

Wissenschaftliche Stellungnahme zu den Anforderungen im Rahmen der Herstellung des Arzneimittels „Human-Femurkopf, thermodesinfiziert, gefrierkonserviert“

1. Einleitung

Die allogene Knochen transplantation ist in der heutigen Zeit integraler Bestandteil der Behandlung ausgedehnter Knochendefekte, vor allem bei Prothesenwechseloperationen und Rekonstruktionen nach Knochentumorresektionen. In den USA, dem Land mit den weltweit meisten Knochen transplantationen, belief sich im Jahr 2003 die Zahl der verwendeten allogenen Knochen transplantate auf ca. 675.000 (Eastlund and Strong 2003;), derzeit geht man von ca. 1.1 Millionen Anwendungen pro Jahr aus. Laut einer Erhebung aus dem Jahr 1987 in West-Deutschland betrug die Zahl der autologen Knochen transplantationen ca. 14.715 und die der allogenen 6.189 (Knaepler et al. 1990). Knaepler et al. (1994) schätzen den Bedarf an allogenen Knochen transplantaten Anfang der 90er Jahre auf jährlich mindestens 15.000. Inzwischen (2010) wird der Bedarf für die allogene Knochen transplantation auf ca. 30.000 Transplantate pro Jahr geschätzt.

Autologe Knochen transplantate gelten zwar als 'golden standard', sind jedoch aufgrund des eingeschränkten Reservoirs häufig limitiert. Es muss betont werden, dass die autologe Knochen transplantation durch den erforderlichen Zweiteingriff am Beckenkamm mit teils erheblicher und langfristiger Schmerzsymptomatik einhergehen kann. Im Vergleich zu künstlichen Knochenersatzmaterialien, wie Knochenzement,, Hydroxylapatit-Keramiken oder bovinem Material liegt der wesentliche Vorteil allogener Knochen transplantate in deren Fähigkeit, osteokonduktiv und teilweise osteoinduktiv zu wirken. Diese natürlichen Knochen transplantate dienen als Leitsystem für eine knöcherne Durchbauung und bieten somit die ideale, der physiologischen Morphologie entsprechende Architektur. Von wesentlicher Bedeutung ist dabei die Resorbierbarkeit von Transplantat-

bestandteilen, da dem Knochenaufbau über Osteoblasten in aller Regel ein durch Osteoklasten gesteuerter Knochenabbau vorausgeht. In diesem Zusammenhang wird die Proliferation von Mesenchymzellen und deren Weiterdifferenzierung zu Osteoblasten durch frei werdende Substanzen, unter anderem durch sogenannte 'bone morphogenetic proteins' (BMP), angeregt (Katthagen et al. 1987). Weitere Vorteile der allogenen Knochenübertragung liegen in den zur Verfügung stehenden Ressourcen (Knochenbanken) und dem möglichen 'en bloc'-Einsatz. Selbst große Defekte (bis 10 cm) heilen in ersatzstarken Lagern meist komplikationslos ein.

Da im Rahmen des Herstellungsprozesses des Arzneimittels „Human-Femurkopf, thermodesinfiziert, gefrierkonserviert“ ausschließlich Ringerlösung mit dem Femurkopf in Kontakt kommt und das Arzneimittel Gewebe humanen Ursprungs ist und keine darüber hinaus gehenden chemischen Substanzen zugefügt werden, kann auf „klassische“ toxikologische Untersuchungen verzichtet werden. Gleiches gilt für pharmakodynamische Studien, da es nicht zu einer Wirkstofffreisetzung kommt, sondern das avitale Knochengewebe durch osteokonduktive Prozesse, die umfassend belegt sind, in neuen Knochen umgebaut wird. Die klinische Wirksamkeit wurde im Rahmen des Zulassungs- bzw. Genehmigungsverfahrens nach den §§ 21, 21a AMG hinreichend belegt.

Das größte gesundheitliche Risiko stellt die mögliche Übertragung von humanpathogenen Erregern dar. Das Thermodesinfektionssystem „Lobator sd-2“ wurde mit der Zielsetzung entwickelt, diese Risiken zu minimieren.

2. Historie des Marburger Thermodesinfektionssystems

Seit 1992 wurde das durch die Marburger Firma Telos in Zusammenarbeit mit der Klinik für Unfall- und Wiederherstellungschirurgie der Philipps-Universität Marburg (wissenschaftliche Leiter: Prof. Dr. Harald Knaepler, Dr. Thomas von Garrel) entwickelte Thermodesinfektionssystem „Lobator sd-1“ in der klinischen Praxis eingesetzt. Zielsetzung des Systems war es, im Rahmen von TEP-Operationen des Hüftgelenkes entnommene humane Femurköpfe unter Zugabe von Ringerlösung mittels Einwirkung von Wärmeenergie in einem sterilen Thermodesinfektionsgefäß zu desinfizieren und somit eine wirksame Abreicherung von potentiellen Infektionserregern zu erreichen. Die Hitzeeinwirkung bewirkt eine Konformitätsänderung der Proteine.

Im Rahmen der Validierung des Modells „Lobator sd-1“ wurden unter anderem durch das Central Laboratory of the Netherlands Red Cross Blood Service (CLB) umfangreiche Untersuchungen an relevanten Viren (HIV-1, BVDV, CPV) durchgeführt, welche die grundsätzliche Wirksamkeit des Verfahrens belegten. Die Weiterentwicklung des Modells, jetzt als „Lobator sd-2“ im Verkehr, führte zu einer weiteren erhöhten Sicherheit hinsichtlich der Dokumentation jedes Einzelprozesses. Das „Lobator sd-2“-Verfahren wurde durch die Univ.-Gewebebank der Charité Berlin umfassend und erfolgreich geprüft, wobei die Untersuchung neben den Viren auch Bakterien, Sporen und Pilze umfasste.

Neben der Weiterentwicklung der biologischen Sicherheit des Systems wurde 2003 ein neues Thermodesinfektionsgefäß entwickelt, welches erlaubt, den Femurkopf mit Ringerlösung im geschlossenen System zu desinfizieren und zu lagern. Eine Öffnung des Systems zur Entnahme der Ringerlösung (für mikrobiologische Untersuchungen) ist durch Einführung eines 2-Kammer-Systems nicht mehr erforderlich.

3. Wirkung der Thermodesinfektion auf humanpathogene Erreger

Die mögliche Übertragung von humanpathogenen Erregern wurde in mehreren Studien, die sich an den Vorgaben der geltenden Normen der CPMP, des DIN und des Paul-Ehrlich-Institutes orientierten, untersucht. Es wurde der Nachweis erbracht, dass behüllte und nicht-behüllte Virentypen um mehr als $4\log_{10}$ -Stufen $TCID_{50}$ durch die Thermodesinfektion reduziert werden können. Restinfektiositäten waren nicht nachweisbar (Gürtler und Ruckdeschel 1995, von Garrel et al. 1997, CLB 1996a, b und c, Pruss 2003a).

Vegetative Bakterien und Pilze wurden durch die Thermodesinfektion um mehr als $5\log_{10}$ -Stufen CFU/ml ohne verbleibende Restinfektiosität reduziert (Pruss 2003a). Die fehlende Inaktivierungspotenz für bakterielle Sporen und Sporenbildner war bei der wirksamen Phase von mindestens 15 Minuten bei gleich/größer $82,5\text{ °C}$ nicht unerwartet. Im Routineherstellungsprozess spielt dies jedoch keine Rolle, da eine Kontamination mit Sporen bzw. Sporenbildner in Partikel- und Keimzahlüberwachten OP-Bereichen nicht zu erwarten ist und die Entnahme nur von gesunden Spendern ohne Zeichen einer Bakteriämie erfolgt. Die Entnahme selbst findet unter sterilen Bedingungen statt. Nachfolgend soll auf die erwähnten Studien näher eingegangen werden:

Die ersten mikrobiologischen Validierungen des Marburger Thermodesinfektionssystems „Lobator sd“ umfassten Arbeiten zu Viren (HIV-1, BVDV, CPV) und vegetativen Keimen. Diese Untersuchungen wurden durch Knaepler, H. zu Beginn der neunziger Jahre durchgeführt.

In einer ersten Studie untersuchten Knaepler et al. (1992) die thermische Inaktivierung von vegetativen Keimen mittels Thermoinkubator bei 80 °C über 10 Minuten. Als Testkeime in diesem Versuch wurden *Staphylococcus aureus* (ATCC® 6538) und *Staphylococcus faecalis* (ATCC® 6057) als Bioindikatoren verwendet. Beide Erreger wurden vollständig inaktiviert.

Im Jahr 1995 ergänzten Knaepler et al. ihre Validierungsversuche für die Thermoinkubation bei 80 °C durch die Untersuchung von *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* und *Pseudomonas aeruginosa*. Des Weiteren untersuchte er 3 Testviren; *Cytomegalieviren* (Herpesgruppe), *Polio-Viren* (Enteroviren) und *Gelbfieber-Viren* (Flaviviren). Bei den Bakterien wies er eine vollständige Inaktivierung ($6\log_{10}$) der Testkeime und bei den Viren eine Reduktion von mindestens $5\log_{10}$ -Stufen nach. Diese Untersuchungen umfassten jedoch lediglich Temperatur/Zeit-Kinetiken, die den Lobator-Temperaturen während des Behandlungszyklus entsprachen, allerdings ohne Knochenkontakt.

Gürtler und Ruckdeschel (1995) und von Garrel et al. (1997) untersuchten die Wirksamkeit des Thermodesinfektionssystems „Lobator sd-1“ hinsichtlich der HIV-1-Inaktivierung. Sie brachten PCR-tubes mit HIV-1-Viren, deren Titer 10^{10} war, in den Knochenkern ein und wiesen bei 80°C eine vollständige Inaktivierung des HIV-Virus nach.

T. von Garrel (2006) konnte in mehreren Versuchsreihen mit verschiedenen humanpathogenen Viren (z.B. HIV, CPV) sowie verschiedenen humanpathogenen Bakterien (z.B. *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*) nachweisen, dass durch die Thermodesinfektion im Lobator-System keine virulenten Viren und pathogene Bakterien vorhanden waren.

Untersuchungen von Frommelt (1998), der mikrobiologische Kontrollen an 2.458 thermodesinfizierten Femurköpfen durchführte, belegen die ausgezeichnete Inaktivierungswirkung gegenüber vegetativen Erregern und damit die Eignung für die klinische Praxis.

Das CLB (Central Laboratory of the Netherlands Red Cross Blood Transfusion Service; Department Clinical Viro-Immunology) in Amsterdam validierte das „Lobator sd-1“ System mit BVDV (Bovines Virus Diarrhoe Virus) als Modelvirus für HCV und mit CPV (Canines Parvovirus) als Modelvirus für HBV, in dem sie mit einer Virensuspension gefüllte PCR-tubes in den Knochen einbrachten. Nach Beendigung des thermischen Desinfektionsprozesses waren keine infektiösen Viren mehr feststellbar. Die Reduktionsfaktoren (\log_{10}) betrugen für BVDV $> 4,59$ sowie $> 5,21$ und für CPV $> 5,87$. Die in den o.g. Arbeiten beschriebene Verwendung von PCR-tubes, welche die Virussuspension enthalten und im Zentrum des Femurkopfes eingesetzt werden, erschienen für die Messung der keiminaktivierenden Wirksamkeit des Thermodesinfektionsverfahren am Femurkopfmodell theoretisch eingeschränkt, da hier zwar ein optimaler Energietransfer auf die Erregerlösung gewährleistet ist, aber eine mögliche Einwirkung von Blut- und Knochenbestandteilen auf die Kontaminationskeime entfällt. In diesen Versuchsansätzen fehlte der direkte Kontakt zwischen Virus und Knochen. Damit geben diese Versuchsmodelle keine physiologisch reale Bedingung für die Simulation der in-vivo-Bedingungen wieder.

Nahezu physiologische Bedingungen wurden in den Folgestudien am Modell „Lobator sd-2“ zur Inaktivierung von viralen und nicht-viralen Erregern durch Kao, M. (Gutachten zur viralen Inaktivierungspotenz des Lobator sd-2, 2002) und Pruss et al. (2003 a und b, in Anlage) angewendet, da hier die Erregersuspension in einen Bohrkanal direkt in den spongiösen Femurkopfzylinder pipetiert wurde. Somit war gewährleistet, dass die Prüfkeimsuspension allseitig im Kontakt mit Knochengewebe steht. Durch den direkten Kontakt zwischen Erreger und Knochen wurde einerseits eine praxisnahe Simulation von in-vivo-Bedingungen erzeugt und andererseits der Temperaturverlauf bei der "normalen" Thermodesinfektion im nativen Femurkopf berücksichtigt. Als Kontaminationskeime wurden Bakterien, Viren, Pilze und *Bacillus subtilis*- und *Aspergillus niger*-Sporen ausgewählt, die einerseits den gesetzlich zutreffenden Normen Rechnung tragen und andererseits eine klinisch relevante Bedeutung haben.

Es wurde geprüft, ob und in welchem Ausmaß die Keime, darunter hoch, mittel und wenig hitzeresistente Erreger, durch den Erhitzungsprozess des „Lobator sd-2“-Systems reduziert bzw. inaktiviert werden. Zielgröße war eine Reduktion der Infektiosität klinisch relevanter umhüllter (HIV, Pseudorabies-Virus, BVDV als HCV-Modellvirus) und nicht umhüllter (HAV, Poliovirus 1, BPV als HBV-Modellvirus) Viren um mehr als 4 log₁₀-Stufen sowie ausgewählter Bakterien und Pilze um 5 log₁₀-Stufen. Die Untersuchungen beinhalteten Inaktivierungsexperimente an

- drei umhüllten Viren (Bovines Virus Diarrhoe Virus (Modellvirus für das Hepatitis C-Virus), Pseudorabies-Virus, Humanes Immundefizienz Virus Typ-2 (HIV-2)),
- drei nicht umhüllten Viren (Hepatitis A-Virus, Poliomyelitis-Virus Typ 1, Bovines Parvovirus als Modellvirus für das Hepatitis B-Virus),
- Bakterien (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* einschließlich Sporen, *Mycobacterium terrae*, *Clostridium sporogenes*) und
- Pilzen (*Candida albicans*, *Aspergillus niger*-Sporen).

Das Zentrum des humanen Femurkopfes wurde mit der jeweiligen hoch angereicherten freien Keim-/Virussuspension so kontaminiert bzw. „gespikt“, dass ein direkter Kontakt zwischen Erreger und Knochengewebe erzeugt wurde.

Durch vorhergehende thermophysikalische Messungen der Kerntemperatur in gemäß dem Modellversuch präparierten Femurköpfen konnte nachgewiesen werden, dass an jeder Stelle des entknorpelten Femurkopfes (Durchmesser < 56 mm) für mindestens 15 Minuten 82,5 °C (wirksamste Phase der Keiminaktivierung) erreicht wurden.

Alle getesteten Viren wurden nach Abschluss der Thermodesinfektion vollständig inaktiviert und um mehr als 4 log₁₀-Stufen abgereichert (außer ein HIV-2 Versuch ≥ 3,51 log₁₀ – zu geringer Ausgangstitel). Die erzielten Ergebnisse wurden statistisch durch das 95%ige Konfidenzintervall abgesichert. Die vegetativen Bakterien und Pilze wurden ebenfalls vollständig inaktiviert (≥ 6 log₁₀ im Überstand).

Sporen von Bakterien und Sporenbildner wurden erwartungsgemäß nicht ausreichend bzw. nicht inaktiviert. Letzteres kann im normalen „Lobator sd-2“-Verfahren jedoch vernachlässigt werden, da das Ausgangsgewebe unter sterilen Bedingungen im Operationssaal gewonnen wird und der Herstellungsprozess eine sekundäre Sporen-Kontamination ausschließt. Schließlich sichert eine Sterilkontrolle nach Abschluss des Desinfektionsprozesses die Wirksamkeit des Verfahrens. Die Ergebnisse zeigen, dass durch die Behandlung humaner Femurköpfe im thermischen Desinfektionssystem „Lobator sd-2“ die Inaktivierung von klinisch relevanten sowie hoch resistenten Erregern einschließlich Viren in hinreichendem Maß erfolgt.

Unter Berücksichtigung physiologischer Schwankungen hinsichtlich Morphologie und Fettgehalt wird ein Querdurchmesser des zu behandelnden Femurkopfes von ≤ 56 mm angestrebt. Um die Infektionssicherheit der thermodesinfizierten Femurköpfe zu erhöhen, ist jedoch zusätzlich eine Anamneseerhebung sowie die Durchführung der infektionsserologischen Untersuchungen gemäß den Vorgaben der „Richtlinien zum Führen einer Knochenbank der Bundesärztekammer“ zwingend notwendig.

4. Bewertung der Anforderungen an Reinraumbedingungen

In Anbetracht der erzielten Ergebnisse und den Vorgaben der vorhandenen Richtlinien und Normen ist das potenzielle Risiko, Infektionskrankheiten viraler, bakterieller und mykotischer Genese durch die Transplantation allogener Knochentransplantate, die mit dem System „Lobator sd-2“ behandelt wurden, zu übertragen, als äußerst gering zu erachten. Das Verfahren wurde durch das Paul-Ehrlich-Institut in Kombination mit der sehr umfangreichen Anamneseerhebung, der klinischen Untersuchung sowie der Testung auf Infektionsmarker mittels serologischer (Anti-HIV, Anti-HCV, HBsAg, Anti-HBc, TPHA) als validiertes Mikroben-Inaktivierungsverfahren eingestuft. Hinzu kommt, dass jedes Fertigarzneimittel vor der Freigabe einer Prüfung auf Sterilität gemäß Ph. Eur. 2.6.27 unterzogen wird.

Gemäß § 36 (2) AMWHV ist i. V. m. der EU-Richtlinie 2006/86/EC festgelegt:

(2) Die Betriebsräume und Ausrüstungen nach § 5 und die Hygienemaßnahmen nach § 6 müssen geeignet sein, die Eigenschaften des Gewebes zu schützen, die für seine Verwendung erforderlich sind und das Risiko einer mikrobiellen Verunreinigung während der Be- oder Verarbeitung minimieren:

1. Soweit die Gewebe während ihrer Be- oder Verarbeitung der Umgebung ausgesetzt werden, muss dies in einer Umgebung mit festgelegter Luftqualität und Sauberkeit erfolgen. Die Wirksamkeit dieser Maßnahmen ist zu validieren und zu überwachen.

2. Sofern die Gewebe ... keinem Inaktivierungs- oder Sterilisationsverfahren unterzogen werden, ist während der Be- oder Verarbeitung ein Luftreinheitsgrad für Keimzahl und Partikelzahl entsprechend Klasse A der Definition des EG-GMP Leitfadens, Anhang 1 (Bekanntmachung vom 12. März 2008, BAnz. S. 1217), mit einer für die Be- oder Verarbeitung des Gewebes geeigneten Hintergrundumgebung, die in Bezug auf Partikel- und Keimzahl mindestens der Klasse D des Anhangs 1 des Leitfadens entspricht, erforderlich. Von den Anforderungen an die Umgebung kann abgewichen werden, wenn

a) ein validiertes Verfahren zur Inaktivierung der Keime oder zur Endsterilisation angewendet wird

....

Aus dem oben geführten Nachweis, dass es sich bei der Thermodesinfektion um ein validiertes Inaktivierungsverfahren handelt, ist es daher möglich, von den Anforderungen an die Reinraum-

klassen im Rahmen der Herstellung abzuweichen (siehe auch Wanninger und Mähltz, 2009). Insbesondere ist es nicht erforderlich, eine raumluftechnische Anlage zu installieren, die Hintergrundbedingungen der RR-Klasse D erzeugt.

Trotzdem müssen die Rahmenbedingungen bei der Herstellung ausreichende Sicherheitsbedingungen garantieren.

5. Fazit

In der Gesamtbetrachtung und unter Bewertung der Risiken entspricht die Herstellung des Arzneimittels „Human-Femurkopf, thermodesinfiziert, gefrierkonserviert“ in den Räumen der Univ.-Gewebebank der Charité unter Beachtung folgender Sicherheitskriterien

- Spenderauswahl (Anamneseerhebung, klinische Untersuchung, radiologische Kontrolle)
- Serologische Testung auf virale Infektionsparameter
- Aseptische Gewinnung des Femurkopfes im OP nach standardisierten Verfahren (zweizeitige Hautdesinfektion, sterile Entnahme, steriles Entknorpeln, steriles Verpacken und Lagern)
- Thermodesinfektion mittels validiertem Mikroben-Inaktivierungsverfahren (PEI-Zul.-Nr. H.03410.01.1)

den Anforderungen an die erforderliche Sicherheit eines Arzneimittels für die Anwendung am Menschen.

Priv.-Doz. Dr. med. habil. Axel Pruß
Facharzt für Transfusionsmedizin

Literatur

- CLB Virus Safety services V-21, Final Report, FR 3200, Process validation „Lobator sd-1“ for inactivation of BVDV, January 26, 1996a
- CLB Virus Safety services V-21, Final Report FR 3201, Process validation “Lobator sd-1” for inactivation of BVDV, May 8, 1996b
- CLB Virus Safety services V-21, Final Report, FR 3202, Process validation „Lobator sd-1“ for inactivation of CPV, May 8, 1996c
- CLB Department of Immuno-Hematology Diagnostics. Inactivation of RBC antigens by telos thermal disinfection system. November, 19, 1996d
- Eastlund, T. and Strong, M. Infectious disease transmission through tissue transplantation. In: Advances in Tissue Banking. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., 2003; Vol. 7: 51-131
- EATB/EAMST Common standards for musculo skeletal tissue banking. OBIG-Transplant, Vienna, Austria. 1997
- Endres, S., Katz, M., Heinz, M., Herzberger, C., Reichel, S., von Garrel, T., Gotzen, L., Wilke, A. Biokompatibilitätstestung unterschiedlich sterilisierter bzw. desinfizierter allogener Knochentransplantate im Vergleich zum Goldstandard der autologen Knochenspende – eine „*In-Vitro*“- Analyse der Immunmodulation. Z Orthop, 2005; 143: 660-668
- Frommelt, L. Disinfection of Femoral Head Using the Lobator Marburg Bone Bank System (Lobator sd1) – A retrospective evaluation of quality control in the ENDO-KLINIK bone bank. ENDO-Klinik, Hamburg, 25.05. 1998
- Gerber, A. and Gogolewski, S. Reconstruction of large segmental defects in the sheep tibia using polylactide membranes. A clinical and radiographic report. Injury, 2002; 33(Suppl 2): 43-57
- Günther, K.P., Scharf, H.P., Pesch, H.J., Puhl, W. Einwachsverhalten von Knochenersatzstoffen. Orthopäde, 1998; 27(2): 105-117
- Gürtler, L. and Ruckdeschel, G. Evaluation of the inactivation of HIV-1 in human femoral heads by heat treatment to 80°C in a heating device (Lobador SD-1). WHO collaborating Centre for Reference and Research on AIDS, 1995
- Hallfeldt, K.K.J., Kessler, S., Puhlmann, M., Mandelkow, H., Schweiberer, L. Der Einfluss verschiedener Sterilisationsverfahren auf die osteoinduktiven Eigenschaften demineralisierter Knochenmatrix. Unfallchirurg, 1992; 95(7): 313-318
- Kao, M. Studie über die virusinaktivierende Wirksamkeit der Thermodesinfektion durch das Marburger Knochenbanksystem “Lobator sd-2” in humanen Femurköpfen. Kassel, 17.10.2002
- Katthagen, B.D. Knocheninduktion mit “Bone morphogenetic protein” (BMP). Z Orthop, 1987; 125: 559-566
- Knaepler, H. Thermische Spongiosa-Desinfektion. Med-Report, 1995; 33: 2-3
- Knaepler, H., Ascherl, R., Kretschmer, V. Immunisierung gegen Blutgruppenantigene durch allogener Knochentransplantation. Chirurg, 1990; 61(11): 830-832.

Knaepler, H., Haas, H., Püschel, H.U. Biomechanische Eigenschaften thermisch und radioaktiv behandelte Spongiosa. Unfallchirurgie, 1991; 17(4): 194-199

Knaepler, H., von Garrel, T., Seipp, H.M., Ascherl, R. Experimentelle und klinische Untersuchungen zur thermischen Desinfektion allogener Knochentransplantate und deren Einbauverhalten. Orthop. Praxis, 1992b; 1: 23-27

Knaepler, H., von Garrel, T., Gotzen, L. Untersuchungen zur Desinfektion und Sterilisation allogener Knochentransplantate. Hefte zu der Unfallchirurg, Hrsg. Schweiberer, L. und Tscherne, H. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, 1994

Kutschka, I., Schoch, M., Porzky, M., Ascherl, R., Knaepler, H. und Blümel, G. Heilungsergebnisse von autoklavierten und wärmebehandelten allogenen Spongiosatransplantate. Der Unfallchirurg, 1994; 241: 196-201

Pruss, A., Kao, M., von Garrel, T., Frommelt, L., Gürtler, L., Benedix, F., Pauli, G. Virus inactivation in bone tissue transplants (femoral heads) by moist heat with the `Marburg bone bank system`. Biologicals, 2003a; 31(1): 75-82 (in Anlage)

Pruss, A., Seibold, M., Benedix, F., Frommelt, L., von Garrel, T., Gürtler, L., Dörffel, Y., Pauli, G., Göbel, U.B. Validation of the `Marburg bone bank system` for thermodesinfection of allogenic femoral head transplants using selected bacteria, fungi, and spores. Biologicals, 2003b; 31(4): 287-294 (in Anlage)

von Garrel, T., Knaepler, H., Gürtler, L. Untersuchungen zur Inaktivierung von HIV-1 in humanen Femurköpfen durch Verwendung eines thermischen Desinfektionssystems Lobator SD-1. Unfallchirurg, 1997; 100: 375-381

Wanninger, G., Mähltz, J. Anforderungen der Landesbehörde. In: Pühler, Middel, Hübner (Hrsg.) Praxisleitfaden Gewebegesetz, Deutscher Ärzte-Verlag Köln, 2009: 137-175.

Wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer. Richtlinien zum Führen einer Knochenbank. Dt Ärzteblatt, 2001; 98(15): 1011-1016