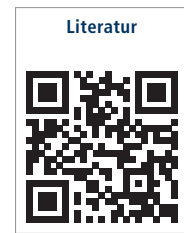


Bei jedem chirurgischen Eingriff an knöchernen Strukturen, wie beispielsweise der intraoralen Transplantation von Knochenblöcken, besteht das Risiko, dass Krankheitserreger in den Defektbereich gelangen und zu einer Entzündung führen. Der vorliegende Artikel beschreibt die Untersuchungsergebnisse einer neuen Studienserie, die mittels ausgedehnter In-vitro- und präklinischer In-vivo-Methoden die Eignung des allogenen Spenderknochens der Cells+Tissuebank Austria (C+TBA) als Trägersubstanz für Clindamycin, Gentamicin, Vancomycin sowie einer Kombination aus Vancomycin und Rifampicin im Hinblick auf Biofilmbildungen analysiert.



Antibiotikaaufnahme und -freisetzung aus humanem Spenderknochen

Infektionsprophylaxe und -therapie in der GBR

Dr. Mike Barbeck, Phil Donkiewicz, Dr. Débora Coraça-Huber, M.Sc., M.Sc., PhD, Prof. Dr. Sabine Wenisch, Prof. Dr. Reinhard Schnettler

Der Verlust von Knochengewebe kann im gesamten Körper auftreten und ist zahlreichen Ursachen zuzuschreiben. Während in der Orthopädie und Unfallchirurgie ein Großteil dieser Fälle auf Traumata zurückzuführen ist, lässt sich in der Kieferchirurgie häufig eine Resorption des Kieferknochens aufgrund von Zahnlosigkeit und der damit verbundenen fehlenden Kaubelastung feststellen. Weiterhin können Tumore, Zysten, systemische Erkrankungen und Infektionen des Knochens, auch Osteomyelitiden genannt, einen substanzialen Knochenverlust bewirken. Bei jedem chirurgischen Eingriff an knöchernen Strukturen, wie beispielsweise der intraoralen Transplantation von Knochenblöcken besteht das Risiko, dass Krankheitserreger in den Defektbereich gelangen und zu einer Entzündung führen.

Antibiotikaprophylaxe

Da eine Osteomyelitis häufig eine persistierende Infektion darstellt, welche

mit schwerwiegenden Komplikationen sowie einer aufwendigen Behandlung assoziiert wird, gilt es, diese in jedem Fall zu vermeiden. Oftmals werden Eingriffe zwar unter Gabe einer systemischen prä-, peri- oder postoperativen Antibiotikaprophylaxe durchgeführt, diese kann jedoch lediglich ein begrenztes Spektrum von Erregern erfassen und substanzspezifische Nebenwirkungen verursachen. Bei einer bereits bestehenden Osteomyelitis sollte eine Probe zur mikrobiologischen Untersuchung entnommen werden. Mithilfe des hierüber erstellten Antibiogramms kann der behandelnde Arzt dann festlegen, welche Antibiotika für die Behandlung des Erregers indiziert sind. Neben einer umfangreichen Therapie, welche eine systemische Antibiotikagabe, mehrmaliges Debridement, Jet-Lavagen und mikrobiologische Untersuchungen beinhalten sollte, bietet die Möglichkeit einer lokalen Antibiotikabehandlung ein wertvolles Instrument zur gezielten Wirkstofffreisetzung.

Vor allem in der Orthopädie hat sich das Beladen der eingesetzten Biomate-

rialien mit Antibiotika als valides Konzept für die Infektionsprophylaxe und Behandlung etabliert, findet aber auch bei kieferchirurgischen Eingriffen Anwendung. Die lokale Applikation der Antibiotika bietet gegenüber der systemischen Gabe einige Vorteile. Hierüber kann eine hohe lokale Wirkstoffkonzentration oberhalb der minimalen bakteriziden und/oder hemmenden Wirkstoffkonzentration ohne eine systemische Belastung sowie eine kontinuierliche Freisetzung im Defektbereich erzielt werden, wodurch das Risiko einer Resistenzbildung maßgeblich vermindert wird. Hierfür ist es essenziell, dass das verwendete Knochenersatzmaterial als Trägerstoff fungiert, aus welchem das Antibiotikum retardiert freigesetzt wird. Gegenwärtig werden hierfür im orthopädischen Gebrauch häufig antibiotikabeladene Knochenzemente, verstärkt jedoch auch andere Materialien wie gefriergetrockneter menschlicher Spenderknochen, erfolgreich eingesetzt. Mineralisierter allogener Spenderknochen, auch mineralized bone allograft



neoss® | Ästhetische
Heilungsabutments
mit ScanPeg

- Einheilung ohne Unterbrechung
- Patientenfreundlicher schnellerer Ablauf
- Passend zu Neoss Esthetiline
- Anatomische Formen für hohe Ästhetik



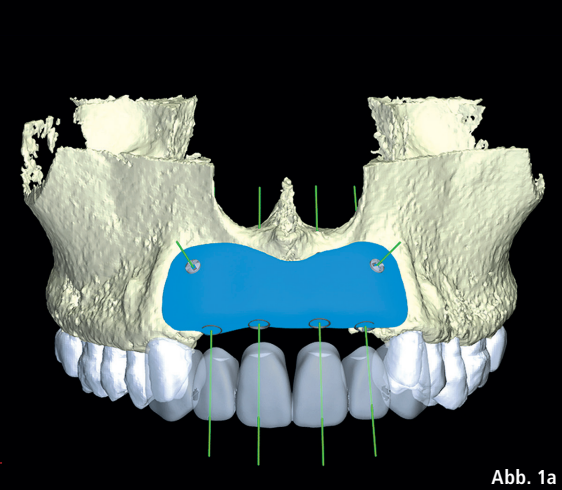


Abb. 1a

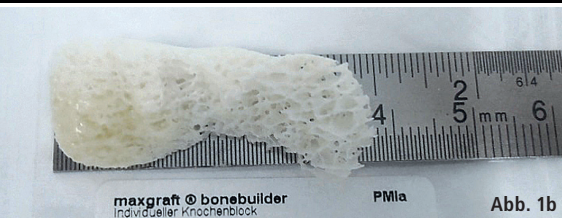


Abb. 1b

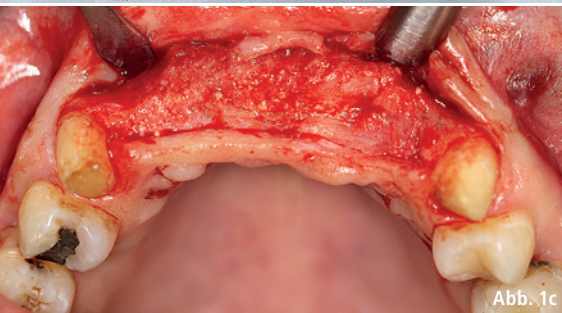


Abb. 1c

(MBA) genannt, hat sich als ideales Material bei der Regeneration großer und ausgedehnter Knochendefekte bewährt und findet zunehmend Anwendung in der Zahnheilkunde (Abb. 1).

Umsetzbarkeit einer Antibiotikabeladung

Die Umsetzbarkeit einer Antibiotikabeladung von humanem Spenderknochen zur Infektionsprophylaxe wurde bereits in einigen Studien untersucht, welche gezeigt haben, dass diverse Antibiotika sehr gut am Knochengewebe adhären und aus diesem verzögert freigesetzt werden können. So können das humane Knochengranulat und auch Knochenersatzmaterialblöcke vor der Einbringung mit einer beliebigen Kombination aus Aminoglykosiden, Betalaktamen, Lincosamiden, Glykopeptiden, Ansamycinen und Fluorchinolonen beladen werden. In diesem Zusammenhang haben klinische Untersuchungen bereits gezeigt, dass hohe lokale Antibiotikakonzentrationen im Transplantationsbereich körpereigenen Gewebezellen einen selektiven Vorteil gegenüber Pathogenen bei der Besied-

Abb. 1: CAD/CAM-Blockdesign und final gefräster, allogener Knochenblock der C+TBA. **a)** Virtuelle dreidimensionale Rekonstruktion des Defekts und geplanter Knochenblock (blau). **b)** Patientenindividuell gefräster, allogener Knochenblock. **c)** Klinische Situation bei Wiedereröffnung sechs Monate nach Augmentation: Die augmentierte Zone zeigte vitales Knochengewebe und ausreichendes Knochen-volumen zum Setzen der Implantate.¹

lung des Fremdmaterials ermöglichen und die Knochengewebeheilung hierdurch nicht unterbunden wird.

Antibiotikabeladung und Freisetzung der C+TBA Allografts

Im Rahmen einer neuen Studienserie wurde mittels ausgedehnter In-vitro- und präklinischer In-vivo-Methoden die Eignung des allogenen Spenderknochens der Cells+Tissuebank Austria (C+TBA) als Trägersubstanz für Clindamycin, Gentamicin, Vancomycin sowie einer Kombination aus Vancomycin und Rifampicin im Hinblick auf Biofilmbildungen analysiert. Hierfür wurden Lösungen der jeweiligen Antibiotika hergestellt, um damit eine Rehydratation der humanen Knochensubstanz durchzuführen. Die Beladung des Materials gestaltete sich somit sehr einfach und ist nach einer zehnmütigen Inkubation bei einem Mischungsverhältnis von 1 ml Granulat je 1 ml Lösung (1:1) abgeschlossen. Die Antibiotikakonzentrationen im Knochenblock wurden initial semiquantitativ über einen Hemmhof-test bestimmt. Hierfür wurde eine Regressionsanalyse mittels einer Verdünnungsreihe und der korrespondierenden Hemmhofgröße durchgeführt. Bei der Kontrollmessung der initialen Antibiotikakonzentration im Spenderknochen unmittelbar nach der Beladung zeigte Clindamycin mit 325,5 mg/ml die höchste Konzentration, gefolgt von Gentamicin mit 39,8 mg/ml, der Kombination von Vancomycin und Rifampicin mit 25,5 mg/ml und schließlich Vancomycin, welches mit 14,6 mg/ml die geringste Konzentration aufwies. Der spongiöse Knochen der C+TBA bietet mit seinem Netzwerk aus interkonnektiven Poren eine große Oberfläche für die Adsorption der Antibiotika, diese wird jedoch neben der Kapazität und Beschaffenheit der Trägersubstanz durch weitere Faktoren bestimmt. So ist beispielsweise die Löslichkeit der antibiotischen Agenzien eine zentrale

Determinante für deren Aufnahme und Freisetzung. Da der humane Spenderknochen einen Kollagenanteil von etwa 30 % besitzt, ist es weiterhin sehr wahrscheinlich, dass die Eiweißbindung der Antibiotika einen Einfluss auf deren Konzentration im Träger nimmt. Die Gesamtmenge eines Antibiotikums im Knochenblock besitzt jedoch keine Aussagekraft bezüglich der Wirksamkeit, sodass es deutlich wichtiger ist, die minimale bakterizide/hemmende Konzentration zu betrachten (Tab. 1). Hier zeigt sich, dass die Ausgangskonzentration aller Antibiotika weit über der minimalen Hemmkonzentration liegt.² Um die Freisetzung der Antibiotika aus dem humanen Knochenblock in vivo zu bestimmen, wurden diese zur Füllung von Knochendefekten in der Tibia von Kaninchen verwendet. Für jedes untersuchte Antibiotikum wurden vier Versuchstiere verwendet, wobei die Explantate nach 24 und 72 Stunden auf ihren Wirkstoffgehalt untersucht wurden. Hierfür wurde erneut die zuvor erstellte Regressionsgerade zur semiquantitativen Konzentrationsbestimmung verwendet. Da nur ein Teil des Antibiotikums in die humane Spongiosa aufgenommen werden kann, ist eine erhöhte initiale Wirkstofffreisetzung unmittelbar nach der Implantation zu erwarten, welche zu einer starken bakteriziden und/oder bakteriostatischen Wirkung im Defektbereich führt und somit eukaryotischen Zellen einen Vorteil bei der Materialbesiedlung bietet. Dadurch wird das Risiko für Infektionen und Komplikationen bei der Defektheilung deutlich reduziert.

Wirkstofffreisetzung

Die Wirkstofffreisetzung der untersuchten Antibiotika aus dem humanen Knochenblock unterscheidet sich zum Teil deutlich. Während die kumulative Wirkstofffreisetzung von Clindamycin nach 24 Stunden 54,6 % beträgt, liegt die von Vancomycin bei 40,6 %,

	Clindamycin	Vancomycin	Gentamicin	Rifampicin
Antibiotikakategorie	Lincosamid	Glykopeptid	Aminoglycosid	Ansamycin
Proteinbindung	94 % ³	46 % ⁴	< 15 % ⁵	87–97 % ⁵
MHK90 (MRSA)	0,00025 mg/ml ²	0,00075 mg/ml ²	0,00025 mg/ml ²	0,00025 mg/ml ²

Tab. 1: Untersuchte Antibiotikakategorien mit deren Proteinbindung und minimaler Hemmkonzentration.

von Gentamicin bei 67,3 % und die bei der Kombination von Vancomycin und Rifampicin bei 25 %. Der kumulative verbleibende Wirkstoffgehalt im Knochengranulat beträgt 7,142 mg/ml für Clindamycin, 0,057 mg/ml für Vancomycin, 0,00063 mg/ml für Gentamicin und 0,2961 mg/ml für die Kombination aus Vancomycin und Rifampicin und somit das 28.568-, 76-, 2,52- und 1.184-Fache der für diese Wirkstoffe ermittelten minimalen Hemmkonzentration, bei welcher 90 % von 240 untersuchten MRSA-Stämmen kein Wachstum mehr zeigen.² Da Osteomyelitiden häufig durch Staphylokokkenstämmen verursacht werden, ist gerade die Wirksamkeit der Antibiotika gegenüber Erregern dieser Gattung sehr wichtig und aussagekräftig.

Bei der Explantation des humanen Knochengranulates nach 72 Stunden zeigt sich eine kumulative Wirkstofffreisetzung von 67,6 %, 44,6 %, 77,6 % und 26,3 % für Clindamycin, Vancomycin, Gentamicin und der Kombination aus Vancomycin und Rifampicin. Der kumulative verbleibende Wirkstoffgehalt in der Trägersubstanz beträgt nach 72 Stunden 0,14738 mg/ml für Clindamycin, 0,02939 mg/ml für Vancomycin, 0,000068 mg/ml für Gentamicin und 0,05383 mg/ml für die Kombination aus Vancomycin und Rifampicin und liegt damit, abgesehen von Gentamicin, erneut maßgeblich über der MHK90. Der Vergleich der beiden Zeitpunkte verdeutlicht, dass ein Großteil der Antibiotikafreisetzung bereits innerhalb der ersten 24 Stunden stattfindet, während der Anteil des freigesetzten Antibiotikums im Zeitraum zwischen 24 und 72 Stunden nach der Implantation verhältnismäßig deutlich geringer ist. Hierdurch werden die hohe anfängliche Freisetzung des Wirkstoffes aus dem Knochengranulat sowie die Praktikabilität einer Antibiotikabeladung von humanem Knochengranulat verdeutlicht.

Die Auswertung zeigt, dass der humane Knochenblock der C+TBA sich hervorragend mit verschiedenen Antibiotika beladen lässt und initiale Wirkstoffkonzentrationen, welche um ein Vielfaches über der für 240 MRSA-Stämmen ermittelten MHK90 liegen, erzielt werden können. Trotz der hohen initialen Wirkstofffreisetzung, welche zu einer deutlichen Abnahme der Antibiotikakonzentration im Träger innerhalb der ersten 24 Stunden führt, wird die MHK90 in den explantierten Proben für keine der getesteten Substanzen hiernach unterschritten und auch nach 72 Stunden liegt die Konzentration dieser mit Ausnahme von Gentamicin deutlich über der MHK90. Die hohe lokale Wirkstofffreisetzung kann weiterhin einer Infektion im Defektbereich vorbeugen oder dazu dienen, Erreger bei einer bereits bestehenden Osteomyelitis effektiv und ohne systemische Belastung zu bekämpfen.

Da die Oberflächen von in den Körper eingebrachten Substanzen wie Zahn- und Hüftkopimplantaten, aber auch von Biomaterialien wie Knochengranulat von biofilmbildenden Mikroorganismen befallen werden können, ist es außerdem interessant, dass die Kombination von Vancomycin und Rifampicin die geringste Freisetzung aus dem Knochengranulat aufweist und somit über einen längeren Zeitraum eine wirksame Konzentration dieser Antibiotika im Träger verbleibt. Die Behandlung von Biofilmbildnern gestaltet sich oftmals als langwierig und komplex, da sich bei diesen häufig Resistenzbildungen beobachten lassen. So zeigte eine kürzlich veröffentlichte In-vitro-Studie die Resistenz eines biofilmbildenden *Staphylococcus-epidermidis*-Stammes gegenüber Vancomycin, Teicoplanin, Oxacilin, Rifampicin und Gentamicin, wobei die getesteten Glykopeptide die Biofilmbildung sogar verstärken. Die Kombination von Glykopeptiden mit

Ansamycinen (Vancomycin mit Rifampicin) zeigte jedoch eine bakterizide Wirkung auf die Biofilmbildner, sodass eine Beladung von allogenen Spenderknochen mit einer Kombination aus diesen Antibiotika ausgezeichnet für die Prävention und Therapie einer Biofilmbildung verwendet werden kann.

Zusammenfassung

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass humaner Spenderknochen einen gut geeigneten Trägerstoff für verschiedene Antibiotikakategorien zur Infektionsprophylaxe darstellt. Alle der hier getesteten Substanzen weisen eine bakteriostatische oder bakterizide Wirkung gegenüber Staphylokokken, welche die häufigsten Erreger von Osteomyelitiden repräsentieren, auf und verbleiben mit Ausnahme von Gentamicin auch nach 72 Stunden noch in einer ausreichenden Konzentration im Knochenblock, um das Wachstum von Mikroorganismen effektiv zu unterbinden. Die starke initiale Wirkstofffreisetzung aus den Knochenblöcken, wodurch hohe Wirkstoffspiegel im Defektbereich erzielt werden können, verdeutlicht zusätzlich die Möglichkeit einer adjuvanten Behandlung bei bereits bestehender Osteomyelitis. Nach einem umfangreichen Debridement kann das wirkstoffbeladene Knochengranulat in den Defektbereich eingebracht werden und so den behandelnden Arzt zusätzlich zu den chirurgischen Maßnahmen und einer systemischen Antibiotikagabe unterstützen.

Kontakt

Dr. Mike Barbeck

Arbeitsgruppenleiter Biomaterialien/
Tissue Engineering
Klinik- und Poliklinik für MKG-Chirurgie
Martinistraße 52
20246 Hamburg
Tel.: 0176 81022467
mike.barbeck@icloud.com