

Komplikationen nach intraartikulärer Anwendung von ACS (IRAP®) beim Pferd – Retrospektive Studie

Kristina Warner und Christoph J. Lischer

Freie Universität Berlin, Klinik für Pferde, Chirurgie und Radiologie, Berlin

Zusammenfassung: Autologem Conditioniertem Serum (ACS) wird eine hohe Sicherheit zugesprochen, die in veterinärmedizinischen Studien bisher nicht mit einer größeren Patientenzahl belegt wurde. Ziel dieser Studie war die Bestimmung einer Komplikationshäufigkeit und potentieller Risikofaktoren anhand einer größeren Anzahl von Pferden, die intraartikuläre Injektionen mit ACS erhielten. Dafür wurden die Krankenakten von Pferden, bei denen mindestens ein Gelenk der Vorder- oder Hintergliedmaße mit ACS behandelt wurde, retrospektiv ausgewertet. Als potentielle Risikofaktoren galten diagnostische Gelenksinjektionen bis zu drei Tage vor der ACS-Injektion, Medikamente oder Antibiotika, die systemisch oder intraartikulär gleichzeitig mit ACS verabreicht wurden, und Arthroskopien bzw. Gelenkspülungen, die in einem zeitlichem Abstand von bis zu 47 Tagen vor der intraartikulären ACS-Injektion durchgeführt wurden. Insgesamt wurden bei 387 Pferden 1.445 Gelenksinjektionen durchgeführt. Die Komplikationshäufigkeit nach einer intraartikulären ACS-Injektion wurde mit der adjustierten Waldmethode ermittelt und betrug 4,8 pro 1.000 Injektionen (95% KI 1,7–9,3). Um diese Komplikationshäufigkeit in einer prospektiven Studie abzusichern, sollten mindestens 5.900 Probanden pro Gruppe behandelt werden. Schwerwiegende oder lebensbedrohliche Komplikationen wurden nicht beobachtet. Die intraartikuläre Applikation von ACS geht mit einem geringen Komplikationsrisiko einher.

Schlüsselwörter: Pferd / ACS / Autologes Conditioniertes Serum / Gelenkinjektion / intraartikuläre Injektion / Komplikation / Komplikationshäufigkeit / Risikofaktoren

Complications after intra-articular application of ACS (IRAP®) in horses – retrospective study

Autologous Conditioned Serum (ACS) is considered to have a high level of safety, which has not yet been statistically validated in a large number of veterinary patients. The aims of this study were to determine the frequency of complications and potential risk factors for a larger number of horses who received intra-articular injections with ACS. For this purpose medical records of horses that had been treated at least in one joint of the fore- or hindlimb with ACS were evaluated retrospectively. Potential risk factors were diagnostic joint injections up to three days prior to ACS injection, drugs or antibiotics administered systemically or intra-articularly at the same time as ACS, and arthroscopies and joint lavages, respectively, at a time interval of up to 47 days before intra-articular ACS injection. A total number of 1,445 joint injections were carried out on 387 horses. The complication rate after intra-articular ACS injection was determined by the adjusted Wald method and was 4.8 per 1,000 injections (95% CI 1.7–9.3). To ensure this complication rate in a prospective study, at least 5,900 subjects per group should be treated. Serious or life-threatening complications were not observed. The intra-articular administration of ACS is associated with a low complication risk.

Keywords: horse / ACS / autologous conditioned serum / joint injection / intra-articular injection / complication / complication rate / risk factors

Zitation: Warner K., Lischer C. J. (2017) Komplikationen nach intraartikulärer Anwendung von ACS (IRAP®) beim Pferd – Retrospektive Studie. *Pferdeheilkunde* 33, 356-362; DOI 10.21836/PEM20170405

Korrespondenz: Kristina Warner, Demminer Str. 23, 13355 Berlin, E-Mail: kristina.warner@gmx.de

Einleitung

Bei der Behandlung von Gelenkerkrankungen von Pferden wird die intraartikuläre Medikation gegenüber der systemischen bevorzugt, da eine relativ hohe Konzentration des Wirkstoffes am Wirkort erreicht wird und ein geringeres Risiko für systemische Nebenwirkungen besteht (Caron 2005, Ehrle et al. 2013). Jedoch kann es durch eine intraartikuläre Injektion zu Komplikationen kommen, die entweder durch die Vorgehensweise selbst oder durch das applizierte Arzneimittel verursacht werden (Dooley und Martin 2002). Durch die Punktion kann es unter anderem zu periartikulären Schäden, zu oberflächlichen Verletzungen des Knorpels durch die Kanüle oder auch zu lokalen Nervenschädigungen kommen. Applizierte Arzneimittel können aufgrund ihres Nebenwirkungsprofils und durch ihr allergisches Potential Komplikationen verursachen (Bergmann 2010). Die schwerwiegendste Komplikation ist die septische Arthritis, da sie potentiell lebensgefährlich ist (Morton 2005). Bakterien, die durch die Punktion in das Gelenk eingebracht werden, haben das

Potential starke Entzündungsreaktionen zu verursachen, die zu irreversiblen Gelenkschäden führen können (Morton 2005, Steel et al. 2013). Besonders gravierend ist die Situation, wenn multiresistente Bakterien wie Methicillin-resistente Staphylokokken oder Extended-Spectrum- β -Laktamase (EBSL)-produzierende Enterobakterien ins Gelenk gelangen (Boyen et al. 2013, Maddox et al. 2015).

Der Tierarzt muss mit der erforderlichen Sorgfalt Vorsichtsmaßnahmen ergreifen, um das Risiko einer septischen Arthritis möglichst gering zu halten (Gesellschaft für Pferdemedizin e.V. 2013). Dazu gehören Scheren und eine antiseptische Vorbereitung der Injektionsstelle, das Tragen von sterilen Handschuhen, die Verwendung von Einwegspritzen und -nadeln, sowie die Entnahme des Medikaments aus original verschlossenen Flaschen (Caron 2005, Bergmann 2010, Gesellschaft für Pferdemedizin e.V. 2013). Unter Einhaltung dieser Vorsichtsmaßnahmen tritt eine septische Arthritis in seltenen Fällen auf (Steel et al. 2013).

Neben der konventionellen Behandlung von Gelenkserkrankungen mit Glukokortikoiden und Hyaluronsäure haben sich in den letzten Jahren regenerative Therapien, zu denen das Autologe Conditionierte Serum (ACS) gehört, in der Pferde-medicin etabliert.

ACS ist ein mit verschiedenen körpereigenen Zytokinen und Wachstumsfaktoren angereichertes Serum. Indikationen bei Pferden sind akute Gelenkentzündungen, chronische Osteoarthritis (Frisbie et al. 2007, Warner et al. 2016), oder nach Arthroskopien, bei denen Knorpelläsionen dargestellt wurden (McIlwraith 2011, Textor 2011, Orthogen Veterinary GmbH 2014).

Zur Gewinnung von ACS wird mit einer Spezialspritze unter aseptischen Bedingungen venöses Patientenblut entnommen, das für 24 Stunden mit chromsulfatbeschichteten Glasperlen bei 37°C inkubiert wird (Meijer et al. 2003). Danach wird es für 10 Minuten zentrifugiert und das Serum mit einer 20 ml bis 30ml-Spritze aspiriert. Anschließend wird ACS unter Verwendung von Sterilfiltern und Adaptern auf mehrere Reinjektionsspritzen aufgeteilt. Das portionierte ACS kann nun entweder direkt in ein erkranktes Gelenk injiziert oder bei mindestens -18°C für maximal sieben Monate gelagert werden (Orthogen Veterinary GmbH 2014). Wichtig ist bei allen Herstellungsschritten eine aseptische Technik, damit weder das Vollblut noch das ACS kontaminiert werden. Bei der Aliquotierung des Serums und der intraartikulären Applikation werden zusätzlich Sterilfilter verwendet (Jöstingmeier 2009, Orthogen Veterinary GmbH 2014).

Im Herstellungsprozess findet keine Aufreinigung eines bestimmten Proteins statt (Textor 2011). Die weißen Blutzellen produzieren während der Inkubationszeit zum einen vermehrt antiinflammatorisch wirkende Zytokine, wie Interleukin-1 Rezeptorantagonist (IL-1Ra), IL-4, IL-10 (Meijer et al. 2003) und Wachstumsfaktoren wie IGF-1 und TGF- β (Hraha et al. 2011). Zum anderen bilden sie aber auch vermehrt die proinflammatorischen Zytokine Interleukin-1 β (IL-1 β) und Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) (Rutgers et al. 2010, Hraha et al. 2011), die aktuell als die bedeutendsten Entzündungsmediatoren bei Gelenkserkrankungen gelten (Sutton et al. 2009). Die positive Wirkung von ACS wird bisher auf IL-1Ra zurückgeführt (Meijer et al. 2003, Frisbie et al. 2007). Dieses Protein hemmt durch die kompetitive Bindung an IL-1-Rezeptoren die knorpelabbauende Wirkung von IL-1 (Arend et al. 1998, Sutton et al. 2009). Vermutet wird, dass weitere Zytokine und Wachstumsfaktoren für die beobachteten klinischen Verbesserungen mitverantwortlich sind (Frisbie et al. 2007, Hraha et al. 2011).

Obwohl weder die Zusammensetzung von ACS noch der Wirkmechanismus oder das Zusammenspiel der Zytokine und Wachstumsfaktoren im Gelenk vollständig verstanden sind (Frisbie et al. 2007, Hraha et al. 2011, Frizziero et al. 2013, Warner et al. 2016), und die Empfehlung für den Einsatz von ACS bei Pferden teilweise auf Erfolgsmeldungen aus der Humanmedizin, auf Anekdoten und wenigen experimentellen Untersuchungen beruht (McIlwraith 2011, Textor 2011), sind Tierärzte und Besitzer von der Idee der körpereigenen regenerativen Therapie begeistert (Textor 2011). Das hat zur Folge, dass die klinische Anwendung den Erkenntnissen der Forschung über ACS vorausgeeilt ist (Textor 2011).

ACS wird wegen des autologen Charakters eine hohe Sicher-

heit zugesprochen (Baltzer et al. 2009, Textor 2011). Aus der Humanmedizin liegen zwei randomisierte, kontrollierte Studien über die intraartikuläre Behandlung der Gonarthrose mit ACS vor. Von 134 Patienten, die innerhalb von drei Wochen sechs ACS-Injektionen erhielten, wurden bei 23% leichte bis mäßige Komplikationen, wie Schmerzen und Druckgefühl beobachtet. Sie klangen innerhalb von 24 Stunden wieder ab und bedurften keiner weiteren Behandlung (Baltzer et al. 2009). Bei der Behandlung von insgesamt 167 Patienten, die ebenfalls innerhalb von drei Wochen sechs Injektionen entweder mit ACS (89 Patienten) oder Placebo (78 Patienten) erhielten, traten in beiden Gruppen gleichermaßen subjektiv gefühlte Knieschmerzen und Reizungen auf. Zwei Patienten der ACS-Gruppe entwickelten zudem schwerwiegende Komplikationen (Auw Yang et al. 2008). Ein Patient wies wiederholt schwere, schmerzhaftes Entzündungsreaktionen am behandelten Knie innerhalb von Stunden nach der Injektion auf. Ein anderer Patient entwickelte eine septische Arthritis. In der Kontrollgruppe traten keine schwerwiegenden Komplikationen auf. Aufgrund der teils widersprüchlichen und unzureichenden Studienlage sprechen sich sowohl die Deutsche Gesellschaft für Rheumatologie e.V. als auch die humanmedizinische Fachzeitschrift *Arznei-Telegramm* gegen den intraartikulären Einsatz von ACS zur Behandlung von Gelenkserkrankungen bei Menschen aus (Rehart et al. 2009, *Arznei-Telegramm* 2012, Deutsche Gesellschaft für Rheumatologie e.V. 2014). Sie sehen aufgrund des nicht eindeutig geklärten Nutzens in der Anwendung von ACS nicht zu rechtfertigende Risiken für den Patienten.

In der Veterinärmedizin gibt es bisher keine größeren Studien, welche die Komplikationen nach intraartikulären ACS-Injektionen untersuchen. Bei drei Studien mit 8, 12 bzw. 27 Pferden traten keine Komplikationen auf (Frisbie et al. 2007, Jöstingmeier 2009, Lasarik et al. 2016). Jedoch war die Anzahl der durchgeführten Injektionen, und damit die Wahrscheinlichkeit ein seltenes Ereignis zu beobachten, in diesen Studien gering. Ziel dieser retrospektiven Studie war deshalb die Untersuchung von Komplikationen bei einer größeren Anzahl von Pferden, die intraartikuläre Injektionen mit ACS erhielten. Es wurden die Art und Häufigkeit von Komplikationen sowie potentielle Risikofaktoren ermittelt.

Material und Methoden

Aus fünf Pferdekliniken in Deutschland standen die Krankenakten von Pferden zur Verfügung, bei denen im Zeitraum von Januar 2007 bis Juni 2010 mindestens ein Gelenk der Vorder- oder Hintergliedmaße mit ACS (IRAP®) behandelt wurde. Eine bereits bestehende septische Arthritis vor Behandlungsbeginn mit ACS führte zum Ausschluss. Aus den Krankenakten wurden Signalement, behandeltes Gelenk, Indikation, Zeitpunkt der intraartikulären Applikation von ACS, sowie Behandlungen mit Medikamenten oder Antibiotika, die entweder systemisch oder intraartikulär gleichzeitig mit ACS verabreicht wurden, erfasst. Weiter erfasst wurden diagnostische Gelenksinjektionen bis zu 3 Tage vor der ACS-Injektion und Arthroskopien bzw. Gelenksspülungen, die in einem zeitlichen Abstand von bis zu 47 Tagen vor der intraartikulären ACS-Injektion durchgeführt wurden. Im Fall von Komplikationen wurden Art und Zeitraum bis zum Auftreten der Komplikation und Behandlung der Komplikation erfasst. Gelenksspülungen

werden im Folgenden den Arthroskopien zugeordnet. Die Aufarbeitung des ACS und die intraartikuläre Applikation mit einem Sterilfilter erfolgten nach Anweisungen des Herstellers. Abweichende Handhabungen waren nicht üblich bzw. waren nicht dokumentiert.

Beurteilung einer Komplikation

Die beobachteten Komplikationen wurden in drei Schweregrade unterteilt. Als leichte Komplikationen galten jene, die sich ohne weitere Behandlung besserten. Als moderate Komplikationen wurden jene eingestuft, die durch einen Tierarzt behandelt werden mussten, aber nicht potentiell lebensgefährlich waren. Potentiell lebensgefährliche Komplikationen, wie eine septische Arthritis, wurden als schwerwiegend eingestuft.

Datenanalyse

Die Datenanalyse erfolgte mit den Softwareprogrammen IBM SPSS Statistics Version 23 und R Version 3.2.2. Komplikationshäufigkeiten und die entsprechenden Konfidenzintervalle (KI) wurden aufgrund der wenigen beobachteten Komplikationen mit der adjustierten Waldmethode berechnet. Durch die logistische Regression wurde der Einfluss des Alters auf die Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer Komplikation untersucht. Mit dem exakten Test nach Fisher wurde auf einen statistischen Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer Komplikation und den Merkmalen Rasse, Geschlecht, behandeltes Gelenk sowie potentiellen Risikofaktoren untersucht. Zusätzlich wurde ein multivariablen logistisches Regressionsmodell verwendet, um gleichzeitig den Einfluss mehrerer potentieller Risikofaktoren auf die Komplikationshäufigkeit zu untersuchen. Als potentielle Risikofaktoren galten diagnostische Gelenksinjektionen bis zu 3 Tage vor der ACS-Injektion, Medikamente oder Antibiotika, die entweder systemisch oder intraartikulär gleichzeitig mit ACS verabreicht wurden, und Arthroskopien bzw. Gelenkspülungen, die in einem zeitlichem Abstand von bis zu 47 Tagen vor der intraartikulären ACS-Injektion durchgeführt wurden. Nach manueller Rückwärtsselektion verblieben die Risikofaktoren „gleichzeitig intraartikulär applizierte Arzneimittel (ohne Antibiotika)“, „gleichzeitige systemische Arzneimittelgabe (ohne Antibiotika)“ und „vorhergegangene Arthroskopie“ im finalen Model. Für alle Verfah-

ren wurde das Signifikanzniveau auf $\alpha=0,05$ und das Konfidenzintervall auf 95% festgelegt. Für die Auswertung der Daten wurden Einzelinjektionen betrachtet.

Der Chi-Quadrat-Test wurde zur Fallzahlberechnung einer kontrollierten prospektiven Studie verwendet. Als Voraussetzung dafür diente die in dieser Studie ermittelte Komplikationshäufigkeit von ACS-Injektionen ohne vorhergegangene Arthroskopie. Für die Kontrollgruppe wurde die mittlere Komplikationshäufigkeit von 0,14% nach Gelenksinjektionen aus der Arbeit von Bergmann (2010) verwendet. Als Teststärke wurde 80% definiert.

Ergebnisse

Es erfüllten 387 Pferde die oben genannten Kriterien. Das Patientengut setzte sich aus 280 Warmblütern, 52 Vollblütern, 26 Ponys und 24 sonstigen Rassen zusammen. Bei fünf Pferden war die Rasse unbekannt. Das Geschlecht war von 380 Pferden erfasst worden. Es waren 131 Stuten, 199 Wallache und 50 Hengste. Das Alter zum Zeitpunkt der Erstvorstellung reichte von 1 Jahr bis 24 Jahre (Durchschnittsalter 9,7 Jahre, Modus 5,5 Jahre, Median 9,3 Jahre).

Insgesamt wurden 1.445 Gelenksinjektionen mit ACS (IRAP®) vorgenommen. Das durchschnittliche Injektionsintervall betrug 34,3 Tage (Modus 14, Median 14, Spanne 1 - 1.155). Im Durchschnitt wurde jedes Gelenk mit 2,7 Injektionen (Modus 1, Median 3, Spanne 1 bis 13 Injektionen) behandelt. Bei sechs Pferden waren insgesamt sechs moderate Komplikationen dokumentiert, die behandelt werden mussten, aber nicht potentiell lebensbedrohlich waren. Diese Komplikationen wurden innerhalb von 20 Tagen (Durchschnitt 4, Modus 0, Median 1, Spanne 0 - 20), entweder in der Klinik oder nach erneuter Klinikeinweisung aufgrund der Komplikation, festgestellt. Die Komplikationen äußerten sich in hochgradiger Lahmheit (3 Pferde) oder einer lokalen Schwellung (3 Pferde). Drei Pferde wurden zusätzlich mit anderen Medikamenten behandelt, wie Phenylbutazon per os (2 Pferde) oder Clodronsäure intramuskulär und intraartikulär (1 Pferd) (Tab. 1). Eine Gelenkspunktion von Fall 5 lieferte keinen Hinweis auf eine septische Arthritis.

Tab. 1 Übersicht der Komplikationen und deren Behandlung / *Overview of the complications and their treatment*

Fall	Gelenk	Weitere Medikamente zu ACS	Arthroskopie	Komplikation	Meldung der Komplikation	Behandlung der Komplikation
1	HG VR	Nein	Nein	Hochgradige Lahmheit direkt nach Injektion	Sofort	Flunixin i.v.
2	FG VR	Clodronsäure i.m., Clodronsäure i.a.	Nein	Hochgradige Lahmheit direkt nach Injektion	Sofort	Phenylbutazon i.v.
3	FG HL	Nein	26 Tage vor Injektion	Dick geschwollenes und warmes Gelenk	2 Tage p.i.	NSAID und Antibiotika
4	FG HR	Phenylbutazon oral	Nein	Gering- bis mittelgradige Phlegmone der Röhre	20 Tage p.i.	Phenylbutazon oral, Einbandagieren
5	Tarsus HL	Phenylbutazon oral	4 Tage vor Injektion	Relativ schlechte Belastung	1 Tag p.i.	Phenylbutazon oral und Antibiotika
6	FG VL	Nein	Nein	Gelenk geringgradig geschwollen und warm	1 Tag p.i.	Percutin, kühlen

HG = Hufgelenk; FG = Fesselgelenk; VR = vorne rechts; VL = vorne links; HL = hinten links; HR = hinten rechts / HG = coffin joint; FG = fetlock joint; VR = right forelimb; VL = left forelimb; HL = left hindlimb; HR = right hindlimb

Tab. 2 Anzahl der Gelenksinjektionen, Komplikationen und Komplikationshäufigkeiten für die Merkmale Alter, Rasse, Geschlecht und behandeltes Gelenk / *Number of joints injected, complications and complication rates for the characteristics of age, breed, sex and treated joint*

Merkmal	Anzahl der Injektionen	Anzahl an Komplikationen	Risiko pro 1.000 Injektionen (95 % KI)	p-Wert
Alter				0,53
Rasse				0,12
Warmblut	1069	3	3,7 (0,5-8,6)	
Vollblut	157	2	18,9 (0,5-48,2)	
Ponys	103	0	9,5 (0-30,8)	
Sonstige	98	1	20 (<0,1-61,1)	
Geschlecht				0,29
Stute	516	2	5,8 (0,1-15,0)	
Wallach	720	2	4,2 (0,1-10,8)	
Hengst	192	2	15,5 (0,4-39,6)	
Behandeltes Gelenk				0,47
Hufgelenk	540	1	3,7 (<0,1-11,5)	
Krongelenk	48	0	20,0 (0-63,9)	
Fesselgelenk	610	4	8,2 (1,9-17,4)	
Karpus	67	0	14,5 (0-46,6)	
Ellbogengelenk	7	0	111,1 (0-322,2)	
Schultergelenk	6	0	125,0 (0-357,4)	
Tarsus	61	1	31,7 (<0,1-95,5)	
Kniegelenk	100	0	9,8 (0-31,7)	
Hüftgelenk	6	0	125,0 (0-357,4)	

Tab. 3 Anzahl der Gelenksinjektionen, Komplikationen und Komplikationshäufigkeiten der potentiellen Risikofaktoren / *Number of joints injected, complications and complication rates of the potential risk factors*

Merkmal	Anzahl der Injektionen	Anzahl an Komplikationen	Risiko pro 1.000 Injektionen (95 % KI)	p-Wert
Gelenksanästhesien bis zu 3 Tage vorher				1
Ja	80	0	12,2 (0-39,3)	
Nein	1365	6	5,1 (1,8-9,8)	
Antibiotika intraartikulär oder systemisch				1
Ja	50	0	19,2 (0-61,5)	
Nein	1395	6	5 (1,7-9,6)	
Gleichzeitig intraartikulär applizierte Arzneimittel (ohne Antibiotika)				0,19
Ja	50	1	38,5 (<0,1-114,7)	
Nein	1395	5	4,3 (1,3-8,6)	
Gleichzeitige systemische Arzneimittelgabe (ohne Antibiotika)				0,01*
Ja	135	3	29,2 (4,7-66,2)	
Nein	1310	3	3 (0,4-7,0)	
Wirkstoffgruppen				0,68
NSAIDs	93	2	31,6 (1,2-79,7)	
Bisphosphonate	30	1	62,5 (<0,1-180,9)	
Glukokortikoide	1	0	333,3 (0-776,5)	
Glykosaminoglykane	11	0	76,9 (0-231,2)	
Vorhergegangene Arthroskopie				0,25
Ja	233	2	12,8 (0,3-32,8)	
Nein	1212	4	4,1 (1,0-8,8)	

* statistisch signifikant $p < 0,05$ / * statistically significant $p < 0,05$

Die Komplikationshäufigkeit nach einer intraartikulären Injektion mit ACS betrug in dieser Arbeit 4,8 pro 1.000 Injektionen (95% KI 1,7–9,3). Ein statistisch signifikanter Zusammenhang konnte mit dem exakten Test nach Fisher ausschließlich zwischen dem Auftreten einer Komplikation und der gleichzeitigen systemischen Arzneimittelgabe (ohne Antibiotika) ermittelt werden ($p = 0,01$). Eine genauere Betrachtung der systemisch eingesetzten Wirkstoffgruppen ergab jedoch keinen statistisch signifikanten Zusammenhang für eine der vier Wirkstoffgruppen ($p = 0,68$) (Tab. 3). Alle weiteren untersuchten Merkmale waren statistisch nicht signifikant (Tab. 2 und 3).

Die drei Risikofaktoren „gleichzeitig intraartikulär applizierte Arzneimittel (ohne Antibiotika)“, „gleichzeitige systemische Arzneimittelgabe (ohne Antibiotika)“ und „vorhergegangene Arthroskopie“ wurden zusätzlich mit der logistischen Regression untersucht. Diese bestätigte den statistisch signifikanten Zusammenhang für das Merkmal „gleichzeitige systemische Arzneimittelgabe (ohne Antibiotika)“ ($p = 0,007$, Nagelkerkes $R^2 = 0,12$), der bereits durch den exakten Test nach Fisher nachgewiesen wurde. Pferde, die gleichzeitig zur intraartikulären ACS-Injektion ein Arzneimittel systemisch verabreicht bekamen, hatten ein neunmal so hohes Risiko eine Komplikation nach der Injektion zu entwickeln (OR = 9,38, 95% KI 1,85–47,62) (Tab. 4).

Für die Planung einer kontrollierten prospektiven Studie, die die Komplikationshäufigkeit einer ACS-Behandlung mit der Komplikationshäufigkeit einer anderen konservativen Behandlung vergleicht, ist eine Fallzahlberechnung notwendig. Betrachtet man ausschließlich die Komplikationshäufigkeit einer ACS-Behandlung ohne vorhergegangene Arthroskopie liegt sie bei 4,1 pro 1.000 Injektionen (95% KI 1,0–8,8) (Tab. 3). Unter Verwendung dieser Komplikationshäufigkeit für die ACS-Gruppe und der von Bergmann (2010) erhobenen mittleren Komplikationsrate von 1,4 pro 1.000 Injektionen für die Kontrollgruppe, müssen in beiden Gruppen der prospektiven Studie jeweils 5.904 Gelenksbehandlungen durchgeführt werden.

Diskussion

In dieser Arbeit wird erstmalig die Komplikationshäufigkeit nach intraartikulärer Applikation von ACS bei Pferden bestimmt. Die als moderat eingestuft Komplikationen mussten zwar behandelt werden, waren aber für das betroffene Pferd nicht lebensbedrohlich und traten mit einer Häufigkeit von 4,8 pro 1.000 Injektionen (95% KI 1,7–9,3) auf. Bisher ermittelte Komplikationshäufigkeiten nach einer Gelenksin-

jektion liegen zwischen 0,078% bei 16.624 Injektionen (Steel et al. 2013) und 0,14% bei 65.099 Gelenksinjektionen (Bergmann 2010). Beide Studien sind jedoch nur bedingt mit unserer Arbeit vergleichbar, da unterschiedliche Arzneimittel intraartikulär verabreicht wurden und der Schweregrad der Komplikationen nicht dokumentiert wurde. Bergmann (2010) schätzte rechnerisch anhand einer Umfrage bei Fachtierärzten für Pferde und Pferdekliniken in Deutschland eine mittlere Komplikationshäufigkeit nach diagnostischer und therapeutischer Gelenkspunktion von 0,14% für das Jahr 2006, wobei 0,01% der behandelten Pferde wegen der Komplikation euthanasiert werden mussten. Steel et al. (2013) ermittelten ein Risiko von 0,078% für eine septische Arthritis nach intraartikulärer Applikation von Glukokortikoiden mit oder ohne Hyaluronsäure. Andere, leichtere Komplikationen wurden jedoch nicht erfasst.

Sowohl mit dem exakten Test nach Fisher ($p = 0,01$) als auch der logistischen Regression ($p = 0,007$, Nagelkerkes $R^2 = 0,12$) bestand ein statistisch signifikanter Zusammenhang für das Merkmal „gleichzeitige systemische Arzneimittelgabe (ohne Antibiotika)“. Diese erhöhte das Risiko einer Komplikation um das Neunfache (OR = 9,38, 95% KI 1,85–47,62). Jedoch wies das Nagelkerkes R^2 mit 0,12 auf zusätzliche unbekannte Einflussfaktoren hin, die in unserer Arbeit nicht erfasst wurden. Dies wurde durch eine weitere statistische Untersuchung der vier Wirkstoffgruppen unterstützt. Es ließ sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer Komplikation und den Wirkstoffgruppen nachweisen (Tab. 3). Ein kausaler Zusammenhang zwischen gleichzeitiger systemischer Arzneimittelgabe und erhöhtem Komplikationsrisiko ist daher fraglich. Zu beachten ist außerdem, dass nur in wenigen Fällen gleichzeitig Arzneimittel systemisch verabreicht wurden.

Arthroskopien, die vor der ACS-Injektion durchgeführt wurden, hatten keinen signifikanten Einfluss auf die Komplikationshäufigkeit. Mit der vorliegenden Studie konnte für intraartikuläre Injektionen, die postoperativ durchgeführt wurden, eine Komplikationshäufigkeit von 12,8 pro 1.000 Injektionen (95% KI 0,3–32,8; Tab. 3) berechnet werden. Diese ist vergleichbar mit dem Risiko von postarthroskopischen septischen Arthritiden, welches zwischen 0,5% und 1,3% liegt (Olds et al. 2006, Borg und Carmalt 2013). Jedoch wurden in beiden Arbeiten weder weniger schwerwiegende Komplikationen erfasst noch intraartikuläre Injektionen nach dem Eingriff durchgeführt. Daher sind diese retrospektiven Arbeiten mit unserer nur bedingt vergleichbar, es zeigt jedoch auf, dass postoperative ACS-Injektionen nicht mit einem höheren Risiko einhergehen, als elektive Eingriffe ohne nachfolgende Injektionen.

Tab. 4 Ergebnisse der logistischen Regression der drei potentiellen Risikofaktoren nach manueller Rückwärtsselektion. Nagelkerkes $R^2 = 0,12$ / Results of the logistic regression of the three potential risk factors after manual reverse selection. Nagelkerkes $R^2 = 0,12$

Merkmal	Regressionskoeffizient	p-Wert	OR	95 % KI
Gleichzeitig intraartikulär applizierte Arzneimittel (ohne Antibiotika)	1,596	0,161	4,935	0,530 - 45,952
Gleichzeitige systemische Arzneimittelgabe (ohne Antibiotika)	2,238	0,007*	9,379	1,847 - 47,619
Vorhergegangene Arthroskopie	0,953	0,28	2,593	0,461 - 14,593
Konstante	-6,415	0	0,002	

* statistisch signifikant $p < 0,05$ / * statistically significant $p < 0,05$

In der Literatur liegen verschiedene Angaben über den Zeitraum bis zum Auftreten einer postarthroskopischen septischen Arthritis vor. Die Spanne reicht von wenigen Tagen bis zu durchschnittlich 47 Tagen (Olds et al. 2006), weswegen wir Arthroskopien in diesem Zeitraum vor der Injektion als Risikofaktor wählten. Zwei Gelenke, die jeweils nach einer ACS-Injektion Komplikationen entwickelten, wurden vier bzw. 26 Tage vor dieser Injektion arthroskopiert. Spätestens zwei Tage nach der ACS-Injektion wurden die Komplikationen festgestellt. Ein Verdacht auf eine septische Arthritis bestand nicht.

Keine der Gelenke, die zeitgleich zu ACS Antibiotika entweder intraartikulär oder systemisch erhielten, entwickelten eine Komplikation, jedoch war dies statistisch nicht signifikant. Allerdings wurde diese Kombination nur bei 50 von 1.445 Injektionen eingesetzt, was zu wenige Anwendungen waren, um bei einem seltenen Ereignis einen möglichen schützenden Effekt statistisch nachzuweisen.

Bisher konnte keine Arbeit zeigen, dass die prophylaktische Antibiotikagabe einen signifikanten Einfluss auf das Komplikationsrisiko nach intraartikulärer Medikation (Bergmann 2010, Steel et al. 2013) oder elektiven Arthroskopien hat (Olds et al. 2006, Borg und Carmalt 2013). Der endgültige Nachweis muss jedoch noch in einer prospektiven Studie erbracht werden.

In unserer Studie hatten die gleichzeitig mit ACS intraartikulär applizierten Arzneimittel wie Glukokortikoide oder Hyaluronsäure keinen signifikanten Einfluss auf die Entstehung einer Komplikation. Intraartikulär verabreichten Glukokortikoiden werden ein erhöhtes Komplikationsrisiko nachgesagt. Sie gelten als ein Risikofaktor für iatrogene septische Arthritis, da sie die lokale Abwehr des Gelenks beeinträchtigen sollen (Caron 2005, Steel et al. 2013). Kein Pferd, welches eine Komplikation entwickelte, erhielt ein Glukokortikoid.

Bisher ist nach dem Wissen der Autoren nichts über die Wechselwirkung der verschiedenen Arzneimittel mit ACS in einem Gelenk bekannt. Über eine synergistische oder antagonistische Wirkung kann nur spekuliert werden. In weiteren Studien sollten die Wechselwirkungen der verschiedenen Arzneimittel mit ACS untersucht werden.

Als weitere Risikofaktoren in Bezug auf Komplikationen nach intraartikulärer Injektion gelten der behandelnde Tierarzt (Steel et al. 2013) und die Verwendung einer bereits angebrochenen Medikamentenflasche (Bergmann 2010). Jeder Tierarzt trägt durch seine Fähigkeiten und die Bereitschaft intraartikuläre Injektionen unter aseptischen Bedingungen mit größter Sorgfalt durchzuführen, wesentlich zum Risiko bei (Caron 2005, Steel et al. 2013). In unserer retrospektiven Studie konnte der behandelnde Tierarzt in den jeweiligen Kliniken nicht eindeutig identifiziert werden, weshalb der Faktor „Tierarzt“ nicht untersucht wurde.

Es wird empfohlen, für jede intraartikuläre Injektion ein original verschlossenes Medikament zu verwenden (Caron 2005, Bergmann 2010, Gesellschaft für Pferdemedizin e.V. 2013). ACS kann aufgrund seines Herstellungsprozesses nicht als original verschlossenes Medikament angesehen werden. Sowohl bei der Blutabnahme als auch der Aufbereitung und

Umfüllung des gewonnenen ACS auf Reinjektionsspritzen kann es zu einer Verunreinigung kommen.

Die hier beobachteten Komplikationen gaben keine Hinweise auf eine septische Gelenkentzündung, wie sie bereits in einer humanmedizinischen Studie nach ACS-Behandlung aufgetreten ist (Auw Yang et al. 2008). Die Komplikationen führten nicht zum Abbruch der Behandlung und bei nachfolgenden Injektionen blieben weitere Komplikationen aus. In einem Fall erfolgte wie geplant keine Folgeinjektion. Das Gelenk war geringgradig geschwollen und warm und wurde durch Kühlen behandelt. Daher liegt es nahe, dass in keinem dieser Fälle ACS verunreinigt war.

Retrospektive Arbeiten unterliegen methodischen Einschränkungen. Die Bedingungen sind nicht kontrolliert. So ist nicht sichergestellt, dass alle Komplikationen auch dokumentiert wurden. Es wäre möglich, dass manche Pferde mit Komplikationen vom Haustierarzt oder in einer anderen Klinik behandelt wurden. In diesem Sinne stellt die ermittelte Komplikationshäufigkeit eine untere Grenze dar. Eine genauere Bestimmung ist mittels einer kontrollierten prospektiven Studie möglich. Legt man die in unserer Studie bestimmte Komplikationshäufigkeit nach einer ACS-Behandlung ohne vorhergegangene Arthroskopie von 4,1 pro 1.000 Injektionen und eine Komplikationshäufigkeit von 1,4 pro 1.000 Gelenksinjektionen (Bergmann 2010) zu Grunde, so wären mindestens 5.900 Probanden pro Gruppe notwendig. Das Erreichen von solchen Fallzahlen ist jedoch unter Praxisbedingungen eine große Herausforderung.

Diese retrospektive Studie ist die erste Arbeit, die einen Überblick über Art und Häufigkeit von Komplikationen nach intraartikulärer ACS-Injektion bei Pferden gibt. Für moderate Komplikationen wurde eine Häufigkeit von 4,8 pro 1.000 Injektionen bestimmt. Lebensbedrohliche Komplikationen wurden nicht beobachtet. Somit kann bei einer lege artis Herstellung und Anwendung von ACS von einem geringen Komplikationsrisiko ausgegangen werden.

Danksagung

Die Autoren danken den Teams der Pferdekliniken Bargteheide, Burg Müggenhausen, Kerken, Leichlingen und Telgte für ihre Unterstützung und Bereitstellung der Krankenakten für diese Arbeit.

Ausschluss des Interessenkonflikts

Die Autoren versichern, dass keinerlei Interessen an einem in der Veröffentlichung genannten Produkten oder Herstellern bestehen.

Literatur

- Arend W. P., Malyak M., Guthridge C. J., Gabay C. (1998) Interleukin-1 Receptor Antagonist: Role in Biology. *Annu. Rev. Immunol.* 16, 27-55
 Arznei-Telegramm (2012) Eigenblutrezeptur Orthokin: Was gibt es Neues? a-t 43, 46

- Auw Yang K. G., Raijmakers N. J. H., van Arkel E. R. A., Caron J. J., Rijk P. C., Willems W. J., Zijl J. A. C., Verbout A. J., Dhert W. J. A., Saris D. B. F. (2008) Autologous interleukin-1 receptor antagonist improves function and symptoms in osteoarthritis when compared to placebo in a prospective randomized controlled trial. *Osteoarthritis. Cartil.* 16, 498-505
- Baltzer A. W. A., Moser C., Jansen S. A., Krauspe R. (2009) Autologous conditioned serum (Orthokine) is an effective treatment for knee osteoarthritis. *Osteoarthritis. Cartil.* 17, 152-160
- Bergmann M. (2010) Ermittlung des Auftretens von Komplikationen bei Gelenkpunktionen beim Pferd. Diss. Med. Vet. Leipzig
- Borg H., Carmalt J. L. (2013) Postoperative septic arthritis after elective equine arthroscopy without antimicrobial prophylaxis. *Vet Surg* 42, 262-266
- Boyen F., Smet A., Hermans K., Butaye P., Martens A., Martel A., Haesebrouck F. (2013) Methicillin resistant staphylococci and broad-spectrum β -lactamase producing Enterobacteriaceae in horses. *Vet. Microbiol.* 167, 67-77
- Caron J. P. (2005) Intra-Articular injections for joint disease in horses. *Vet. Clin. North. Am. Equine Pract.* 21, 559-573
- Deutsche Gesellschaft für Rheumatologie e.V. (2014) Erneuter Rechtsstreit mit der Orthogen Lab Services GmbH wegen kritischer Stellungnahme zu Orthokin. *Z Rheumatol* 1, 91
- Dooley P., Martin R. (2002) Corticosteroid injections and arthrocentesis. *Can Fam Physician* 48, 285-292
- Ehrle A., Fürst A., Lischer C. (2013) Wirkungen und Nebenwirkungen der intraartikulären medikamentellen Therapie beim Pferd - eine Literaturübersicht – Teil 1: Konventionelle intraartikuläre medikamentelle Therapie und Risiken der Gelenkinjektion beim Pferd. *Pferdeheilkunde* 29, 54-64
- Frisbie D. D., Kawcak C. E., Wery N. M., Park R. D., McIlwraith C. W. (2007) Clinical, biochemical, and histologic effects of intra-articular administration of autologous conditioned serum in horses with experimentally induced osteoarthritis. *Am. J. Vet. Res.* 68, 290-296
- Frizziero A., Giannotti E., Oliva F., Masiero S., Maffulli N. (2013) Autologous conditioned serum for the treatment of osteoarthritis and other possible applications in musculoskeletal disorders. *Br. Med. Bull.* 105, 169-184
- Gesellschaft für Pferdemedizin e.V. (2013) Auswahl aktueller Leitfäden zu häufigen tierärztlichen Tätigkeiten in der Pferdepraxis. 17-18
- Hraha T. H., Doremus K. M., McIlwraith C. W., Frisbie D. D. (2011) Autologous conditioned serum: the comparative cytokine profiles of two commercial methods (IRAP and IRAP II) using equine blood. *Equine Vet. J.* 43, 516-521
- Jöstingmeier U. (2009) Vergleichende Betrachtung des Behandlungserfolges der intraartikulären kombinierten Behandlung mit Natriumhyaluronat und Betamethason mit der intraartikulären Behandlung mit autologem konditioniertem Serum (IL-1 Ra) bei Pferden mit positiver Hufgelenksanästhesie – Eine Anwendungsbeobachtung. Diss. Med. Vet. Berlin
- Lasarzik J., Bondzio A., Rettig M., Estrada R. J., Klaus C., Ehrle A., Einspanier R., Lischer C. J. (2016) Evaluation of Two Protocols Using Autologous Conditioned Serum for Intra-articular Therapy of Equine Osteoarthritis – A Pilot Study Monitoring Cytokines and Cartilage-Specific Biomarkers. *J. Equine Vet. Sci.* DOI: 10.1016/j.jevs.2016.09.014
- Maddox T. W., Clegg P. D., Williams N. J., Pinchbeck G. L. (2015) Antimicrobial resistance in bacteria from horses: Epidemiology of antimicrobial resistance. *Equine Vet. J.* 47, 756-765
- McIlwraith C. W. (2011) Principles and Practices of Joint Disease Treatment. In: Diagnosis and management of lameness in the horse, Ross M. W. und Dyson S. J. (Hrsg.), Elsevier Saunders, St. Louis, pp. 840-852
- Meijer H., Reinecke J., Becker C., Tholen G., Wehling P. (2003) The production of anti-inflammatory cytokines in whole blood by physico-chemical induction. *Inflamm. Res.* 52, 404-407
- Morton A. J. (2005) Diagnosis and Treatment of Septic Arthritis. *Vet. Clin. North. Am. Equine Pract.* 21, 627-649
- Olds A. M., Stewart A. A., Freeman D. E., Schaeffer D. J. (2006) Evaluation of the rate of development of septic arthritis after elective arthroscopy in horses: 7 cases (1994-2003). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 229, 1949-1954
- Orthogen Veterinary GmbH (2014) Das Orthokine®vet-Serum einfach gewinnen. Vers 00 DE
- Rehart S., Burmester G., Schwab C. und Mitglieder der Kommission Pharmatherapie der DGRh (2009) Aktualisierte Stellungnahme zu "Orthokin". Download: 08.01.2017: <http://dgrh.de/teststellungen.html>
- Rutgers M., Saris D. B. F., Dhert W. J. A., Creemers L. B. (2010) Cytokine profile of autologous conditioned serum for treatment of osteoarthritis, in vitro effects on cartilage metabolism and intra-articular levels after injection. *Arthritis Res. Ther.* 12, R114
- Steel C. M., R. P. R., Anderson G. A. (2013) Risk of septic arthritis after intra-articular medication: a study of 16,624 injections in Thoroughbred racehorses. *Aust. Vet. J.* 91, 268-273
- Sutton S., Clutterbuck A., Harris P., Gent T., Freeman S., Foster N., Barrett-Jolley R., Mobasher A. (2009) The contribution of the synovium, synovial derived inflammatory cytokines and neuropeptides to the pathogenesis of osteoarthritis. *Vet. J.* 179, 10-24
- Textor J. (2011) Autologous biologic treatment for equine musculoskeletal injuries: platelet-rich plasma and IL-1 receptor antagonist protein. (Special Issue: Cell-based therapies in orthopedics.). *Vet. Clin. North. Am. Equine Pract.* 27, 275-298
- Warner K., Schulze T., Lischer C. (2016) Behandlung von Osteoarthritis mit ACS (IRAP®) bei 26 Pferden - Retrospektive Studie. *Pferdeheilkunde* 32, 241-248