

IV. Diskussion

1. Allgemeines

Die in Verbindung mit Implantaten auftretenden Infektionen des Knochens stellen nicht nur ein medizinisches, sondern auch ein weitreichendes ökonomisches Problem dar. Trotz der niedrigen Inzidenz von Wundinfektionen nach elektiven orthopädischen Eingriffen sind die daraus resultierenden Kosten aufgrund der hohen Anzahl der Operationen (geschätzte 500.000 Hüft und Kniearthroplastien allein in den USA, ^{32; 123; 144}) massiv und ziehen nicht zu unterschätzende gesundheitspolitische Folgen nach sich. Die im Fall einer infizierten Totalendoprothese der Hüfte auftretenden Komplikationen und die darauf folgenden Therapiemaßnahmen lassen die Behandlungskosten auf 400-600% des Ausgangswertes ansteigen ^{107; 145}. Die prophylaktische Verwendung von gentamycinhaltigem Knochenzement in Verbindung mit der systemischen Verabreichung von Antibiotika beim künstlichen Hüftgelenksersatz konnte zwar die Häufigkeit eines Revisionseingriffes und somit die Folgekosten senken, aber eine vollständige Risikoreduktion konnte auch hiermit nicht erreicht werden ⁶⁴. Natürlich ist auch die Therapie von postoperativen Infektionen mit einem Anstieg der Kosten verbunden. Boxma et al. ¹⁴⁶ berechneten 22.000 US Dollar an Mehrkosten für die Therapie einer Infektion, die nach der Stabilisierung einer geschlossenen Fraktur auftrat.

2. Diskussion der in der Literatur beschriebenen Infektmodelle

2.1 Verwendete Tierspezies

Ein großer Teil der Studien, die sich mit der Pathogenese oder den Therapieoptionen einer Osteomyelitis beschäftigen, arbeiten an Kaninchen als Versuchstieren, obwohl diese Tierart bei einer Langzeitbehandlung mit Antibiotika gegenüber Nebenwirkungen empfindlicher reagiert. Vor allem eine erhöhte Mortalität in Folge von Durchfällen bzw. einer pseudomembranösen Enterokolitis ist nicht ganz unerheblich ¹⁴⁷ und sollte bei der Wahl einer geeigneten Tierspezies berücksichtigt werden.

Die in dieser Studie verwendeten Ratten eignen sich besser zur therapeutischen Manipulation. ¹¹⁸ Versuche mit dieser Spezies sind kostengünstiger und erlauben dadurch höhere Fallzahlen. Weiterhin sind Ratten weniger empfindlich gegenüber Komplikationen bei einer Operation

oder einer Infektion (Sepsis, Narkose),¹³⁵ sie zeigen auch seltener Nebenwirkungen einer systemischen Langzeitantibiotikatherapie.¹³⁴ Der für den mikrobiologischen Keimnachweis zu verarbeitende Knochen ist klein und somit ist eine aseptische Aufarbeitung einfach durchführbar. Für die histomorphologischen Auswertungen lassen sich Gewebsschnitte der Tibiae über die gesamte Länge herstellen, so dass die Präparate in toto beurteilt werden können. Dies alles sind Gründe, die den Einsatz von Ratten bei Studien zur Untersuchung von pathologischen Prozessen am Knochen nahelegen. Entsprechend wurde eine Vielzahl von Daten über krankhafte und physiologische Vorgänge am Rattenknochen publiziert, was dem Untersucher einen guten Einblick in komplexe Sachverhalte ermöglicht, z.B. in die Pathophysiologie einer Osteomyelitis. Weitere Gründe für die Wahl von Ratten als Versuchstiere waren die langjährige Erfahrung in der Arbeitsgruppe mit dieser Spezies sowie die Tatsachen, dass die für diese Studie verwendeten laborchemischen Verlaufsp Parameter an der Ratte etabliert und international anerkannt sind.^{32; 134; 135; 148}

2.2 Verwendete Keimart und -dosis

Als Erreger für eine Osteomyelitis wurde in dieser Untersuchung *Staphylokokkus aureus* gewählt, da er der häufigste nachweisbare Keim im Zusammenhang mit einer Implantat - assoziierten Infektion ist.^{12; 27} Die Wahl des Stammes begründet sich aufgrund der schon im Material und Methoden Teil beschriebenen ausgeprägten Pathogenität und Virulenz gegenüber Rattenknochen¹²¹, die bei verschiedenen Subspezies von *Staphylokokkus aureus* durchaus unterschiedlich sein können. Norden et al.¹²⁵ zeigten in ihrer Studie, dass eine Inokulation von *Staphylokokkus aureus* Typ 209p im Gegensatz zur Applikation von einem Stamm *Staphylokokkus aureus*, der aus einer kindlichen Osteomyelitis isoliert wurde, keine Infektion des Knochens erzeugte. Diese im Vergleich zu *Staphylokokkus epidermidis* erhöhte Virulenz³⁷ war in unserem Versuchsaufbau erwünscht, da hiermit zuverlässige Infektzeichen schneller zu erwarten waren und eine frühzeitige Diagnosestellung ermöglicht wurde. Auch sollte der in unserem Modell verwendete *Staphylokokkus aureus* Stamm, trotz der bei Ratten bekannten hervorragenden Immunkompetenz¹²⁹, zuverlässig eine Osteomyelitis auslösen. Dies konnte *Staphylokokkus aureus* Subspezies *aureus Rosenbach* mit einer Infektionsrate von 100% in unserer Untersuchung eindeutig unter Beweis stellen. Eine hohe und reproduzierbare Infektrate ist wichtig, da es so zu keinem Missbrauch von Tieren kommt. Das Modell ist somit sehr effizient bei der Evaluation von therapeutischen und prophylaktischen

Maßnahmen und ist hervorragend zu immunologischen und physiologischen Studien geeignet.¹²⁸

Trotz der hohen Mengen an inokulierter Kolonie - bildenden - Einheiten (KBE) zeigten sich in den einzelnen Untersuchungen sehr unterschiedliche Infektionsraten. Darouiche et al.¹¹⁴ erhielten bei der Applikation von 10^6 KBE *Staphylokokkus aureus* nach einer offenen Tibiafraktur an Kaninchen nur eine Infektrate von 62%. In einer Studie von Rissing et al.¹¹⁸ mit derselben Menge an KBE variierte der Anteil der Infektionen je nach verwendeter OP-Technik zwischen 51% und 87%. Diese variable Infektionsrate ist nicht nur von dem durchgeführten operativen Verfahren abhängig, sondern auch von der Art des implantierten Kraftträgers. Melcher et al.^{36; 149} konnten zeigen, dass ein hohler gegenüber einem soliden Tibianagel die Infektrate nahezu verdoppelt. Dies wird mit der Ausbildung eines „*dead space*“ im Hohlraum des Nagels erklärt. Die Ablagerung von Detritus und nekrotischem Gewebe im Inneren des Implantates dient als ein optimaler Nährboden für Keime. Aufgrund der schlechten Durchblutung kommt es zu einem limitierten Zugang der Immunabwehr. Zusätzlich ist die Implantatoberfläche doppelt so groß, was die Wahrscheinlichkeit einer Adhäsion der Erreger erhöht. Auch konnten Melcher et al. in ihrer Studie³⁵ zeigen, dass sich bei der Implantation von Tibianägeln, bei der zuvor der Markraum aufgebohrt wurde - im Gegensatz zur unaufgebohrten Methode - die Infektrate erhöht. Dies wird mit einer Kompromittierung der endostalen Blutversorgung beim Aufbohren des Markraumes erklärt¹⁵⁰.

2.3 Auswahl des Implantates

Um die erwähnten Einflüsse auf die Infektrate in diesem Modell zu minimieren, wurden solide Drähte verwendet und der Markraum wurde nur mit Kirschnerdrähten mit zunehmendem Durchmesser erweitert. Dabei gingen wir von der Annahme aus, dass dieses Verfahren die endostale Blutversorgung nur wenig beeinflusst. Trotz dieser schonenden Maßnahmen und einer in der Literatur noch nie beschriebenen extrem niedrigen inokulierten Keimmenge von minimal nur 10^2 KBE konnten in diesem Modell alle Tiere infiziert werden.

2.4 Promotoren einer Infektion

Auf eine Verwendung von Morrhuete wurde in unserem Versuchsaufbau verzichtet, da es einen eigenen Effekt auf den Knochen hat und es somit nicht möglich ist zu unterscheiden, ob

die morphologischen Veränderungen durch die Infektion oder durch das applizierte sklerosierende Agens ausgelöst wurden. Zusätzlich begünstigt Morrhuate die Entstehung einer Infektion und verschleiert den Einfluss des Implantates auf die Entwicklung einer Osteomyelitis. Auch ist es bei operativen Eingriffen nicht üblich diese Substanz einzusetzen. Da unser Modell die klinische Situation so weit wie möglich zu imitieren versucht, wurden sklerosierende Agentien wie Morrhuate nicht eingesetzt.

Auch auf den bei einer Operation durchaus üblichen Einsatz von Hochgeschwindigkeitsbohrern, Fibrinklebern und Knochenwachs wurde verzichtet, da diese Verfahren die Entstehung einer Osteomyelitis begünstigen und pathologische Vorgänge, die bei einer Infektion des Knochens auftreten, imitiert werden.

2.5 Applikationsarten der Keime

Die von Gracia et al.¹²⁷ und Monzón et al.¹²⁹ beschriebene, in vitro durchgeführte Präkolonisation der Implantate wurde in unserer Studie nicht angewandt. Der Grund hierfür war zum einen, dass sich bei einer Implantat - assoziierten Infektion ein Biofilm erst in vivo ausbildet und dass sich die Eigenschaften von in vitro und in vivo gewachsenen Erregern deutlich unterscheiden. So wiesen Chuard et al.¹⁵¹ nach, dass Keime, die sich in vivo vermehrt hatten, eine erhöhte Resistenz gegenüber Antibiotika zeigten. Außerdem verwendeten die Autoren in ihren Untersuchungen Kanülen als Implantat. Dies führte, wie bereits erwähnt, durch die vergrößerte Implantatoberfläche und die Ausbildung eines „*dead space*“ im Inneren zu einer Störung der Immunabwehr und zu einer Infektzunahme.

Von der systemischen Inokulation von Keimen zur Erzeugung einer Osteomyelitis wurde aufgrund der geringen Infektionsraten^{123; 130} am Knochen abgesehen. Einerseits hätte, um eine adäquate Infektrate zu erhalten, am Knochen ein zusätzliches Trauma erzeugt werden müssen¹³⁰, andererseits spiegelt dieses Modell eher eine hämatogen erzeugte Osteomyelitis wieder. Beides war für diese Studie nicht erwünscht. Auch ist es mit dieser Methode nicht möglich, die genaue Menge an Keimen zu quantifizieren, die zu einer Infektion des Knochens führen, da nur ein Teil der applizierten Erreger den zuvor präparierten Knochen erreicht.

Methoden, die mit einer Fraktur des Knochens¹¹⁴ oder einem großen Weichteiltrauma einhergehen, um eine posttraumatische Infektion des Knochens zu simulieren, kamen für unsere Untersuchung nicht in Frage, da eine Minimierung des Traumas im Vordergrund stand. Diese schonende Vorgehensweise war wichtig, da ein starkes Trauma eine Infektion begünstigt hätte. Außerdem ist es bei einer gleichzeitigen Fraktur deutlich schwieriger,

pathologische Veränderungen im Sinne einer Infektion zu erkennen. Dies erschwert eine frühzeitige und exakte Diagnosestellung.

3. Diskussion der Ergebnisse

3.1 Inokulierte Keimsuspension

Trotz des Abfalls der KBE in der aufgetauten Suspension blieben die Konzentrationen zu den einzelnen OP - Terminen konstant. Die mehrfach durchgeführten Kontrollen der KBE in den inokulierten Suspensionen zeigten, dass mit genau definierten Keimmengen gearbeitet wurde. Die auffällig hohen Standardabweichungen sind bei der Quantifizierung von bakteriellen Suspensionen durchaus üblich und liegen zumeist im Bereich derselben Zehnerpotenz^{121; 130}.

3.2 Verlaufparameter

Der von Rissing et al.¹¹⁸ beschriebene Abfall der Hämoglobinwerte konnte in dieser Untersuchung nicht nur bei den infizierten Tieren sondern auch bei den Kontrolltieren nachgewiesen werden, wobei zwischen den Gruppen kein Unterschied zu beobachten war. Dies lässt vermuten, dass es sich nicht um eine Infektanämie, sondern um die Folge des operativen Eingriffes handelt. Die von Eerenberg et al.¹⁵² veröffentlichten Ergebnisse bestätigen diesen initialen Abfall des Hämoglobins, wobei sich hier ebenfalls kein Unterschied zwischen infizierten und nicht-infizierten Tieren zeigte. Im Gegensatz dazu konnten Norden et al.¹²⁵ eine Verminderung des Hämatokrites nur bei den zuvor mit Bakterien inokulierten Tieren nachweisen.

Für den gesamten Untersuchungszeitraum von 168 Tagen konnten Eerenberg et al.¹⁵² für die Gruppen ihrer infizierten Tiere erhöhte Leukozytenwerte beobachten, wobei ein Maximum am 28. postoperativen Tag festgestellt wurde. Rissing et al.¹¹⁸ hingegen konnten keinen Anstieg von Leukozyten oder der Blukörpersenkgeschwindigkeit bei den infizierten Tieren nachweisen. In unserer Studie waren die Leukozytenwerte der Tiere, die mit Bakterien inokuliert wurden, gegenüber den Kontrolltieren nur am 3. und 7. postoperativen Tag erhöht. Dieser Verlauf könnte auf eine kurzfristige systemische Infektion hindeuten, zeigt aber auch den von Rissing et al.¹¹⁸ beschriebenen geringen bzw. nicht vorhandenen Zusammenhang zwischen Entzündungsparametern und Progression der Läsion.

Der in unserer Untersuchung registrierte postoperative Gewichtsverlust von durchschnittlich 2,2 % bei allen Gruppen konnte von Eerenberg et al.¹⁵² nur für die Tiere gezeigt werden, denen zur Kontrolle PBS in den Markraum appliziert wurde. Bei Rissing et al.¹¹⁸ und Norden et al.¹²⁵ hingegen war der Gewichtsverlust der infizierten Tiere deutlicher ausgeprägt. Im Gegensatz zu Eerenberg et al.¹⁵² konnten die beiden letztgenannten Autoren in ihren Kontrollgruppen keine Gewichtsabnahme feststellen.

Die rektal gemessene Körpertemperatur zeigte keinen Unterschied zwischen infizierten und nicht-infizierten Tieren. Im Schrifttum haben wir trotz intensiver Suche keine Daten zum Vergleich gefunden.

Aufgrund der geringen oder fehlenden Unterschiede zwischen infizierten Tieren und der Kontrollgruppe bei den Blutparametern, dem Körpergewicht und der Körpertemperatur scheint sich in unserem Modell keine systemische Ausbreitung der Infektion zu entwickeln. Wie bereits in anderen Studien nachgewiesen wurden auch in unserer Untersuchung keine klaren systemischen Verlaufsparemeter zur Quantifizierung einer Infektion gefunden.

3.3 Klinische Zeichen

Bei einigen Modellen, die - wie die Methode von Norden et al.¹²⁵ - eine starke Weichteilbeteiligung zeigten (in 90% waren Abszesse nachweisbar), ist es schwierig zu unterscheiden, ob die Infektion von der Osteomyelitis oder von dem Weichteilinfekt unterhalten wird. Aus diesem Grund plädieren Hienz et al.¹³⁰ dafür die Keime intravenös zu verabreichen, um eine Kontamination des umliegenden Gewebes zu verhindern.

Die in unserer Studie nur in Einzelfällen nachgewiesenen Weichteilprozesse im Bereich der Inokulationsstelle machen deutlich, dass die Osteomyelitis durch die in den Markraum platzierten Keime ausgelöst und nicht durch einen Weichteilfokus unterhalten wurde. Die seltene Weichteilbeteiligung im Bereich der Nageleintrittsstelle zeigt auch, dass es in unserer Studie kein Problem mit einem eventuellen, im Schrifttum beschriebenen¹¹⁸ Austritt von Keimen aus dem Markraum gab. Das Abtrennen des überstehenden Titandrahtes auf dem Niveau des Knochens nach der Implantation scheint die Markhöhle ausreichend zu verschließen; somit konnte auf die Anwendung von Knochenwachs verzichtet werden.

Die bei der klinischen Untersuchung häufig festgestellte Schwellung und die post mortem beobachtete Verbreiterung der distalen Tibia der infizierten Tiere deutet auf ein erhöhtes Infektgeschehen in diesem Bereich hin. Mögliche Ursachen hierfür könnten die operativ bedingte Platzierung der Keime in distale Abschnitte des Markraumes sein und eine durch

den engen Kontakt zwischen Knochen und Implantat gestörte endostale Durchblutung. Auch eine schwerkraftbedingte Deszension der Keime muss in Betracht gezogen werden.

Wie auch schon von Littlewood et al.¹²² konnte in unserer Studie gezeigt werden, dass bei den infizierten Tieren das Knochengewicht signifikant erhöht war. Dies lässt sich durch die verstärkte Knochenneubildung und die massive Ansammlung von polymorphkernigen Zellen im entzündeten Gewebe erklären. Auch unterschied sich das Knochengewicht in der hier vorgestellten Untersuchung in den einzelnen infizierten Gruppen. So hatten die Tiere in Gruppe II, die mit 10^6 KBE inokuliert wurden, ein signifikant höheres Knochengewicht als die Tiere in Gruppe IV, die eine Keimdosis von 10^2 erhalten hatten. Dies deutet auf eine Abhängigkeit des Knochengewichtes zur applizierten Menge an KBE hin.

3.4 Mikrobiologische Auswertung

Alle Tiere, die mit *Staphylokokkus aureus* inokuliert wurden, zeigten ein bakterielles Wachstum sowohl auf den von den Implantaten angefertigten Abrollplatten als auch in den Nährbouillons. Dieses Ergebnis bestätigt, dass es möglich war bei allen Tieren einen Infekt auszulösen und dass ein positiver Nachweis von Bakterien auf der Abrollplatte ausreicht, um am Implantat adhärente Keime nachzuweisen. Zu bedenken ist hierbei, dass der Beweis von am Implantat haftenden Organismen nicht gleich zu setzen ist mit der Diagnose einer Osteomyelitis. Es wären durchaus adhärente Keime nachweisbar ohne dass eine Infektion des Knochens vorliegt, zum Beispiel bei Kontamination der Drähte nach erfolgter Explantation.

73% der von der Eintrittsstelle entnommenen Abstriche wurden positiv auf *Staphylokokkus aureus* getestet, obwohl ein klinisches Korrelat in diesem Bereich, z.B. ein Abszess, fehlte. Dies lässt vermuten, dass die Keime zum Teil die Möglichkeit hatten, aus der Eintrittsstelle auszutreten, ihre Anzahl aber nicht ausreichte, um einen Weichteilinfekt auszulösen. Bei der Interpretation dieser Ergebnisse muss auch berücksichtigt werden, dass oft keine Korrelation zwischen positiven Abstrichen und klinischen Zeichen einer Infektion besteht¹²³.

Die in unserer Studie durchgeführte intrakardiale und somit einmalige Abnahme einer Blutkultur erklärt sich damit, dass hierbei genügend Material für einen automatischen Keimnachweis entnommen wurde und eine sterile Abnahme technisch einfacher möglich war. Die beiden Keime, die in den positiven Blutkulturen identifiziert wurden, gehören zu der physiologischen Standortflora des Mund- und Rachenraumes. Obwohl bei der Blutentnahme unter möglichst sterilen Bedingungen gearbeitet wurde, spricht dies am ehesten für eine Verunreinigung. In den restlichen Blutkulturen konnte kein bakterielles Wachstum beobachtet

werden, was eine systemische Beteiligung zu diesem Zeitpunkt unwahrscheinlich macht. Darouiche et al.¹¹⁴ kamen zu einem gleichen Ergebnis. Norden et al.¹²⁵ konnten hingegen bei Kaninchen, denen 10^6 KBE *Staphylokokkus aureus* in die Markhöhle appliziert wurde, in den ersten 6 Stunden nach der Operation bei 86% der Tiere Keime in der Blutkultur nachweisen. Nach 28 Tagen wurde in ihrer Studie nur eine Kultur positiv getestet. Dies macht deutlich, dass in unserer Untersuchung nicht geklärt werden konnte, ob während des Untersuchungszeitraumes eine Bakteriämie oder Septikämie bei den Tieren aufgetreten ist, da hierfür zu selten Blutkulturen angefertigt wurden und auch keine mikrobiologische Aufarbeitung von Leber und Milz erfolgte.

Die Quantifizierung der KBE pro Gramm Knochen zeigte in unserer Studie, dass je mehr KBE inokuliert wurde, desto höher auch die Anzahl der KBE / g Knochen war. Diese Abhängigkeit von inokulierter Keimmenge und den im Knochenpulver bestimmten KBE wurde in der Literatur noch nicht beschrieben. Einige Autoren beschreiben zwar einen Zusammenhang zwischen inokulierter Keimmenge und Infektrate^{128; 130}, eine Korrelation zwischen applizierter KBE und KBE / g Knochen konnte bisher noch nicht gezeigt werden. In der Studie von Monzon et al.¹²⁸ entwickelten 75% der Tiere, die mit 10^6 KBE inokuliert wurden, eine Knocheninfektion, während sich in der Gruppe, die mit 10^5 KBE infiziert wurden, bei nur 25% der Tiere eine Osteomyelitis ausbildete. Den Grund für die niedrigeren Infektionsraten bei den Tieren, die nur mit einer bakteriellen Suspension inokuliert wurden, im Vergleich mit den Gruppen, die zusätzlich ein präkolonisiertes Implantat erhielten, sahen sie in der geringeren Pathogenität der nicht adhärenen Keime. Die verwendeten schleimproduzierenden Staphylokokken können aufgrund ihrer umgebenden Schicht schlechter mit Wirtsproteinen interagieren, wenn sie nicht an einer Oberfläche haften.

Mit Ausnahme der beiden auf orale Streptokokken positiv getesteten Blutkulturen wurde in allen mikrobiologischen Präparaten immer ein Stamm von *Staphylokokkus aureus* mit gleicher Sensibilitäts- und Resistenzlage identifiziert. Die Antibiogramme waren identisch mit denen, die von dem Versuchskeim vor der Inokulation angefertigt wurden. Obwohl keine Phagotypisierung oder DNS-Analyse der Keime durchgeführt wurde, kann man davon ausgehen, dass es sich stets um denselben Keim handelte. Somit lagen keine Verunreinigungen vor und es kam durch den Kontakt von Knochen und Implantat nicht zu einer Veränderung der Resistenzlage. Auch konnte keine Entwicklung einer am Infekt beteiligten Mischflora beobachtet werden¹³⁷, die für eine chronische humane Osteomyelitis typisch sein soll³.

3.5 Histologische Auswertung

Bei der Auswertung der histologischen Schnitte konnte bei den infizierten Tieren ausnahmslos eine Osteomyelitis identifiziert werden. Alle Präparate zeigten Abszesse und eine kortikale Destruktion. Im Gegensatz zu der Studie von Worlock et al.¹⁵³, die bei allen infizierten Tieren eine Ausbildung von Sequestern beschrieb, konnte in unserer Untersuchung nur bei 83% der Tiere diese pathologische Veränderung beobachtet werden. Eine in der Literatur erwähnte¹⁵² nicht infektiöse periostale Reaktion in den histologischen Schnitten der Tiere, die mit PBS inokuliert wurden, konnte nicht verifiziert werden. Da die Ursache dieser histologischen Veränderung in der durch den Eingriff gestörten periostalen Durchblutung vermutet wird, kann man davon ausgehen, dass durch die minimal invasive Vorgehensweise in unserer Studie die periostale Blutversorgung nicht oder nur gering beeinflusst wurde.

Ähnlich der Abhängigkeit von inokulierter Keimmenge und KBE / g Knochen fällt bei den histologischen Scores auf, dass ein Zusammenhang zwischen applizierter Keimdosis und Höhe des Scores besteht. Leider ließ sich ein signifikanter Unterschied zwischen der Gruppe II und III der diese Korrelation komplettieren würde, nicht nachweisen.

Bei der Betrachtung der vier unterschiedlichen „regions of interest“ im histologischen Präparat zeigte sich die stärkste Destruktion im Bereich der distalen Diaphyse, gefolgt von der Region distale Epi- / Metaphyse und der proximalen Diaphyse. Der Bereich proximale Epi- / Metaphyse erhielt die wenigsten Punkte. Diese Verteilung der Scorewerte lässt vermuten, dass die Infektion des Knochens in der distalen Diaphyse am stärksten ausgebildet ist bzw. an dieser Stelle begonnen hat. Diese Beobachtung bestätigt die unter Punkt 3.3 beschriebenen Lokalisationen klinischer Zeichen.

3.6 Radiologische Auswertung

Wie auch in anderen Studien^{125; 130; 134; 152} konnte in unserer Untersuchung eine beginnende radiologische Veränderung bereits innerhalb von 2 Wochen nach Inokulation der Keime nachgewiesen werden. Sie beinhalteten vor allem Osteolysen (95%), periostale Reaktionen (56%) und Deformitäten (54%). Auch Gerhart et al.¹³⁷ und Hienz et al.¹³⁰ beobachteten die Resorption des Knochens im Sinne von Osteolysen als erstes radiologisches Zeichen der Osteomyelitis, während in den Studien von Worlock et al.¹⁵³ und Eerenberg et al.¹⁵² pathologische Veränderungen mit einer periostalen Reaktion begannen und erst nach 6-8 Wochen Osteolysen nachweisbar waren. Mögliche Erklärungen für diesen differierenden Ablauf radiologischer Anzeichen einer Infektion könnten sein, dass in deren Untersuchungen

Kaninchen verwendet wurden und ein Trauma mit Zerstörung des Periostes erzeugt wurde. Hierbei konnten die applizierten Keime zwischen Periost und Knochen gelangen und schneller eine Reaktion in diesem Bereich auslösen.

Ansonsten sind die radiologischen Ergebnisse unserer Untersuchung durchaus mit den Beobachtungen in anderen Studien zu vergleichen. Spagnolo et al.¹⁴⁰ wertete 30 Tage post infectionem die Röntgenbilder von Ratten aus, die mit 10^6 KBE infiziert worden waren, und beschrieb bei allen Bildern Osteolysen, in 89% eine periostale Reaktion und in 77,7% eine Deformität des Knochens. Im Vergleich dazu zeigten 99% der Röntgenbilder in unserer Studie nach 28 Tagen Osteolysen, 85% periostale Reaktionen und 80% eine Deformität. Die von Spagnolo et al.¹⁴⁰ beobachtete Abnahme periostaler Reaktion von 88,9% nach 30 Tagen auf 66,7% nach 180 Tagen konnte nicht bestätigt werden, wobei der Untersuchungszeitraum in unserer Studie mit 28 Tagen zu kurz ist, um die Daten zu vergleichen.

Der radiologische Score bestätigte eine zuvor vermutete Progression der Zerstörung des Knochens aller infizierten Tiere über den Zeitraum von 4 Wochen. Im Gegensatz zu einer Studie von Korkusuz et al.¹¹⁹, die trotz radiologischer Standardisierung keinen Unterschied zwischen ihren Gruppen erkennen konnte, wurde in unserer Untersuchung ein Zusammenhang zwischen inokulierter Keimmenge und Höhe des Scorewertes beobachtet. Ein statistischer Unterschied konnte nur zwischen den Gruppen II, III und IV festgestellt werden sowie zwischen infizierten Tieren und der Kontrollgruppe. Gruppe III und IV, die auch bezüglich der inokulierten Keimdosis nahe beieinander liegen, unterschieden sich nicht signifikant.

Die Röntgenbilder weniger Kontrolltiere wurden von den Gutachtern positiv gescored. Besonders 2 Wochen post operativ wurde bei den Tieren gehäuft Osteolysen und Weichteilschwellungen entdeckt. Gründe hierfür könnten die Manipulation im Markraum während der Operation sein, die nach einer gewissen Latenzzeit eine Osteolyse vortäuschen kann, und eine operationsbedingte Schwellung, die auf dem postoperativen Bild noch nicht erkennbar war.

Bei der Betrachtung der einzelnen „regions of interest“ nach vier Wochen konzentrieren sich die pathologischen Veränderungen auf den distalen Bereich des Knochens und bestätigen hiermit die histologischen und patho-anatomischen Ergebnisse.

4. Klinische Relevanz und Ausblick

Nosokomiale Infektionen sind zu ca. 50% Fremdkörper assoziiert und werden allein für die Vereinigten Staaten mit einer Häufigkeit von ca. 1 Mio / Jahr angegeben¹⁵⁴.

In der Chirurgie des Bewegungsapparates werden regelmäßig Implantate wie Endoprothesen und Osteosynthesematerial eingesetzt. Der tiefe Wundinfekt stellt nach wie vor eine gefürchtete Komplikation dar. Die Therapie ist meist langwierig, belastend für den Patienten und erfordert wiederholte chirurgische Eingriffe.

Nicht nur aus Sicht der Patienten, sondern auch aus sozioökonomischen Gründen kommen der Therapie, insbesondere aber der Prophylaxe Implantat - assoziierter Infektionen eine besondere Bedeutung zu.

Durch die perioperative systemische Verabreichung von Antibiotika, das Einhalten strikt aseptischer Operationsbedingungen sowie der Einführung minimal invasiver Operationstechniken konnte die Inzidenz Implantat assoziierter Infektionen deutlich gesenkt werden^{57; 59; 60; 66}.

Gegenwärtige Forschungsarbeiten fokussieren auf eine Verbesserung der Biokompatibilität von Biomaterialien und die Entwicklung neuartiger, bioaktiver Implantatoberflächen.

Um neue Strategien zur Prophylaxe und Therapie der Implantat assoziierten Osteomyelitis entwickeln zu können, sind geeignete Tiermodelle unabdingbar. Mit dem vorliegenden Modell kann die Wirksamkeit neuer Therapieformen unterscheidbar und quantifizierbar untersucht werden. Darüber hinaus kann es bei einer Reihe weiterer Fragestellungen hilfreich sein. So wird das Modell in der Arbeitsgruppe z.B. für in vivo Untersuchungen von Biofilmbildung auf Titanoberflächen, der Evaluation bioaktiver, antibakterieller Implantatbeschichtungen und der Untersuchung systemischer Therapieansätze eingesetzt¹⁵⁵;

5. Zusammenfassung

Infektionen des Knochens in Zusammenhang mit Osteosynthesematerialien sind zwar selten, haben aber weitreichende Konsequenzen für den Patienten. Eine langwierige, systemische Antibiotikatherapie, multiple Revisionseingriffe mit all ihren Komplikationen bis hin zur Amputation einer Extremität können die Folge sein. Um die pathologischen Vorgänge bei einer Implantat - assoziierten Osteomyelitis zu untersuchen und Therapiestrategien zu testen, wurde eine neue, verlässliche und einfach zu handhabende Methode entwickelt, um eine Fremdkörper induzierte Osteomyelitis an Ratten zu erzeugen. Hierfür wurde in den Markraum von jeweils 10 Rattentibiae *Staphylokokkus aureus* in drei unterschiedlichen Konzentrationen (10^6 , 10^3 , 10^2 KBE/10 μ l) appliziert und danach ein Titan - Kirschnerdraht implantiert. Einer Kontrollgruppe wurde anstelle der Keime steriler Phosphatpuffer inokuliert. Alle Tiere wurden bis zu ihrer Tötung am 28. postoperativen Tag in wöchentlichen Intervallen untersucht, Röntgenbilder angefertigt, ein Blutbild bestimmt und das Körpergewicht und die Temperatur der Tiere gemessen. Nach der Tötung der Tiere wurde die Infektion des Knochens mit histologischen und mikrobiologischen Methoden erfasst. Von jeweils 5 Tibiae der einzelnen Gruppen wurden longitudinale, 5 μ m dicke Schnitte in einer sagittalen Ebene erzeugt, nach Masson Goldner gefärbt und mittels eines Scores ausgewertet. Die anderen 5 Knochen der jeweiligen Gruppen wurden steril zermahlen und die Keimmenge pro Gramm Knochen quantifiziert.

Das Modell erlaubt eine Standardisierung sowohl der inokulierten Keimmengen als auch der post mortem nachgewiesenen KBE/g Knochen. Die Infektionsrate von 100% wurde mit sehr niedrigen, noch nie zuvor in der Literatur erwähnten Keimmengen reproduzierbar erzeugt. Dies ermöglicht es, die Wirksamkeit von systemisch applizierten Antibiotika oder von neuen Techniken zur lokalen Infektbekämpfung^{155; 156} zu quantifizieren.