

Aus dem Institut Centrum für Muskuloskeletale Chirurgie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Stellenwert von neuen diagnostischen Methoden
für die Diagnose von periprothetischen
Gelenkinfektionen und die Komplikationsrate nach
zwei-zeitigem Prothesenwechsel zur Behandlung
von periprothetischen Hüftinfektionen

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

Vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

Von
Dr.med.univ. Irene Katharina SIGMUND
Aus Wien

Datum der Promotion: 04.06.2021

Zusammenfassung.....	3
Abstract.....	5
1. Einleitung.....	7
2. Material und Methoden.....	11
3. Ergebnisse.....	17
4. Diskussion.....	24
5. Schlussfolgerung.....	29
6. Abkürzungsverzeichnis.....	30
7. Literaturverzeichnis.....	31
8. Eidesstattliche Versicherung und Anteilserklärung.....	34
9. Druckexemplare der ausgewählten Publikationen.....	38
10. Lebenslauf mit Publikationsliste	71
11. Danksagung.....	76

Gender Hinweis:

In dieser Disserationsschrift wird aus Gründen der besseren Lesbarkeit auf die gleichzeitige Verwendung männlicher und weiblicher Formen verzichtet. Sämtliche Personenbezeichnungen gelten gleichwohl für beiderlei Geschlechter.

Zusammenfassung

Einleitung

Neue Testmethoden wie alpha Defensin und das multiplex PCR (mPCR) System werden in den letzten Jahren zunehmend zur Diagnostik von periprothetische Gelenkinfektionen (PPI) herangezogen. Zudem zählt der zwei-zeitige Prothesenwechsel zu den am häufigsten eingesetzten operativen Therapieverfahren bei periprothetischen Hüftgelenkinfektionen (PHI). Das Ziel der ersten Studie war es, den diagnostischen Wert des qualitativen alpha Defensin Tests (Lateral flow Test) und des quantitativen alpha Defensin Tests (ELISA) in der Synovialflüssigkeit von Patienten mit Prothesenversagen zu untersuchen und miteinander zu vergleichen. In der zweiten Studie wurde die Genauigkeit der mPCR zur genotypischen Antibiotika-Resistenzbestimmung in Mikroorganismen von Patienten mit Implantat-assoziierten Infektionen evaluiert. In der dritten Arbeit wurden die intra – und postoperativen Komplikationen bei zwei-zeitigem Prothesenwechsel mit prothesen-freiem Intervall (Resektionsarthroplastie) zur Behandlung von PHI eruiert.

Methodik

Studie 1: Bei insgesamt 71 Patienten mit Prothesenversagen wurde die Synovialflüssigkeit qualitativ und quantitativ auf alpha Defensin untersucht. Für den Vergleich zwischen beiden Testmethoden wurden die Flächen unter den Kurven (AUCs) beider Methoden mittels z-Test verglichen.

Studie 2: In 94 Proben (60 Sonikationsflüssigkeiten, 34 Synovialflüssigkeiten) wurde prospektiv ein Vergleich zwischen phänotypischer (Kultur) und genotypischer (mPCR) Resistenzbestimmung mit Hilfe von Konkordanz-Analysen durchgeführt.

Studie 3: Abhängig von der Dauer des prothesen-freien Intervalls wurden die 93 eingeschlossenen Patienten in zwei Gruppen (Gruppe 1 \leq 10 Wochen und Gruppe 2 $>$ 10 Wochen) unterteilt und die Häufigkeit der Komplikationen mittels Chi-Quadrat Test verglichen. Zusätzlich wurde das infektionsfreie Überleben mit Hilfe von Kaplan-Meier Kurven analysiert.

Ergebnisse

Studie 1: Die Sensitivität, Spezifität und AUC des alpha Defensin lateral-flow Tests war 46%, 98% und 0.72; und des ELISA Tests 50%, 98% und 0.74. Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Testmodalitäten gefunden werden.

Studie 2: Die Sensitivität, Spezifität und Konkordanz aller mittels mPCR durchgeführten genotypischen Resistenzbestimmungen war 46%, 95% und 80%. Die Übereinstimmung von genotypischer und phänotypischer Empfindlichkeit für Biofilm-aktive Substanzen war für Rifampicin bei Staphylokokken 84% und für Chinolone bei *Enterobacteriaceae* 89%.

Studie 3: Patienten mit kurzem Intervall zeigten eine niedrigere Komplikationsrate nach Reimplantation. Das Infektions-freie Überleben nach 24 Monaten war in Gruppe 1 94% und in Gruppe 2 86% ($p=0.058$).

Schlussfolgerung

Aufgrund der geringen Sensitivitäten des alpha Defensins und der mPCR können diese Tests die etablierten diagnostischen Methoden nicht ersetzen und bei hoher Spezifität lediglich als zusätzliche Untersuchungen fungieren. Der Vergleich von qualitativem mit quantitativem alpha Defensin zeigte keinen Unterschied. Die Komplikationsrate nach zwei-zeitigem Prothesenwechsel mit prothesen-freiem Intervall (Girdlestone-Situation) zur Behandlung von PHI ist mit 76% hoch. Eine höhere Komplikationsrate wurde bei längerem Intervall beobachtet, weshalb ein kurzes Intervall (≤ 10 Wochen) zwischen Explantation und Reimplantation einer neuen Prothese empfohlen werden kann.

Abstract

Background

In recent years, attention has focused on novel diagnostic methods as alpha defensin and multiplex PCR (mPCR) for diagnosing periprosthetic joint infection. In addition, two stage revision is the most widely used surgical approach to manage periprosthetic hip infection (PHI). The aim of the first study was to evaluate the diagnostic value of qualitative (lateral flow) and quantitative (ELISA) alpha defensin test in patients with prosthetic failure and to compare both test methods among each other. In the second study, the performance of mPCR for genotypical resistance detection in microorganisms isolated from patients with implant-related infections was analysed. In the third study, the intra- and postoperative complications of a two-stage revision using resection arthroplasty during stages were investigated according to the length of the prosthesis free interval.

Methods

Study 1: In 71 patients with prosthetic failure, alpha defensin was determined in the aspirated synovial fluid using two different methods (qualitative and quantitative). The area under the curve (AUC) of each test was calculated and both AUCs were compared among each other using the z-test.

Study 2: In 94 samples (60 sonication fluid, 34 synovial fluid) a comparison of phenotypical (culture) and genotypical resistance analysis (mPCR) was performed calculating the concordance.

Study 3: According to the length of prosthesis-free interval, the 93 included patients were assigned to two groups (group 1 \leq 10 weeks and group 2 $>$ 10 weeks) and complication rates were compared using chi-squared test. The infection-free survival rate was calculated using Kaplan-Meier analysis.

Results

Study 1: The lateral flow test showed a sensitivity, specificity, and AUC of 46%, 98%, and 0.72, respectively; and the ELISA tests of 50%, 98%, and 0.74, respectively. There was no significant difference between both AUCs ($p=0.566$).

Study 2: The sensitivity, specificity and concordance of the mPCR regarding genotypical susceptibility testing was 46%, 95%, and 80%, respectively.

The concordance between phenotypical and genotypical susceptibility for biofilm-active agents was 84% for rifampin in *Staphylococcus* spp., and 89% for fluoroquinolone in *Enterobacteriaceae*.

Study 3: Patients with a short interval showed less complications after reimplantation. At 24 months, the infection-free survival rate was 94% in group 1 and 86% in group 2 ($p=0.058$).

Conclusion

Due to the insufficient sensitivities of alpha defensin and mPCR, these tests cannot replace the established diagnostic test methods but may be useful as specific adjuncts. No difference between the qualitative and quantitative alpha defensin test was found. The complication rate (76%) of a two-stage revision with a prosthesis-free interval (resection arthroplasty) for PHI was high. Long intervals showed more complications. Therefore, short intervals (≤ 10 weeks) can be recommended between stages.

1. Einleitung

Periprothetische Gelenkinfektionen (PPI) zählen mit einer Inzidenz von 1-3% zu den gefürchtetsten Komplikationen nach Implantation einer Totalendoprothese (1), wobei die tatsächliche Inzidenz aufgrund von derzeit schwer zu identifizierenden niedriggradigen (low-grade) Infektionen und schwer zu detektierenden Biofilmproduzierenden Mikroorganismen deutlich höher anzunehmen ist. Durch den Anstieg der generellen Lebenserwartung kann in Zukunft ebenso mit einer Steigerung von Primärimplantationen und Verlängerung der Prothesenliegedauer und damit einhergehenden Zunahme von periprothetischen Infektionen gerechnet werden. Aufgrund der Komplexität von Protheseninfektionen mit den häufig assoziierten multiplen Revisionen, verlängerten Antibiotikagaben (mit den dazugehörigen Nebenwirkungen) und verlängerten Krankenhausaufenthalten wird eine interdisziplinäre Zusammenarbeit zwischen den Fachrichtungen Orthopädie, Infektiologie und plastischen Chirurgie an einem spezialisierten Zentrum empfohlen (2).

Der erste und entscheidende Schritt zur Infektionskontrolle bzw. -eradikation ist zweifelsfrei eine präzise Diagnostik. Derzeit gibt es jedoch keine Testmethode mit einer 100%igen Genauigkeit respektive Sensitivität und Spezifität, weshalb anerkannte orthopädische und infektiologische Gesellschaften (Musculoskeletal Infection Society [MSIS], Infectious Diseases Society of America [IDSA], and European Bone and Joint Infection Society [EBJIS]) unterschiedliche Infektionskriterien definiert haben (siehe Punkt 9, Publikation 1, Table 1). Im Gegensatz zu den MSIS und IDSA-Kriterien schließen die 2017 vorgeschlagenen EBJIS-Kriterien (pEBJIS) eine positive Sonikationflüssigkeit von explantierten Prothesen und eine erhöhte Leukozytenzahl in der Synovialflüssigkeit zur besseren Detektion von niedrig-virulenten Keimen und low-grade Infektionen als Infektions-bestätigende Kriterien ein. Ein präzises

Klassifikationssystem ist sowohl für die genauere Identifikation von Infektionen als auch für die Evaluierung des diagnostischen Wertes einer neuen diagnostischen Testmethode von enormer Wichtigkeit. Nichtsdestotrotz können mit den angegebenen Kriterien nicht alle Infektionen zweifelsfrei identifiziert werden beziehungsweise können andererseits aseptische Patienten als septisch fehlinterpretiert werden (3), weshalb neuartige Testmethoden mit präziseren Ergebnissen erforscht werden müssen.

In den letzten Jahren wurde ein vermehrtes Augenmerk auf Biomarker aus der Synovialflüssigkeit zur präziseren Diagnostik von PPI gelegt (4, 5). In der Literatur zeigte sich alpha Defensin aufgrund seiner hohen Sensitivität und Spezifität als vielversprechendster Biomarker. Alpha Defensin ist ein antimikrobielles Peptid, das als Antwort auf Pathogene durch neutrophile Granulozyten freigesetzt wird und zur Depolarisation der bakteriellen Zellmembran mit schnell einhergehendem Zelltod führt (6). Dieses Peptid kann in der Synovialflüssigkeit sowohl quantitativ in Form eines Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) – Tests als auch qualitativ in Form eines lateral flow-Tests gemessen werden. Für die Durchführung der ELISA-Testung wird allerdings ein Labor mit entsprechender Infrastruktur benötigt. Aufgrund der damit einhergehenden verlängerten Untersuchungsdauer eignet sich diese quantitative Testung nicht als intraoperative diagnostische Methode. Der lateral-flow Test hingegen kann aufgrund der leichten Handhabung von einem Chirurgen selbstständig durchgeführt und das Ergebnis nach ca. zehn Minuten abgelesen werden. Die beiden Testmethoden unterscheiden sich nicht nur in ihrer Handhabung, sondern auch in ihrer Genauigkeit. Der ELISA-Test zeigte in der Literatur bei Anwendung der MSIS-Kriterien eine sehr hohe Sensitivität mit Werten zwischen 97% und 100% und ebenso sehr hohe Spezifität zwischen 95% und 100% (4, 7, 8). Der lateral flow Test zeigte ähnlich gute Spezifitäten von 82% - 96%, jedoch deutlich geringere Sensitivitäten von 69% – 84%

(3, 9). Aufgrund dieser Diskrepanz in der Literatur und der bis dato fehlenden Vergleichsstudien (zwischen beiden Testmodalitäten) wurde in der ersten Studie die Genauigkeit des quantitative ELISA-Tests und die des qualitativen lateral-flow Tests untersucht und miteinander verglichen (Studie 1).

Eine weitere neu eingeführte diagnostische Testmethode ist die multiplex PCR (mPCR) zur genotypischen Identifikation von Mikroorganismen und deren Resistenzmuster. Diese Methode punktet im Vergleich zur konventionellen mikrobiologischen Kultur mit einer schnelleren Verfügbarkeit der Resultate sowie einer höheren Sensitivität. Während die Kultur oftmals mehrtägige (bis zu 14 Tage bei langsam wachsenden Mikroorganismen) Bebrütungszeit erfordert, sind die Resultate des mPCR nach ca 5 Stunden verfügbar. Zudem ist die Sensitivität der Kultur bekannterweise limitiert (45-71% (10-12)), während die des mPCRs in früheren Studien mit 67% - 96% (13-15) höher liegt. Jedoch gibt es bis dato keine Daten über die genotypische Evaluierung der mikrobiellen Empfindlichkeit beziehungsweise der Resistenzen, die mittels dieser mPCR identifiziert werden können. Aus diesem Grund wurde in der zweiten Studie die Genauigkeit der mPCR in Bezug auf die Identifikation von Resistenzgenen bei Patienten mit einer nachgewiesenen orthopädischen Infektion und phäno- (Kultur) und genotypisch (mPCR) identischen Mikroorganismen untersucht (Studie 2).

Der zweite Schritt für eine erfolgreiche Infektionseradikation ist eine optimale chirurgische Technik. Allerdings gibt es derzeit keinen Konsensus über das bestmögliche operative Verfahren. Der zwei-zeitige Wechsel zählt jedoch weltweit zu den am häufigsten angewandten chirurgischen Eingriffen für die Infektionsbekämpfung nach Hüfttotalendoprothesen mit Heilungsraten zwischen 68% - 97% (16, 17). Im prothesen-freien Intervall kann ein Platzhalter in Form eines antibiotika-beladenem Knochenzementes eingebracht oder eine Girdlestone Situation

belassen werden (18). Die „Girdlestone-Hüfte“ wurde erstmals 1928 von Gathorne Robert Girdlestone zur Behandlung von Tuberkuloseinfektionen der Hüfte und 1943 zur Behandlung von schweren putriden septischen Arthritiden beschrieben. Bei der originalen Resektionsarthroplastie zur definitiven Versorgung einer Hüftinfektion wurde/wird eine Muskeltransposition mit einem gefäßgestielten M. rectus femoris oder M. vastus lateralis in das leere Acetabulum durchgeführt (19). In der heutigen Zeit wird allerdings unter „Girdlestone“ Situation eine modifizierte Version ohne Muskeltransposition und leerem Acetabulum verstanden. Durch die modifizierte Methode kann im weiteren Verlauf eine Hüftgelenksendoprothese (wenn es die lokalen Bedingungen und der Allgemeinzustand des Patienten erlauben) wieder reimplantiert werden. Diese Resektionsarthroplastie im prothesen-freien Intervall (bei zwei-zeitigem Wechsel) wird vor allem bei Infektionen verursacht durch so genannte Problemerreger, für die keine Biofilm-aktiven Antibiotika verfügbar sind (Rifampicin-resistente Staphylokokken, Ciprofloxacin-resistente gram-negative Bakterien oder Pilze), eingesetzt.

In vielen Institutionen wird ein antibiotika-haltiger Zementspacer im prothesen-freien Intervall implantiert. Die Vorteile dieser Platzhalter sind die Prävention von Weichteilkontrakturen, die Reduktion des Totraumes und eine mögliche Antibiotikafreisetzung. Jedoch birgt die Implantation ebenso Nachteile wie zum Beispiel Frakturen des Zementspacers, Knochenfraktur bei liegendem Spacer, Spacer-Luxationen, Zunahme der acetabulären Knochendefekte und acetabuläre Migration, bakterielle Kolonisation des Spacers (nach ca. 2 Wochen) und das erhöhte Risiko der Entwicklung von Resistenzen gegen das in den Knochenzement applizierte Antibiotikum (meist Gentamicin oder Vancomycin) (20, 21). Aufgrund dieser Nachteile wird am Zentrum für muskuloskeletale Chirurgie der Charité – Universitätsmedizin Berlin vorwiegend auf Zementspacer verzichtet und im prothesen-freien Intervall eine

Girdlestone Situation belassen. In der Literatur wird eine Resektionsarthroplastie jedoch vor allem aufgrund der hohen Rate an Beinlängenverkürzungen durch Weichteilkontrakturen kontrovers betrachtet. Diese Beinlängenverkürzungen wurden vor allem bei Patienten mit initial geplanter Girdlestone Situation als definitive Behandlung einer Infektion beschrieben. Jedoch wurde durch den Operateur die Entscheidung einer neuerlichen Prothesen-Reimplantation nach sehr langem prothesen-freien Intervall getroffen (22, 23).

Bis dato gibt es nur wenig Information über die tatsächlichen Probleme und Schwierigkeiten eines zwei-zeitigen Wechsels mit geplanter Girdlestone Situation als Lösung im Intervall, weshalb in der dritten Studie sowohl die lokalen als auch systemischen Komplikationen in den unterschiedlichen Stadien (Explantation, prothesen-freies Intervall, Reimplantation, nach Reimplantation) analysiert wurden.

Die vorliegende Forschungsarbeit, bestehend aus den drei angeführten Studien, möchte einen Beitrag zur Verbesserung der derzeit limitierten Diagnostik von periprothetischen Gelenkinfektionen leisten und gleichzeitig ein besseres Verständnis einer an der Charité etablierten Behandlungsmethode von periprothetischen Hüftinfektionen darbieten.

2. Material und Methoden

Alle drei Studien wurden am Zentrum für muskuloskeletale Chirurgie der Charité – Universitätsmedizin Berlin nach erlangen eines positiven Ethikvotums (EA1/306/14, EA4/040/14) gemäß der Deklaration von Helsinki durchgeführt.

Die statistische Auswertung wurde mit XLSTATPM (Version 2017; XLSTAT; Addinsoft, New York, NY, USA) durchgeführt.

Studie 1:

In dieser retrospektiven Studie wurden die in der Biobank gelagerten Punktate von Patienten mit Prothesenversagen, die im Rahmen einer von April 2016 und Mai 2017 durchgeführten Studie gesammelt und bei -80°C gelagert wurden (24), auf alpha Defensin mittels ELISA Test und lateral flow test (Synovasure™, Zimmer Biomet, Winterthur, Schweiz) untersucht. Eingeschlossen wurden Patienten über 18 Jahre mit durchgeführter Gelenkpunktion bei Prothesenversagen. Die Patienten wurden über die Studie aufgeklärt und eine schriftliche Einwilligungserklärung wurde vom Prüfungsteilnehmer vor Einschluss in die Studie abgegeben (public trial identification: NCT02530229). Von den insgesamt 212 Patienten, die von Renz et al in deren prospektiven Studie zur Evaluierung der Genauigkeit des alpha Defensin lateral flow Tests beobachtet wurden, konnten 71 Patienten mit ausreichender Synovialflüssigkeitsmenge von Oktober 2016 bis April 2017 in unserer Studie eingeschlossen werden. Ausgeschlossen wurden Patienten mit liegendem Zementspacer, Patienten nach Resektionsarthroplastie und Patienten mit unzureichender Gelenksflüssigkeit.

Die Gelenkpunktion wurde von einem Chirurgen unter sterilen Kautelen präoperativ in der orthopädischen Ambulanz oder intraoperativ vor Inzision der Gelenkscapsel durchgeführt. Ein Milliliter wurde für die weitere Evaluierung des alpha Defensins in ein natives Röhrchen überführt und von einem der drei eingeschulten Mitarbeiter (Katsiaryna Yermak, Nora Renz, Irene Sigmund) wie bereits in früheren Studien beschrieben weiterverarbeitet (9). Nach ca. zehn Minuten konnten die Ergebnisse (Infektion ja oder nein) abgelesen werden. Für die ELISA Testmethode wurden 1.5mL der Synovialflüssigkeit für 10 Minuten mit 2700rpm (revolutions per minute, Umdrehungen pro Minute) zentrifugiert (Microcentrifuge 5427R, Eppendorf, Wesseling-Berzdorf, Deutschland) und der Überstand (zumind. 1mL) in ein neues

Aliquot überführt und bis zur weiteren Verarbeitung bei -80°C gelagert (25). In einem externen Labor (Labor Dr.Fenner und Kollegen, Hamburg, Deutschland) wurde mittels Standard ELISA Test (Synovasure™, CD Diagnostics, Claymont, DE, USA) das humane alpha Defensin Peptid 1-3 quantitativ bestimmt. Die Ergebnisse wurden als standardisiertes Signal relativ zu einem Toleranzwert wiedergegeben (Interpretation: <0.9 aseptisch, 0.9-0.99 unspezifisch, ≥1.0 septisch).

Eine periprothetische Gelenkinfektion wurde anhand der MSIS-, IDSA- und pEBJIS-Kriterien definiert.

Die statistische Auswertung basiert auf receiver operating characteristics (ROC). Die Sensitivität, Spezifität, positiver (PPV) und negativer prädiktiver Wert (NPV), positive (LR+) und negative likelihood ratio (LR-) und die Area under the ROC (receiver operating characteristic) curve (AUC) mit deren 95% Konfidenz-Intervallen (95%CI) des qualitativen lateral flow Tests und des quantitativen ELISA alpha Defensin Tests wurden berechnet. Für den Vergleich zwischen Testmethoden wurden die AUCs mittels z-Test verglichen. Das Signifikanz-Level der Tests ist $p < 0.05$.

Studie 2:

Bei dieser prospektiven Kohortenstudie wurde eine Subpopulation zur Evaluierung der Genauigkeit der mPCR in Bezug auf die Detektion von Antibiotika-Resistenzgene aus zuvor publizierten Studien (November 2014 – Oktober 2015), die die Genauigkeit der mPCR bezüglich Identifikation von Mikroorganismen in der Synovialflüssigkeit von nativen Gelenken (26) und periprothetischen Gelenken (10) und in der Sonikationsflüssigkeit von Fraktur-assoziierten Infektionen (11) und explantierten Prothesen (12), herangezogen. Vor Einschluss in die Studien wurden die Patienten über die Studie aufgeklärt und eine schriftliche Einwilligungserklärung der Prüfungsteilnehmer eingeholt (publical trial identification: NCT02530229).

Einschlusskriterium war das Vorliegen von identischen Mikroorganismen und eine geno- und phänotypisch durchgeführte Resistenzbestimmung in der mPCR und konventionellen Kultur. Aus den insgesamt 378 gewonnenen Proben (179 Sonikationsflüssigkeiten [128 Prothesen, 51 Osteosynthesen], 199 Synovialflüssigkeiten [142 Prothesen, 57 native Gelenke]) zeigten 209 Proben kein bakterielles Wachstum, 73 ein diskordantes Ergebnis und in zwei Patienten wurde keine phänotypische Resistenzbestimmung durchgeführt. In den restlichen 94 Proben konnten konkordante Mikroorganismen mit geno- und phänotypischen Resistenzbestimmungen identifiziert werden. Zur Gewinnung der Synovialflüssigkeit wurde präoperativ eine Aspiration des betroffenen Gelenkes unter sterilen Kautelen durchgeführt. Für die Gewinnung der Sonikationsflüssigkeit wurde zunächst das Implantat explantiert und in einem sterilen Behälter in das mikrobiologische Labor transportiert, wo es anschließend wie zuvor beschrieben weiter prozessiert wurde (11). 2 - 5 mL der Synovialflüssigkeit und 10 – 50mL der Sonikationsflüssigkeit wurden in sterile Röhrchen überführt und bei -80°C bis zur weiteren Verarbeitung gelagert.

Für die phänotypische Resistenzbestimmung wurde das automatisierte System Vitek®2 (bioMérieux, Nürtingen, Deutschland) eingesetzt. Die minimale Hemmkonzentration wurde evaluiert und anhand der EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) Definitionskriterien interpretiert (https://www.eucast.org/ast_of_bacteria/).

Für die genotypische Untersuchung wurde das Unyvero i60 ITI Application System (Unyvero i60, Curetis, Holzgerlingen, Deutschland, 2.Generation) herangezogen. Dieses System ist ein semi-quantitativer DNA-Test basierend auf der parallelen Durchführung von 8 mPCR-Reaktionen. Es ist in der Lage 20 unterschiedliche Antibiotika-Resistenzmarker zu detektieren. Für die Verarbeitung der Sonikationsflüssigkeit wurden zunächst 50mL bei 4000 x g bei 4°C für 20 Minuten

zentrifugiert (Microcentrifuge 5427R, Eppendorf, Wesseling-Berzdorf, Deutschland). Der Überstand wird verworfen und 180µl des Niederschlages für die Analyse in der mPCR benötigt. Die Synovialflüssigkeit kann direkt ohne zusätzlichen Prozedurschritt in der mPCR verarbeitet werden. Wie im Handbuch dargestellt und wie bereits in früheren Studien beschrieben, wurde die Analyse mittels mPCR durchgeführt (12, 27).

Die Resistenzgene *aacA4* (Aminoglykoside), *ctx-M* (3.Generation-Cephalosporine), *ermA* (Makrolid/Lincosamid), *gyrA83* (Fluoroquinolone), *mecA* (Oxacillin), *vanA* (Vancomycin) und *bla_{ndm}*, *bla_{oxa-23}*, *bla_{oxa-48}*, *bla_{oxa-58}* (Carbapenem) werden mit einer Konzentration von 10⁴ DNA Kopien/ml und die Resistenzgene *ermC* (Makrolid/Lincosamid), *mecC* (Oxacillin), *rpoB* (Rifampicin), and *vanB* (Vancomycin) mit einer Konzentration von 10⁶ DNA Kopien/ml mittels mPCR detektiert.

Für die statistische Auswertung wurde die phänotypische Resistenzbestimmung mittels konventioneller Kultur als Goldstandard herangezogen. Die Sensitivität, die Spezifität, der PPV und NPV wurden zur Bestimmung der Genauigkeit der mPCR in Bezug auf die Evaluierung der Resistenz-Identifikation berechnet. Konkordanz-Analysen wurden für den Vergleich von phäno- und genotypischen Resistenzbestimmung durchgeführt, allerdings nur für genotypische Resistenzmarker, die in diesem mPCR System inkludiert sind.

Studie 3:

In dieser retrospektiven Kohortenstudie wurden 93 periprothetische Hüftinfektionen aus 92 Patienten (ein Patient mit gleichzeitiger Infektion der rechten und linken Hüfte) mit durchgeführtem zwei-zeitigem Wechsel und „Girdlestone Hüfte“ im prothesenfreien Intervall von März 2006 bis Januar 2014 eingeschlossen. Patienten mit insuffizienter Dokumentation oder zu kurzen Verlaufskontrollen unter einem Jahr

wurden ausgeschlossen. Das durchschnittliche Follow-up nach Reimplantation lag bei 42.7 Monaten (Spanne: 13.1 – 104.6 Monate).

Lokale und systemische Komplikationen wurden (i) während der Explantation, (ii) während des prothesen-freien Intervalls, (iii) während der Reimplantation und (iv) nach der Reimplantation dokumentiert und analysiert.

Die Patienten wurden je nach Intervalllänge in zwei Gruppen eingeteilt: Gruppe 1 \leq 10 Wochen (n=49 [53%]); Gruppe 2 $>$ 10 Wochen (n=44 [47%]) prothesen-freies Intervall.

Die Intervalllänge wurde durch den Chirurgen, den klinischen Verlauf des Patienten und den Operationssaal-Kapazitäten bestimmt. Die acetabulären und femoralen Knochendefekte wurden anhand der Paprosky Klassifikation eingeteilt (28, 29) und eine periprothetische Gelenkinfektion wurde mit Hilfe der pEBJIS-Kriterien definiert (3).

Folgende lokale Komplikationen wurden erhoben: Blutverlust (definiert als notwendige Erythrozytenkonzentrat-Transfusion), Knochenfissur- und -fraktur, iatrogenen Nervenschaden, Luxation, mikrobiologisch erwiesene persistierende Infektion (während des prothesen-freien Intervalls), Reinfektion (nach Reimplantation), Wundheilungsstörung, Beinlängendifferenz nach Reimplantation ($>10\text{mm}$), aseptische Lockerung, ein Revision-bedürftiges massives Hämatom, heterotope Ossifikation, Schmerz (VAS \geq 6 Punkte im prothesen-freien Intervall und nach Reimplantation) und Bursitis trochanterica. Alle auftretenden systemischen Komplikationen wie z.B. allergische Reaktion auf die verabreichten Antibiotika, kardiovaskuläre Komplikationen (Vorhofflimmern, Endokarditis, supraventrikuläre Tachykardie, Myokardinfarkt, Insult, etc.) thromboembolische Komplikationen (tiefe Beinvenenthrombosen, Pulmonalembolien), systemisches inflammatorisches Response-Syndrom/Sepsis, Leberinsuffizienz, Cholezystolithiasis, Ileus, Niereninsuffizienz oder Elektrolytentgleisungen während des gesamten Beobachtungszeitraumes wurden dokumentiert.

Der Student t-test und der Fisher's exact Test wurden für den Vergleich von metrischen und binären Variablen zwischen beiden Gruppen herangezogen. Der chi-squared Test wurde angewandt, um alle Komplikationen der beiden Gruppen miteinander zu vergleichen. Kaplan-Meier Kurven wurden erstellt, um das revisions- und infektionsfreie Überleben beider Gruppen zu analysieren. Mit Hilfe des log-rank Tests wurden die Überlebenskurven zwischen beiden Gruppen verglichen. Das Signifikanz-Level der Tests ist $p < 0.05$.

3. Ergebnisse

Studie 1:

Bei Anwendung der pEBJIS-Kriterien lagen die Sensitivität (Abbildung 1) , Spezifität, Accuracy, PPV, NPV, LR+ und LR- des alpha Defensin lateral flow Tests bei 46% (95% Konfidenz-Intervall: 27% - 65%), 98% (88% -100%), 82% (73% – 91%), 91% (74% - 100%), 80% (70% - 90%), 22.27 (3.04 – 163.45) und 0.56 (0.38 – 0.82); und die des ELISA alpha Defensin Tests lagen bei 50% (31% – 69%), 98% (88% – 100%), 83% (74% – 92%), 92% (76% – 100%), 81% (71% – 91%), 24.50 (3.37 – 178.22) und 0.51 (0.34 – 0.78). Die AUC des lateral flow Test war 0.72 (0.61 – 0.83) und die des ELISA Tests 0.74 (0.63 – 0.85). Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den AUCs beider Testmethoden gezeigt werden ($p=0.566$).

Basierend auf den MSIS-Kriterien wurde eine Sensitivität des lateral flow Tests und des ELISA Tests von 77% (49% – 92%) und 85% (56% – 97%) berechnet. Die Spezifität beider Testmethoden war identisch mit 98% (90% – 100%). Wurden die IDSA-Kriterien eingesetzt, konnte eine Sensitivität des lateral flow Tests von 67% (42% – 85%) und des ELISA Tests von 73% (48% – 98%) gezeigt werden. Die Spezifität beider Testmethoden war 98% (90% – 100%). Es konnte auch bei Anwendung der

MSIS- und IDSA-Kriterien kein signifikanter Unterschied zwischen den AUCs beider Testmethoden gefunden werden.

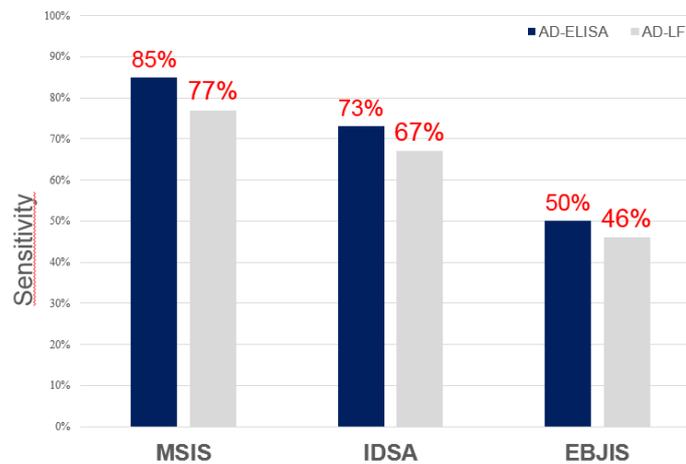


Abbildung 1 Das Balkendiagramm zeigt die Sensitivitäten des ELISA alpha Defensin Tests (AD-ELISA) und des lateral flow alpha Defensin Tests (AD-LF) bei Anwendung der unterschiedlichen Kriterien (MSIS [Musculoskeletal Infection Society], IDSA [Infectious Diseases Society of America], EBJIS [European Bone and Joint Infection Society]).

Studie 2:

Die mediane Sensitivität, Spezifität und Übereinstimmung aller mittels mPCR durchgeführten genotypischen Resistenzbestimmungen wurde mit 46%, 95% und 80% berechnet.

Die Übereinstimmung von genotypischer und phänotypischer Empfindlichkeit in *Staphylococcus* spp. war für Oxacillin 72%, Aminoglykoside 73%, Makrolid/Lincosamid 73% und für Rifampicin 84%. Die mPCR war in der Lage, in 10 Koagulase-negativen Staphylokokken ein Oxacillin-Resistenzgen zu detektieren, wobei in der konventionellen Kultur in 23 Koagulase-negativen Staphylokokken eine Resistenz beobachtet wurde (Sensitivität 10/23; 44%). Keine, der in der Kultur detektierten Rifampicin-Resistenzen (n=6), konnte mittels mPCR nachgewiesen werden (Sensitivität 0%). Beide *Staphylococcus aureus* Fälle mit phänotypischer Resistenz gegen Oxacillin konnten mit der mPCR identifiziert werden (Sensitivität 100%).

Bezüglich Rifampicin-Resistenzgenbestimmung zeigte sich ein richtig positives und ein falsch positives Ergebnis mittels mPCR (Sensitivität: 100%, Spezifität: 93%).

In *Enterococcus* spp. konnte für die Vancomycin Resistenzgenbestimmung mittels mPCR eine Spezifität von 100% ermittelt werden. Die Spezifität der Aminoglykosid-Bestimmung war ebenso 100%, die Sensitivität jedoch nur 33% (Abbildung 2).

Die mPCR identifizierte in vier *Enterobacteriaceae* Aminoglykosid-Resistenzgene, wohingegen keine phänotypische Resistenz gefunden werden konnte (Spezifität: 71%). Es konnte weder mittels konventioneller Kultur noch mPCR eine Carbapenem-Resistenz oder Resistenz gegen Cephalosporine der dritten Generation in *Enterobacteriaceae* gefunden werden (Spezifität 100%). In neun Fällen wurde eine Fluoroquinolon-Resistenz-Bestimmung mittels konventioneller Kultur durchgeführt. Von diesen konnte in vier eine genotypische und in drei Fällen eine phänotypische Resistenz beobachtet werden, wodurch eine Sensitivität von 100% und Spezifität von 83% berechnet werden konnte.

In der konventionellen Kultur wurden in zwei *Streptococcus* spp. eine Resistenz gegen Makrolide/Lincosamide gefunden, die allerdings nicht durch die mPCR erkannt wurden (Sensitivität: 0%, Spezifität: 100%).

In den *Cutibacterium* spp. wurde in den sechs phänotypisch durchgeführten Resistenzbestimmungen weder in der konventionellen Kultur noch in der mPCR ein Hinweis auf Resistenz beobachtet (Spezifität: 100%).

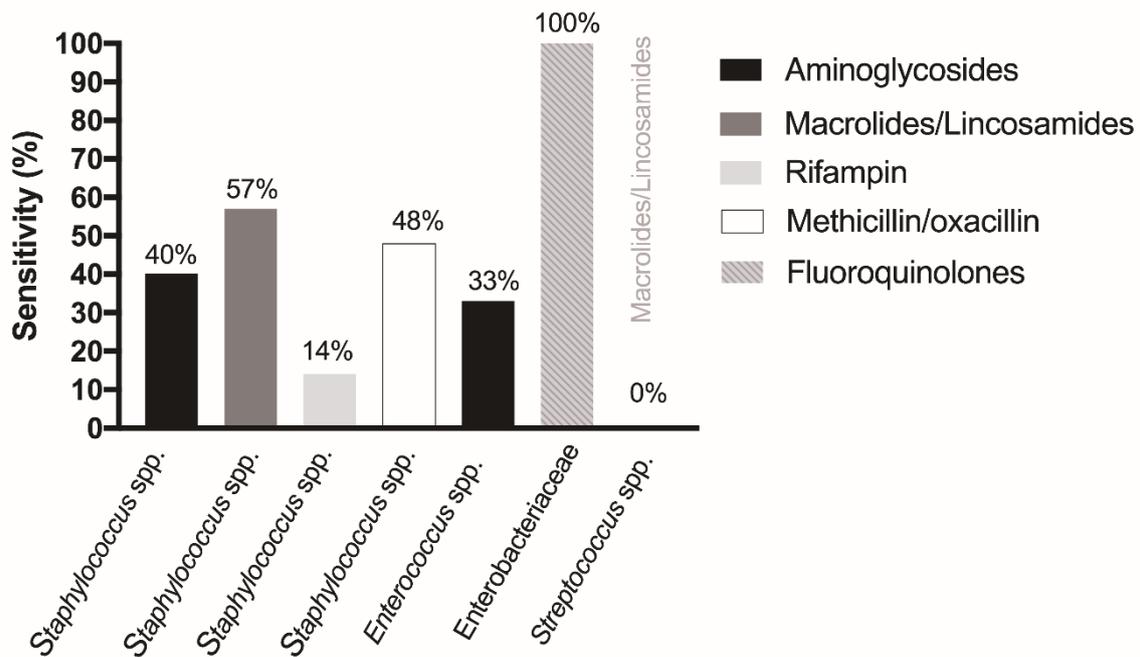


Abbildung 2 Detektion der antimikrobiellen Resistenzen durch die multiplex PCR in unterschiedlichen Pathogenen (aus Sigmund et al, BMC Microbiology, 2020 (30)).

Studie 3:

Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen bezüglich Alter, Geschlecht, American Society of Anesthesiologists (ASA) Score und Anzahl der vorangegangenen Operationen. Der Body Mass Index in Gruppe 2 war jedoch signifikant geringer im Vergleich zur Gruppe 1. Zusätzlich gab es in Gruppe 1 mehr Patienten mit acetabulären Paprosky Typ 1. Bezüglich Paprosky Typ 2 und 3 gab es keine Unterschiede zwischen beiden Gruppen. Bei 72 Fällen gelang bei Explantation ein phänotypischer Keimnachweis mittels konventioneller Kultur, wobei am häufigsten Koagulase-negative Staphylokokken (n=53) gefolgt von *Staphylococcus aureus* (n=11) und *Cutibacterium acnes* (n=8) nachgewiesen wurden.

Über den gesamten Beobachtungszeitraum wurden insgesamt 146 Komplikationen, 66 in Gruppe 1 (≤ 10 Wochen) und 80 (> 10 Wochen) in Gruppe 2, beobachtet, wobei in 71 Fällen (71/93; 76%) zumindest eine Komplikation dokumentiert wurde. Die

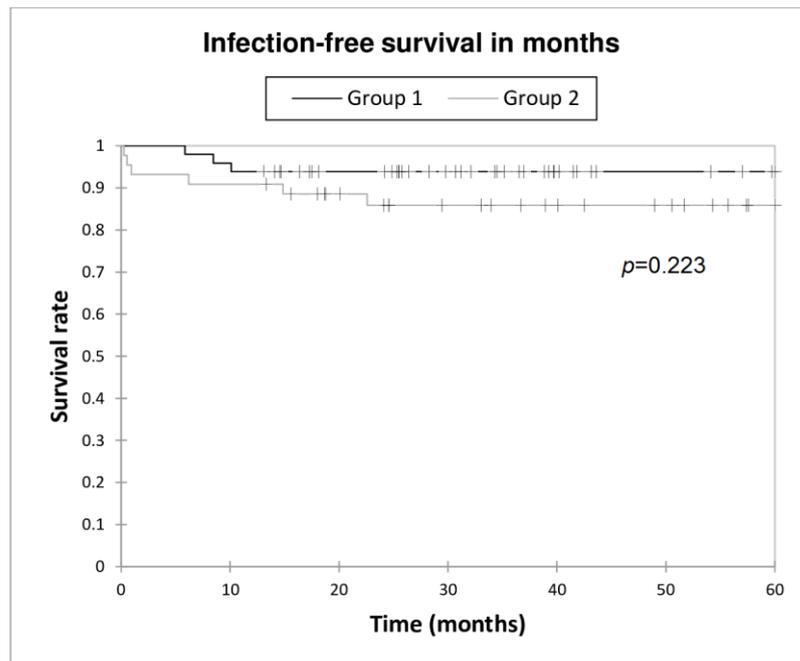
häufigsten lokalen Komplikationen (Tabelle 1) waren ein relevanter Blutverlust während der Reimplantation (n=25) und während der Explantation (n=22), eine persistierende Infektion (n=16), eine Beinlängendifferenz (n=13) und eine Reinfektion (n=9). Es zeigten sich signifikant weniger Komplikationen nach Reimplantation in Gruppe 1 (16 Komplikationen in 13 Patienten, n=13/49, 27%) im Vergleich zu Gruppe 2 (31 Komplikationen in 20 Patienten, n=20/44, 46%) ($p=0.012$). Wundheilungsstörungen nach Reimplantation wurden häufiger bei Patienten mit langem prothesen-freiem Intervall (Gruppe 2) beobachtet.

Mit Hilfe der Kaplan-Meier Analysen konnte eine Infektions-freie Überlebenswahrscheinlichkeit nach 12 Monaten von 93.9% (87% – 100%) nach ≤ 10 -wöchigem Intervall und von 90.9% (82% – 99%) nach >10 -wöchigem prothesen-freiem Intervall berechnet werden (Abbildung 3). Die Revisions-freie Überlebenswahrscheinlichkeit nach 12 Monaten war in Gruppe 1 85.7% (76% – 96%) und in Gruppe 2 74.4% (61% – 88%). Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Kurven/Gruppen bezüglich infektions-freies ($p=0.223$) und revisions-freies ($p=0.058$) Überleben gefunden werden.

Interessant war die Tatsache, dass mit steigendem acetabulären ($p=0.008$) und femoralen ($p=0.043$) Paprosky Score mehr Komplikationen beobachtet wurden. Bei Patienten mit acetabulären Paprosky Typ 1 (n=10) wurden 7 Komplikationen dokumentiert, mit Paprosky Typ 2 (n=47) 69 Komplikationen und mit Paprosky Typ3 (n=36) 70 Komplikationen. Mit steigendem acetabulären Paprosky Score kam es zu häufigeren Blutverlusten und Knochenfrakturen. Mit steigendem femoralen Paprosky Score kam es vermehrt zu femoralen Frakturen und Luxationen.

Tabelle 1. Alle Komplikationen nach 2-zeitigem Wechsel mit Girdlestone Hüfte im prothesen-freien Intervall (übersetzt aus Sigmund et al, Journal of Clinical Medicine, 2019 (31)). *Heterotope Ossifikation, Hämatom, Schmerz mit VAS ≥ 6 , Bursitis trochanterica.

Komplikationen	Total (n=93)	Gruppe 1 (Intervall \leq 10Wochen) (n=49)	Gruppe 2 (Intervall $>$ 10Wochen) (n=44)	p-Wert
Explantation (OP)				
Blutverlust	22 (24)	9 (18)	13 (30)	0.230
Parese (temporär)	1 (1)	0 (0)	1 (2)	0.473
Fraktur	3 (3)	2 (4)	1 (2)	1.000
Girdlestonesituation				
Persistierende Infektion	16 (17)	8 (16)	8 (18)	1.000
Wundheilungsstörung	6 (6)	2 (4)	4 (9)	0.417
Fraktur	3 (3)	2 (4)	1 (2)	1.000
Andere*	13 (14)	9 (18)	4 (9)	0.268
Reimplantation (OP)				
Blutverlust	25 (27)	13 (27)	12 (27)	1.000
Fraktur	5 (5)	3 (6)	2 (5)	1.000
Positive Mikrobiologie	3 (3)	1 (2)	2 (5)	0.601
Parese (temporär)	2 (2)	1 (2)	1 (2)	1.000
Nach Reimplantation				
Beinlängendifferenz	13 (14)	4 (8)	9 (20)	0.134
Reinfektion	9 (10)	3 (6)	6 (14)	0.299
Dislokation	7 (8)	3 (6)	4 (9)	0.704
Wundheilungsstörung	6 (7)	0 (0)	6 (14)	0.009
Fraktur	3 (3)	2 (4)	1 (2)	1.000
Asept. Lockerung	2 (2)	0 (0)	2 (5)	0.226
Andere*	7 (8)	4 (8)	3 (7)	0.688
Total	146	66	80	0.068



No° at risk

Group 1	49	47	39	30	17	11	7
Group 2	44	41	35	29	25	22	15

Abbildung 3. Kaplan Meier Kurve mit Infektion als Endpunkt bei Patienten mit prothesen-freiem Intervall ≤ 10 Wochen (schwarz, Group 1) und Intervall >10 Wochen (grau, Group 2). Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen bezüglich Infektions-freiem Intervall.

Systemische Komplikationen waren unerwünschte kardiovaskuläre Ereignisse (n=6; Vorhofflimmern, supraventrikuläre Tachykardie, Herzinfarkt, Insult, Endokarditis), allergische Reaktionen auf die verabreichten Antibiotika (n=6), thromboembolische Ereignisse (n=4; tiefe Beinvenenthrombose, Lungenarterienembolie), Leberinsuffizienz (n=2), Cholezystolithiasis (n=1), akutes Nierenversagen (n=1), Sepsis/ Systemisches inflammatorisches Response-Syndrom (n=2), sakraler Dekubitus (n=1), Pneumothorax (n=1), paralytischer Ileus (n=1) und Hyponatriämie (n=1). Thromboembolische Ereignisse waren signifikant häufiger in Gruppe 2 beobachtet worden.

4. Diskussion

Studie 1:

Obwohl in der Literatur höhere Sensitivitäten des quantitativen ELISA alpha Defensin Tests (97% – 100%; (4, 7)) im Vergleich zum qualitativen lateral flow alpha Defensin Tests (69% - 77%; (9, 32)) beschrieben wurden, konnten wir dies in unserer Studie nicht bestätigen. Ungeachtet von den herangezogenen Kriterien (MSIS, IDSA, pEBJIS) war keine Modalität der jeweils anderen überlegen. Nichtsdestotrotz war die Sensitivität beider alpha Defensin Tests (46% [qualitativ], 50% [quantitativ]) bei Einsatz der pEBJIS – Kriterien deutlich geringer. Diese Diskrepanz (MSIS: 77% [qualitativ], 85% [quantitativ]; IDSA: 67% [qualitativ], 73% [quantitativ]) ist Ausdruck der Tatsache, dass mit diesen Kriterien mehr periprothetische Gelenksinfektionen (n=22/71) und hier vor allem chronische Infektionen im Vergleich zu den MSIS- (n=13/71) und IDSA– (n=15/71) Kriterien in unserer Studie identifiziert werden konnten.

Aufgrund dieser geringen Sensitivität beider Testmethoden (bei Anwendung der pEBJIS-Kriterien) können bei hoher Spezifität sowohl der quantitative ELISA Test als auch der lateral flow Test lediglich als suggestive Kriterien (und nicht als Infektionsbestätigende Kriterien) in der Diagnostik von periprothetischen Gelenksinfektionen empfohlen werden.

Da für die ELISA-Bestimmung ein Labor mit der dazugehörigen Infrastruktur und einhergehenden verlängerten Untersuchungsdauer benötigt wird, kann diese Methode nur als präoperativer diagnostischer Test (und nicht als intraoperativer Test) eingesetzt werden. Der lateral flow Test hingegen ist aufgrund der schnellen Verfügbarkeit (10 Minuten) und leichten Handhabung besser für das intraoperative Setting geeignet, jedoch mit höheren Anschaffungskosten verbunden. Hier ist jedoch auch zu beachten, dass aufgrund der tiefen Sensitivität und der hohen Spezifität nur ein positives Ergebnis zuverlässig gewertet werden kann, d.h. bei positivem Resultat von einer

Infektion ausgegangen werden sollte, ein negatives Resultat eine Infektion nicht ausschließt.

Studie 2:

In unserer Studie, konnte insgesamt nur eine geringe Sensitivität (46%) der kommerziell erhältlichen mPCR in Bezug auf die Resistenzbestimmung gezeigt werden, weshalb dieses System die konventionelle Kultur lediglich ergänzen und nicht ersetzen kann. Nichtsdestotrotz war die Spezifität (95%) sehr hoch, somit kann davon ausgegangen werden, dass ein positives Testergebnis mit hoher Wahrscheinlichkeit eine tatsächliche Resistenz repräsentiert.

Die Detektionsrate von Oxacillin-Resistenzen in *Staphylococcus aureus* (100%) war deutlich höher im Vergleich zu jener in Koagulase-negativen Staphylokokken (44%). Eine mögliche Erklärung für die geringere Sensitivität in Koagulase-negativen Staphylokokken ist die in low-grade Infektionen bedingte geringe Keimbelastung bei niedrig-virulenten Staphylokokken, wodurch möglicherweise nicht das Detektionslimit für *mecA* und *mecC* ($\sim 10^4$; $\sim 10^6$) erreicht werden konnte. Ebenso könnte die Vielzahl der unterschiedlichen *mec* – Gene in Methicillin-resistenten Koagulase-negativen Staphylokokken für die verringerte Detektionsrate von Oxacillin-Resistenzen verantwortlich sein (33).

In Implantat-assoziierten Infektionen verursacht durch *Cutibacterium* spp. oder Staphylokokken ist die Sensibilität von Rifampicin als einziges Biofilm-aktives Antibiotikum aus klinischer Sicht von enormer Bedeutung (34). Ist dem Operateur präoperativ eine Rifampicin-Resistenz bekannt, wird normalerweise von einem Wechsel der mobilen Teile (Debridement, Antibiotika, Implantaterhalt ohne totalen Wechsel von Komponenten) oder einem ein-zeitigem Wechsel Abstand genommen und ein zwei-zeitiger beziehungsweise mehr-zeitiger Wechsel favorisiert (1). In

Koagulase-negativen Staphylokokken konnte in unserer Studie eine moderate Übereinstimmung (78%), in *Staphylococcus aureus* Stämmen eine sehr gute Übereinstimmung (93%) und in *Cutibacterium* spp. eine exzellente Übereinstimmung (100%) zwischen der genotypischen und phänotypischen Resistenzbestimmung von Rifampicin beobachtet werden. In Gram-negativen Bakterien hingegen spielen Fluoroquinolone als Biofilm-aktive Antibiotika eine bedeutende Rolle (35). In den untersuchten *Escherichia coli* Stämmen konnte ebenso eine sehr gute Übereinstimmung (89%) zwischen konventioneller Resistenzbestimmung und mPCR gezeigt werden.

Es kann derzeit davon ausgegangen werden, dass diese kommerziell erhältliche mPCR nicht in der Lage ist alle Resistenzen zu identifizieren. Einerseits ist bekannt, dass Resistenzgene nicht ausschließlich mit phänotypischen Resistenzen korrelieren (36) und andererseits gibt es eine Vielzahl an Resistenzgenen, die derzeit nicht in diesem mPCR System enthalten sind. Aufgrund unserer Ergebnisse wird deshalb die konventionelle Kultur weiterhin als Goldstandard zur Identifikation von Mikroorganismen und deren Resistenzmuster empfohlen.

Studie 3:

Insgesamt kam es während des Beobachtungszeitraumes in der Mehrzahl (76%) der untersuchten Patienten zu mindestens einer Komplikation. Nichtsdestotrotz unterscheidet sich die Komplikationsrate nach zwei-zeitigem Prothesenwechsel mit kurzem prothesen-freiem Intervall (Girdlestone) nicht von der operativen Therapie mittels antibiotika-beladenem Zementspacer im Intervall. Ganz im Gegenteil wurden Spacer-assoziierte Komplikationsraten von 20 – 45% beschrieben und führten bei Spacer-Fraktur, Spacer-Luxation, Migration in das Becken mit einhergehendem acetabulären Knochendefekten oder Knochenfrakturen häufig zu notwendigen

Revisionsoperationen während des prothesen-freien Intervalls (37, 38). Diese Nachteile stellen sogleich die Vorteile der Resektionsarthroplastie dar. Der allerdings oftmals unter Chirurgen beanstandete Nachteil einer Girdlestone Hüfte ist dahingegen die durch Muskel- und Weichteilkontrakturen und acetabulären und femoralen Knochendefekten einhergehende Beinlängenverkürzung nach Reimplantation einer Prothese (22). Nichtsdestotrotz zeigten in unserer Studie bloß 8% der Patienten in Gruppe 1 (Intervall ≤ 10 Wochen) eine Beinlängendifferenz von durchschnittlich 13mm im Vergleich zu 20% in Gruppe 2 (Intervall >10 Wochen) mit durchschnittlich 20mm Beinlängenverkürzung. In einer Studie von Diemen et al. (39), wurde nach zwei-zeitigem Wechsel mit Implantation eines Zementspacers im prothesen-freien Intervall eine Beinlängendifferenz von 8% aus 136 Patienten mit einer durchschnittlichen Verkürzung von 26mm beschrieben.

Bezüglich Reinfektionen zeigte sich in der von uns untersuchten Kohorte ebenso ein Trend zu niedrigeren Raten bei Patienten mit kurzem Intervall (6%) im Vergleich zu Patienten mit langem Intervall (14%). Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit den beschriebenen Reinfektionsraten (2% - 19%) bei zwei-zeitigem Wechsel mit Implantation eines Zementspacers im prothesen-freien Intervall (39-41). Infolge der übereinstimmenden Rate der Beinlängendifferenz und Reinfektionen scheint die Implantation eines Zementspacers der Resektionsarthroplastie mit kurzem prothesen-freiem Intervall nicht überlegen. Da es sich hierbei jedoch lediglich um einen Literaturvergleich handelt, werden randomisierte Studien zum Vergleich beider Behandlungsmethoden mit kurzem Intervall empfohlen.

Ein weiterer Vorteil des kurzen Intervalls in der Behandlung von periprothetischen Hüftinfektionen konnte in Bezug auf alle erhobenen Komplikationen beobachtet werden. Insgesamt wurde bei Patienten mit kurzem Intervall eine geringere lokale Komplikationsrate nach Reimplantation einer Prothese im Vergleich zu Patienten mit

langem Intervall ermittelt werden, jedoch ähnliche Komplikationsraten während der Explantation, des prothesen-freien Intervalls und der Reimplantation. Wenig überraschend war hingegen die höhere Komplikationsrate bei Patienten mit größeren acetabulären (Blutverlust, Knochenfrakturen, Luxationen, temporäre Parese, Wundheilungsstörung) und femoralen (Frakturen) Knochendefekten.

Limitationen:

In allen drei Studien stellen die Rekrutierung der Patienten über eine Universitätsklinik als Selektions-Bias sowie die geringe Fallzahl wesentliche Limitationen dar. Aufgrund der geringen Stichprobengröße konnte in Studie 1 eine informative Aufschlüsselung über die Genauigkeit beider alpha Defensin Tests in verschiedenen Gelenken, in unterschiedlichen Pathogenen und bei Patienten mit unterschiedlicher klinischer Präsentation nicht durchgeführt werden. Es zeigt sich darüber hinaus in Studie 2 eine geringe Anzahl an detektierten Rifampicin-resistenten Staphylokokken und Fluoroquinolon-resistenten *Enterobacteriaceae*, weshalb die Genauigkeit der mPCR zur Resistenzbestimmung in Problemerregern mit Vorsicht interpretiert werden sollte. In Studie 3 war die statistische Analyse zwischen beiden Gruppen ebenso aufgrund der geringen Fallzahl erschwert. Nichtsdestotrotz repräsentiert diese Studie die größte single-center Beobachtungsstudie über Komplikationen bei zwei-zeitigem Wechsel mit Resektionsarthroplastie im prothesen-freien Intervall.

5. Schlussfolgerung

Zusammenfassend konnten die zwei erst genannten vorliegenden Forschungsarbeiten (Studie 1, Studie 2) dazu beitragen den diagnostischen Wert von alpha Defensin in der Synovialflüssigkeit zur Diagnostik von periprothetischen Infektionen und den Wert der mPCR zur Identifikation von Resistenzgenen bei Patienten mit Implantat-assoziiertes Infektion zu evaluieren. Diese Studien konnten zwar exzellente Spezifitäten nachweisen, allerdings können diese Methoden aufgrund der geringen Sensitivitäten lediglich als zusätzliche Untersuchungen zu den bereits in der Klinik etablierten Methoden empfohlen werden. Zukünftige Forschungsarbeiten in diesem Bereich sind anzustreben, um die Diagnostik von periprothetischen Gelenkinfektionen zu optimieren.

Die Ergebnisse der 3. Studie lassen schlussfolgern, dass die Komplikationsrate nach zwei-zeitigem Prothesenwechsel mit prothesen-freiem Intervall (Girdlestone) zur Behandlung von PHI mit 76% hoch ist. Perspektivisch stellt die Resektionsarthroplastie im prothesen-freien Intervall ein vielversprechendes therapeutisches Behandlungskonzept vor allem für Patienten mit massiven acetabulären und femoralen Knochendefekten dar.

6. Abkürzungsverzeichnis

AUC	Area Under the Curve, Fläche unter der Kurve
Ca	circa
CI	Konfidenzintervall
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EBJIS	European Bone and Joint Infection Society
Etc	etcetera
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
IDSA	Infectious Diseases Society of America
LR+	positive likelihood ratio
LR-	negative likelihood ratio
µL	Mikroliter
mL	Milliliter
mPCR	multiplex Polymerase-Kettenreaktion
MSIS	Musculoskeletal Infection Society
NPV	negative prädiktiver Wert
PCR	Polymerase-Kettenreaktion (englisch: polymerase chain reaction)
pEBJIS	proposed European Bone and Joint Infection Society (2017 vorgeschlagene EBJIS-Kriterien)
PHI	periprothetische Hüftinfektion
PPI	periprothetische Gelenkinfektion
PPV	positiver prädiktiver Wert
ROC	receiver operating characteristic curve, Kurve der Operationscharakteristik eines Beobachters
Rpm	revolutions per minute, Umdrehungen pro Minute

7. Literaturverzeichnis

1. Zimmerli W, Trampuz A, Ochsner PE. Prosthetic-joint infections. *The New England journal of medicine*. 2004;351(16):1645-54.
2. Karczewski D, Winkler T, Renz N, Trampuz A, Lieb E, Perka C, et al. A standardized interdisciplinary algorithm for the treatment of prosthetic joint infections. *The bone & joint journal*. 2019;101-b(2):132-9.
3. Renz N, Yermak K, Perka C, Trampuz A. Alpha Defensin Lateral Flow Test for Diagnosis of Periprosthetic Joint Infection: Not a Screening but a Confirmatory Test. *The Journal of bone and joint surgery American volume*. 2018;100(9):742-50.
4. Deirmengian C, Kardos K, Kilmartin P, Cameron A, Schiller K, Booth RE, Jr., et al. The Alpha-defensin Test for Periprosthetic Joint Infection Outperforms the Leukocyte Esterase Test Strip. *Clinical orthopaedics and related research*. 2015;473(1):198-203.
5. Frangiamore SJ, Siqueira MB, Saleh A, Daly T, Higuera CA, Barsoum WK. Synovial Cytokines and the MSIS Criteria Are Not Useful for Determining Infection Resolution After Periprosthetic Joint Infection Explantation. *Clinical orthopaedics and related research*. 2016;474(7):1630-9.
6. Chalifour A, Jeannin P, Gauchat JF, Blaecke A, Malissard M, N'Guyen T, et al. Direct bacterial protein PAMP recognition by human NK cells involves TLRs and triggers alpha-defensin production. *Blood*. 2004;104(6):1778-83.
7. Bingham J, Clarke H, Spangehl M, Schwartz A, Beauchamp C, Goldberg B. The alpha defensin-1 biomarker assay can be used to evaluate the potentially infected total joint arthroplasty. *Clinical orthopaedics and related research*. 2014;472(12):4006-9.
8. Frangiamore SJ, Gajewski ND, Saleh A, Farias-Kovac M, Barsoum WK, Higuera CA. alpha-Defensin Accuracy to Diagnose Periprosthetic Joint Infection-Best Available Test? *The Journal of arthroplasty*. 2016;31(2):456-60.
9. Sigmund IK, Holinka J, Gamper J, Staats K, Bohler C, Kubista B, et al. Qualitative alpha-defensin test (Synovasure) for the diagnosis of periprosthetic infection in revision total joint arthroplasty. *The bone & joint journal*. 2017;99-b(1):66-72.
10. Morgenstern C, Cabric S, Perka C, Trampuz A, Renz N. Synovial fluid multiplex PCR is superior to culture for detection of low-virulent pathogens causing periprosthetic joint infection. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 2018;90(2):115-9.
11. Renz N, Cabric S, Morgenstern C, Schuetz MA, Trampuz A. Value of PCR in sonication fluid for the diagnosis of orthopedic hardware-associated infections: Has the molecular era arrived? *Injury*. 2018;49(4):806-11.
12. Renz N, Feihl S, Cabric S, Trampuz A. Performance of automated multiplex PCR using sonication fluid for diagnosis of periprosthetic joint infection: a prospective cohort. *Infection*. 2017.
13. Hischebeth GT, Randau TM, Buhr JK, Wimmer MD, Hoerauf A, Molitor E, et al. Unyvero i60 implant and tissue infection (ITI) multiplex PCR system in diagnosing periprosthetic joint infection. *Journal of microbiological methods*. 2016;121:27-32.
14. Portillo ME, Salvado M, Sorli L, Alier A, Martinez S, Trampuz A, et al. Multiplex PCR of sonication fluid accurately differentiates between prosthetic joint infection and aseptic failure. *The Journal of infection*. 2012;65(6):541-8.
15. Sigmund IK, Windhager R, Sevelde F, Staats K, Puchner SE, Stenicka S, et al. Multiplex PCR Unyvero i60 ITI application improves detection of low-virulent microorganisms in periprosthetic joint infections. *International orthopaedics*. 2018.
16. Pattyn C, De Geest T, Ackerman P, Audenaert E. Preformed gentamicin spacers in two-stage revision hip arthroplasty: functional results and complications. *International orthopaedics*. 2011;35(10):1471-6.
17. Ritter MA, Farris A. Outcome of infected total joint replacement. *Orthopedics*. 2010;33(3).
18. Younger AS, Duncan CP, Masri BA, McGraw RW. The outcome of two-stage arthroplasty using a custom-made interval spacer to treat the infected hip. *The Journal of arthroplasty*. 1997;12(6):615-23.

19. Choa R, Gundle R, Critchley P, Giele H. Successful management of recalcitrant infection related to total hip replacement using pedicled rectus femoris or vastus lateralis muscle flaps. *The Journal of bone and joint surgery British volume*. 2011;93(6):751-4.
20. Duncan CP, Masri BA. The role of antibiotic-loaded cement in the treatment of an infection after a hip replacement. *Instructional course lectures*. 1995;44:305-13.
21. Hope PG, Kristinsson KG, Norman P, Elson RA. Deep infection of cemented total hip arthroplasties caused by coagulase-negative staphylococci. *The Journal of bone and joint surgery British volume*. 1989;71(5):851-5.
22. Charlton WP, Hozack WJ, Teloken MA, Rao R, Bissett GA. Complications associated with reimplantation after girdlestone arthroplasty. *Clinical orthopaedics and related research*. 2003(407):119-26.
23. Garcia-Rey E, Cruz-Pardos A, Madero R. Clinical outcome following conversion of Girdlestone's resection arthroplasty to total hip replacement: a retrospective matched case-control study. *The bone & joint journal*. 2014;96-b(11):1478-84.
24. Renz N YK, Perka C, Trampuz A. Alpha defensin lateral flow test for diagnosis of periprosthetic joint infection: a screening or confirmatory test? *The Journal of bone and joint surgery American volume*. 2018.
25. Deirmengian C, Kardos K, Kilmartin P, Cameron A, Schiller K, Parvizi J. Combined measurement of synovial fluid alpha-Defensin and C-reactive protein levels: highly accurate for diagnosing periprosthetic joint infection. *The Journal of bone and joint surgery American volume*. 2014;96(17):1439-45.
26. Morgenstern C. RN, Cabric S., Perka C., Trampuz A. . Multiplex polymerase chain reaction and microcalorimetry in synovial fluid: can pathogen-based detection assays improve the diagnosis of septic arthritis? *The Journal of Rheumatology*. 2018.
27. Sigmund IK, Holinka J, Sevelde F, Staats K, Heisinger S, Kubista B, et al. Performance of automated multiplex polymerase chain reaction (mPCR) using synovial fluid in the diagnosis of native joint septic arthritis in adults. *The bone & joint journal*. 2019;101-b(3):288-96.
28. Paprosky WG, Greidanus NV, Antoniou J. Minimum 10-year-results of extensively porous-coated stems in revision hip arthroplasty. *Clinical orthopaedics and related research*. 1999(369):230-42.
29. Paprosky WG, Perona PG, Lawrence JM. Acetabular defect classification and surgical reconstruction in revision arthroplasty. A 6-year follow-up evaluation. *The Journal of arthroplasty*. 1994;9(1):33-44.
30. Sigmund IK, Renz N, Feihl S, Morgenstern C, Cabric S, Trampuz A. Value of multiplex PCR for detection of antimicrobial resistance in samples retrieved from patients with orthopaedic infections. *BMC microbiology*. 2020;20(1):88.
31. Sigmund IK, Winkler T, Onder N, Perka C, Renz N, Trampuz A. Complications of Resection Arthroplasty in Two-Stage Revision for the Treatment of Periprosthetic Hip Joint Infection. *Journal of clinical medicine*. 2019;8(12).
32. Suda AJ, Tinelli M, Beisemann ND, Weil Y, Khoury A, Bischel OE. Diagnosis of periprosthetic joint infection using alpha-defensin test or multiplex-PCR: ideal diagnostic test still not found. *International orthopaedics*. 2017;41(7):1307-13.
33. Zong Z, Peng C, Lu X. Diversity of SCCmec elements in methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci clinical isolates. *PloS one*. 2011;6(5):e20191.
34. Mihailescu R, Furustrand T, Corvec S, Oliva A, Betrisey B, Borens O, et al. High activity of Fosfomycin and Rifampin against methicillin-resistant staphylococcus aureus biofilm in vitro and in an experimental foreign-body infection model. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2014;58(5):2547-53.
35. Widmer AF, Wiestner A, Frei R, Zimmerli W. Killing of nongrowing and adherent Escherichia coli determines drug efficacy in device-related infections. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1991;35(4):741-6.

36. Piddock LJ. Assess drug-resistance phenotypes, not just genotypes. *Nature microbiology*. 2016;1(8):16120.
37. Faschingbauer M, Reichel H, Bieger R, Kappe T. Mechanical complications with one hundred and thirty eight (antibiotic-laden) cement spacers in the treatment of periprosthetic infection after total hip arthroplasty. *International orthopaedics*. 2015;39(5):989-94.
38. Yang FS, Lu YD, Wu CT, Blevins K, Lee MS, Kuo FC. Mechanical failure of articulating polymethylmethacrylate (PMMA) spacers in two-stage revision hip arthroplasty: the risk factors and the impact on interim function. *BMC musculoskeletal disorders*. 2019;20(1):372.
39. van Diemen MP, Colen S, Dalemans AA, Stuyck J, Mulier M. Two-stage revision of an infected total hip arthroplasty: a follow-up of 136 patients. *Hip international : the journal of clinical and experimental research on hip pathology and therapy*. 2013;23(5):445-50.
40. Kubista B, Hartzler RU, Wood CM, Osmon DR, Hanssen AD, Lewallen DG. Reinfection after two-stage revision for periprosthetic infection of total knee arthroplasty. *International orthopaedics*. 2012;36(1):65-71.
41. Cochran AR, Ong KL, Lau E, Mont MA, Malkani AL. Risk of Reinfection After Treatment of Infected Total Knee Arthroplasty. *The Journal of arthroplasty*. 2016;31(9 Suppl):156-61.

8. Eidesstattliche Versicherung und Anteilserklärung

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Dr. med.univ. Irene Katharina SIGMUND, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Stellenwert von neuen diagnostischen Methoden für die Diagnose von periprothetischen Gelenkinfektionen und die Komplikationsrate nach zwei-zeitigem Prothesenwechsel zur Behandlung von periprothetischen Hüftinfektionen“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zur Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Anteilserklärung an den erfolgten Publikationen:

Irene Katharina SIGMUND hatte folgenden Anteil an den drei Publikationen:

Publikation 1:

Is the Enzyme-linked Immunosorbent Assay More Accurate Than the Lateral Flow Alpha Defensin Test for Diagnosing Periprosthetic Joint Infection? Clin Orthop Relat Res. 2018 Aug;476(8):1645-1654. doi: 10.1097/CORR.0000000000000336.

Sigmund IK, Yermak K, Perka C, Trampuz A, Renz N.

Beitrag im Einzelnen: Erstautor.

Basierend auf unseren zwei Studien, in der die Genauigkeit des qualitativen alpha-Defensins (lateral flow test) in der Diagnostik evaluiert wurde , und einer umfangreichen Literaturrecherche bezüglich qualitativen und quantitativen alpha-Defensin (ELISA) , entwickelte ich aufgrund der kontroversen Ergebnisse die Idee einen direkten Vergleich zwischen beiden diagnostischen Methoden durchzuführen. Unter der Anleitung von PD Dr. Andrej Trampuz und Dr. Nora Renz wurde gemeinsam das Studiendesign entworfen und die Ein- und Ausschlusskriterien deklariert. Die Erhebung der klinischen Daten und die Testung des qualitativen alpha Defensins wurden durch Dr. Katsiaryna Yermak, Dr. Nora Renz und mich durchgeführt. Die Synovialflüssigkeitsproben wurden bei 270 rpm für 10 Minuten zentrifugiert und anschließend bei -80°C gelagert. Die Proben wurden danach in ein externes Labor (Labor Dr Fenner und Kollegen, Hamburg, Germany) geschickt und dort prozessiert. Die statistische Analyse führte ich unter Supervision von Dr. Nora Renz durch. Der komplette Artikel einschließlich Zusammenfassung, Einleitung, Methoden, Ergebnisse, Diskussion und Zusammenfassung wurde von mir in kompletter Selbstständigkeit verfasst und durch Dr. Nora Renz ergänzt. Anschließend wurde der Artikel von allen Koautoren gegengelesen und die Revisionsvorschläge eingearbeitet. Das Manuskript wurde nach Konsensus aller Autoren in das Top-Journal *Clinical Orthopaedics and Related Research* eingereicht und nach Major Revision angenommen und publiziert.

Publikation 2:

Value of multiplex PCR for detection of antimicrobial resistance in samples retrieved from patients with orthopaedic infections. BMC Microbiology (2020) 20:88, doi.org/10.1186/s12866-020-01741-7.

Sigmund IK, Renz N, Feihl S, Morgenstern C, CabricS, Trampuz A.

Beitrag im Einzelnen: Erstautor. (geteilte Erstautorenschaft mit Dr. Nora Renz)

Nach umfangreicher Literaturrecherche und eigener Evaluierung der multiplex PCR bezüglich Detektion von Mikroorganismen bei suspekten orthopädischen und unfallchirurgischen Infektionen, erarbeitete ich selbstständig die Idee ebenso die Detektion der Resistenzen von identifizierten Mikroorganismen mittels multiplex PCR genotypisch zu evaluieren. Unter der Anleitung von PD Dr. Andrej Trampuz und Dr. Nora Renz wurde gemeinsam das Studiendesign entworfen. Die Daten wurden durch Dr. Christian Morgenstern, Dr. Sabrina Cabric und mir erhoben. Die statistische Auswertung erfolgte durch Dr. Nora Renz, Dr. Susanne Feihl und mich. Der Artikel einschließlich Zusammenfassung, Einleitung, Methoden, Ergebnisse, Diskussion und Zusammenfassung wurde gemeinsam mit Dr. Nora Renz verfasst und durch Dr. Susanne Feihl ergänzt. Anschließend wurde der Artikel von allen Koautoren gegengelesen und die Revisionsvorschläge eingearbeitet. Das Manuskript wurde nach Konsensus aller Autoren in das Journal *BMC Microbiology* eingereicht und nach Major Revision angenommen und publiziert.

Publikation 3:

Complications of Resection Arthroplasty in Two-Stage Revision for the Treatment of Periprosthetic Hip Joint Infection. J. Clin. Med. 2019, 8, 2224.

doi:10.3390/jcm8122224.

Sigmund IK, Winkler T, Önder N, Perka C, Renz N, Trampuz A.

Beitrag im Einzelnen: Erstautor.

Das Konzept und das Studiendesign dieser Arbeit wurden durch PD Dr. Andrej Trampuz, PD Dr. Winkler Tobias, Prof. Dr. Carsten Perka, Dr. Nora Renz und mich entwickelt. Die Datenerhebung erfolgte retrospektiv durch Dr. Nuri Önder und mich. Aus der Krankengeschichte, der Bildgebung, den Operationsberichten, den mikrobiologischen Resultaten, histologischen Ergebnissen und aus den Laboranalysen wurden die für die Studie relevanten Informationen extrahiert und dokumentiert. Dr. Nora Renz und ich führten die statistischen Analysen durch. Der komplette Artikel einschließlich Zusammenfassung, Einleitung, Methoden, Ergebnisse, Diskussion und Zusammenfassung wurde von mir in kompletter Selbstständigkeit verfasst und durch Dr. Nora Renz, Dr. Tobias Winkler und PD Dr. Andrej Trampuz ergänzt. Anschließend wurde der Artikel von allen Koautoren gegengelesen und die Revisionsvorschläge eingearbeitet. Das Manuskript wurde nach Konsensus aller Autoren in das Journal *Journal of Clinical Medicine* eingereicht und nach Major Revision angenommen und publiziert.

03.07.2020

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers/der betreuenden Hochschullehrerin

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

9. Druckexemplare der ausgewählten Publikationen

Publikation 1:

Is the Enzyme-linked Immunosorbent Assay More Accurate Than the Lateral Flow Alpha Defensin Test for Diagnosing Periprosthetic Joint Infection? Clin Orthop Relat Res. 2018 Aug;476(8):1645-1654. doi: 10.1097/CORR.0000000000000336.

Sigmund IK, Yermak K, Perka C, Trampuz A, Renz N.

- Impact Factor: 4.091

Publikation 2:

Value of multiplex PCR for detection of antimicrobial resistance in pathogens causing orthopaedic infections. BMC Microbiology 2020.

Sigmund IK, Renz N, Feihl S, Morgenstern C, Cabric S, Trampuz A.

- Impact Factor: 2.829

Publikation 3:

Complications of Resection Arthroplasty in Two-Stage Revision for the Treatment of Periprosthetic Hip Joint Infection. J. Clin. Med. 2019, 8, 2224.

doi:10.3390/jcm8122224.

Sigmund IK, Winkler T, Önder N, Perka C, Renz N, Trampuz A.

- Impact Factor: 5.583

Publikation 1:

Is the Enzyme-linked Immunosorbent Assay More Accurate Than the Lateral Flow Alpha Defensin Test for Diagnosing Periprosthetic Joint Infection? Clin Orthop Relat Res. 2018 Aug;476(8):1645-1654. <https://doi.org/10.1097/corr.0000000000000336>
Sigmund IK, Yermak K, Perka C, Trampuz A, Renz N.

Is the Enzyme-linked Immunosorbent Assay More Accurate Than the Lateral Flow Alpha Defensin Test for Diagnosing Periprosthetic Joint Infection? Clin Orthop Relat Res. 2018 Aug;476(8):1645-1654. <https://doi.org/10.1097/corr.0000000000000336>
Sigmund IK, Yermak K, Perka C, Trampuz A, Renz N.

Is the Enzyme-linked Immunosorbent Assay More Accurate Than the Lateral Flow Alpha Defensin Test for Diagnosing Periprosthetic Joint Infection? Clin Orthop Relat Res. 2018 Aug;476(8):1645-1654. <https://doi.org/10.1097/corr.0000000000000336>
Sigmund IK, Yermak K, Perka C, Trampuz A, Renz N.

Is the Enzyme-linked Immunosorbent Assay More Accurate Than the Lateral Flow Alpha Defensin Test for Diagnosing Periprosthetic Joint Infection? Clin Orthop Relat Res. 2018 Aug;476(8):1645-1654. <https://doi.org/10.1097/corr.0000000000000336>
Sigmund IK, Yermak K, Perka C, Trampuz A, Renz N.

Is the Enzyme-linked Immunosorbent Assay More Accurate Than the Lateral Flow Alpha Defensin Test for Diagnosing Periprosthetic Joint Infection? Clin Orthop Relat Res. 2018 Aug;476(8):1645-1654. <https://doi.org/10.1097/corr.0000000000000336>
Sigmund IK, Yermak K, Perka C, Trampuz A, Renz N.

Is the Enzyme-linked Immunosorbent Assay More Accurate Than the Lateral Flow Alpha Defensin Test for Diagnosing Periprosthetic Joint Infection? Clin Orthop Relat Res. 2018 Aug;476(8):1645-1654. <https://doi.org/10.1097/corr.0000000000000336>
Sigmund IK, Yermak K, Perka C, Trampuz A, Renz N.

Is the Enzyme-linked Immunosorbent Assay More Accurate Than the Lateral Flow Alpha Defensin Test for Diagnosing Periprosthetic Joint Infection? Clin Orthop Relat Res. 2018 Aug;476(8):1645-1654. <https://doi.org/10.1097/corr.0000000000000336>
Sigmund IK, Yermak K, Perka C, Trampuz A, Renz N.

Is the Enzyme-linked Immunosorbent Assay More Accurate Than the Lateral Flow Alpha Defensin Test for Diagnosing Periprosthetic Joint Infection? Clin Orthop Relat Res. 2018 Aug;476(8):1645-1654. <https://doi.org/10.1097/corr.0000000000000336>
Sigmund IK, Yermak K, Perka C, Trampuz A, Renz N.

Is the Enzyme-linked Immunosorbent Assay More Accurate Than the Lateral Flow Alpha Defensin Test for Diagnosing Periprosthetic Joint Infection? Clin Orthop Relat Res. 2018 Aug;476(8):1645-1654. <https://doi.org/10.1097/corr.0000000000000336>
Sigmund IK, Yermak K, Perka C, Trampuz A, Renz N.

Is the Enzyme-linked Immunosorbent Assay More Accurate Than the Lateral Flow Alpha Defensin Test for Diagnosing Periprosthetic Joint Infection? Clin Orthop Relat Res. 2018 Aug;476(8):1645-1654. <https://doi.org/10.1097/corr.0000000000000336>
Sigmund IK, Yermak K, Perka C, Trampuz A, Renz N.

Publikation 2:

Sigmund et al. *BMC Microbiology* (2020) 20:88
<https://doi.org/10.1186/s12866-020-01741-7>

BMC Microbiology

RESEARCH ARTICLE

Open Access

Value of multiplex PCR for detection of antimicrobial resistance in samples retrieved from patients with orthopaedic infections



Irene Katharina Sigmund^{1,2†}, Nora Renz^{1†}, Susanne Feihl¹, Christian Morgenstern¹, Sabrina Cabric^{1,2} and Andrej Trampuz^{1,3*}

Abstract

Background: The performance of multiplex PCR (mPCR) for detection of antimicrobial resistance from clinical isolates is unknown. We assessed the ability of mPCR to analyse resistance genes directly from clinical samples. Patients with orthopedic infections were prospectively included. Phenotypical and genotypical resistance was evaluated in clinical samples (synovial and sonication fluid) where identical pathogens were identified by culture and mPCR.

Result: A total of 94 samples were analysed, including 60 sonication fluid and 34 synovial fluid samples. For coagulase-negative staphylococcus strains, mPCR detected resistance to oxacillin in 10 of 23 isolates (44%) and to rifampin in none of 6 isolates. For *S. aureus* isolates, detection rate of oxacillin and rifampin-resistance was 100% (2/2 and 1/1, respectively). Fluoroquinolone-resistance was confirmed by mPCR in all 3 isolates of Enterobacteriaceae, in enterococci resistance to aminoglycoside-high level was detected in 1 of 3 isolates (33%) and in streptococci resistance to macrolides/lincosamides in none of 2 isolates. The overall sensitivity for different pathogens and antimicrobials was 46% and specificity 95%, the median concordance was 80% (range, 57–100%). Full agreement was observed for oxacillin in *S. aureus*, vancomycin in enterococci, carbapenems/cephalosporins in Enterobacteriaceae and rifampin in *Cutibacterium* species.

Conclusion: The overall sensitivity for detection of antimicrobial resistance by mPCR directly from clinical samples was low. False-negative mPCR results occurred mainly in coagulase-negative staphylococci, especially for oxacillin and rifampin. However, the specificity of mPCR was high and a positive result reliably predicted antimicrobial resistance. Including universal primers in the PCR test assay may improve the detection rate but requires additional sequencing step.

(Continued on next page)

* Correspondence: andrej.trampuz@charite.de

[†]Irene Katharina Sigmund and Nora Renz contributed equally to this work.

¹Charité – Universitätsmedizin Berlin, corporate member of Freie Universität Berlin, Humboldt-Universität zu Berlin, and Berlin Institute of Health, Center for Musculoskeletal Surgery (CMSC), Charitéplatz 1, 10117 Berlin, Germany

³Berlin Institute of Health Center for Regenerative Therapies (BCRT), Föhrer Strasse 15, 13353 Berlin, Germany

Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s). 2020 **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated in a credit line to the data.

(Continued from previous page)

Trial registration: www.clinicaltrials.gov No. NCT02530229, registered at 21 August 2015 (retrospectively registered).

Keywords: Multiplex PCR, Periprosthetic joint infection, Antimicrobial resistance, Sonication, Molecular methods, Diagnosis

Background

An interdisciplinary approach including surgical and antimicrobial treatment is crucial to eradicate bone and joint infection, including periprosthetic joint infections (PJI) and infections after internal bone fixation [1]. Treatment strategies are guided by the type of causative pathogen and its antimicrobial susceptibility, with special focus on biofilm-active antibiotics [2].

Previous studies demonstrated limited sensitivity of periprosthetic tissue culture (45–71%) and synovial fluid culture (52–64%) for microbial detection [3–8]. Cultures remain negative in particular in low-burden, chronic low-grade infections or in case of preceding antimicrobial therapy [9, 10]. Moreover, phenotypical antimicrobial testing using conventional cultures requires several days in mixed infections and if slow-growing microorganisms are involved. Therefore, new techniques were developed to improve the diagnostic yield, such as sonication of retrieved implants and broad-range PCR of sonication fluid, improving sensitivities to 73–89% [3, 4, 10, 11]. In a further study, inoculation of sonication fluid into blood culture bottles further improved the diagnosis of orthopaedic implant-associated infections and reduced the time to culture positivity [12].

The value of multiplex PCR (mPCR) in synovial fluid, periprosthetic tissue and sonication fluid has been recently extensively investigated [6, 13–18]. Advantages of the mPCR technique are rapid identification of the causative pathogen and potentially detection of genetic markers for clinically relevant antimicrobial resistances [18]. However, limited data exists on the performance of mPCR for the detection of antimicrobial resistance markers in the clinical setting.

In this study, we assessed the value of a commercial mPCR assay (Unyvero i60 ITI) in genotypical detection of antimicrobial resistance, considering conventional culture the gold standard. In addition, we evaluated the concordance of susceptibility test results deriving from mPCR and culture in pathogens isolated from synovial and sonication fluid.

Results

Patient demographics

Ninety-four samples of 82 patients with a median age of 75 years (range, 28–98 years) were analysed, 47 patients (57%) were female. The 60 sonication fluid samples originated from 38 infected prostheses (20 knee, 15 hip, 2

shoulder, and 1 elbow prosthesis) and 22 osteosyntheses (localized in the spine in 9 patients, tibia in 6, ankle in 2, femur in 2, humerus in 1, clavicle in 1, and elbow in 1 patient). The 34 synovial fluids were harvested from 31 infected prosthetic (13 knees and 18 hips) and 3 native septic joints (two knee and one hip joint).

Microbiological characteristics

The detected pathogens in sonication and synovial fluid samples are summarized in Table 1. The most frequently isolated pathogens were *Staphylococcus* spp. (52%), followed by Enterobacteriaceae (15%) and *Streptococcus agalactiae* (12%). Eighty-five monomicrobial and 9 polymicrobial infections were observed. In 12 patients, both sonication and synovial fluid were analysed and yielded the identical pathogen.

Performance of resistance gene detection and its concordance with phenotypical resistance testing

The detection rate of vancomycin resistance by mPCR in *Enterococcus* spp. could not be assessed as no resistance was detected by conventional culture. The same applies for Enterobacteriaceae and aminoglycosides, carbapenems, third-generation cephalosporins, as well as for *Cutibacterium* spp. and rifampin.

Performance of mPCR and concordance of phenotypical and genotypical susceptibility testing is summarized in Table 2 (Additional file 1). Overall, a median sensitivity of 46% and specificity of 95% was shown, with a median concordance of 80%. There was no difference seen regarding number of discordant pairs comparing synovial and sonication fluid.

Staphylococcus spp

Among *Staphylococcus* spp. isolates, concordance of phenotypical and genotypical susceptibility to oxacillin, aminoglycosides, macrolides/lincosamides and rifampin was 72, 73, 73 and 84%, respectively. The mPCR detected oxacillin resistance genes in 10 of 23 samples associated with oxacillin-resistant coagulase-negative staphylococci positive cultures (44%), whereas both oxacillin-resistant *S. aureus* strains detected by culture were found to be resistant by mPCR (sensitivity 100%). In coagulase-negative staphylococci, none of the rifampin resistance determined by culture was detected by mPCR; in *S. aureus* isolates, one true positive and one false negative rifampin

Table 1 Distribution of detected pathogens

Microbiology	Sonication fluid (n = 60)	Synovial fluid (n = 34)	Total (n = 94)
Coagulase-negative staphylococci	21	12	33 (35%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	9	7	16 (17%)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	4	7	11 (12%)
<i>Enterococcus</i> spp. ^a	8	2	10 (11%)
<i>Escherichia coli</i>	4	5	9 (10%)
<i>Cutibacterium</i> spp. ^b	8	1	9 (10%)
<i>Enterobacter cloacae</i>	3	0	3 (3%)
<i>Fingoldia magna</i>	1	0	1 (1%)
<i>Proteus</i> spp.	1	0	1 (1%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	0	1 (1%)

^aIncluding 9 isolates of *E. faecalis* and 1 isolate of *E. faecium*

^bIncluding 8 isolates of *C. acnes* and 1 isolate of *C. avidum*

resistance was detected by mPCR, resulting in a NPV of 100% and a PPV of 50%.

***Enterococcus* spp**

The vancomycin antimicrobial resistance testing showed 100% agreement in 10 isolates (all tested susceptible). Among 7 tested strains, one isolate was tested resistant to aminoglycosides with both methods. Genotypical high-level resistance to aminoglycosides was determined in 1 sample, whereas phenotypical resistance was determined by culture in 3 isolates. Thus, mPCR missed the resistance to aminoglycosides detected through *aac(6')*/*aph(2'')* in 2 samples (66%). The resulting concordance was 71% with a sensitivity, specificity, NPV and PPV of 33, 100, 67 and 100%, respectively.

Enterobacteriaceae

The overall agreement for the testing of different antimicrobial agents in 14 *Enterobacteriaceae* isolates was good with mPCR test results showing NPV of 100% for all antimicrobial agents. mPCR detected resistance to fluoroquinolones in all 3 isolates. False-positive resistance was detected for aminoglycosides in 4 patients, resulting in a PPV of 0% and for fluoroquinolones in 1 patient with a PPV of 75%.

***Streptococcus* spp**

Of 10 *Streptococcus agalactiae* isolates, lincosamides by culture/lincosamides by culture and ten by mPCR, resulting in a concordance and NPV of 80% and a specificity of 100%. As no resistant strain was detected, PPV could not be assessed.

Anaerobes

For rifampin, all 6 isolates of *Cutibacterium* spp. showed concordance (susceptibility by culture and mPCR). In one sonication fluid sample, *Fingoldia magna* was identified

by culture and mPCR. This pathogen was susceptible to amoxicillin/clavulanic acid, penicillin, piperacillin/tazobactam, imipenem, clindamycin, rifampin and levofloxacin by conventional susceptibility testing using culture. However, no markers are available for resistance testing for this pathogen using the mPCR system.

Discussion

Rapid identification of a pathogen and its susceptibility pattern allows effective optimization of the antimicrobial treatment and prevention of emergence of resistance. While conventional culture is the gold-standard microbiological method, molecular methods are increasingly used in the clinical routine. However, limitations of molecular detection of drug-resistance genes need to be considered, in particular the fact that genotypic drug-resistance identification does not conclusively corresponds to the phenotype [19]. In addition, focusing on the detection of a certain selection of genes with mPCR, the diversity of all bacterial resistance genes is not represented.

The sensitivity and specificity of mPCR for pathogen detection directly from clinical samples found in the published sub-cohorts ranged in sonication fluid from 51 to 71% and 92 to 94%, respectively, and in synovial fluid from 23 to 60% and 89 to 91%, respectively [6–8, 17]. Previous publications using mPCR for pathogen identification reported similar sensitivities ranging from 51 to 96% and specificities from 94 to 100% [13, 16, 18, 20, 21]. However, limited data exists on the performance of the mPCR system for detection of resistance genes and their agreement on conventional antimicrobial susceptibility testing in patients with bone and joint infections [18, 22].

A recent study [23] employing the first generation of the multiplex PCR device reported a low detection rate (6%) of *mecA* and *mecC* genes in methicillin-resistant staphylococci (not specified which subspecies), which

Table 2 Performance of mPCR and concordance of phenotypical and genotypical antimicrobial susceptibility of all tested isolates

Pathogen/Antimicrobial	Gene target	Susceptible by mPCR [no.]	Resistant by mPCR [no.]	Susceptible by culture [no.]	Resistant by culture [no.]	Sensitivity [%] (95% CI)	Specificity [%] (95% CI)	Concordance [%] (95% CI)	NPV [%] (95% CI)	PPV [%] (95% CI)
Coagulase-negative staphylococci										
Oxacillin (n = 30)	<i>mecA, mecC</i>	20	10	7	23	44 (26–63)	100 (59–100)	57 (39–74)	35 (14–56)	100 (100)
Aminoglycosides (n = 32)	<i>aac(6′)/aph(2′)</i>	23	9	13	19	42 (23–64)	92 (64–100)	63 (46–79)	52 (32–73)	89 (68–100)
Macrolides/lincos-amides (n = 33)	<i>ermA, ermC</i>	19	14	14	19	58 (36–77)	79 (51–93)	67 (51–83)	58 (36–80)	79 (57–100)
Rifampin (n = 28)	<i>rpoB</i>	28	0	22	6	0 (0–46)	100 (85–100)	78 (59–91)	79 (79)	–
<i>Staphylococcus aureus</i>										
Oxacillin (n = 16)	<i>mecA, mecC</i>	14	2	14	2	100 (29–100)	100 (74–100)	100 (100)	100 (100)	100 (100)
Aminoglycosides (n = 16)	<i>aac(6′)/aph(2′)</i>	16	0	15	1	0 (0–98)	100 (78–100)	–	94 (94)	94 (70–100)
Macrolides/lincos-amides (n = 16)	<i>ermA, ermC</i>	14	2	12	4	50 (15–85)	100 (71–100)	88 (71–100)	86 (67–100)	100 (100)
Rifampin (n = 15)	<i>rpoB</i>	13	2	14	1	100 (17–100)	93 (66–100)	93 (81–100)	100 (100)	50 (0–100)
<i>Enterococcus</i> spp.										
Aminoglycosides (high-level) (n = 7)	<i>aac(6′)/aph(2′)</i>	6	1	4	3	33 (6–80)	100 (45–100)	71 (38–100)	67 (29–100)	100 (100)
Vancomycin (n = 10)	<i>vanA, vanB</i>	10	0	10	0	–	100 (69–100)	100 (69–100)	100 (100)	–
Enterobacteriaceae										
Aminoglycosides (n = 14)	<i>aacA4</i>	10	4	14	0	–	71 (42–92)	71 (42–92)	100	0
Carbapenems (n = 14)	<i>bla_{vim}, bla_{imp}, bla_{ipca}, bla_{ndm}, bla_{osa-23}, bla_{osa-24}, bla_{osa-48}, bla_{osa-58}</i>	14	0	14	0	–	100 (77–100)	100 (77–100)	100	–
Third-generation cephalosporins (n = 14)	<i>ctx-M</i>	14	0	14	0	–	100 (77–100)	100 (77–100)	100	–
Fluoroquinolones ^a (n = 9)	<i>gyrA83, gyrA87</i>	5	4	6	3	100 (38–100)	83 (42–98)	89 (68–100)	100 (100)	75 (33–100)
<i>Streptococcus agalactiae</i>										
Macrolides/lincosamides (n = 10)	<i>ermA, ermC</i>	10	0	8	2	0 (0–84)	100 (63–100)	80 (44–97)	80 (80)	–
<i>Cutibacterium</i> spp										
Rifampin (n = 6)	<i>rpoB</i>	6	0	6	0	–	100 (54–100)	100 (54–100)	100 (100)	–
Total, median (range)						46 (36–56)	95 (90–97)	80 (75–84)	80 (74–85)	79 (68–91)

Note: Sensitivity and specificity of mPCR considering culture testing (VITEK) as gold standard

^aOnly *E. coli* isolates were tested for fluoroquinolone resistance by mPCR

increased to 35% when using the second generation of the mPCR cartridge. In our cohort, we observed a detection rate of 48% (12 of 25 isolates) for oxacillin resistance. However, the oxacillin-resistance detection rate in *S. aureus* was considerably higher than in coagulase-negative staphylococci (100% versus 44%). The limited detection of oxacillin resistance in coagulase-negative staphylococci by mPCR may be explained by the low microbial burden usually seen in low grade infections caused by less virulent staphylococci, which probably does not reach the detection limit of the mPCR system of *mecA* and *mecC*, estimated at $\sim 10^4$ and $\sim 10^6$ DNA copies/ml, respectively. This hypothesis is corroborated by the fact, that the concordance in infections caused by *S. aureus* – usually acute infections – was considerably higher. Furthermore, a great diversity of the staphylococcal cassette chromosome *mec* in coagulase-negative staphylococci may contribute to a reduced detection rate of oxacillin resistance [24].

From the clinical viewpoint, susceptibility to rifampin is of paramount relevance in implant-associated infections caused by staphylococci and *Cutibacterium* spp., as this antibiotic is the only biofilm-active antibiotic for these microorganisms [25, 26]. Pre-operative knowledge of rifampin resistance influences the surgical decision, as a lack of biofilm-active treatment usually discourages retention of the implant in acute infections and a one-stage exchange in chronic infections [1]. In our cohort, the concordance between genotypical and phenotypical evaluation for rifampin was moderate for *Staphylococcus* spp. (84%) with 86% false-negative test-result (i.e. phenotypically resistant and genotypically susceptible) and excellent for *Cutibacterium* spp. (100%). However, the cartridge is not validated for rifampin susceptibility testing in *Cutibacterium* spp. and coagulase-negative staphylococci. When analysing *S. aureus* only, for which the system is validated, a concordance of 93% with a negative predictive value of 100% was obtained. Similarly, fluoroquinolones represent the biofilm-active agent for implant-associated infections caused by gram-negative bacteria [27]. For all analysed *E. coli* strains, a concordance of 89% for fluoroquinolones with a 100% NPV was detected.

With 71 to 73%, the concordance of phenotypical and genotypical testing for aminoglycosides was in the lower range for all tested pathogens, i.e. staphylococci, enterococci and gram-negative rods. For enterococci and streptococci, the NPV was low due to missed resistance by mPCR. In contrast, in gram-negative rods false-positive mPCR test resulted in low PPV (0%).

We acknowledge several limitations of this study. First, given the low number of rifampin-resistant staphylococci and fluoroquinolone-resistant Enterobacteriaceae, its value for detection of pathogens causing difficult-to-treat infections is limited and their predictive values

from our study should be taken with caution. Additionally, we could not assess detection rates for several resistance genes, as we did not include any isolates tested resistant by conventional culture (e.g. gram-negative bacilli resistant to aminoglycosides, third generation cephalosporins and carbapenems). Another limitation represents the inclusion of exclusively those clinical samples, which were concordant in pathogen detection by culture and mPCR. The performance of mPCR in discordant samples is unknown and the specificity results of this study may be overestimated. Furthermore, we have not investigated the performance of mPCR in viable but non culturable (VBNC) condition, where the number of DNA copies may be much lower than that in growing condition. Finally, an analysis between the quantitative MIC values (i.e., strength of resistance) and detectability of resistance genes (i.e., numbers of DNA copies) was not performed in our study, which might provide additional insights in the performance of mPCR for detection of antimicrobial resistance.

Conclusion

The overall sensitivity for detection of antimicrobial resistance by mPCR directly from clinical samples was low. Due to low sensitivity the evaluated commercial mPCR system cannot replace conventional antimicrobial resistance testing. False-negative mPCR results occurred mainly in coagulase-negative staphylococci, especially for oxacillin and rifampin. However, the specificity of mPCR was high and a positive result reliably predicts resistance and for some pathogens and antibiotics full agreement was observed, including for oxacillin in *S. aureus*, vancomycin in enterococci, carbapenems/cephalosporins in Enterobacteriaceae and rifampin in *Cutibacterium* species. Including universal primers in the PCR test assay may improve the detection rate but requires additional sequencing step.

Methods

Study design

This prospective single-center study (public clinical trial identification at www.clinicaltrials.gov NCT02530229) was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki. Approval of the institutional review board was obtained (EA1/306/14) and patients provided written informed consent before study inclusion. The results of mPCR were not used to guide antimicrobial therapy. Data analysed in this study represent a subpopulation of previously published cohorts analysing the performance of mPCR with regards to detection of bacteria in synovial fluid of native joints [7] and periprosthetic joints [17], as well as in sonication fluid from removed joint prostheses [6] and other orthopaedic hardware [8]. Among 378 samples (179 sonication fluids [128

prostheses, 51 osteosyntheses], 199 synovial fluids [142 prosthetic joints, 57 native joints]) enrolled in the above-mentioned published cohort studies, 94 samples detected the same microorganisms using mPCR and conventional culture. Two-hundred-nine specimens with no microbial growth, 73 patients with discordant microorganisms and two cases, where no phenotypical drug resistance analysis was performed, were excluded. A study selection flow diagram is shown in Fig. 1.

Study population

Consecutive adult patients who had undergone diagnostic joint aspiration for suspected septic arthritis or revision surgery for implant-associated bone infection between November 2014 and October 2015 were included. Four patients in whom sonication fluid of retrieved osteosynthesis was investigated, were receiving antimicrobial treatment at time of explantation. No other patients had been pre-treated with antibiotics.

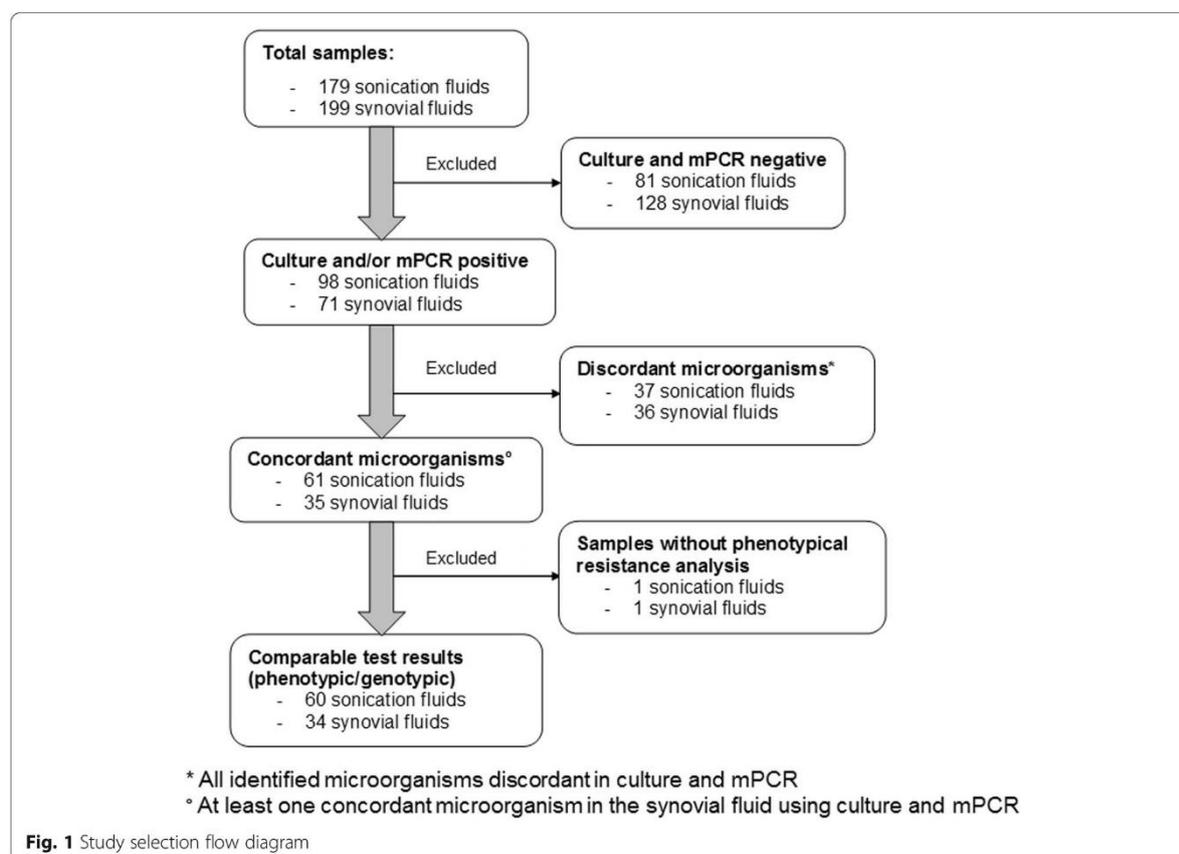
Joint aspiration

Synovial fluid was aspirated by an orthopaedic surgeon according to standardized aseptic technique. After skin

preparation, synovial fluid was collected using a sterile 18-gauge spinal needle and a 10-ml syringe. If no synovial fluid was obtained, the needle was repositioned without withdrawing it through the skin.

Synovial fluid cultures

0.1 milliliter of synovial fluid was inoculated onto aerobic and anaerobic plates (sheep blood agar, chocolate agar, and Schädler anaerobic agar), and 1 ml was inoculated in thioglycolate broth. Agar plates were incubated at 37 °C under aerobic and anaerobic conditions for 14 days and inspected daily for microbial growth. Microbial identification was performed using Vitek2 (bioMérieux, Nürtingen, Germany) or a matrix-associated laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometer (bioMérieux). The antimicrobial susceptibility testing was conducted using Vitek2 and the minimum inhibitory concentration (MIC) values were determined and interpreted according to EUCAST standards. For mPCR analysis, 2–5 ml of the synovial or 10–50 ml of sonication fluid was transferred to a sterile vial and stored at – 80 °C until processing.



Removal and transport of orthopedic hardware

The joint prosthesis components (metal, ceramic or polyethylene parts) or other fracture fixation devices (plates, nails or screws) were removed in the operating room. After removal, the hardware components were transported to the microbiological laboratory in a sterile air-tight container (Lock&Lock, Frankfurt am Main, Germany) and processed within 6 hours.

Sonication procedure

In the microbiology laboratory, normal saline was added to the container, covering at least 80% of the hardware. The container was vortexed for 30 s and sonicated for 1 minute at 40 kHz and 0.2 W/cm² (BactoSonic, Bandelin electronic, Berlin, Germany). Additional vortexing was conducted for 30 s before the sonication fluid was plated. Then, 0.1 ml of the sonication fluid was inoculated onto agar plates and 1 ml was inoculated in thioglycolate broth. Microorganisms were enumerated (i.e. number of colony-forming unit [CFU]/ml sonication fluid). Microbial identification and antimicrobial susceptibility testing were performed as described above for synovial fluid.

Multiplex PCR analysis

The Unyvero i60 ITI application (Unyvero i60, Curetis, Holzgerlingen, Germany, second generation), designed for a semi-quantitative DNA determination parallelly performing eight multiplex PCR reactions, was used. This instrument is capable to detect 114 nucleic acids and 20 drug resistance markers. Fifty milliliter of the sonication fluid were first centrifuged at 4000 x g at 4 °C for 20 min (Microcentrifuge 5427R, Eppendorf, Wesseling-Berzdorf, Germany). The supernatant was discarded and 180 µl of the pellet were further processed. The synovial fluid was processed directly without centrifugation. The Unyvero i60 ITI application was used according to the manufacturer's protocol. In brief, the pre-treated sample was treated with proteinase K for 30 min, master mix was added and inserted into the Unyvero ITI Cartridge. The cartridge device is equipped with eight separate chambers, a corresponding number of arrays, reagent containers and a DNA purification column. The assembled and closed Unyvero ITI Cartridge was inserted into the Unyvero Analyzer, which then automatically processed the sample within 5 hours. The microbial identification and antibiotic resistance markers are displayed on the screen of the instrument. A sample was considered positive if at least one of the analytes (pathogens) reached the threshold of 10⁴ DNA copies/ml.

According to the manufacturer, the resistance markers *aacA4*, *ctx-M*, *ermA*, *gyrA83*, *mecA*, *vanA* and the beta-lactamase genes *bla_{ndm}*, *bla_{oxa-23}*, *bla_{oxa-48}*, *bla_{oxa-58}* were detected at a concentration of 10⁴ DNA copies/ml; the

Table 3 Resistance markers detected by the multiplex PCR test panel

Antibiotics	Resistance markers
Oxacillin	<i>mecA</i> , <i>mecC</i>
Aminoglycosides	<i>aac(6')/aph(2'')</i> , <i>aacA4</i>
Macrolides/lincosamides	<i>ermA</i> , <i>ermC</i>
Vancomycin	<i>vanA</i> , <i>vanB</i>
Rifampin ^a	<i>rpoB</i>
Third-generation cephalosporins	<i>ctx-M</i>
Carbapenems	<i>bla_{vim}</i> , <i>bla_{imp}</i> , <i>bla_{kpo}</i> , <i>bla_{ndm}</i> , <i>bla_{oxa-23}</i> , <i>bla_{oxa-24}</i> , <i>bla_{oxa-48}</i> , <i>bla_{oxa-58}</i>
Fluoroquinolones ^b	<i>gyrA83</i> , <i>gyrA87</i>

^aRifampin resistance testing is only validated for *Staphylococcus aureus*

^bFluoroquinolone resistance testing is only validated for *Escherichia coli* among gram-negative bacteria

resistance markers *aac(6')/aph(2'')*, *gyrA87*, *bla_{imp}*, *bla_{kpo}*, *bla_{oxa-24}*, and *bla_{vim}* were detected at a concentration of 10⁵ DNA copies/ml; and the resistance markers *ermC*, *mecC*, *rpoB*, and *vanB* at a concentration of 10⁶ DNA copies/ml. The range of antibiotic resistance genes detected with the mPCR system is shown in Table 3.

Statistical analysis

Categorical variables are described as absolute frequencies and percentages. Metrical variables are expressed by median and range, as appropriate. The performance of mPCR (i.e. sensitivity and specificity) and its positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV) were assessed in terms of detection of resistance, using phenotypical testing by conventional culture as gold standard. Concordance analysis was performed comparing phenotypical and genotypical resistance test results, for substances, for which genotypical resistance markers were included in the mPCR cartridge. The software packages XLSTATPM (version 2017; XLSTAT; Addinsoft, New York, NY, USA).

Supplementary information

Supplementary information accompanies this paper at <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01741-7>.

Additional file 1. Raw data of the concordant microorganisms and their detected resistances by mPCR and culture.

Abbreviations

CFU: Colony-forming unit; DNA: Deoxyribonucleic acid; MIC: Minimum inhibitory concentration; mPCR: Multiplex polymerase chain reaction; NPV: Negative predictive value; PJI: Periprosthetic joint infection; PPV: Positive predictive value

Acknowledgements

Not applicable.

Authors' contributions

IKS, NR, AT: conception and design of the study. SC, IKS, CM: acquisition of data. IKS, NR, SF: analysis and interpretation of data. IKS, NR, SF, CM, SC, AT: drafting the article or revising it critically for important intellectual content. IKS, NR, SF, CM, SC, AT: final approval of the version to be submitted. The authors have read and approved the manuscript.

Funding

This work was funded by PRO-IMPLANT Foundation, Berlin, Germany (<https://www.pro-implant.org>), a non-profit organization supporting research, education, global networking and care of patients with bone, joint or implant-associated infection. The study was also supported by Curetis providing diagnostic PCR test kits. The funding had no influence on the data analysis or interpretation of the results. We acknowledge also support from the German Research Foundation (DFG) and the Open Access Publication Fund of Charité – Universitätsmedizin Berlin, Germany.

Availability of data and materials

All data generated or analysed during this study are included in this published article.

Ethics approval and consent to participate

Approval of the institutional review board (Charité – Universitätsmedizin Berlin, Germany) was obtained (EA1/306/14) and patients provided written informed consent before study inclusion.

Consent for publication

Not applicable.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Author details

¹Charité – Universitätsmedizin Berlin, corporate member of Freie Universität Berlin, Humboldt-Universität zu Berlin, and Berlin Institute of Health, Center for Musculoskeletal Surgery (CMSC), Charitéplatz 1, 10117 Berlin, Germany. ²Department of Orthopaedics and Trauma Surgery, Medical University of Vienna, Spitalgasse 23, 1090 Vienna, Austria. ³Berlin Institute of Health Center for Regenerative Therapies (BCRT), Föhrer Strasse 15, 13353 Berlin, Germany.

Received: 11 April 2019 Accepted: 3 March 2020

Published online: 14 April 2020

References

- Zimmerli W, Trampuz A, Ochsner PE. Prosthetic-joint infections. *N Engl J Med*. 2004;351(16):1645–54.
- Del Pozo JL, Patel R. Clinical practice. Infection associated with prosthetic joints. *N Engl J Med*. 2009;361(8):787–94.
- Holinka J, Bauer L, Hirschl AM, Graninger W, Windhager R, Presterl E. Sonication cultures of explanted components as an add-on test to routinely conducted microbiological diagnostics improve pathogen detection. *J Orthop Res*. 2011;29(4):617–22.
- Gomez E, Cazanave C, Cunningham SA, Greenwood-Quaintance KE, Steckelberg JM, Uhl JR, et al. Prosthetic joint infection diagnosis using broad-range PCR of biofilms dislodged from knee and hip arthroplasty surfaces using sonication. *J Clin Microbiol*. 2012;50(11):3501–8.
- Atkins BL, Athanasou N, Deeks JJ, Crook DW, Simpson H, Peto TE, et al. Prospective evaluation of criteria for microbiological diagnosis of prosthetic-joint infection at revision arthroplasty. The OSIRIS collaborative study group. *J Clin Microbiol*. 1998;36(10):2932–9.
- Renz N, Feihl S, Cabric S, Trampuz A. Performance of automated multiplex PCR using sonication fluid for diagnosis of periprosthetic joint infection: a prospective cohort. *Infection*. 2017;45(6):877–84.
- Morgenstern C, Renz N, Cabric S, Perka C, Trampuz A. Multiplex polymerase chain reaction and microcalorimetry in synovial fluid: can pathogen-based detection assays improve the diagnosis of septic arthritis? *J Rheumatol*. 2018;45(11):1588–93.
- Renz N, Cabric S, Morgenstern C, Schuetz MA, Trampuz A. Value of PCR in sonication fluid for the diagnosis of orthopedic hardware-associated infections: has the molecular era arrived? *Injury*. 2018;49(4):806–11.

- Barbari EF, Marculescu C, Sia I, Lahr BD, Hanssen AD, Steckelberg JM, et al. Culture-negative prosthetic joint infection. *Clin Infect Dis*. 2007;45(9):1113–9.
- Trampuz A, Piper KE, Jacobson MJ, Hanssen AD, Unni KK, Osmon DR, et al. Sonication of removed hip and knee prostheses for diagnosis of infection. *N Engl J Med*. 2007;357(7):654–63.
- Janz V, Wassilew GI, Hasart O, Tohtz S, Perka C. Improvement in the detection rate of PJI in total hip arthroplasty through multiple sonicate fluid cultures. *J Orthop Res*. 2013;31(12):2021–4.
- Portillo ME, Salvado M, Trampuz A, Siverio A, Alier A, Sorli L, et al. Improved diagnosis of orthopedic implant-associated infection by inoculation of sonication fluid into blood culture bottles. *J Clin Microbiol*. 2015;53(5):1622–7.
- Achermann Y, Vogt M, Leunig M, Wust J, Trampuz A. Improved diagnosis of periprosthetic joint infection by multiplex PCR of sonication fluid from removed implants. *J Clin Microbiol*. 2010;48(4):1208–14.
- Borde JP, Hacker GA, Guschl S, Serr A, Danner T, Hubner J, et al. Diagnosis of prosthetic joint infections using UMD-universal kit and the automated multiplex-PCR Unyvero i60 ITI cartridge system: a pilot study. *Infection*. 2015;43(5):551–60.
- Hischebeth GT, Randau TM, Buhr JK, Wimmer MD, Hoerauf A, Molitor E, et al. Unyvero i60 implant and tissue infection (ITI) multiplex PCR system in diagnosing periprosthetic joint infection. *J Microbiol Methods*. 2016;121:27–32.
- Portillo ME, Salvado M, Sorli L, Alier A, Martinez S, Trampuz A, et al. Multiplex PCR of sonication fluid accurately differentiates between prosthetic joint infection and aseptic failure. *J Inf Secur*. 2012;65(6):541–8.
- Morgenstern C, Cabric S, Perka C, Trampuz A, Renz N. Synovial fluid multiplex PCR is superior to culture for detection of low-virulent pathogens causing periprosthetic joint infection. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2017;90(2): 115–9.
- Sigmund IK, Windhager R, Sevelde F, Staats K, Puchner SE, Stenica S, et al. Multiplex PCR Unyvero i60 ITI application improves detection of low-virulent microorganisms in periprosthetic joint infections. *Int Orthop*. 2018; 43(8):1891–8.
- Piddock LJ. Assess drug-resistance phenotypes, not just genotypes. *Nat Microbiol*. 2016;1(8):16120.
- Esteban J, Alonso-Rodríguez N, del Prado G, Ortiz-Perez A, Molina-Manso D, Cordero-Ampuero J, et al. PCR-hybridization after sonication improves diagnosis of implant-related infection. *Acta Orthop*. 2012;83(3):299–304.
- Melendez DP, Greenwood-Quaintance KE, Barbari EF, Osmon DR, Mandrekar JN, Hanssen AD, et al. Evaluation of a genus- and group-specific rapid PCR assay panel on synovial fluid for diagnosis of prosthetic knee infection. *J Clin Microbiol*. 2016;54(1):120–6.
- Malandain D, Berner P, Leroy AG, Leger J, Plouzeau C, Valentin AS, et al. Assessment of the automated multiplex-PCR Unyvero i60 ITI((R)) cartridge system to diagnose prosthetic joint infection: a multicentre study. *Clin Microbiol Infect*. 2018;24(1):83 e1–e6.
- Malandain D, Berner P, Leroy AG, Leger J, Plouzeau C, Valentin AS, et al. Assessment of the automated multiplex-PCR Unyvero i60 ITI((R)) cartridge system to diagnose prosthetic joint infection: a multicentre study. *Clin Microbiol Infect*. 2017;24(1):83.e1–83.e6.
- Zong Z, Peng C, Lu X. Diversity of SCCmec elements in methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci clinical isolates. *PLoS One*. 2011;6(5): e20191.
- Furustrand Taffin U, Corvec S, Betrisey B, Zimmerli W, Trampuz A. Role of rifampin against *Propionibacterium acnes* biofilm in vitro and in an experimental foreign-body infection model. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56(4):1885–91.
- Mihailescu R, Furustrand Taffin U, Corvec S, Oliva A, Betrisey B, Borens O, et al. High activity of Fosfomycin and rifampin against methicillin-resistant staphylococcus aureus biofilm in vitro and in an experimental foreign-body infection model. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58(5):2547–53.
- Widmer AF, Wiestner A, Frei R, Zimmerli W. Killing of nongrowing and adherent *Escherichia coli* determines drug efficacy in device-related infections. *Antimicrob Agents Chemother*. 1991;35(4):741–6.

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Publikation 3:



Journal of
Clinical Medicine



Article

Complications of Resection Arthroplasty in Two-Stage Revision for the Treatment of Periprosthetic Hip Joint Infection

Irene K. Sigmund^{1,2,*}, Tobias Winkler^{1,3}, Nuri Önder¹, Carsten Perka¹, Nora Renz¹  and Andrej Trampuz^{1,3} 

¹ Center for Musculoskeletal Surgery (CMSC), Charite-Universitätsmedizin Berlin, Corporate Member of Freie Universität Berlin, Humboldt-Universität zu Berlin, and Berlin Institute of Health, Charitéplatz 1, D-10117 Berlin, Germany; tobias.winkler@charite.de (T.W.); drnurionder@hotmail.com (N.O.); carsten.perka@charite.de (C.P.); nora.renz@charite.de (N.R.); andrej.trampuz@charite.de (A.T.)

² Medical University of Vienna, Department of Orthopaedics and Trauma Surgery, Spitalgasse 23, A-1090 Vienna, Austria

³ Berlin Institute of Health Center for Regenerative Therapies (BCRT), Charite-Universitätsmedizin Berlin, Föhrer Str. 15, 13353 Berlin, Germany

* Correspondence: irene.sigmund@charite.de; Tel.: +49-30-450-615-073

Received: 15 November 2019; Accepted: 13 December 2019; Published: 16 December 2019



Abstract: Little data is available regarding complications associated with resection arthroplasty in the treatment of hip periprosthetic joint infection (PJI). We assessed complications during and after two-stage revision using resection arthroplasty. In this retrospective study, 93 patients undergoing resection arthroplasty for hip PJI were included. Patients were assigned to a prosthesis-free interval of ≤ 10 weeks (group 1; 49 patients) or > 10 weeks (group 2; 44 patients). The complication rates between groups were compared using the chi-squared test. The revision-free and infection-free survival was estimated using a Kaplan–Meier survival analysis. Seventy-one patients (76%) experienced at least one local complication (overall 146 complications). Common complications were blood loss during reimplantation ($n = 25$) or during explantation ($n = 23$), persistent infection ($n = 16$), leg length discrepancy ($n = 13$) and reinfection ($n = 9$). Patients in group 1 experienced less complications after reimplantation ($p = 0.012$). With increasing severity of acetabular bone defects, higher incidence of complications ($p = 0.008$), periprosthetic bone fractures ($p = 0.05$) and blood loss ($p = 0.039$) was observed. The infection-free survival rate at 24 months was 93.9% in group 1 and 85.9% in group 2. The indication for resection arthroplasty needs to be evaluated carefully, considering the high rate of complications and reduced mobility, particularly if longer prosthesis-free intervals are used.

Keywords: complication; resection arthroplasty; two-stage revision; reinfection; Girdlestone hip; periprosthetic joint infection; revision; hip

1. Introduction

Periprosthetic joint infection (PJI) is one of the most challenging complications after total hip arthroplasty requiring comprehensive diagnostics, tailored surgical techniques, and an interdisciplinary approach to achieve high cure rates. Currently, there is no consensus on the optimal management of hip PJI. Two-stage revision protocols are the most widely used approach for infections after total hip arthroplasty with cure rates ranging from 67.7% to 96.7% [1–4]. An antibiotic-loaded polymethylmethacrylate (PMMA) bone cement spacer is commonly implanted in the prosthesis-free interval [5]. However, their use is not uniformly accepted, and several institutions prefer to use resection arthroplasty. Thus, the choice of cement spacer largely depends on surgical experience

and tradition. Advantages of spacer use are local antimicrobial therapy, prevention of periarticular soft tissue contracture, and reduction of dead space [6,7], whereas the risk of peri-implant fractures, dislocations combined with acetabular damage, bacterial colonization of the spacer, and the risk of antimicrobial resistance emergence are commonly reported disadvantages [7–9]. Complications associated with cement spacer use are well reported in the literature [10].

During the original resection arthroplasty, first described 1928 for draining tuberculous hips and later in 1943 for severe pyogenic arthritis by Gathorne Robert Girdlestone, a muscle transposition into the acetabular fossa is performed as definitive treatment for hip infections [11,12]. Today, resection arthroplasty is recommended in difficult-to-treat infections caused by pathogens, for which no biofilm-active antibiotics and, hence, no eradication treatment exists [13]. Less data exists on the complications of resection arthroplasties used as a solution between stages before reimplantation.

The aim of the current study is to assess the type and frequency of complications during and after two-stage revision performing resection arthroplasty during the interval. We evaluate local and systemic complications occurring during a two-stage revision involving revision arthroplasty, whether the incidence of complications differs in patients undergoing a shorter or longer prosthesis-free interval, and the overall revision-free and infection-free survival rate in patients treated by a two-stage revision with revision arthroplasty. In our institution, resection arthroplasty is the standard surgical treatment of hip PJI.

2. Materials and Methods

2.1. Study Design

This retrospective cohort study was conducted in a tertiary healthcare center specialized in septic surgery. Cases were identified from the patient-based PJI database and data obtained by reviewing electronic medical charts. The study protocol was reviewed and approved by the institutional ethics committee Berlin Charité-Universitätsmedizin Berlin (EA4/040/14) and was performed in accordance with the Declaration of Helsinki. Informed consent was waived due to the retrospective study design.

2.2. Study Population

Included were 93 patients with hip PJI, who had undergone a two-stage revision surgery with resection arthroplasty during prosthesis-free interval. Subjects treated at our institution from March 2006 to January 2014 were included. Patients with a prosthesis-free interval of ≤ 10 weeks were allocated to group 1 and patients with an interval of > 10 weeks to group 2. The individual interval length was determined at the surgeon's discretion, by the clinical course and operating room capacity.

2.3. Data Collection

Patients' medical histories, radiographs, surgical records, microbiology and histopathology records, and laboratory analyses were reviewed. Information on demographics, preoperative acetabular and femoral bone deficiency (according to the Paprosky classification [14,15]), surgical treatment procedures and complications was collected. The following local complications were evaluated: Relevant blood loss (defined as requiring transfusion of erythrocyte concentrates), bone fissure, bone fracture, iatrogenic nerve damage, dislocation, microbiologically proven persistent infection (during prosthesis-free interval) or re-infection (after reimplantation), wound healing disorder, leg length discrepancy after reimplantation (> 10 mm), aseptic loosening, massive haematoma requiring revision, ossification, pain (VAS ≥ 6 points), and bursitis trochanterica. Complications were divided into four groups according to their temporal appearance: Complications (i) during explantation, (ii) during the prosthesis-free interval, (iii) during reimplantation and (iv) after reimplantation. All systemic complications occurring during the entire treatment period were assessed including allergic reaction to antibiotics, cardiovascular events, thromboembolic events, hepatic insufficiency, sepsis/systemic inflammatory response syndrome.

Patients with incomplete data sets or with follow-up of less than twelve months were excluded. PJI was diagnosed according to the 2017 proposed working criteria of the European Bone and Joint Infection Society (EBJIS) [16]. Treatment success was evaluated according to the Delphi international multidisciplinary consensus [17].

2.4. Surgical and Antimicrobial Treatment

All included patients underwent a two-stage revision involving resection arthroplasty. At the first stage, all implants and foreign materials were removed (Figure 1).

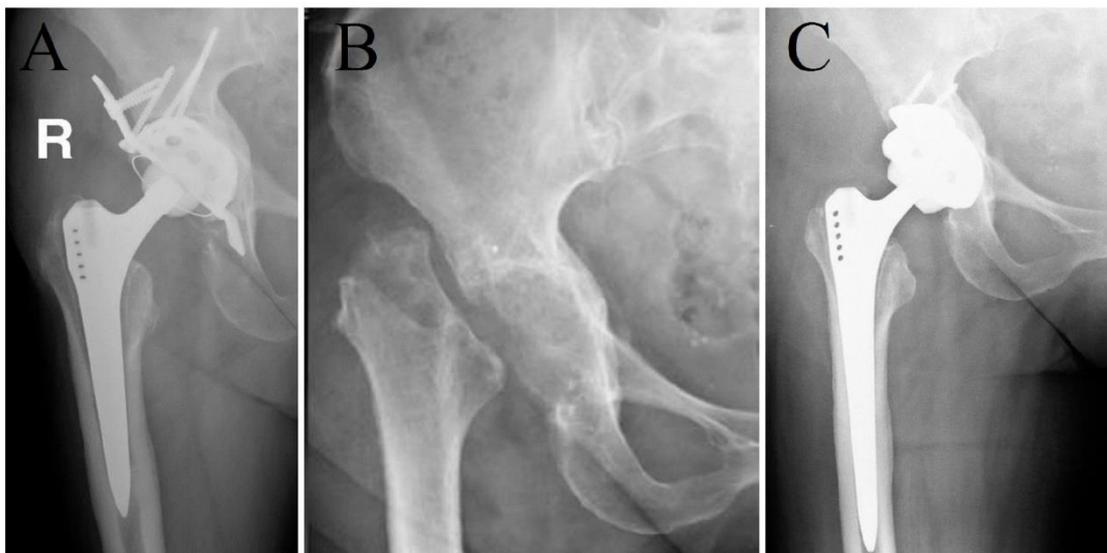


Figure 1. Anteroposterior radiograph of a 66-year old female patient with a periprosthetic joint infection of the right hip (A) before and (B) after the first stage (resection arthroplasty without spacer) and (C) after the second stage in a two-stage revision procedure for eradication of *Cutibacterium acnes*.

A thorough debridement was performed and at least three periprosthetic tissue samples were sent for microbiological analysis. To implant a new prosthesis at the second stage, the acetabular fossa remained empty during the prosthesis-free interval. After debridement and the positioning of drainage tubes, the wound was closed in layers.

Antimicrobial treatment was started after collecting the microbiological tissue samples or in the case of patients presenting with sepsis preoperatively after synovial aspiration. Antibiotics were administered intravenously for approximately two weeks after surgery, followed by oral antibiotics according to the susceptibility of the isolated pathogen(s) until reimplantation, if available [18]. The antibiotic treatment was given at the treating physician's discretion and tailored to the isolated pathogen. No standardized antimicrobial protocol was followed.

During the prosthesis-free interval, toe-touch weight-bearing was allowed. If possible, patients were discharged after intravenous application of antibiotics (14 days). Wound controls were done every two weeks by their general practitioners. Fourteen days before reimplantation, patients had an appointment in our outpatient clinic for preoperative assessment.

Reimplantation was only performed when the wound was healed, soft tissues were ready for surgery, the general status of the patient was suitable, and C-reactive protein (CRP) was significantly decreased after explantation. At the second stage, again, at least three periprosthetic tissue samples were collected and sent for microbiological analysis. A thorough debridement followed by (uncemented or cemented according to the bone quality at the discretion of the operating surgeon) reimplantation of a hip prosthesis determined by the character of the bone defects were performed. In patients with small contained acetabular bone defects (Paprosky types 1 or 2) [15], a hemispherical uncemented component with or without screw placement was used. Depending on the bone defect, allograft

impaction bone grafting was performed. If a high risk of dislocation was considered, a bipolar cup or constrained liner was used. Additional augments, and/or a reinforcement ring with a cemented liner/cup were used in hips in higher grade acetabular bone defects. A cementless non-modular stem was used in Paprosky type 1 and 2 femoral bone defects, and a cemented stem or an uncemented modular stem for larger femoral bone defects. In case of a persistent infection at the time of planned reimplantation surgery (discharging wound and/or increasing CRP without any other infection focus and/or local signs of infection), an additional revision with debridement was performed.

The overall mean follow-up after the prosthesis reimplantation was 42.7 months (range: 13.1–104.6 months).

2.5. Demographics and Infection Characteristics

One hundred and two patients underwent a two-stage exchange for hip PJI with resection arthroplasty during the evaluated period. After the exclusion of 10 patients because of insufficient follow-up, a total of 93 PJI of 92 patients (one patient with concomitant PJI of the right and left hip) were eligible for inclusion. The demographic data of the 93 analyzed cases are shown in Table 1.

Table 1. Demographic data of patients stratified in groups with a prosthesis-free interval of ≤10 weeks (group 1) and >10 weeks (group 2).

Variable	Group 1 (n = 49)	Group 2 (n = 44)	p-Value
Patient age, median (range)—years	75 (51–90)	77 (50–88)	0.790
Female sex	28 (57)	20 (45)	0.302
Body mass index (kg/m ²)	29.2 (16.2–46.4)	25.7 (18.8–37)	0.014
ASA score	2.0 (2–3)	2.0 (1–3)	0.874
No. of previous surgeries	2 (0–8)	2 (0–10)	0.544
Acetabular bone defect (Paprosky [15])			
Type 1	9 (18)	1 (2)	0.017
Type 2	24 (49)	23 (52)	0.836
Type 3	16 (33)	20 (45)	0.286
Femoral bone defect (Paprosky [14])			
Type 1	14 (29)	5 (9)	0.070
Type 2	20 (41)	21 (48)	0.536
Type 3	8 (16)	8 (18)	1.000
Type 4	7 (14)	10 (23)	0.421
Prosthesis-free interval, median (range)—weeks	8.6 (1.0–10.0)	12.0 (10.1–115)	<0.0001
Type of prosthesis fixation			0.052
Cemented	13 (27%)	21 (48%)	
Uncemented	36 (73%)	23 (52%)	
Interval from reimplantation and first walk, median (range)—days	2.0 (1–10)	2.0 (1–6)	0.506

NOTE. The values are given as the number (percentage) of cases, if not otherwise indicated.

According to the duration of the prosthesis-free interval, 49 cases (53%) were allocated to group 1 and 44 cases (47%) to group 2. Statistically significant differences besides the interval duration between both study groups were only found regarding BMI and type 1 of Paprosky acetabular bone defect classification. The distribution of all causative microorganisms isolated during explantation and reimplantation is listed in Table 2.

Table 2. Microbiological findings during explantation and reimplantation surgery among 93 cases.

Microorganism	Cases with Positive Microbiology at Explantation (n = 72)	Cases with Positive Microbiology at Reimplantation (n = 17)
Coagulase-negative staphylococci	53	17 ¹
<i>Staphylococcus aureus</i>	11	2
<i>Cutibacterium acnes</i>	8	1
<i>Streptococcus</i> spp.	5	0
<i>Enterococcus</i> spp.	5	0
Gram-negative bacteria ²	5	0
Others ³	4	1

NOTE. The values are given as the number of cases. The sum exceeds the total of cases due to polymicrobial infections with multiple causative pathogens. ¹ Of 19 positive tissue cultures with coagulase-negative staphylococci, in seven patients only one tissue sample showed growth but the growth was considered relevant as the patients were receiving antimicrobial treatment. ² *Escherichia coli* (n = 2), *Salmonella* spp. (n = 1), *Achromobacter xylosoxidans* (n = 1), *Pseudomonas putida* (n = 1). ³ During explantation: *Corynebacterium* spp. (n = 1), *Granulicatella adiacens* (n = 1), *Actinomyces neuii* (n = 1), *Lactobacillus* spp. (n = 1), during reimplantation: *Dermabacter hominis* (n = 1).

In 72 cases (77%), the pathogen was cultured during explantation. In 18 of these cases (25%), more than one microorganism caused the infection. During reimplantation surgery, cultures were positive in 17 cases (18%). In 5 of these cases (29%), polymicrobial infection was recorded.

Sixteen patients (17.2%) had a persistent infection. Among those, 13 patients grew the same pathogen as isolated at the time of explantation, and, in 3 cases, a different microorganism was isolated. In one patient, *Staphylococcus simulans* (two positive tissue cultures, one positive synovial fluid culture) was isolated at the first stage and *Staphylococcus haemolyticus* (two positive synovial fluid cultures) at the second stage. In another patient, *Enterococcus faecium* (two positive synovial fluid cultures, two positive tissue cultures) was detected at the time of explantation, and *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* (one positive tissue culture and one positive synovial fluid culture each) at reimplantation. In the third patient, no bacterial growth was observed at the first stage, and *Staphylococcus aureus* (two positive tissue cultures) was isolated at the second stage.

2.6. Statistical Analysis

Continuous variables are expressed by median and range; categorical variables are described as absolute and relative frequencies (percentage). Student *t*-test and Fisher's exact test were performed to compare metric and binary variables between both groups. A chi-squared test was used to compare the overall complication rate between both groups. Additionally, the revision-free and infection-free survival were calculated using Kaplan–Meier analysis. To test the equality of the survival distribution functions, a log-rank test was performed. All estimated parameters are reported with 95% confidence intervals. The significance level for all tests was 5% ($p < 0.05$). The software package XLSTATPM (version 2017; XLSTAT; Addinsoft, New York, NY, USA) was used for statistical analysis.

3. Results

3.1. Local Complications and Their Temporal Appearance During the Two-Stage Revision

Seventy-one patients (76%) had at least one local complication, and overall 146 complications occurred during the entire follow-up period. Table 3 summarizes local complications during different periods of the two-stage procedure. Common complications were relevant blood loss during reimplantation (n = 25), and during explantation (n = 23), persistent infection during prosthesis-free interval (n = 16), leg length discrepancy (n = 13), and reinfection (n = 9).

Table 3. Local complications occurring during different periods of the two-stage procedure in the group with an interval of ≤ 10 weeks (group 1) and >10 weeks (group 2).

Complication	All Cases (n = 93)	Group 1 (n = 49)	Group 2 (n = 44)	p-Value
At explantation				
Blood loss ¹	22 (24)	9 (18)	13 (30)	0.230
Bone fracture ²	3 (3)	2 (4)	1 (2)	1.000
Nerve palsy ³	1 (1)	0 (0)	1 (2)	0.473
Total	26 (28)	11 (22)	15 (34)	0.266
During resection arthroplasty				
Persistent infection	16 (17)	8 (16)	8 (18)	1.000
Wound healing disorder	6 (6)	2 (4)	4 (9)	0.417
Bone fracture ⁴	3 (3)	2 (4)	1 (2)	1.000
Others ⁵	13 (14)	9 (18)	4 (9)	0.268
Total	38 (41)	21 (43)	17 (39)	0.737
At reimplantation				
Blood loss ⁶	25 (27)	13 (27)	12 (27)	1.000
Bone fracture ⁷	5 (5)	3 (6)	2 (5)	1.000
New infection	3 (3)	1 (2)	2 (5)	0.601
Nerve palsy ⁸ (reversible)	2 (2)	1 (2)	1 (2)	1.000
Total	35 (38)	18 (37)	17 (39)	0.875
After Reimplantation				
Leg length discrepancy ⁹	13 (14)	4 (8)	9 (20)	0.134
Reinfection	9 (10)	3 (6)	6 (14)	0.299
Dislocation	7 (8)	3 (6)	4 (9)	0.704
Wound healing disturbance ¹⁰	6 (7)	0 (0)	6 (14)	0.009
Bone fracture ¹¹	3 (3)	2 (4)	1 (2)	1.000
Aseptic loosening ¹²	2 (2)	0 (0)	2 (5)	0.226
Others ¹³	7 (8)	4 (8)	3 (7)	0.688
Total	47 (51)	16 (33)	31 (70)	0.012
Total	146	66	80	0.068

NOTE. The values are given as the number (percentage) of cases. ¹ Requiring transfusion of 2–9 (median 2) erythrocyte concentrates. ² Including 2 fissures and 1 fracture of the proximal femur stabilized with additional cerclage wires. ³ Temporary palsy of the peroneal nerve (full recovery within 6 weeks). ⁴ Including 2 proximal femur fractures stabilized intramedullary with cemented Steinmann pins and 1 non-displaced proximal femur fracture treated with cerclage wires. ⁵ Including heterotopic ossification ($n = 8$), haematoma ($n = 1$), pain with VAS ≥ 6 points ($n = 2$), and bursitis trochanterica ($n = 2$). ⁶ Requiring transfusion of 2–14 (median 2) erythrocyte concentrates. ⁷ Including 4 fractures of the proximal femur stabilized with additional cerclage wires and 1 acetabulum fracture reconstructed with an acetabular reinforcement ring and cemented cup. ⁸ Temporary palsy of the femoral nerve with full recovery within 8 weeks (in the patient with the acetabulum fracture). ⁹ Median leg length discrepancy of 15 mm (range: 10–35 mm); in group 1, four (8%) patients had a median leg length discrepancy of 13 mm (range: 10–20 mm) and in group 2, nine (20%) patients with a median leg length discrepancy of 20 mm (range: 10–35 mm) ($p = 0.134$). ¹⁰ Two patients required revision surgery. ¹¹ One proximal femur fracture (treated with a fracture fixation plate and cerclage wires), one acetabular fracture (navigated percutaneous screw fixation), and one ischial tuberosity avulsion fracture (treated conservatively). ¹² Evaluated at follow-up visits (after 49.7 and 69.0 months), no pain, no required revision. ¹³ Heterotopic ossification ($n = 1$), haematoma (with required revision surgery; ($n = 3$)), pain with VAS ≥ 6 points ($n = 3$).

During the prosthesis-free interval, two proximal femur fractures occurred and were stabilized intramedullary with cemented Steinmann pins. Another non-displaced proximal femur fracture detected during the interval was treated during reimplantation with cerclage wires. In 4 patients (4%), a wound-healing disorder (WHD) without the need for revision surgery was present.

Seven patients (8%) with acetabular Paprosky type 2 ($n = 2$) and type 3 ($n = 5$) or with femoral Paprosky type 1 ($n = 1$), type 2 ($n = 2$), type 3 ($n = 1$) and type 4 ($n = 3$) experienced a postoperative dislocation after a mean of 14.5 days (range: 8–26 days). While three patients had a successful closed reduction, four patients required revision surgery. In three patients, a dual mobility cup was implanted in which two had no further dislocation. One with a recurrent dislocation was treated with successful closed reduction and a temporary custom-made hip orthosis. No further dislocation was observed

after the last intervention. Another patient with dislocation underwent successful stem exchange with reduction of antetorsion and increase in offset with no further dislocation.

3.2. Systemic Complications

Twenty-two (24%) patients experienced at least one systemic complication (Table 4), 12 (24%) in group 1 (12 complications) and 10 (23%) in group 2 (14 complications, $p = 0.501$). Thromboembolic events were more frequent in group 2 ($p = 0.047$).

Table 4. Systemic complications occurring during different periods of the two-stage procedure in the group with an interval of ≤ 10 weeks (group 1) and > 10 weeks (group 2).

Complications	All Cases (n = 93)	Group 1 (n = 49)	Group 2 (n = 44)	p-Value
Allergic reaction to antibiotics	6	5	1	0.120
Cardiovascular events ¹	6	5	1	0.208
Thromboembolic events ²	4	0	4	0.047
Hepatic insufficiency *	2	0	2	0.131
Sepsis/Systemic inflammatory response syndrome *	2	0	2	0.131
Others ³	6	2	4	0.417
Total	26	12	14	0.501

NOTE. * denotes complications occurring after explantation. ¹ Including atrial fibrillation (n = 2), supraventricular tachycardia (n = 1), acute ischemic stroke (n = 1), myocardial infarction (n = 1) and endocarditis (n = 1). ² Including deep vein thrombosis (n = 3) and pulmonary embolism (n = 1). ³ Sacral pressure sore (n = 1), pneumothorax (n = 1), paralytic ileus (n = 1), hyponatremia (n = 1), cholecystolithiasis* (n = 1) and acute kidney failure* (n = 1).

3.3. Bone Defects and Consecutive Complications

A statistically significant difference of total number of complications comparing acetabular bone defect types (7 complications in 10 patients with type 1, 69 in 47 patients with type 2, and 70 in 36 patients with type 3; $p = 0.008$; Figure 2a) and femoral bone defect types (19 complications in 9 patients with type 1 (n = 19), 63 in 41 patients with type 2, 29 in 16 patients with type 3, and 35 in 17 patients with type 4; $p = 0.043$; Figure 2b) was observed.

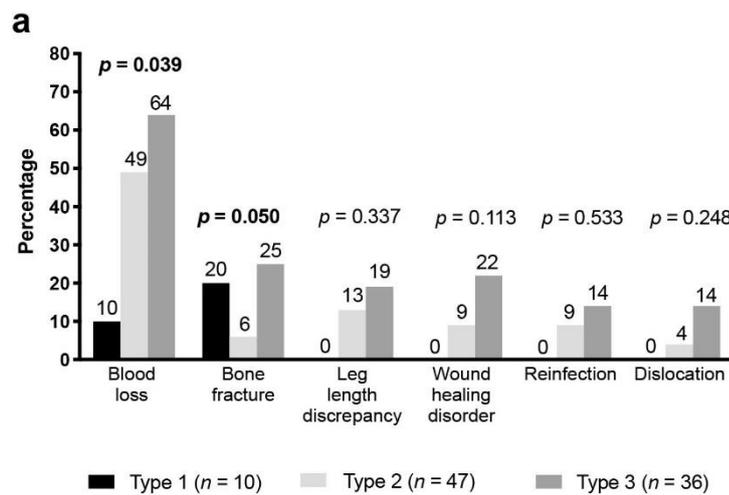


Figure 2. Cont.

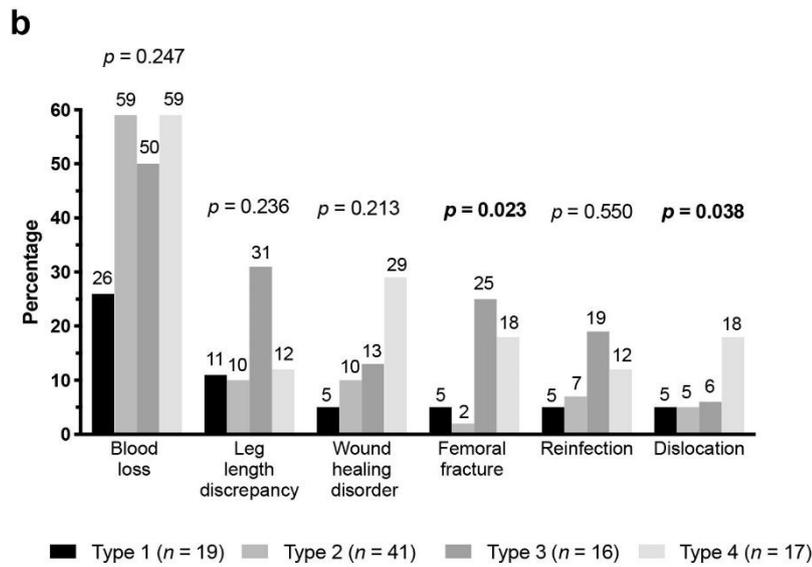


Figure 2. Frequency of complications in the different acetabular bone defect types according to Paprosky classification [15] (a) and femoral bone defect types according to Paprosky classification [14] (b). Number above the bars represent the frequency of the complication in the respective type.

3.4. Comparison of Groups

In group 1, 66 local complications (45%) occurred during the whole study period, whereas 80 (55%) in group 2 (Figure 3). There were statistically significantly fewer complications after reimplantation of the hip prosthesis in group 1 (16 complications) compared with group 2 (31 complications) ($p = 0.012$). For no complication, a statistically significant difference between both groups was shown except for wound healing disorders after reimplantation ($p = 0.009$).

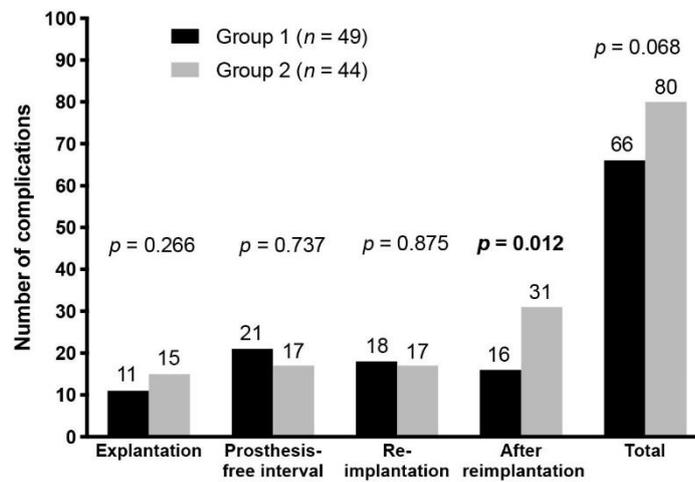
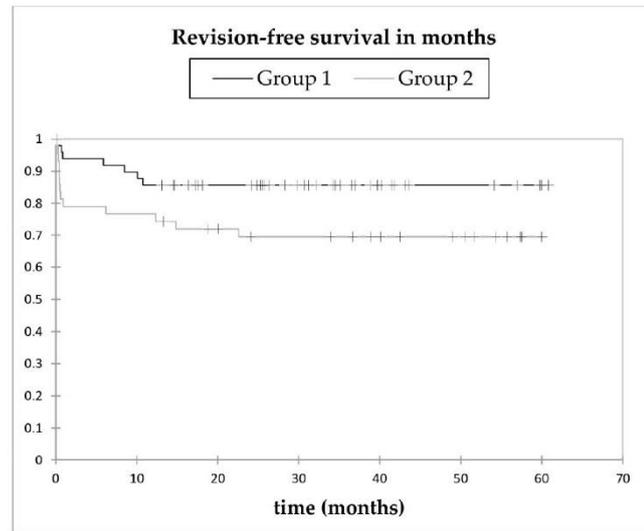


Figure 3. Complications during different periods of the two-stage procedure stratified according to the group.

3.5. Revision-Free Survival

In group 1, the Kaplan–Meier analysis showed a revision-free survival probability of 91.8% (95% CI: 84.2–99.5) at six months, and 85.7% (95% CI: 75.9–95.5) at 12 months. After 11 months, no further revision was required. The mean revision-free survival time was 52.2 months (95% CI: 46.4–57.9). In

group 2, revision-free survival probabilities of 81.4% (95% CI: 69.8–93.0) at six months, 74.4% (95% CI: 61.4–87.5) at 12 months, and 69.4% (95% CI: 55.6–83.3) at 24 months were calculated. All complications requiring revision surgery occurred within 2 years. The mean revision-free survival time was 41.3 months (95% CI: 33.6–48.9). There seems to be a higher revision-free survival rate in group 1 (Figure 4), but not at a statistically significant level ($p = 0.058$).



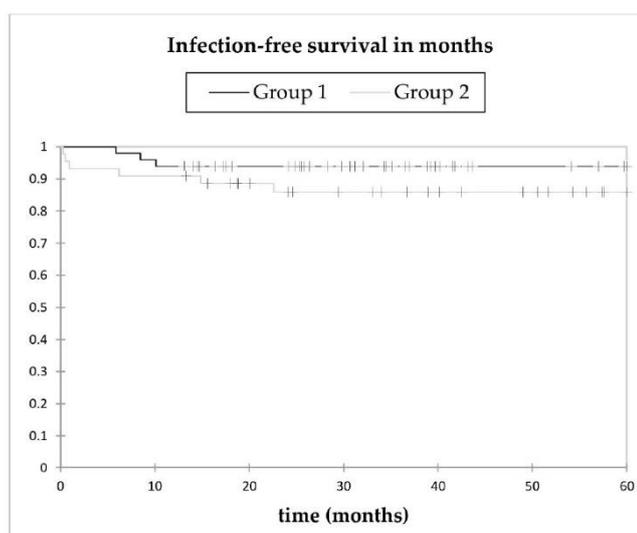
No° at risk

Group 1	49	45	36	27	17	10	6
Group 2	44	34	30	27	24	21	14

Figure 4. Kaplan–Meier revision-free survival curve as an endpoint in cases with an interval of ≤ 10 weeks (black) and an interval of >10 weeks (grey). No statistically significant difference between both groups was calculated (log-rank test, $p = 0.058$).

3.6. Infection-Free Survival

Overall, nine patients (10%) were revised because of infection after a mean time period of 7.8 months (range: 0.3–22.6). Of these, four (44%) were diagnosed as recurrent (one in group 1 and three in group 2) and five (56%) as new, haematogenous infections (two in group 1 and three in group 2). All were treated with at least one further surgical intervention. For the Kaplan–Meier analysis, all nine further infections were counted as reinfections (Figure 5).



No° at risk							
Group 1	49	47	39	30	17	11	7
Group 2	44	41	35	29	25	22	15

Figure 5. Kaplan–Meier infection-free survival curve in cases with an interval of ≤ 10 weeks (group 1, black) and an interval of > 10 weeks (group 2, grey). No statistically significant difference between both groups was calculated (log-rank test, $p = 0.223$).

In group 1, all three infections occurred within 12 months, leading to an infection-free survival probability of 93.9% (95% CI: 87.2–100) at 12 months. The mean infection-free survival time was 72.1 months (95% CI: 66.5–77.7). Patients in group 2 showed an infection-free survival rate of 90.9% (95% CI: 82.4–99.4) at 12 months, and 85.9% (95% CI: 75.4–96.4) at 24 months. No further infection was diagnosed after 23 months. The mean infection-free survival time was 82.8 months (95% CI: 72.8–92.8). The Kaplan–Meier curves showed no significant difference between the two groups ($p = 0.223$).

4. Discussion

Few authors have systematically analysed local and systemic complications associated with resection arthroplasty for the treatment of hip PJI. Most common local complications in our study were relevant blood loss during reimplantation and during explantation, persistent infection during prosthesis-free interval, leg length discrepancy, and reinfection.

While we had a low number of complications during the prosthesis-free interval in our study, spacer-related complications are commonly described in the interim period of a two-stage revision when using a PMMA bone cement spacer. Spacer related complication rates of 20–40% were reported which often require further surgery during the prosthesis-free interval [19–21]. Yang et al. showed a 45% (14/31) spacer related complication rate during the prosthesis-free interval in their cohort of 31 patients who underwent a two-stage revision with resection arthroplasty and implantation of cement spacers at the first stage. Six (19%) patients had a spacer dislocation, three (10%) a spacer fracture, four (13%) a femoral fracture, and one (3%) a spacer dislocation combined with a fracture. Faschingbauer et al. described a 20% complication rate associated with cement spacers [19]. Of 138 included patients, 12 (9%) suffered from a dislocation, further 12 (9%) had a spacer fracture, one (1%) had a femoral fracture, one a spacer fracture-dislocation, and one (1%) a spacer protrusion into the pelvis (1%). These high numbers of complications demonstrate the advantage of two-stage revision without a spacer. However, the most complained disadvantage of resection arthroplasty during the interim period is leg length discrepancy. The leg length discrepancy after conversion of resection arthroplasty into total hip arthroplasty occurs mainly due to soft tissue contracture and acetabular

and femoral bone loss. Garcia-Rey et al. [22] showed greater leg length discrepancy in patients with conversion after a mean of 39 months compared to patients, who had revision surgery for aseptic loosening. Charlton et al [23] evaluated complications associated with reimplantation after Girdlestone arthroplasty in 44 patients. They demonstrated a leg length discrepancy in 50% of the study cohort with a mean discrepancy of 6.5 mm (5–30 mm) after placing a cement spacer into the acetabular bed during the interim period. In a study by Diemen et al. [10], where a cement spacer was also used during the interval, leg length discrepancy was shown in 8% of 136 cases with a mean discrepancy of 26 mm (range, 1.5–9 mm). In the current study, 14% patients showed leg length discrepancy with a median discrepancy of 15 mm. The patients in the group with shorter interval had less leg length discrepancies (8%) with a lower median discrepancy (13 mm) compared to the group with a larger prosthesis-free interval (20% and 20 mm, respectively). Therefore, with similar leg length discrepancy rates and median discrepancies, two-stage revision involving resection arthroplasty with a short interval was comparable with two-stage revision using a PMMA bone cement spacer during the interval. Other authors described more pronounced leg shortening in case of delayed reimplantation [24]. If an early reconstruction after resection arthroplasty is performed, results were similar to those in whom a spacer was used [10]. However, randomized studies comparing both treatment options with a short prosthesis-free interval are lacking.

Dislocations occurred in 7.5% of patients (6% in group 1, 9% in group 2) within the first four weeks after reconstruction, which is in line with previous reports demonstrating a dislocation rate of 3%–11% in patients treated with resection arthroplasty [22,23,25] and comparable to the dislocation rate with cement spacer, which was described to be 1%–8% [10,22,26]. The probability of periprosthetic fracture after reimplantation in our study was 3.2%, which was similar to the reported incidence of 3.2% with resection arthroplasty and 4.3% with spacer use [22].

Importantly, patients with a shorter prosthesis-free interval had a lower local complication rate after reimplantation compared with patients treated with prosthesis-free interval >10 weeks, while the complications during the first and second stages showed no difference. Other authors also recommended early reimplantation to avoid soft tissue contracture and leg length discrepancy [27].

Of note, the extent of the acetabular and femoral bone defects influenced the complication rate. This could be explained by the more technically challenging reconstruction of a deficient bone stock to recreate the center of the hip rotation, which is more time consuming compared to hips with less deficiency [28]. In major acetabular bone defects, a higher overall complication rate was observed; for example, blood loss and bone fractures were more frequent in patients with larger bony deficiency. Dislocation, leg length discrepancy, nerve palsy, and wound healing disturbance were more common in type 2 and 3 acetabular bone defects. An interaction effect between the femoral bone defect types and the femoral fracture was also shown. Unsurprisingly, fractures were more frequent in patients with larger bony deficiency.

In our series, reinfection occurred in nine patients (9.7%) and was only present in patients with type 2 and 3 acetabular bone defects. Patients treated with a shorter prosthesis-free interval showed a trend towards lower reinfection rate (6%) compared with patients with a longer one (14%). These findings are in concordance with the reported reinfection rate ranging from 2.3 to 13.4% [10,23,25].

Regarding systemic complications, thromboembolic events were more often observed in patients with a longer prosthesis-free interval. Although low-molecular-weight heparin was given, four events were observed in the long interim period while none occurred in the short prosthesis-free interval group. A possible explanation could be the reduced mobilization during a long interval. However, each event occurred after reimplantation, when the patient was able to weight-bear again. In the study by Charlton et al, no thrombosis or embolism was reported [23]. Due to the controversial results, the impact of a long prosthesis-interval on thromboembolic events remains unclear. Further studies are needed to elucidate this problem.

There are several limitations to this study. The present study did not include an evaluation of functional outcome. However, in the retrospective study by Marczak et al., the final Harris hip score

(HHS) and visual analogue scale (VAS) score showed no difference between patients treated with a two-stage revision with or without spacer, while the final WOMAC (Western Ontario and McMaster Universities osteoarthritis index) score showed a better outcome in the spacer group [24]. The decision to use a spacer in this study was based on the preferences of the surgeon and local bone deficiency. Hence, resection arthroplasty was performed in patients with a severe bone deficiency, which could be a possible explanation for the significantly different WOMAC score. In the study by Hsieh et al. [6], the functional status of the patients (measured by using the Merle d'Aubigné and Postel hip score) was similar between patients treated with cement beads following resection arthroplasty and patients with a cement spacer during the prosthesis-free interval. Another limitation is the limited number of patients, making statistical comparisons between the groups difficult. Nevertheless, this retrospective series represents the largest single-center observation of two-stage revision involving Girdlestone hips during the prosthesis-free interval and still might be useful in solid decision making for orthopaedic surgeons.

5. Conclusions

In conclusion, complications of two-stage revision using resection arthroplasty were common, including relevant blood loss, leg length discrepancy, persistent infection, and reinfection. Nevertheless, the infection-free-survival was high (>85% after two years). Patients with shorter prosthesis-free intervals (≤ 10 weeks) experienced fewer complications after reimplantation. An increasing number of complications were seen with increasing acetabular defects. The indication for resection arthroplasty needs to be evaluated carefully, considering the high rate of complications and reduced mobility, particularly if longer prosthesis-free intervals are applied.

Author Contributions: Conceptualization and study design, I.K.S., T.W., C.P., N.R., A.T.; data acquisition, I.K.S., T.W., N.O.; statistical analysis: I.K.S., N.R.; writing-original draft preparation, I.K.S.; writing-review and editing, T.W., N.O., C.P., N.R., A.T; supervision, A.T.

Funding: We acknowledge the support from the German Research Foundation (DFG) and the Open Access Publication Fund of Charité-Universitätsmedizin Berlin, Germany. This work was supported by the PRO-IMPLANT Foundation, Berlin, Germany (<https://www.pro-implant-foundation.org>) providing an unrestricted research grant.

Acknowledgments: Part of the results of this study were presented at the Annual Meeting of the European Bone and Joint Infection Society (EBJIS) in Helsinki, Finland, 6–8 September 2018 and the German Congress of Orthopaedic Surgery and Traumatology (DKOU) in Berlin, Germany, 23–26 October 2018.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

- Janssen, D.M.; Geurts, J.A.; Jutten, L.M.; Walenkamp, G.H. 2-stage revision of 120 deep infected hip and knee prostheses using gentamicin-PMMA beads. *Acta Orthop.* **2016**, *87*, 324–332. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Pattyn, C.; De Geest, T.; Ackerman, P.; Audenaert, E. Preformed gentamicin spacers in two-stage revision hip arthroplasty: Functional results and complications. *Int. Orthop.* **2011**, *35*, 1471–1476. [[CrossRef](#)]
- Engesaeter, L.B.; Dale, H.; Schrama, J.C.; Hallan, G.; Lie, S.A. Surgical procedures in the treatment of 784 infected THAs reported to the Norwegian Arthroplasty Register. *Acta Orthop.* **2011**, *82*, 530–537. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Ritter, M.A.; Farris, A. Outcome of infected total joint replacement. *Orthopedics* **2010**, *33*. [[CrossRef](#)]
- Younger, A.S.; Duncan, C.P.; Masri, B.A.; McGraw, R.W. The outcome of two-stage arthroplasty using a custom-made interval spacer to treat the infected hip. *J. Arthroplast.* **1997**, *12*, 615–623. [[CrossRef](#)]
- Hsieh, P.H.; Shih, C.H.; Chang, Y.H.; Lee, M.S.; Shih, H.N.; Yang, W.E. Two-stage revision hip arthroplasty for infection: Comparison between the interim use of antibiotic-loaded cement beads and a spacer prosthesis. *J. Bone Jt. Surg.* **2004**, *86*, 1989–1997. [[CrossRef](#)]
- Duncan, C.P.; Masri, B.A. The role of antibiotic-loaded cement in the treatment of an infection after a hip replacement. *Instr. Course Lect.* **1995**, *44*, 305–313. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Hope, P.G.; Kristinsson, K.G.; Norman, P.; Elson, R.A. Deep infection of cemented total hip arthroplasties caused by coagulase-negative staphylococci. *J. Bone Jt. Surg.* **1989**, *71*, 851–855. [[CrossRef](#)]

9. Lautenschlager, E.P.; Jacobs, J.J.; Marshall, G.W.; Meyer, P.R., Jr. Mechanical properties of bone cements containing large doses of antibiotic powders. *J. Biomed. Mater. Res.* **1976**, *10*, 929–938. [[CrossRef](#)]
10. Van Diemen, M.P.; Colen, S.; Dalemans, A.A.; Stuyck, J.; Mulier, M. Two-stage revision of an infected total hip arthroplasty: A follow-up of 136 patients. *Hip Int. J. Clin. Exp. Res. Hip Pathol. Ther.* **2013**, *23*, 445–450. [[CrossRef](#)]
11. Girdlestone, G.R. *Arthrodesis and Other Operations for Tuberculosis of the Hip*; The Robert Jones Birthday Volume; Milford, H., Ed.; Oxford University Press: London, UK, 1928; pp. 347–374.
12. Girdlestone, G.R. Acute pyogenic arthritis of the hip: An operation giving free access and effective drainage. *Lancet* **1943**, *241*, 419–421. [[CrossRef](#)]
13. Trampuz, A.; Perka, C.; Borens, O. Prosthetic joint infection: New developments in diagnosis and treatment]. *Dtsch. Med. Wochenschr.* **2013**, *138*, 1571–1573. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Paprosky, W.G.; Greidanus, N.V.; Antoniou, J. Minimum 10-year-results of extensively porous-coated stems in revision hip arthroplasty. *Clin. Orthop. Relat. Res.* **1999**, *369*, 230–242. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Paprosky, W.G.; Perona, P.G.; Lawrence, J.M. Acetabular defect classification and surgical reconstruction in revision arthroplasty. A 6-year follow-up evaluation. *J. Arthroplast.* **1994**, *9*, 33–44. [[CrossRef](#)]
16. Sigmund, I.K.; Yermak, K.; Perka, C.; Trampuz, A.; Renz, N. Is the Enzyme-linked Immunosorbent Assay More Accurate Than the Lateral Flow Alpha Defensin Test for Diagnosing Periprosthetic Joint Infection? *Clin. Orthop. Relat. Res.* **2018**, *476*, 1645–1654. [[CrossRef](#)]
17. Diaz-Ledezma, C.; Higuera, C.A.; Parvizi, J. Success after treatment of periprosthetic joint infection: A Delphi-based international multidisciplinary consensus. *Clin. Orthop. Relat. Res.* **2013**, *471*, 2374–2382. [[CrossRef](#)]
18. Li, H.K.; Rombach, I.; Zambellas, R.; Walker, A.S.; McNally, M.A.; Atkins, B.L.; Lipsky, B.A.; Hughes, H.C.; Bose, D.; Kumin, M.; et al. Oral versus Intravenous Antibiotics for Bone and Joint Infection. *N. Engl. J. Med.* **2019**, *380*, 425–436. [[CrossRef](#)]
19. Faschingbauer, M.; Reichel, H.; Bieger, R.; Kappe, T. Mechanical complications with one hundred and thirty eight (antibiotic-laden) cement spacers in the treatment of periprosthetic infection after total hip arthroplasty. *Int. Orthop.* **2015**, *39*, 989–994. [[CrossRef](#)]
20. Yang, F.S.; Lu, Y.D.; Wu, C.T.; Blevins, K.; Lee, M.S.; Kuo, F.C. Mechanical failure of articulating polymethylmethacrylate (PMMA) spacers in two-stage revision hip arthroplasty: The risk factors and the impact on interim function. *BMC Musculoskelet. Disord.* **2019**, *20*, 372. [[CrossRef](#)]
21. Jung, J.; Schmid, N.V.; Kelm, J.; Schmitt, E.; Anagnostakos, K. Complications after spacer implantation in the treatment of hip joint infections. *Int. J. Med. Sci.* **2009**, *6*, 265–273. [[CrossRef](#)]
22. Garcia-Rey, E.; Cruz-Pardos, A.; Madero, R. Clinical outcome following conversion of Girdlestone’s resection arthroplasty to total hip replacement: A retrospective matched case-control study. *Bone Jt. J.* **2014**, *96*, 1478–1484. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Charlton, W.P.; Hozack, W.J.; Teloken, M.A.; Rao, R.; Bissett, G.A. Complications associated with reimplantation after girdlestone arthroplasty. *Clin. Orthop. Relat. Res.* **2003**, *407*, 119–126. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Marczak, D.; Synder, M.; Sibinski, M.; Polguy, M.; Dudka, J.; Kowalczewski, J. Two stage revision hip arthroplasty in periprosthetic joint infection. Comparison study: With or without the use of a spacer. *Int. Orthop.* **2017**, *41*, 2253–2258. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. McDonald, D.J.; Fitzgerald, R.H., Jr.; Ilstrup, D.M. Two-stage reconstruction of a total hip arthroplasty because of infection. *J. Bone Jt. Surg.* **1989**, *71*, 828–834. [[CrossRef](#)]
26. Gomez, M.M.; Tan, T.L.; Manrique, J.; Deirmengian, G.K.; Parvizi, J. The Fate of Spacers in the Treatment of Periprosthetic Joint Infection. *J. Bone Jt. Surg.* **2015**, *97*, 1495–1502. [[CrossRef](#)]

27. Winkler, T.; Stuhler, M.G.W.; Lieb, E.; Muller, M.; von Roth, P.; Preininger, B.; Trampuz, A.; Perka, C.F. Outcome of short versus long interval in two-stage exchange for periprosthetic joint infection: A prospective cohort study. *Arch. Orthop. Trauma. Surg.* **2019**, *139*, 295–303. [[CrossRef](#)]
28. Noordin, S.; Masri, B.A.; Duncan, C.P.; Garbuz, D.S. Acetabular bone loss in revision total hip arthroplasty: Principles and techniques. *Instr. Course Lect.* **2010**, *59*, 27–36.



© 2019 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

10. Curriculum Vitae

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

11. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich meinen besonderen Dank den nachstehenden Personen entgegen bringen, ohne deren Mithilfe die Anfertigung dieser Promotionsschrift nicht zustande gekommen wäre:

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. med. Andrej Trampuz, meinem Doktorvater und Oberarzt und Sektionsleiter der Infektiologie und septischen Chirurgie, und Dr. med. Nora Renz, Assistenzärztin an der Abteilung der Infektiologie und septischen Chirurgie, für die Bereitschaft meine Promotion von Anfang an zu betreuen und mich bei meinen Ideen zu unterstützen. Obwohl Sie beide viel beschäftigt waren, fanden Sie trotzdem immer die Zeit mir mit Geduld stets mit Rat und Tat zur Seite zu stehen. Nicht nur die exzellente Zusammenarbeit, sondern auch die konstruktiven Gespräche auf fachlicher und persönlicher Ebene, haben mich stets motiviert und verhalfen mir zur Durchführung dieser Arbeiten und vor allem auch zu neuen Einblicken in die Welt der septischen Chirurgie.

Auch danke ich in besonderen Maße Dr. med. Susanne Feihl, die als Mikrobiologin an der Abteilung für Infektiologie und septischen Chirurgie tätig war, Prof. Dr. Carsten Perka, Ärztlicher Direktor des Centrums Muskuloskeletale Chirurgie, und Prof. Dr. med. univ. et scient. med. Tobias Winkler, Leiter Muskuloskeletale Advanced Therapies, für die gute wissenschaftliche Zusammenarbeit und ebenso für die Zeit, die die zahlreichen Korrekturlesungen in Anspruch genommen haben. Sie haben unsere Artikel ungemein mit Ihrem Spezialwissen bereichert.

Ein großes und herzliches Dankeschön gilt meiner gesamten Familie und meinen Freunden für die unglaubliche Geduld sowie liebevolle und stetige Unterstützung während meiner gesamten Facharztausbildung und Promotionszeit. Mein besonderer Dank gilt an dieser Stelle meinen Eltern, Irene und Rudolf, sowie meinen Geschwistern, Angela, Rudolf und Dominik für Ihr uneingeschränktes Verständnis und für die zahlreichen Ermutigungen, ohne die die letzten Jahre nicht möglich gewesen wären, weshalb ich Ihnen diese Arbeit widme.