



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

Dissertation

Ein neues Infektmodell an der Ratte

**Zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)**

**Vorgelegt der medizinischen Fakultät der Charité –
Universitätsmedizin Berlin**

von

**Sebastian Sadoni
aus München**

Gutachter:

- 1. Priv. - Doz. Dr. med. G. Schmidmaier**
- 2. Prof. Dr. med. R. Hoffmann**
- 3. Prof. Dr. rer. nat. Dr. med. habil. A. W. Stemberger**

Datum der Promotion: 20.04.2007

I. Einleitung

- 1. Die bakterielle Infektion des Knochens**
 - 1.1 Definition**
 - 1.2 Einteilung einer Osteomyelitis**
 - 1.3 Pathogenese einer Osteomyelitis**
 - 1.4 Klinik und Komplikationen einer Osteomyelitis**

- 2. Erregerspektrum einer Osteomyelitis**

- 3. Die postoperative / posttraumatische Infektion des Knochens**
 - 3.1 Einteilung**
 - 3.2 Erregerspektrum von postoperativer und posttraumatischer Osteomyelitis**
 - 3.3 Infektionswege**
 - 3.4 Inzidenz von Infektionen nach orthopädischen Eingriffen und Traumata**
 - 3.5 Pathophysiologische Vorgänge bei der postoperativen / posttraumatischen Infektion des Knochens**
 - 3.6 Prophylaxe einer Infektion des Knochens bei operativen Eingriffen**
 - 3.7 Therapie der postoperativen / posttraumatischen Osteomyelitis**

- 4. Implantat assoziierte Infektion**
 - 4.1 Entwicklung eines Biofilms auf Implantaten**
 - 4.1.1 Ausbildung eines „conditioning film“**
 - 4.1.2 Annäherung des Organismus an die Implantatoberfläche**
 - 4.1.3 Anheftung und Adhäsion**
 - 4.1.4 Besiedelung der Implantatoberfläche**
 - 4.1.5 Ausbildung eines Biofilmes**

- 5. Gesteigerte Antibiotikaresistenz und verminderte Immunabwehr bei Bakterien in Biofilmen**

- 6. Osteomyelitis im Tiermodell**
 - 6.1 Verwendete Tierarten**
 - 6.2 Verwendete Keimarten und Dosierungen**
 - 6.3 Substanzen und Techniken, die einen Infekt begünstigen**

- 7. Zielsetzung**

II. Material und Methoden

- 1. Erreger**

- 2. Herstellung von Bakteriensuspensionen zu Versuchszwecken**
 - 2.1 Anzüchten und Vermehrung des Erregers**
 - 2.2 Isolierung der Bakterien aus dem Nährmedium**
 - 2.3 Herstellung einer Bakteriensuspension mit definierter Konzentration (Ausgangssuspension I)**
 - 2.4 Herstellung der Bakteriensuspension mit definierter Konzentration zur Inokulation (Ausgangssuspension II / Inokulationssuspension)**

- 3. Quantifizierung und Kontrolle der Keimkonzentrationen in den einzelnen Suspensionen**
 - 3.1 Kontrolle der Suspensionen**
 - 3.2 Quantifizierung der Keimkonzentration in den einzelnen Suspensionen**

- 4. Studiendesign**
 - 4.1 Versuchstiere**
 - 4.2 Versuchsdurchführung und Gruppenteilung**
 - 4.3 Untersuchungen der Tiere über den Versuchszeitraum**
 - 4.3.1 Durchführung der Inhalations- und Injektionsnarkosen**
 - 4.3.2 Gewinnung der Blutproben**
 - 4.3.3 Röntgenuntersuchungen**
 - 4.3.4 Bestimmung von Körpertemperatur und -gewicht**
 - 4.3.5 Inspektion und klinische Untersuchung der Tiere**

- 5. Tötung der Tiere und Probengewinnung**
 - 6. Mikrobiologische Auswertung der gewonnenen Proben**
 - 6.1 Quantifizierung adhärenter Bakterien an der Implantatoberfläche**
 - 6.2 Auswertung der Blutkulturen und Abstriche**
 - 6.3 Keim- und Resistenzbestimmung**
 - 6.3.1 Identifizierung der Erreger**
 - 6.3.2 Resistenzbestimmung**
 - 6.4 Quantifizierung der Bakterien im Knochen**
 - 7. Histologische Auswertung**
 - 7.1 Herstellung und Färbung histologischer Schnitte**
 - 7.2 Histologischer Score**
 - 8. Radiologische Auswertung**
 - 9. Definition eines infizierten Tieres**
 - 10. Berechnung der Sensitivität und Spezifität der einzelnen Methoden**
 - 11. Statistik**
 - 12. Liste der verwendeten Verbrauchsmaterialien**
- III. Ergebnisse**
- 1. Kontrolle der Bakteriendichte in den unterschiedlichen Suspensionen**
 - 1.1 Bakteriendichte der Ausgangssuspensionen I**
 - 1.2 Bakteriendichte der Ausgangssuspension II**
 - 1.3 Keimkonzentrationen in den Inokulationssuspensionen und den Applikationssuspensionen**

- 2. Ausfälle in den Versuchsgruppen**
- 3. Ergebnisse der Verlaufsparemeter**
 - 3.1 Hämoglobin- und Leukozytenwerte im Verlauf**
 - 3.2 Verlauf von Körpertemperatur und –gewicht**
 - 3.3 Klinische Untersuchungsbefunde**
- 4. Ergebnisse der post mortem gewonnenen Daten**
 - 4.1 Pathologische, makroskopische Veränderungen an Knochen und Weichteilmantel**
 - 4.2 Knochengewichte post mortem**
 - 4.3 Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen**
 - 4.3.1 Abroll- und Immersionskulturen der Implantate**
 - 4.3.2 Auswertung der Blutkulturen und Abstriche**
 - 4.3.3 Keimidentifizierung und Resistenzbestimmung**
 - 4.3.4 Quantifizierung der Bakteriendichte im Knochen (KBE / g Knochen)**
- 5. Auswertung der histologischen Ergebnisse**
 - 5.1 Ergebnisse des histologischen Scores**
- 6. Radiologische Auswertung**
 - 6.1 Ergebnisse des radiologischen Scores**
- 7. Betrachtung der Spezifität und der Sensitivität der einzelnen diagnostischen Methoden**

IV. Diskussion

- 1. Allgemeines**

- 2. Diskussion der in der Literatur beschriebenen Infektmodelle**
 - 2.1 Verwendete Tierspezies**
 - 2.2 Verwendete Keimart und -dosis**
 - 2.3 Auswahl des Implantates**
 - 2.4 Promotoren einer Infektion**
 - 2.5 Applikationsarten der Keime**

- 3. Diskussion der Ergebnisse**
 - 3.1 Inokulierte Keimsuspension**
 - 3.2 Verlaufparameter**
 - 3.3 Klinische Zeichen**
 - 3.4 Mikrobiologische Auswertung**
 - 3.5 Histologische Auswertung**
 - 3.6 Radiologische Auswertung**

- 4. Klinische Relevanz und Ausblick**

- 5. Zusammenfassung**

V. Literaturnachweis

VI. Anhang

- 1. Tabellen der Rohdaten**

- 2. Lebenslauf**

- 3. Erklärung**

- 4. Danksagung**

VI. Anhang**1. Tabellen der Rohdaten****Zu 1.2. des Ergebnisteiles**

Zu Abbildung 1: Keimkonzentrationen in der Ausgangssuspension I (Tag 0) und in den Ausgangssuspensionen II zu den einzelnen Versuchstagen (Mittelwert und Standardabweichung):

Tage	N	KBE/ml
0	16	$4,05 \times 10^8 \pm 1,02 \times 10^8$
1	6	$1,15 \times 10^8 \pm 3,74 \times 10^7$
2	6	$1,25 \times 10^8 \pm 3,08 \times 10^7$
3	8	$9,84 \times 10^7 \pm 3,78 \times 10^7$
4	6	$1,07 \times 10^8 \pm 5,91 \times 10^7$
5	6	$9,43 \times 10^7 \pm 3,65 \times 10^7$
6	8	$8,65 \times 10^7 \pm 4,14 \times 10^7$
7	6	$1,06 \times 10^8 \pm 2,68 \times 10^7$

Zu 3.1. des Ergebnisteiles

Zu Abbildung 3: Hämoglobinwerte der einzelnen Gruppen über den Untersuchungszeitraum in mg/dl (Mittelwert und Standardabweichung):

Tage	Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III	Gruppe IV
0	14,82 ± 0,46	14,58 ± 0,81	14,81 ± 0,57	14,73 ± 0,43
3	12,81 ± 0,52	12,63 ± 0,83	12,55 ± 0,53	12,06 ± 0,57
7	13,14 ± 0,66	12,61 ± 0,58	13,51 ± 0,50	13,47 ± 0,48
14	14,34 ± 0,92	13,64 ± 0,66	14,21 ± 0,42	14,43 ± 0,37
21	14,64 ± 0,61	14,27 ± 0,66	14,67 ± 0,46	14,46 ± 0,56
28	14,79 ± 0,68	14,43 ± 0,59	14,42 ± 0,59	14,28 ± 0,39

Zu Abbildung 4: Leukozytenwerte der einzelnen Gruppen über den Untersuchungszeitraum in Anzahl/nl (Mittelwert und Standardabweichung):

Tage	Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III	Gruppe IV
0	6,27 ± 1,68	9,01 ± 2,37	8,40 ± 1,96	6,09 ± 1,11
3	7,93 ± 1,64	12,66 ± 1,77	10,92 ± 1,45	8,77 ± 1,80
7	7,40 ± 2,16	12,13 ± 2,83	9,58 ± 2,15	9,04 ± 1,09
14	8,38 ± 1,53	7,88 ± 2,48	8,37 ± 2,20	10,84 ± 2,22
21	7,78 ± 1,86	7,88 ± 1,63	8,61 ± 1,87	8,95 ± 1,68
28	8,60 ± 1,79	7,76 ± 2,23	7,95 ± 1,05	7,66 ± 1,21

Zu 3.2. des Ergebnisteiles

Zu Abbildung 5: Körpergewichte der einzelnen Gruppen über den Untersuchungszeitraum in Gramm (Mittelwert und Standardabweichung):

Tage	Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III	Gruppe IV
0	252,60 ± 11,11	253,10 ± 10,18	254,82 ± 7,70	244,20 ± 12,15
3	246,70 ± 6,48	243,10 ± 10,18	251,82 ± 6,10	241,10 ± 11,61
7	246,20 ± 7,28	246,00 ± 8,85	250,27 ± 12,49	240,00 ± 10,56
14	249,90 ± 5,11	247,80 ± 10,63	256,73 ± 11,91	247,00 ± 15,50
21	259,30 ± 8,76	249,10 ± 13,13	258,45 ± 7,99	248,50 ± 12,55
28	259,70 ± 7,20	257,00 ± 11,61	265,91 ± 9,22	249,70 ± 13,28

Zu Abbildung 6: Körpertemperatur der einzelnen Gruppen über den Untersuchungszeitraum in °C (Mittelwert und Standardabweichung):

Tage	Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III	Gruppe IV
0	37,71 ± 0,21	37,46 ± 0,38	37,77 ± 0,17	37,94 ± 0,23
3	37,75 ± 0,34	37,45 ± 0,30	37,55 ± 0,26	37,98 ± 0,27
7	37,63 ± 0,41	37,93 ± 0,40	37,37 ± 0,65	37,92 ± 0,27
14	37,77 ± 0,46	37,78 ± 0,33	37,31 ± 0,39	37,64 ± 0,35
21	37,66 ± 0,38	37,96 ± 0,33	37,40 ± 0,26	37,49 ± 0,45
28	37,70 ± 0,47	37,55 ± 0,45	37,48 ± 0,40	37,32 ± 0,46

Zu 5. des Ergebnisteiles

Zu Abbildung 13: Ergebnisse der histologischen Begutachtung für die einzelnen Gruppen
(Mittelwert und Standardabweichung):

Gruppen	Scorewerte in Punkten
Gruppe I	0 ± 0
Gruppe II	15 ± 3,07
Gruppe III	14,35 ± 3,47
Gruppe IV	11,25 ± 2,53

Zu Abbildung 14: Ergebnisse der histologischen Begutachtung für die einzelnen regions of interest
(Mittelwert und Standardabweichung):

Region of interest	Scorewerte in Punkten		
	Gruppe II	Gruppe III	Gruppe IV
proximale Epi-/Metaphyse	1,25 ± 1,34	0,85 ± 1,15	0,2 ± 0,4
proximale Diaphyse	4,4 ± 0,8	4,25 ± 1,41	2,8 ± 2,25
distale Diaphyse	4,7 ± 1,19	5,4 ± 0,8	5,05 ± 1,28
distale Epi-/Metaphyse	4,65 ± 1,71	3,85 ± 1,9	3,2 ± 1,93

Zu 6. des Ergebnisteiles

Zu Abbildung 17: Ergebnisse der radiologischen Begutachtung für die einzelnen Gruppen zu den Zeitpunkten 0, 14 und 28 Tage (Mittelwert und Standardabweichung):

Gruppen	Scorewerte in Punkten		
	0 Tage	14 Tage	28 Tage
Gruppe I	0,55 ± 0,81	1,2 ± 3,12	0,15 ± 0,42
Gruppe II	0,48 ± 1,14	21,28 ± 4,84	23,78 ± 5,41
Gruppe III	0,32 ± 0,70	6 ± 4,14	15,43 ± 8,25
Gruppe IV	0,93 ± 1,75	5,53 ± 3,71	13,8 ± 6,38

Zu Abbildung 18: Ergebnisse der radiologischen Begutachtung für die einzelnen Gruppen zum Zeitpunkt 28 Tage für die drei regions of interest (Mittelwert und Standardabweichung):

Region of interest	Scorewerte in Punkten			
	Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III	Gruppe IV
proximale Epi-/Metaphyse	0 ± 0	2,7 ± 2,00	1,41 ± 1,05	1,45 ± 1,36
Diaphyse	0,08 ± 0,35	9,28 ± 2,30	6,27 ± 2,30	7,1 ± 3,51
distale Epi-/Metaphyse	0,03 ± 0,16	11,08 ± 3,24	7,48 ± 4,79	4,98 ± 3,87

2. Lebenslauf

„Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.“

3. Erklärung

„Ich, Sebastian Sadoni, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: Ein neues Infektmodell an der Ratte selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Ich habe diese Dissertationsarbeit bislang keiner anderen Fakultät zur Erlangung eines akademischen Grades vorgelegt. Ich habe weder einen akademischen Grad erworben noch dies versucht. Ebenso wenig läuft gegen mich ein strafrechtliches Ermittlungs- oder Disziplinarverfahren.

München, den

Sebastian Sadoni

4. Danksagung

Ich danke Herrn Univ.-Prof. Dr. N.P. Haas, in dessen Abteilung mir die Durchführung dieser Arbeit ermöglicht wurde.

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater, Herrn PD Dr. Gerhard Schmidmaier für die Überlassung des Themas, seinen stets inspirierenden Rat sowie seine hervorragende wissenschaftliche Unterstützung.

Weiterhin geht mein herzlichster Dank an das gesamte BAN-Team mit all seinen MTA und Mitdoktoranden. Besonders jedoch an meinen Betreuer, Herrn Dr. Martin Lucke, der mir allzeit während der Durchführung und Auswertung meiner Arbeit mit Rat und Tat eng zur Seite stand. Ebenso möchte ich mich bei Frau PD Dr. rer. nat. Britt Wildemann und Herrn Univ.-Prof. Dr. Michael Raschke für ihre großartige Unterstützung bedanken.

Dem Institut für Hygiene und Mikrobiologie der Charité gilt mein besonderer Dank für die enge Kooperation. Vor allem möchte ich Herrn Herrn Univ.-Prof. U. B. Göbel und Herrn Dr. R. Schiller erwähnen, ohne deren tatkräftige Unterstützung dieses Projekt nie zustande gekommen wäre.

Mein Dank gilt auch dem Institut für klinische Chemie und dem Institut für Radiologie und Strahlentherapie der Charité für die Untersuchung der Blutproben und die Entwicklung der Röntgenbilder.

Vielen Dank auch an meine Eltern, ohne deren Unterstützung ich diese Arbeit nie hätte beenden können. Ich danke Iris Hannibal für ihre Geduld. Danke auch an meine Tochter Mia Hannibal für die ruhigen Nächte, in denen ich diese Arbeit schreiben und vor allem korrigieren konnte.