

Aus dem Institut für Pathologie  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Histopathologische Infektdiagnostik der Infekt-Persistenz bei Gelenkprothesen  
Spacer-Implantationen

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Caroline Liewen-Kugel

(geb. Liewen)

aus Trier

Datum der Promotion: 04.03.2022

## Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	III
Abstrakt.....	IV
Abstract.....	V
1 Einführung.....	1
1.1 Operative Eingriffe in der Endoprothetik.....	1
1.1.1 Häufigkeit des endoprothetischen Eingriffes.....	1
1.1.2 Infektpersistenz in der Endoprothetik .....	1
1.1.3 Häufigkeit und Bedeutung der Infektpersistenz für die Gesellschaft .....	2
1.2 Spacerimplantation .....	3
1.2.1 Indikationen für die Implantation eines Spacereinbaus.....	3
1.2.2 Revision und Explantation des Spacers .....	3
1.3 Histopathologie der Endoprothetik.....	3
1.3.1 Klassifikation .....	3
1.3.2 Knochenzement/ PMMA.....	7
1.4 Histopathologische Kriterien der Infektpersistenz bei Spacerimplantation .....	7
1.4.1 Histopathologische Diagnostik der Infektpersistenz.....	7
1.4.2 Methoden der Diagnostik .....	8
2 Material und Methodik .....	10
2.1 Zu untersuchende Gewebeproben .....	10
2.2 Makroskopische und mikroskopische Aufarbeitung .....	10
2.3 Histopathologie der orthopädischen Gewebeproben .....	12
2.4 Histopathologie der Perispacer-Reaktion .....	13
3 Ergebnisse .....	14
3.1 Korrelation der histopathologischen und mikrobiologischen Daten .....	14
4 Diskussion.....	23
5 Literaturverzeichnis .....	26
5.1 Literaturverzeichnis .....	26
5.2 Tabellen- und Abbildungsverzeichnis .....	30
I. Eidesstattliche Versicherung / Anteilserklärung.....	VI
II. Druckexemplare der ausgewählten Publikationen .....	X
III. Lebenslauf .....	XI
IV. Publikationsliste .....	XII
V. Danksagung.....	XVI

## Abkürzungsverzeichnis

CD	Cluster of differentiation
HPF	High-Power-Field
Mdn	Mediane
MoM	Metal-on-Metal
MVZHZMD	Medizinisches Versorgungszentrum für Histologie, Zytologie und Molekulare Diagnostik Trier GmbH
PE	Polyethylen
PMMA	Polymeres Methyl-Methacrylat
SLIM	Synovial-like interface membran
TEP	Totalendoprothese

## **Abstrakt**

### **Hintergrund**

Ziel der Arbeit ist es mittels des CD15 Focus-Scores eine Aussage zu Sensitivität und Spezifität der bakteriellen Infektpersistenz bei Spacer-basiertem zweizeitigem Gelenkendoprothesenwechsel zu ermitteln.

### **Methoden**

Die Stichprobe umfasst 112 Fälle, die aufgrund einer Infektion in Folge eines Gelenkendoprothesenwechsels einer Revision unterzogen wurden. Die histopathologischen Daten wurden gemäß der SLIM-Klassifikation und des CD15 Focus-Score erhoben und mit den mikrobiologischen Daten korreliert. Die quantifizierende Bewertung durch den CD15 Focus-Score erfolgte ohne Kenntnis der mikrobiologischen Daten. Die Korrelation erfolgte erst nach Einhaltung einer 14-tägigen Kultivierung.

### **Ergebnisse**

Der CD15 Focus-Score zeigte bei 1-facher Auswertung eine Sensitivität für die Infekteradikation von 0.64, eine Spezifität von 0.79. Bei 10-facher Auswertung eine Sensitivität von 0.68, eine Spezifität von 0.91. Es ließ sich kein signifikanter Zusammenhang mit den infektiösen Spezies nachweisen. Die Infekteradikation betrug 75%. In 64 Fällen bestand ein Partikelnachweis (PMMA). Es konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen mikrobiologischem Erregernachweis und Präsenz von antibiotikahaltigen-PMMA-Partikeln gezeigt werden.

### **Zusammenfassung**

In sämtlichen Fällen zeigte sich periimplantäres Gewebe mit variablem Nachweis von PMMA-Partikeln. Die Klassifikation erfolgte als Synovialis vom Perispacer Typ 9, Typ 9A mit Infekteradikation und Typ 9B mit Infektpersistenz.

## **Abstract**

### **Objective**

The purpose of this study is to use the CD15 focus score in order to determine the sensitivity and specificity of bacterial infection persistence in spacer-based two-stage revision arthroplasty.

### **Methods**

The sample comprises 112 cases that were subjected to revision due to the presence of infection upon replacement of a joint endoprosthesis. The histopathological data were collected in accordance with the SLIM classification and the CD15 focus score and were correlated with the microbiological data. The quantifying evaluation by means of the CD15 focus score was performed without knowledge regarding the microbiological data. Correlation with the microbiological data was only performed after a 14-day cultivation period.

### **Results**

In a 1-fold evaluation, the CD15 focus score showed a sensitivity for infection eradication of 0.64, a specificity of 0.79. With a 10-fold evaluation, a sensitivity of 0.68, a specificity of 0.91. No significant association could be demonstrated in connection with the infectious species. The infection eradication rate was 75%. Particulate matter (PMMA) was detected in 64 cases. No significant correlation could be established between microbiological pathogen detection and the presence of PMMA particles impregnated with antibiotics.

### **Conclusion**

Peri-implant tissue with variable levels of PMMA particles was found in all cases. Classification was determined as type 9 perispacer synovialis, type 9A with infection eradication and type 9B with infection persistence.

# **1 Einführung**

## **1.1 Operative Eingriffe in der Endoprothetik**

Operative Eingriffe in der Endoprothetik werden sowohl bei degenerativen als auch bei primär entzündlichen Gelenkerkrankungen mit Destruktion des Gelenkknorpels durchgeführt. Aufgrund dessen, dass die Fähigkeit zur Regeneration des Gelenkknorpels begrenzt ist, wird der darunterliegende Knochen zunehmend destruiert. Dies führt zu einer Osteoarthrose und Nekrose im Bereich des gelenknahen Knochens und somit ist die Indikation zur Implantation einer Endoprothese gegeben. Dies ist die Standardtherapie bei Hüft- und Kniegelenk. Weitere Indikationen für die Implantation einer Endoprothese sind beispielsweise durch Traumata bedingte gelenknahe Frakturen (z.B. Oberschenkelhalsfraktur und Trümmerfrakturen im Bereich des Kniegelenks), angeborene Dysplasien vor allem im Bereich des Hüftgelenks, Frakturen aufgrund einer metabolisch-bedingten Osteoporose, Knochenresektion aufgrund von pathologischen Frakturen im Rahmen eines Tumorgeschehens (Resektion von Metastasen oder primären ossären Tumoren) [Claes et al., 2012]. Die Gelenkflächen werden hierbei durch Prothesen aus Metall, Keramik oder Kunststoff ersetzt und durch einen Metallschaft bzw. eine Metallpfanne im Knochen verankert. Diese Prothesen werden mit Knochenzement aus Polymethylmethacrylat (PMMA) im Knochen fixiert. Dies ermöglicht auch eine frühe postoperative Mobilisation.

### **1.1.1 Häufigkeit des endoprothetischen Eingriffes**

Implantationen von Gelenkendoprothesen sind eine der wichtigsten operativen Therapien in der orthopädischen Medizin zur Verbesserung der Lebensqualität und Wiederherstellung der Mobilität und zeichnen sich weltweit durch hohe Zuwachsraten aus [Ethgen, O., 2004]. Ausgehend von den Daten des statistischen Bundesamtes aus dem Jahr 2019 wurden insgesamt 437.236 Endoprothesen im Bereich des Hüft- und Kniegelenks implantiert (Hüftgelenk: 243.477, Kniegelenk 193.759). Rund 40% des endoprothetischen Hüft- oder Kniegelenkersatzes betrifft Patienten zwischen 70 und 79 Jahren. Eine geschlechtsspezifische Verteilung ist nicht zu erkennen.

### **1.1.2 Infektpersistenz in der Endoprothetik**

Die periprothetische Infektion einer Endoprothese gilt als eine schwere Komplikation des operativen Eingriffes. Klinischerseits wird die periprothetische Infektion auf zwei Arten

definiert. Folgendermaßen wird diese nach dem International Consensus Meeting definiert: Es müssen ein von zwei Major- oder drei von fünf Minor-Kriterien vorhanden sein.

Zu den Major Kriterien gehören der Nachweis einer Fistel oder der Nachweis identischer Erreger in zwei Gewebeproben/ Punktaten. Minor Kriterien hingegen sind ein histologischer Nachweis einer Infektion, eine singular positive Kultur, eine erhöhte Zellzahl im Punktat oder eine erhöhte Anzahl der neutrophilen Granulozyten im Punktat und eine CRP- und BSG-Erhöhung [International Consensus Meeting (ICM), Philadelphia 2013; Youssef et al. 2004].

Die Definition der periprothetischen Infektion nach Methews wird wie folgt angegeben. Dabei muss eines der fünf folgenden Kriterien erfüllt sein: 1) Der Nachweis einer Fistel oder Eiter im Punktat/ Situs, oder 2) der Nachweis identischer Erreger in zwei Gewebeproben/ Punktaten, oder 3) nach Krenn ein histopathologisch akutes Entzündungszeichen oder 4) eine erhöhte Leukozytenzahl und Neutrophilenanteil im Punktat (über 2000 Leukozyten/ $\mu$ l oder 70% Granulozyten) [Methews et al., 2009].

Der wichtigste diagnostische Faktor stellt die Mikrobiologie als Goldstandard dar. Untersucht werden hier entweder Gelenkpunktate oder intraoperativ gewonnene Proben mit dem Ziel der Bestimmung der neutrophilen Granulozyten und mikrobiologischer Anzucht der Erreger.

### **1.1.3 Häufigkeit und Bedeutung der Infektpersistenz für die Gesellschaft**

Bei periimplantären Infektionen handelt es sich um schwerwiegende Komplikationen und stellen eine große medizinische Herausforderung an die verschiedenen chirurgischen und diagnostischen Disziplinen dar. Nicht nur die Dauer der Behandlung gestaltet sich als langwierig und schwierig, auch der psychische Leidensdruck auch aufgrund der hohen Kosten stellen ein enormes Problem dar. Die Kosten für eine Revision einer infizierten Knie-TEP betragen durchschnittlich mehr als 25.000 € pro Patient [Haenle, M., 2012]. Etwa 4% der Patienten mit einer Endoprothese leiden an einer periprothetischen Infektion. Das vorrangige Ziel einer Behandlung der Infektpersistenz ist eine dauerhafte Infektsanierung sowie eine Funktionserhaltung der Endoprothese.

Am häufigsten nachgewiesen werden koagulase-negative Staphylokokken, Staphylococcus-aureus, Streptokokken, Enterokokken und gramnegative Bakterien.

Der zweizeitige Wechsel von Gelenkendoprothesen ist aktuell eines der wesentlichen Therapieverfahren, wobei die Behandlungserfolge schwer vorhersehbar sind und eine

hohe Infektpersistenzrate besteht [Akün, D., 2019; Dieckmann, R., 2014; George, J., 2016; George, J., 2017; Hoell, S., 2016; Triantafyllopoulos, GK., 2016]. Es existiert kein Konsens bezüglich der genauen therapeutischen Vorgehensweise und den diagnostischen Prinzipien, wobei in den letzten Jahren durch Konsensusmeetings Grundlagen für eine standardisierte und reproduzierbare Infektionsdiagnostik für alle diagnostischen Bereiche geschaffen wurde [Aalirezaie, A., 2019; Bauer, TW., 2019].

## **1.2 Spacerimplantation**

### **1.2.1 Indikationen für die Implantation eines Spacereinbaus**

In der Gelenkendoprothetik werden Spacer aufgrund einer bakteriell infizierten Endoprothese implantiert. Hierbei wird die infizierte Endoprothese zuerst ausgebaut und durch den sogenannten Spacer ersetzt. Dieser Vorgang wird als zweizeitiger septischer Endoprothesenwechsel bezeichnet. Die Spacer enthalten hochkonzentrierte Antibiotika, welche stetig an das umgebende Gewebe abgegeben werden und somit lokal wirken, um zu einer Keimreduktion/ Keimeradikation zu führen. Die Spacer werden für durchschnittlich sechs Wochen implantiert, um die Infektion zu sanieren [Militz, M., 2015].

### **1.2.2 Revision und Explantation des Spacers**

Die Explantation des Spacers erfolgt nach gesicherter Infektsanierung und bei nachgewiesenen negativen laborchemischen Entzündungsparameter (keine erhöhte Anzahl an Leukozyten, kein erhöhtes CRP und keine erhöhte BSG). Die durchschnittliche Standzeit des Spacers beträgt ca. sechs Wochen [Militz, M., 2015].

## **1.3 Histopathologie der Endoprothetik**

### **1.3.1 Klassifikation**

Die histopathologische Gelenkendoprothesen-Diagnostik stellt mittlerweile einen bedeutenden Teil der orthopädischen Pathologie dar. Hierbei wird die periprothetische Membran oder auch synovial-like interface membrane (SLIM) lichtmikroskopisch untersucht. Um einen nationalen bzw. internationalen Konsens zu finden wurde 2004 national bzw. 2006 international eine Konsensusklassifikation zur Einteilung der orthopädischen Endoprothesen-Pathologie erstellt [Morawietz et al., 2004; Morawietz et al., 2006]. In dieser Konsensusklassifikation wurde die Gelenkendoprothesen-Pathologie in verschiedene Subtypen unterteilt. Hierzu gehören SLIM-Typ I (abriebinduzierter Typ), SLIM-Typ II (infektiöser Typ), SLIM-Typ III (Mischtyp) und SLIM-Typ IV (Indifferenztyp).



2013 wurde auf nationaler Ebene und 2014 auf internationaler Ebene eine Revision der SLIM-Konsensusklassifikation vorgenommen und drei weitere Subtypen in die Klassifikation aufgenommen: SLIM-Typ V (Arthrofibrose), Typ VI (adverse Reaktion) und Typ VII (ossäre Pathologien) [Krenn et al., 2013; Krenn et al., 2014].

Die Subtypen der SLIM-Konsensusklassifikation werden wie folgt charakterisiert:

### **Abriebinduzierter Typ – SLIM Typ I**

Dieser Typ stellt den häufigsten der periprothetischen Membran dar. Hier kommt es im Bereich der implantierten Endoprothese zu einer lokalen Aktivierung von Makrophagen mit der Folge einer Freisetzung von proinflammatorischen Mediatoren. Dies führt zu einer Ansammlung von Immunzellen und einer aseptischen Entzündungsreaktion im Bereich der periprothetischen Membran [Otto et al., 2006]. Histomorphologisch lassen sich unterschiedliche Abriebpartikel je nach mechanischer Belastung und Art der Endoprothese nachweisen. Zu diesen Abriebpartikeln gehören Polyethylen (PE), Knochenzement (PMMA), metallischer Abrieb sowie Keramik [Krenn und Perino, 2017]. Klinischerseits stellt sich dieses geschehen als aseptische Prothesenlockerung dar. Histologisch zeigt sich hier ein Mischbild aus Fremdkörperriesenzellen vom multinukleären Typ sowie einzelnen Makrophagen und Nachweis von Abriebpartikeln, vereinzelt lassen sich auch Nekrosen sowie einzelne Lymphozyten und Plasmazellen nachweisen. Die Abriebpartikel können sowohl extrazellulär (makropartikuläres Polyethylen und PMMA-Depositionen) als auch intrazellulär nach erfolgter Phagozytose (mikropartikuläres Polyethylen) vorliegen [Krenn und Perino, 2017].

### **Infektiöser Typ – SLIM Typ II**

Dieser Typ stellt das histologische Korrelat der septischen Prothesenlockerung dar. Klinischerseits wird hier zwischen einer sogenannten low-grade und einer high-grade Infektion unterschieden, wobei ein genauer Grenzwert zwischen einer low-grade Infektion und einer high-grade Infektion bislang nicht definiert ist [Krenn et al., 2011]. Histologisch zeigt sich hier periimplantäres Gewebe mit Nachweis von Fibroblasten, Gefäßproliferaten sowie Aggregaten aus neutrophilen Granulozyten, Plasmazellen und Lymphozyten. Diese Aggregate können auch in Mikroabszessen vorliegen. Des Weiteren zeigt sich eine Destruktion der synovialen Deckzellschicht. Hieraus ergibt sich als relevantes Kriterium für die Diagnostik die Quantifizierung der neutrophilen Granulozyten. Hierzu kann lichtmikroskopisch die Anzahl der neutrophilen Granulozyten pro Gesichtsfeld bei 400-

facher Vergrößerung (high power field, HPF) ausgezählt werden. Für die Diagnose einer low-grade Infektion müssen pro 10 HPF mindestens 23 neutrophile Granulozyten nachgewiesen werden [Morawietz et al., 2009]. Aufgrund dessen, dass die neutrophilen Granulozyten in dem periimplantären Gewebe nicht gleichmäßig verteilt vorliegen ist diese Art der Quantifizierung relativ ungenau. Um eine reproduzierbare Quantifizierung der neutrophilen Granulozyten zu gewährleisten, wird das periprothetische Gewebe immunhistochemisch untersucht. Neutrophile Granulozyten exprimieren das Oberflächenmerkmal CD15, sodass eine immunhistochemische Färbung gegen dieses Oberflächenmerkmal eingesetzt werden kann. Das immunhistochemisch angefärbte Präparat kann nun standardisiert lichtmikroskopisch untersucht werden. Hierbei erfolgt die Untersuchung von einem HPF unter 200-facher Vergrößerung mittels einer digital unterstützten morphometrischen Analyse am PC-Bildschirm. Ein Fokusscore von 50 neutrophilen Granulozyten gilt hierbei als Orientierungsmarke für die Diagnosestellung einer periprothetischen Infektion [Kölbel et al., 2015].

### **Mischtyp – SLIM Typ III**

Der sogenannte Mischtyp der SLIM-Klassifikation stellt eine Kombination aus abriebinduziertem Typ (Typ I) und infektiösem Typ (Typ II) dar. Dieser ist zugleich der seltenste Typ der Klassifikation. Es müssen sowohl die Kriterien des abriebinduzierten Typs als auch des infektiösen Typs erfüllt sowie die Merkmale beider Typen eindeutig identifizierbar sein.

### **Indifferenztyp – SLIM Typ IV**

Bei diesem Typ lässt sich weder eine abriebinduzierte noch eine infektiöse Genese eindeutig erkennen. Es finden sich keine eindeutigen Kennzeichen der periprothetischen Membran vom abriebinduzierten Typ oder des infektiösen Typs. Histologisch zeigt sich vor allem relativ zellarmes kollagenfaserreiches Bindegewebe mit Nachweis von Abriebpartikel (Mikro- und Makropartikuläres PE und PMMA) sowie gelegentlich Nachweis von einzelnen Makrophagen, Riesenzellen und neutrophile Granulozyten. An der Oberfläche dieses Gewebes kann eine Synovialis-ähnliche Deckzellschicht vorhanden sein [Krenn und Perino, 2017]. Um eine low-grade Infektion sicher ausschließen zu können, kann eine Quantifizierung der CD15-positiven neutrophilen Granulozyten vorgenommen werden.

### **Endoprothesen-assoziierte Arthrofibrose – SLIM Typ V**

Die diagnostischen Kriterien einer Gelenkendoprothesen-assoziierten Arthrofibrose setzen sich zusammen aus einer Vermehrung des kollagenstraffen Bindegewebes mit unterschiedlicher Anzahl an Fibroblasten und Fibrozyten sowie Gefäßquerschnitten. Klinisch relevant für die Diagnose einer Arthrofibrose sind Schmerzen und Bewegungseinschränkungen aufgrund einer Prothesenlockerung. Die Arthrofibrose kann in drei unterschiedliche Grade eingeteilt werden, welche sich durch eine Zunahme der Fibroblasten auszeichnen [Krenn und Perino, 2017; Krenn et al., 2009]. Grad I zeigt eine geringe fibroblastäre Zellularität sowie eine unspezifische Vernarbung. Grad II zeigt eine mäßiggradige fibroblastäre Zellularität sowie eine noduläre Proliferation des angrenzenden fibrösen Gewebes. Grad III zeigt eine hochgradige fibroblastäre Zellularität mit Ähnlichkeiten einer Fibromatose.

### **Adverse Reaktion – SLIM Typ VI**

Unter adverser Reaktion versteht man unterschiedliche inflammatorische Prozesse, die als gemeinsames Kriterium eine hypersensitive Reaktion zeigen, welche durch die Fremdpartikel der Endoprothese ausgelöst werden. Man unterscheidet zwischen einer immunologischen Reaktion im Sinne einer allergischen Reaktion auf das Implantatmaterial und einer Gewebereaktion mit nekrotisch-lymphozytären Muster [Krenn und Perino, 2017]. Aufgrund dessen, dass es keine eindeutigen histologischen Kriterien gibt, kann die Diagnose einer adversen Reaktion nur im Kontext der klinischen Befunde gestellt werden. Ein häufiges histopathologisches Bild ist das Vorhandensein von plasmazellulären Infiltraten sowie Nachweis von Lymphozyten bei gleichzeitigem Nachweis von Abriebpartikeln [Krenn und Perino, 2017]. Typisch für das Bild eines nekrotisch-lymphozytären Musters sind ausgedehnte Nekrosen im Bereich der periprothetischen Membran sowie ein Nachweis von Makrophagenakkumulaten und Abriebpartikeln [Krenn und Perino, 2017]. Dieses Bild sieht man klassischerweise bei Endoprothesen mit sogenannten „metal-on-metal“ („MoM“) Paarung.

### **Ossäre Pathologien – SLIM Typ VII**

Unter diesem Typ der SLIM-Klassifikation werden ossäre Pathologien zusammengefasst, welche im Zusammenhang mit einer Endoprothese stehen. Hierzu gehören die Osteoporose/ Osteopenie und Frakturen des knöchernen Gewebes im Bereich der Endoprothese. Histologisch zeigt sich hier eine Reduktion der ossären trabekulären

Quervernetzung sowie einer Verschmälerung der Kortikalis [Krenn und Perino, 2017]. Auch die aseptischen Knochennekrosen werden diesem Typen zugeordnet. Hier tritt zudem eine reduzierte trabekuläre Quervernetzung einhergehend mit einer Fibrose der Markräume, einer Ansammlung von Schaumzellen und einer reaktiven Geflechtknochenneubildung im Bereich von Nekrosezonen auf [Krenn und Perino, 2017]. Ein weiterer Teil dieser Klassifikation stellt die sogenannte heterotope Ossifikation dar. Histologisch zeigt sich hier ossäres Gewebe mit Markraumödem, Markraumfibrose und reaktiver Ossifikation mit einer fokalen Geflechtknochenneubildung. Dies führt je nach Ausmaß der Ossifikation zur Reduktion der Mobilität im Bereich des betroffenen Gelenkes [Krenn und Perino, 2017].

### **1.3.2 Knochenzement/ PMMA**

Bei operativen Eingriffen in der Orthopädie kommt Knochenzement, sogenanntes PMMA, zum Einsatz. PMMA ist ein Zweikomponentenklebstoff, dem das Antibiotikum Gentamicin zur Infektionsbehandlung zugesetzt wird, sowie das Kontrastmittel Zirkondioxyd oder Bariumsulfat zur Darstellung auf Röntgenbildern [Krenn, V., 2012].

Der Knochenzement besteht aus zwei Anteilen: einem Pulver und einer Flüssigkeit. Werden diese beiden Komponenten gemischt, kommt es zu einer exothermen Reaktion und zur Bildung eines homogenen Gemisches. Während das Gemisch aushärtet, kann die Temperatur aufgrund des Polymerisationsprozesses bis auf 70°C steigen. Nach etwa 10 Minuten ist der Zement vollständig ausgehärtet.

Bei bakteriellen Infektionen von Knochen und Weichgewebe wird der Knochenzement mit Gentamicin versetzt, welches kontinuierlich freigegeben wird. Dadurch wird eine dauerhafte lokale Abgabe des Antibiotikums an das umgebende Gewebe möglich. Ein großer Vorteil der lokalen Verabreichung ist, dass eine relativ hochdosierte Behandlung möglich ist. Da Gentamicin vor allem nephro- und orotoxisch wirkt, kann eine hohe systemische Konzentration somit vermieden und die Nebenwirkungen herabgesetzt werden.

## **1.4 Histopathologische Kriterien der Infektpersistenz bei Spacerimplantation**

### **1.4.1 Histopathologische Diagnostik der Infektpersistenz**

Neben der klinischen mikrobiologischen Diagnostik wendet sich die histopathologische Diagnostik der zentralen Aufgabe der Infektionsdiagnostik zu [Bauer, TW., 2019; Parvizi, J., 2018; Athanasou, NA., 1995]. Diese kann als eine indirekte Infektionsdiagnostik

bezeichnet werden, da durch die Quantifizierung segmentierter neutrophiler Granulozyten mittels verschiedener Methoden eine Aussage zu einer bakteriellen Infektion bzw. eine Aussage zu einem Infektionsausschluss erfolgt.

Die Gesamtheit der verschiedenen differenzialdiagnostisch infektiösen und nicht-infektiösen Typisierung ist in der SLIM-Konsensusklassifikation dargestellt [Krenn, V., 2014], welche als eine Klassifikation mit guter Resonanz einen wesentlichen Beitrag in der Pathologie der Gelenkendoprothetik leistet und aktuell „Cited by 54 PubMed Central articles“ aufweist.

In einem internationalen Konsensusmeeting wurde für die Infektionsdiagnostik bei zweizeitigem Wechsel von Gelenkendoprothesen die verschiedenen Quantifizierungssysteme von segmentierten neutrophilen Granulozyten auf Basis einer systematischen Literaturrecherche analysiert, bewertet und eine Konsens-basierte Empfehlung abgegeben, welche auf mehr als fünf segmentkerniger neutrophile Granulozyten in zumindest 3 HPF beruht [Aalirezaie, A., 2019]. Der Vorteil dieser Quantifizierung besteht in einer einfachen HE-basierten morphologischen Analyse. Die Nachteile darin sind allerdings, dass neutrophile Granulozyten ausschließlich HE-morphologisch definiert sind und, dass die genaue Field-area nicht angegeben ist. Dadurch kann eine Unschärfe in der Diagnostik bestehen [Tsaras, G., 2012].

#### **1.4.2 Methoden der Diagnostik**

Die deskriptive statistische Analyse und graphische Aufarbeitung der erhobenen Daten erfolgten mittels SPSS Statistics (IBM SPSS Statistics, Version 25.0.0.0. 64-Bit). Die Ausgabe der Graphiken erfolgte mittels Prism (GraphPad Prism, Version 8.4.0 (455) für Mac, GraphPad Software, La Jolla California USA). Zur deskriptiven Statistik wurden Häufigkeiten, Mittelwerte, Minimalwerte und Maximalwerte ermittelt. Die Häufigkeiten wurden in einfachen Anzahlen und prozentualen Anteilen angegeben. Die Präsentation der Daten erfolgte mit Hilfe von Kreisdiagrammen und Balkendiagrammen. Vergleichende statistische Analysen wurden mit Hilfe der Programmiersprache R (The R Foundation for statistical Computing; Version 3.5.1, General Public License; [The R Project] – [www.r-project.org](http://www.r-project.org)) durchgeführt. Konkret wurden Varianzanalysen (ANOVA) verwendet, bei statistisch signifikanten Unterschieden der auf diese Weise generierten Daten wurden zusätzlich ein Post-Hoc-Test (Tukey HSD – Test) durchgeführt. In Rahmen dieser Arbeit wurden p-Werte entsprechend üblicher Signifikanzabstufungen gewichtet bewertet ( $p < 0,05$  signifikant,  $p < 0,01$  hochsignifikant).

Zur Beantwortung der Frage, ob sich zum einen der CD15 Focus-Score von dem mikrobiologischen Nachweis unterscheidet als auch eine genauere Stratifizierung in low-grade und high-grade Infektion möglich ist, wurde der Mann-Whitney-U-Test angewendet. Es folgte die Prüfung auf Normalverteilung mittels Shapiro-Wilk-Test. Die Verteilungsform der Gruppen wurde durch den Kolmogorov-Smirnov-Test untersucht. Die Fragestellung nach erfolgreicher Infekteradikation in Bezug auf den mikrobiologischen Erregernachweis in Abhängigkeit zu intrageweblichen antibiotikahaltigen PMMA-Partikeln wurde mittels Chi-Quadrat-Test auf Unabhängigkeit überprüft.

## **2 Material und Methodik**

### **2.1 Zu untersuchende Gewebeproben**

Die Entnahme der untersuchten Gewebeproben erfolgt im Rahmen eines operativen Eingriffs zur histopathologischen Diagnostik von endoprothetischen Membranen an Hüfte (n=61) und Knie (n=51). Die Gewebeproben stammen von 112 Patienten aus 27 orthopädischen Kliniken aus neun Bundesländern im Zeitraum von 2017 bis 2020. Hiervon waren 61 (54%) der Patienten weiblich und 51 (46%) der Patienten männlich. Das durchschnittliche Alter der weiblichen Patienten betrug 73 (50 bis 94 Jahre) und das durchschnittliche Alter der männlichen Patienten 68 Jahre (36 bis 89 Jahre).

### **2.2 Makroskopische und mikroskopische Aufarbeitung**

Die histopathologische Aufarbeitung der periprothetischen Membranen bzw. SLIM erfolgte im medizinischen Versorgungszentrum für „Histologie, Zytologie und Molekulare Diagnostik“ mit einem Schwerpunkt für Orthopädische Pathologie (MVZH ZMD Trier GmbH, Germany) unter akkreditierten Bedingungen (DIN EN ISO/IEC 17020: 2012, Registrier-nummer: D-IS-21311-01-00). Es kommen semiautomatische und automatische Verfahren zur Anwendung, welche eine Entwässerung, Paraffinierung der Gewebeproben (Leica- PELORIS®, Xpress 120 SACURA ®) und eine teilautomatische (HM325-Leica und Zeiss®) sowie eine vollautomatische Mikrotomisierung möglich machen.

Die intraoperativ entnommenen Gewebeproben werden in gepufferter 5%iger Formalinlösung an das Versorgungszentrum übersandt. Dort werden die Proben mit einem individuellen Barcode und dazugehöriger Eingangsnummer gekennzeichnet und elektronisch erfasst. Somit ist eine eindeutige Zuordnung der Proben im gesamten Bearbeitungsprozess zu jeder Zeit möglich.

Bei der makroskopischen Aufarbeitung des eingesandten Gewebes wird zwischen weichem Material und Material mit harter Konsistenz (Knorpel, verkalktes Material und Knochenmaterial) unterschieden. Die weichen Gewebeproben werden direkt in einer Einbettkapseln von bis zu 28x22x4 mm eingebettet, wohingegen die harten Gewebeproben zuerst entmineralisiert oder entkalkt werden müssen. Die Entkalkung erfolgt mittels Säure in 5%iger Salzsäure. Anschließend werden die Gewebeproben entwässert und in Paraffinblöcke gegossen. Nach Abkühlung und Aushärten der Paraffinblöcke wird mittels eines Rotationsmikrotoms (Rotationsmikrotom Hyrax M40,

Zeiss, Oberkochen, Germany; Messer A35, Feather, Osaka, Japan) von den Paraffingewebeblöcken Schnitte mit einer Schichtdicke von 2-5 µm angefertigt und auf einen Objektträger aufgebracht (Objektträger Superfrost entfettet und geschnitten, Menzel, Braunschweig, Germany).

Anschließend erfolgt eine Färbung des hergestellten Schnittpräparats. Standardmäßig werden die Präparate mittels Hämatoxylin und Eosin Färbung (HE), PAS (Periodic-Acid-Schiff)-Färbung und Berliner-Blau-Reaktion aufgearbeitet.

Die HE-Färbung erfolgt vollautomatisiert durch das Sakura Prisma-Färbemodul (Sakura Finetek Germany GmbH, Freiburg, Germany). Hierbei werden die bereits hergestellten Schnittpräparate auf den Objektträgern mittels Xylol in einer absteigenden Ethanolreihe (100%, 96%, 70% entparaffiniert). Daraufhin erfolgt die Anfärbung der basophilen Zellkerne in dem der Objektträger 4-mal für jeweils zwei Minuten Hämatoxylin (nach Harris, Surgipath, Richmond, Illinois, USA) eingetaucht wird. Anschließend erfolgt die Anfärbung des azidophilen Zytoplasmas mittels Eosin (Eosin Y, Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA) 4-mal für eine Dauer von jeweils zwei Minuten. Nach dieser durchgeführten Färbung werden die nun gefärbten Schnitte mit einer aufsteigenden Ethanolreihe und Xylol aufgearbeitet. Anschließend erfolgt die Fixierung und Eindeckung der gefärbten Objektträger (Eindeckautomat CV5030, Leica, Wetzlar, Germany).

Mithilfe der PAS-Färbung werden kohlenhydratreiche Verbindungen (Mucopolysaccharide, Glykoprotein und Glykolipide) angefärbt. Dies erfolgt ebenfalls vollautomatisiert mittels des Sakura Prisma-Färbemoduls (Sakura Finetek Germany GmbH, Freiburg, Germany). Die Objektträger werden ebenfalls mittels Xylol und einer absteigenden Ethanolreihe entparaffiniert und anschließend mittels Periodsäure behandelt. Dieser Vorgang führt zu einer Oxidation der Glykolgruppen zu Aldehydgruppen. Dies ermöglicht eine Reaktion mit der Schiff'schen Reagenz, was zu einer latent roten Farbreaktion führt. Anschließend werden die Zellkerne mittels Hämalaun nach Mayer dunkelblau angefärbt. Die so hergestellten gefärbten Schnittpräparate werden nun fixiert und mit einem Deckglas versehen (Eindeckautomat CV5030, Leica, Wetzlar, Germany).

Mithilfe der Berliner-Blau-Reaktion kann Eisen in einer Gewebeprobe gezielt angefärbt und somit nachgewiesen werden. Auch diese Färbung erfolgt vollautomatisiert durch das ST-5020 Leica Färbemodul (Leica Mikrosysteme Vertrieb GmbH, Wetzlar, Germany). Hierbei führt die Reaktion durch Salzsäure dazu, dass ionisiertes Eisen ( $Fe^{3+}$ ) mit Kaliumhexacyanoferrat-II ein unlösliches Präzipitat bilden, welche als Ergebnis eine



Blaufärbung aufweist. Anschließend erfolgt eine Gegenfärbung der Zellkerne mittels Kernechtrot.

Des Weiteren können die Präparate auch immunhistochemisch weiterführend aufgearbeitet werden. Hier wird mittels indirekter immunhistochemischer Färbung das Antigen CD15 nachgewiesen. Dies erfolgt ebenfalls vollautomatisiert (BenchmarkXT, ICH Slide Stainer, Roche, Basel, Switzerland). Die angefertigten Schnittpräparate werden mit Xylol und einer absteigenden Ethanolreihe entparaffinisiert. Daraufhin wird durch eine Zellkonditionierung eine Demaskierung der Zielantigene herbeigeführt. Die Schnittpräparate werden bei 95°C für acht Minuten inkubiert. Anschließend erfolgt eine 30-minütige Zellkonditionierung sowie eine Inkubation mit dem primären Antikörper, in diesem Fall CD15 (Anti-CD15, mouse monoclonal primary antibody, Klon MMA, Roche, Basel, Schweiz), welcher an das Zielantigen bindet. Im Anschluss daran werden die Schnittpräparate mit dem Sekundärantikörper (I-VIEW BIOTIN Ig, Roche Ventana Medical Solutions, Basel, Switzerland) zusammengebracht, welcher an den primären Antikörper bindet. Daraufhin erfolgt eine Inkubation mit Streptavidin-Meerrettich-Peroxidase (I-VIEW SA-HRP, Roche, Basel, Switzerland). Diese bindet an das Glykoprotein Biotin der sekundären Antikörper. Im letzten Schritt wird die Peroxidase-reaktion mittels Wasserstoffperoxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) und 3,3 Diaminobenzidin (DAB, DAKO, Glostrup, Denmark) als Farbsubstrat sichtbar gemacht.

### **2.3 Histopathologie der orthopädischen Gewebeproben**

Die histopathologische Begutachtung der SLIM erfolgt unter standardisierten und akkreditierten Bedingungen (DIN EN ISO/IEC 17020:2012, Registriernummer: D-IS-21311-01-00). Die Einordnung und Typisierung der SLIM erfolgt gemäß der SLIM-Konsensus-Klassifikation [Morawietz et al., 2004; Morawietz et al., 2006] sowie der aktualisierten SLIM-Konsensus-Klassifikation [Krenn et al., 2013; Krenn et al., 2014] von drei erfahrenen Fachärzten für Pathologie (Facharzt-Tätigkeit: 11-20 Jahre) mit orthopädisch-pathologischer Spezialisierung (V.K., M.O. und C.D.). Sollte eine eindeutige Einordnung bzw. Typisierung des Gewebes nicht möglich sein, erfolgt eine Diskussion zwischen den Fachärzten mit anschließender kompromissbasierter Festlegung der Typisierung (Interobserver-Validierung). Die Gewebeproben werden mit der Frage nach einer bakteriellen Infektion, speziell mit der Frage nach einer histopathologischen Infekteradikation und Gewebeklassifikation übersendet. Die histopathologische Analyse bzw. Typisierung erfolgte mittels der Kriterien der SLIM-Konsensus-Klassifikation [Krenn,

V., 2014], die Partikelcharakterisierung gemäß des Partikel-Algorithmus [Perino, G., 2018]. Die PMMA-Partikelquantifizierung erfolgte semiquantitativ in geringgradigen PMMA-Depositionen (1-2 Partikel pro Field-area: 1,2 mm<sup>2</sup>) und hochgradigen PMMA-Depositionen (mehr als zwei Partikel pro Field-area: 1,2 mm<sup>2</sup>)

#### **2.4 Histopathologie der Perispacer-Reaktion**

Der CD15 Focus-Score stellt eine valide Methode zur histopathologischen Diagnostik der primären periprothetischen Infektion dar und wurde durch Korrelation mit den mikrobiologischen Daten als Goldstandard erhoben [Krenn, VT., 2017]. Dieser ermöglicht mit hoher Sensitivität und Spezifität die histopathologische Diagnose einer Infektion bzw. eines Infektausschlusses und zudem eine orientierende Typisierung der Bakterienspezies. Dieser Goldstandard basiert auf einer spezifischen Eigenschaft segmentierten, neutrophiler Granulozyten, wobei die Quantifizierung in einer festgelegten Field-area erfolgt [Krenn, VT., 2017]. In dieser korrelativ-mikrobiologischen Untersuchung wurde der CD15 Focus-Score bezüglich der Fragestellung einer Infektpersistenz bzw. Infekteradikation bei zweizeitigem Wechsel von Gelenkendoprothesen angewendet und dahingehend erweitert, dass nicht nur eine einfache, sondern auch eine zehnfache Quantifizierung erfolgt. Das letztere Prinzip basiert im Wesentlichen auf publizierten Daten eines kleinen Kollektivs, ebenfalls ohne genaue Angabe der Field-area [Bori, G., 2007]. Da bakterielle Infektionen generell eine heterogene und multifokale Verteilung im Gewebe aufweisen, erscheint die Analyse einer großen Fläche des periimplantären Gewebes dahingehend sinnvoll und notwendig. Aus diesen Gründen wurde für die mikrobiologische Diagnostik eine Mindestanzahl von Gewebeproben aus unterschiedlichen Lokalisationen vorgeschlagen [Izakovicova, P., 2019; Zmistowski, B., 2014], um eine effiziente Infektionsdiagnostik als Diagnosestandard zu ermöglichen.

### **3 Ergebnisse**

#### **3.1 Korrelation der histopathologischen und mikrobiologischen Daten**

##### **Patientenkollektiv**

Es wurden insgesamt 112 Fälle befundet, die aufgrund einer Infektion einer Operation mit zweizeitigen Gelenkendoprothesenwechsel unterzogen worden sind. Das Material wurde im histopathologischen Befund gemäß der klinischen Fragestellung mittels Anwendung des CD15 Focus-Scores klassifiziert, gemäß der revidierten SLIM- Konsensus-Klassifikation typisiert und als SLIM vom Perispacer Typ (Typ 9) bewertet. Der Nachweis von PMMA-Depositionen wurde zusätzlich kommentiert. Die Gewebeproben stammen von 27 orthopädischen Kliniken aus neun Bundesländern: Berlin (n = 1), Schleswig-Holstein (n = 1), Baden-Württemberg (n = 7), Hamburg (n = 7), Rheinland-Pfalz (n = 2), Nordrhein-Westfalen (n = 9), Niedersachsen (n = 4), Sachsen-Anhalt (n = 1) und Bayern (n = 4).

##### **Alter und Geschlecht des Patientenkollektivs**

Das mediane Alter des Kollektivs lag bei 71,6 Jahre (Range = 36-94; SD = 11.1). Davon waren 61 (54%) der Patienten weiblichen (Range = 50-94; M = 72.7; SD = 10.1) und 51 (46%) männlichen (Range = 36-89; M = 68.2; SD = 11.9) Geschlechts.

##### **Lokalisationen der PMMA-Spacer**

Die Lokalisationen der Gelenkspacer beinhalten das Kniegelenk in 54 Fällen (48%); das Hüftgelenk in 56 Fällen (50%); das Sprunggelenk in einem Fall (etwa 1%) und das Schultergelenk in einem Fall (etwa 1%). Sämtliche PMMA-Spacer waren antibiotikahaltig. Daten zu den Standzeiten der Gelenkspacer lagen nicht vor.

##### **Probengröße und Probenanzahl**

Die mittlere Probengröße (Maximaldurchmesser) betrug 41 mm. Die Probenanzahl aus unterschiedlichen Lokalisationen und somit getrennten Übersendungen variierte von einer eingesandten Probe (n = 37), 2 (n = 25), 3 (n = 20), 4 (n = 10), 5 (n = 11), 6 (n = 4), 7 (n = 3) bis zu neun Proben (n = 2).

## **SLIM-Klassifikation und SLIM vom Perispacer Typ**

Es wurden die diagnostischen Klassifikationsprinzipien der SLIM-Klassifikation auf das Gewebe bei zweizeitigem Wechsel der Gelenkendoprothese übertragen. In sämtlichen Fällen (n = 112) zeigte sich periimplantäres fibröses, synovialis-ähnliches bzw. synoviales Gewebe mit variabler fibroblastärer Zellularität, Kapillarproliferaten, Fibrininsudation, sowie der Nachweis frakturierten Knochengewebes (frakturierte Knochen trabekel) als auch eine fokale reaktive Neubildung von Geflechtknochen mit multifokal Ansammlungen von Makrophagen und fokalem PMMA-Partikelnachweis. Es bestand eine variable entzündliche Infiltration, prädominant durch segmentkernige Zellen sowie neutrophilen Granulozyten, in einzelnen Fällen auch eosinophile Granulozyten. In sämtlichen Fällen war keine granulomatöse entzündliche Infiltration nachweisbar. Die neutrophilen Granulozyteninfiltrate wurden gemäß des CD15 Focus-Score evaluiert, wobei eosinophile Granulozyten immunhistochemisch nicht zur Darstellung gelangten. Im histopathologischen Befund wurden diese periimplantären Veränderungen als Veränderungen gleich dem zweizeitigem Prothesenwechsel, speziell als SLIM vom Perispacer Typ (Typ 9) klassifiziert.

### **CD15 Focus-Score**

Der CD15 Focus-Score zeigte bei definierter Field-area bei 1-facher Auswertung (1 Focus) mit einem Score-Wert von 42 eine Sensitivität für die Infekteradikation von 0.64 und eine Spezifität von 0.79 (PPV = 0.5; NPV = 0.87). Bei 10-facher Auswertung (10 Foci) mit einem Score-Wert von 220 betrug die Sensitivität für die Infekteradikation 0.68, die Spezifität 0.91 (PPV = 0.7; NPV = 0.89). Interessanterweise wurde bei 10-facher Auswertung ein vergleichsweise ähnlicher Wert erzielt, welcher mit ähnlichen Quantifizierungs-Modalitäten erhoben worden ist [Gontarewicz, A., 2012]. Im Hinblick auf die Spezifität sind diese Werte vergleichbar mit anderen Quantifizierungssystemen von neutrophilen Granulozyten, wobei jedoch in diesen Analysen [Bori, G., 2007] wesentlich kleinere Flächen analysiert wurden und keine genaue Flächendefinition des HPF (Field-area) erfolgte. Eine definitive Flächenbestimmung der Field-area ist für eine zelldiagnostische Quantifizierung jedoch erforderlich und wird generell für eine reproduzierbare histopathologische Diagnostik von der WHO vorgeschlagen [Fletcher, C. DM., 2013]. Da eine Zunahme an untersuchten Gewebeproben mit einer Zunahme der Repräsentativität und somit des diagnostischen Sicherheitsgrades einer Infektion verbunden ist, ist die Zunahme von Sensitivität und Spezifität durch die Ausweitung der

untersuchten Gewebefläche dahingehend ein plausibles Resultat. Die Entnahmemenge an Gewebeproben ist beispielsweise für die mikrobiologische Diagnostik an eine Mindestmenge gebunden. Dies ist somit auch auf die histopathologische Diagnostik übertragbar. Im Gegensatz zur Primärinfektionsdiagnostik [Krenn, VT., 2017] war kein statistisch signifikanter Zusammenhang des CD15 Focus-Scores mit den verschiedenen Bakterienspezies nachweisbar. Dies ist möglicherweise darauf zurückzuführen, dass das periimplantäre Gewebe bei zweizeitigem Wechsel, bedingt durch die mechanische Belastung des Spacers und durch PMMA-Partikel-Depositionen eine entzündliche Infiltration aufweist, welche nicht, bzw. nicht nur bakteriell induziert ist.

### **PMMA-Spacer-Partikel**

In 64 Fällen (58%) bestand ein PMMA-Nachweis mit zusätzlichem Nachweis von PMMA-Zusatzstoffen (Zirkondioxid). Diese PMMA-Depositionen waren überwiegend als extrazelluläre Depositionen, mehrheitlich in Form von herausgelösten, vakuolenartigen Strukturen nachweisbar (Abbildung 1).

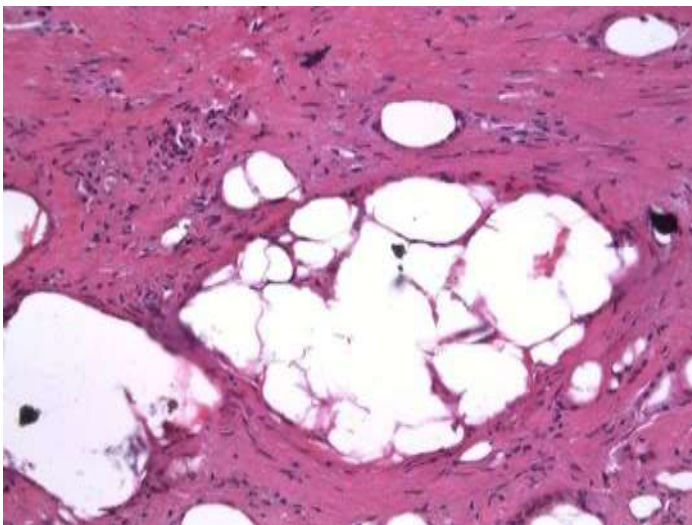


Abbildung 1: PMMA-Zirkondioxid-Depositionen: (Geschlecht: weiblich, Lokalisation: Knie) Mikrobiologischer Befund: Negativ. HE-Färbung, Original-Vergrößerung: etwa 250x [Liewen, C., 2020].

Die PMMA-Residuen in den Vakuolen und in den Zytoplasmen der Makrophagen waren durch eine schwache Ölrot-Positivität in irregulären vakuolen Binnenstrukturen gekennzeichnet (Abbildung 2).

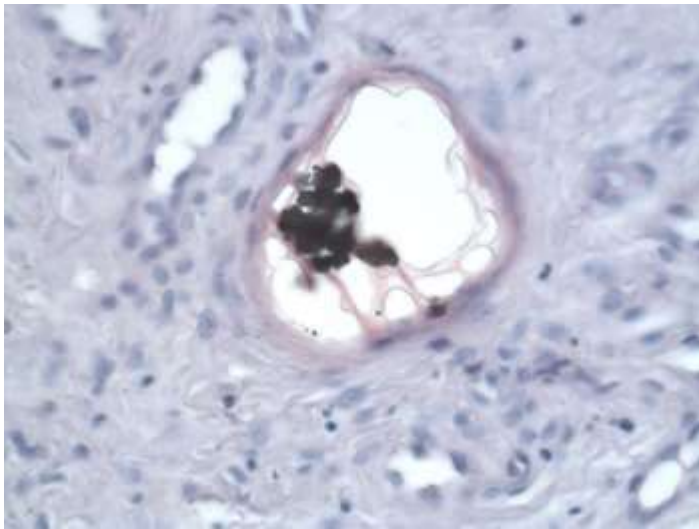


Abbildung 2: PMMA-Zirkondioxid-Depositionen: (Geschlecht: weiblich, Lokalisation: Knie) Mikrobiologischer Befund: Negativ. Ölrot-Färbung, Original-Vergrößerung: etwa 500x [Liewen, C., 2020].

Der Nachweis war in sämtlichen Fällen fokal, wobei die Lokalisation von PMMA bevorzugt in den oberflächlichen Gewebeabschnitten und in fibrininsudierten Gewebepartikel nachweisbar war. In der semiquantitativen Bewertung lagen in den PMMA positiven Fällen 47 Fälle mit geringen und 17 Fälle mit hochgradigen PMMA-Depositionen vor. Die Zirkondioxiddepositionen stellten sich als dunkle, granuläre, schwarzfarbige Partikelaggregate mit Lokalisation in den Zentren der PMMA-Vakuolen und auch in PMMA-Vakuolen mit randständiger Lage dar. Abriebpartikeldepositionen im Sinne von Polyethylen (PE), Metall und Keramikpartikel als Residuen der zuvor implantierten Gelenkendoprothese, waren nur fokal und in einzelnen Fällen (weniger als 10%) nachweisbar. Da die PMMA-Partikel in den oberflächlichen, fibrösen Gewebeabschnitten und nicht im ossären Gewebe integriert nachweisbar waren, sind diese als Bestandteile des PMMA-Spacers und nicht als mögliche Bestandteile einer zementierten Primärprothese zu bewerten. Es konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen mikrobiologischen Erregernachweis und Präsenz von antibiotikahaltigen PMMA-Partikeln im Gewebe gezeigt werden. Dies kann dahingehend interpretiert werden, dass die durch Antibiotika herbeigeführte bakterielle Infekteradikation nicht über intrasynoviale PMMA-

Partikel, sondern über die direkte Antibiotikadiffusion aus dem Spacer oder aber auch durch submikroskopische PMMA-Partikel in das Synovialgewebe erfolgt.

### Rate der Infekteradikation basierend auf den mikrobiologischen Befunden

Die Rate der Infekteradikation in 112 Fällen aus 27 unterschiedlichen Kliniken betrug 75%. Einschränkend ist festzuhalten, dass hier die Definition einer Eradikation ausschließlich auf Basis des mikrobiologischen und des klinischen Befundes und dies nach sehr kurzem Zeitintervall, nach Spacer-Explantation erfolgte, was naturgemäß eine Einschränkung der Aussagekraft bedeuten kann (Abbildung 3).

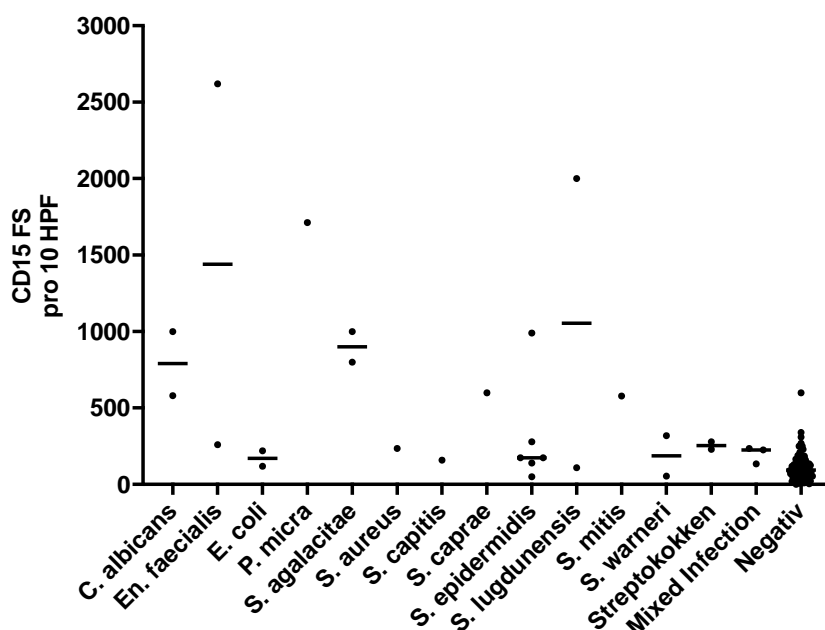


Abbildung 3: Streudiagramm für die einzelnen mikrobiologischen Erreger bei zehnfacher CD15 Focus-Score Quantifizierung (10 Foci). Dargestellt ist der Median als Lageparameter (horizontale Linie). En = Enterococcus; E = Escherichia; P = Parvimonas; C = Candida; S = Staphylococcus [Liewen, C., 2020].

### CD15 Focus-Score (in 1-facher und 10-facher Anwendung)

Nach explorativer Sichtung der Daten wurden zwei Fälle als Extremwerte identifiziert und dem Kollektiv ausgeschlossen. Damit ist gewährleistet, dass die vorhandene Stichprobe eine durchschnittliche Grundgesamtheit widerspiegelt und die statistischen Testverfahren nicht verzerrt werden.

Die vorliegenden Daten weisen nach Prüfung des Shapiro-Wilk-Tests für 10 Foci für einen positiven,  $W(28) = .72$ ,  $p < .001$ , und negativen Befund,  $W(84) = .84$ ,  $p < .001$ ,

sowie bei einem Focus für einen positiven,  $W(28) = .70$ ,  $p < .001$ , und negativen Befund,  $W(84) = .67$ ,  $p < .001$ , keine Normalverteilung auf. Ebenso wurde überprüft, ob sich für die Lokalisation (Knie oder Hüfte) bezüglich des mikrobiologischen Nachweises (positiv oder negativ) eine Normalverteilung ergibt. Für die Lokalisation ‚Hüfte‘ ergab sich für 10 HPF bei positivem,  $W(18) = .73$ ,  $p < .001$ , und bei negativem Befund,  $W(38) = .78$ ,  $p < .001$ , keine Normalverteilung. Für die Lokalisation ‚Knie‘ zeigte sich für 10 HPF bei positivem Befund,  $W(10) = .73$ ,  $p < .01$ , keine Normalverteilung, jedoch für einen negativen Nachweis,  $W(44) = .95$ ,  $p > .05$ . Weiterhin zeigte sich für die Lokalisation ‚Hüfte‘ bei 1 HPF bei positivem,  $W(18) = .76$ ,  $p < .001$ , und bei negativem Befund,  $W(38) = .88$ ,  $p = .001$ , keine Normalverteilung. In der Lokalisation ‚Knie‘ ergab sich für 1 HPF bei positivem,  $W(10) = .56$ ,  $p < .001$ , und negativem Nachweis,  $W(44) = .62$ ,  $p < .001$ , keine Normalverteilung. Daher wird der Mann-Whitney-U-Test mit exakter Stichprobenverteilung von U zur Überprüfung der Fragestellung angewandt [Dinneen & Blakesley, 1973]. Als Bedingung müssen die Daten für beide Gruppen (mikrobiologischer Befund) eine annähernd gleiche Verteilung aufweisen. Diese Voraussetzung wurde nach Standardisierung der abhängigen Variable mittels Kolmogorov-Smirnov-Test überprüft und ergab eine ähnliche Verteilungsform beider Gruppen für 10 HPF,  $p = .19$ , sowie für 1 HPF,  $p = .15$ . Weiterhin wurde diese Voraussetzung für die Lokalisation in Abhängigkeit des jeweiligen HPF für den mikrobiologischen Nachweis überprüft. Die Lokalisation ‚Hüfte‘ wies eine ähnliche Verteilung für beide Gruppen bei 10 HPF,  $p = .34$ , und bei 1 HPF,  $p = .45$ , auf. Bei ‚Knie‘ zeigte sich ebenfalls eine homogene Verteilungsform für beide Gruppen bei 10 HPF,  $p = .60$ , und bei 1 HPF,  $p = .87$ . Für die Fragestellung, ob sich der CD15 Focus-Score pro 10 HPF für den mikrobiologischen Nachweis unterscheidet, zeigte sich ein signifikanter Unterschied der Mediane für positive Fälle (Mdn = 248) und negative Fälle (Mdn = 95),  $U = 353.50$ ,  $Z = -5.528$ ,  $p < .001$ ,  $r = -.522$ . Mit 1 HPF ließ sich dieser Unterschied auch für positive Fälle (Mdn = 55) und für negative Fälle (Mdn = 26.5) zeigen,  $U = 475.50$ ,  $Z = -4.708$ ,  $p < .001$ ,  $r = -.445$ . Weiter wurde geprüft, ob für die Lokalisation ‚Hüfte‘ ein Effekt für den mikrobiologischen Nachweis vorliegt. Auch hier stellte sich ein Unterschied der Mediane pro 10 HPF für positive Fälle (Mdn = 247.5) und negative Fälle (Mdn = 95),  $U = 115.00$ ,  $Z = -3.983$ ,  $p < .001$ ,  $r = -.532$ , ein. Dieser Effekt lässt sich auch für die Mediane pro 1 HPF für positive Fälle (Mdn = 55) und negative Fälle (Mdn = 31),  $U = 871.00$ ,  $Z = -3.722$ ,  $p < .001$ ,  $r = -.497$ , nachweisen. Analog ist nach bedeutsamen Unterschieden für die Lokalisation ‚Knie‘ geschaut worden. Es konnte ein Unterschied der Mediane pro 10 HPF für positive Fälle (Mdn = 258) und



negative Fälle (Mdn = 107),  $U = 60.50$ ,  $Z = -3.552$ ,  $p < .001$ ,  $r = -.483$ , gezeigt werden. Für 1 HPF zeigte sich ebenfalls ein Unterschied der Mediane für positive Fälle (Mdn = 60) und negative Fälle (Mdn = 23),  $U = 106.50$ ,  $Z = -2.529$ ,  $p < .001$ ,  $r = -.344$ .

Zusätzlich ist überprüft worden, ob sich in Abhängigkeit der Lokalisation (Hüfte oder Knie) Unterschiede bei positivem Nachweis zeigen. Die Daten weisen auch hier keine Normalverteilung für 10 HPF,  $W(28) = .72$ ,  $p < .001$ , sowie für 1 HPF,  $W(28) = .70$ ,  $p < .001$ , auf (Shapiro-Wilk-Test). Der Kolmogorov-Smirnov-Test wurde für 1 HPF,  $p < .05$ , jedoch nicht für 10 HPF,  $p = .56$ , signifikant. Wie zuvor, lässt dies eine Interpretation der Mediane für 10 HPF zu. Die Verteilung für 1 HPF unterscheidet sich in Abhängigkeit der Lokalisation voneinander, wonach nur Aussagen über die durchschnittlichen Ränge getroffen werden können. Mittels Mann-Whitney-U-Test konnte kein signifikanter Unterschied bei 10 HPF und der Lokalisation Hüfte (Mdn = 247.5) und Knie (Mdn = 258) gezeigt werden,  $U = 80.00$ ,  $Z = -0.480$ ,  $p = .65$ . Ein Unterschied mit 1 HPF und der Lokalisation ‚Hüfte‘ ( $M_{\text{Rang}} = 13.06$ ) und ‚Knie‘ ( $M_{\text{Rang}} = 17.10$ ) fiel gleichermaßen nicht signifikant aus,  $U = 64.00$ ,  $Z = -1.247$ ,  $p = .22$ .

Hinsichtlich der Cut-off Werte bei der Anwendung von einem Focus ergaben die Werte 36 und 42 die identischen Summenwerte aus Sensitivität und Spezifität. Da das Identifizieren von gesunden Patienten/Innen (Infekteradikation) im Fokus steht, wurde der Cut-off von 42 (Sensitivität = 0.64, Spezifität = 0.79) dem Cut-off von 36 (Sensitivität = 0.75, Spezifität = 0.68) als klinisch überlegener eingestuft (Tabelle 1, Abbildung 4, Abbildung 5).

Positiver/negativer Befund	Lokalisation		<i>n</i>	Min	Max	<i>M</i>	<i>SD</i>
Positiv	Knie	Granulozytenquantifikation pro 1 HPF	10	12	551	104.9	160.2
		Granulozytenquantifikation pro 10 HPF	10	55	1712	452.1	494.7
	Hüfte	Granulozytenquantifikation pro 1 HPF	18	19	686	205.0	235.2
		Granulozytenquantifikation pro 10 HPF	18	50	2620	598.1	707.4
Negativ	Knie	Granulozytenquantifikation pro 1 HPF	44	1	225	34.0	42.0
		Granulozytenquantifikation pro 10 HPF	44	1	310	107.5	71.8
	Hüfte	Granulozytenquantifikation pro 1 HPF	38	4	95	31.4	21.8
		Granulozytenquantifikation pro 10 HPF	38	7	600	127.1	108.9
	Schulter	Granulozytenquantifikation pro 1 HPF	1	7	7	7.0	.
		Granulozytenquantifikation pro 10 HPF	1	40	40	40.0	.
	OSG	Granulozytenquantifikation pro 1 HPF	1	1	1	1.0	.
		Granulozytenquantifikation pro 10 HPF	1	4	4	4.0	.

Tabelle 1: Deskriptive Statistik für mikrobiologisch positiven und negativen Befund nach Lokalisation bei 1-facher und 10-facher CD15 Focus-Score Quantifizierung (1 und 10 Foci) [Liewen, C., 2020].

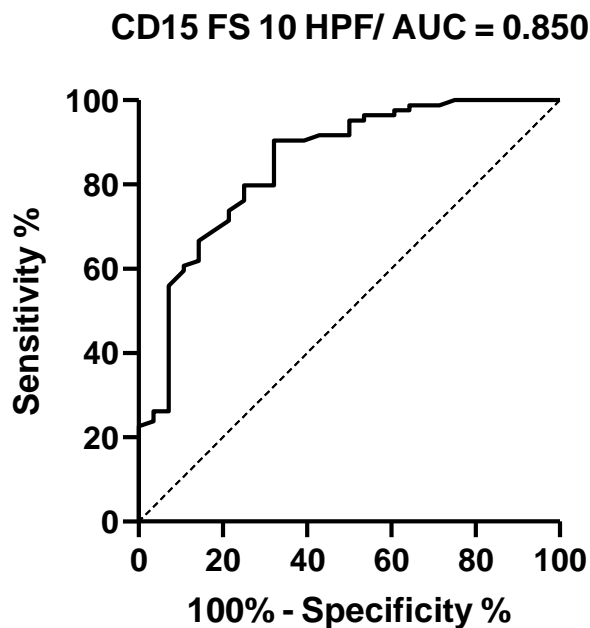


Abbildung 4: ROC-Kurve für mikrobiologisch positiven oder negativen Befund bei zehnfacher CD15 Focus-Score Quantifizierung (10 Foci) [Liewen, C., 2020].

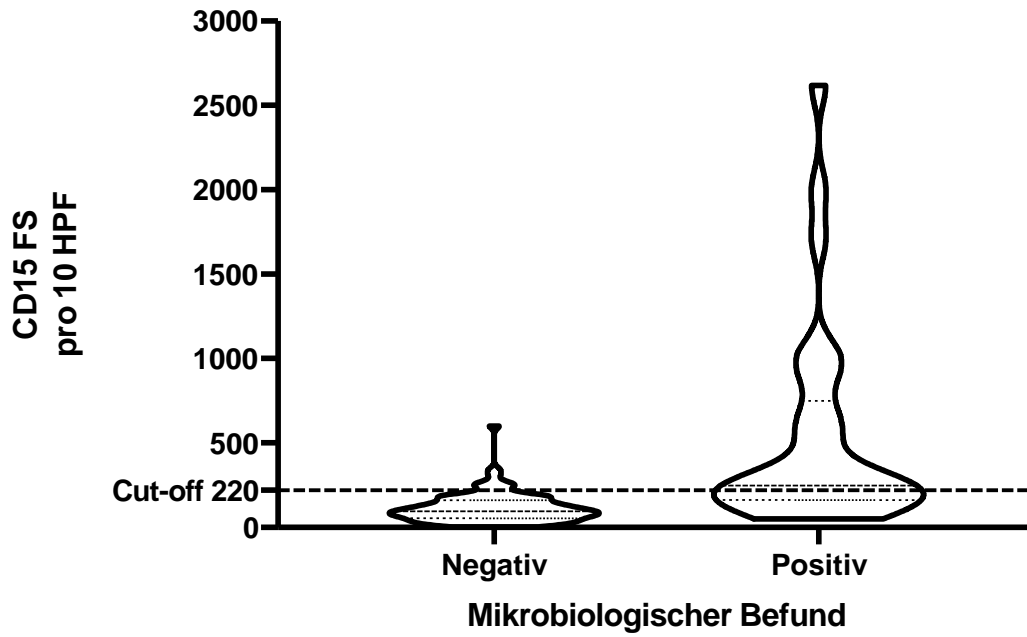


Abbildung 5: Violin-Plot für mikrobiologisch positiven und negativen Befunden bei 10-facher CD15 Focus-Score Quantifizierung (10 Foci) [Liewen, C., 2020].

## 4 Diskussion

Um einen möglichen Einfluss der Präsenz von intrageweblichen, antibiotikahaltigen PMMA-Spacerpartikeln auf die Infekteradikation zu untersuchen, wurde überprüft, ob sich Unterschiede für den mikrobiologischen Nachweis von Bakterien in Bezug zu dem intrageweblichen PMMA-Partikelnachweis zeigen. Da eine genaue Quantifizierung der zugegebenen Antibiotikakonzentration durch den Modus der Datenerhebung nicht möglich war, kann ausschließlich zwischen vorhandenen und nicht vorhandenen PMMA-Partikeln unterschieden werden. Statistisch erfolgte ein Chi-Quadrat Test. Die Bedingung, nach der die erwartete Häufigkeit jeder Zelle nicht kleiner fünf sein darf, wurde erfüllt. Es konnte jedoch kein signifikanter Zusammenhang zwischen einem mikrobiologischen Erregernachweis und einer Präsenz von PMMA-Partikeln im Perispacergewebe gezeigt werden,  $\chi^2(1) = 0.78$ ,  $p = 0.378$ .

### Vorschlag einer Klassifikation

#### Infekteradikation Typ 9A und Infektpersistenz Typ 9B

Vorgeschlagen wird auf Basis der Konsensus-Klassifikation [Krenn, V., 2014] die Bezeichnung einer SLIM-Klassifikation vom Perispacer Typ 9 ohne histopathologische Zeichen einer bakteriellen Infektion, Infekteradikation: Typ 9A und mit histopathologischen Zeichen einer bakteriellen Infektion, Infektpersistenz: Typ 9B (Abbildungen 6, 7 und 8).



Abbildung 6: Infekteradikation, Typ 9A: CD15 Focus-Score 1x = 25, 10x = 108. Mikrobiologischer Befund: Negativ (Geschlecht: männlich, Lokalisation: Knie) CD15 Immunhistochemie, Original-Vergrößerung: etwa 125x [Liewen, C., 2020].



Abbildung 7: Infektpersistenz, Typ 9B: CD15 Focus-Score 1x = 350, 10x = 600. Mikrobiologischer Befund: Staphylococcus caprae (Geschlecht: weiblich, Lokalisation: Hüfte) CD15 Immunhistochemie, Original-Vergrößerung: etwa 125x [Liewen, C., 2020].

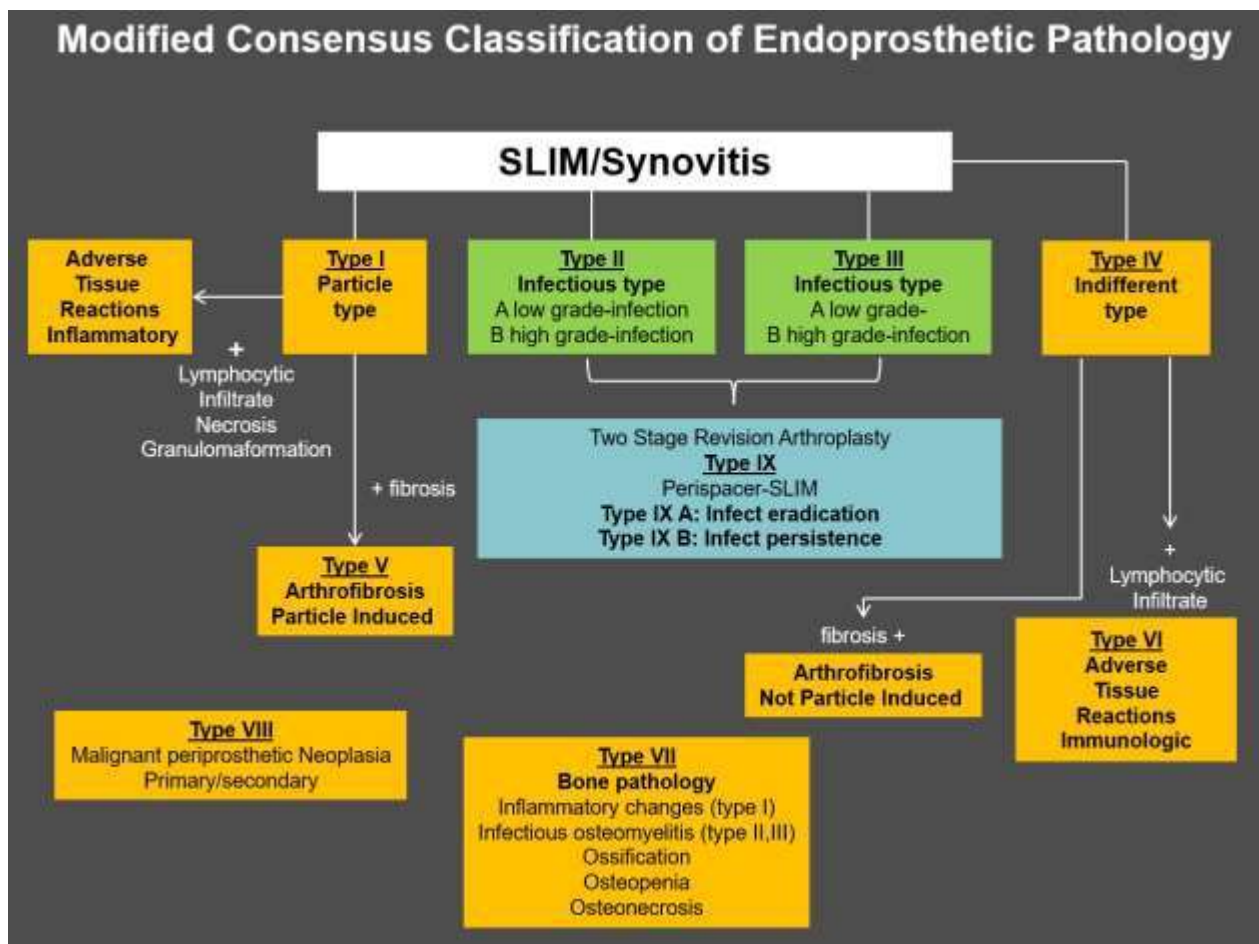


Abbildung 8: Grafische Darstellung der SLIM-Klassifikation, einschließlich der Erweiterung Typ 9A: Infekteradikation und Typ 9B Infektpersistenz [Liewen, C., 2020].

Im histopathologischen Befund sollte auch der Wert der Granulozyten-Quantifikation, speziell auch des CD15 Focus-Score angegeben werden, um eine quantifizierte und

somit objektivere Aussage im Hinblick auf den Wahrscheinlichkeitsgrad der histopathologischen Infektionsdiagnostik zu geben. Selbstverständlich ist der mikrobiologische Befund der obligate und letztendlich therapieentscheidende Befund, da durch die Definition der Spezies und Bestimmung der Antibiotikasensitivität die Rationale für das therapeutische und medikamentöse Handeln festgelegt wird.

Diese formelhafte Darstellung soll die histopathologische Befundinterpretation erleichtern und einen direkten Beitrag zur Infektionsdiagnostik im differenzialdiagnostischen Kontext ermöglichen.

Die Einbindung der mikrobiologischen, laborchemischen und klinischen Befunde stellt einen obligaten Bestandteil für die endgültige Diagnostik der Infekteradikation bzw. Infektpersistenz beim zweizeitigen Wechsel von Gelenkendoprothesen dar [Aalirezaie, A., 2019]. Bei unklarer und widersprüchlicher Datenlage kann ein standardisierter und durch definierte Kriterien erstellter histologischer Befund eine zusätzliche wichtige Hilfestellung geben. Für eine standardisierte und reproduzierbare Klassifikation wird auf Basis der Befunde eine Klassifikation vorgeschlagen, welche durch eine einfache Typisierungsbezeichnung zur Klarheit des histopathologisch Befundes beitragen soll, um damit eine Rationale für Folgetherapien zu ermöglichen.

## 5 Literaturverzeichnis

### 5.1 Literaturverzeichnis

AALIREZAIE, A.: Hip and Knee Section, Diagnosis, Reimplantation: Proceedings of International Consensus on Orthopedic Infections. *J Arthroplasty*. 2019 Feb;34(2S):S369-S379. doi: 10.1016/j.arth.2018.09.021. Epub 2018 Oct 19. No abstract available.

AKGÜN, D.: High cure rate of periprosthetic hip joint infection with multidisciplinary team approach using standardized two-stage exchange. *J Orthop Surg Res*. 2019 Mar 13;14(1):78. doi: 10.1186/s13018-019-1122-0.PMID:30866970.

ATHANASOU, NA.: Diagnosis of infection by frozen section during revision arthroplasty. *J Bone Joint Surg Br*. 1995; 77:28–33.

BAUER, TW.: Diagnosis of periprosthetic infection. *J Bone Joint Surg Am*. 2006;88:869–882. doi: 10.2106/JBJS.E.01149.

BAUER, TW.: Hip and Knee Section, Diagnosis, Laboratory Tests: Proceedings of International Consensus on Orthopedic Infections. *J Arthroplasty*. 2019 Feb;34(2S):S351-S359. doi: 10.1016/j.arth.2018.09.019. Epub 2018 Oct 19. No abstract available. PMID: 30343973.

BORI, G.: Usefulness of histological analysis for predicting the presence of microorganisms at the time of reimplantation after hip resection arthroplasty for the treatment of infection. *J Bone Joint Surg Am*. 2007; 89:1232–1237. doi: 10.2106/JBJS.F.00741.

CLAES, L., KIRSCHNER S., PERKA C., RUDERT M., 2012. *AE-Manual der Endoprothetik – Hüfte und Hüftrevision*, 2.

DELLA VALLE, CJ.: Analysis of Frozen Sections of Intraoperative Specimens Obtained at the Time of Reoperation After Hip or Knee Resection Arthroplasty for the Treatment of Infection, *J Bone Joint Surg Am*. 1999 May;81(5):684-9. doi: 10.2106/00004623-199905000-00009.

DIECKMANN, R.: Two-stage hip revision arthroplasty with a hexagonal modular cementless stem in cases of periprosthetic infection. *BMC Musculoskelet Disord.* 2014 Nov 26;15:398. doi: 10.1186/1471-2474-15-398.PMID:25428415.

ETHGEN, O.: Health-related quality of life in total hip and total knee arthroplasty. A qualitative and systematic review of the literature. *J. Bone Joint Surg. Am.* 86-A, 963–974.

FLETCHER, C. DM.: *WHO Classification of Tumours of Soft Tissue and Bone.* Fourth Edition. 2013 ISBN-13 9789283224341.

GEORGE, J.: Are Frozen Sections and MSIS Criteria Reliable at the Time of Reimplantation of Two-stage Revision Arthroplasty? *Clin Orthop Relat Res.* 2016 Jul;474(7):1619-26. doi: 10.1007/s11999-015-4673-3.PMID:26689583.

GEORGE, J.: Diagnostic Utility of Histological Analysis for Detecting Ongoing Infection During Two-Stage Revision Arthroplasty in Patients with Inflammatory Arthritis. *J Arthroplasty.* 2018 Jul;33(7S):S219-S223. doi: 10.1016/j.arth.2017.12.021. Epub 2017 Dec 29.PMID:2935269.

GONTAREWICZ, A.: Morphological study of synovial changes in two-stage reconstructions of the infected hip and knee arthroplasties.*BMJ Open.* 2012 Aug 13;2(4). pii: e001467. doi: 10.1136/bmjopen-2012-001467. Print 2012.PMID:22893669.

HAENLE, M., C. Skripitz, W. Mittelmeier and R. Skripitz (2012). Economic impact of infected total knee arthroplasty. *ScientificWorldJournal*2012: 196515.

HANSEN, T.: New aspects in the histological examination of polyethylene wear particles in failed total joint replacements. *Acta Histochem.* 104, 263–269.

HOELL, S.: Eradication rates, risk factors, and implant selection in two-stage revision knee arthroplasty: a mid-term follow-up study.*J Orthop Surg Res.* 2016 Aug 26;11(1):93. doi: 10.1186/s13018-016-0428-4.PMID: 27562546.



IZAKOVICOVA, P.: Periprosthetic joint infection: current concepts and outlook. EFORT Open Rev. 2019 Jul 29;4(7):482-494. doi: 10.1302/2058-5241.4.180092. eCollection 2019 Jul. Review. PMID:31423332.

KRENN, VT,: CD15 focus score: Infection diagnosis and stratification into low-virulence and high-virulence microbial pathogens in periprosthetic joint infection. Pathol Res Pract. 2017 May;213(5):541-547. doi: 10.1016/j.prp.2017.01.002. Epub 2017 Jan 12. PMID28343870.

KRENN, V., Rüter W, 2012, Pathologie des Bewegungsapparates, 2. Auflage.

KRENN, V.: Revised histopathological consensus classification of joint implant related pathology. Pathol Res Pract. 2014 Dec;210(12):779-86. doi: 10.1016/j.prp.2014.09.017. Epub 2014 Oct 17. Review. PMID:25454771.

LI, C.: Twenty common errors in the diagnosis and treatment of periprosthetic joint infection. Int Orthop. 2020 Jan;44(1):3-14. doi: 10.1007/s00264-019-04426-7. Epub 2019 Oct 22. Review. Erratum in: Int Orthop. 2019 Dec 10. PMID:31641803.

LIEWEN, C. Krenn V.T., Arens, N., Dierkes, C., Krenn, V. Gelenktumore: Seltene, aber wichtige Differenzialdiagnosen von malignen und benignen Tumoren sowie Pseudotumoren in der Rheumatologie, Z. Rheumatol, doi: 10.1007/s00393-020-00936-7, 2020.

LIEWEN, C., Krenn, V.T., Dieckmann, R., Bause, L., Liebisch, M., Niemeier, A., Trampuz, A., Krenn, V. High specificity for histopathological eradication of infection in two-stage revision arthroplasty of periprosthetic joint infections. Z Rheumatol doi: 10.1007/s00393-020-00941-w. 2020.

MATTHEWS, PC., Berendt, AR., McNally M.A, Byren I.: (2009) CLINICAL REVIEW- Diagnosis and management of prosthetic joint infection. BMJ 338(7707):1378. (CR)-Print.

MORAWIETZ, L.: Twenty-three neutrophil granulocytes in 10 high-power fields is the best histopathological threshold to differentiate between aseptic and septic endoprosthesis loosening. *Histopathology*. 2009 Jun;54(7):847-53. doi: 10.1111/j.1365-2559.2009.03313.x.PMID:19635104.

MILITZ, M., Hackl, S., Morgenstern, M., Hungerer, S.: Spacer in septic revision arthroplasty. Indication, technique, results. *OUP* 2015; 10: 474–479 DOI 10.3238/oup.2015.0474–0479.

PARVIZI, J.: New definition for periprosthetic joint infection: from the Workgroup of the Musculoskeletal Infection Society. *Clin Orthop Relat Res*. 2011;469:2992–2994. doi: 10.1007/s11999-011-2102-9.

PARVIZI, J.: The 2018 Definition of Periprosthetic Hip and Knee Infection: An Evidence-Based and Validated Criteria. *J Arthroplasty*. 2018 May;33(5):1309-1314.e2. doi: 10.1016/j.arth.2018.02.078. Epub 2018 Feb 26.PMID:2955130.

PERINO, G.: Diagnostic guidelines for the histological particle algorithm in the periprosthetic neo-synovial tissue. *BMC Clin Pathol*. 2018 Aug 25;18:7. doi: 10.1186/s12907-018-0074-3. eCollection 2018.PMID: 30158837.

STATISTISCHES BUNDESAMT, 2019. Die 20 häufigsten Operationen insgesamt (OPS5) [online]  
<https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft/Umwelt/Gesundheit/Krankenhaeuser/Tabellen/drg-operationen-insgesamt.html>.

THEERMANN R., Ohlmeier M., Hartwig C.H., Wolff, M., Veit Krenn, Liewen C., Ci-tak, M., Gerhke, T., Lipoma arborescens – Differenzialdiagnose bei Gelenkschwellung: Falldarstellung und Literaturübersicht. *Z Orthop Unfall* 2020; 158: 618-624, doi: 10.1055/a-0997-6959, 2020.

TRAMPUZ, A.: Infections associated with orthopedic implants. *Curr Opin Infect Dis*. 2006 Aug;19(4):349-56. Review.PMID:16804382.

TRIANTAFYLLOPOULOS, GK.: Periprosthetic Infection Recurrence After 2-Stage Exchange Arthroplasty: Failure or Fate? J Arthroplasty. 2017 Feb;32(2):526-531. doi: 10.1016/j.arth.2016.08.002. Epub 2016 Aug 24.

TSARAS, G.: Utility of intraoperative frozen section histopathology in the diagnosis of periprosthetic joint infection: a systematic review and meta-analysis. J Bone Joint Surg Am. 2012;94:1700–1711. doi: 10.2106/JBJS.J.00756.

WINKLER, T., A. Trampuz, S. Hardt, V. Janz, C. Kleber and C. Perka (2014). Periprosthetic infection after hip arthroplasty, Orthopade43(1): 70-78.

YOUSSEF, B., Pavlou G, Tsiridis E: International Consensus Meeting on periprosthetic joint infection, Philadelphia 2013.

ZMISTOWSKI, B.: Diagnosis of periprosthetic joint infection. J Orthop Res. 2014 Jan; 32 Suppl 1:S98-107. doi: 10.1002/jor.22553. No abstract available. PMID:24464903.

## 5.2 Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

Tabelle 1: Deskriptive Statistik für mikrobiologisch positiven und negativen Befund nach Lokalisation bei 1-facher und 10-facher CD15 Focus-Score Quantifizierung (1 und 10 Foci) S. 21, [Liewen, C., 2020,].

Abb. 1: PMMA-Zirkondioxid-Depositionen: (Geschlecht: weiblich, Lokalisation: Knie) Mikrobiologischer Befund: Negativ. HE-Färbung, Original-Vergrößerung: etwa 250x, S. 16, [Liewen, C., 2020,].

Abb. 2: PMMA-Zirkondioxid-Depositionen: (Geschlecht: weiblich, Lokalisation: Knie) Mikrobiologischer Befund: Negativ. Ölrot-Färbung, Original-Vergrößerung: etwa 500x, S. 17, [Liewen, C., 2020,].

Abb. 3: Streudiagramm für die einzelnen mikrobiologischen Erreger bei zehnfacher CD15 Focus-Score Quantifizierung (10 Foci). Dargestellt ist der Median als Lageparameter (horizontale Linie). En = Enterococcus; E = Escherichia; P = Parvimonas; C = Candida; S = Staphylococcus, S. 18, [Liewen, C., 2020,].

Abb. 4: ROC-Kurve für mikrobiologisch positiven oder negativen Befund bei zehnfacher CD15 Focus-Score Quantifizierung (10 Foci), S. 21, [Liewen, C., 2020,].

Abb. 5: Violin-Plot für mikrobiologisch positiven und negativen Befunden bei 10-facher CD15 Focus-Score Quantifizierung (10 Foci), S. 22, [Liewen, C., 2020,].

Abb. 6: Infekteradikation, Typ 9A: CD15 Focus-Score 1x = 25, 10x = 108. Mikrobiologischer Befund: Negativ (Geschlecht: männlich, Lokalisation: Knie) CD15 Immunhistochemie, Original-Vergrößerung: etwa 125x, S. 23, [Liewen, C., 2020,].

Abb. 7: Infektpersistenz, Typ 9B: CD15 Focus-Score 1x = 350, 10x = 600. Mikrobiologischer Befund: Staphylococcus caprae (Geschlecht: weiblich, Lokalisation: Hüfte) CD15 Immunhistochemie, Original-Vergrößerung: etwa 125x, S. 24, [Liewen, C., 2020,].

Abb. 8: Grafische Darstellung der SLIM-Klassifikation, einschließlich der Erweiterung Typ 9A: Infekteradikation und Typ 9B Infektpersistenz, S. 24, [Liewen, C., 2020,].

## **I. Eidesstattliche Versicherung / Anteilserklärung**

### **Eidesstattliche Versicherung**

„Ich, Caroline Liewen, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: Histopathologische Infektdiagnostik der Infekt-Persistenz bei Gelenkprothesen Spacer-Implantationen; High specificity for histopathological eradication of infection in two-stage revision arthroplasty of periprosthetic joint infections 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/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/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](http://www.icmje.org)) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

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**

Caroline Liewen hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

### **Publikation 1:**

THEERMANN R., Ohlmeier M., Hartwig C.H., Wolff, M., Veit Krenn, **Liewen C.**, Citak, M., Gerhke, T., Lipoma arborescens – Differenzialdiagnose bei Gelenkschwellung: Falldarstellung und Literaturübersicht. Z Orthop Unfall 2020; 158: 618-624, doi: 10.1055/a-0997-6959, 2020.

### **Beitrag im Einzelnen:**

- Histopathologische Aufarbeitung des untersuchten Gewebes.
- Mitwirken bei der Färbung der Schnittpräparate.
- Auswertung der Schnittpräparate.
- Mitwirkung bei der Erstellung der Textkörper: Zuschnittmodalitäten, Gewebeaufarbeitung und HE-Färbung und Diagnostik (Vergleiche S. 620).
- Histopathologische Fotografie (siehe Abbildung 2, S.621).

### **Publikation 2:**

**LIEWEN, C.** Krenn V.T., Arens, N., Dierkes, C., Krenn, V. Gelenktumore: Seltene, aber wichtige Differenzialdiagnosen von malignen und benignen Tumoren sowie Pseudotumoren in der Rheumatologie, Z. Rheumatol, doi: 10.1007/s00393-020-00936-7, 2020.

### **Beitrag im Einzelnen:**

- Histopathologische Aufarbeitung des untersuchten Gewebes.
- Mitwirken bei der Färbung der Schnittpräparate.
- Auswertung der HE- und Immunhistochemischen Schnittpräparate.
- Erstellung der Textkörper: Synoviale und periartikuläre Hämangiome, Synoviale und periartikuläre Lipome, Synoviale Chondromatose, Sehnenscheidenfibrom.
- Erstellung von Textpassagen, besonders bei Solitärer fibröser Tumor, Sehnenscheidenfibrom, Osteokartilaginäre Exostose und Ganglion.
- Mitgestaltung des Artikels.
- Literaturrecherche sowie Zusammenstellung des Literaturverzeichnisses.
- Histopathologische Fotografie (siehe Abbildung 3b, 3c, 3d, 4a und 4b).

### **Publikation 3:**

**LIEWEN, C.**, Krenn, V.T., Dieckmann, R., Bause, L., Liebisch, M., Niemeier, A., Trampuz, A., Krenn, V. High specificity for histopathological eradication of infection in two-stage revision arthroplasty of periprosthetic joint infections. Z Rheumatol doi: 10.1007/s00393-020-00941-w. 2020.

### **Beitrag im Einzelnen:**

- Histopathologische Aufarbeitung des untersuchten Gewebes.
- Mitwirken bei der Färbung der Schnittpräparate.
- Mikroskopische Auswertung und Interpretation der HE- und Immunhistochemischen Schnittpräparate.
- Erheben, Zusammentragen und Interpretation der Daten.
- Auswertung und Korrelation der histopathologischen sowie der mikrobiologischen Daten.
- Ausarbeitung und Gestaltung des Textkörpers für die Publikation sowie Revision und Umsetzung der Reviewer-Kommentare.
- Anfertigung der histopathologischen Fotografien (siehe Abbildung 1 - 8, S.16, 17, 18, 21, 22, 23 und 24).
- Anfertigung der Tabelle (siehe Seite 21).
- Erweiterung der grafischen Darstellung der SLIM-Klassifikation in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. med. V. Krenn (siehe Abbildung 8 Seite 24).
- Literaturrecherche sowie Zusammenstellung des Literaturverzeichnisses.
- Erstellung eines Posters.

---

Unterschrift, Datum und Stempel des/der erstbetreuenden Hochschullehrers/in

---

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin



## **II. Druckexemplare der ausgewählten Publikationen**

### **Publikation 1:**

THEERMANN R., Ohlmeier M., Hartwig C.H., Wolff, M., Veit Krenn, Liewen C., Ci-tak, M., Gerhke, T., Lipoma arborescens – Differenzialdiagnose bei Gelenkschwellung: Falldarstellung und Literaturübersicht. Z Orthop Unfall 2020; 158: 618-624, doi: 10.1055/a-0997-6959, 2020.

### **Publikation 2:**

LIEWEN, C. Krenn V.T., Arens, N., Dierkes, C., Krenn, V. Gelenktumore: Seltene, aber wichtige Differenzialdiagnosen von malignen und benignen Tumoren sowie Pseudotumoren in der Rheumatologie, Z. Rheumatol, doi: 10.1007/s00393-020-00936-7, 2020.

### **Publikation 3:**

LIEWEN, C., Krenn, V.T., Dieckmann, R., Bause, L., Liebisch, M., Niemeier, A., Trampuz, A., Krenn, V. High specificity for histopathological eradication of infection in two-stage revision arthroplasty of periprosthetic joint infections. Z Rheumatol doi: 10.1007/s00393-020-00941-w. 2020.

### **III. Lebenslauf**

#### **IV. Publikationsliste**

##### **Publikation 1:**

THEERMANN R., Ohlmeier M., Hartwig C.H., Wolff, M., Veit Krenn, Liewen C., Ci-tak, M., Gerhke, T., Lipoma arborescens – Differenzialdiagnose bei Gelenkschwellung: Falldarstellung und Literaturübersicht. Z Orthop Unfall 2020; 158: 618-624, doi: 10.1055/a-0997-6959, 2020.

##### **Publikation 2:**

LIEWEN, C. Krenn V.T., Arens, N., Dierkes, C., Krenn, V. Gelenktumore: Seltene, aber wichtige Differenzialdiagnosen von malignen und benignen Tumoren sowie Pseudotumoren in der Rheumatologie, Z. Rheumatol, doi: 10.1007/s00393-020-00936-7, 2020.

##### **Publikation 3:**

LIEWEN, C., Krenn, V.T., Dieckmann, R., Bause, L., Liebisch, M., Niemeier, A., Trampuz, A., Krenn, V. High specificity for histopathological eradication of infection in two-stage revision arthroplasty of periprosthetic joint infections. Z Rheumatol doi: 10.1007/s00393-020-00941-w. 2020.

### **Publikation 1**

THEERMANN R., Ohlmeier M., Hartwig C.H., Wolff, M., Veit Krenn, Liewen C., Ci-tak, M., Gerhke, T., Lipoma arborescens – Differenzialdiagnose bei Gelenkschwellung: Falldarstellung und Literaturübersicht. Z Orthop Unfall 2020; 158: 618-624,

<https://doi.org/10.1055/a-0997-6959>

## **Publikation 2**

LIEWEN, C. Krenn V.T., Arens, N., Dierkes, C., Krenn, V. Gelenktumore: Seltene, aber wichtige Differenzialdiagnosen von malignen und benignen Tumoren sowie Pseudotumoren in der Rheumatologie, Z. Rheumatol,

<https://doi.org/10.1007/s00393-020-00936-7>

**Publikation 3:**

LIEWEN, C., Krenn, V.T., Dieckmann, R., Bause, L., Liebisch, M., Niemeier, A., Trampuz, A., Krenn, V. High specificity for histopathological eradication of infection in two-stage revision arthroplasty of periprosthetic joint infections. Z Rheumatol

<https://doi.org/10.1007/s00393-020-00941-w>

## V. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denjenigen bedanken, die mich während der Anfertigung dieser Arbeit unterstützt und motiviert haben.

Zuerst gebührt mein Dank Herrn Professor Veit Krenn, der meine Promotionsarbeit betreut hat. Für die hilfreichen Anregungen und die konstruktive Kritik, Sein Engagement, Seinen Rat und Seine Geduld bei der Erstellung dieser Arbeit möchte ich mich herzlich bedanken.

Ein besonderer Dank gilt Frau Simone Giak, ohne die diese Arbeit nicht hätte entstehen können. Mein Dank gilt Ihrer Unterstützung bei der Erstellung und Organisation der Arbeit.

Ebenfalls bedanken möchte ich mich bei Ralf Dieckmann, Ludwig Bause, Martin Liebisch, Andreas Niemeier, Andrej Trampuz, Mike Otto und Thorsten Gehrke für die Übermittlung der histopathologischen Fälle sowie der Bereitstellung der klinischen Daten.

Ich danke auch Herrn Vincent Tilo Krenn für seine Hilfe bei statistischen Auswertungen.

Zuletzt möchte ich mich bei meinen Eltern für Ihre Unterstützung bedanken.