insgesamt in 55 Präparaten Keime und oder Pilze in unterschiedlichen Stadien der Herstellung nachgewiesen.

4.3.1 Positiver Nachweis vor Behandlung und negativer Nachweis nach Behandlung der Aortenklappen mit entsprechendem Keimspektrum und dessen Verteilung

In 41 Fällen konnten Keime und/oder Pilze vor Beginn der 24-stündigen antibiotisch/antimykotischen Dekontamination nachgewiesen werden, nach Dekontamination waren diese nicht mehr nachgewiesen worden. Dies entspricht 4,84 % von allen Präparaten aus dieser Gruppe.

Grafik 5: Absolute und prozentuale Verteilung der Keimbesiedlung bei Aortenklappen



Grafik 5: Keimspektrum der nach Explantation vor Präparation kontaminierten Aortenklappen mit absoluter Zahl, prozentualer Aufteilung der Kontaminationen in der Gruppe aller explantierten Aortenklappen sowie prozentualer Aufteilung des Keimspektrums innerhalb der Gruppe der Kontaminationen

4.3.2. Keimspektrum in der Befundkonstellation Positiv/Positiv der Aortenklappen

Die einzelnen Keime sind in Tabelle 3 dargestellt.

Nachgewiesener Keim/Pilz	Anzahl	Prozent	Prozent von allen Aortenklappen
Vergrünende Staphylokokken	1	100 %	0,12 %

Tab.3: Ergebnisübersicht der Keimverteilung bei Aortenklappen in der Befundkonstellation positiv/positiv

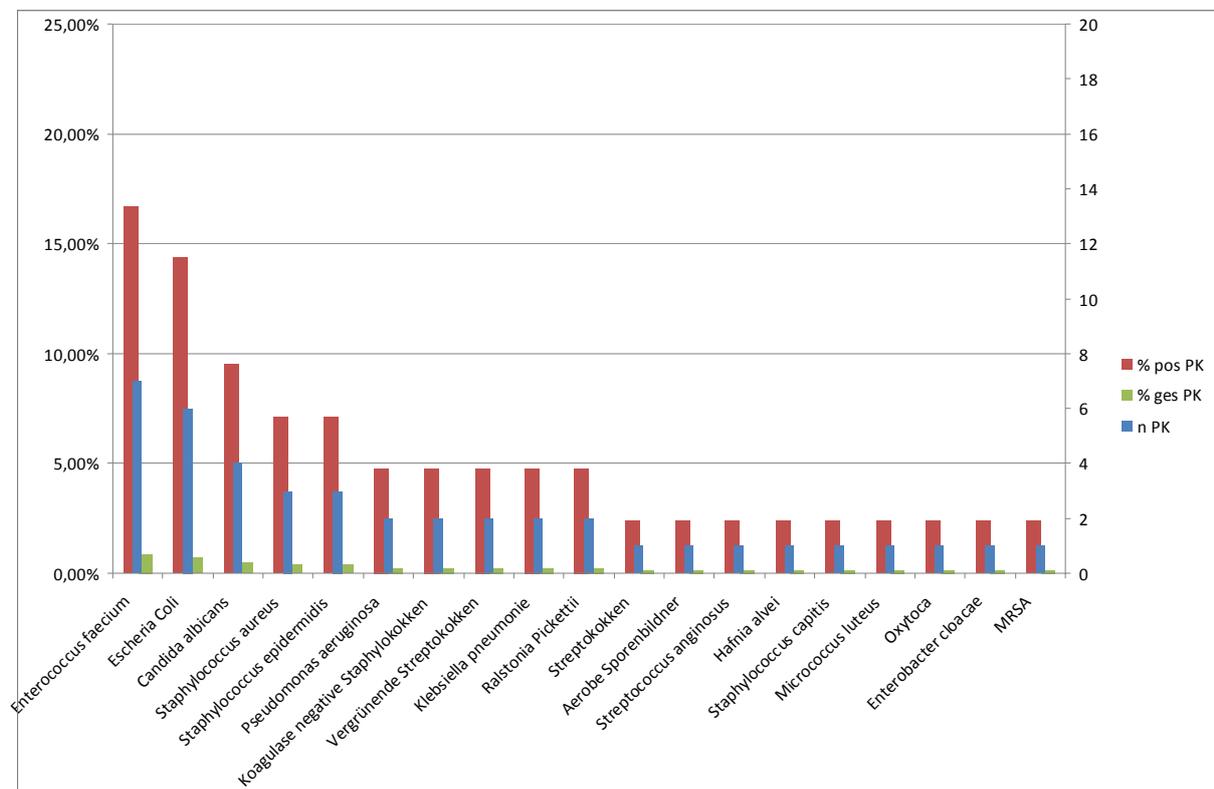
4.3.3 Ergebnis: In 6,49 % konnte eine Kontamination mit Bakterien und/oder Pilzen in dieser Gruppe nachgewiesen werden. Eine erfolgreiche Dekontamination konnte nach 24-stündiger Behandlung in 74,55 % erreicht werden. Dadurch konnten 4,84 % mehr Homografts zur Implantation zur Verfügung gestellt werden als ohne Behandlung.

4.4 Pulmonalklappen

Es wurden im Beobachtungszeitraum insgesamt 820 Pulmonalklappen hergestellt. Bei diesem Kollektiv wurden insgesamt in 40 Präparaten Keime und oder Pilze in unterschiedlichen Stadien der Herstellung nachgewiesen.

4.4.1 Positiver Nachweis vor Behandlung und negativer Nachweis nach Behandlung der Pulmonalklappen

In 28 Fällen konnten Keime und/oder Pilze vor Beginn der 24-stündigen antibiotisch/antimykotischen Dekontamination nachgewiesen werden, nach Dekontamination waren diese nicht mehr nachgewiesen worden. Dies entspricht 3,41 % von allen Präparaten aus dieser Gruppe.



Grafik 6: Keimspektrum der nach Explantation vor Präparation kontaminierten Pulmonalklappen mit absoluter Zahl, prozentualer Aufteilung der Kontaminationen in der Gruppe aller explantierten Pulmonalklappen sowie prozentualer Aufteilung des Keimspektrums innerhalb der Gruppe der Kontaminationen

4.4.2 Positiver Nachweis vor Behandlung und positiver Nachweis nach Behandlung der Pulmonalklappen

In 9 Fällen wurden Keime und/oder Pilze vor und nach der 24-stündigen antibiotisch/antimykotischen Dekontamination nachgewiesen. Dies entspricht 1,1 % von allen Präparaten aus dieser Gruppe.

4.4.3 Keimspektrum in der Befundkonstellation Positiv/Positiv der Pulmonalklappen

Die einzelnen Keime sind in Tabelle 4 dargestellt.

Nachgewiesener Keim/Pilz	Anzahl	Prozent	Prozent von allen Pulmonalklappen
Staphylokokken	1	33,3 %	0,1 %
Streptokokken	1	33,3 %	0,1 %
Streptococcus mitis	1	33,3 %	0,1 %

Tab.4: Ergebnisübersicht der Keimverteilung bei Pulmonalklappen in der Befundkonstellation positiv/positiv

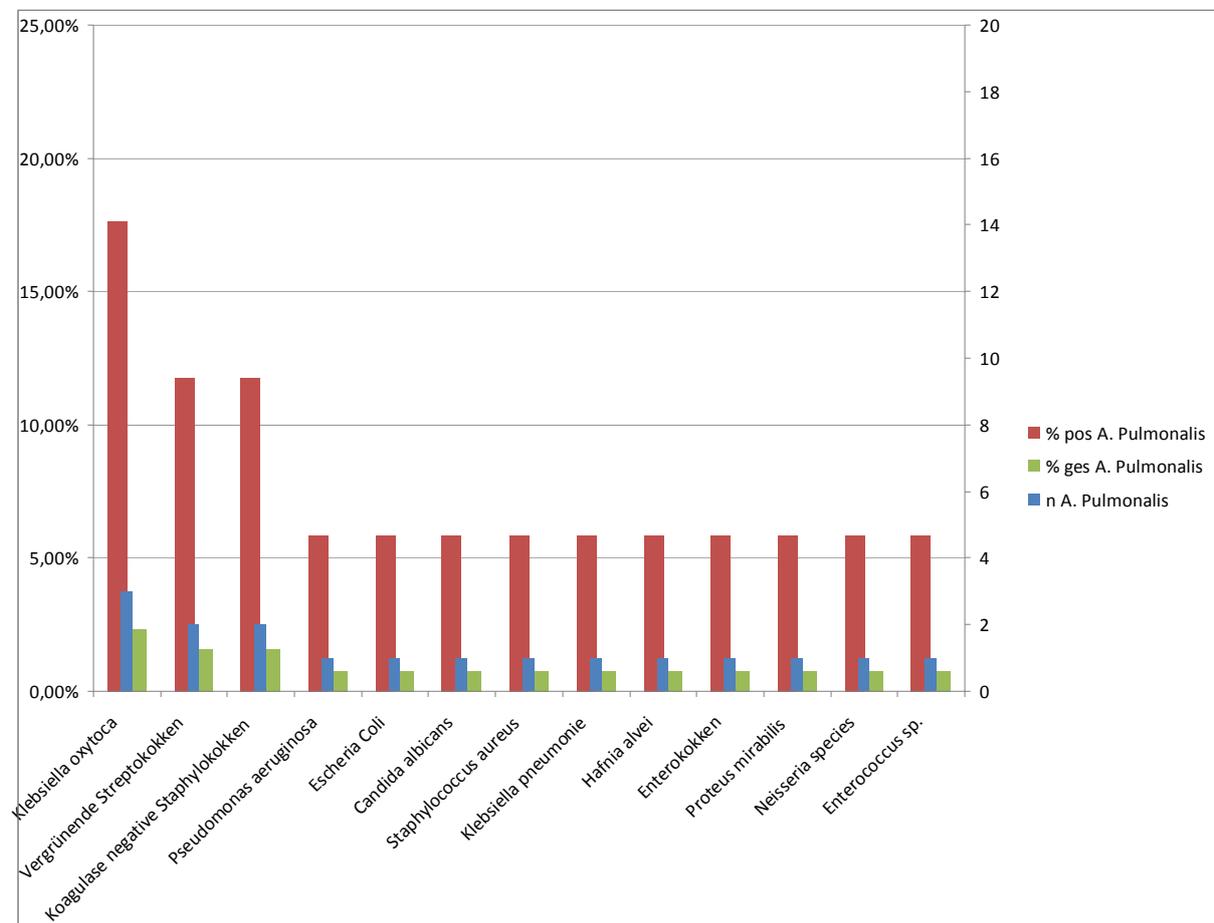
4.4.4 Ergebnis: In 4,88 % konnte eine Kontamination mit Bakterien und/oder Pilzen in dieser Gruppe nachgewiesen werden. Eine erfolgreiche Dekontamination konnte nach 24-stündiger Behandlung in 70 % erreicht werden. Dadurch konnten 3,41 % mehr Homografts zur Implantation zur Verfügung gestellt werden als ohne Behandlung.

4.5 Arteria-Pulmonalis Bifurkationen

Es wurden im Beobachtungszeitraum insgesamt 128 Segmente der Arteria Pulmonalis inklusive Bifurkation hergestellt. Bei diesem Kollektiv wurden insgesamt in 12 Präparaten Keime und oder Pilze in unterschiedlichen Stadien der Herstellung nachgewiesen.

4.5.1 Positiver Nachweis vor Behandlung und negativer Nachweis nach Behandlung der Arteria Pulmonalis Bifurkationen

In 10 Fällen konnten Keime und/oder Pilze vor Beginn der 24-stündigen antibiotisch/antimykotischen Dekontamination nachgewiesen werden, nach Dekontamination waren diese nicht mehr nachgewiesen worden. Dies entspricht 7,81 % von allen Präparaten aus dieser Gruppe.



Grafik 7: Keimspektrum der nach Explantation vor Präparation kontaminierten A. Pulmonalis- Bifurkationen mit absoluter Zahl, prozentualer Aufteilung der Kontaminationen in der Gruppe aller explantierten A. Pulmonalis- Bifurkationen sowie prozentualer Aufteilung des Keimspektrums innerhalb der Gruppe der Kontaminationen

4.5.2 Positiver Nachweis vor Behandlung und positiver Nachweis nach Behandlung der Arteria Pulmonalis Bifurkationen

In 0 Fällen wurden Keime und/oder Pilze vor und nach der 24-stündigen antibiotisch/antimykotischen Dekontamination nachgewiesen. Dies entspricht 0 % von allen Präparaten aus dieser Gruppe.

4.5.3 Ergebnis: In 9,36 % konnte eine Kontamination mit Bakterien und/oder Pilzen in dieser Gruppe nachgewiesen werden. Eine erfolgreiche Dekontamination konnte nach 24-stündiger Behandlung in 83,34 % erreicht werden. Dadurch konnten 7,81 % mehr Homografts zur Implantation zur Verfügung gestellt werden als ohne Behandlung.

4.6 Periphere Venen

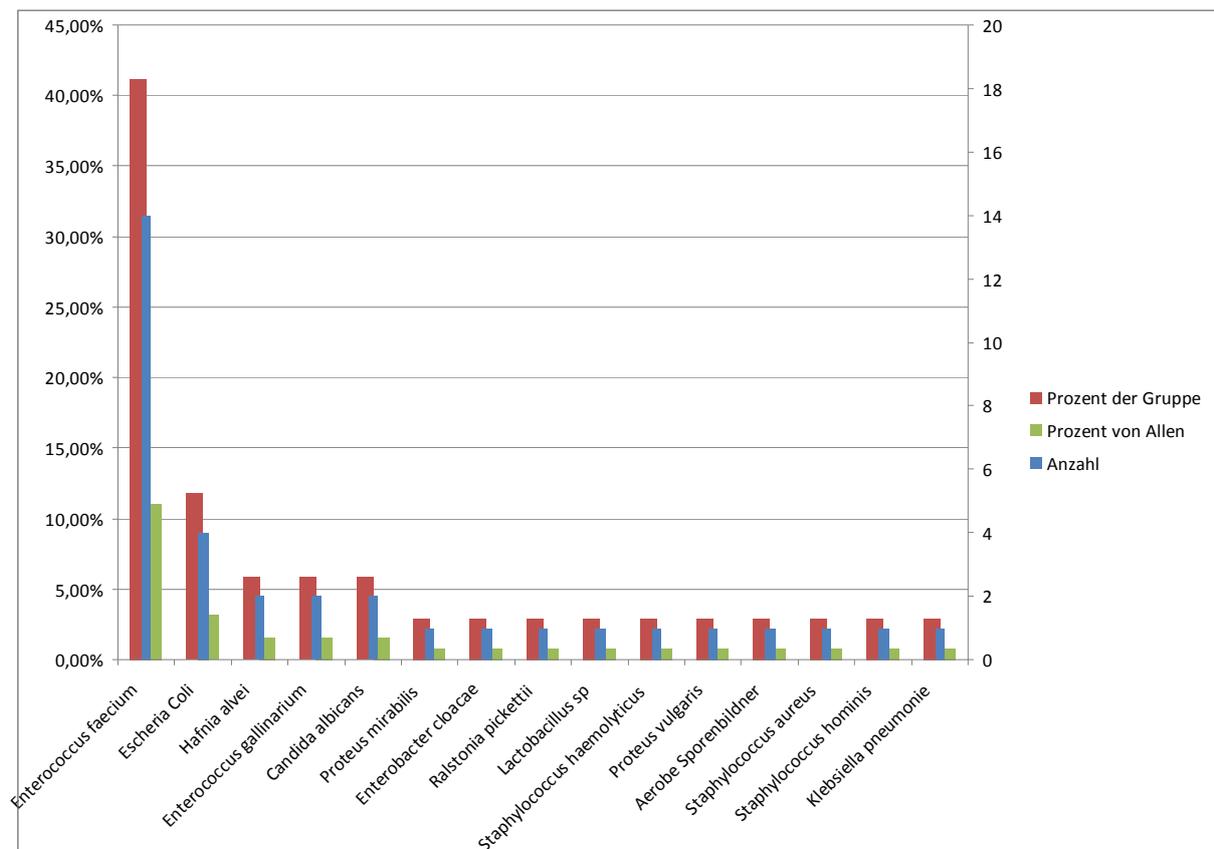
Es wurden im Beobachtungszeitraum insgesamt 127 venöse Homografts aus Segmenten der V. Iliaca dextra oder sinistra, der V. femoralis dextra oder sinistra und der V. saphena magna dextra und sinistra hergestellt.

Eine genauere anatomische Zuordnung lässt sich nicht treffen, da die Explantation von einem speziellem Explantationsteam durchgeführt wurde.

Bei diesem Kollektiv wurden insgesamt in 20 Präparaten Keime und oder Pilze in unterschiedlichen Stadien der Herstellung nachgewiesen.

4.6.1 Positiver Nachweis vor Behandlung und negativer Nachweis nach Behandlung der peripheren Venen

In 16 Fällen konnten Keime und/oder Pilze vor Beginn der 24-stündigen antibiotisch/antimykotischen Dekontamination nachgewiesen werden, nach Dekontamination waren diese nicht mehr nachgewiesen worden. Dies entspricht 12,64 % von allen Präparaten aus dieser Gruppe.



Grafik 8: Keimspektrum der nach Explantation vor Präparation kontaminierten A. Pulmonalis- Bifurkationen mit absoluter Zahl, prozentualer Aufteilung der Kontaminationen in der Gruppe aller explantierten A.Pulmonalis-Bifurkationen sowie prozentualer Aufteilung des Keimspektrums innerhalb der Gruppe der Kontaminationen

4.6.2 Positiver Nachweis vor Behandlung und positiver Nachweis nach Behandlung der peripheren Venen

In 3 Fällen wurden Keime und/oder Pilze vor und nach der 24-stündigen antibiotisch/antimykotischen Dekontamination nachgewiesen. Dies entspricht 2,37 % von allen Präparaten aus dieser Gruppe.

4.6.3 Keimspektrum in der Befundkonstellation Positiv/Positiv der peripheren Venen

Die einzelnen Keime sind in Tabelle 24 dargestellt.

Nachgewiesener Keim/Pilz	Anzahl	Prozent	Prozent von allen Venen
Enterococcus faecium	1	100 %	0,8 %

Tab.5: Ergebnisübersicht der Keimverteilung bei peripheren Venen in der Befundkonstellation positiv/positiv

4.6.4 Ergebnis: In 15,75 % konnte eine Kontamination mit Bakterien und/oder Pilzen in dieser Gruppe nachgewiesen werden. Eine erfolgreiche Dekontamination konnte nach 24-stündiger Behandlung in 80,0 % erreicht werden. Dadurch konnten 12,64 % mehr Homografts zur Implantation zur Verfügung gestellt werden als ohne Behandlung.

4.7. Ergebnisübersicht

4.7.1 Abhängigkeit einer Kontamination von der Entnahmetechnik

Entnahmetechnik	Gruppe	Kontamination in Prozent	Erfolgreiche Dekontamination in Prozent
Peripherer Zugang	Periphere Arterien	24,4 %	86,8 %
Peripherer Zugang	Periphere Venen	15,0 %	80,0 %
Thorakal/abdominell	Aorta Asc./Arcus/desc.	15,2 %	83,3 %
Thorakal/abdominell	A. Pulmonalis	7,9 %	83,3 %
Thorakal/abdominell	Aortenklappen	5,9 %	74,6 %
Thorakal/abdominell	Pulmonalklappen	4,5 %	70,0 %

Tab. 6: Abhängigkeit der Kontamination von der Entnahmetechnik in Zusammenhang mit erfolgreicher Dekontamination

4.7.2 Prozentuale Häufigkeit von Keimen nach peripherer Gefäßentnahme in absteigender Häufigkeit

Nachgewiesene Kontamination	Arterien	Venen
Enterococcus faecium	6,7 %	11,1 %
Escheria Coli	3,9 %	3,2 %
Staphylococcus aureus	2,8 %	0,8 %
Candida albicans	1,6 %	1,6 %

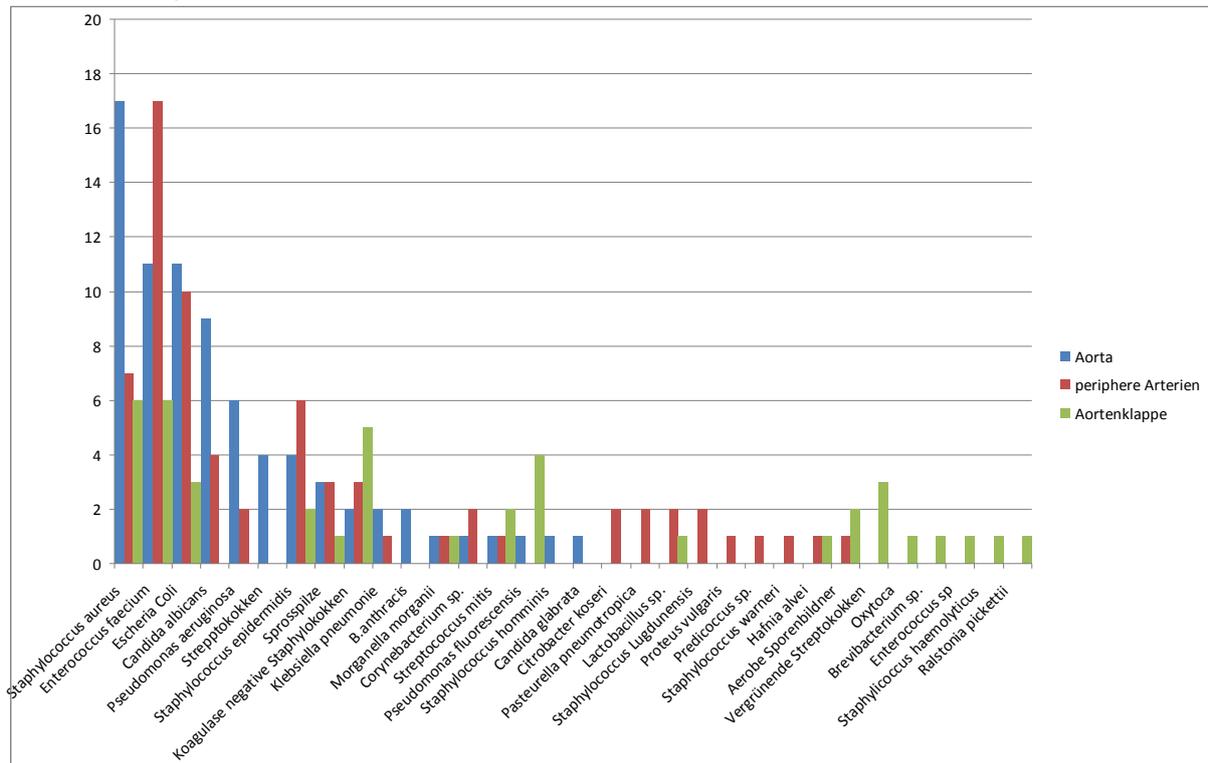
Tab. 7: Prozentuale Häufigkeit von Keimen nach peripherer Gefäßentnahme in absteigender Häufigkeit

4.7.3 Prozentuale Häufigkeit von Keimen nach zentraler Gewebeentnahme in Prozent in absteigender Häufigkeit

Nachgewiesene Kontamination	Pulmonal- klappe	Aorten- klappe	Aorta	A. Pulmo- nalis
Enterococcus faecium	0,8 %	0,7 %	4,3 %	0,8%
Escheria Coli	0,7 %	0,4 %	2,8 %	0,8 %
Staphylococcus aureus	0,4 %	0,7 %	4,3 %	1,6 %
Candida albicans	0,5 %	0 %	2,3 %	0,8%

Tab. 8: Prozentuale Häufigkeit von Keimen nach zentraler Gewebeentnahme in absteigender Häufigkeit

4.7.4 Übersicht der Keimbesiedlung in Abhängigkeit vom Zugang zentral/peripher im arteriellen System



Grafik 9 : Keimspektrum vor Präparation in Abhängigkeit von thorako-abdominellen oder peripherem Zugang im arteriellen System und deren Verteilung in absoluten Zahlen

4.7.5 Statistische Signifikanz der Verteilung des Keimspektrums in absoluten Zahlen in

Abhängigkeit des Zuganges wie in Grafik 13 dargestellt (Chi-Quadrat nach Pearson)

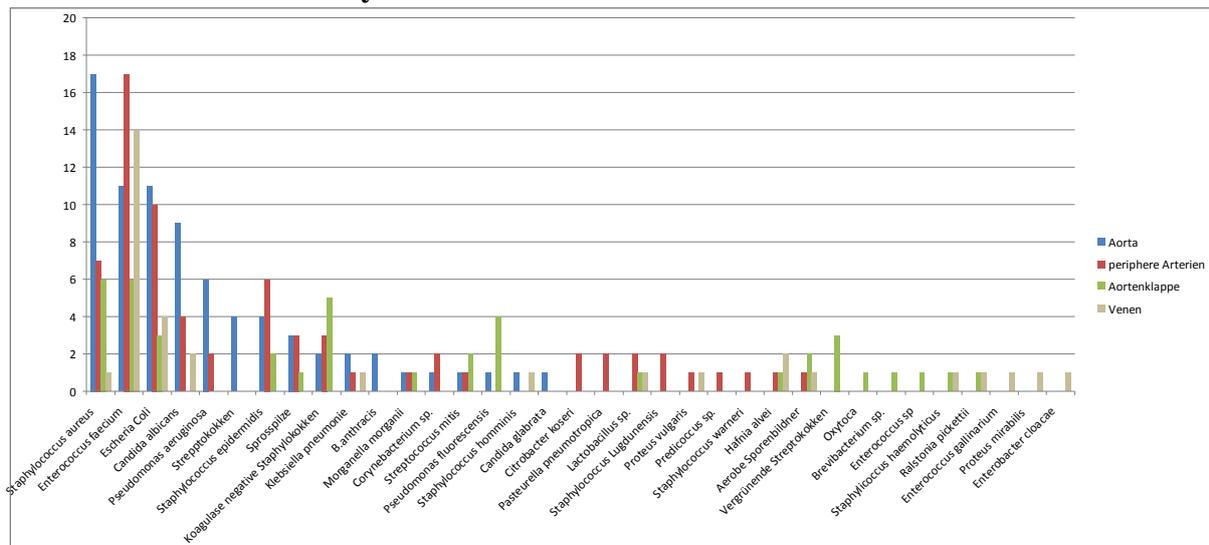
Signifikanzniveau = 0,05

Aorta descendens vs periphere Arterien $p < 0,0001$

Aorta descendens vs Aortenklappe $p = 0,146$

Aortenklappe vs periphere Arterien $p < 0,001$

4.7.6 Übersicht der Keimbesiedlung in Abhängigkeit vom Zugang zentral/peripher im arteriellen und venösem System



Grafik 10 Verteilung der einzelnen Keime in Abhängigkeit von zentralem oder peripheren Explantations-Ort im arteriellen und venösen System (Aortenklappe, Aorta descendens, periphere Arterien, periphere Venen)

4.7.7. Statistische Signifikanz (Chi-Quadrat nach Pearson)

Signifikanzniveau = 0,05

Periphere Vene vs periphere Arterien $p < 0,0001$

Periphere Vene vs Aortenklappe $p < 0,04$

Periphere Vene vs Aorta $p < 0,002$

5. Diskussion

Das deutsche Gewebegesetz regelt eine Vielzahl an zu erfüllenden Voraussetzungen im Rahmen der Gewinnung und Herstellung von Homografts, jedoch beinhaltet es in der derzeitigen Fassung keine verbindlichen Richtlinien für die Prüfung von Kontaminationen durch Bakterien oder Pilze im Rahmen der Herstellung. Ziel dieser Arbeit war es, ein eventuell auftretendes Keimspektrum im Rahmen der Herstellung von Homografts zu analysieren und quantifizieren, ein sicheres und praktikables Nachweisverfahren zu etablieren, eine effektive Dekontamination der auftretenden Bakterien und Pilze zu erzielen und damit eine Qualitätssteigerung in der Herstellung zu erreichen.

Die Analyse umfasst insgesamt 2571 Homografts, die im Zeitraum vom 01.04.1998 bis zum 01.04.2010 in der Gewebekbank des UKSH Campus-Kiel unter der Leitung von Torsten Morschheuser hergestellt wurden. Im Rahmen dieser Analyse fanden sechs Gruppen an unterschiedlichen Homografts Eingang in die retrospektive Untersuchung, es handelt sich hierbei um Aorten- und Pulmonalklappen, die durch mediane Sternotomie explantiert wurden und als gesamtes Herz mit Eis gekühlt in die Gewebekbank verbracht wurden. Weiter wurden die noch nicht getrennte A. Pulmonalis-Bifurkation, die im Rahmen der rekonstruktiven Kinderherzchirurgie zum Einsatz kommen, sowie die ebenfalls über mediane Sternotomie mit abdominaler Schnittverlängerung explantierte Aorta mit ihren Segmenten Aorta ascendens, Arcus aorta sowie Aorta descendens untersucht. Über gesonderte Schnittführungen im Bereich der unteren Extremität wurden Segmente der Vena Saphena magna sowie A. Femoralis untersucht.

Die Ergebnisse der Arbeit ergeben statistisch signifikante Unterschiede hinsichtlich der Kontaminationsrate von Gefäßen im Gegensatz zu Herzklappen, die bei gleicher Vorgehensweise in ihrem Herstellungsprozeß nur durch unterschiedliche Zugangswege im Rahmen ihrer Explantation zu erklären ist.

Es wird eine signifikant erhöhte Kontaminationsrate von gramnegativen Stäbchen-Bakterien, insbesondere *Enterococcus faecium*, bei Entnahme von peripheren Venensegmenten sowie Arterien nachgewiesen, die über einen oder mehrere separate Hautschnitte der unteren Extremität gewonnen wurden. In 24,41 % nach Explantation peripherer Arterien wird eine Besiedlung mit Bakterien oder Pilzen nachgewiesen, nach Explantation peripherer Venen ist dies in 14,96% der Fall. In beiden Gruppen kam es hauptsächlich zu einer Besiedlung mit Enterokokken. Im Gegensatz hierzu steht eine signifikant geringere Kontamination von Homografts, die über eine mediane Sternotomie im Rahmen einer thorakalen Entnahme von

Herz oder herznahen Gefäßen explantiert werden. Im Bereich der Aorten- und Pulmonalklappen konnte eine Kontamination in 5,90 % beziehungsweise 4,51 % nachgewiesen werden. Die ebenfalls über diesen Zugangsweg explantierten zentralen Gefäße besitzen mit 7,81 % bei der A. Pulmonalis-Bifurkation eine signifikant geringere Kontaminationsrate, bei der Aorta zeigt sich jedoch mit 15,18 % eine vergleichbare Rate, dies kann jedoch mit einem Übergang im Bereich des Leistenbandes in periphere Arterien mit entsprechender Schnittführung in Einklang gebracht werden (Vgl. Tab. 26 unter 4.7.1). Weitere Untersuchungen werden Gegenstand von detaillierten Untersuchungen der Segmente der Aorta sein.

Auf Grund der signifikant unterschiedlichen Kontaminationsraten haben sich bereits zwei Konsequenzen für die Praxis ergeben:

1. Bei Spende von Herz und peripheren Gefäßen muß das Herz primär zur Herstellung der Klappen präpariert werden, eine Zwischenreinigung des Laminar-Air-Flow-Bereiches ist erforderlich.
2. Die speziellen Explantationsteams werden auf die Problematik der erhöhten Kontamination bei peripherer Gefäßentnahme hingewiesen, die geltenden Hygienerichtlinien im Rahmen der Gewebespende werden strikt angewandt.

Neben der Analyse der Häufigkeit einer Kontamination wurde als nächstes das Spektrum der Besiedlung aller Gruppen betrachtet. Hierbei zeigte sich in allen Gruppen eine Besiedlung mit gram-positiven Kokken, speziell mit *Enterococcus faecalis* und *Enterococcus faecium* an erster Stelle. In der Häufigkeit gefolgt wird dies durch eine Besiedlung mit Enterokokken, hier *Escheria Coli*. An dritter Stelle wird eine Besiedlung mit *Staphylococcus aureus* nachgewiesen, an vierter Stelle folgt eine Besiedlung mit Hefen, hier *Candida albicans*.

Nach erfolgtem Nachweis einer signifikanten Besiedlung mit Krankheitserregern erfolgte die Untersuchung, ob und in welchem Umfang die seit 1998 angewandte antibiotisch/antimykotische Lösung effektiv ist und eine signifikante Reduktion der Kontamination zu erreichen ist. Es zeigt sich eine hohe Potenz der angewandten Lösung, mit der es gelingt eine Dekontamination von 70,00 % bei Pulmonalklappen bis hin zu 86,76 % bei peripheren Arterien zu erzielen. Ähnliche Erfolge durch eine 24-stündige Behandlung mit einer antibiotisch/antimykotischen Lösung wurden 2009 von T.E. Bisdas beschrieben (12). Die hier unter Punkt 3.1.5 beschriebene Lösung hat eine hohe Wirksamkeit in der antibiotisch/antimykotischen Dekontamination, es konnten durch den Einsatz des beschriebenen Verfahrens deutlich mehr Homografts zur Implantation gebracht werden.

Eventuelle Nebenwirkungen wurden durch die implantierenden Zentren in den vorgeschriebenen Begleitpapieren nicht aufgeführt. Das Verfahren ist im Rahmen der Herstellung von Homografts unerlässlich. Eine eventuell kürzere Behandlungszeit als 24 Stunden kann Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

Zusätzlich galt es zu betrachten, ob die in der entsprechenden SOP festgelegten Hygienestandards im Rahmen der Herstellung der Homografts als ausreichend anzusehen sind, oder ob eine Optimierung der diesbezüglichen SOP erforderlich ist. Die Nachweismethodik lässt keinen sicheren Schluß zu, ob bei einer Befundkonstellation negativ vor antibiotisch/antimykotischer Dekontamination und positiv danach ein Fehler in der Abnahme der Probe vor Dekontamination oder eine Kontamination danach im Rahmen des weiteren Herstellungsprozesses vorliegt. Jedoch lassen die Gesamtergebnisse den Schluß zu, dass die angewandte Nachweismethode als ausreichend valide anzusehen ist und es sich tatsächlich um eine Kontamination im Herstellungsprozeß handelt. Eine Implantation der Homografts mit dieser Befundkonstellation ist jedoch ausgeschlossen, da alle Homografts bis zum Vorliegen aller erforderlichen Werte in einem separaten Quarantäne-Stickstofftank gelagert werden. Auf Grund der vorliegenden Daten mit einer Kontamination von 0,37 % bis 2,36 % wurde eine Modifizierung der SOP zur Reinigung der Laminar Air flow vorgenommen. Ob die Kontaminationsrate im Rahmen der Herstellung gesenkt werden kann, kann erst sicher nach Herstellung einer ausreichend großen Vergleichsgruppe beurteilt werden.

Die Zusammensetzung der antibiotisch/antimykotischen Lösung zur Dekontamination und der damit verbundenen Wirksamkeit ist ebenfalls Gegenstand dieser Arbeit. Als antimykotische Lösung wird Amphotericin B, wie unter 3.1.5 beschrieben, verwandt. Es ist in vitro gegenüber fast allen humanpathogenen Pilzen wirksam (13). Die Ergebnisse ergaben insgesamt 4 positive Pilznachweise nach antimykotischer Behandlung, aller in der Befundkonstellation negativ vor Behandlung und positiv nach Behandlung. Dies entspricht einer Rate von 0,16 %. Eine Kontamination im Rahmen der Herstellung ist, wie oben aufgeführt nicht sicher auszuschließen; die angewandte Substanz Amphotericin B ist als sicher wirksam zur Dekontamination im Rahmen der Herstellung von Homografts anzusehen.

Hinsichtlich der antibiotischen Dekontaminationspotenz zeigen die vorliegenden Ergebnisse ebenfalls eine hohe Wirksamkeit. Die eingesetzten Wirkstoffe Metronidazol als bakterizides Imidazol gegen obligat anaerobe Keime, Gentamicin aus der Gruppe der Aminoglycoside gegen Staphylokokken, Pseudomonas aeruginosa, Enterobakterien, Piperacillin aus der Gruppe der Acylaminopenicilline richtet sich hauptsächlich gegen gram

negative Stäbchen, auch gegen Enterokokken. Flucloxacillin aus der Gruppe der Isoxazolpenicilline wird als Dekontamination gegen Staphylokokken und Streptokokken verwandt. Im Ansatz der Lösung kommt es zu keinen Ausfällen, die als Hinweis einer Arzneimittelinterferenz angesehen werden müssten. Nebenwirkungen, die als Ursache die antibiotisch/antimykotische Dekontamination haben könnten, sind nach Implantation der Homografts dieser Studie nicht beschrieben worden.

Die hier vorgelegten Ergebnisse erlauben den Schluß, dass eine antibiotisch/antimykotische Dekontamination mit der hier verwandten Lösung im Rahmen der Herstellung von Homografts notwendig und sinnvoll ist. Die signifikante Keimreduktion erhöht nicht nur die Sicherheit der Homografts, sondern lässt auch eine signifikant höhere Rate an Homografts zur Implantation gelangen. Dies ist sicher auch im Sinne der Spender für eine Gewebespende anzusehen.

6. Zusammenfassung

In einem Beobachtungszeitraum vom 01.04.1998 bis zum 01.04.2010 wurden insgesamt 2571 Homografts im Rahmen einer Gewebespende hergestellt. Es handelt sich hierbei um 254 periphere Arteriensegmente, 395 Segmente der Aorta, 127 periphere Venensegmente, 128 A. Pulmonalis-Bifurkationen, 847 Aortenklappen sowie 820 Pulmonalklappen. Im Rahmen der Qualitätskontrolle im Herstellungsprozeß wurden nach Beendigung der Präparation und vor Beginn einer antibiotisch/antimykotischen Dekontamination mit einer definierten Lösung über 24 Stunden bei 4 ° Grad und nach Behandlung mit dieser Lösung mikrobiologische Abstrichkontrollen durchgeführt. Ziel dieser Studie war es, einen Kontaminationsnachweis zu erbringen, das auftretende Keimspektrum zu differenzieren, Unterschiede des Keimspektrums hinsichtlich Entnahmeort darzustellen und die Effektivität der Dekontaminationsbehandlung zu beweisen und aus den daraus resultierenden Ergebnissen eventuelle Ablaufänderungen im Herstellungsprozess abzuleiten.

Es konnte nachgewiesen werden, dass eine hauptsächlichliche Kontamination mit Enterokokken stattgefunden hat mit einer Inzidenz von 4,51% bei Pulmonalklappen bis hin zu 24,41 % nach Entnahme von peripheren Arteriensegmenten. Der angewandte Dekontaminationsprozeß erwies sich als hoch effizient mit einer Dekontaminationsrate von 70,00 % bei Pulmonalklappen bis zu 86,76 % bei peripheren Arteriensegmenten. Hinsichtlich der Entnahme konnten signifikante Unterschiede hinsichtlich der Lokalisation gezeigt werden, bei der Entnahme von Herzen zur Herstellung von Homografts kam es zu einer signifikant niedrigeren Kontamination im Vergleich zur Entnahme von peripheren Arterien oder Venen.

Als Ergebnis zeigt sich eine insgesamt signifikante Kontamination von Homografts im Rahmen der Herstellung, die jedoch durch das hier verwandte Herstellungs- und Dekontaminationsverfahren signifikant reduziert wurde. Nebenwirkungen nach Implantation, die als Ursache das hier verwandte Verfahren haben, sind nicht gemeldet worden.

Auf Grund der Ergebnisse wurden bereits Änderungen im Herstellungsprozeß hinsichtlich des zeitlichen Ablaufes der Präparation von peripheren Segmenten und zentralen Segmenten bei einer Multigewebespende getroffen, das Dekontaminationsverfahren ist, wie beschrieben, obligat angewandt und im Rahmen des Zulassungsverfahrens beim Paul-Ehrlich-Institut, Berlin, angezeigt.

7. Literatur

2: Carrel A Ultimate result of aortic transplantation, J Exp Med (1912),15,389-398)

3: Gross Re et al, Preliminary observation on the use of human arterial grafts in the treatment of certain cardiovascular defects, New Eng J Med (1948) 239, 578-579)

4: Dubost C et al , Greffe d`aorte humaine conservée. Semaine des Hopitaux de Paris (1950), 87; 5 Oudot J, Greffe de la bifurcation aortique externes puor thrombose arterique, Mém Acad Chir (1951), 77, 642-645)

5: Ross DN, Homograft replacement of the aortic valve, Lancet (1962), 2, 487)

6: Ross DN, Sommerville J, Correction of pulmonary atresia with a homograft aortic valve. Lancet (1966), 2 , 1446)

7: Ross DN, Replacement of aortic and mitral valves with a pulmonary autograft, Lancet (1967) 2 (523), 956-958)

8: Barratt-Boyes BG, Homograft aortic valve replacement in aortic incompetence and stenosis; Thorax (1964) 19, 131)

9: Yankah, AC Hetzer R, Miller D (1987) Cardiac Valve Allografts 1962-1987, Steinkopff Verlag, Darmstadt)

10: Knosalla C et al, Treatment of vascular graft infection by cryopreserved aortic allografts; an experimental study. J Vasc Surg (1998) 27, 689-698

11: Richard A. Hopkins; Cardiac Reconstructions with Allograft Tissue; ISBN 0-387-94962-3; Springer Verlag, 2005

12: T.E. Bisdas, Bedeutung von Infektionsparametern und mikrobiologischen Befunden während der Homograft-Prozessierung für den frühen postoperativen Verlauf, VASA, Seite 365-373, Band 38, 2009, Heft 4

13: Hahn, Kaufmann, Schulz, Suerbaum; Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, 6. Auflage 2009, S.756-757

14: Jonas RA, Freed MD, Mayor JE, Castaneda AR. Long term follow-up of patients with synthetic right heart conduits. Circulation 1985; 72 (Suppl.2) II 77-II 83

15: Gewebegesetz vom 20.07.2007 als Umsetzung des Gesetzgebers der europäischen Geweberichtlinie 2004/23/EG

16: § 13 (Herstellungserlaubnis) des Gesetzes über den Verkehr mit Arzneimitteln (Arzneimittelgesetz–AMG), Arzneimittelrechtliche Regelungen über eine Herstellungserlaubnis in der Fassung der Bekanntmachung vom 12.Dezember 2005 (BGBl. I S. 3394)

17: § 21 (Zulassungspflicht) des Gesetzes über den Verkehr mit Arzneimitteln (Arzneimittelgesetz–AMG), Arzneimittelrechtliche Regelungen über eine Herstellungserlaubnis in der Fassung der Bekanntmachung vom 12. Dezember 2005 (BGBl. I S. 3394)

18: § 20b (Erlaubnis für die Gewinnung von Gewebe und die Laboruntersuchungen) des Gesetzes über den Verkehr mit Arzneimitteln (Arzneimittelgesetz–AMG), Arzneimittelrechtliche Regelungen über eine Herstellungserlaubnis in der Fassung der Bekanntmachung vom 12.Dezember 2005 (BGBl. I S. 3394)

19: § 20c (Erlaubnis für die Be- oder Verarbeitung, Konservierung, Lagerung oder das Inverkehrbringen von Gewebe oder Gewebezubereitungen) des Gesetzes über den Verkehr mit Arzneimitteln (Arzneimittelgesetz –AMG), Arzneimittelrechtliche Regelungen über eine Herstellungserlaubnis in der Fassung der Bekanntmachung vom 12.Dezember 2005 (BGBl. I S. 3394)

20: § 14 (Entscheidung über Herstellungserlaubnis) des Gesetzes über den Verkehr mit Arzneimitteln (Arzneimittelgesetz–AMG), Arzneimittelrechtliche Regelungen über eine Herstellungserlaubnis in der Fassung der Bekanntmachung vom 12.Dezember 2005 (BGBl. I S. 3394)

21: § 15 (Sachkenntnis) des Gesetzes über den Verkehr mit Arzneimitteln (Arzneimittelgesetz –AMG), Arzneimittelrechtliche Regelungen über eine Herstellungserlaubnis in der Fassung der Bekanntmachung vom 12.Dezember 2005 (BGBl. I S. 3394)

22: § 19 (Verantwortungsbereiche) des Gesetzes über den Verkehr mit Arzneimitteln (Arzneimittelgesetz–AMG), Arzneimittelrechtliche Regelungen über eine Herstellungserlaubnis in der Fassung der Bekanntmachung vom 12. Dezember 2005 (BGBl. I S. 3394)

23: § 63c (Besondere Dokumentations- und Meldepflichten bei Blut- und Gewebezubereitungen) des Gesetzes über den Verkehr mit Arzneimitteln (Arzneimittelgesetz –AMG), Arzneimittelrechtliche Regelungen über eine Herstellungserlaubnis in der Fassung der Bekanntmachung vom 12.Dezember 2005 (BGBl. I S. 3394)

24: Yacoub M, Kittle CF. Sterilization of valve homografts by antibiotic solutions. *Circulation* 1970, Suppl: 29-31

25: Strickett MG, Barratt-Boyes BG, MacCulloch D., Disinfection of human heart valve allografts with antibiotics in low concentration. *Pathology* 1983, 15: 457 - 462

26: Angell JD, Christopher BS, Hawtrey O, Angell WM. A fresh viable human heart valve bank- sterilization sterility testing and cryogenic preservation. *Transplant Proc* 1976;8 (Suppl 1): 127-141

27: Girinath MR, Gavin JB, Strickett MG, Barratt-Boyes BG. The effects of antibiotics and storage on the viability and ultrastructure of fibroblasts in canine heart valves prepared for grafting. *Aust N Z J Surg* 1974; 44: 170-172

- 28: Barratt-Boyes BG, Roche AH, Subramanian R, Pemberton JR, Whitlock RM. Long term follow-up of patients with the antibiotic-sterilized aortic homograft valve inserted freehand in the aortic position. *Circulation* 1987; 75: 768-777
- 29: PEI.G.04020.01.1 (humane Gefäße)
PEI.G.03954.01.1 (humane Herzklappen)
- 30: Angell WW, Angell JD, Oury JH, Lamberti JJ, Grehl TM. Long-term follow-up of viable frozen aortic homografts: a viable homograft bank. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1987; 93: 815-822
- 31: Kirklin JW, Blackstone EH, Maehara T, Pacifico AD, Kirklin JK, Pollock S, Stewart RW. Intermediate-term fate of cryopreserved allograft and xenograft valved conduits. *Ann Thorac Surg* 1987; 44: 598-606
- 32: Bank HL, Brockbank K. Basic principles of cryobiology. *Jour Card Surg* 1987; 2 suppl: 137-143
- 33: Ashwood-Smith MJ, Farrant J. *Low Temperature Preservation in Medicine in Biology*. London: Pitman 1980
- 34: Armingier LC, Thomson RW, Strickett MG, Barratt-Boyes EG. Morphology of heart valves preserved by liquid nitrogen freezing. *Thorax* 1985; 40: 778-786
- 35: VanDerKamp AWM, Visser WJ, van Dongan JM, Nauta J, Galjaard H. Preservation of aortic heart valves with maintenance of cell viability. *J Surg Res* 1981; 30: 47
- 36: Kirklin JK, Kirklin JW, Pacifico JAD, Phillips S. Cryopreservation of aortic valve homografts. In Yankah AC, Hetzer R, Miller DC, Ross DN, Somerville J, Yacoub M (eds). *Cardiac Valve Allografts 1962-1987*. New York: Springer-Verlag 1987: 35-36
- 37: O'Brien MF, Stafford EG, Gardner MA, Pohlner PG, McGriffin DC. A comparison of aortic valve replacement with viable cryopreserved and fresh allografts valves, with a note on chromosomal studies. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1987; 94: 812-823

38: Yankah AC, Hetzer R. Procurement and viability of cardiac valve allografts. In Yankah AC, Hetzer R, Miller DC, Ross DN, Somerville J, Yacoub MH (eds). Cardiac Valve allografts 1962-1987. New York: Springer-Verlag 1988: 23-34

39: A. Pruß, R. Meyer, H. Knobl, T. Morschheuser, M. Börgel, G. Wittmann, A. Bogers, A. van den Bogandt, A. Bokhorst, J. Gummert; Analyse der Tätigkeiten kardiovaskulärer Gewebebanken in Deutschland in den Jahren 2007-2010; Z. Herz-Thorax-Gefäßchir. 2012, 1-7

8. Anhang

zu 4.1: Keimspektrum in der Befundkonstellation Positiv/Negativ der peripheren Arterien

Die einzelnen Keime der Gruppe positiver Nachweis vor Präparation und negativer Nachweis nach Dekontamination bei peripheren Arterien sind in Tabelle 9 dargestellt.

Nachgewiesener Keim/Pilz	Anzahl	Prozentualer Anteil der Kontaminationen	In % aller peripherer Arterien
Enterococcus faecium	17	24,3 %	6,7 %
Escheria Coli	10	14,3 %	3,9 %
Staphylococcus aureus	7	10,0 %	2,8 %
Staphylococcus epidermidis	6	8,6 %	2,4 %
Candida albicans	4	5,7 %	1,6 %
Sprosspilze	3	4,3 %	1,2 %
Koagulase negative Staphylokokken	3	4,3 %	1,2 %
Citrobacter koseri	2	2,9 %	0,8 %
Pseudomonas aeruginosa	2	2,9 %	0,8 %
Pasteurella pneumotropica	2	2,9 %	0,8 %
Lactobacillus sp.	2	2,9 %	0,8 %
Staphylococcus Lugdunensis	2	2,9 %	0,8 %
Corynebacterium sp.	2	2,9 %	0,8 %
Proteus vulgaris	1	1,4 %	0,4 %
Predicoccus sp.	1	1,4 %	0,4 %
Streptococcus mitis	1	1,4 %	0,4 %
Staphylococcus warneri	1	1,4 %	0,4 %
Klebsiella pneumonie	1	1,4 %	0,4 %
Hafnia alvei	1	1,4 %	0,4 %
Morganella morganii	1	1,4 %	0,4 %
Aerobe Sporenbildner	1	1,4 %	0,4 %

Tab.9: Ergebnisübersicht der Keimverteilung bei peripheren Arterien in der Konstellation positiv/negativ

Negativer Nachweis vor Behandlung und positiver Nachweis nach Behandlung der peripheren Arterien als Kontrolle der Methodik

In 6 Fällen wurden keine Keime und/oder Pilze vor Beginn der antibiotisch/antimykotischen Dekontamination nachgewiesen, es wurden jedoch nach der antibiotisch/antimykotischen Dekontamination Keime und/oder Pilze nachgewiesen. Dies entspricht 2,36 % von allen Präparaten aus dieser Gruppe.

Keimspektrum in der Befundkonstellation Negativ/Positiv der peripheren Arterien

Die einzelnen Keime sind in Tabelle 10 dargestellt.

Nachgewiesener Keim/Pilz	Anzahl	Prozent	Prozentualer Anteil
Staphylococcus epidermidis	2	50 %	2,9 %
Sprosspilze	1	25 %	1,5 %
Staphylococcus warneri	1	25 %	1,5 %

Tab.10: Ergebnisübersicht der Keimverteilung bei peripheren Arterien in der Konstellation negativ/positiv

Zu 4.2: Keimspektrum in der Befundkonstellation Positiv/Negativ der Aorten-Segmente

Die einzelnen Keime der Gruppe positiver Nachweis vor Präparation und negativer Nachweis nach Dekontamination bei Aorta ascendens/Arcus aorta /Aorta descendens sind in Tabelle 11 dargestellt.

Nachgewiesener Keim/Pilz	Anzahl	Prozentualer Anteil der Kontaminationen	In % aller explant. Aorten
Staphylococcus aureus	17	21,8 %	4,3 %
Enterococcus faecium	11	14,1 %	2,8 %
Escheria Coli	11	14,1 %	2,8 %
Candida albicans	9	11,5 %	2,3 %
Pseudomonas aeruginosa	6	7,7 %	1,5 %
Streptokokken	4	5,1 %	1,0 %
Staphylococcus epidermidis	4	5,1 %	1,0 %
Sprosspilze	3	3,8 %	0,8 %
Koagulase negative Staphylokokken	2	2,6 %	0,5 %
Klebsiella pneumoniae	2	2,6 %	0,5 %
B.anthraxis	2	2,6 %	0,5 %
Morganella morganii	1	1,3 %	0,3 %
Corynebacterium sp.	1	1,8 %	0,3 %
Streptococcus mitis	1	1,8 %	0,3 %
Pseudomonas fluorescens	1	1,8 %	0,3 %
Staphylococcus hominis	1	1,8 %	0,3 %
Candida glabrata	1	1,8 %	0,3 %

Tab.11: Ergebnisübersicht der Keimverteilung bei Segmenten der Aorta in der Konstellation negativ/positiv

Keimspektrum in der Befundkonstellation Negativ/Positiv der von Aorta ascendens/Arcus aorta/Aorta descendens als Kontrolle der Methodik

Die einzelnen Keime sind in Tabelle 12 dargestellt.

Nachgewiesener Keim/Pilz	Anzahl	Prozent	Prozent von allen Aorten Segmenten
Enterococcus faecium	2	33,3 %	0,5 %
Staphylococcus epidermidis	1	16,7 %	0,3 %
Candida tropicalis	1	16,7 %	0,3 %
Staphylococcus aureus	1	16,7 %	0,3 %

Tab.12: Ergebnisübersicht der Keimverteilung bei Segmenten der Aorta in der Konstellation negativ/positiv

Zu 4.3: Keimspektrum in der Befundkonstellation Positiv/Negativ der Aortenklappen

Die einzelnen Keime sind in Tabelle 13 dargestellt.

Nachgewiesener Keim/Pilz	Anzahl	Prozentualer Anteil der Kontaminationen	In % aller Aortenklappen
Enterococcus faecium	6	12,8 %	0,7 %
Staphylococcus aureus	6	12,8 %	0,7 %
Koagulase negative Staphylokokken	5	10,7 %	0,6 %
Pseudomonas aeruginosa	4	8,5 %	0,5 %
Escheria Coli	3	6,4 %	0,4 %
Vergrünende Streptokokken	3	6,4 %	0,4 %
Streptococcus mitis	2	4,3 %	0,2 %
Staphylococcus epidermidis	2	4,3 %	0,2 %
Aerobe Sporenbildner	2	4,3 %	0,2 %
Streptococcus mitis	2	4,3 %	0,2 %
Staphylococcus epidermidis	2	4,3 %	0,2 %
Sprosspilze	1	2,1 %	0,1 %
Morganella morganii	1	2,1 %	0,1 %
Hafnia alvei	1	2,1 %	0,1 %
Oxytoca	1	2,1 %	0,1 %
Brevibacterium sp.	1	2,1 %	0,1 %
Enterococcus sp	1	2,1 %	0,1 %
Koagulase negative Staphylokokken	1	2,1 %	0,1 %
Lactobacillus sp	1	2,1 %	0,1 %
Staphylococcus haemolyticus	1	2,1 %	0,1 %
Ralstonia pickettii	1	2,1 %	0,1 %

Tab.13: Ergebnisübersicht der Keimverteilung bei Aortenklappen in der Befundkonstellation positiv/negativ

Negativer Nachweis vor Behandlung und positiver Nachweis nach Behandlung der Aortenklappen als Kontrolle der Methodik

In 5 Fällen wurden keine Keime und/oder Pilze vor Beginn der antibiotisch/antimykotischen Dekontamination nachgewiesen, es wurden jedoch nach der antibiotisch/antimykotischen Dekontamination Keime und/oder Pilze nachgewiesen. Dies entspricht 0,59 % von allen Präparaten aus dieser Gruppe.

Keimspektrum in der Befundkonstellation Negativ/Positiv der Aortenklappen

	Anzahl	Prozent	Prozent von allen Aortenklappen
Koagulase negative Staphylokokken	1	16,7 %	0,1 %
Streptococcus sanguis	1	16,7 %	0,1 %
Staphylococcus aureus	1	16,7 %	0,1 %
Micrococcus luteus	1	16,7 %	0,1 %
Candida albicans	1	16,7 %	0,1 %
Staphylococcus aureus	1	16,7 %	0,1 %

Tab.14: Ergebnisübersicht der Keimverteilung bei Aortenklappen in der Befundkonstellation negativ/positiv

Zu 4.4: Keimspektrum in der Befundkonstellation Positiv/Negativ der Pulmonalklappen

Nachgewiesener Keim/Pilz	Anzahl	Prozent der Gruppe	Prozent von allen Pulmonalklappen
Enterococcus faecium	7	16,6 %	0,8 %
Escheria Coli	6	14,4 %	0,7 %
Candida albicans	4	9,5 %	0,5 %
Staphylococcus aureus	3	7,1 %	0,4 %
Staphylococcus epidermidis	3	7,1 %	0,4 %
Pseudomonas aeruginosa	2	4,8 %	0,2 %
Koagulase negative Staphylokokken	2	4,8 %	0,2 %
Vergrünende Streptokokken	2	4,8 %	0,2 %
Klebsiella pneumoniae	2	4,8 %	0,2 %
Ralstonia Pickettii	2	4,8 %	0,2 %
Streptokokken	1	2,4 %	0,1 %
Aerobe Sporenbildner	1	2,4 %	0,1 %
Streptococcus anginosus	1	2,4 %	0,1 %
Hafnia alvei	1	2,4 %	0,1 %
Staphylococcus capitis	1	2,4 %	0,1 %
Micrococcus luteus	1	2,4 %	0,1 %
Oxytoca	1	2,4 %	0,1 %
Enterobacter cloacae	1	2,4 %	0,1 %
MRSA	1	2,4 %	0,1 %

Tab.15: Ergebnisübersicht der Keimverteilung bei Pulmonalklappen in der Befundkonstellation positiv/negativ

Negativer Nachweis vor Behandlung und positiver Nachweis nach Behandlung der Pulmonalklappen als Kontrolle der Methodik

In 3 Fällen wurden keine Keime und/oder Pilze vor Beginn der antibiotisch/antimykotischen Dekontamination nachgewiesen, es wurden jedoch nach der antibiotisch/antimykotischen Dekontamination Keime und/oder Pilze nachgewiesen. Dies entspricht 0,37 % von allen Präparaten aus dieser Gruppe.

Keimspektrum in der Befundkonstellation Negativ/Positiv der Pulmonalklappen

Nachgewiesener Keim/Pilz	Anzahl	Prozent	Prozent von allen Pulmonalklappen
Staphylococcus aureus	2	16,7 %	0,2 %
Enterobacter cloacae	2	16,7 %	0,2 %
Staphylococcus haemolyticus	2	16,7 %	0,2 %
Staphylococcus epidermidis	1	8,4 %	0,1 %
Staphylococcus Xylosus	1	8,4 %	0,1 %
Proteus mirabilis	1	8,4 %	0,1 %
Streptococcus pneumoniae	1	8,4 %	0,1 %
Sprosspilze	1	8,4 %	0,1 %
Aerobe Sporenbildner	1	8,4 %	0,1 %

Tab.16: Ergebnisübersicht der Keimverteilung bei Pulmonalklappen in der Befundkonstellation negativ/positiv

Zu 4.5 Keimspektrum in der Befundkonstellation Positiv/Negativ der Arteria

Pulmonalis-Bifurkationen

Nachgewiesener Keim/Pilz	Anzahl	Prozent der Gruppe	Prozent von allen P.-Bifurkationen
Klebsiella oxytoca	3	17,7 %	2,3 %
Vergrünende Streptokokken	2	11,8 %	1,6 %
Koagulase negative Staphylokokken	2	11,8 %	1,6 %
Pseudomonas aeruginosa	1	5,9 %	0,8 %
Escheria Coli	1	5,9 %	0,8 %
Candida albicans	1	5,9 %	0,8 %
Staphylococcus aureus	1	5,9 %	0,8 %
Klebsiella pneumoniae	1	5,9 %	0,8 %
Hafnia alvei	1	5,9 %	0,8 %
Enterokokken	1	5,9 %	0,8 %
Proteus mirabilis	1	5,9 %	0,8 %
Neisseria species	1	5,9 %	0,8 %
Enterococcus sp.	1	5,9 %	0,8 %

Tab.17: Ergebnisübersicht der Keimverteilung bei A. Pulmonalis-Bifurkationen in der Befundkonstellation positiv/negativ

Negativer Nachweis vor Behandlung und positiver Nachweis nach Behandlung der Arteria Pulmonalis Bifurkationen als Kontrolle der Methodik

In 2 Fällen wurden keine Keime und/oder Pilze vor Beginn der antibiotisch/antimykotischen Dekontamination nachgewiesen, es wurden jedoch nach der antibiotisch/antimykotischen Dekontamination Keime und/oder Pilze nachgewiesen. Dies entspricht 1,56 % von allen Präparaten aus dieser Gruppe.

Keimspektrum in der Befundkonstellation Negativ/Positiv der Arteria Pulmonalis Bifurkationen

Nachgewiesener Keim/Pilz	Anzahl	Prozent	Prozent von allen P.-Bifurkationen
Staphylococcus aureus	2	66,7 %	1,6 %
Koagulase negative Staphylokokken	1	33,3 %	0,8 %

Tab.18: Ergebnisübersicht der Keimverteilung bei A. Pulmonalis-Bifurkationen in der Befundkonstellation negativ/positiv

Zu 4.6: Keimspektrum in der Befundkonstellation Positiv/Negativ der peripheren Venen

Nachgewiesener Keim/Pilz	Anzahl	Prozent der Gruppe	Prozent von allen peripheren Venen
Enterococcus faecium	14	41,2 %	11,1 %
Escheria Coli	4	11,8 %	3,2 %
Hafnia alvei	2	5,9 %	1,6 %
Enterococcus gallinarium	2	5,9 %	1,6 %
Candida albicans	2	5,9 %	1,6 %
Proteus mirabilis	1	3,0 %	0,8 %
Enterobacter cloacae	1	3,0 %	0,8 %
Ralstonia pickettii	1	3,0 %	0,8 %
Lactobacillus sp	1	3,0 %	0,8 %
Staphylococcus haemolyticus	1	3,0 %	0,8 %
Proteus vulgaris	1	3,0 %	0,8 %
Aerobe Sporenbildner	1	3,0 %	0,8 %
Staphylococcus aureus	1	3,0 %	0,8 %
Staphylococcus hominis	1	3,0 %	0,8 %
Klebsiella pneumonie	1	3,0 %	0,8 %

Tab.19: Ergebnisübersicht der Keimverteilung bei peripheren Venen in der Befundkonstellation positiv/negativ

Negativer Nachweis vor Behandlung und positiver Nachweis nach Behandlung peripheren Venen als Kontrolle der Methodik

In 1 Fall wurden keine Keime und/oder Pilze vor Beginn der antibiotisch/antimykotischen Dekontamination nachgewiesen, es wurden jedoch nach der antibiotisch/antimykotischen Dekontamination Keime und/oder Pilze nachgewiesen. Dies entspricht 0,79 % von allen Präparaten aus dieser Gruppe.

Keimspektrum in der Befundkonstellation Negativ/Positiv der peripheren Venen

Nachgewiesener Keim/Pilz	Anzahl	Prozent	Prozent von allen peripheren Venen
Staphylococcus warneri	1	50 %	0,8 %
Aerobe Sporenbildner	1	50%	0,8%

Tab.20: Ergebnisübersicht der Keimverteilung bei peripheren Venen in der Befundkonstellation negativ/positiv

9. Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt

Herrn Prof. Dr. med. J. Cremer, der es mir ermöglichte, die vorliegende Dissertation zu erstellen und mich tatkräftig unterstützt hat.

Herrn Dr. med. A. Reinicke für die umfassende Begleitung und Betreuung dieser Arbeit, die aufmunternden Worte zu jeder Zeit sowie den vielen intensiven Gesprächen und Anregungen zur vorliegenden Arbeit, ohne die diese Arbeit wahrscheinlich nicht vorliegen würde.

Den Mitarbeitern der Gewebebank des UKSH- Campus Kiel, Klinik für Herz- und Gefäßchirurgie, für die jederzeit gewährte Unterstützung bei der Durchführung des Herstellungsprozesses, aber auch der umfangreichen Dokumentation der Homografts.

10. Lebenslauf

Lebenslauf

Am 06. August 1963 wurde ich als Sohn des Vermessungsingenieurs Jakob Morschheuser und seiner Ehefrau, der Schneidermeisterin Lotte Morschheuser, geb. Bartels, in Kiel geboren.

Von 1970 bis 1974 besuchte ich die Grundschule in Altenholz.

Von 1974 bis 1984 besuchte ich das Gymnasium in Altenholz, an dem ich 1984 meine Hochschulreife erlangte.

Von 1984 bis 1986 leistete ich meinen Wehersatzdienst beim Deutschen Roten Kreuz, Kreisverband Kiel, als Rettungssanitäter ab.

Zum Wintersemester 1986/87 nahm ich an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel das Studium der Humanmedizin auf.

1989 bestand ich die ärztliche Vorprüfung, gefolgt vom ersten Abschnitt und zweitem Abschnitt der ärztlichen Prüfung 1990 bzw. 1992.

Im April 1992 heiratete ich Bärbel Morschheuser, geb. Schmeinck.

Im September 1992 Geburt unseres ersten Sohnes, Jan Max Morschheuser in Kiel.

Von Oktober 1992 bis zum September 1993 absolvierte ich mein praktisches Jahr am Kreiskrankenhaus Rendsburg sowie dem Universitätsklinikum Kiel.

Im November 1993 bestand ich den dritten Abschnitt der ärztlichen Prüfung.

Im Februar 1997 Geburt unseres zweiten Sohnes, Tom Leon Morschheuser in Kiel.

Von Februar 1994 bis 1996 arbeitete ich in der Klinik für Herz- und Gefäßchirurgie der Christian Albrechts Universität zu Kiel als Arzt im Praktikum, von 1996 bis April 2002 als Assistenzarzt.

Von April 2002 bis Dezember 2005 arbeitete ich als Assistenzarzt im Albertinen Krankenhaus Hamburg, Abteilung Kardiologie.

Im Juni 2003 erlangte ich den “Facharzt für Herzchirurgie” sowie die Zusatzbezeichnung “Spezielle herzchirurgische Intensivmedizin” bei der Ärztekammer Hamburg.

Im November 2005 erlangte ich die Zusatzbezeichnung “Notfallmedizin” bei der Ärztekammer Hamburg.

Vom 01.01.2006 war ich als Oberarzt im Zentrum für Intensiv- und Notfallmedizin des Albertinen Krankenhauses Hamburg bis zu meinem Wechsel nach Kiel tätig.

Im März 2006 erlangte ich die Zusatzbezeichnung “Labordiagnostik-fachgebunden” für den Bereich Herzchirurgie bei der Ärztekammer Hamburg

Vom 01. Mai 2007 bis 30.Juni.2011 war ich als Oberarzt am UKSH-Campus Kiel in der Klinik für Herz- und Gefäßchirurgie tätig. Hier betreute ich den Bereich der perioperativen Medizin in verantwortlicher Position

Im Mai 2008 erlangte ich den “Facharzt für Innere Medizin; Schwerpunkt Kardiologie” bei der Ärztekammer Hamburg

Seit dem 01.07.2011 bin ich im Lubinus Clinicum Kiel tätig.

Torsten Morschheuser

Z Herz- Thorax- Gefäßchir 2012 · 26:214–221
 DOI 10.1007/s00398-012-0914-x
 Eingegangen: 21. September 2011
 Angenommen: 16. Januar 2012
 Online publiziert: 23. Februar 2012
 © Springer-Verlag 2012

A. Pruß¹ · R. Meyer² · H.-Josef Knob³ · T. Morscheuser^{4,5} · M. Börge⁵ ·
 G. Wittmann⁶ · A. Bogers⁷ · A. van den Bogaerd⁷ · A. Bokhorst⁸ · J. Gummert³

¹ Universitäts-Gewebebank, Institut für Transfusionsmedizin, Charité – Universitätsmedizin Berlin

² Kardiovaskuläre Gewebebank, Deutsches Herzzentrum Berlin

³ Kardiovaskuläre Gewebebank, Klinik für Thorax- und Kardiovaskularchirurgie,
 Herz- und Diabeteszentrum NRW der Ruhr-Universität Bochum, Bad Oeynhausen

⁴ Herzklappenbank Kiel, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel

⁵ Deutsche Gesellschaft für Gewebetransplantation, Hannover

⁶ Bayerische Gewebebank – Bavarian Tissue Banking GmbH, Planegg

⁷ Heart Valve Bank, Department of Cardio-Thoracic Surgery, Erasmus University Medical Center, Rotterdam

⁸ BISLIFE Foundation, Multi Tissue Center, Leiden

Analyse der Tätigkeiten kardiovaskulärer Gewebekbanken in Deutschland in den Jahren 2007 bis 2010

Das am 01. August 2007 in Kraft getretene „Gesetz über Qualität und Sicherheit von menschlichen Geweben und Zellen“ (Gewebe-gesetz) vom 20. Juli 2007 [3] dient der Verbesserung der Sicherheit von Patienten und verändert die rechtliche Lage der Gewebekbanken gravierend. Hintergrund der Gesetzgebung ist die Richtlinie 2004/23/EG des Europäischen Parlaments und des Rates zur Festlegung von Qualitäts- und Sicherheitsstandards für die Spende, Beschaffung, Testung, Konservierung, Lagerung und Verteilung von menschlichen Geweben und Zellen [7]. Die Richtlinien 2006/17/EG [9] sowie 2006/86/EG [8] dienen der technischen Durchführung dieser Vorgaben und sind durch das Gewebegesetz in deutsches Recht umgesetzt worden.

» Das seit 2007 geltende Gewebegesetz verbessert die Patientensicherheit deutlich

Danach benötigen Gewebekbanken, die sich mit der Gewinnung, Testung, Ver- und Bearbeitung, Lagerung und dem Inverkehrbringen klassischer Gewebekbe-

reitungen gemäß § 21a AMG (nicht industrielle Be- oder Verarbeitungsverfahren und hinreichend bekannte Verfahren) beschäftigen, sofern sie nicht über eine Herstellungserlaubnis gemäß § 13 Arzneimittelgesetz (AMG), eine Erlaubnis der zuständigen Landesbehörde, verfügen (§ 20b AMG „Erlaubnis für die Gewinnung von Gewebe und die Laboruntersuchungen“ und § 20c AMG „Erlaubnis für die Be- oder Verarbeitung, Konservierung, Lagerung oder das Inverkehrbringen von Gewebe oder Gewebekzubereitungen“).

Voraussetzung für die Gewinnung von Geweben vom Lebendspender ist die Einwilligung des Spenders auf der Grundlage des § 8 des Gesetzes über die Spende, Entnahme und Übertragung von Organen und Geweben (Transplantationsgesetz, TPG). Die Entnahme der Gewebe eines Verstorbenen setzt dessen vorab erteiltes Einverständnis (z. B. Spenderausweis), die Eruiierung des vermuteten Willens durch einen Entscheidungsbevollmächtigten bzw. die Einwilligung des/der Entscheidungsbevollmächtigten gemäß §§ 3 und 4 TPG voraus. Bei allen Spendern ist die Spendetauglichkeit durch Anamnese, Untersuchungs- und Laboratoriumsbe-

funde durch einen gemäß § 8d TPG qualifizierten Arzt auf der Grundlage der jeweiligen Standardvorgehensweise („standard operating procedure“, SOP) zu beurteilen und zu dokumentieren.

Die dafür angewendeten Spenderauschlusskriterien müssen die Vorgaben der EU-Richtlinien 2006/17/EG [9], der TPG-Gewebeverordnung [4] sowie aktuelle Empfehlungen der Fachgesellschaften enthalten und dienen der Vermeidung von Risiken für den Patienten. Diese sind insbesondere:

- HIV-, HBV- bzw. HCV-Übertragung,
- Krankheitsübertragung durch Prionen (TSE-Risiko),
- Übertragung sonstiger Infektionskrankungen,
- Übertragung bösartiger Neoplasien und
- andere, gegen die Entnahme der Gewebe sprechende Erkrankungen bzw. Therapiefolgen (z. B. Autoimmunerkrankungen, spezifische Arzneimitteltherapien, juveniler Diabetes mellitus, Endokarditiden).

Bei einer Gewebekentnahme von Verstorbenen sind weitere Kriterien (Todesur-

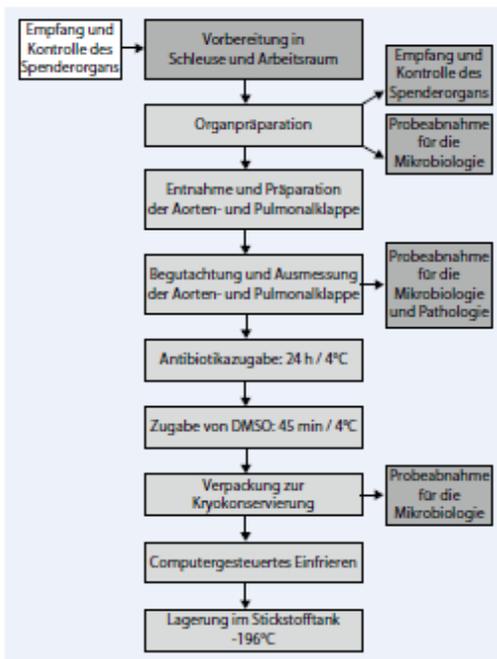


Abb. 1 ◀ Protokoll der Präparation und Konservierung von Allograftmaterial (Kardiovaskuläre Gewebebank Berlin; mit freundl. Genehmigung des Arzte-Verlags aus [26])

sache, postmortale Entnahmezeit, Beatmung etc.) zu beachten. Bei der körperlichen Untersuchung bzw. Inspektion des Spenders ist insbesondere auf Zeichen einer Infektionskrankheit, Zeichen der Zugehörigkeit zu einer HIV-, HBV- bzw. HCV-Risikogruppe und Anzeichen von parenteralem Drogenmissbrauch zu achten. Sind die Spendereignungskriterien nicht vollständig zu erheben, muss eine Gesamtrisikobewertung erfolgen, die auch etwaige Inaktivierungsverfahren einschließt. Die Gewebeentnahme muss gemäß den gesetzlichen Vorgaben unter standardisierten Bedingungen durch qualifiziertes Personal erfolgen. Auf die größtmögliche Reduktion des Bioburden (lokale sterile Bereiche) ist zu achten.

» Kennzeichnung und Transport der Gewebespenden werden in der AMWHV geregelt

Kennzeichnung und Transport der Gewebespende müssen die Vorgaben gemäß § 3 (3) der Arzneimittel- und Wirkstoffherstellungsverordnung (AMWHV; [2]) er-

füllen. Kritische Be- oder Verarbeitungsverfahren sind nach dem jeweiligen Stand von Wissenschaft und Technik zu validieren und dürfen die Gewebe nicht klinisch unwirksam oder schädlich für den Empfänger werden lassen. Hinsichtlich Kennzeichnung, Lagerung und Dokumentation sind die Vorgaben der guten fachlichen Praxis gemäß § 3 (3) AMWHV verbindlich. Ein geeignetes Qualitätssicherungssystem ist bei den die Spende verantwortenden Einrichtungen und in den Gewebebanken einzurichten. Nachfolgend soll die Situation kardiovaskulärer Gewebebanken (KVGB) näher beleuchtet werden.

Herstellung von kardiovaskulären Allografts

Bereits im Jahr 1949 gelang es Polge und Mitarbeitern [20] unter Benutzung von Glycerol als Kryoprotektivum, Zellen und Zellsuspensionen erfolgreich einzufrieren, d. h. deren Vitalität bzw. Funktion weitestgehend zu erhalten. Nach der Beschreibung von Dimethylsulfoxid als in vielen Fällen weitaus geeigneteres Kry-

protektivum durch Lovelock und Bishop im Jahr 1959 [17] erweiterte sich die Option der biologischen Substanzen, die kryokonserviert wurden, auf kardiovaskuläre und andere Gewebe [22, 25]. Auch allogene Gefäßtransplantate spielen bei Gewebebanken eine zunehmende Rolle. Erste sehr gute Ergebnisse bei der Kryokonservierung von humanen Venen gelangen Müller-Schweinitzer und Kollegen im Jahr 1986 [19]. Auch Arterien konnten mit guten Erfolgen kryokonserviert werden. Zwar leidet hier teilweise deren Kontraktilitätsfähigkeit, dennoch ist die verbleibende mechanische Funktion sehr gut geeignet, als suffizienter Gewebeerersatz zu dienen [6]. Bei folgenden klinischen Indikationen werden Allograft-Herzklappen derzeit erfolgreich eingesetzt [18, 21]:

- bakterielle Endokarditis (Prothesen- oder Nativklappenendokarditis),
- Aortenklappenersatz bei jungen Erwachsenen (Ross-Operation),
- Kontraindikationen gegen eine Antikoagulationstherapie,
- sehr kleiner Aortenringdurchmesser sowie
- Rekonstruktion der rechtsventrikulären Ausflussbahn bei kongenitalen Herzfehlern.

Verfahren zur Herstellung, Prüfung und Freigabe der Gewebe entsprechend guter fachlicher Praxis sind in den KVGB verbindlicher Standard. Sowohl im Rahmen der Gewebespende als auch der späteren Herstellung wird nach autorisierten SOP gearbeitet, die der guten fachlichen Praxis gemäß § 3 (3) AMWHV entsprechen.

Die für die Gewebespende vorgesehenen kardiovaskulären Gewebe verschiedener Herkunft werden einer strengen Eingangskontrolle unterzogen, die eine genaue Prüfung der anamnestischen Erhebung beim Spender und eine Identifikationskontrolle von Material und Begleitpapieren beinhaltet und darüber hinaus nur dann realisiert werden kann, wenn die erforderlichen serologischen und molekularbiologischen Untersuchungen auf Infektionskrankheiten (HIV, Hepatitis, Syphilis) negativ sind. Das weitere Prozedere der Herstellung wird unter Reinraumbedingungen (Reinraumklasse A) vorgenommen. Auf der Basis von SOP erfolgt durch anatomische Präparation die Gewinnung der

Zusammenfassung - Abstract

entsprechenden kardiovaskulären Allografts. Die Präparation endet mit der Prüfung der Funktionsfähigkeit der Gewebuzubereitung. Zur Sicherstellung der Keimfreiheit bzw. der Sterilität der Gewebuzubereitung erfolgt danach für 24 Stunden bei +4°C eine Antibiotikabehandlung, die mit einem Gemisch verschiedener unterschiedlich wirkender Antibiotika vorgenommen wird. Parallel dazu werden sowohl vom Ausgangsmaterial als auch von den Lösungen Proben für unterschiedliche Untersuchungen entnommen. Diese Untersuchungen beinhalten eine umfangreiche Prüfung auf Sterilität und den histomorphologischen Ausschluss von krankhaften Veränderungen der kardiovaskulären Grafts im Bereich des Myokards bzw. der abgehenden großen Arterien (Aorta und A. pulmonalis). Nach der Antibiotikabehandlung werden die Grafts gespült und in einer Dimethylsulfoxid(DMSO)-haltigen Einfrierlösung kontrolliert eingefroren und anschließend bei etwa -150 bis -180°C langzeitgelagert. Der Prozess der eigentlichen Herstellung wird 24 Stunden nach Einwirkung der Antibiotikabehandlung mit der computergestützten Kryokonservierung, bei der das vorgesehene Allograft-Material standardisiert auf -80 bzw. -100°C tiefgekühlt wird, beendet. Dieses tiefgekühlte Material wird bis zur endgültigen Freigabe für die humantherapeutische Anwendung in einen Tank mit flüssigem Stickstoff eingebracht und verbleibt so lange in Quarantäne, bis alle zu Charakterisierung, Typisierung und Validierung des Allografts erforderlichen Untersuchungsergebnisse vorliegen und eine Freigabe nach dem AMG erfolgen kann. Ein zusammenfassendes Beispiel ist **Abb. 1** zu entnehmen.

Kardiovaskuläre Gewebebanken

Im Jahr 2011 sind in der Bundesrepublik Deutschland fünf KVGB zugelassen, das heißt, sie verfügen über eine Erlaubnis gemäß § 20c bzw. § 13 AMG, die durch die jeweilige Landesbehörde erteilt wurde. Dies sind:

- Kardiovaskuläre Gewebebank des Deutschen Herzzentrums Berlin (DHZB),
- Kardiovaskuläre Gewebebank des Herz- und Diabeteszentrum Nordrhein-Westfalen Bad Oeynhausen,

Z Herz-Thorax-Gefäßchir 2012 · 26:214–221 DOI 10.1007/s00398-012-0914-x
© Springer-Verlag 2012

A. Pruß · R. Meyer · H.-Josef Knobl · T. Morschheuser · M. Börgel · G. Wittmann · A. Bogers · A. van den Bogaerd · A. Bokhorst · J. Gummert

Analyse der Tätigkeiten kardiovaskulärer Gewebebanken in Deutschland in den Jahren 2007 bis 2010

Zusammenfassung

Hintergrund. Insbesondere bei komplizierten Aortenklappenendokarditiden oder Infektionen im Bereich der Aorta durch mykotische Aortenaneurysmen und Protheseninfektionen sowie im Rahmen der Ross-Operation ist der Einsatz von allogenen Herzklapentransplantaten weiterhin indiziert. Die Herstellung solcher Allografts ist in Deutschland Aufgabe von kardiovaskulären Gewebebanken.

Material und Methoden. Im Rahmen einer Tätigkeitsanalyse der Jahre 2007 bis 2010 wurden die Eckdaten zu Spenderzahlen, Herstellung und Abgabe sowie den technischen Bedingungen der beteiligten vier kardiovaskulären Gewebebanken (Bad Oeynhausen, Berlin, Kiel, München) und als externe Referenz zusätzlich die Kennzahlen der KVGB Rotterdam erfasst.

Ergebnisse. Die vier deutschen kardiovaskulären Gewebebanken haben durchschnittlich 44 Aortenklappen- und 95 Pulmonalklappen-Allografts pro Jahr an die klinischen An-

wender ausgeliefert. Unter Hinzurechnung der jährlich importierten Klappen-Allografts dürfte der durchschnittliche Bedarf in Deutschland bei etwa 220 Herzklappen-Allografts pro Jahr liegen. Das Ausgangsgewebematerial wurde bei jährlich etwa 100 Multitorganspendern, 45 Herz-Kreislauf-Toten und 80 Donornospendern gewonnen.

Diskussion. Die beteiligten kardiovaskulären Gewebebanken verfügen über vergleichbare technische und administrative Voraussetzungen und sind in der Lage, nach den Regeln der guten fachlichen Praxis gemäß § 3 (3) AMWHV Gewebezubereitungen herzustellen und deren Qualität zu bewerten, wobei eine Harmonisierung des mikrobiologischen Monitorings bzw. der Antibiose noch erfolgen muss.

Schlüsselwörter

Homografts · Kardiovaskuläre Allografts · Gewebebank · Herzklappe · Gewebegesetz

Analysis of German cardiovascular tissue banks' activities during the years 2007 to 2010

Abstract

Background. Especially in complicated aortic valve endocarditis, infections of the aorta by mycotic aortic aneurysms and prosthetic infections, or as part of the Ross procedure, the use of allogeneic heart valve transplants remains important. The production of such allografts in Germany is the task of cardiovascular tissue banks (CVTB).

Materials and methods. During an analysis of the years 2007–2010, basic data on donor numbers, production, and distribution as well as the technical conditions of not only the four participating CVTB (Bad Oeynhausen, Berlin, Kiel, Munich) but also data from the CVTB Rotterdam as an external reference were recorded.

Results. The German CVTB delivered an average of 44 aortic and 95 pulmonary allografts per year to clinical users. By incorpo-

rating the annually imported valve allografts, the demand in Germany approximately averages 220 heart valve allografts per year.

The heart tissue was harvested from approximately 100 multitorgan donors, 45 cardiovascular deaths, and 80 domino donors annually. **Diskussion.** The participating cardiovascular tissue banks have comparable technical and administrative requirements and are able to produce tissue preparations according to the rules of Good Professional Practice in accordance with § 3 (3) AMWHV to assess their quality, whereby harmonization of microbiological monitoring and antibiotic treatment is still necessary.

Keywords

Homografts · Cardiovascular allografts · Tissue banking · Heart valve · Tissue law

- Universitätsklinik der Ruhr-Universität Bochum,
- Bayerische Gewebebank GmbH, Klinikum der Universität München und Deutsches Herzzentrum München,

- Kardiovaskuläre Gewebebank Kiel der Deutschen Gesellschaft für Gewebetransplantation gGmbH (DGFG), Universitätsklinikum Schleswig Holstein,

Übersichten

Tab. 1 Kardiovaskuläre Gewebespenden in den Jahren 2009/10

	Postmortales Entnahmezeitfenster (h)	Spendeart		
		MOD	Domino	HKT
Berlin	36	34/34	11/11	0/1
Bad Oeynhausen	36	6/2	76/62	0/4
München	36	0/0	0/3	60/18
Kiel	36	59/76	4/8	0/0
Deutschland	36	93/112	91/84	60/23
Rotterdam	24	73/72	4/9	202/163

MOD Multiorganspender, HKT Herz-Kreislauf-tote Spender, Domino explantiertes Herz im Rahmen einer Transplantation

— Kardiovaskuläre Gewebebank der DGFG in Hannover (seit Februar 2011).

Nachdem in den Jahren 2005 bis 2007 im Rahmen der Expertengruppentreffen der DSO-G/DGFG bereits Aspekte der kardiovaskulären Gewebebanken diskutiert worden sind, wurden im Jahr 2009 durch eine Initiative der Sektion 8 „Gewebezubereitungen“ der Deutschen Gesellschaft für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie (DGTI) die Arbeitstreffen der KVGB zu aktuellen Themen des Genehmigungsverfahrens gemäß § 21a AMG neu etabliert. Ein erstes Ergebnis dieser Diskussionsrunden, an denen auch Vertreter des Paul-Ehrlich-Instituts (PEI) teilnahmen, war die Erarbeitung einer Analyse über qualitative und quantitative Aspekte der Tätigkeiten der deutschen KVGB, die nachfolgend vorgestellt wird.

Zum Vergleich zu den deutschen KVGB wurden die Daten einer der größten europäischen kardiovaskulären Gewebebanken, der Herzklappenbank Rotterdam, herangezogen. Diese KVGB ist Bestandteil der Erasmus University Medical Center, Rotterdam, und verfügt über eine langjährige Kooperation mit der Stiftung BSLIFE – Multi Tissue Center mit Sitz in Leiden (Niederlande).

Material und Methoden

Anhand eines Fragebogens wurden Leistungskennzahlen und Herstellungsverfahren im Zeitraum von 2007 bis 2010 abgefragt. Insbesondere wurden erfasst:

- Struktur der KVGB,
- Herstellungszahlen (Aorten- bzw. Pulmonalklappen),
- Abgabezahlen,
- Spenden (Anzahl, Entnahmeprozedere),
- Konservierungsprozedere,

- Antibiotikacocktails,
- mikrobiologisches Monitoring.

Ergebnisse

Struktur der Gewebebanken

Berlin

Kardiovaskuläre Gewebebank des DHZB ist eine Stiftung bürgerlichen Rechts. Sie wurde im Jahr 1987 gegründet und verfügt seit 1993 über eine vertragliche Kooperation mit BSLIFE. Der Mitarbeiterschlüssel umfasst einen Wissenschaftler (Arzt) und fünf technische Mitarbeiter, davon vier in Teilzeit.

Bad Oeynhausen

Die kardiovaskuläre Gewebebank des Herz- und Diabeteszentrum NRW gehört zum Universitätsklinikum der Ruhr-Universität Bochum und wurde im Jahr 1986 gegründet. Der Mitarbeiterschlüssel beläuft sich auf einen Wissenschaftler und einen technischen Mitarbeiter (Arzt), eine Dokumentationsassistentin und zwei weitere technische Mitarbeiter in Teilzeit.

München

Die Bayerische Gewebebank Bavarian Tissue Banking GmbH wurde im Jahr 2009 gegründet. Der Mitarbeiterschlüssel umfasst 1,5 Wissenschaftler (Arzt, Biologe oder Pharmazeut) und 0,5 technische Mitarbeiter.

Kiel

Die Herzklappenbank in Kiel wird seit 1997 in Kooperation mit der DGFG geführt. Der Mitarbeiterschlüssel umfasst zwei Wissenschaftler (Arzt, Biologe oder Pharmazeut) und vier technische Mitarbeiter, jeweils in Teilzeit.

Hannover

Die Kardiovaskuläre Gewebebank der DGFG in Hannover wurde bereits seit 2005 mit einer Erlaubnis nach § 13 AMG betrieben. Von 2009–2011 ruhte der Betrieb und wurde erst am Ende des Jahres 2011 wieder aufgenommen, weshalb die Bank nicht in die folgende Studie eingeschlossen werden konnte.

Rotterdam

Die Kardiovaskuläre Gewebebank der Erasmus MC Rotterdam wurde im Jahr 1989 gegründet. Es besteht eine enge Kooperation mit BSLIFE in Leiden. Der Mitarbeiterschlüssel in der KVGB Rotterdam umfasst einen Wissenschaftler (Arzt, Biologe oder Pharmazeut) und 2,5 technische Mitarbeiter.

Gewebespende

Die Quellen für kardiovaskuläre Gewebespenden (■ Tab. 1) sind:

- Lebendspender (explantierte Herzen von Patienten, denen ein neues Herz transplantiert wurde, sog. Dominoherzen)
- Multiorganspender, bei denen das Herz nicht für eine Organspende geeignet ist,
- Herz-Kreislauf-tote Spender.

In Bad Oeynhausen ist ein hauseigenes Team auf der Grundlage von § 20b (1) AMG für die Gewebeernte verantwortlich. Darüber hinaus bestehen Kooperationen mit Entnahmeeinrichtungen nach § 20b (2) AMG sowie die Entnahme mittels mobiler Entnahmeteams gemäß § 34 AMWHV. Solche mobilen Teams arbeiten ebenfalls in Kiel und Berlin. Externe Zusendungen auf der Grundlage von Verträgen nach § 20b (2) AMG existieren bis auf Kiel in allen KVGB. Die Transporttemperaturen liegen bei allen KVGB bei 0–4°C, lediglich München erlaubt eine Temperatur von ≤8°C.

Herstellung und Abgabe

Einen quantitativen Überblick zu Herstellung und Weiterverwendung der benötigten Herzklappen geben ■ Tab. 2 und 3.

	Anzahl der hergestellten Pulmonalkappen				Anzahl der abgegebenen Pulmonalkappen			
	2007	2008	2009	2010	2007	2008	2009	2010
Berlin	40	22	24	26	38	22	23	25
Bad Oeynhausen	8	6	16	16	29	3	9	20
München	21	8	50	12	16	11	27	12
Kiel	31	32	17	31	12	45	30	24
Deutschland*	87	68	105	85	119	88	93	81
Rotterdam	218	169	146	109	115	86	103	65

*ohne Importe

	Anzahl der hergestellten Aortenklappen				Anzahl der abgegebenen Aortenklappen			
	2007	2008	2009	2010	2007	2008	2009	2010
Berlin	4	10	10	15	4	9	8	12
Bad Oeynhausen	6	8	13	5	13	9	3	4
München	37	7	48	10	17	11	18	5
Kiel	22	11	5	4	9	14	14	11
Deutschland*	65	44	86	34	51	44	48	32
Rotterdam	106	79	74	48	54	40	39	41

*ohne Importe

	Temperatur/Dauer	Verwendete Antibiotika				
Berlin	4°C/24 h	Vancomycin	Ciprofloxacin	Amikacin	Flucytosin	Metronidazol
Bad Oeynhausen	4°C/24 h	Vancomycin	Mefloxitin	Lincomycin	Colistin	
München	4°C/24 h	Vancomycin	Ciprofloxacin	Amikacin	Flucytosin	Metronidazol
Kiel	4°C/24 h	Gentamycin	Penicillin	Amphotericin B	Metronidazol	
Rotterdam	37°C/6 h	Vancomycin	Ciprofloxacin	Amikacin	Flucytosin	Metronidazol

Prozessbezogene Daten

Eine vergleichende Analyse der variierenden Antibiose erlaubt **Tab. 4**.

Die Kryokonservierung erfolgt in allen KVGB mit DMSO in einer Konzentration von 10%; Kiel verwendet eine 12,5-%ige DMSO-Lösung. Die Lagerung der Allografts erfolgt in allen Banken in der Gasphase des flüssigen Stickstoffs unter überwachenden Bedingungen.

Hinsichtlich des mikrobiologischen Monitoring zeigen sich erhebliche Unterschiede in Art und Umfang der Probenahme (Abstriche, Gewebeprobe, Kryolösungen etc.) sowie der Methodenauswahl zum Nachweis der Sterilität (u. a. Direktbescheidung bzw. Membranfiltration gemäß Pharmacopoea Europaea [Ph Eur] 2.6.1., Verwendung des Bact-

Alert- bzw. Bactec-Systems gemäß Ph Eur 2.6.27). In diesem Zusammenhang ist eine Arbeitsgruppe unter Federführung der DGTI-Sektion 8 eingesetzt worden, die gemeinsam mit dem PEI eine einheitliche Vorgehensweise erarbeiten wird.

Diskussion

Während zum Ersatz von Herzklappen und Gefäßen heute überwiegend biokompatible prothetische oder bioprothetische Substitute eingesetzt werden, stellen Allografts in bestimmten Situationen nach wie vor das Behandlungsverfahren der Wahl dar (**Abb. 2**). Hierzu gehören vor allem Infektionen im Herzen, wie zum Beispiel die durch einen Anulusabszess komplizierte Aortenklappenendokarditis [16] oder Infektionen im Bereich

der Aorta (mykotische Aortenaneurysmen und Protheseninfektionen; [11, 13, 14, 15]). Als Vorteile der Homografts wurde die weitestgehend physiologische Morphologie mit den damit verbundenen guten Strömungseigenschaften in Ruhe und unter Belastung beschrieben, weitere Vorteile sind die Geräuschlosigkeit und die in der Regel nicht notwendige Antikoagulation. Besonders bei der Endokarditis haben sich wegen einer niedrigen Reinfektionsrate Homografts bewährt, wobei insbesondere Ringabszesse gedeckt und das anteriore Mitralsegel rekonstruiert werden können [5, 10, 24].

Mit der Gewinnung, Herstellung und Abgabe von Herzklappen-Allografts beschäftigen sich in Deutschland derzeit fünf Gewebebanken. Aufgrund fehlender überregionaler Strukturen arbeiten diese Einrichtungen bisher nach eigenen Standards. Durch Initiative der Sektion „Gewebezubereitungen“ der Deutschen Gesellschaft für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie wurden erstmals gemeinsame Daten erhoben, die eine Bewertung der Gewebebankaktivitäten bezüglich Spende, Herstellungsverfahren und Versorgung erlauben sowie Harmonisierungspotenziale aufzeigen.

Grundsätzlich zeigt sich, dass der klinische Einsatz von Aorten- bzw. Pulmonalis-Allografts (synonym: Homografts) ein eher seltenes Ereignis ist und nur wenige belastbare Zahlen für die Bundesrepublik Deutschland vorliegen. Gummert et al. berichten über die Transplantation von 38 Homografts im Rahmen des singulären Aortenklappenersatzes, von 11 Homografts für Eingriffe an der Mitralklappe sowie die Durchführung von 227 Ross-Operationen im Jahr 2010 in Deutschland [12]. Homografts finden als klappentragende Gefäßabschnitte breite Anwendung bei der kinder-kardiologischen Therapie angeborener Herzfehler wie:

- Fallot-Tetralogie,
- vollständige Pulmonalatriesie zur Rekonstruktion des rechtsventrikulären Ausflusstrakts,
- Korrektur des „double outlet right ventricle“ (DORV).

Die an der Studie beteiligten vier deutschen KVGB haben im betrachteten Zeitraum 2007–2010 durchschnittlich 44 Aor-

Übersichten



Abb. 2 ▲ Allograftmaterial zur Anwendung in der Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie: **a** Aortenklappenallograft einschließlich der kompletten Aorta ascendens und des Aortenbogens sowie des anhängenden anterioren Mitralklappensegels, **b** Aorta-descendens-Allograft, **c** Pulmonalklappenallograft mit A.-pulmonalis-Bifurkation (CryoValve® SG Pulmonary Human Heart Valve). Teilabbildungen **a** und **b** mit freundl. Genehmigung des Ärzte-Verlags aus [26].

tenklappen und 95 Pulmonalklappen pro Jahr an die klinischen Anwender ausgeliefert. Die präzise Zahl zusätzlich importierter Herzklappen ist nicht bekannt. Das Bundesministerium für Gesundheit gibt in seinem Bericht über die Verwendung von Gewebezubereitungen für das Jahr 2008 insgesamt 83 importierte Klappen-Homografts an [1]. Entsprechend dürfte der durchschnittliche Bedarf Deutschland bei etwa 220 Herzklappen-Allografts pro Jahr liegen. Inwieweit sich diese Zahlen bei erhöhtem Angebot steigern ließen, kann nicht abschließend beantwortet werden. In den entsprechenden Fachgesellschaften sollte nach Möglichkeiten gesucht werden, belastbare Bedarfswerte zu ermitteln und für die strategische Planung der Entwicklung der kardiovaskulären Gewebekassen zur Verfügung zu stellen. Andererseits darf aus den nationalen Herstellungsdaten sowie den exzellenten Ergebnissen der Herzklappenbank Rotterdam geschlossen werden, dass alle beteiligten Gewebekassen in der Lage sein dürften, ein Mehrfaches der gegenwärtig freigegebenen Gewebezubereitungen zu prozessieren.

Aus diesem Grunde müssen neue Quellen der kardiovaskulären Gewebespende erschlossen werden. Angesichts der Erfahrungen in München und Rotterdam bot sich die Etablierung eines Systems der postmortalen Gewebespende bei Herz-Kreislauf-Toten an, welches im Jahr 2010 in Berlin und Bad Oeynhausen erste Erfolge zu verzeichnen hatte.

Die Analyse zeigt weiterhin, dass die vier KVGB über vergleichbare technische und administrative Voraussetzungen verfügen und in der Lage sind, nach den Regeln der guten fachlichen Praxis gemäß

§ 3 (3) AMWHV Gewebezubereitungen herzustellen, deren Qualität zu bewerten und nach festen Regeln für den therapeutischen Einsatz freizugeben. Sie verfügen bereits über ein beachtliches Niveau der Standardisierung der Herstellung, Kontrolle und Bewertung, wobei insbesondere bei der Frage des mikrobiologischen Monitorings bzw. der Antibiose noch Abstimmungsbedarf besteht [23].

Fazit für die Praxis

- Der Einsatz von allogenen Herzklapentransplantaten (Homografts) ist vor allem bei komplizierten Aortenklappenendokarditiden oder Infektionen im Bereich der Aorta durch mykotische Aortenaneurysmen und Protheseninfektionen sowie im Rahmen der Ross-Operation weiterhin indiziert.
- Homografts finden als klappentragende Gefäßabschnitte auch breite Anwendung bei der kinderchirurgischen Therapie angeborener Herzfehler wie z. B. der Fallot-Tetralogie, in Fällen der vollständigen Pulmonalatriesie zur Rekonstruktion des rechtsventrikulären Ausflusstrakts und bei der Korrektur des DORV.
- Die gesetzeskonforme Herstellung solcher Allografts ist in Deutschland Aufgabe von KVGB.
- Die deutschen KVGB haben in den letzten Jahren durchschnittlich 44 Aortenklappen- und 95 Pulmonalklappen-Allografts pro Jahr an die klinischen Anwender ausgeliefert. Unter Hinzuziehung der jährlich importierten Klappen-Allografts dürfte der durchschnittliche Jahresbedarf in Deutsch-

land bei etwa 220 Herzklappen-Allografts liegen.

- Die beteiligten KVGB verfügen über vergleichbare technische und administrative Voraussetzungen und sind in der Lage, nach den Regeln der guten fachlichen Praxis gemäß § 3 (3) AMWHV Gewebezubereitungen herzustellen, wobei eine Harmonisierung des mikrobiologischen Monitorings bzw. der Antibiose noch erfolgen müssen.

Korrespondenzadresse



Prof. Dr. A. Pruß
Universitäts-Gewebekbank,
Institut für
Transfusionsmedizin,
Charité – Universitätsmedizin
Berlin
Charitéplatz 1, 10117 Berlin
axel.pruss@charite.de

Prof. Axel Pruß, Jahrgang 1963, studierte von 1984 bis 1990 Humanmedizin. Von 1990 bis 1994 war er in Chirurgie und Innerer Medizin tätig, seit 1994 ist er Mitarbeiter des Instituts für Transfusionsmedizin der Charité. Axel Pruß absolvierte 1996 den Facharzt für Transfusionsmedizin, habilitierte sich im Jahr 2005 und ist seit 2009 Leiter der Universitäts-Gewebekasse. Prof. Pruß ist stellvertretender Direktor und Leitender Oberarzt des Instituts für Transfusionsmedizin.

Interessenkonflikt. Der korrespondierende Autor weist auf folgenden Interessenkonflikt hin: alle Autoren sind in die Tätigkeiten der in dieser Arbeit erwähnten Gewebekassen involviert und vertreten daher deren Interessen.

Literatur

1. Bundesministerium der Gesundheit (2010) Bericht der Bundesregierung über die Situation der Versorgung der Bevölkerung mit Gewebe und Gewebezubereitungen nach Artikel 7a Gewebegesetz. http://www.bmg.bund.de/fileadmin/redaktion/pdf_misc/Bericht-BReg-Gewebe.pdf

2. Bundesministerium der Justiz (2006) Verordnung über die Anwendung der Guten Herstellungspraxis bei der Herstellung von Arzneimitteln und Wirkstoffen und über die Anwendung der Guten fachlichen Praxis bei der Herstellung von Produkten menschlicher Herkunft (Arzneimittel- und Wirkstoffherstellungsverordnung – AMWHV), 3. November 2006 (BGBl I S. 2523), ergänzt durch Artikel 1 der Verordnung vom 26. März 2008, BGBl I S. 21
3. Bundesministerium der Justiz (2007) Gesetz über Qualität und Sicherheit von menschlichen Geweben und Zellen, 1. August 2007, BGBl I S. 1574
4. Bundesministerium der Justiz (2008) Verordnung über die Anforderungen an Qualität und Sicherheit der Entnahme von Geweben und deren Übertragung nach dem Transplantationsgesetz (TPG-Gewebeverordnung – TPG-GewV), 26. März 2008, BGBl I S. 12
5. Donaldson RM, Ross DM (1984) Homograft aortic root replacement for complicated prosthetic valve endocarditis. *Circulation* 70(Suppl 1):178–181
6. Eisher Rendal Vázquez M, Rodríguez Cabarcos M, Fernández Mallo RO et al (2004) Functional assessment of human femoral arteries after cryopreservation. *Cryobiology* 49(1):83–89
7. European Commission (2004) DIRECTIVE 2004/23/EC OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 31 March 2004 on setting standards of quality and safety for the donation, procurement, testing, processing, preservation, storage and distribution of human tissues and cells. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2004:102:0048:0058:EN:PDF>
8. European Commission (2006) COMMISSION DIRECTIVE 2006/86/EC of 24 October 2006 implementing Directive 2004/23/EC of the European Parliament and of the Council as regards traceability requirements, notification of serious adverse reactions and events and certain technical requirements for the coding, processing, preservation. http://www.zlg.de/download/AM/rechtsquellen/eg/RL_2006_86_Rueckverfolg_Gewebe_EN.pdf
9. European Commission (2006) COMMISSION DIRECTIVE 2006/17/EC of 8 February 2006 implementing Directive 2004/23/EC of the European Parliament and of the Council as regards certain technical requirements for the donation, procurement and testing of human tissues and cells. http://www.zlg.de/download/AM/rechtsquellen/eg/RL_2006_17_tech_Vorschr_Gewebe_Zellen_EN.pdf
10. Gazier JJ, Verwilghen J, Donaldson RM et al (1991) Treatment of complicated prosthetic aortic valve endocarditis with annular abscess formation by homograft aortic root replacement. *J Am Coll Cardiol* 17:1177–1182
11. Hetzer R, Knosalla C, Yanikah CA (1997) The use of aortic allografts for surgical management of mycotic infections and aneurysms of the thoracic aorta. In: A.C. Yanikah, M.H. Yacoub, R. Hetzer (Hrsg) *Cardiac Valve Allografts*. Steinkopff, Darmstadt, S. 243–251
12. Gummert JF, Funkat AK, Beckmann A et al (2011) Cardiac surgery in Germany during 2010: a report on behalf of the German Society for Thoracic and Cardiovascular Surgery. *Thorac Cardiovasc Surg* 59:259–267
13. Kleffler E, Sabatier J, Pilsionnier D et al (2001). Prosthetic graft infection after descending thoracic/thoracoabdominal aortic aneurysmectomy: management with in situ arterial allografts. *J Vasc Surg* 33, 671–678

14. Knosalla C, Weng Y, Warnecke H et al (1996) Mycotic aortic aneurysm after orthotopic heart transplantation – A three case-report and review of the literature. *J Heart Transpl* 15:827–839
15. Knosalla C, Weng Y, Yanikah CA et al (1996) Using aortic allograft material to treat mycotic aneurysm of the thoracic aorta. *Ann Thorac Surg* 61:1146–1152
16. Knosalla C, Bauer M, Weng Y et al (2000) Complicated chronic pancreatitis causing mycotic aortic aneurysm-in situ replacement with a cryopreserved aortic allograft. *J Vasc Surg* 32:1034–1037
17. Lovelock JE, Bishop MW (1959) Prevention of freezing damage to living cells by dimethyl sulphoxide. *Nature* 183(4672):1394–1395
18. Nägele H, Döring V, Rüdiger et al (2000) Aortenklappenersatz mit Homografts. *Herz* 27(7):651–658
19. Müller-Schweinitzer E, Tapparello C, Victorzon M (1986) Functional studies on human veins after storage at –190 degrees C. *Br J Pharmacol* 88(3):685–687
20. Polge C, Smith AJ, Parkes AS (1949) Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperatures. *Nature* 164(4172):666
21. Ross DN (1987) Application of homografts in clinical surgery. *J Card Surg* 2(Suppl):175–183
22. Taylor MJ, Pegg DE (1983) The effect of ice formation on the function of smooth muscle tissue stored at –21 or –60 degrees C. *Cryobiology* 20(1):36–40
23. Kats JP van, Tricht C van, Dijk A van et al (2010) Microbiological examination of donated human cardiac tissue in heart valve banking. *Eur J Cardiothorac Surg* 37(1):163–169
24. Vogt PR, Segesser LK von, Goffin Y et al (1995) Cryopreserved arterial homografts for in situ reconstruction of mycotic aneurysms and prosthetic graft infection. *Eur J Cardiothorac Surg* 9:502–506
25. Weber TR, Lindenauer SM, Dent TL et al (1976) Long-term patency of vein grafts preserved in liquid nitrogen in dimethyl sulfoxide. *Ann Surg* 184(6):709–712
26. Hetzer R, Meyer R, Knosalla J (2009) Herzklappen und Gefäße. In: Hübner M, Puhler W, Müddel CD (Hrsg) *Praxisleitfaden Gewebegesetz*. Deutscher Ärzte-Verlag, Köln, S. 243–252

Infektionen

Infektionen in der Gefäßchirurgie sind facettenreich und herausfordernd für den Therapeuten. Besondere Charakteristika des Gefäßpatienten sind zu berücksichtigen. Ebenso ist ein profundes Wissen zur definitiven Antibiotikatherapie erforderlich, und die Möglichkeiten der invasiven Behandlung sollten präsent sein. Die invasive Therapie ist für den Patienten entscheidend und muss deshalb auf jeden Einzelfall individuell abgestimmt sein.



Das Leitthemenheft „Infektionen“ der Fachzeitschrift *Gefäßchirurgie* (Ausgabe 1/2012) zeigt einige wichtige Facetten zu diesem gefäßchirurgisch essenziellen Gebiet auf.

Es beinhaltet u.a. Beiträge zu folgenden Themen:

- Gefäßerkrankungen bei HAART-naiven HIV-Patienten
- Infektionen von Gefäßprothesen
- Bakterielle Virulenz – Bedeutung für Infektionen in der Gefäßchirurgie
- Leitlinien „Infektionen in der Gefäßchirurgie“ der Deutschen Gesellschaft für Gefäßchirurgie und Gefäßmedizin

Bestellen Sie diese Ausgabe zum Preis von EUR 45,- zzgl. Versandkosten bei:
Springer Customer Service Center
Kundenservice Zeitschriften
Haberstr. 7
69126 Heidelberg
Tel.: +49 6221-345-4303
Fax: +49 6221-345-4229
E-Mail: leserservice@springer.com

PS: Vieles mehr rund um Ihr Fachgebiet finden Sie auf www.springermedizin.de