

### III. Ergebnisse

#### 1. Kontrolle der Bakteriendichte in den unterschiedlichen Suspensionen

##### 1.1 Bakteriendichte der Ausgangssuspensionen I

In den 16 Ausgangssuspensionen (Mc Farland Standard von 6), die im Rahmen von Vorversuchen und im Verlauf der Studie hergestellt wurden, konnte zum Zeitpunkt der Herstellung eine mittlere Konzentration von  $4,05 \times 10^8 \pm 1,02 \times 10^8$  Kolonie - bildende Einheiten pro ml (KBE/ml) nachgewiesen werden.

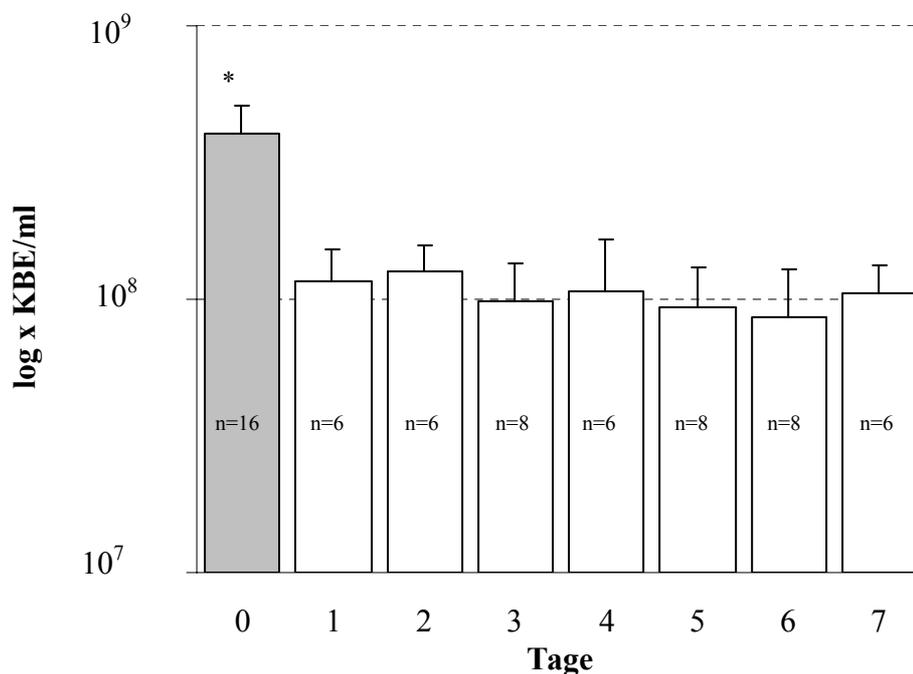
##### 1.2 Bakteriendichte der Ausgangssuspension II

Die in der Ausgangssuspension II (nach dem Auftauen) bestimmte Bakteriendichte zeigte einen statistisch signifikanten Abfall in den KBE/ml im Vergleich zu den Ausgangssuspensionen I.

**Abb. 8** Dargestellt sind die KBE/ml in den Ausgangssuspensionen I am Tag der Herstellung (graue Säule) und die KBE/ml in den Ausgangssuspensionen II an den einzelnen Versuchstagen nach dem Auftauen (weiße Säulen).

\*  $p < 0,05$  zu allen Ausgangssuspensionen II

Die Keimdichten der Ausgangssuspensionen II an den einzelnen Versuchstagen unterschieden sich nicht signifikant.



Die durch den Einfrier- und Auftauvorgang verursachte Reduktion der KBE/ml in den Ausgangssuspensionen II betrug durchschnittlich 25% der Ausgangssuspension I. Die Bakteriendichte in den Ausgangssuspensionen II blieben über den Untersuchungszeitraum von 7 Tagen annähernd konstant bei durchschnittlich  $9,96 \times 10^7 \pm 4,11 \times 10^7$  KBE/ml. Es konnte kein signifikanter Unterschied in den KBE/ml der Ausgangssuspensionen II zu den einzelnen Zeitpunkten beobachtet werden (Abb.8).

Die Daten aus Abbildung 1 sind noch einmal tabellarisch im Anhang aufgeführt.

### 1.3 Keimkonzentrationen in den Inokulationssuspensionen und den Applikationssuspensionen

Tabelle 3 zeigt die Bakteriendichten in den Applikationssuspensionen der einzelnen Gruppen als Mittelwerte mit Standardabweichung.

**Tab. 3** Keimdichten in KBE/ml der Applikationssuspensionen für die einzelnen Gruppen. (Angaben in Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung)

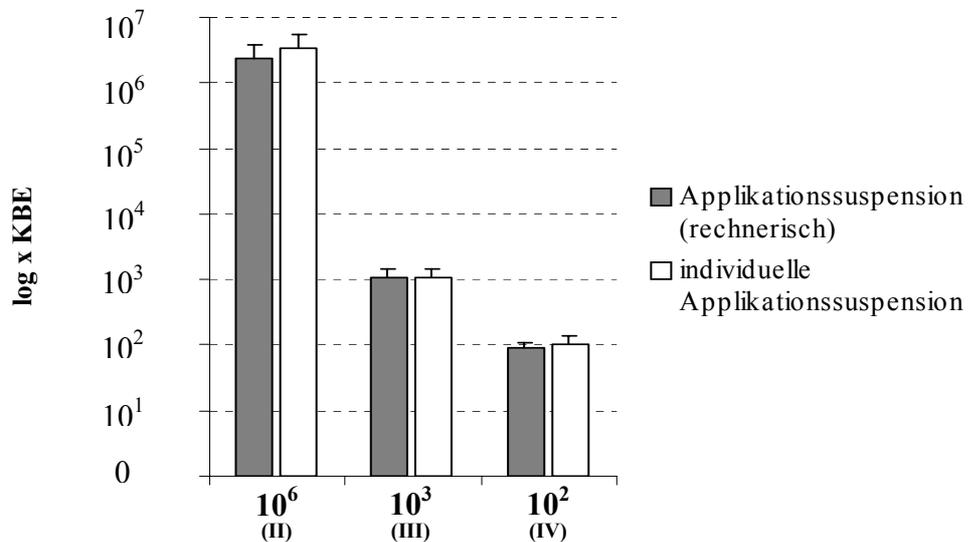
Gruppe	KBE/10 $\mu$ in den Applikationssuspensionen
II (10 <sup>6</sup> )	$2,39 \times 10^6 \pm 1,35 \times 10^6$
III (10 <sup>3</sup> )	$1,10 \times 10^3 \pm 3,29 \times 10^2$
IV (10 <sup>2</sup> )	$9,31 \times 10^1 \pm 1,39 \times 10^1$

Wie bereits unter Punkt 2.2 und Abbildung 1 des Teiles Material und Methoden erläutert, wurde intraoperativ eine 10  $\mu$ l Probe der Inokulationssuspension asserviert und die KBE/ml darin bestimmt.

Vergleicht man nun diese individuell für jedes Tier quantifizierte Keimdosis (individuelle Applikationssuspension) mit der aus der Ausgangssuspension II errechneten Applikationsdosis so wird deutlich, dass zwischen diesen beiden Konzentrationen kein signifikanter Unterschied besteht (Abb. 9).

**Abb.9 Vergleich der Keimdichten der Applikationssuspensionen und der individuell entnommenen Applikationssuspensionen für die Gruppen der infizierten Tiere.**

**n = 10 Proben pro Gruppe**



## 2. Ausfälle in den Versuchsgruppen

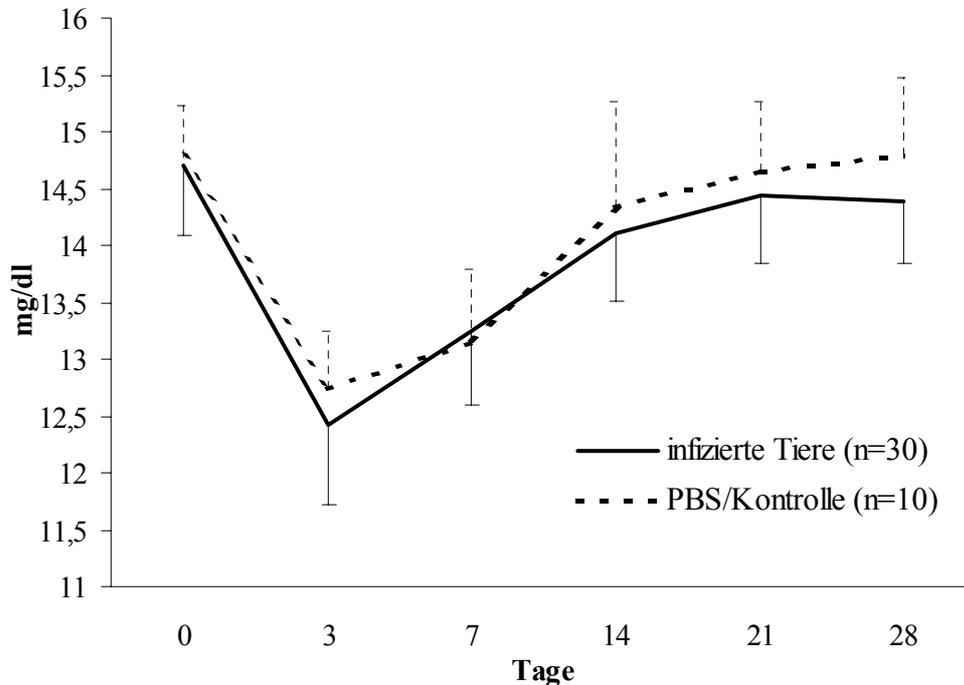
Drei Tiere starben kurz nach der Narkoseeinleitung und eines wurde am dritten postoperativen Tag tot im Käfig aufgefunden. Die Todesursachen konnten nicht eindeutig geklärt werden. Die ausgefallenen Tiere wurden ersetzt, so dass in jeder Gruppe 10 Tiere ausgewertet werden konnten.

## 3. Ergebnisse der Verlaufsparemeter

### 3.1 Hämoglobin- und Leukozytenwerte im Verlauf

Wie aus Abbildung 10 ersichtlich kam es bei allen Tieren zu einem postoperativen Abfall des Hämoglobins (Hb) in den ersten Tagen. Bei einem Vergleich der präoperativen Hb-Werte aller Tiere mit den Ergebnissen nach 3 Tagen lässt sich ein signifikanter Abfall von 15% gegenüber dem Ausgangswert feststellen. Nach spätestens 14 Tagen kehrte bei allen Tieren die Hb-Konzentration auf das präoperative Niveau zurück. Die Hämoglobinkonzentration der einzelnen Gruppen untereinander unterschied sich nicht signifikant. Auch bei einem Vergleich aller infizierten Tiere (Gruppen II-IV) mit der Kontrollgruppe (Gruppe I) konnte kein statistischer Unterschied beobachtet werden.

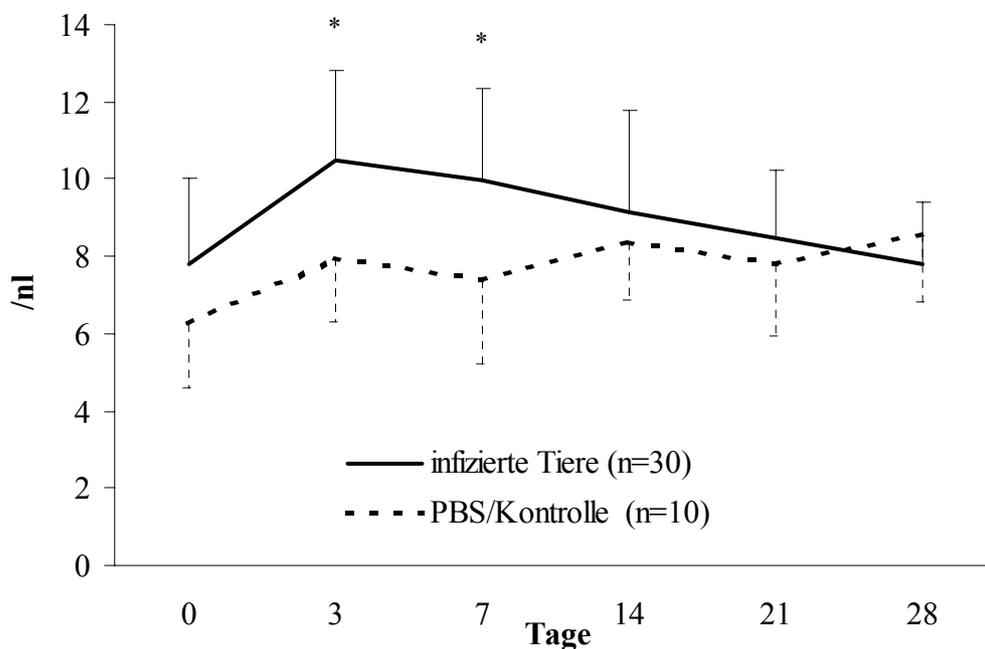
**Abb. 10** Verlauf der Hämoglobinwerte über den Untersuchungszeitraum und Vergleich der infizierten Tiere (Gruppen II-IV) mit der Kontrollgruppe (Gruppe I)



Die Leukozyten der infizierten Tiere (Gruppen II-IV) zeigten postoperativ einen leichten Anstieg. Die Leukozytenkonzentration der Kontrollgruppe (Gruppe 1) war über den Untersuchungszeitraum stabil (Abb. 11).

**Abb. 11** Verlauf der mittleren Leukozytenwerte über den Beobachtungszeitraum und Vergleich der Gruppe der infizierten Tiere (Gruppe II – IV) mit der Kontrollgruppe (Gruppe I)

\*  $p < 0.05$



Vergleicht man die Werte der infizierten Tiere mit denen der Kontrollgruppe, so war die Leukozytenkonzentration der infizierten Tiere am 3. und 7. postoperativen Tag signifikant erhöht.

Die Leukozytenwerte der Gruppen II, III und IV zeigten untereinander über den Untersuchungszeitraum keinen signifikanten Unterschied.

Eine detaillierte Auflistung der mittleren Hämoglobin- und Leukozytenkonzentrationen für die einzelnen Gruppen zu den jeweiligen Untersuchungszeitpunkten ist im Anhang aufgeführt.

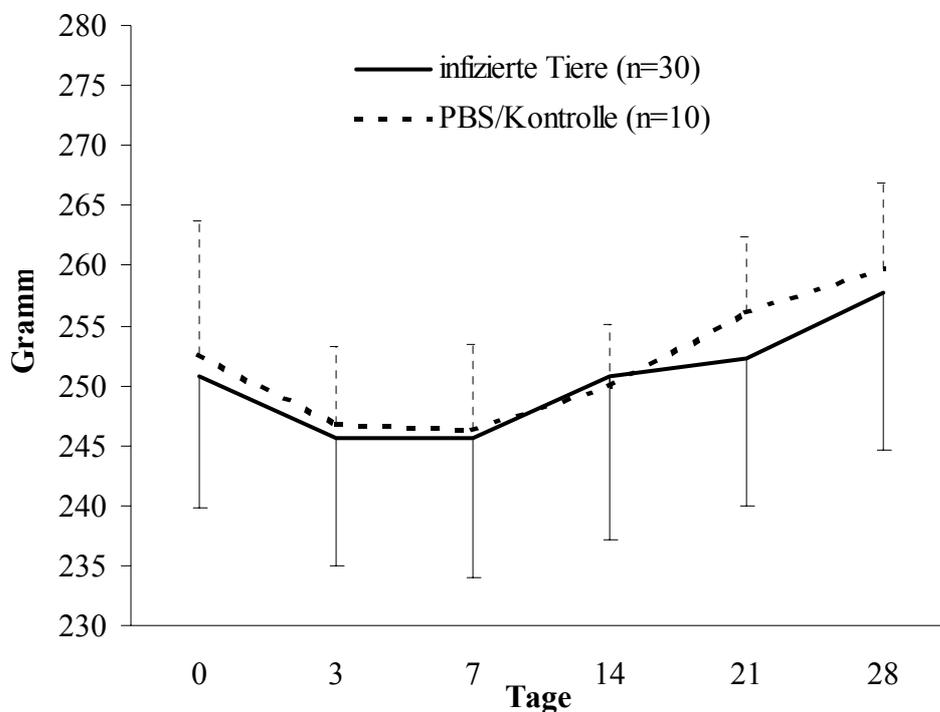
### 3.2 Verlauf von Körpertemperatur und –gewicht

Wie in Abbildung 12 dargestellt wiesen die Tiere aller Gruppen nach der Operation einen Gewichtsverlust auf. Die Reduktion des Körpergewichtes betrug durchschnittlich 2,2 % im Vergleich zum präoperativen Gewicht und war signifikant. Das mittlere Ausgangsgewicht aller untersuchten Tiere von  $251 \text{ g} \pm 11 \text{ g}$  war am 14. Tag postoperativ wieder erreicht und stieg im weiteren Untersuchungszeitraum bis auf  $258 \text{ g} \pm 12 \text{ g}$  an.

Sowohl zwischen den Gruppen I-IV untereinander als auch zwischen den infizierten Tieren einerseits und der Kontrollgruppe andererseits konnte kein signifikanter Unterschied bezüglich des Körpergewichtes und der Körpertemperatur festgestellt werden. Die durchschnittliche Körpertemperatur aller Tiere betrug  $37,6 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$  und blieb über den gesamten Versuchszeitraum annähernd konstant.

Detaillierte Angaben zum durchschnittlichen Körpergewicht und –temperatur der einzelnen Gruppen über den Untersuchungszeitraum sind im Anhang aufgeführt.

**Abb. 12** Verlauf des Körpergewichtes über den Untersuchungszeitraum und Vergleich der infizierten Tiere mit der Kontrollgruppe.



### 3.3 Klinische Untersuchungsbefunde

Alle Tiere wiesen zum Zeitpunkt der Entfernung des Nahtmaterials reizlose Wundverhältnisse auf. Bei keinem Tier traten Wundheilungsstörungen auf. Subkutane Abszesse oder osteokutane Fistelungen konnten nicht beobachtet werden.

Anzeichen, die auf eine lokale Infektion hindeuteten, waren Ergüsse im Sprunggelenk der

**Abb.13** Abgebildet ist ein exemplarisches Tier der Gruppe II mit einer deutlichen Sprunggelenksschwellung (roter Pfeil)



Tiere (Abb.13), die zu einer eingeschränkten Gelenkbeweglichkeit führten. Ebenso konnten Schwellungen im Bereich der Eintrittsstelle des Drahtes in den Knochen beobachtet werden. Um den störenden Einfluss der postoperativen Schwellung auszuschließen, wurden lediglich die noch 14 Tage nach dem Eingriff vorhandenen oder erneut aufgetretenden Veränderungen als pathologisch gewertet.

**Tab. 4** Klinische Untersuchungsbefunde für die einzelnen Gruppen. (SG = Sprunggelenk)

Klinische Untersuchungsbefunde	Anzahl Tiere der Gruppe			
	I (PBS)	II (10 <sup>6</sup> )	III (10 <sup>3</sup> )	IV (10 <sup>2</sup> )
Wundheilungsstörungen	0	0	0	0
Subkutane Abszesse	0	0	0	0
Fistelungen	0	0	0	0
Gelenkerguss (Knie)	0	0	0	0
Gelenkerguss (SG)	0	8	10	3
Schwellung Nageleintritt	0	6	6	3
Rötung	0	0	0	0
Überwärmung	0	0	0	0

Hiernach zeigten 8 Tiere der Gruppe II, alle Tiere der Gruppe III und 3 Tiere der Gruppe IV eine Sprunggelenksschwellung des operierten Hinterlaufes. Bei jeweils 6 Tieren der Gruppen II und III und bei 3 Tieren der Gruppe IV konnte eine Schwellung über der Eintrittsstelle des Drahtes beobachtet werden (Tab.4).

#### 4. Ergebnisse der post mortem gewonnenen Daten

##### 4.1 Pathologische, makroskopische Veränderungen an Knochen und Weichteilmantel

Bei zwei Tieren der Gruppe II wurde bei der Freipräparation der Tibiae im Bereich der Drahteintrittsstelle ein Abszess beobachtet. Alle anderen Tiere zeigten keine makroskopischen Besonderheiten im Weichteilmantel des operierten Hinterlaufes.

Die makroskopische Untersuchung der Knochen der Kontrollgruppe zeigte keine pathologischen Veränderungen. Bei 77 % (23 von 30) der Knochen der infizierten Tiere (Gruppen II-IV) war eine veränderte Knochenstruktur im Bereich der distalen Diaphyse zu beobachten. Der Knochen stellte sich aufgetrieben und verfärbt dar. Zusätzlich wiesen 70% (21 von 30) der Knochen der Gruppen II-IV Osteolysen auf (Abb.14). Die einzelnen Gruppen der infizierten Tiere unterschieden sich nicht hinsichtlich der Häufigkeit und Art einer pathologischen, makroskopischen Knochenveränderung.

**Abb.14** Freipräparierter Knochen eines Tieres der Gruppe III. Sichtbar ist eine Auftreibung, Verfärbung und einzelne mit Eiter gefüllte Osteolysezonen im mittleren und distalen Diaphysenbereich (roter Pfeil)



## 4.2 Knochengewichte post mortem

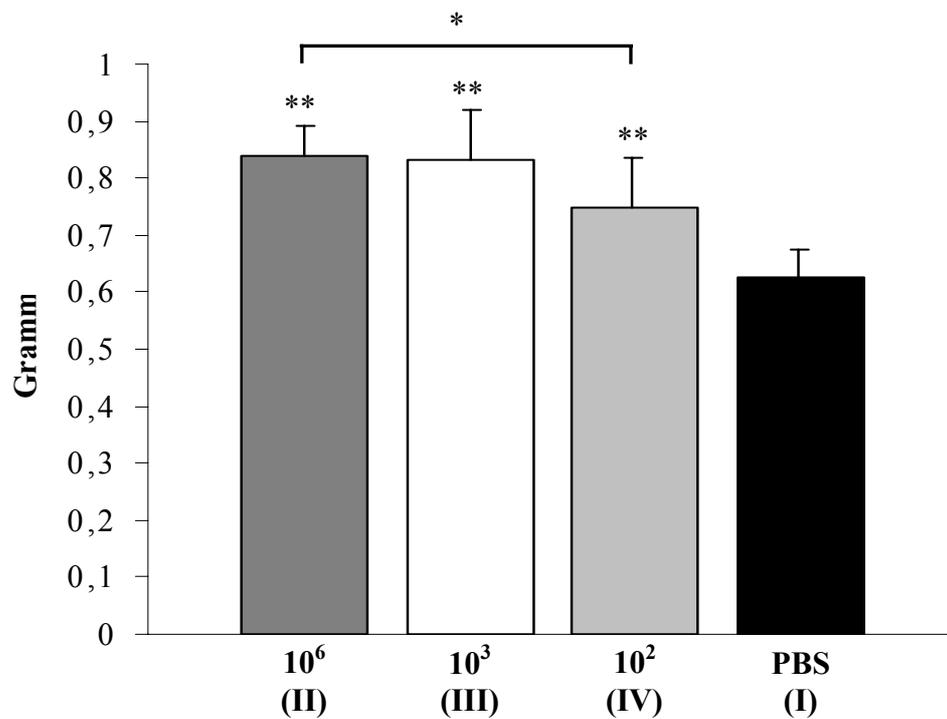
Das durchschnittliche Gewicht der Knochen der infizierten Tiere (Gruppen II-IV) war gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erhöht. Des Weiteren wiesen die Knochen der Gruppe II ein signifikant höheres Gewicht auf als die Knochen der Gruppe IV. Zwischen den Knochengewichten der Gruppen II und III ließ sich kein signifikanter Unterschied erkennen (Abb.15).

**Abb.15** Mittlere, post mortem bestimmte Knochengewichte in Gramm. Signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen der infizierten Tiere und der Kontrollgruppe bzw. zwischen Gruppe II und Gruppe IV.

(n = 10 Tiere pro Gruppe)

\*\* p<0,005 zu Gruppe I (PBS)

\* p<0,05

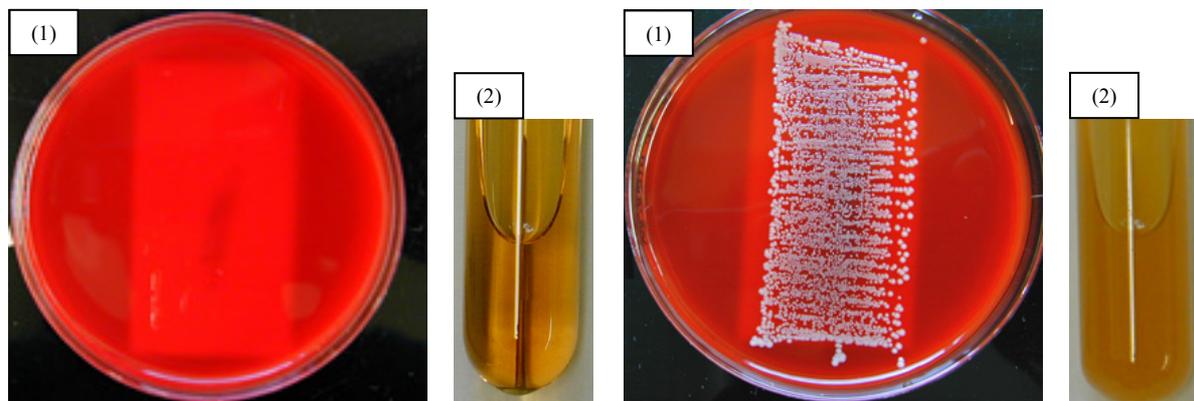


### 4.3 Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen

#### 4.3.1 Abroll- und Immersionskulturen der Implantate

Bei allen Abrollkulturen, die mit den explantierten Drähten der infizierten Tiere (Gruppe II-IV) angefertigt wurden, konnte ein bakterielles Wachstum nachgewiesen werden (Abb.16b).

Abb.16a/b Von den explantierten Drähten angefertigten Abroll- und Immersionskulturen



**a** sterile Abrollkultur (1) und sterile CSL-Nährlösung (2) eines explantierten Drahtes der Gruppe I (PBS) nach 24 h Bebrütung bei 37°C

**b** positive Abrollkultur (1) und getrübbte CSL-Nährlösung (2) eines explantierten Drahtes der Gruppe III ( $10^3$ ) nach 24 h Bebrütung bei 37°C

Da alle Präparate einen dichten Bakterienrasen zeigten, ließ sich eine Auszählung der Kolonie bildenden Einheiten nicht durchführen. Bei der qualitativen Beurteilung der KBE-Dichte auf den Agarplatten zeigte sich kein Unterschied zwischen den verschiedenen Gruppen der infizierten Tiere. In später durchgeführten Keimtypisierungen konnte für alle geprüften Proben ein positiver Nachweis für *Staphylokokkus aureus* erbracht werden. Sämtliche Nährlösungen, die mit den Drähten der Tiere der Gruppen II-IV beimpft wurden, zeigten eine Trübung und somit ein bakterielles Wachstum (Abb.16b). Alle Abroll- und Immersionskulturen von den Drähten der Kontrolltiere blieben steril (Abb.16a).

#### 4.3.2 Auswertung der Blutkulturen und Abstriche

In keiner der intrakardial entnommenen Blutkulturen wurde der Versuchskeim nachgewiesen. Aus einer Blutkultur eines Tieres der Gruppe II sowie eines Tieres der Gruppe IV wurden orale *Streptokokken* isoliert. Alle weiteren Blutkulturen blieben steril.

73 % der aus der Nageleintrittsstelle entnommenen Abstriche der infizierten Tiere zeigten ein bakterielles Wachstum. Hierbei wurde in allen Abstrichen der Gruppe II, in 80 % der Abstriche der Gruppe IV und in 40 % der Abstriche der Gruppe III *Staphylokokkus aureus* nachgewiesen.

Die Abstriche von Tieren der Kontrollgruppe blieben steril. Tabelle 5 fasst die mikrobiologischen Ergebnisse zusammen.

**Tab. 5** Überblick über die mikrobiologischen Ergebnisse der Blutkulturen, Abstriche sowie der Abroll- und Immersionskulturen der Implantate

<sup>a</sup>Orale *Streptokokus/haem. Species* <sup>b</sup> positiv getestet auf *Staphylokokkus aureus*

<sup>c</sup> trübe Nährlösung

Mikrobiologische Untersuchung	bakterielles Wachstum	Gruppen			
		I / PBS (n=10)	II / 10 <sup>6</sup> (n=10)	III / 10 <sup>3</sup> (n=10)	IV / 10 <sup>2</sup> (n=10)
<b>Blutkulturen</b>	Negativ	10	9	10	9
	Positiv	0	1 <sup>a</sup>	0	1 <sup>a</sup>
<b>Abrollkulturen der Implantate</b>	Negativ	10	0	0	0
	Positiv	0	10 <sup>b</sup>	10 <sup>b</sup>	10 <sup>b</sup>
<b>Immersionenkulturen der Implantate</b>	Negativ	10	0	0	0
	Positiv	0	10 <sup>c,b</sup>	10 <sup>c,b</sup>	10 <sup>c,b</sup>
<b>Abstriche</b>	Negativ	10	0	6	2
	Positiv	0	10 <sup>b</sup>	4 <sup>b</sup>	8 <sup>b</sup>

#### 4.3.3 Keimidentifizierung und Resistenzbestimmung

Wie aus Tabelle 5 ersichtlich, ließ sich aus allen Abrollkulturen und Abstrichen, die ein bakterielles Wachstum zeigten, *Staphylokokkus aureus* isolieren.

Von diesen Keimen wurden Antibiogramme angefertigt. In allen Fällen konnte die gleiche Resistenz- und Sensibilitätslage gegenüber den getesteten Antibiotika beobachtet werden (Tab.6).

**Tab. 6** Minimale durchschnittliche Hemmkonzentrationen in mg/l und die Resistenzlage der isolierten Keime für die aufgeführten Antibiotika in den Abstrichen und den Abrollkulturen.  
(n = 52 Proben pro getestetem Antibiotikum)

Getestete Antibiotika	Minimale Hemmkonzentration in mg/l	Resistenzlage
Penicillin	<b>0,5 ± 0</b>	Resistent
Gentamicin	<b>0,5 ± 0,1</b>	Sensibel
Ciprofloxacin	<b>0,5 ± 0,1</b>	Sensibel
Erythromycin	<b>0,25 ± 0</b>	Sensibel
Clindamycin	<b>0,25 ± 0</b>	Sensibel
Vancomycin	<b>1 ± 0,1</b>	Sensibel
Teicoplanin	<b>0,7 ± 0,2</b>	Sensibel
Rifampicin	<b>0,4 ± 0,2</b>	Sensibel
Co-Trimoxazol	<b>9,5 ± 0,9</b>	Sensibel
Fosfomycin	<b>7 ± 1,7</b>	Sensibel
Quinopristin	<b>0,4 ± 0,1</b>	Sensibel

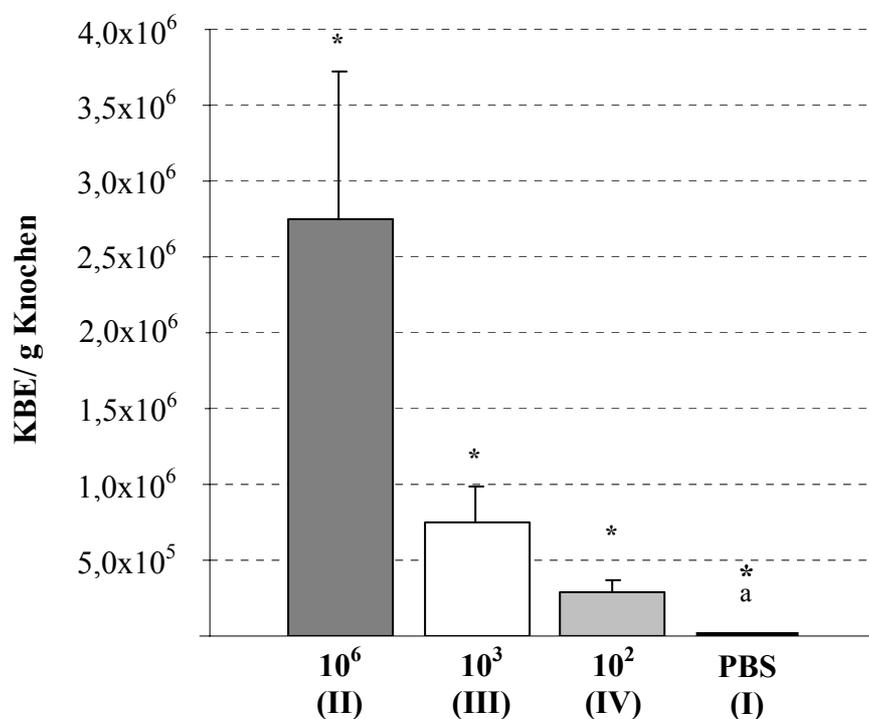
#### 4.3.4 Quantifizierung der Bakteriendichte im Knochen (KBE/ g Knochen)

Die Tiere der Gruppe II zeigten mit  $2,75 \times 10^6 \pm 9,82 \times 10^5$  KBE/g Knochen die deutlich höchste Keimdichte, gefolgt von der Gruppe III mit  $7,47 \times 10^5 \pm 2,45 \times 10^5$  KBE/g und der Gruppe IV mit  $2,87 \times 10^5 \pm 8,04 \times 10^4$  KBE/g. Die Knochen der Kontrollgruppe blieben steril. Die mittleren Keimdichten / g Knochen der einzelnen Gruppen unterschieden sich signifikant. Wie in Abb. 17 dargestellt lässt sich eine Abhängigkeit zwischen inokulierter Keimdosis und post mortem bestimmter Keimkonzentration pro g Knochen erkennen.

Abb.17 KBE/ g Knochen quantifiziert im Knochenpulver. n = 5 Tiere pro Gruppe.

\* signifikant zu allen anderen Gruppen  $p < 0,05$

(a) Kein Erregernachweis

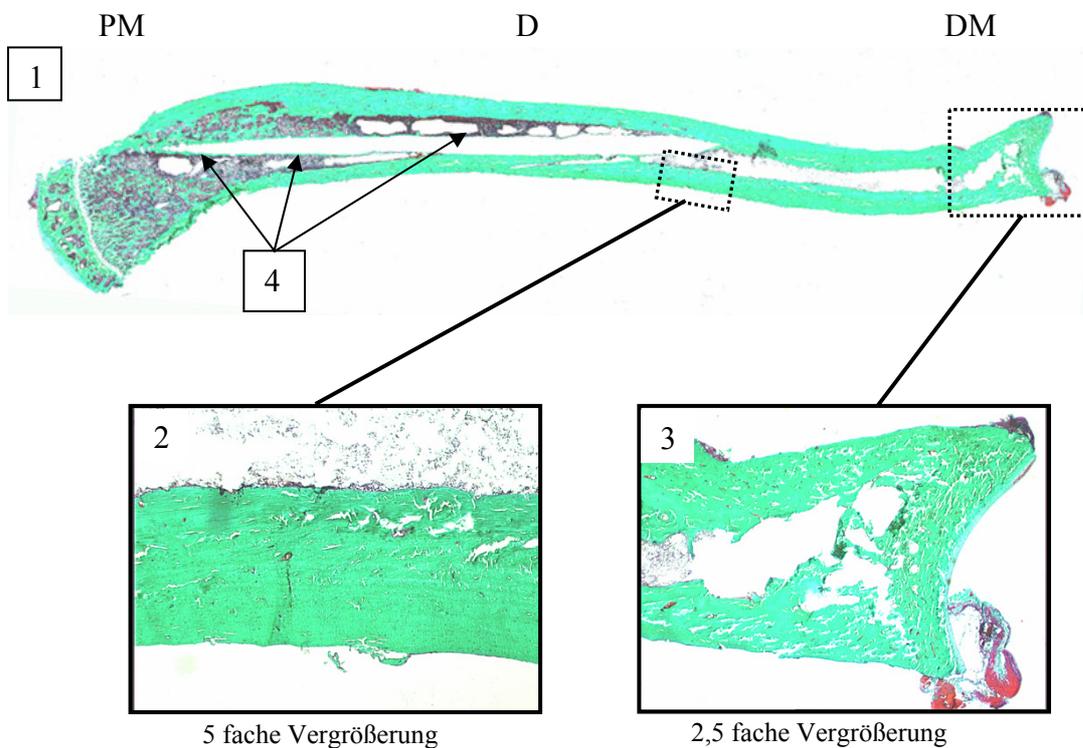


## 5. Auswertung der histologischen Ergebnisse

In keinem der von Gruppe I angefertigten histologischen Schnitten konnten histopathologische Veränderungen der Knochenstruktur oder morphologische Hinweise einer Osteomyelitis gefunden werden. Alle Präparate dieser Gruppe zeigten, wie in Abbildung 18 dargestellt, sowohl eine regelrecht strukturierte Kortikalis (2) als auch einen unauffälligen Markraum (3). Auf dem histologischen Schnitt dieses exemplarischen Tieres der Gruppe I ist unter anderem in der Übersicht (1) die beginnende ossäre Ummauerung des explantierten Titan-K-Drahtes getroffen (4).

**Abb.18 Histologischer Schnitt eines Tieres der Gruppe I (PBS/Kontrolle). Färbung nach Masson Goldner.**

- (1) Übersicht
- (2) Vergrößerung (x5) aus dem Bereich der Diaphyse (D)
- (3) Vergrößerung (x2,5) aus dem Bereich der distalen Metaphyse (DM)
- (4) Ossäre Ummauerung des K-Drahtes im Bereich der proximalen Metaphyse (PM)

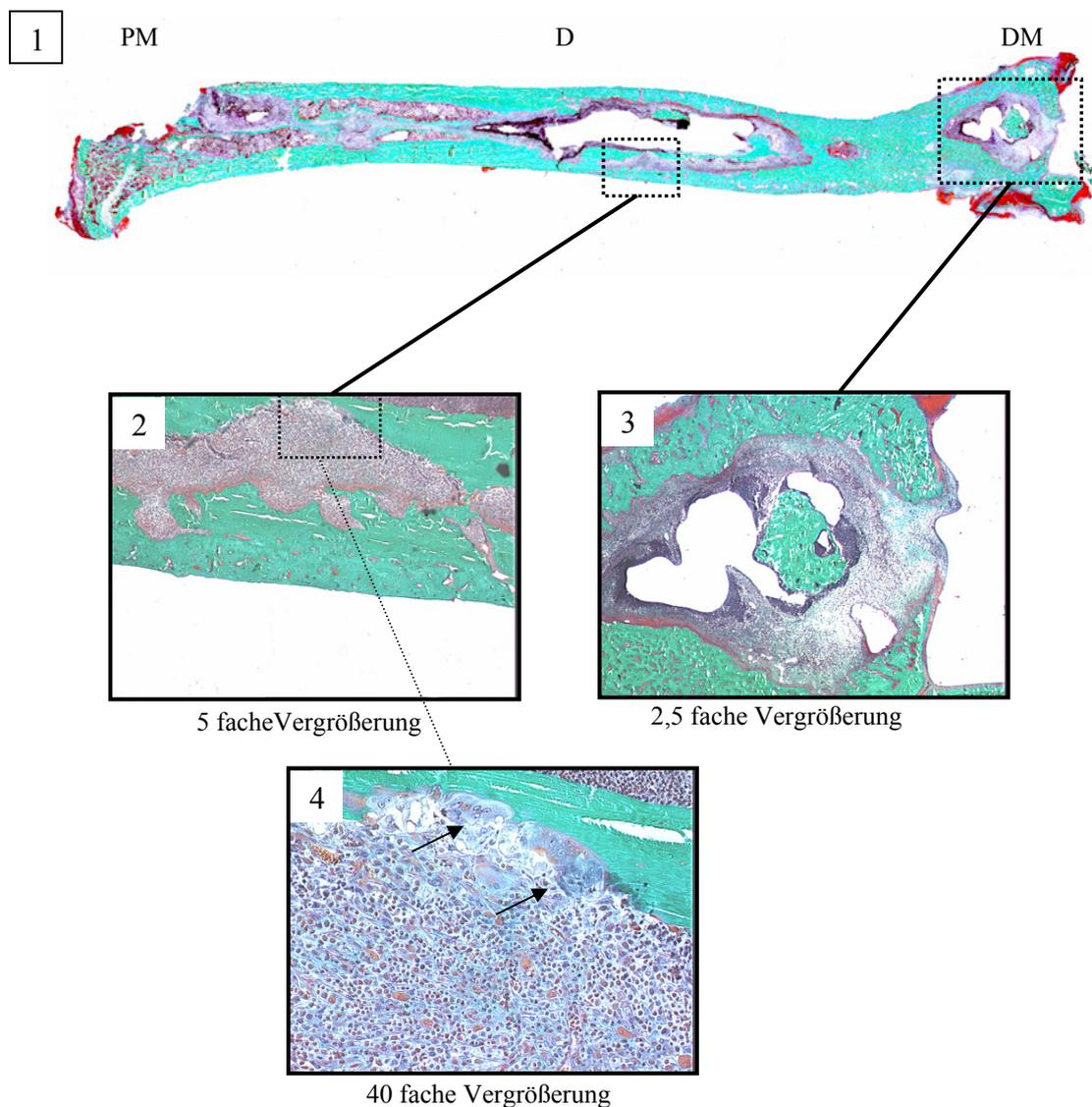


Die histologischen Schnitte der infizierten Tiere (Gruppen II-IV) zeigten deutliche histopathologische Veränderungen im Sinne einer Infektion des Knochens. Als Beispiel hierfür ist in Abbildung 19 ein Präparat eines Tieres der Gruppe III dargestellt, das typische Veränderungen, z.B. periostale Knochenneubildung, Osteolysen, Abszesse,

Markraumempyeme und Sequestration aufweist. Osteoklastische Riesenzellen, wie in Abbildung 19 sichtbar, wurden in allen Präparaten aus der Gruppe der infizierten Tiere beobachtet. Besonders häufig waren sie in den endostalen Resorptionszonen der infizierten Knochen anzutreffen.

Abb.19 Histologischer Schnitt eines Tieres der Gruppe III ( $10^3$ ); Färbung nach Masson Goldner

- (1) Übersicht (PM = proximale Metaphyse)
- (2) Vergrößerung (x5) aus dem Bereich der Diaphyse (D)
- (3) Vergrößerung (x2,5) aus dem Bereich der distalen Metaphyse (DM)
- (4) osteoklastische Riesenzellen (→)



### 5.1 Ergebnisse des histologischen Scores

Mit durchschnittlich  $15,0 \pm 3,1$  Punkten bei einem Maximalwert von 24 wurden die histologischen Schnitte der Gruppe II ( $10^6$ ) mit der höchsten Punktzahl bewertet.  $14,4 \pm 3,5$  Scorepunkte erhielten die Präparate der Gruppe III ( $10^3$ ), gefolgt von den Schnitten der Gruppe IV ( $10^2$ ) mit  $11,3 \pm 2,5$  Punkten. Für die histologischen Schnitte der Kontrollgruppe betrug der Scorewert 0, da sich bei ihnen keine morphologischen Korrelate einer Infektion zeigten.

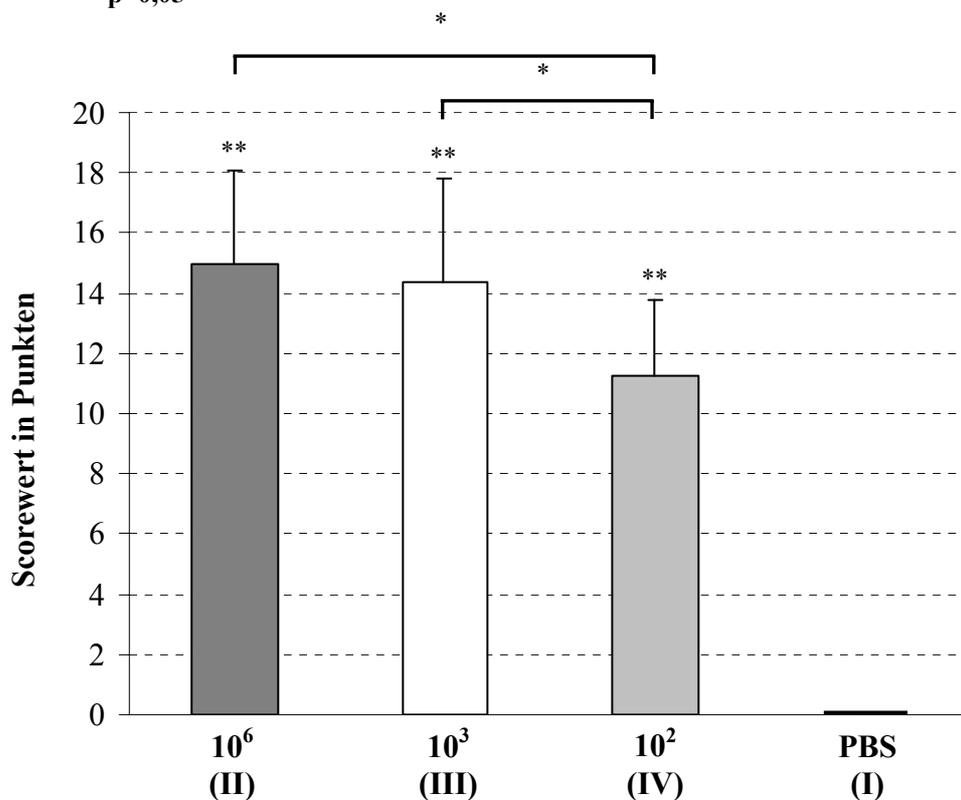
Die Scorepunkte der Gruppen der infizierten Tiere (Gruppe II-IV) waren im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöht. Auch konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen II bzw. III und der Gruppe IV beobachtet werden. Die Scorewerte der Gruppen II und III unterschieden sich nicht signifikant (Abb.20).

**Abb.20** Ergebnisse des histologischen Scores. Dargestellt sind die durchschnittlichen Gesamtscorepunkte aus allen 4 *regions of interest* (ROI)

(n = 5 Tiere pro Gruppe)

\*\* p<0,001 zu Gruppe I (PBS/Kontrolle)

\* p<0,05



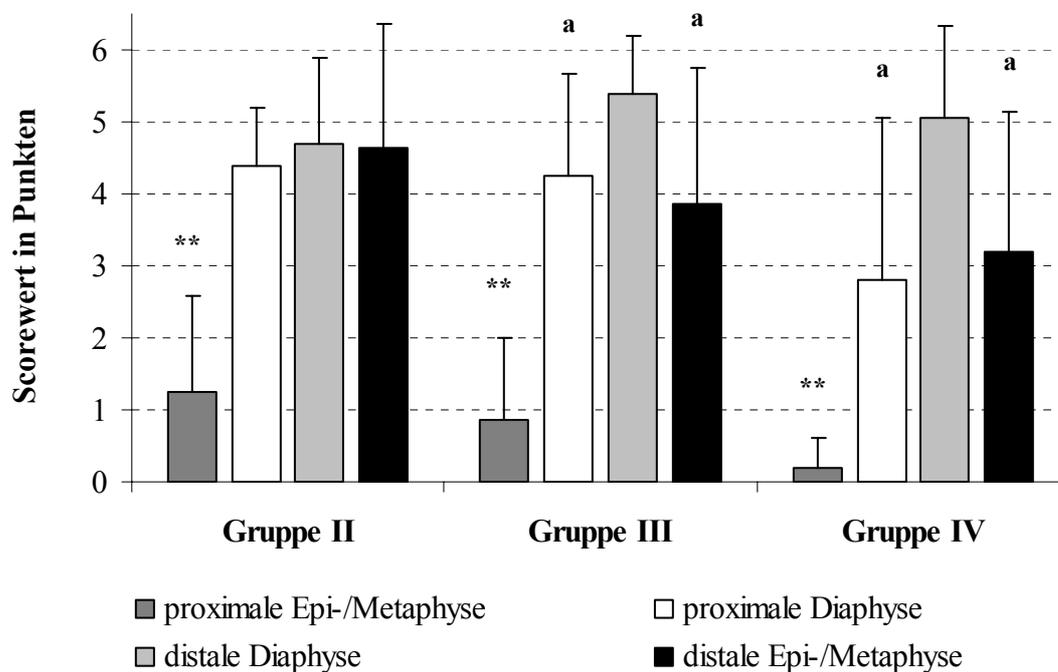
Bei der getrennten Betrachtung der *regions of interest* (ROI) für jede einzelne Gruppe der infizierten Tiere konnte beobachtet werden, dass der Bereich der proximalen Epi-/Metaphyse die geringsten histopathologischen Veränderungen zeigte und somit die wenigsten

Scorepunkte erhielt. Dieser Unterschied in der Bewertung gegenüber den anderen drei ROI (proximale Diaphyse / distale Diaphyse / distale Epi-Metaphyse) war für die jeweilige Gruppe signifikant (Abb.21).

Die ROI distale Diaphyse der Gruppen III und IV wurde mit signifikant mehr Punkten bewertet als die ROI proximale Diaphyse und distale Epi-/Metaphyse der dazugehörigen Gruppe. Die Werte der Gruppe II für die ROI proximale Diaphyse, distale Diaphyse und distale Epi-/Metaphyse unterschieden sich nicht signifikant (Abb.21). Da die Schnitte der Kontrollgruppe bei der histopathologischen Begutachtung keine Punkte erhielten, konnten sie sich auch nicht innerhalb der ROI unterscheiden.

Die Daten für die histologischen Ergebnisse sind im Anhang in Tabellenform als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung dargestellt.

**Abb.21 Durchschnittliche Scorepunkte für jede der vier *regions of interest* einzeln aufgetragen. Maximal erreichbare Punktzahl pro ROI = 6 (n = 5 Tiere pro Gruppe)**  
**\*\* p < 0,001 zu allen anderen ROI der jeweiligen Gruppe**  
**<sup>a</sup> p < 0,05 zur ROI distale Diaphyse der jeweiligen Gruppe**



In allen histologischen Schnitten der infizierten Tiere zeigten sich Abszesse und eine kortikale Destruktion. In 97 % der Fälle konnte eine kortikale Verbreiterung und in 83 % eine Sequestration beobachtet werden. Die Prozentzahlen für die histologischen Parameter der

einzelnen Gruppen sind in der Tabelle 7 wiedergegeben. Unter den Gruppen konnte bezüglich der Häufigkeit der histopathologischen Veränderungen kein Unterschied festgestellt werden.

**Tab. 7 Häufigkeit der histologischen Parameter für die einzelnen Gruppen in Prozent**

<b>Histologische Parameter</b>	<b>Prozentzahl der Tiere aus</b>		
	<b>Gruppe II</b>	<b>Gruppe III</b>	<b>Gruppe IV</b>
Abszessbildung	100%	100%	100%
Knochensequestrierung	85%	80%	85%
Verbreiterung der Kortikalis	95%	95%	100%
Destruktion von Knochen	100%	100%	100%

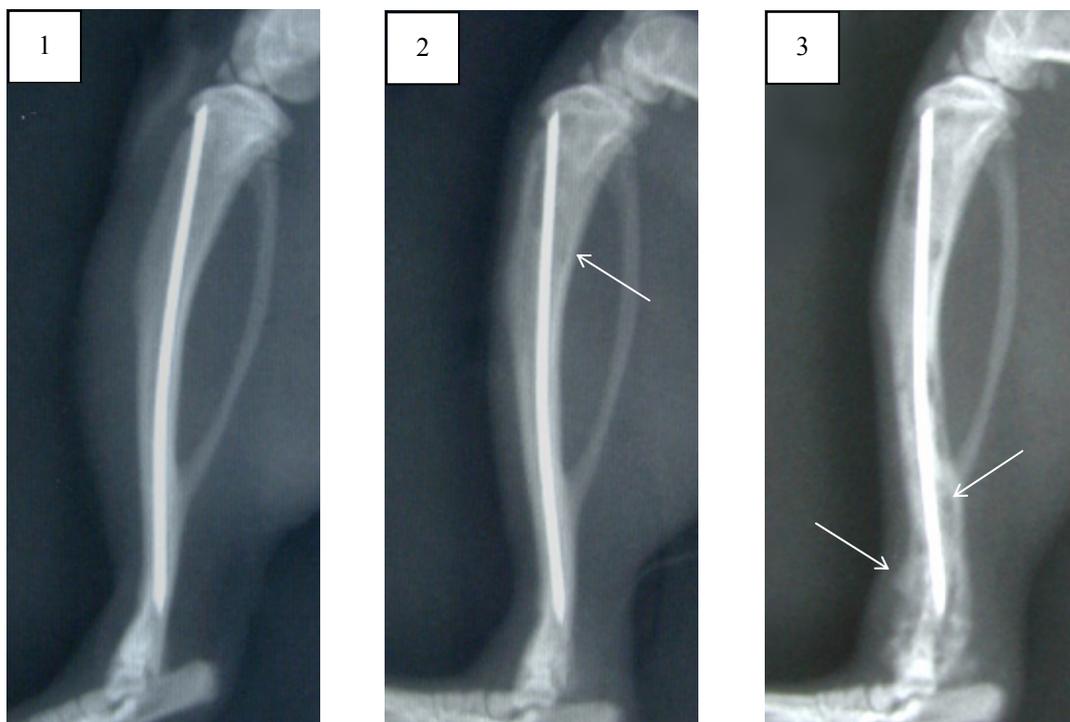
Die vier Gutachter untereinander bewerteten die Präparate durchgehend gleichmäßig. Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Bewertungen der einzelnen Gutachter festgestellt werden (Inter Observer / Blank and Altman Plot).

## 6. Radiologische Auswertung

Die zwei Wochen postoperativ angefertigten Röntgenbilder zeigten bei den infizierten Tieren (Gruppen II-IV) beginnende radiologische Anzeichen der ossären Destruktion. Bis zum Zeitpunkt von vier Wochen postoperativ konnte eine Progression der radiologischen Veränderungen beobachtet werden. In Abbildung 22 sind die Röntgenbilder eines Tieres der Gruppe III dargestellt. Auf dem postoperativ angefertigten Bild (Abb. 22/1) sind keine Veränderungen sichtbar. Zwei Wochen nach der Operation beginnt der ossäre Umbau, sichtbar an den Osteolysezonen im Bereich der proximalen Diaphyse (Pfeil in Abb.22/2). Die mit verstärkten Osteolysen, Knochenneubildung und Deformität einhergehende fortschreitende Destruktion des Knochens (Pfeil in Abb. 22/3) ist auf dem vier Wochen postoperativ aufgenommenen Röntgenbild zu erkennen.

Abb.22 Röntgenbilder eines Tieres der Gruppe III ( $10^3$  KBE) zu den Zeitpunkten.

- (1) post operativ
- (2) 14 Tage
- (3) 28 Tage

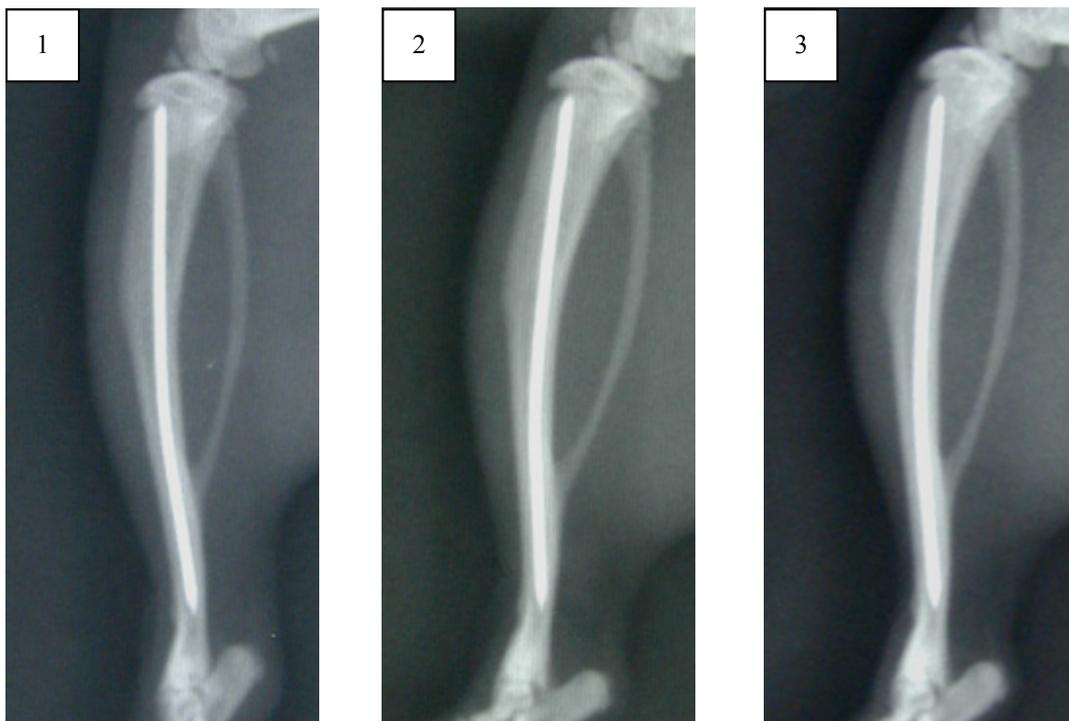


Im Gegensatz dazu konnte man auf den Röntgenbildern der Kontrolltiere (Gruppe I) zu den einzelnen Zeitpunkten keine radiologischen Auffälligkeiten erkennen, die auf eine Infektion des Knochens hinwiesen.

In Abbildung 23 sind die Röntgenbilder eines Tieres der Kontrollgruppe dargestellt. Die zu den drei Zeitpunkten postoperativ (Abb.23/1), 14 Tage (Abb.23/2) und 28 Tage (Abb.23/3) gefertigten Aufnahmen zeigen einen radiologisch unauffälligen Befund.

**Abb.23 Röntgenbilder eines exemplarischen Tieres der Gruppe I (PBS/Kontrolle) zu den Zeitpunkten**

<b>(1)</b>	<b>post operativ</b>
<b>(2)</b>	<b>nach 14 Tagen</b>
<b>(3)</b>	<b>nach 28 Tagen</b>

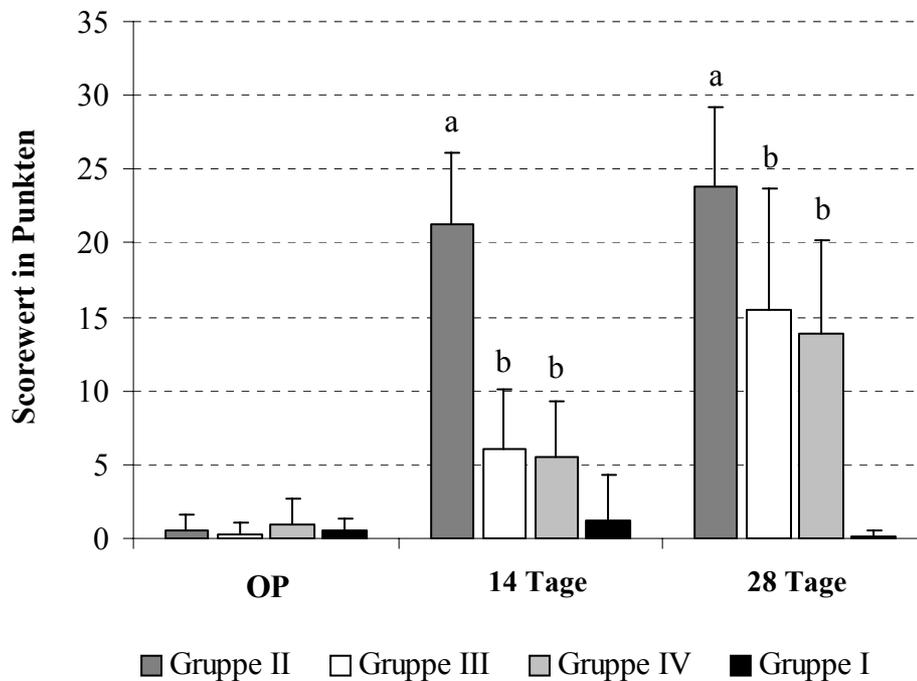


### 6.1 Ergebnisse des radiologischen Scores

Die Auswertung des radiologischen Scores objektivierte die unter Punkt 6 beschriebene Zunahme der ossären Destruktion der infizierten Tiere. Hierbei zeigten die Scorewerte für die einzelnen Gruppen II, III und IV eine signifikante Zunahme über die Zeit.

Zu den Zeitpunkten 14 und 28 Tage waren die Werte der Gruppen II-IV gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erhöht. Zusätzlich unterschieden sich zu diesen Untersuchungs-terminen die Scorepunkte der Gruppe II signifikant von denen der Gruppen III und IV. Zwischen den Werten der beiden letztgenannten Gruppen bestand kein signifikanter Unterschied. Die Bewertungen der kurz postoperativ angefertigten Röntgenbilder für die einzelnen Gruppen unterschieden sich nicht signifikant (Abb.24).

**Abb.24** Ergebnisse des radiologischer Scores zu den Zeitpunkten OP, 14 Tage und 28 Tage. Der maximal erreichbare Wert betrug 47 (Range 0-47). (n = 10 Tiere pro Gruppe)  
<sup>a</sup> p<0,001 zu allen anderen Gruppen zum jeweiligen Zeitpunkt  
<sup>b</sup> p<0,001 zur Gruppe I (PBS) zu den Zeitpunkten 14 und 28 Tage



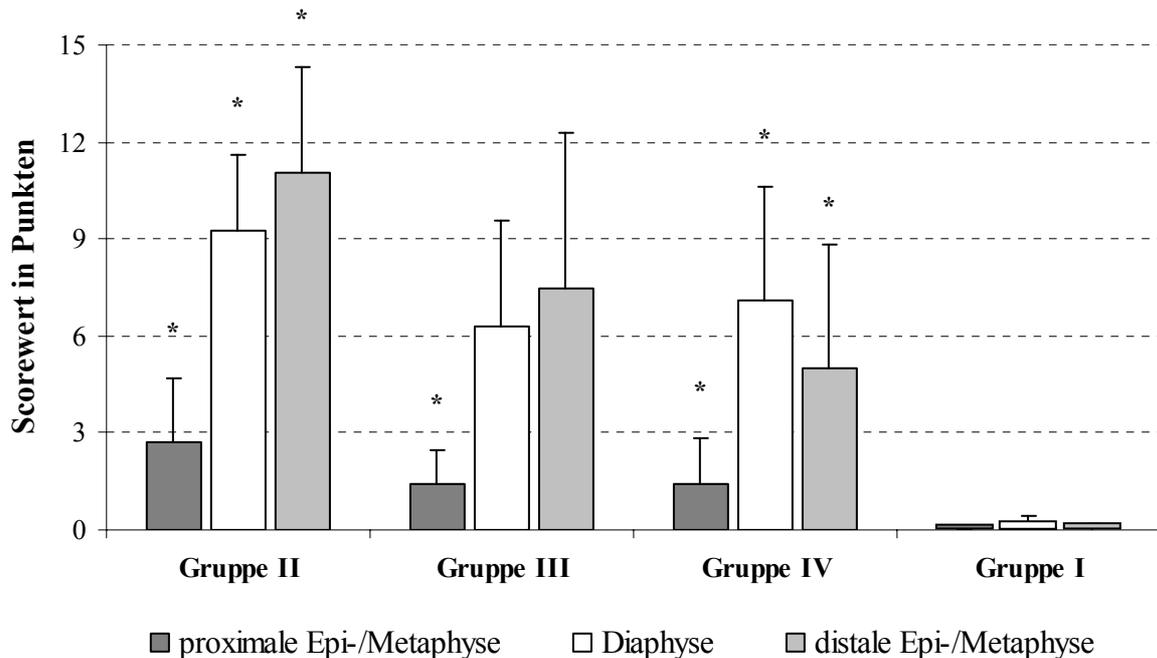
Bei der Analyse der drei *regions of interest* (proximale Epi-/Metaphyse, Diaphyse und distale Epi-/Metaphyse) zum Zeitpunkt 28 Tage wurden die Ergebnisse des histologischen Scores, die unter 5.1 aufgeführt sind, bestätigt. Demnach erhielt die am weitesten proximal gelegene Region (proximale Epi-/Metaphyse) der Gruppen der infizierten Tiere (Gruppe II-IV) die wenigsten Punkte, wobei die Werte im Vergleich zu den anderen beiden Regionen (diaphysär und distal) der jeweiligen Gruppe signifikant niedriger lagen (Abb.25.).

Die Region distale Epi-/Metaphyse der Gruppe II wurde signifikant höher bewertet als die Region Diaphyse derselben Gruppe. In der Gruppe IV verhielt sich dies genau gegensätzlich. Hier wurde die Region Diaphyse mit der höchsten Punktzahl bewertet, gefolgt von der ROI distale Epi-/Metaphyse. Die Werte der Regionen Diaphyse und distale Epi-/Metaphyse der Gruppe III sowie die Werte aller drei ROI der Kontrollgruppe unterschieden sich nicht signifikant. Die Daten für die radiologischen Ergebnisse sind im Anhang in Tabellenform als Mittelwert ± Standardabweichung dargestellt.

Die Bewertung der Röntgenbilder zu den jeweiligen Zeitpunkten erfolgte durch die vier Begutachter sehr einheitlich, so dass keine signifikante Abweichung untereinander nachweisbar war (Inter Observer / Blank and Altman Plot).

Abb.25 Ergebnisse des radiologischen Score für jede der drei *regions of interest* zum Zeitpunkt 28 Tage. Maximal erreichbare Punktzahl pro ROI = 15 (ohne die Parameter Sequester und Fraktur, da sich diese Parameter auf den gesamten Knochen beziehen)

\*  $p < 0,05$  zu allen anderen ROI der dazugehörigen Gruppe



Bei der Betrachtung der Parameter zu den einzelnen Zeitpunkten zeigte sich nach 14 Tagen für die Gruppen der infizierten Tiere folgende Verteilung: Osteolysen konnten in 95 % der Fälle identifiziert werden, gefolgt von periostalen Reaktionen mit 56 %, Deformitäten mit 54 % und einer Weichteilschwellung bei 47 % der Tiere. Eine Sequesterbildung wurde auf 11 % und eine Fraktur auf 0,8 % der Bilder beobachtet.

Auf 99 % der Röntgenbilder, die von den infizierten Tieren in der 4. postoperativen Woche (28 Tage) angefertigt wurden, entdeckten die Gutachter Osteolysen. In 85 % der Fälle konnte eine periostale Reaktion und auf 80 % der Bilder eine Deformität des Knochens beobachtet werden. Eine Weichteilschwellung zeigten 56 %, eine Sequesterbildung 35 % und eine Spontanfraktur 7 % der Bilder aus den Gruppen II bis IV zum Zeitpunkt 28 Tage.

Tabelle 8 gibt einen Überblick über die Häufigkeit der radiologischen Parameter zu den Zeitpunkten zwei und vier Wochen postoperativ.

**Tab. 8 Häufigkeit der radiologischen Parameter für die infizierten Tiere zu den Zeitpunkten 14 Tage und 28 Tage. (Angaben in %)**

Radiologische Parameter	Prozentzahl der infizierten Tiere zum Zeitpunkt	
	14 Tage	28 Tage
Osteolysen	95 %	99 %
Periostale Reaktion	56 %	85 %
Deformitäten	54 %	80 %
Weichteilschwellung	47 %	56 %
Sequesterbildung	11 %	35 %
Spontanfraktur	0,8 %	7 %

#### **7. Betrachtung der Spezifität und der Sensitivität der einzelnen diagnostischen Methoden**

Die Spezifität der einzelnen Diagnosemethoden variierte nur geringfügig, während sich die Sensitivität der Teste deutlich unterschied. Die Auswertung der histologischen und mikrobiologischen Präparate erbrachte die höchste Sensitivität (100 %), gefolgt von dem nach 28 Tagen erhobenen radiologischen Score (90 %) und dem pathologischen Befund des Knochens (74 % bzw. 68 %). Eine untergeordnete Rolle spielten der klinische Befund (68 % bzw. 48 %) und der nach 14 Tagen erfasste radiologische Score (57 %). In Tabelle 9 sind die Spezifitäten und Sensitivitäten der einzelnen diagnostischen Methoden noch einmal zusammengefasst.

Tab. 9 Spezifität und Sensitivität der einzelnen Diagnosemethoden in %

	Spezifität	Sensitivität
<b>Radiologischer Score</b>		
> 7 Punkte		
nach 2 Wochen	93 %	57 %
nach 4 Wochen	100 %	90 %
<b>Histologischer Score</b>		
> 5 Punkte		
	100 %	100 %
<b>Mikrobiologischer Befund (Abroll-/ Immersionenkultur)</b>		
	100 %	100 %
<b>Klinischer Befund</b>		
Gelenkerguss (SG)	100 %	68 %
Schwellung Nageleintrittsstelle	100 %	48 %
<b>Makroskopischer Knochenbefund</b>		
Auftreibung distale Diaphyse	100 %	74 %
Osteolysen	100 %	68 %