

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

DISSERTATION

Antiinfektive Beschichtung intramedullärer Kraftträger
-ein Vergleich der lokalen zur systemischen Antibiose am Rattenmodell-

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Carsten Paul Kurt Surke
aus Berlin

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. M. J. Raschke
2. Prof. Dr. med. J. Windolf
3. Priv.-Doz. Dr. med. H.-J. Bail

Datum der Disputation: 12.10.2007

Meinen Eltern

1	<u>EINLEITUNG</u>	7
1.1	OSTEOMYELITIS	7
1.1.1	DEFINITION UND ALLGEMEINE VORBEMERKUNGEN	7
1.1.2	EINTEILUNG DER OSTEOMYELITIDEN	8
1.1.3	KLINIK UND DIAGNOSESTELLUNG	9
1.1.4	PATHOGENESE	12
1.1.5	PROPHYLAXE	16
1.1.6	BEHANDLUNG	18
1.2	APPLIKATION VON ANTIBIOTIKA	19
1.2.1	PROBLEME BEI DER APPLIKATION VON WIRKSTOFFEN	19
1.2.2	LOKALE FREISETZUNG VON WIRKSTOFFEN IN DER ORTHOPÄDISCHEN CHIRURGIE	20
1.2.3	BIODEGRADIERBARE MATERIALIEN	21
1.2.4	POLY(D,L-LAKTID)	22
1.3	DAS PROJEKT	23
1.3.1	VORVERSUCHE	24
1.4	ZIELE DIESER ARBEIT	24
2	<u>MATERIAL UND METHODEN</u>	25
2.1	VERSUCHSTIERE UND TIERHALTUNG	25
2.1.1	VERWENDETE MATERIALIEN	25
2.1.2	DURCHFÜHRUNG	25
2.2	IMPLANTATE UND BESCHICHTUNG	26
2.2.1	VERWENDETE MATERIALIEN	26
2.2.2	DURCHFÜHRUNG	26
2.3	STUDIENDESIGN	27
2.3.1	INOKULAT	28
2.4	OPERATION UND UNTERSUCHUNG	29
2.4.1	ANÄSTHESIE	29
2.4.2	OPERATION	30

2.4.3	UNTERSUCHUNG	32
2.4.4	RADIOLOGIE	33
2.5	TÖTUNG	34
2.5.1	VERWENDETE MATERIALIEN	34
2.5.2	DURCHFÜHRUNG	35
2.6	ANALYSE	36
2.6.1	FIXATION UND DEHYDRIERUNG DER KNOCHENPRÄPARATE	36
2.6.2	EINBETTUNG	37
2.6.3	MIKROTOMIE	39
2.6.4	ENTPLASTEN UND FÄRBEN	40
2.7	AUSWERTUNG	43
2.7.1	GENTAMICINBESTIMMUNG IM BLUTSERUM	43
2.7.2	KNOCHENGEWICHT	43
2.7.3	RADIOLOGIE	43
2.7.4	HISTOLOGIE	44
2.8	WEITERE METHODEN DES PROJEKTS (NICHT TEIL DIESER PROMOTION)	46
2.8.1	MIKROBIOLOGISCHE AUSWERTUNG (NICHT TEIL DIESER PROMOTION)	46
2.9	STATISTIK	46
2.9.1	RADIOLOGISCHE AUSWERTUNG	47
2.9.2	HISTOLOGISCHE AUSWERTUNG	48
2.9.3	INTER-OBSERVER-VARIABILITÄT	48
3	<u>ERGEBNISSE</u>	49
3.1	AUSSCHLUSSKRITERIEN	49
3.2	BLUTSERUM	49
3.3	KÖRPERTEMPERATUR	50
3.4	KÖRPERGEWICHT	50
3.5	KNOCHENGEWICHT	51
3.6	RADIOLOGISCHE AUSWERTUNG	52
3.7	HISTOLOGISCHE AUSWERTUNG	60
3.8	INTER-OBSERVER-VARIABILITÄT	65
3.9	MIKROBIOLOGISCHE ERGEBNISSE (NICHT TEIL DIESER PROMOTION)	65

<u>4</u>	<u>DISKUSSION</u>	<u>67</u>
<u>5</u>	<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	<u>78</u>
<u>6</u>	<u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	<u>80</u>
<u>7</u>	<u>ABBILDUNGSVERZEICHNIS</u>	<u>88</u>
<u>8</u>	<u>ANHANG</u>	<u>91</u>

1 Einleitung

1.1 Osteomyelitis

1.1.1 Definition und allgemeine Vorbemerkungen

Die Osteomyelitis ist wegen ihrer hohen Therapieresistenz und Rezidivgefahr eine gefürchtete Komplikation in der Chirurgie des Bewegungsapparates. So können chronische Formen auch nach jahrelangem beschwerdefreiem Intervall wieder klinisch apparent werden und Beschwerden verursachen [1,2]. Die Kosten der Behandlung einer Osteomyelitis als chirurgische Komplikation übertreffen dabei die Kosten der ursprünglichen Prozedur um ein vielfaches [3].

Mit Einführung der Basishygiene und Einhaltung der Sterilität sind Infektionen bei elektiven Implantationen von Totalendoprothesen selten geworden. Die Inzidenz wird mit 0,5-5% [4,5,6,7,8] angegeben.

Besonders offene Frakturen prädisponieren für Infektionen des Knochens. In Abhängigkeit von ihrem Schweregrad (Grad I-III) wird die Inzidenz in der Literatur mit 5-33% angegeben, wobei diese mit dem Schweregrad ansteigt [9,10,11,12,13]. Zusätzlich beeinflusst die Lokalisation von Verletzungen die Inzidenz von Infektionen. So treten bei offenen Frakturen der Tibia häufiger tiefe Wundinfektionen auf als bei allen anderen Frakturen [14].

Besondere Bedeutung kommt der Prophylaxe der Osteomyelitis bei der elektiven Behandlung von immunkompromittierten Patienten, Patienten mit rheumatoider Arthritis und von Patienten mit Diabetes mellitus zu, da diese auf Grund der allgemeinen Schwächung der körpereigenen Abwehr, bzw. der eingeschränkten Vaskularisation besonders anfällig für Infektionen sind [3,4].

Der klinische Verlauf der Erkrankung hängt dabei nicht nur von der Quantität und der Virulenz des Erregers, sondern auch von der Schwere des Traumas bedingt durch den operativen Eingriff ab [15,16]. Dieser determiniert die Suppression der

zellulären und humoralen Abwehrmechanismen des betroffenen Individuums. So kann bei gleichem Erregertyp der Verlauf der Erkrankung von hoch akut, lebensbedrohlich bis hin zu klinisch fast inapparent schwanken [17].

Eine gefürchtete Komplikation in der Orthopädie und der Unfallchirurgie ist der Infekt nach endoprothetischem Ersatz. Dabei wird die Infektionsrate von der Art des implantierten Materials und damit dessen Biokompatibilität [18], von der Form und Größe des Implantates [19] sowie der Oberflächenbeschaffenheit [20] beeinflusst.

1.1.2 Einteilung der Osteomyelitiden

Die Einteilung der Osteomyelitis erfolgt entsprechend ihrer Pathogenese [21]. Die häufigste Form ist die exogene (posttraumatische/postoperative) Osteomyelitis. Bedingt durch ein Trauma, oder die Implantation einer Endoprothese wird der Knochen entweder direkt bakteriell kontaminiert und infiziert oder ein Infekt des benachbarten Weichteilgewebes greift auf den Knochen über.

Die vaskulär bedingte Osteomyelitis betrifft Patienten mit vaskulären Insuffizienzen, hauptsächlich Diabetiker, bei denen z.B. eine Weichteilinfektion des Fußes auf den Knochen übergreift.

Durch hämatogene Streuung und Nidation von Bakterien wird die hämatogene Osteomyelitis verursacht. Diese Form findet sich hauptsächlich bei präpubertären Kindern und bei älteren Patienten. Ursache können eitrige Infekte z.B. im HNO- oder Urogenitalbereich sein, aus denen die Bakterien über den Blutstrom in den Knochen gelangen.

In Abhängigkeit von der Kenntnis des Erregers werden *spezifische* von *unspezifischen* Formen der Osteomyelitis unterschieden. Ferner kann nach dem klinischen Verlauf eine *akute* von einer *chronischen* Verlaufsform unterschieden werden. Die akute Osteomyelitis imponiert mit schweren Allgemeinerscheinungen, deutlich erhöhten Entzündungsparametern und klinischen Leitsymptomen der akuten Entzündung. Die *chronische* Osteomyelitis verläuft langwierig mit lokalen Wundheilungsstörungen, häufig geringer Schmerzhaftigkeit, chronischen Hautveränderungen mit Fistelbildung und häufig normalen oder nur gering

erhöhten Entzündungsparametern [22].

1.1.3 Klinik und Diagnosestellung

Die Symptome der akuten Osteomyelitis entsprechen denen der akuten Entzündung. Schwellung, Rötung, Schonhaltung der betroffenen Extremität, lokale Druckschmerzhaftigkeit und hohes Fieber sind die vorherrschenden Krankheitszeichen. Labordiagnostisch finden sich eine Erhöhung der Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG), des C-reaktiven Proteins (CRP) und eine Leukozytose. Diese Veränderungen der Parameter sind physiologische Vorgänge und typischerweise auch bei der Heilung eines Gewebeschadens erhöht. Sie fallen dann üblicherweise aber nach fünf bis sieben Tagen wieder in den Normalbereich [23].

Die Klinik der subakuten Verlaufsform ist weniger eindrucksvoll und zeigt meist einen schleichenden Verlauf, der über Jahre mit uncharakteristisch ziehenden Schmerzen und nur selten mit Fieber andauern kann.

Ähnlich verhält es sich bei der chronischen Form, die bei geringer Schmerzhaftigkeit, durch Hautindurationen und rezidivierende Fistelbildung imponiert. Die Laborparameter können bei beiden Formen gering erhöht sein und der bakterielle Nachweis gelingt nur in einem geringen Teil der Fälle. Hier rücken bildgebende Verfahren, wie die konventionelle Radiologie, CT, MRT, nuklearmedizinische Verfahren und eine sorgfältige Erhebung der Anamnese bei der Diagnosestellung stärker in den Vordergrund [23].

1.1.3.1 Invasive Diagnostik

Die Diagnose der posttraumatischen und der implantatassoziierten Osteomyelitis erfordert sowohl den mikrobiologischen als auch den histologischen Nachweis [2]. Intraoperativ gewonnene Abstriche von Knochen und Implantat und Gewebeproben werden mikrobiologisch bzw. histologisch aufgearbeitet [24,25].

Typisch für die Osteomyelitis ist die Bildung von Eiterherden im Knochenmark

(Markraumphlegmone). Der Markraum ist dann mit zellreichem Granulationsgewebe und entzündlicher serofibrinöser Ödemflüssigkeit angefüllt, die später in hohem Maße leukozytär infiltriert wird. Gelangt Eiter in die Gefäßkanäle wird der Blutfluss behindert und der intraossäre Druck steigt [26]. Venen und Arterien im Umfeld der Infektion thrombosieren, es kommt zu ausgeprägten Knocheninfarkten und Osteoblasten sterben ab [26]. Aktivierte Osteoklasten trennen dann den lebenden vom toten Knochen, wobei die Knochennekrose isoliert im Zentrum des Entzündungsherdes als Sequester zurückbleibt. Reaktive Knochenneubildung kann in der Folge zu einer umgebenden Randsklerose führen. Sequester sind in der Lage, eine eitrige Entzündung über einen langen Zeitraum zu unterhalten, und müssen meist chirurgisch entfernt werden.

Gelangen Granulationsgewebe und eitriges Exsudat durch die Haversschen und Volkmannschen Kanäle (Ostitis) unter das Periost, das besonders beim Erwachsenen fest dem Knochen anliegt, kommt es zunächst zur Periostabhebung und zum charakteristischen lokalen Periostschmerz. In der Folge verbreitert sich das Periost zunächst bindegewebig. Mit der Ausdifferenzierung periostaler Osteozyten zu Osteoblasten kommt es zur Bildung appositioneller Faserknochenbälkchen über dem Abszess. Schließlich kann es durch Fistelbildung zur Eiterentleerung in das umliegende Weichteilgewebe mit anschließender perkutaner Sekretion kommen.

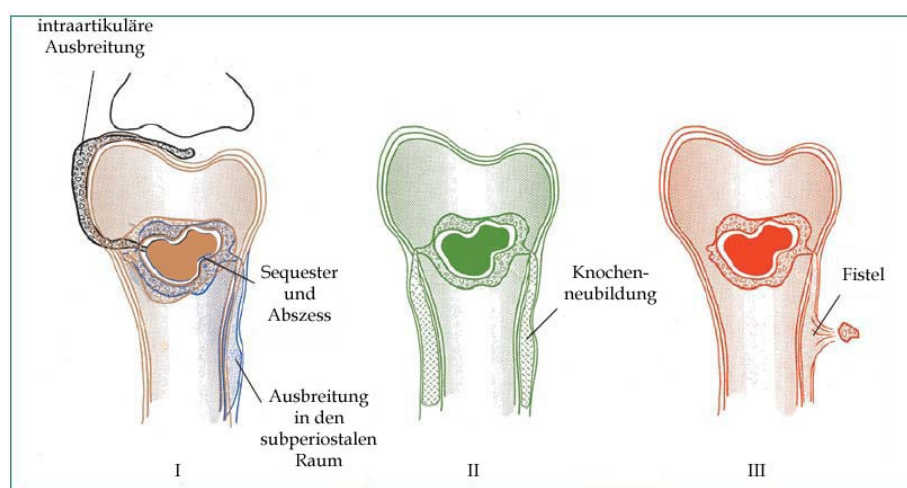


Abb. 1: Schematischer Verlauf der chronischen Osteomyelitis (Abbildung modifiziert aus [21]). In I ist zusätzlich die intraartikuläre Ausbreitung eines Abszesses zu erkennen.

Histomorphologisch imponiert die Osteomyelitis außerdem durch ausgeprägte Osteolysen und Knochennekrosen. Bricht die Entzündung in benachbarte Gelenke ein können eitrige Arthritiden entstehen. Abbildung 1 zeigt schematisch den Verlauf chronischer Osteomyelitiden.

1.1.3.2 Bildgebende Verfahren

Der nichtinvasive Nachweis der Osteomyelitis ist schwierig. Konventionelle Röntgenbilder stellen jedoch auf Grund der allgemeinen Verfügbarkeit, der relativ einfachen Interpretation und der niedrigen Kosten ein unschätzbare diagnostisches Verfahren dar.

Radiologisch sichtbare Veränderungen des Knochengewebes sind beim Menschen in der Regel erst 10 bis 14 Tage nach Auftreten klinischer Symptome nachweisbar [2,27]. Periostale Reaktionen und ein sich um das Implantat bildender Resorptionssaum („Peri-Implant-Reaction“) sind ein frühes und verlässliches Merkmal akuter Osteomyelitiden [28,29]. Weitere initiale Anzeichen für einen Infekt können Schwellung der Weichteile, durch Verbreiterung des Periosts aufgetrieben wirkende Röhrenknochen und unscharf begrenzte fleckige Aufhellungen im Bereich der Kortikalis als Zeichen einer fokalen Osteopenie sein. Später bildet sich ein sklerosierender Randsaum um die Aufhellungen. Die Osteosklerose ist ein Indikator für eine bereits länger bestehende Osteitis [2].

Weitere radiologische Zeichen für die Osteomyelitis im fortgeschrittenen Stadium sind die Zerstörung kortikalen Knochens, fortschreitende Osteolysen als Zeichen kaverner Abszesseinschmelzungen und die Sequesterbildung. Langandauernde Osteomyelitiden können, bedingt durch ständige Umbauvorgänge zu zum Teil erheblichen Knochendeformierungen führen. Abbildung 2 zeigt das Röntgenbild einer ausgeprägten Osteomyelitis der Tibia beim Menschen.



Abb. 2: Röntgenbilder einer linken Tibia eines 2-jährigen Jungen im p.a. (links) und lateralem (rechts) Strahlengang. Es zeigt sich insbesondere diaphysär eine hochgradige Osteomyelitis. Der Schaft ist infolge der entzündlichen Prozesse in der Achse deformiert. Kortikalis und Markraum sind durch die ausgeprägte Sklerosierung kaum voneinander abzugrenzen. Medialseitig haben sich zwei Sequester gebildet. In der proximalen Metaphyse ist die Spongiosa nicht mehr zu erkennen. Die distale Metaphyse ist osteolytisch bedingt deutlich aufgeheilt.

Ein zusätzliches, wenn auch späteres Indiz für eine Infektion des Knochens ist die Lockerung des Implantates [3,22,28].

Weitere Methoden in der Frühdiagnostik und Bewertung von Osteomyelitiden beinhalten die Computertomographie zur differenzierteren Suche nach Sequestern, die Magnetresonanztomographie zur Einschätzung von Weichteilbeteiligung und Knochenvitalität sowie der Ausdehnung einer eventuellen Markraumphlegmone. Die Leukozytenszintigraphie zur Darstellung und Beurteilung einer Entzündungsreaktion spielt zur Zeit jedoch nur eine untergeordnete Rolle [11,30].

1.1.4 Pathogenese

Unzureichend stabilisierte und nicht heilende Frakturen prädisponieren für das Entstehen einer hämatogenen Osteomyelitis [31,32]. In diesen Fällen findet ein Infektfokus Anschluss an das Gefäßsystem und die Streuung der Bakterien erfolgt hämatogen. Diese können sich dann in immungeschwächten oder schlecht vaskularisierten Regionen einnisten.

Offene knöchernen Verletzungen oder chirurgische Interventionen, bei denen die Kontinuität der kutanen Schutzbarriere unterbrochen wird, bieten Mikroorganismen eine Eintrittspforte in ein Areal, das durch Minderperfusion und Hämatome bereits

kompromittiert ist. Verunreinigungen oder Fremdkörper bieten ideale Bedingungen zur Adhäsion und Multiplikation von Bakterien. Hierbei geben nekrotisches Weichteil- und Knochengewebe mit ihrer fehlenden Durchblutung und der damit fehlenden Immunkompetenz zusätzlich Gelegenheit zur Keimbesiedelung [33,34,35,36].

Als Infektionsursache gelten hier weniger die Bakterien, die am Unfallort in die Wunde gelangt sind, sondern vielmehr fakultativ pathogene Keime der wirtseigenen Flora oder pathogene Spezies aus dem nosokomialen Bereich. Wichtigste Pathogenitätsfaktoren im Rahmen von posttraumatischen Infektionen sind hierbei die Dauer vom Zeitpunkt des Unfalls bis zum Ende einer operativen Versorgung [15], in dem die Keime das betroffene Areal besiedeln können. Auch der Grad des den Knochen umgebenden Weichteilschadens korreliert mit dem Risiko einer nachfolgend entstehenden Infektion [37].

1.1.4.1 Der Erreger

Die alleinige Anwesenheit von Bakterien in einer Wunde reicht nicht aus eine Infektion zu verursachen. 50-70% der offenen Frakturen sind zwar bakteriell kontaminiert, aber bei nur einem geringen Teil kommt es tatsächlich zu einer Infektion [1,12]. Bestimmende Faktoren sind hierbei die Größe eines Defektes, die Kompromittierung der Abwehrlage des Wirtes sowie die Pathogenität einer Bakterienspezies [1,37].

Der häufigste Erreger bei der vorherrschende posttraumatischen Osteomyelitis ist *Staphylococcus aureus*, gefolgt von koagulasenegativen Staphylokokken, wie *Staphylococcus epidermidis* [2,26,38]. Zunehmend werden allerdings auch Anaerobier, Mischinfektionen und besonders gramnegative Erreger nachgewiesen [13,39]. Bei der Entstehung implantatassoziiertes Infektionen sind *Staph. aureus* und *Staph. epidermidis* gleichermaßen beteiligt, wobei *Staph. aureus* bevorzugt auf metallischen Implantaten gefunden wird [40].

Staph. aureus ist ein Kommensale, für den der Mensch ein natürliches Reservoir darstellt. 30-50% aller gesunden Erwachsenen sind mit *Staph. aureus* kolonisiert,

davon 10-20% dauerhaft [41,42]. *Staph. aureus* besiedelt bevorzugt Schleimhäute und feuchtwarme Hautareale und kann durch Läsionen in benachbarte Gewebe gelangen, wo er adhären und eine Infektion auslösen kann. Ob der Infekt eingedämmt werden kann oder sich ausbreitet hängt von dem komplexen Zusammenspiel von Virulenzfaktoren des Bakteriums und Abwehrmechanismen des Wirtsorganismus ab [33]. Rezeptoren an der Oberfläche des Bakteriums (siehe Abbildung 3), genannt bakterielle Adhäsine, befähigen den Mikroorganismus an Serumbestandteile und extrazelluläre Matrixproteine wie Fibronectin und Kollagen zu binden. Die Produktion verschiedener Toxine (z.B. α -Toxin, Toxic-Shocksyndrome-Toxin, Enterotoxin B) durch *Staph. aureus* induziert bzw. moduliert eine Abwehrreaktion des Wirtes [43].

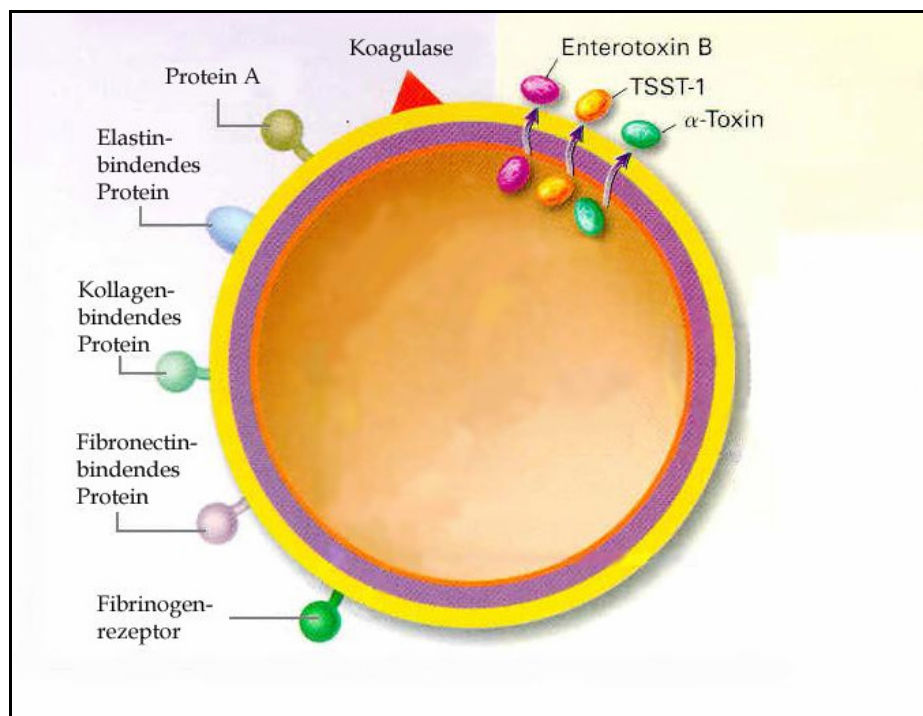


Abb. 3: Schematische Darstellung von *Staphylococcus aureus* mit exprimierten Oberflächenproteinen (linke Seite) und den sezernierten Toxinen (rechte Seite) (Abbildung modifiziert aus [33]).

Ein weiterer Pathogenitätsfaktor ist die Synthese von Biofilm. Treten Bakterien nicht im planktonischen Zustand, sondern in ihrer adhärenen Form auf, haben sie die Fähigkeit eine extrazelluläre Polysaccharidmatrix (Glycocalix) zu synthetisieren sobald sie an eine passende Oberfläche Anschluß gefunden haben [35,44]. Die

Glycocalix bildet eine Verbindung mit der entsprechenden Oberfläche und legt sich wie eine schützende Schicht über die Bakterien. In diese Matrix eingeschlossene Bakterienpopulationen werden als Biofilm bezeichnet. Abbildung 4a zeigt schematisch die Formation von Biofilm auf der Oberfläche eines Fremdkörpers. Die Glykokalix schützt die Bakterien vor dem Zugriff durch Antibiotika [45], verhindert ihre Phagozytose [35,46] und schwächt die Funktion der B- und T-Lymphozyten [47]. Sie dient als Ernährungsmedium [48] und erleichtert den Bakterien sogar die Kommunikation untereinander und damit den Austausch von Virulenzfaktoren [44,46]. Abbildung 4b zeigt eine elektronenmikroskopische Aufnahme von *Staph. aureus* umgeben von einer Glykokalix.

Charakteristisch für diesen Zustand der Bakterien ist der verlangsamte Stoffwechsel der Mikroorganismen [45,48], wodurch die Wirkung von Antibiotika zusätzlich beeinträchtigt wird. Es konnte gezeigt werden, dass innerhalb solcher Biofilme verschiedene Bakterienpopulationen synergistisch existieren können [49], wodurch ein stabiles Ökosystem geschaffen wird, das jahrelang hartnäckig bestehen kann [50].

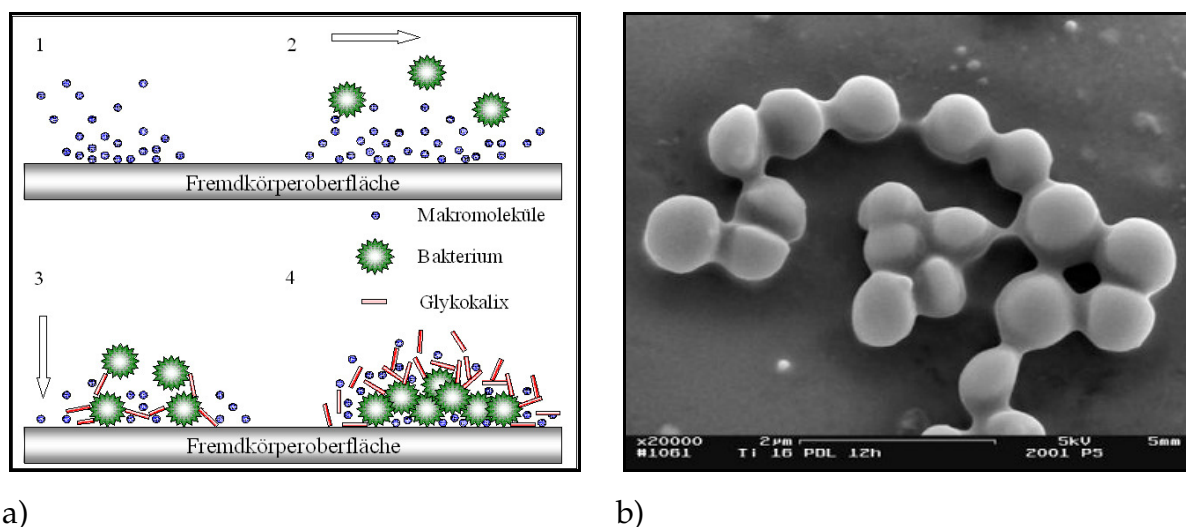


Abb. 4: a) Abfolge der Entstehung von Biofilm auf Fremdkörperoberflächen durch 1) Benetzen der Fremdkörperoberfläche mit Serumbestandteilen, 2) Einwanderung von Bakterien, 3) initiale Adhäsion und Verankerung durch Produktion von Glykokalix, 4) Vermehrung der adhärenen Mikroorganismen. (Abbildung modifiziert aus [51])

b) Elektronenmikroskopische Aufnahme einer Population *Staph. aureus* umgeben von einer Glykokalix (2000x).

1.1.4.2 Fremdmaterial und Infektion

Das Risiko einer Infektion ist in Anwesenheit von Fremdmaterial deutlich erhöht [33,52]. Dabei spielt unter anderem die Art des Fremdmaterials eine Rolle. So konnte gezeigt werden, dass bei Infektionen im Bereich von Metallimplantaten vermehrt *Staph. aureus* nachgewiesen werden kann, während z.B. *Staph. epidermidis* eine hohe Tendenz zur Adhäsion an Kunststoffimplantaten aufweist [18,46].

Initial erfolgt die Adhäsion von Mikroorganismen an das Fremdmaterial durch physikochemische Vorgänge, wie Polarität, van der Waal's Kräfte und hydrophobe Interaktionen [53]. Die von *Staph. aureus* exprimierten Adhäsine (MSCRAMM, „microbial-surface components recognizing adhesive matrix molecules“) ermöglichen dann dem Bakterium die Adhäsion an Serumbestandteile wie Fibronectin und Fibrinogen, die den Fremdkörper überziehen, sobald er in den Körper eingebracht ist (Abbildung 3 und 4a) [54,55].

Der eindeutig negative Einfluss von Fremdmaterialien auf die lokale Infektionsresistenz konnte bereits 1957 demonstriert werden: Die alleinige Anwesenheit eines Seidenfadens im bakteriellen Inokulationsgebiet verringerte die benötigte Menge *Staph. pyogenes* zur Auslösung eines subkutanen Abszesses am Menschen um den Faktor 10^3 [56]. Die Ursachen für die erhöhte Infektanfälligkeit sind vielfältig und zu großen Teilen noch nicht verstanden. Es zeigte sich jedoch unter anderem eine drastisch eingeschränkte Phagozytosefähigkeit von neutrophilen Granulozyten in Anwesenheit von Fremdmaterial [57].

1.1.5 Prophylaxe

Die Osteomyelitis ist ein schmerzhafter Prozess für den Patienten, der mit einer langen und aufwendigen Behandlung einhergeht und nicht selten den Funktionsausfall oder gar Verlust der betroffenen Extremität herbeiführt. Der Vermeidung ihrer Entstehung gilt daher größte Aufmerksamkeit.

Mehrere Faktoren tragen entscheidend zur Verringerung der Inzidenz von

postoperativen Wundinfektionen und damit verbundenen Komplikationen bei:

Bei offenen Verletzungen gilt: je kürzer die Zeit vom Unfall bis zur chirurgischen Versorgung, desto geringer die Rate der Wundinfektionen [21].

- Chirurgische Eingriffe sollten in reinraumtechnischen Einrichtungen und unter Einhaltung der Sterilitätskriterien sowie der Basishygiene durchgeführt werden [38,58].
- Wichtig ist die Sanierung möglicher Infektfoci, um eine haematogene Streuung und damit die sekundäre Ausbildung einer Infektion bei elektiven Operationen zu vermeiden [59].
- Die Erfahrung des Operateurs, der kunstgerechte Einbau von Endoprothesen bzw. die stabile Versorgung von Frakturen, aber auch kürzest mögliche OP-Zeiten bestimmen das Outcome maßgeblich bei der operativen Versorgung [3,17].
- Die korrekte Auswahl und zeitgerechte Applikation einer perioperativen Antibiotika-Prophylaxe verringern die Inzidenz von postoperativen Wundinfektionen [8,60,61].

Die kurzfristige, meist einmalige Gabe eines Antibiotikums kurz vor oder spätestens während eines operativen Eingriffs wird als perioperative Antibiotika-Prophylaxe bezeichnet. Die Inzidenz der postoperativen Wundinfektionen ist seit ihrer Einführung vor ca. 20 Jahren deutlich rückläufig [62].

Eine signifikante Reduktion des Risikos für eine Wundinfektion liegt bei einem Applikationszeitraum von einer Stunde vor bis zwei Stunden nach Beginn des operativen Eingriffs. Bei offenen Frakturen sollte der frühestmögliche Zeitpunkt für die Applikation gewählt werden [59]. Abhängig von der Halbwertszeit des verwendeten Antibiotikums kann eine zweite Dosis bei länger andauernden Operationen erwogen werden, um für die Dauer der Risikoperiode einen

ausreichenden Spiegel sicherzustellen [60]. Jede Applikation von Antibiotika nach Wundverschluss hat keinen weiteren Einfluss auf die Wundinfektionsrate [63].

Die Auswahl des Antibiotikums sollte sich nach dem erwarteten Erregerspektrum, das sich entsprechend der Lokalisation des OP-Gebietes und seiner unmittelbaren Haut- und Schleimhautumgebung ableiten lässt erfolgen. Weiterhin sollte die Entscheidung über die Auswahl des Antibiotikums nach Risikofaktoren, die der Patient mitbringt und nach der Keim- und Resistenzstatistik des Krankenhauses risikoadaptiert und individualisiert getroffen werden [64].

Die Expertenkommission der Paul-Ehrlich-Gesellschaft (PEG, 2004) empfiehlt als antimikrobielle Prophylaxe im Falle von Gelenkersatzoperationen, Revisionseingriffen mit Implantation von Fremdmaterialien und Osteosynthesen mit einer Infektionsvorgeschichte oder weiteren Risikofaktoren den Einsatz von Cephalosporinen der 1. oder 2. Generation. Weiterhin werden Aminopenicilline in Kombination mit einem Beta-Laktamase-Inhibitor (BLI) oder Clindamycin gegebenenfalls in Kombination mit einem Aminoglykosid empfohlen [63].

Bei der chirurgischen Versorgung offener Frakturen wird eine Kombination aus Aminopenicillin/BLI oder Cephalosporinen der 2. Generation empfohlen. Diese Prophylaxe muss je nach Grad der Verunreinigung der Wunde mit einem Antibiotikum für das anaerobe Spektrum kombiniert werden [63]. Reserveantibiotika wie Vancomycin und Imipenem sollten nicht zur Standardprophylaxe gehören.

1.1.6 Behandlung

Im Gegensatz zu vielen anderen Infektionskrankheiten sind die Osteomyelitis und die Osteitis trotz moderner therapeutischer Konzepte nicht sicher zu behandeln und stellen hauptsächlich aus der Sicht des Betroffenen, aber auch aus sozioökonomischer Sicht eine besondere Herausforderung dar [28]. Die frühzeitige Diagnose und der rechtzeitige, adäquate Therapiebeginn sind für das Behandlungsergebnis entscheidend.

Die Therapie der Wahl im Falle einer Infektion ist das ausgiebige, häufig mehrfache chirurgische Débridement, die Stabilisierung von Frakturen und die Versorgung von Haut- und Weichgewebedefekten [65]. Im Falle der Infektion nach

endoprothetischem Ersatz wird häufig ein mehrzeitiges Vorgehen angewendet. Zunächst wird der Ausbau mit ausgeprägtem chirurgischen Débridement in Kombination mit einer systemischen Antibiotikatherapie empfohlen [64,66]. In einem zweiten Schritt erfolgt der Wiederaufbau des Gelenkes nach 8-12 Wochen. Die Antibiotikabehandlung sollte initial hochdosiert und nach Möglichkeit gemäß Antibiogramm parenteral erfolgen [63]. Zur Vermeidung von Resistenzentwicklungen ist es sinnvoll Kombinationen von Antibiotika synergistisch einzusetzen, statt sie als Monotherapeutika zu verwenden [64].

Eine Heilung unter rein konservativer Therapie ist sehr selten möglich. Der Versuch bleibt bei Patienten vorbehalten, bei denen durch hohe Komorbidität eine Operation mit zu hohen Risiken verbunden und damit kontraindiziert ist.

Wichtig zu erwähnen ist die kindliche hämatogene Osteomyelitis. Hier ist die sofortige erregereempfindliche gezielte i.v.-antibiotische Therapie für mindestens drei Wochen von entscheidender Bedeutung. Dies kann in einigen Fällen bereits zur Ausheilung führen. Bei entsprechenden Befunden müssen gegebenenfalls Entlastung von Abszessen, Freilegung und Entfernung nekrotischen Materials und die Einlage von Drainagen erfolgen [67].

1.2 Applikation von Antibiotika

1.2.1 Probleme bei der Applikation von Wirkstoffen

Die gezielte Applikation von Medikamenten stellt in der Medizin eine große Herausforderung dar. Topisch werden Präparate im Allgemeinen in Form von Augentropfen und Salben oder durch Inhalation appliziert. Eine weitere Möglichkeit der lokalen Anwendung ist die intrakavitäre Instillation von Wirkstoffen z.B. zur antiinflammatorischen Therapie oder zur Rezidivprophylaxe bei Tumoren.

Viele Wirkstoffe können aus verschiedenen Gründen bisher jedoch nicht lokal appliziert werden. Sie werden, um an den gewünschten Ort zu gelangen, systemisch verabreicht. Dies geschieht im Allgemeinen in Form von Tabletten oder intramuskulären, bzw. intravenösen Injektionen.

Die systemische Applikation von Medikamenten birgt teilweise schwer einschätzbare Risiken. Um bei einem lokalen Geschehen eine ausreichend hohe Wirkstoffkonzentration vor Ort zu erreichen muss häufig ein Vielfaches der Dosis eines Medikamentes appliziert werden, die lokal verabreicht ausreichen würde. Dies kann zu hohen Wirkstoffspiegeln eines Medikamentes im Körper des Patienten und damit zu einem erhöhten Risiko für das Auftreten von Nebenwirkungen führen.

Alternative Wege zur Applikation von Arzneistoffen werden intensiv beforscht. Durch chemische Modifikation sollen Substanzen mit maßgeschneiderten Eigenschaften entstehen. Beim „Genetic Engineering“ sollen Zellen durch Einschleusung von Genen dazu gebracht werden gewünschte Substanzen zu produzieren.

Eine weitere Möglichkeit ist die Entwicklung von Systemen, die bereits bekannte Arzneimittel auf neue Art und Weise freisetzen können damit ein neues Verwendungsspektrum für diese Wirkstoffe aufzeigen. Beispiele hierfür sind der Einschluss von Wirkstoffen in z.T. synthetisierte Vesikel oder die kontrollierte Freisetzung aus lokal applizierbaren biodegradierbaren Matrixmaterialien [68].

1.2.2 Lokale Freisetzung von Wirkstoffen in der orthopädischen Chirurgie

Im Rahmen der Infektionsprophylaxe und bei Rezidiveingriffen bei orthopädischen und traumatologischen Operationen wird seit langem antibiotikahaltiger Knochenzement, bestehend aus Polymethylmethacrylat (PMMA), verwendet [69]. Auch Zementspacer und (PMMA)-Ketten werden zur lokalen Applikation von Antibiotika verwendet [70]. Die Freisetzungskinetik der Wirkstoffe aus dem Zement ist noch Gegenstand von Diskussionen und in vitro Studien zeigen, dass nur minimale Mengen (5-8%) des inkorporierten Antibiotikums letztendlich freigesetzt werden [40]. Die zweiphasige Freisetzungskinetik des Antibiotikums aus dem Zement sichert hohe Wirkstoffkonzentrationen vor Ort in der Initialphase [71]. Gleichzeitig konnte jedoch gezeigt werden, dass das Antibiotikum sich weiterhin

über einen langen Zeitraum in zumeist subinhibitorischen Konzentrationen aus dem Zement löst. Es steht zur Diskussion, das hierdurch die Resistenzbildung von Bakterien gefördert wird [40,70,72].

Das am häufigsten verwendete Antibiotikum in Verbindung mit PMMA ist Gentamicin. Gentamicin ist ein Antibiotikum aus der Gruppe der Aminoglykoside. In der Klinik werden diese bei schweren Infektionen gegen gramnegative Stäbchen, Staphylokokken und neuere Präparate dieser Substanzgruppe auch gegen Pseudomonaden eingesetzt. Aminoglykoside wirken über eine irreversible Bindung an die 30S-Untereinheit bakterieller Ribosomen, wodurch die Proteinbiosynthese deletär und bakterizid wirksam zur Bildung funktionsuntüchtiger „Nonsense-Proteine“ umgelenkt wird [73]. Gentamicin hat besondere Bedeutung im Einsatz gegen gramnegative Problemkeime und ist in systemischer Applikation vor allem bei schweren Infektionen mit Sepsis, Endokarditis und Osteomyelitis indiziert.

Eine große Einschränkung bei der Anwendung von Aminoglykosiden stellt deren Nephro- und Ototoxizität bei systemischer Applikation dar. Diese steigt proportional zur verabreichten Gesamtdosis an. Ein therapeutisches Drug-Monitoring und eine besonders strenge Indikationsstellung sind daher besonders bei Risikopatienten indiziert [74].

1.2.3 Biodegradierbare Materialien

Biodegradierbare Materialien finden bereits seit längerer Zeit Anwendung in der Medizin. Im Rahmen der Wundheilung werden seit den späten 70er Jahren degradierbare Polymere z.B. als resorbierbare Fäden eingesetzt [75].

Auch als Ersatz für biostabile Materialien werden verschiedene Arten von biodegradierbaren Stoffen erforscht. Bei genau gestellter Indikation finden sie z.B. in der Unfallchirurgie und Orthopädie bereits Anwendung als Ersatz für Metallimplantate [76,77]. Ihr Vorteil gegenüber biostabilen Materialien ist der weitgehend rückstandlose Abbau im Körper. Durch diese Eigenschaft erübrigen sich erneute Operationen zur Entfernung der Implantate [78,79].

Als Matrixmaterialien finden biodegradierbare Polymere Anwendung bei der kontrollierten Freisetzung von Arzneistoffen [80]. Ihr Vorteil gegenüber der

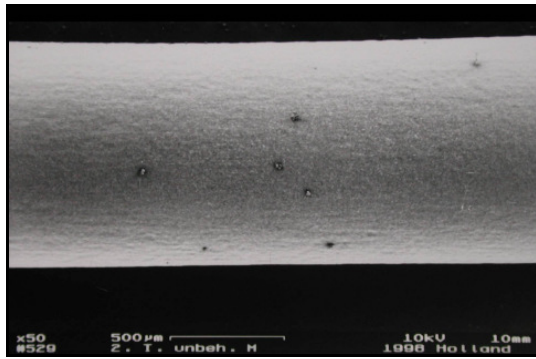
konventionellen wiederholten Gabe von Medikamenten ist die Freisetzung von Arzneistoffen an dem Ort, an dem sie benötigt werden. Durch Diffusion und den Abbau der Trägersubstanz erfolgt die Freisetzung der inkorporierten Wirkstoffe.

1.2.4 Poly(D,L-Laktid)

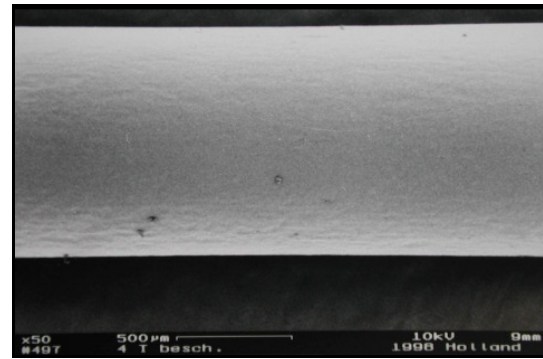
Poly(D,L-Laktid) (PDLLA) ist ein inertes, amorphes PLA-Stereo-Co-Polymer aus der Gruppe der Poly(α -Hydroxycarbonsäuren), das aus Milchsäure synthetisiert wird. Das Abbauverhalten von PDLLA entspricht der Bulk-Degradation [81]. Dabei quillt zunächst das Polymer geringfügig durch die Einlagerung von Wasser auf. Die hydrolysierbaren Bindungen der gesamten Polymermatrix werden gleichmäßig gespalten und die mittlere Molmasse des Polymers nimmt homogen ab [82]. Schließlich werden die entstandenen niedermolekularen Fragmente im umliegenden Medium gelöst und zu freien Milchsäuremolekülen hydrolysiert. Als Zwischenprodukt des Kohlenhydratstoffwechsels werden diese im Citratzyklus zu Kohlendioxid und Wasser abgebaut und über die Lungen abgeatmet bzw. über den Urin ausgeschieden.

Im menschlichen Organismus wird PDLLA je nach Menge über einen Zeitraum von 12-16 Monaten abgebaut [83]. Danach konnten weder in Faeces, Urin, noch in den Organen Rückstände des Polymers nachgewiesen werden [84].

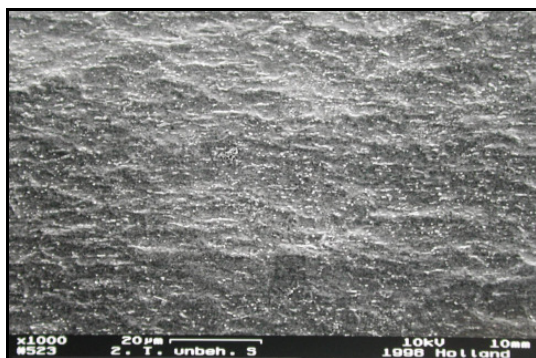
Bei der Verwendung von PDLLA als lokales Drug delivery system erwies sich eine ca. 10 μm dicke lackartige PDLLA-Schicht, aufgebracht auf Implantate, als ausgesprochen stabil gegenüber mechanischen Belastungen. Beschichtete Titanimplantate zeigten nach Implantation und Explantation einen Verlust der Gesamtbeschichtungsmasse von weniger als 5% [85]. Auch die nach sofortiger Explantation durchgeführte elektronenmikroskopische Analyse ergab eine gleichmäßig erhaltene PDLLA-Schicht. Abbildung 5 zeigt vergleichend jeweils einen unbeschichteten und einen mit PDLLA beschichteten Titan Kirschner-Draht.



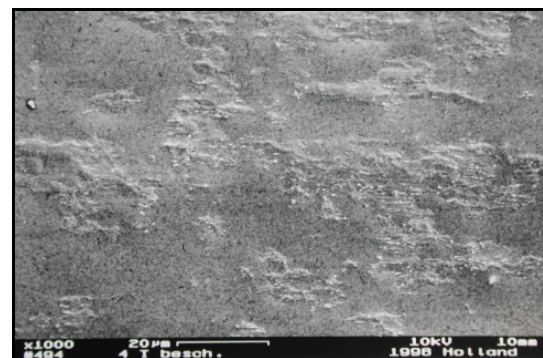
a)



b)



c)



d)

Abb. 5: Dargestellt sind elektronenmikroskopische Aufnahmen zweier Titan Kirschner-Drähte. Aufnahmen a) und c) zeigen die Titanoberfläche eines unbeschichteten Drahtes, während b) und d) die Oberfläche eines identischen Drahtes mit einer PDLLA-Beschichtung zeigen (Vergrößerungen: a) und b) 50x, c) und d) 1000x) (aus [86]).

1.3 Das Projekt

In verschiedenen Vorarbeiten konnte bereits gezeigt werden, dass PDLLA als biodegradierbarer Drug-Carrier auf Implantaten zur lokalen Applikation von Wirkstoffen wie Wachstumsfaktoren im Rahmen der Knochenheilung [87] oder Antibiotika im Rahmen der Osteomyelitisprophylaxe [88] verwendet werden kann. In vitro und in vivo Biokompatibilitätstestungen zeigten dabei keine negativen Effekte auf die Zellen und keine Fremdkörperreaktionen [86,89].

Das eigens entwickelte, kalte Beschichtungsverfahren erlaubt Proteine oder andere Wirkstoffe unter sterilen Bedingungen in die lackartige PDLLA-Beschichtungsmasse einzubringen, ohne dass diese dabei beschädigt oder ihre Eigenschaften verändert werden [85].

Die Wirkstoffe werden durch Diffusion und Degradation direkt am Implantat-Knochen-Interface freigesetzt, so dass systemische Nebenwirkungen vermieden werden können.

1.3.1 Vorversuche

Zunächst wurde ein neues, kliniknahes Modell der akuten, implantatassoziierten Osteomyelitis am Tiermodell der Ratte etabliert [90].

In vitro Studien zeigten, dass in die Beschichtung eingebrachtes Gentamicin in hohen lokalen Dosen bei erhaltener bakterizider Wirksamkeit freigesetzt wird [91].

In einer weiteren experimentellen Studie wurden mit Gentamicin beschichtete Titan Kirschner-Drähte in Rattentibiae nach Inokulation einer *Staph. aureus* Suspension implantiert. Hier konnte die Effektivität einer gentamicinhaltigen Beschichtung zur Prophylaxe einer implantatassoziierten Infektion bereits nachgewiesen werden [88].

1.4 Ziele dieser Arbeit

Ziel dieser Studie war es, die Effizienz von lokal appliziertem Gentamicin im Vergleich zur systemischen, gewichtsadaptierten perioperativen Prophylaxe an einem etablierten Osteomyelitismodell zu vergleichen. Für die lokale Applikation wurde das Antibiotikum aus einer biodegradierbaren Poly(D,L-Laktid)-Beschichtung von Titanimplantaten freigesetzt und mit einer systemischen Applikation sowie mit einer Kombination beider Applikationsformen verglichen.

Die Ausbildung einer Osteomyelitis wurde durch klinische, radiologische, mikrobiologische und histologische Analysen untersucht.

2 Material und Methoden

2.1 Versuchstiere und Tierhaltung

2.1.1 Verwendete Materialien

Sprague-Dawley Ratte

(Alter: 5 Mo, Geschlecht: weiblich)

V-Alleinfutter für Ratten/Mäusehaltung

(ssniff R/M=H, 10mm=nitrosaminarm)

Typ 3-Käfige

Harlan Winkelmann

Borchen, Deutschland

Ssniff Spezialdiäten

Soest, Deutschland

2.1.2 Durchführung

Als Versuchstiere dienten etwa fünf Monate alte weibliche Sprague-Dawley Ratten (n=60) mit einem Körpergewicht von 250-300 g. Diese Tiere werden speziell für Tierversuche gezüchtet und sind über den Fachhandel in ausreichender Anzahl erhältlich. Zur Akklimatisierung und Gewöhnung an die neue Umgebung wurden die Tiere eine Woche vor Beginn des Versuchs in die Tierversuchsanstalt der Charité-Campus Virchow, Berlin angeliefert. Dort erfolgte die Haltung von jeweils vier Tieren in einem Typ 3-Käfig bei einem Tag-/Nachtrhythmus von 2x12 Stunden und einer artgerechten Umgebungstemperatur von 22°C. Wasser und Nahrung waren in den Käfigen jederzeit zugänglich. Diese Bedingungen wurden über den gesamten Beobachtungszeitraum bis zum Tag der Tötung aufrechterhalten, um möglichst wenige externe Stressoren, die den Verlauf des Versuchs hätten beeinflussen können, zu erzeugen.

2.2 Implantate und Beschichtung

2.2.1 Verwendete Materialien

Kirschner-Draht Ø 0,8 mm, Titan	Stratec Medical Oberdorf, Schweiz
Poly(D,L-Laktid) (Resomer 203, MW 30kD)	Boehringer Ingelheim, Deutschland
Chloroform (UN 1888)	Merck-Schuchard Hohenbrunn, Deutschland
Gentamicinsulfat	Synopharm Barsbüttel, Deutschland
Sterilfilter RC25 weiß	Sartorius Göttingen, Deutschland

2.2.2 Durchführung

In Vorbereitung auf die Operation wurden die als Implantate dienenden Kirschner-Drähte entsprechend der Gruppeneinteilung beschichtet.

Um das PDLA und das Gentamicin auf die Implantate aufzubringen wurde der „Drug-Carrier“, welcher zunächst als Pulver vorliegt, in Lösung gebracht. Dazu wurde das PDLA in Chloroform in einem Verhältnis von 400 mg zu 6 ml gelöst. Mit 1,5 ml des PDLA/Chloroform Gemisches konnten ungefähr 100 Drähte beschichtet werden. Diese Lösung wurde durch den Sterilfilter in ein steriles Gefäß filtriert. Von nun an wurde unter einer Sterilbank mit sterilen Materialien weitergearbeitet. Das verwendete Antibiotikum war Gentamicinsulfat. Um eine Konzentration der Gentamicinbase von 10% in der Beschichtung zu erreichen mussten 66,4 mg des Gentamicinsulfates der Lösung hinzugefügt werden. Da sich das Gentamicin in Chloroform nicht löst, wurde mit der entstandenen Suspension unter ständigem Rühren mit einem Magnetrührer bei 200 rpm weitergearbeitet. Die bereits sterilisierten Kirschner-Drähte wurden dann in die PDLA/Chloroform/Gentamicin-Suspension getaucht, getrocknet und danach

erneut beschichtet. Anschließend wurden die beschichteten K-Drähte steril verpackt.

2.3 Studiendesign

Der Versuch wurde unter der Projektnummer G 0296/99 vom Landesamt für Arbeitsschutz, Gesundheitsschutz und technische Sicherheit Berlin genehmigt. Verwendet wurden 60 Ratten, denen jeweils ein Kirschner-Draht in den Markraum der linken Tibia implantiert wurde. Die Hälfte der Tiere erhielt eine perioperative, systemische Antibiotikaphylaxe mit Gentamicin. Jeder Gruppe wurden randomisiert zehn Tiere zugeordnet, welchen im Laufe der Operation 10µl einer *Staphylococcus aureus* Suspension inokuliert wurden. Die Gruppen (je Gruppe n=10) wurden über die Art der Beschichtung der Kirschner-Drähte und die perioperative Behandlung definiert und wie folgt eingeteilt:

Titan	unbeschichtete Titan Kirschner-Drähte
PDLLA	Titan Kirschner-Drähte + PDLLA
Genta	Titan Kirschner-Drähte + PDLLA/Gentamicin
Titan/syst	unbeschichtete Titan-Kirschner Drähte und systemische Antibiose
PDLLA/syst	Titan Kirschner-Drähte + PDLLA und systemische Antibiose
Genta/syst	Titan Kirschner-Drähte + PDLLA/Gentamicin und systemische Antibiose

Zur einfacheren Handhabung steht in der ersten Spalte die Gruppenbezeichnung, die im weiteren Verlauf der Arbeit verwendet wird.

2.3.1 Inokulat

Verwendet wurde das Bakterium *Staph. aureus* der Subspezies Rosenbach (ATCC 49230) mit der Kennzeichnung CDC 587. Der Keim wurde in Form eines beimpften Chips geliefert und mit Hilfe einer Nährboullion in einem Brutschrank bei 37° C gezüchtet. Nach mehreren Wasch- und Reinigungsvorgängen erhielt man eine reine Staphylokokkensuspension. Schließlich wurde die Suspension soweit verdünnt, dass das Inokulat eine Bakterienkonzentration von 10^2 KBE/10 µl enthielt. Der verwendete *Staph. aureus* war knochenpathogen. Im Resistogramm (Vitek, bioMérieux, Marcy l'Etoile, Frankreich) wurde er sensibel getestet auf Gentamicin, Oxacillin und Erythromycin, zeigte jedoch Resistenzen gegen Penicillin (siehe Abbildung 6).

```

Kommentar:
Keim #1: Staphylococcus aureus (staaur)
.....
Antibiotics          staaur(1)
Penicillin-G         R
Oxacillin            S
+Ampicillin          R
+Ampicillin/sulbactam S
+Amoxicillin/CA      S
+Cefuroxime - Sodium S
+Cefaclor            S
+Cefotaxime          S
+Ceftriaxone         S
+Imipenem            S
Erythromycin         S
Clindamycin          S
Tetracycline         S
Gentamicin           S
Tobramycin           S
Norfloxacin          I
Ciprofloxacin        S
Levofloxacin         S
Trimethoprim/Sulfa  S
Rifampin             S
Vancomycin           S
Teicoplanin          S
Fosfomycin           S
Fusidic Acid         S
Nitrofurantoin       S
+Azithromycin        S
+Clarithromycin      S
Linezolid            S
Moxifloxacin         S
.....
S= sensibel      I= intermediär   R= resistent   MS= mässig sensibel

```

Abb. 6: Resistogramm des verwendeten *Staph. aureus* ATCC 49230

2.4 Operation und Untersuchung

2.4.1 Anästhesie

2.4.1.1 Verwendete Materialien

Anästhesie-GME 4 Narkosegerät	Stephan Medizintechnik Gackebach, Deutschland
Forene Inhalationsnarkotikum (WS: 1-Chlor-2,2,2-trifluor-ethyl- difluormethylether)	Abbott Wiesbaden, Deutschland
Rompun 2% (WS: Xylazinhydrochlorid)	Bayer Leverkusen, Deutschland
Omnifix®-F Spritzen (1ml)	B. Braun Melsungen, Deutschland
Einmalspritzen (5ml)	B. Braun Melsungen, Deutschland
Kanülen Nr.20	Terumo Europe N.V. Leuven, Belgien

2.4.1.2 Durchführung

Vor den jeweiligen klinischen Untersuchungen, der Operation und dem radiologischen Screening wurden die Tiere in einer luftdicht abgeschlossenen Box, die mit einem Inhalationsnarkosegerät verbunden war, sediert. Das Narkosegemisch bestand aus 3-5 Vol. % Isofluran, 2-4 l/min N₂O und 1 l/min O₂. Die Sedierung während Untersuchungen und des Röntgens erfolgte über eine Maske, welche Nase und Maul umschloss.

Für die Operation erhielten die Tiere anschließend eine intraperitoneale Injektion aus einem Gemisch aus Ketavet® (60 mg/kg Körpergewicht) und Xylazin (4mg/kg Körpergewicht) [92]. Die intraperitoneale Anästhesie sedierte, analgesierte und relaxierte die Tiere für ungefähr 60 min und damit ausreichend lang für die durchschnittlich 30 min. dauernde Operation.

2.4.2 Operation

2.4.2.1 Verwendete Materialien

Panthenol-Augensalbe (WS: Dexpanthenol)	Jenapharm Biberach, Deutschland
Gentamicinsulfat	Synopharm Barsbüttel, Deutschland
Rasierapparat Favorita II GT 104	Aesculap® Tuttlingen, Deutschland
Pilca Entthaarungscreme	Schwarzkopf & Henkel Düsseldorf, Deutschland
Softasept® N Desinfektionsspray	B.Braun Melsungen, Deutschland
Braunoderm® Wund- und Sprühdesinfektion	B.Braun Melsungen, Deutschland
Micro Touch sterile Einmalhandschuhe	Johnson & Johnson Medical Düsseldorf, Deutschland
Sterisheet® 77 Plus	Arjo Wiggings SA I. I. Maulineaux, Frankreich
Inzisionsfolie Barrier-Flex™	Johnson&Johnson Medical BD 23 3RX.UK
Disposable Scalpel No.15	Feather Safety Razor Co. Osaka, Japan
Steriles OP Besteck: -chirurgische Pinzette -anatomische Pinzette -Präparierschere -Handbohrer (Ø 1,0mm) -Stahldraht (Ø 0,8mm) -Seitenschneider -Nadelhalter	
Mc Farland Röhrchen (Suspension Medium, 3ml) <i>Staph. aureus</i> ATTC 49230	bioMérieux sa Marcy l'Etoile, Frankreich American Type Culture Collection Manassas, U.S.A
Mikrospritze Microsyringe 50µl	Hamilton Company Reno, USA
Kirschner-Draht Ø 0,8 mm	Stratec Medical Oberdorf, Schweiz
Prolene® 4/0 (1,5 metric)	Ethicon Norderstedt, Deutschland

Ankerplast®
Wundschnellverband

Chauvin Ankerpharm

Leukoplast®

Rudolstadt, Deutschland
Baiersdorf
Hamburg, Deutschland

2.4.2.2 Durchführung

Nachdem die Tiere anästhesiert wurden, erhielt die Hälfte von ihnen (n=30) perioperativ eine Single-Shot Applikation Gentamicin (3 mg/kg Körpergewicht) intraperitoneal. Den übrigen Tieren wurde eine vergleichbare Menge isotonen Natrium-Chlorids injiziert. Die Auswahl dieser Tiere erfolgte gemäß der Aufteilung in die Gruppen randomisiert. Die Operation begann durchschnittlich 20 min. nach Applikation der perioperativen Prophylaxe bzw. des Placebo. In Vorbereitung auf die Operation wurden der linke Hinterlauf der anästhesierten Ratte und umgebende Körperstellen rasiert. Verbliebene Haarreste wurden mit Enthaarungscreme entfernt, um einer möglichen Kontamination vorzubeugen. Im Folgenden wurde der Operationsbereich desinfiziert und mittels Lochtuch steril abgedeckt. Zusätzlich wurde der Unterschenkel mit einer Inzisionsfolie abgeklebt, um einen möglichst hohen Schutz gegen bakterielle Kontamination zu erreichen. Der Zugang zum Markraum der Tibia erfolgte über eine circa 0,5 cm lange Hautinzision am linken Unterschenkel medio-proximal auf Höhe der Tuberositas tibiae. Mit einem Stahldraht wurde die Tibia aus medio-anteriorer Richtung eröffnet, und ein Führungskanal in den Markraum gebohrt. Das proximale Drittel des Markraums wurde mit einem Handbohrer (\varnothing 1 mm) erweitert, um das Einführen des Titan-Drahtes zu erleichtern. In den so entstandenen Kanal konnte nun die Inokulation von 10 μ l Staphylokokkensuspension erfolgen.

Anschließend wurde ein, entsprechend der zuvor ausgewählten Gruppe, beschichteter oder nicht beschichteter Kirschner-Draht in den Markraum implantiert. Der überstehende Draht wurde mit einem Saitenschneider auf Knochenniveau gekürzt. Die Weichteile wurden im Anschluß mit Braunoderm®-Lösung gespült und die Hautinzision mit einem Hautfaden durch Einzelknopfnahnt versorgt. Die Wundfläche wurde dann desinfiziert, mit Sprühpflaster und zusätzlich mit

Leukoplast® überdeckt, um zu vermeiden, dass die Tiere die Fäden postoperativ zu früh selbst entfernten.

2.4.3 Untersuchung

2.4.3.1 Verwendete Materialien

Digital Thermometer	Paul Hartmann Heidelberg, Deutschland
Waage Kilomat Typ2106	Sartorius Göttingen, Deutschland
Haematokrit –Kapillaren (75mm/60µl D.A 1,3-1,4mm)	Hirschmann® Laborgeräte Eberstadt, Deutschland
Liquemin® N25000 IE (WS: Heparin-Natrium)	Hoffmann-La Roche Grenzach-Wyhlen, Deutschland
Eppendorf Safe-Lock Micro Test Tubes	Eppendorf-Netheler-Hinz Hamburg, Deutschland

2.4.3.2 Durchführung

Präoperativ und weiterhin im Abstand von 7 Tagen wurden die Tiere Kontrolluntersuchungen unter Narkose (siehe Kapitel 2.4.1) zugeführt. Dabei wurden routinemäßig die Körpertemperatur mit einer rektalen Temperatursonde und das Körpergewicht mit einer Präzisionswaage gemessen.

Gleichzeitig wurden die Tiere auf Zeichen lokaler und generalisierter Infektionen hin untersucht, wobei besonders auf den Wundverschluss, auf Schwellungen und auf Abszessbildung im umliegenden Gewebe geachtet wurde.

Um die Anflutung des Gentamicin im Organismus der Tiere der Gruppen IV, V und VI zu kontrollieren, wurde direkt postoperativ, durchschnittlich 30 min. nach der systemischen Applikation des Antibiotikums, circa 1 ml Blut entnommen. Die Blutentnahme erfolgte nach der Nöller-Methode. Hierbei wird mit einer heparinisierten Kapillare der retrobulbäre Venenplexus punktiert [93]. Die Messung der Gentamicinkonzentration im Serum erfolgte im Labor des Institutes für

Laboratoriumsmedizin und Pathobiochemie der Charité, Campus Virchow, Berlin.
Tabelle 1 zeigt schematisch die durchgeführten Untersuchungen zu den verschiedenen Zeitpunkten.

Tabelle 1: Untersuchungsschema

	U1 (OP)	U2 (7d)	U3 (14d)	U4 (21d)	U5 (28d)	U6 (35d)	U7 (42d)
Serum	☑						
Röntgen	☑		☑		☑		☑
Temperatur	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑
Gewicht	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑
Inspektion	☑	☑	☑	☑	☑	☑	☑

Bemerkung Alle Untersuchungen fanden unter Isofluran-NO₂-Narkose statt.

2.4.4 Radiologie

2.4.4.1 Verwendete Materialien

Mobilett Plus Röntgengerät	Siemens Erlangen, Deutschland
Digitale Röntgenplatten (DLR Cassette, Digiscan 2H/2C)	Siemens München, Deutschland

2.4.4.2 Durchführung

Erstmalig wurden die Tiere am Tag der Operation geröntgt. Dies erfolgte postoperativ, wobei sich die Tiere noch im sedierten und analgesiarten Zustand befanden. Um die Lage des Implantates zu überprüfen, wurden Aufnahmen der Tibiae in zwei Ebenen angefertigt:

1. anterior-posteriorer Strahlengang mit abduziertem, außenrotierten Bein
2. lateraler Strahlengang mit dorsalexstendiertem, gestrecktem Bein.

Um einen parallelen Verlauf des Unterschenkels zur Röntgenplatte zu sichern und um ein Verrutschen zu vermeiden, wurde dieser mit Leukoplast® fixiert. Geröntgt wurde im Abstand von 60 cm mit einer Strahlenhärte von 52 kV und einer Belichtungszeit von 1,8 mAs auf einer digitalen Röntgenkassette.

Weitere Röntgenuntersuchungen der Tiere erfolgten im Rahmen der Untersuchungen im Abstand von 14 Tagen und am Tag der Tötung (siehe Tabelle 1).

2.5 Tötung

2.5.1 Verwendete Materialien

Sterisheet® 77 Plus		Arjo Wiggings SA
Micro Touch sterile		I. I. Maulineaux, Frankreich
Einmalhandschuhe		Johnson & Johnson Medical
		Düsseldorf, Deutschland
Softasept®	N	B.Braun
Desinfektionsspray		
		Melsungen, Deutschland
Disposable Scalpel No.15		Feather Safety Razor Co.
		Osaka, Japan
Steriles OP-Besteck:	-chirurgische Pinzette	
	-anatomische Pinzette	

- Präparierschere
- Nadelhalter
- Seitenschneider
- Klemme

Falcon Tube 50ml

Becton Dickinson Labware
Franklin Lakes, USA

2.5.2 Durchführung

Die Tötung erfolgte entsprechend der Standzeit am 42. Tag unter Isofluran-Inhalationsnarkose und intraperitonealer Injektionsnarkose (siehe Kapitel 2.4.1). Bei vollständiger Sedierung und Analgesierung wurden die Tiere unter sterilen Bedingungen thorakotomiert, um das Herz freizulegen. Mittels Einmalspritze wurde der Ratte dann 4 ml Blut aus dem linken Ventrikel entnommen und anschließend Kalium-Chlorid injiziert, wonach der Tod eintrat. Um postmortale Autolyseprozesse und Behinderungen durch die Totenstarre zu vermeiden, musste nun zügig weitergearbeitet werden.

Der linke Oberschenkel der Ratte wurde abgetrennt und nach Entfernung des Fells der Unterschenkel im *Articulatio genu* unter sterilen Bedingungen exartikuliert. Anschließend wurden Tibia und Fibula vom Weichteilmantel befreit. Nach dem Abtrennen der Fibula und Exartikulation im oberen Sprunggelenk konnte das Implantat aus der Tibia mittels Nadelhalter vorsichtig entfernt werden. Die Exartikulation und auch die Entfernung des Implantates erfolgten unter sterilen Bedingungen, um Kontaminationen zu vermeiden. Die Tibia wurde jetzt gewogen und in eine Fixierlösung eingebracht. Implantat und entnommenes Blut wurden im Folgenden mikrobiologischen Untersuchungen zur Analyse zugeführt.

2.6 Analyse

2.6.1 Fixation und Dehydrierung der Knochenpräparate

2.6.1.1 Verwendete Materialien

Fixierlösung	324 ml Formalin 37%	
	550 ml Alkohol 100%	
	650 ml 0,1 molar Na-Barbitalpuffer, 0,1 molar, pH 7,3, Glukose (6 g)	
Ethanol (70-80-96-100 Vol.%)		Herbeta-Arzneimittel Berlin, Deutschland
Plastikkassetten Tissue Tek, Mega Cassette		Sakura Finetek Torrence, USA
Schüttler, HS 501 digital		IKA-Werke

2.6.1.2 Durchführung

Der erste Schritt der Knochenaufbereitung war die Fixierung. Durch sie werden die komplexen intravitalen Stoffwechselprozesse gestoppt und postmortale Zerfallerscheinungen verhindert. Die Dauer der Fixation ist abhängig von der Art des Präparates. Der Knochen mit seinen kompakten Strukturen in der Kortikalis benötigt so einen verhältnismäßig langen Zeitraum für die Fixierung. Die Knochen wurden in markierten, vergitterten Plastikkassetten, in die Fixierlösung eingebracht. Um eine vollständige Fixierung zu erreichen verblieben die so eingelegten Präparate für drei bis vier Tage auf einem Schüttler.

Ähnlich wurde bei der Dehydrierung verfahren. Nach der Fixierung wurden die Präparate mit Leitungswasser abgespült und im Folgenden in ein Glas mit 70%igem Ethanol überführt. Um ein Schrumpfen oder Zerreißen der Präparate zu vermeiden, mussten sie nacheinander in einer aufsteigenden Alkoholreihe dehydriert werden. Dazu wurden sie für jeweils drei Tage in Lösungen mit 80%-, 96%-, 96%-, 100%-, 100%igem Alkohol gelegt. Abschließend lagerten sie noch einmal für sieben Tage in

100%igem Alkohol.

2.6.2 Einbettung

2.6.2.1 Verwendete Materialien

Xylol	Mallinckrodt Baker B.V. Deventer, Niederlande
Technovit® 9100 NEU	Heraeus Kulzer Wehrheim, Deutschland
Basislösung	
PMMA-Pulver	
Härter 1 und 2	
Regler	
Einbettungsringe (Ø 50 mm)	Heraeus Kulzer Wehrheim, Deutschland

2.6.2.2 Durchführung

Nachdem die Knochen vollständig entwässert waren, wurden sie für drei Stunden in Xylol gelagert. Xylol ist ein aromatischer Kohlenwasserstoff, der als Lösungsmittel für Fette eingesetzt wird. Restliche Fette, die noch im Knochen vorhanden waren und bei der Einbettung hinderlich sind, wurden dadurch aus dem Knochen herausgelöst.

Für die Einbettung selbst wurde ein vorgefertigtes Kit verwendet. Technovit® 9100 NEU ist ein Polymerisationssystem, welches auf Methylmetacrylat (MMA) basiert. Dieses polymerisiert bei niedrigen Temperaturen und eignet sich somit für die Einbettung von mineralisierten Geweben, die danach weiter gefärbt werden können. So eingebettetes Gewebe kann sowohl in der klassischen Histologie, als auch in der Immuno- und Enzymhistochemie verwendet werden. Die einzelnen Komponenten werden entsprechend den Angaben des Herstellers im Folgenden kurz beschrieben. Die Basislösung besteht aus Monomeren, organischen Molekülen mit mindestens einer reaktionsfähigen Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindung. Bei diesem Einbettmedium ist MMA das Monomer.

Das Pulver besteht aus winzigen PMMA-Kugeln und dient dabei als Füllstoff. Es gewährleistet eine deutliche Verringerung des Polymerisationsschrumpfens, eine Absenkung der freiwerdenden Polymerisationswärme und einen verbesserten Polymerisationsablauf.

Härter 1, eine Peroxydverbindung aus welcher Radikale für die Reaktion gebildet werden, ist Teil des Initiatorsystems, das die Polymerisation startet. Um eine Polymerisation bei Temperaturen von unter 0°C zu ermöglichen wird Härter 2 verwendet, der katalytisch auf Härter 1 wirkt.

Auch der Regler, bestehend aus einer reaktiven organischen Verbindung, ermöglicht eine geregelte Polymerisation mit kontrolliert niedrigen Temperaturen. Die folgende Tabelle 2 zeigt die Verwendung des Kits für die Einbettung der Präparate und die Zusammensetzung der verschiedenen Einbettungslösungen.

Tabelle 2: Schema der Zusammensetzung der Lösungen der Einbettung

	Basis- Lösung	PMMA- Pulver	Härter 1	Härter 2	Regler	Lagerung
Präinfiltration	200 ml		1 g			RT
Infiltration	ad 250 ml	20 g	1 g			4°C
Stammlösung A	ad 500 ml	80 g	3 g			4°C
Stammlösung B	ad 50 ml			4 ml	2 ml	4°C

RT: Raumtemperatur

In der letzten Phase der Einbettung wird das Präparat mit der medialen Seite nach unten in einen Einbettungsring gelegt. Das Gefäß wird mit einem Gemisch der Stammlösungen A und B aufgefüllt, luftdicht verschlossen und danach in einem Tiefkühlschrank bei -8 bis -15°C für zwei Tage gelagert.

2.6.3 Mikrotomie

2.6.3.1 Verwendete Materialien

Schleifmaschine Phoenix 3000	Wirtz-Buehler Düsseldorf, Deutschland
Mikrotom Leica Polycut-SM2500S	Leica Microsystems Nussloch, Deutschland
16 cm Hartmetallmesser mit D-Schliff	Leica Microsystems Nussloch, Deutschland
HistoBond-Objektträger (beschichtet, 75x25x1 mm)	Fa. Marienfeld Lauda-Königshofen, Deutschland
Schnittpresse Wärmeschrank Function Line (Typ B 12)	Eigenentwicklung Heraeus Instruments Hanau, Deutschland
Streckflüssigkeit	
30 ml Butoxyethylacetat	
70 ml 70%iger Alkohol	
Kisolfolie	Medim Histotechnologie Gießen, Deutschland

2.6.3.2 Durchführung

Nach der Aushärtung des MMA-Blocks, welcher das Präparat enthält, wurde dieser in eine Quaderform geschliffen. Zum anschließenden Schneiden wurden die Kunststoffblöcke fest in das Hartschnittmikrotom eingespannt. Der Knochen lag hierbei in Längsrichtung parallel zur Schnittkante des Messers. Der Freiwinkel des Hartschnittmessers wurde zwischen 5 und 7 Grad festgelegt und konnte abhängig von der Schnittfähigkeit des Präparates innerhalb dieser Winkel variiert werden. Mit Hilfe einer Wasserwaage wurden die Blöcke exakt ausgerichtet und in das Mikrotom eingespannt. Die sich hieraus ergebende Schnittebene ermöglichte, dass der Knochen in der Paramedianebene so angeschnitten wurde, dass genügend viele Schnitte auf Höhe von maximalem Markraumdurchmesser und -länge angefertigt werden konnten.

Während des Schneidevorgangs wurden Messer und Kunststoffblock ständig mit Schneideflüssigkeit benetzt, ohne die die Oberfläche des MMA-Blockes hätte brüchig werden können.

Sobald die gewünschte Schnittebene erreicht war, wurden mit Hilfe einer feinen Pinzette 5 µm dicke Schnitte vorsichtig von dem Messer abgenommen, auf einen beschichtete Objektträger aufgebracht und sorgfältig gestreckt. Die Beschichtung ermöglichte ein gutes Anheften der Schnitte. Zusätzlich wurde der Objektträger mit 70%igem Alkohol betropft, was die Adhäsion förderte und die vorzeitige Austrocknung der Schnitte verhinderte. Die anschließende Beträufelung der Schnitte mit einer Streckflüssigkeit diente der behutsamen Aufweichung des MMA. Daraufhin konnte das Präparat nun mit einem feinen Pinsel so auseinandergezogen werden, dass keine Falten mehr zu sehen waren. Über das so gestreckte Präparat wurde Kisolfolie gelegt und das überschüssige Ethanol mit Filterpapier abgesaugt. Um eine optimale Haftung des Präparates am Objektträger zu ermöglichen wurden, diese dann für 48 Stunden in einer Schnittpresse bei 37°C gelagert.

2.6.4 Entplasten und Färben

2.6.4.1 Verwendete Materialien

Glasküvetten

Färbegestell für zehn Objektträger

Deckgläser

(24x60 mm)

Vitro-Clud

Fa. Menzel

Braunschweig, Deutschland

R. Langenbrinck

Emmendingen, Deutschland

Lösungen:

(2-Methoxyethyl)-acetat (MEA)	MERCK-Schuchard Hohenbrunn, Deutschland
100%iger Alkohol	Herbeta-Arzneimittel Berlin, Deutschland
Aqua dest	B. Braun Melsungen, Deutschland
Weigerts Eisenhämatoxylin A und B (Nr. 2E032/2E052)	Chroma-Gesellschaft Köngen, Deutschland
Säurefuchsin-Ponceau (Nr. 2C 149)	Chroma-Gesellschaft Köngen, Deutschland
1%ige Essigsäure	MERCK-Schuchard Hohenbrunn, Deutschland
Phosphormolybdänsäure (Nr. 100532)	MERCK-Schuchard Hohenbrunn, Deutschland
Orange-G (Nr. 15925)	MERCK-Schuchard Hohenbrunn, Deutschland
Lichtgrün (Nr. 1B-211)	MERCK-Schuchard Hohenbrunn, Deutschland
Xylol	MERCK-Schuchard Hohenbrunn, Deutschland

2.6.4.2 Durchführung

Vor der Färbung wurden die Präparate entplastet. Hierzu wurden sie in drei Schritten zu je 30 min in (2-Methoxyethyl)-acetat-Lösung inkubiert, um den MMA-Kunststoff aus dem Präparat zu lösen. Danach wurden die Präparate in einer absteigenden Alkoholreihe (100%-96%-80%-60%-40%) rehydriert und anschließend der Färbung zugeführt.

Als histologische Färbung wird ein Vorgang bezeichnet, bei der ein Farbstoff, der in Lösung angeboten wird, an definierte Strukturen innerhalb des Schnittes bindet und diese färbt. Die Intensität der Färbung wird durch Färbezeit, Konzentration der Farbstofflösung, Färbetemperatur und von der Schnittdicke beeinflusst. Bei der *Masson-Goldner-Trichrom-Färbung* steht die Darstellung des kollagenen Bindegewebes im Vordergrund. Zellkerne werden braun-schwarz und das Zytoplasma ziegelrot dargestellt. Erythrozyten und Osteoid färben sich orange bzw. rot an, während

Bindegewebe und Knochen in verschiedenen Grüntönen erscheinen. Bindegewebe zeigt sich grün, mineralisiertes Knochengewebe wird leuchtend grün und verkalktes Knochengewebe hellgrün dargestellt.

Zuerst wurden die Schnitte nach der Entplastung für zwei bis vier Minuten in Weigerts Eisenhämatoxylin eingebracht. Eisenhämatoxylin A und B werden dabei in einem Verhältnis von 1:1 gemischt. Diese Lösung färbt vor allem die Zellkerne an. Anschließend wurden die Schnitte für zehn Minuten unter fließendem Wasser gespült, um dann für fünf Minuten in Säurefuchsin-Ponceau gefärbt zu werden. Es folgte ein kurzes Spülen in 1%iger Essigsäure und die Differenzierung in Phosphomolybdänsäure-Orange G. Die Schnitte verblieben so lange in der Lösung bis das Bindegewebe vollständig entfärbt war. Dieser Vorgang kann zwischen 15 und 30 min dauern. Sowohl vor als auch nach der zehnminütigen Gegenfärbung mit Lichtgrün, welches bevorzugt Bindegewebe und Knochen anfärbt, erfolgte wiederum die Spülung mit 1%iger Essigsäure. Im Folgenden wurden die gefärbten Schnitte in 100%igem Alkohol dehydriert und anschließend für zehn Minuten in Xylol eingebracht und danach in Vitroclud, einem klaren Klebstoff speziell für histologische Schnitte, eingebettet und mit einem Deckglas versehen.

2.7 Auswertung

2.7.1 Gentamicinbestimmung im Blutserum

Um die Gentamicinkonzentration zu bestimmen wurde das bei den Untersuchungen gewonnene Serum mittels eines Fluoreszenz-Polarisations-Immunoassay-Kit der Firma Roche (Cobas Integra 400) im Labor des Institutes für Laboratoriumsmedizin und Pathobiochemie der Charité, Campus Virchow Klinikum, Berlin untersucht. Dies diente der Überprüfung der Anflutung des Antibiotikums im Organismus der Tiere.

2.7.2 Knochengewicht

Das Gewicht der freipräparierten Tibia wurde nach Entfernung des Implantats mit einer Feinwaage gemessen.

2.7.3 Radiologie

In die radiologische Auswertung wurden alle Bilder eingebracht, die während der Untersuchungen und zum Zeitpunkt der Tötung von den Unterschenkeln der Ratten im lateralen und a.p. Strahlengang aufgenommen wurden. Die Bilder wurden blind randomisiert, um ein Wiedererkennen und eine Beeinflussung der Observer (n=4) zu vermeiden. Die Auswertung erfolgte nach einem modifizierten Score nach An et al. [5]. Die Knochen wurden in drei „Regions of Interest“ (ROI) eingeteilt (Abbildung 7) und der Grad der Destruktion von den Beobachtern auf vorgefertigten Bögen beurteilt.



Abb. 7: Röntgenbild eines Knochens mit Einteilung in ROI

Innerhalb der ROI galten als Kriterien für den Grad der Destruktion zunächst Sequesterbildung, Spontanfrakturen und Deformitäten der Diaphyse, die als einfache ja/nein Antworten mit 1 bzw. 0 Punkten bewertet wurden. Weitere Kriterien waren die diaphysäre periostale Reaktion, eventuell auftretende Weichteilschwellungen und Osteolysen im gesamten Bereich des Knochens, die anhand einer Skala von 0 bis 3 bewertet wurden. 0 Punkte bedeuteten in diesem Zusammenhang das Fehlen von pathologischen Merkmalen, während 3 Punkte die maximale Ausprägung darstellten. Abschließend musste wiederum anhand dieser Punkteskala der radiologische Gesamteindruck des Knochenbefalls eingeschätzt werden.

Insgesamt lag die minimal erreichbare Punktzahl bei 0 Punkten und die maximale Punktzahl bei 33 Punkten.

2.7.4 Histologie

Der histologischen Auswertung wurden fünf Tiere jeder Gruppe zugeführt. Die Auswahl der Tiere erfolgte randomisiert. Nach Digitalisierung der histologischen

Präparate wurden diese blind randomisiert, um ein vorbehaltloses Scoren zu ermöglichen. Die Auswertung erfolgte durch vier unabhängige Beobachter nach einem modifizierten Score nach Petty et al. [88,90,94]. Der Score verlangt dabei die Einteilung des Knochens in vier ROI (Abbildung 8).

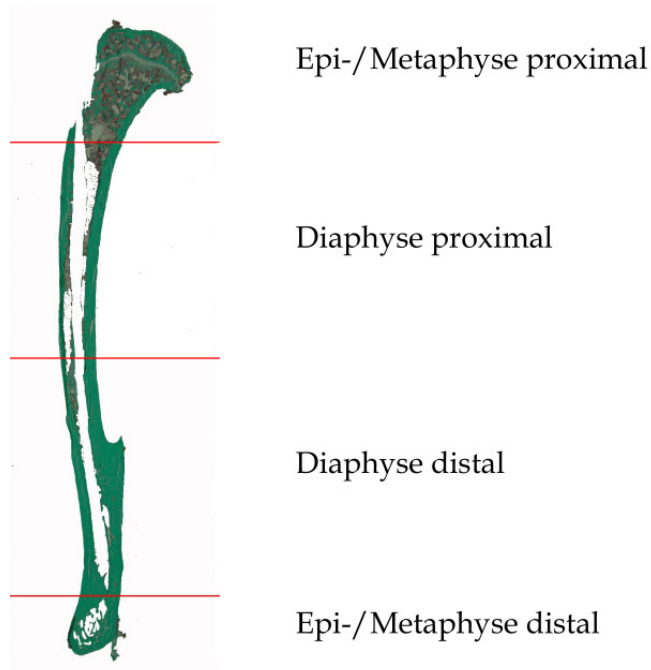


Abb. 8: Histologisches Bild eines Knochens mit Einteilung in ROI's

Innerhalb dieser ROI's bewerteten die Beobachter (n=4) das Auftreten von Abszessen, Sequesterbildung, den Grad der Destruktion bzw. Verbreiterung der Kortikalis sowie den subjektiven Gesamteindruck. Um dies standardisiert durchführen zu können, musste jeder Beobachter für jedes Präparat einen vorgefertigten Bogen ausfüllen. Hier wurde dann die Punkteverteilung vorgenommen.

Die Punktevergabe erfolgte unter bestimmten Vorgaben. Abszesse, Sequesterbildung und kortikale Verbreiterungen oder Ausdünnungen stellten einfache ja/nein-Antworten dar und wurden mit 1 oder 0 bewertet. Der Gesamteindruck musste anhand einer Punkteskala eingeschätzt werden, wobei 0 keinen, 1 einen leichten und 2 einen stark ausgeprägten Befund bedeuteten. Die Punkte wurden dann zusammengezählt. Insgesamt lag die maximal erreichbare Punktzahl bei 24 Punkten.

2.8 Weitere Methoden des Projekts (nicht Teil dieser Promotion)

Im Rahmen dieses Projekts wurde zur weiteren Beurteilung der Entwicklung und des Verlaufs der Osteomyelitis eine weitere Teilarbeit mit Schwerpunkt Mikrobiologie von Frau Henrike Kuhn durchgeführt, die nicht Gegenstand dieser Promotionsarbeit ist.

2.8.1 Mikrobiologische Auswertung (nicht Teil dieser Promotion)

Zunächst wurde bei der Tötung allen Tieren intrakardial Blut entnommen und eine Blutkultur angefertigt. Danach wurde die linke Tibia exartikuliert und der Weichteilmantel entfernt. Von der Eintrittsstelle des Implantats wurde ein Abstrich entnommen.

Das Implantat wurde aus dem Markraum entfernt, über einer Agar-Abrollplatte abgerollt und anschließend in eine sterile Boullion eingebracht und inkubiert.

Die mikrobiologische Auswertung der Knochen erfolgte bei der Hälfte der Tiere (n=30) nach 6 Wochen am Tag der Tötung. Der freipräparierte Knochen wurde zermahlen und aus dem entstandenen Knochenpulver wurden Kulturen angelegt, um die koloniebildenden Einheiten (KBE) *Staph. aureus*/g Knochen zu bestimmen.

2.9 Statistik

Alle radiologischen und histologischen Bilder wurden randomisiert und von vier Personen unabhängig bewertet. Für die gewonnenen Daten wurden Median und Perzentilenwerte berechnet und diese statistisch ausgewertet.

Für die gewonnenen Daten für Körpertemperatur, Körpergewicht, Knochengewicht und Anflutung von Gentamicin wurden Mittelwerte und Standardabweichungen ermittelt und ausgewertet.

Die Auswertung wurde mit den Statistik-Softwares SPSS® Software (Version 10.0; SPSS Inc. Chicago, USA) und SAS® (Version 8.2; SAS Institute Inc. Cary, USA) in Zusammenarbeit mit dem Institut für medizinische Biometrie der Charité, Berlin durchgeführt.

2.9.1 Radiologische Auswertung

Für die Auswertung wurde zunächst die nichtparametrische mehrfaktorielle Varianzanalyse longitudinaler Daten nach Brunner verwendet [95].

Longitudinale Daten sind Daten, die an denselben Individuen durch wiederholte Messungen über die Zeit erhoben werden. In diesem Modell können Gruppen von Individuen zu verschiedenen Zeitpunkten und über einen definierten zeitlichen Verlauf beobachtet werden, wobei sich Veränderungen durch die Behandlung über die Zeit darstellen lassen. Dies erlaubt es, den Verlauf der Behandlung über einen Zeitraum und in den verschiedenen Gruppen untereinander zu vergleichen und eventuelle Wechselwirkungen zu erkennen.

Dieser Test eignet sich für kleine Stichprobenumfänge und demzufolge auch für Ergebnisse, bei denen eine Normalverteilung nicht gesichert ist [95].

Zunächst wurde festgestellt, ob sich signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen und im zeitlichen Verlauf entwickelten und ob diese Größen in Wechselwirkung traten, d.h., ob Gruppen über Behandlungszeitraum statistisch parallel verliefen. Danach wurde für jede Gruppe einzeln ermittelt, ob im Überwachungszeitraum signifikante Veränderungen der Scorewerte auftraten.

Schließlich erfolgte der paarweise Vergleich der Gruppen, um zu sehen, ob die Gruppen gegeneinander verglichen im Verlauf signifikante Unterschiede aufzeigten oder in Wechselwirkung traten. Zur Vermeidung systematischer Fehler wurden die Paarvergleiche mit dem Post-Hoc-Test nach Bonferroni-Holm adjustiert.

Um eine weitere explorative Betrachtung der Änderung der Entzündungsparameter zu den einzelnen Zeitpunkten zu ermöglichen, wurde zusätzlich ein Paarvergleich mit dem U-Test nach Wilcoxon, Mann und Whitney für jeden einzelnen Zeitpunkt durchgeführt.

2.9.2 Histologische Auswertung

Anhand der gewonnenen Daten wurde mit Hilfe des H-Tests von Kruskal und Wallis überprüft, ob zwischen den bewerteten Gruppen signifikante Unterschiede auftraten. Dieser Test eignet sich als verteilungsfreie Varianzanalyse bei unabhängigen Stichproben. Er ist anzuwenden, wenn mehrere Stichproben (>2) vorliegen und bei diesen die Normalverteilung nicht zu garantieren ist. Dies ist häufig bei kleineren Stichproben der Fall [96]. Der Test prüft dabei die Nullhypothese (H_0), d.h. ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ist nicht zu erwarten. Unterschieden sich mindestens zwei Medianwerte signifikant, war davon auszugehen, dass H_0 widerlegt war (H_1).

Zeigte die Varianzanalyse signifikante Unterschiede auf, so wurden danach mit Hilfe des U-Tests nach Wilcoxon, Mann und Whitney Paarvergleiche der Stichproben durchgeführt. Voraussetzung für die Verwendung des Tests sind stetige Verteilungsfunktionen, d.h. zwei unabhängige Zufallsstichproben von Meßwerten oder zumindest von Rangdaten aus Grundgesamtheiten mit ähnlicher bis gleicher Verteilungsfunktion [96]. Der Test prüft dabei H_0 , d.h. ob keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festzustellen sind. Wurde der Test signifikant, war davon auszugehen, dass sich die Mediane der Populationen unterscheiden (H_1).

Um systematische Fehler auszuschließen, wurde als Kontrolle der Paarvergleiche ein Post-Hoc-Test nach Bonferroni-Holm durchgeführt.

2.9.3 Inter-Observer-Variabilität

Die Inter-Observer-Variabilität in den radiologischen und histologischen Scores wurde mit Hilfe des Friedman-Tests ermittelt. Der Friedman-Test vergleicht mehrere abhängige Stichproben hinsichtlich ihrer zentralen Tendenz und prüft, ob sich diese unterscheiden.

3 Ergebnisse

3.1 Ausschlusskriterien

Vier Tiere starben während der Narkose zum Zeitpunkt der OP, ohne erkennbare Ursache. Ein Versuchstier erlitt im Beobachtungszeitraum eine Fraktur im linken Unterschenkel und mußte getötet werden. Die fünf ausgefallenen Tiere wurden ersetzt.

3.2 Blutserum

Zur Bestimmung der durchschnittlichen Anflutungszeit des Gentamicins im Rattenserum wurde die Zeit zwischen der Applikation des Antibiotikums und dem Beginn der Operation gemessen.

Die durchschnittliche Anflutungszeit betrug $20 \text{ min} \pm 6,4$. Der maximale Zeitraum zwischen Anflutung und Operationsbeginn lag bei 35 min, der minimale Zeitraum lag bei 10 min.

Die durchschnittliche Gentamicin-Konzentration im Serum lag bei $4,6 \text{ mg/l} \pm 3,5$. Die höchste gemessene Konzentration lag bei $10,2 \text{ mg/l}$, die geringste Konzentration bei $0,1 \text{ mg/l}$.

Für die verwendete Spezies *Staphylokokkus aureus* wurde eine minimale Hemmkonzentration (MHK) für Gentamicin von $0,5 \text{ mg/l}$ ermittelt.

3.3 Körpertemperatur

Tabelle 3: Durchschnittliche Körpertemperatur im Verlauf

	OP/U1	U2	U3	U4	U5	U6	U7
Temperatur/°C							
Titan	37,4 ± 0,4	37,6 ± 0,5	37,2 ± 0,6	37,6 ± 0,3	37,4 ± 0,4	37,4 ± 0,2	37,4 ± 0,5
PDLLA	37,4 ± 0,4	37,6 ± 0,3	37,3 ± 0,5	37,6 ± 0,4	37,1 ± 0,3	37,8 ± 0,4	37,6 ± 0,4
Genta	37,3 ± 0,5	37,4 ± 0,5	37,6 ± 0,5	37,5 ± 0,4	37,6 ± 0,5	37,6 ± 0,5	37,6 ± 0,4
Titan/syst	37,4 ± 0,5	37,5 ± 0,5	37,6 ± 0,3	37,7 ± 0,2	37,5 ± 0,3	37,8 ± 0,3	37,6 ± 0,4
PDLLA/syst	37,2 ± 0,5	37,6 ± 0,4	37,4 ± 0,5	37,3 ± 0,4	37,4 ± 0,3	37,7 ± 0,2	37,8 ± 0,5
Genta/syst	37,6 ± 0,3	37,8 ± 0,5	37,5 ± 0,7	37,8 ± 0,4	37,6 ± 0,3	37,8 ± 0,3	37,7 ± 0,4

Die Körpertemperatur blieb im gesamten Versuchsverlauf in allen Gruppen physiologisch stabil und zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

3.4 Körpergewicht

Tabelle 4: Durchschnittliches Körpergewicht im Verlauf

	OP/U1	U2	U3	U4	U5	U6	U7
Gewicht/g							
Titan	262,2±11,8	261,6±16,1	267,1±13,8	276,8±16,2	275,4±11,8	279,6±14,7	283,8±16,0
PDLLA	258,1±8,2	262,9±10,5	267,5±8,9	271,9±13,9	275,0±12,9	277,2±12,2	281,4±8,2
Genta	267,4±10,8	270,3±16,8	269,8±14,1	275,1±17,3	274,9±13,5	282,0±15,6	283,0±18,4
Titan/syst	265,9±14,5	268,0±19,6	274,6±21,3	276,7±25,7	276,0±21,9	278,0±22,6	279,7±24,5
PDLLA/syst	259,9±7,9	262,3±11,9	266,5±14,2	273,8±15,9	275,1±19,1	275,3±20,2	278,6±20,6
Genta/syst	261,1±13,1	259,2±8,2	269,2±17,3	269,4±12,9	270,6±10,9	278,7±10,5	280,7±9,9

Die Bestimmung des Gewichts der Versuchstiere zeigte in allen Gruppen bei der Untersuchung nach einer Woche (U2) eine Verlangsamung der Gewichtszunahme bzw. einen geringen Gewichtsverlust. Ab der zweiten postoperativen Woche

verzeichneten die Gewichte der Tiere aller Gruppen wieder einen Zuwachs. Zwischen den Gruppen zeigten sich im Verlauf keine signifikanten Unterschiede. Das durchschnittliche Körpergewicht stieg von $262,4 \text{ g} \pm 11,1$ am Tag der Operation auf $281,2 \text{ g} \pm 16,3$ gemessen am Tag der Tötung.

3.5 Knochengewicht

Die Messung der Knochengewichte zeigte die geringsten durchschnittlichen Knochengewichte in den Gruppen, in denen ein gentamicinhaltiges Implantat eingebracht wurde. Die höchsten Gewichte wurden bei den Knochen gemessen, bei denen unbeschichtete Kirschner-Drähte implantiert wurden. Die durchschnittlichen Knochengewichte und deren Standardabweichung nach sechswöchiger Standzeit sind nachfolgend in der Tabelle dargestellt.

Tabelle 5: Knochengewicht

	Titan	PDLLA	Genta	Titan/syst	PDLLA/syst	Genta/syst
Knochengewicht in mg	758,3±44,9	694,7±22,6	668,1±65,2 ^a	743,8±64,2	740,0±70,2	672,3±42,1 ^b

^a $p < 0,05$ im Vergleich zu den Gruppen Titan und Titan/syst

^b $p < 0,05$ im Vergleich zur Gruppe Titan

Mit einem durchschnittlichen Knochengewicht von $668,1 \text{ mg} \pm 65,2$ war das Gewicht der Knochen in Gruppe Genta signifikant geringer als das Gewicht der Knochen aus den Gruppen Titan und Titan/syst.

Das durchschnittliche Gewicht der Gruppe Genta/syst erwies sich mit $672,3 \text{ mg} \pm 42,1$ signifikant geringer als das durchschnittliche Knochengewicht der Gruppe Titan.

3.6 Radiologische Auswertung

In Abhängigkeit der Beschichtungen der Marknägel in den Gruppen und den verschiedenen Zeitpunkten zeigten sich die Osteomyelitiden im Verlauf in unterschiedlichen Ausprägungen. Ausgewertet wurden Röntgenbilder der linken Tibiae der Versuchstiere im lateralen Strahlengang zu den Zeitpunkten 0, 14, 28 und 42 Tage.

Während zum Zeitpunkt der Operation in keiner Gruppe radiologische Zeichen für Knochendestruktionen auffielen, waren bei einigen Tieren bereits nach zwei Wochen erste deutliche Anzeichen einer Osteomyelitis zu erkennen. Diese fielen durch fleckig aussehende, unregelmäßige Aufhellungen und Auflockerungen auf. Auch bakterielle Einschmelzungen der Knochenmatrix (Osteolysen) waren in diesem Zeitraum bereits nachweisbar.

Aufnahmen zu späteren Zeitpunkten zeigten die Progredienz der Infektion besonders in den Gruppen, die ein unbeschichtetes Implantat erhalten hatten, aber auch in den Gruppen deren Implantate mit PDLLA beschichtet waren. Die Destruktion der Knochen imponierte durch voranschreitende Osteolyse und den Anbau periostalen appositionellen Knochens. Als Ergebnis der häufiger auftretenden Knocheninfarkte trat im zeitlichen Verlauf auch eine verstärkte Sequestrierung auf. Die Exazerbation der Entzündung zeigte sich schließlich bei mehreren Tieren durch den Einbruch des Infektherdes in benachbarte Gelenke und die deutliche Abhebung des Periosts von der Kortikalis. Die Abbildung 9 zeigt beispielhaft die radiologischen Zeichen eines osteomyelitisch veränderten Knochens.

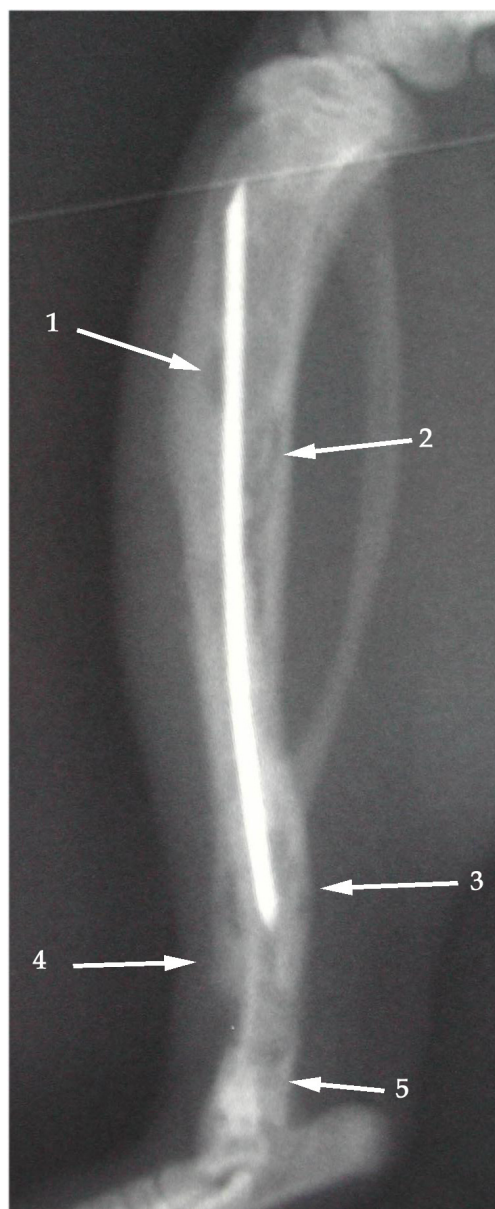


Abb. 9: Dargestellt ist das Röntgenbild der linken Tibia einer Ratte der Gruppe PDLLA/syst nach einer Standzeit von 42 Tagen im lateralen Strahlengang. Pfeil 1 kennzeichnet eine Osteolyse, wie sie hier ubiquitär verteilt, entlang des Marknagels vorkommen. Pfeil 2 zeigt einen Sequester. Pfeil 3 weist auf eine kortikale Verdickung aus appositionellem Knochen. Pfeil 4 markiert eine deutliche Abhebung des Periosts, typisch für eine ausgeprägte Entzündung in diesem Bereich der Tibia. Pfeil 5 deutet auf einen Einbruch der Osteomyelitis in das obere Sprunggelenk hin.

Die Tabelle 6 zeigt die Mediane der Scorewerte für die Gruppen zu den Zeitpunkten 0, 14, 28, 42 Tage.

Tabelle 6: Radiologischer Score

	0 d	14 d	28 d	42 d
Titan *	0,5	2,88	6,25	10,63
PDLLA *	0,0	2,13	2,88 ^c	6,0 ^c
Genta	0,5	0,25 ^a	0,75 ^a	0,63 ^a
Titan/syst *	0,0	2,88	5,63	9,63
PDLLA/syst *	0,5	0,88	4,25	9,25
Genta/syst	0,75	0,5 ^b	0,75 ^b	0,0 ^b

Bemerkung Dargestellt sind Mediane der Scorepunkte aller Gruppen zu den jeweiligen Zeitpunkten

^a $p < 0,001$ im Vergleich mit den Gruppen Titan und PDLLA

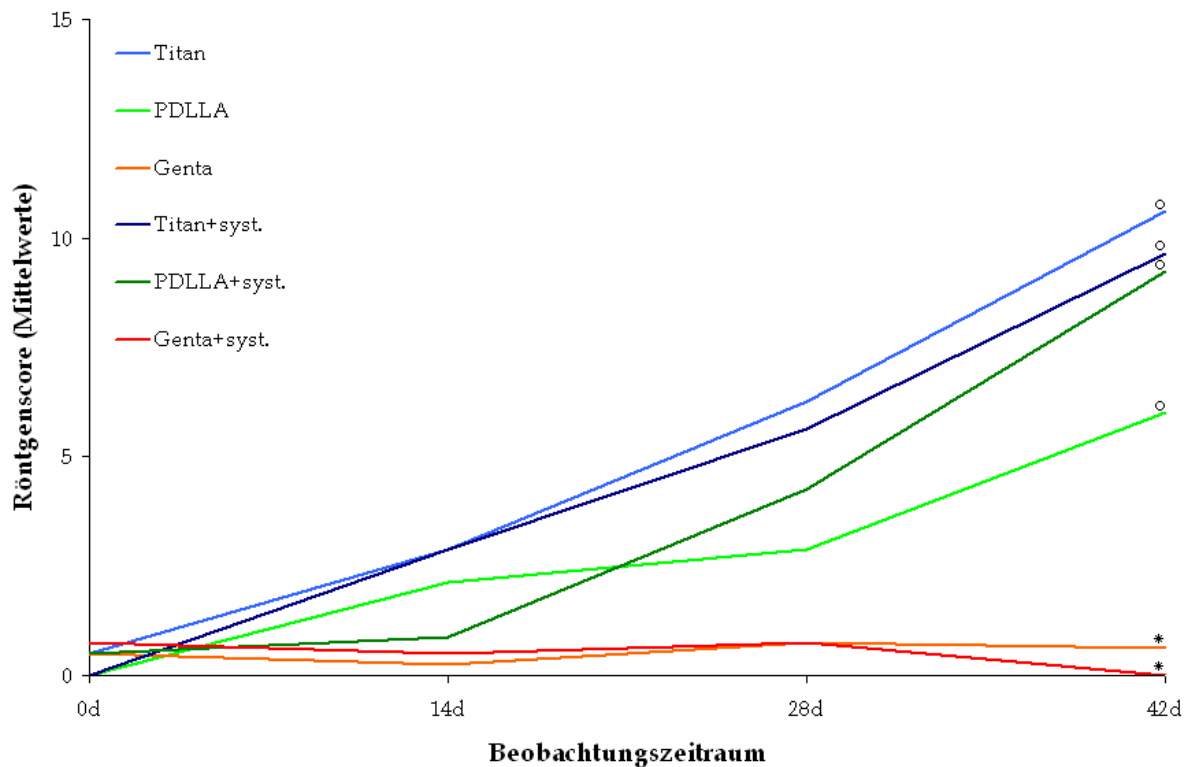
^b $p < 0,009$ im Vergleich mit den Gruppen Titan/syst und PDLLA/syst

^c $p < 0,001$ im Vergleich mit der Gruppe Titan

* $p < 0,001$ Änderung der Infektzeichen über den Beobachtungszeitraum

Die nichtparametrische Multivarianzanalyse der Daten zeigte in den Gruppen Titan, PDLLA, Titan/syst und PDLLA/syst eine signifikante Änderung der Infektzeichen im Beobachtungszeitraum mit einem Signifikanzniveau von $p < 0,001$. Abbildung 10 illustriert vergleichend die Entwicklung der Infektzeichen in den Gruppen über den Beobachtungszeitraum.

In den Gruppen Genta und Genta/syst konnten im Beobachtungszeitraum keine signifikanten Änderungen festgestellt werden ($p > 0,152$ und $p > 0,379$).



* $p < 0,05$ im Vergleich zu den Gruppen Titan, PDLA, Titan/syst und PDLA/syst

° $p < 0,001$ Änderung der Infektzeichen im Beobachtungszeitraum

Abb. 10: Radiologischer Score im Verlauf

Der paarweise Vergleich der Gruppen zeigte, dass sowohl die Gruppe Genta als auch die Gruppe Genta/syst signifikant geringer bewertet wurden als alle anderen Gruppen, die kein Gentamicin im Implantat enthielten.

Wechselwirkungen, d.h. statistisch parallele Verläufe, wurden zwischen den Gruppen Genta und Genta/syst deutlich. Weiterhin zeigten auch die Gruppen Titan, PDLA, Titan/syst und PDLA/syst statistisch Wechselwirkungen auf. Parallele Verläufe zwischen den Gentamicin enthaltenden und nicht enthaltenden Implantaten wurden nicht festgestellt.

Bereits nach zwei Wochen zeigten sich radiologisch deutliche Zeichen der knöchernen Destruktion in Form von Osteolysen, besonders in den Diaphysen der Röhrenknochen bei jeweils sechs Tieren der Gruppen Titan, PDLA und PDLA/syst. Acht Tiere der Gruppe Titan/syst wiesen nach zwei Wochen ebenfalls osteolytische Destruktionen auf.

Das Voranschreiten der Infektion der Knochen zeigte sich im folgenden Überwachungszeitraum durch Zunahme von Osteolysen, Bildung von Sequestern, periostale Schwellungen, Entstehung appositionellen Knochens und das Auftreten von Knochendeformitäten.

Nach 42 Tagen wiesen alle Tiere der Gruppe Titan, jeweils neun Tiere der Gruppen PDLLA und Titan/syst und acht Tiere der Gruppe PDLLA/syst schwere Zeichen knöcherner Destruktion auf.

In den Gruppen Genta und Genta/syst zeigten jeweils acht Tiere über den gesamten Überwachungszeitraum hinweg keine Infektzeichen. Radiologische Anzeichen für eine Osteomyelitis in den verbleibenden zwei Tieren der jeweiligen Gruppen traten erst mit einer Verzögerung von 28 Tagen nach der Operation auf. Knocheninfekte innerhalb der Gruppen Genta und Genta/syst zeigten sich radiologisch weniger stark ausgeprägt als Osteomyelitiden in den übrigen Gruppen.

Die weitere explorative Betrachtung der Population zu den einzelnen Zeitpunkten zeigte, dass nach 14, 28 und 42 Tagen die radiologischen Aufnahmen der Tiere der Gruppe Genta signifikant niedriger bewertet wurden, als die der Tiere der Gruppen Titan und PDLLA. Auch die Tiere der Gruppe Genta/syst wurden zu diesen Zeitpunkten signifikant niedriger bewertet, als die Tiere der Gruppen Titan/syst und PDLLA/syst.

Nach 28 und 42 Tagen konnte ein signifikanter Unterschied in der Bewertung der Infektzeichen zwischen den Gruppen Titan und PDLLA festgestellt werden, wobei die Gruppe PDLLA signifikant niedriger bewertet wurde als die Gruppe Titan.

Zu keinem Zeitpunkt konnten signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen Genta und Genta/syst festgestellt werden. Die Abbildungen 11-14 stellen vergleichend die jeweiligen Gruppen zu den einzelnen Zeitpunkten dar. Abbildung 15 zeigt exemplarisch je ein Tier der entsprechenden Gruppen an Tag 42.

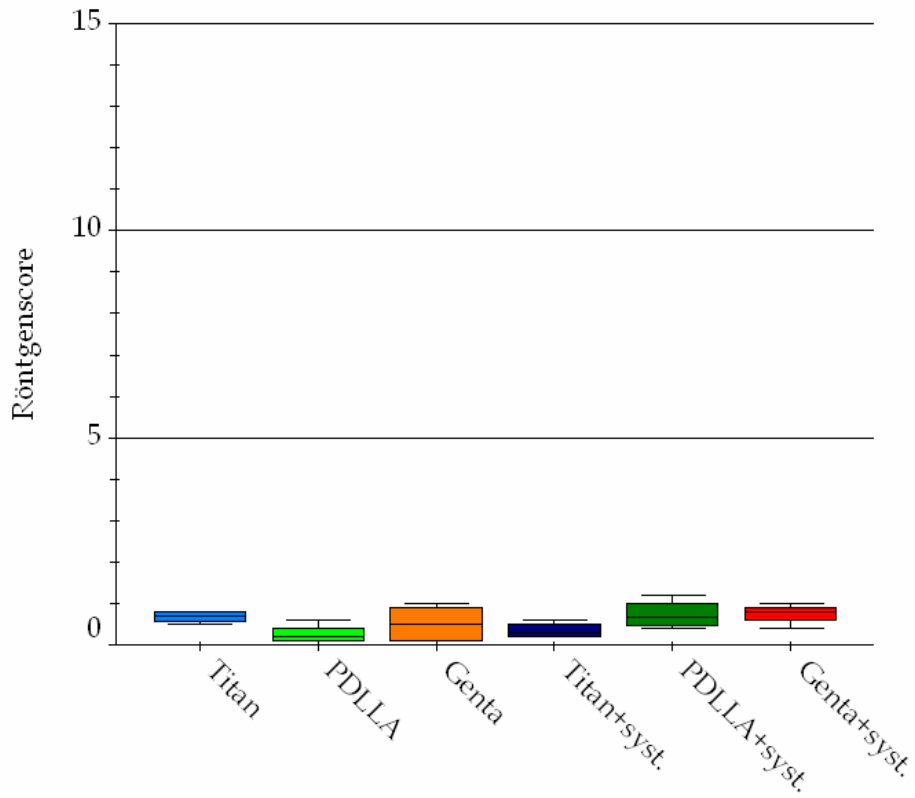
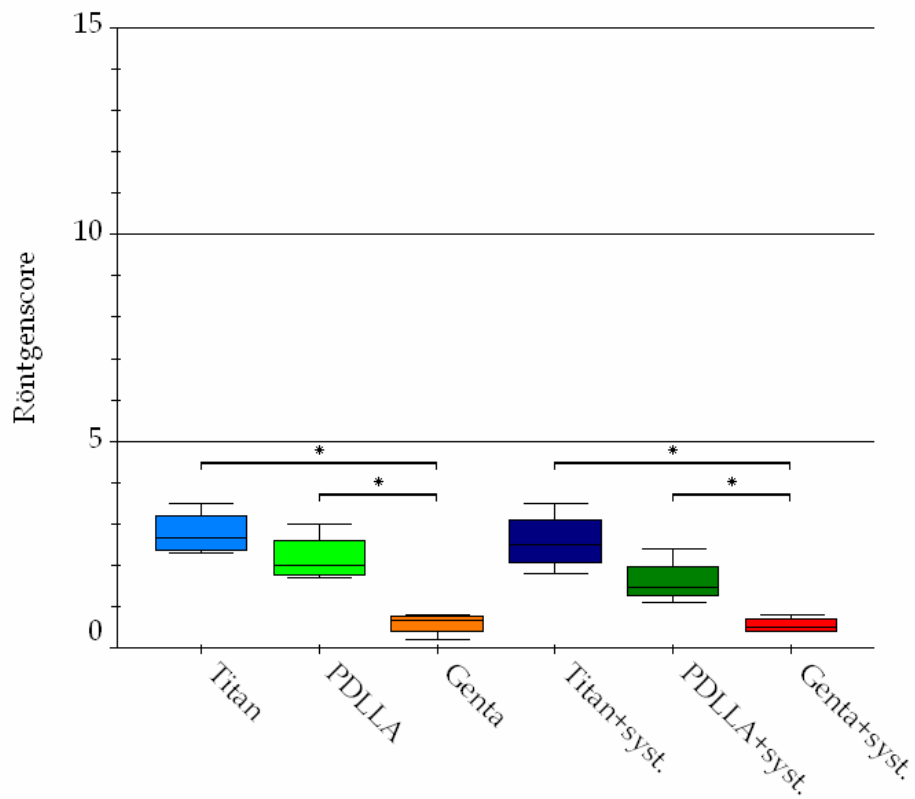
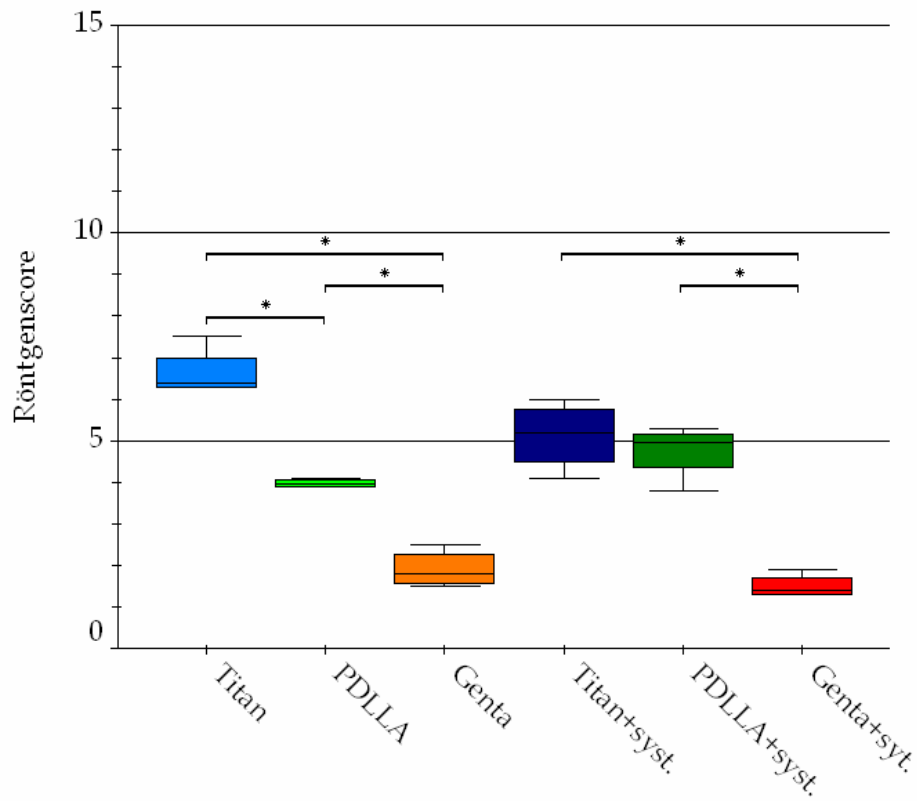


Abb. 11: Radiologische Scorewerte am Tag der Operation



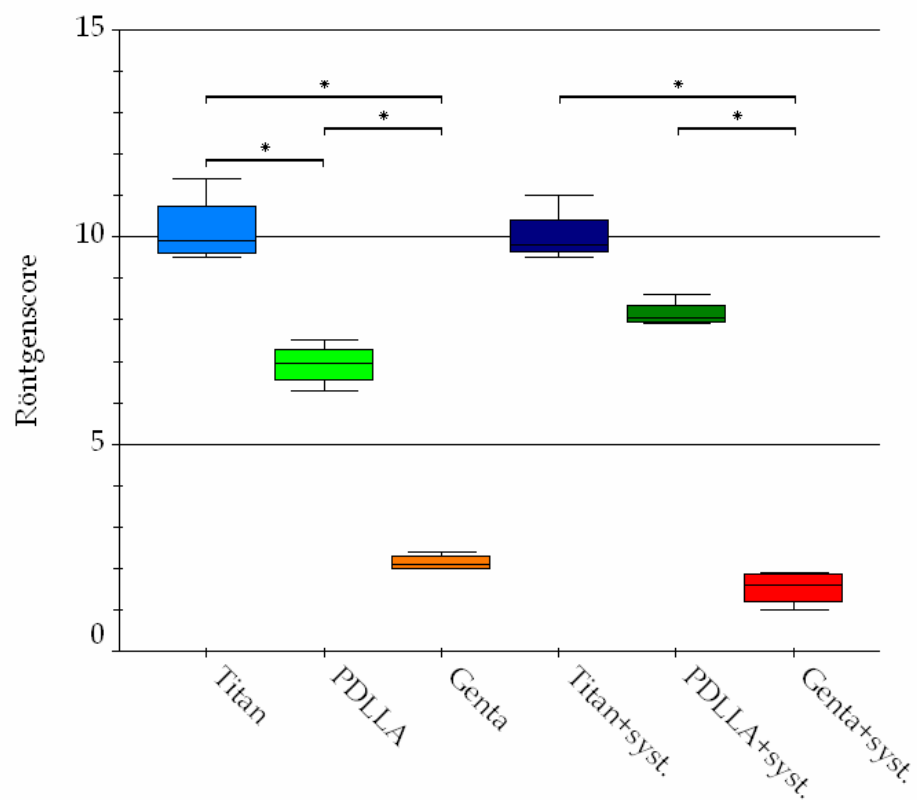
* $p < 0,05$ nach U-Test von Wilcoxon, Mann und Whitney

Abb. 12: Radiologische Scorewerte nach einer Standzeit von 14 Tagen postop



* $p < 0,05$ nach U-Test von Wilcoxon, Mann und Whitney

Abb. 13: Radiologische Scorewerte nach einer Standzeit von 28 Tagen postop



* $p < 0,05$ nach U-Test von Wilcoxon, Mann und Whitney

Abb. 14: Radiologische Scorewerte nach einer Standzeit von 42 Tagen postop.



Abb. 15: Radiologische Darstellung der linken Tibiae im lateralen Strahlengang zum Zeitpunkt der Tötung nach sechs Wochen post operationem. Die Tibiae der Gruppen Titan, PDLLA, Titan/syst und PDLLA/syst zeigten deutliche Zeichen der Osteomyelitis mit Osteolysen, Sequesterbildung und periostalem Anbau. Die Tibiae der Gruppen Genta und Genta/syst zeigten zu diesem Zeitpunkt keine Infektionszeichen.

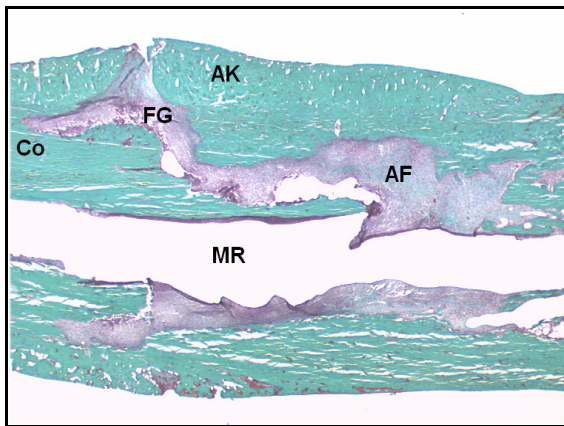
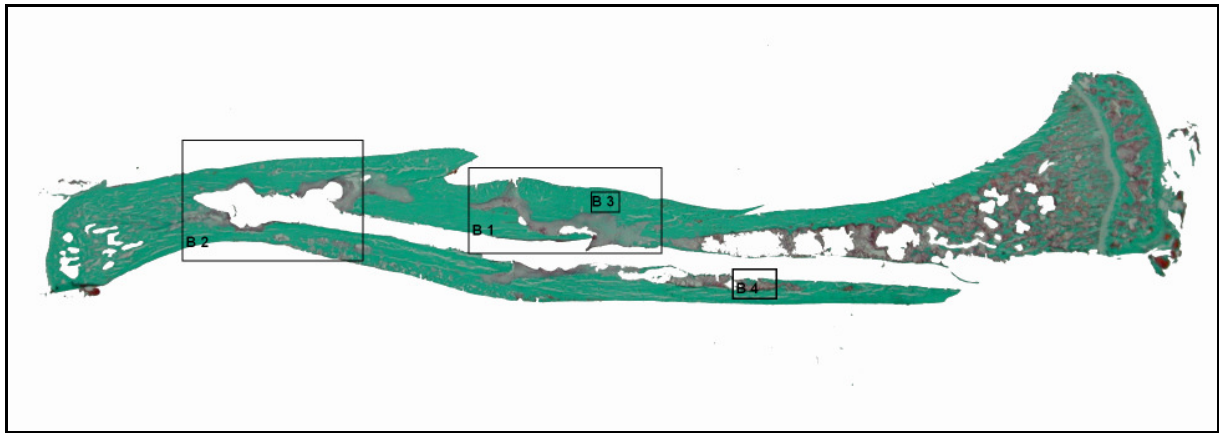
3.7 Histologische Auswertung

Entsprechend den unterschiedlichen Beschichtungen der Kirschner-Drähte zeigten die Tibiae zum Zeitpunkt der Tötung unterschiedliche Ausprägungen einer Osteomyelitis. Abbildung 16 zeigt repräsentativ das Bild einer Osteomyelitis der Tibia einer Ratte der Gruppe Titan. In der Übersichtsaufnahme zeigt sich bereits das Bild eines durch die andauernde Entzündung destruierten Knochens. Der das Implantatlager umgebende Markraum (MR) ist angefüllt mit zellreichem Granulationsgewebe und entzündlicher, serofibrinöser Ödemflüssigkeit. Abszesse (AF) werden in der Masson-Goldner-Färbung violett angefärbt und sind als sehr dichtgepackte, zellreiche Aggregate erkennbar. In Ausschnitt B1 erkennt man wie die Entzündung bereits auf die Kortikalis (Co) übergreift und ein Fistelgang (FG) entstanden ist, der unter das Periost gelangt und schließlich Anschluss an das umliegende Weichteilgewebe findet.

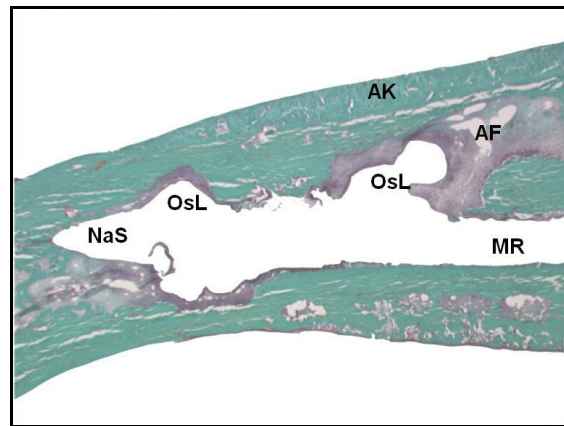
In Ausschnitt B2 erkennt man den Bereich der Spitze des Marknagels (NaS), in dessen Umgebung sich mehrere große osteolytische Läsionen (OsL) und Abszesse gebildet haben.

In Ausschnitt B3 ist appositioneller Knochen (AK) erkennbar. Der fortwährende Reiz, der auf das Periost ausgeübt wird, verursacht dessen reaktive Verbreiterung sowie Umbau und führt schließlich zur Bildung appositionellen Knochens (AK), der sich exzentrisch an die ursprüngliche Kortikalis (Co) anlegt, wie in der Übersichtsaufnahme an der manschettenförmigen Verdickung der Diaphyse erkennbar ist. Der deutliche strukturelle Unterschied zwischen Kortikalis und appositionellem Knochen wird in der Ausschnittsvergrößerung B3 deutlich. Hier richtet sich der neu gebildete Knochen nicht an den Trajektionslinien des Knochens aus, sondern wirkt unstrukturiert und plump, während die Kortikalis weiterhin strukturiert erscheint.

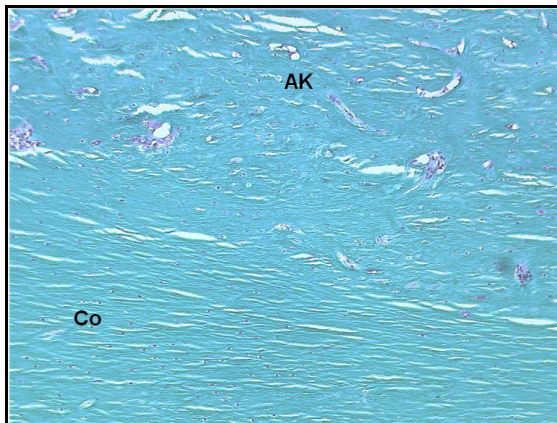
Als Ergebnis ausgeweiteter Knocheninfarkte zeigt Ausschnitt B4 deutlich einen Sequester (Se), der in entzündliches Infiltrat eingebettet ist.



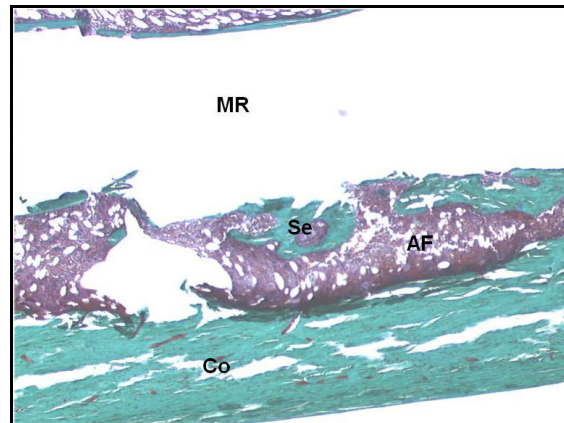
B 1



B 2



B 3



B 4

Abb. 16: Dargestellt ist eine Tibia der Gruppe Titan mit typischen Zeichen einer schweren Osteomyelitis mit den Ausschnittsvergrößerungen B1 (Vergrößerung 1,6x), B2 (1,6x), B3 (10x) und B4 (5x).

Tabelle 7 zeigt die Mediane der Scorewerte zum Zeitpunkt der Tötung.

Tabelle 7: Histologiescore

	Titan	PDLLA	Genta	Titan/syst	PDLLA/syst	Genta/syst
Histoscore	14	11	0 ^a	9,5	12	0 ^b

Bemerkung Dargestellt sind Mediane der Scorepunkte aller Gruppen

^a $p < 0,001$ im Vergleich zu den Gruppen Titan und PDLLA

^b $p < 0,001$ im Vergleich zu den Gruppen Titan/syst und PDLLA/syst

Alle Schnitte der Gruppen Titan, PDLLA und Titan/syst zeigten typische Anzeichen einer Osteomyelitis. Auf den histologischen Präparaten konnten Osteolysen, Formation von Abszesshöhlen, Destruktion kortikalen Knochens und Bildung appositionellen Knochens erkannt werden. Vier Tiere der Gruppe PDLLA/syst zeigten ebenso deutliche Zeichen einer Infektion. Ein Tier dieser Gruppe blieb ohne histologische Anzeichen einer Knocheninfektion.

Zwischen diesen Gruppen konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

In der Gruppe Genta zeigten sich vier von fünf und in Gruppe Genta+syst drei Tibiae ohne histologische Anzeichen einer Knocheninfektion. Beide Gruppen, in denen die gentamicinbeschichteten Nägel implantiert wurden, erhielten nahezu die gleichen Scorewerte. Die durchschnittlichen Scorewerte der Gruppen Genta und Genta/syst erwiesen sich als signifikant niedriger, verglichen mit allen anderen Gruppen (Gruppen Titan, PDLLA, Titan/syst, PDLLA/syst) ($p < 0,001$).

Im Gegensatz zu den Tibiae der Gruppen Genta, PDLLA, Titan/syst und PDLLA, bei denen die Infektion im gesamten Nagelbereich stattfand, zeigte das infizierte Tier der Gruppe Genta und ein Tier der Gruppe Genta/syst histomorphologisch eine Lokalisation der Infektion im Bereich der distalen Epi- und Metaphyse und im Bereich der Nagelspitze. Das zweite infizierte Tier der Gruppe Genta/syst zeigte dagegen eine Infektion im Bereich der Diaphyse. Abbildung 17 stellt die Scorewerte

der Infektzeichen zum Zeitpunkt der Tötung graphisch dar und Abbildung 18 zeigt repräsentativ Tibiae der Tiere der einzelnen Gruppen.

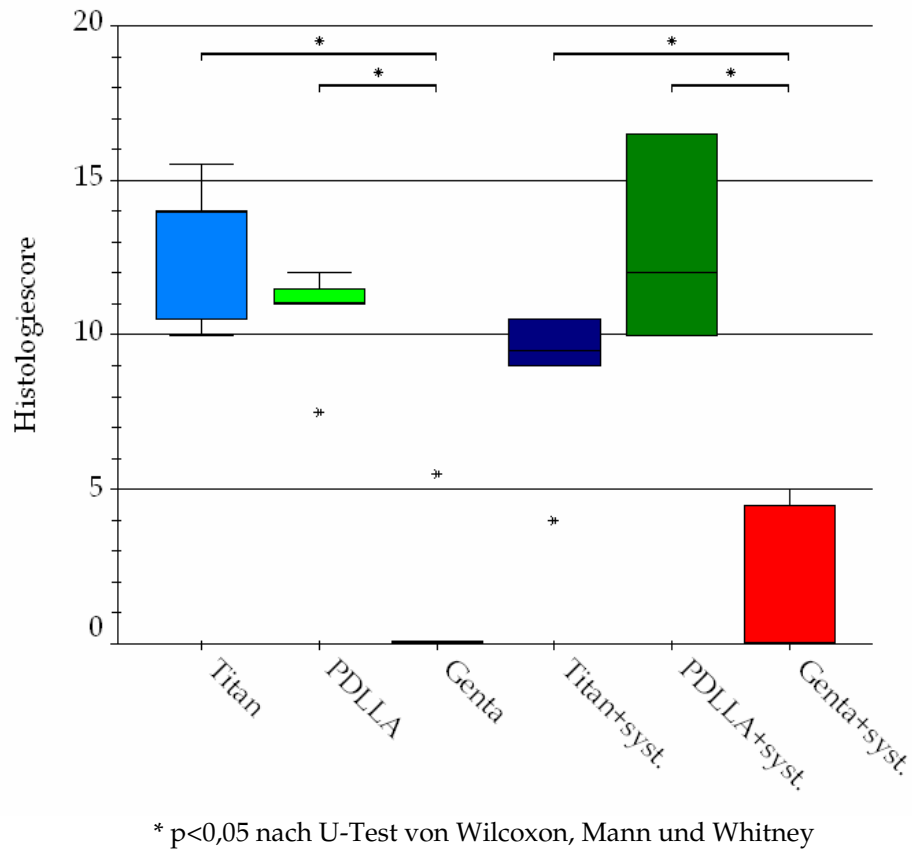


Abb. 17: Histologische Scorewerte nach 42 Tagen zum Zeitpunkt der Tötung.

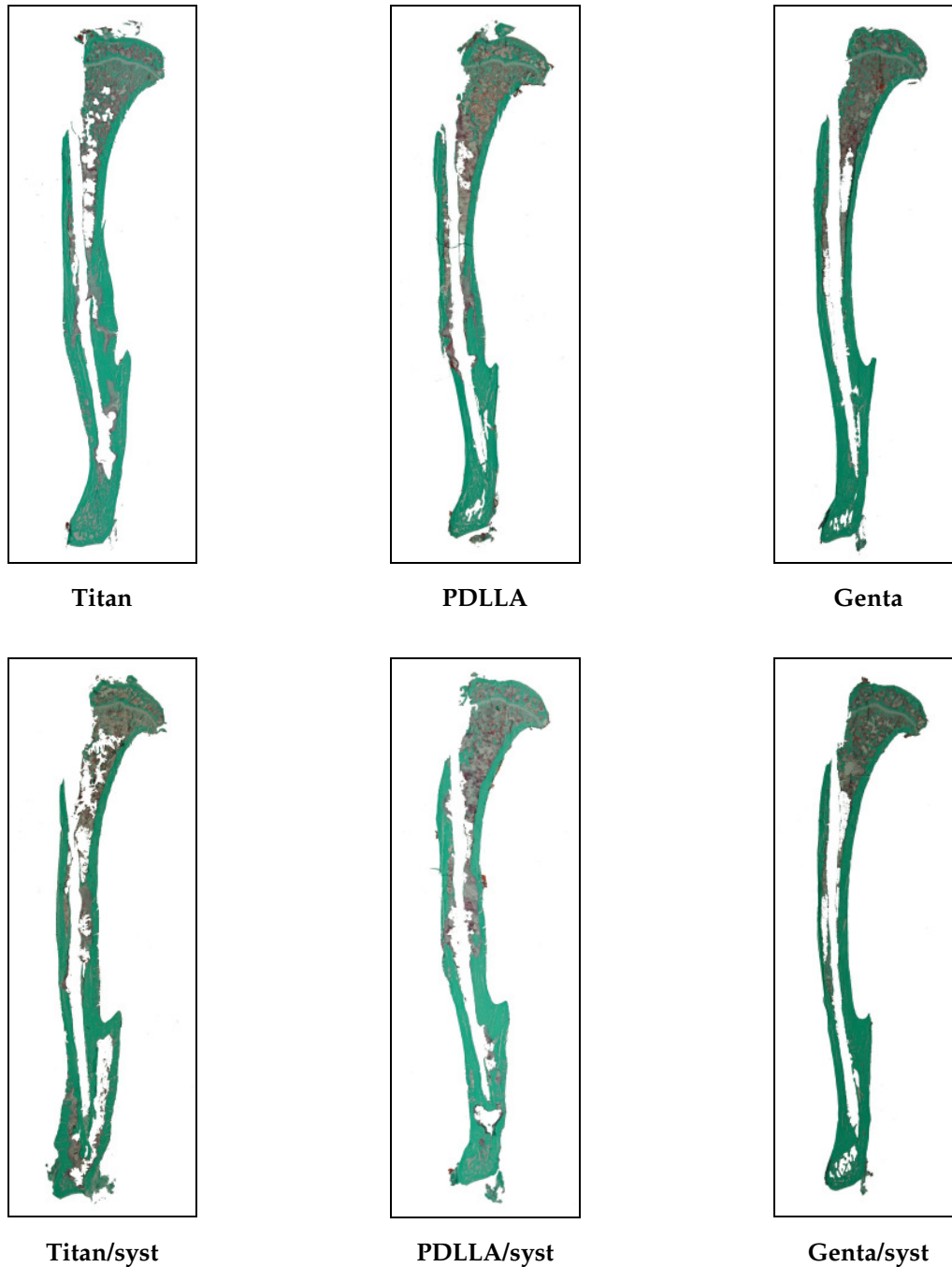


Abb. 18: Dargestellt sind repräsentative histologische Präparate der Tibiae der Gruppen I-VI nach einer Standzeit von 42 Tagen zum Zeitpunkt der Tötung. Deutlich zu erkennen sind die für die Osteomyelitis typischen Veränderungen in den Gruppen Titan, PDLLA, Titan/syst und PDLLA/syst mit Osteolysen, Sequestrierung, Abszessbildung und Knochendeformation. Die Tibiae der Gruppen Genta und Genta/syst dagegen zeigen zu diesem Zeitpunkt keine morphologischen Korrelate für Entzündungen.

3.8 Inter-Observer-Variabilität

Zwischen den Betrachtern ergab die Bewertung der radiologischen Bilder zu den Zeitpunkten U1 (OP-Zeitpunkt, 0 Tage) und U7 (Zeitpunkt der Tötung, 42 Tage) keine signifikanten Unterschiede.

Zum Zeitpunkt U3 (14 Tage) bewertete ein Betrachter die Röntgenbilder einer Gruppe signifikant geringer.

Zum Zeitpunkt U5 (28 Tage) wurden die Röntgenbilder in zwei Gruppen von je einem Betrachter signifikant geringer bewertet als von den anderen drei Observern.

Die Auswertung der Scorepunkte der histologischen Schnitte zeigte, dass ein Betrachter im Vergleich zu den anderen ein Tier der Gruppe Genta signifikant höher bewertete.

3.9 Mikrobiologische Ergebnisse (nicht Teil dieser Promotion)

In keiner der Blutkulturen, die am Tag der Tötung aquiriert wurden, fand sich *Staph. aureus*. Aus einer Blutkultur der Gruppe Titan/syst konnte allerdings *Strept. viridans* isoliert werden.

Nach der Tötung und Explantation zeigten alle Implantate der Gruppen Titan und PDLLA ein Keimwachstum durch Trübung der Bouillon nach 24 h. Das Abrollen der entsprechenden Implantate auf Agar-Platten erbrachte ein massives Wachstum von *Staph. aureus* (weit über 1000 KBE). Dabei zeigte sich ein typisches Abrollmuster, welches sich homogen entlang des gesamten Implantates verteilte.

Bei den Abrollkulturen der Gruppen Titan/syst und PDLLA/syst waren 17 von 20 *Staph. aureus* positiv und zeigten dabei das gleiche bakterielle Verteilungsmuster. Eine Kultur der Gruppe Titan/syst und zwei Kulturen der Gruppe PDLLA/syst blieben steril.

Im Vergleich dazu blieben 17 von 20 Kulturen der gentamicinbeschichteten Implantate steril (Gruppe Genta und Genta/syst). Die verbleibenden drei Kulturen

dieser Gruppen zeigten nur ein schwaches Bakterienwachstum (7 bis 136 KBE) und dieses vornehmlich im Bereich der Implantatspitze (Abbildung 19).

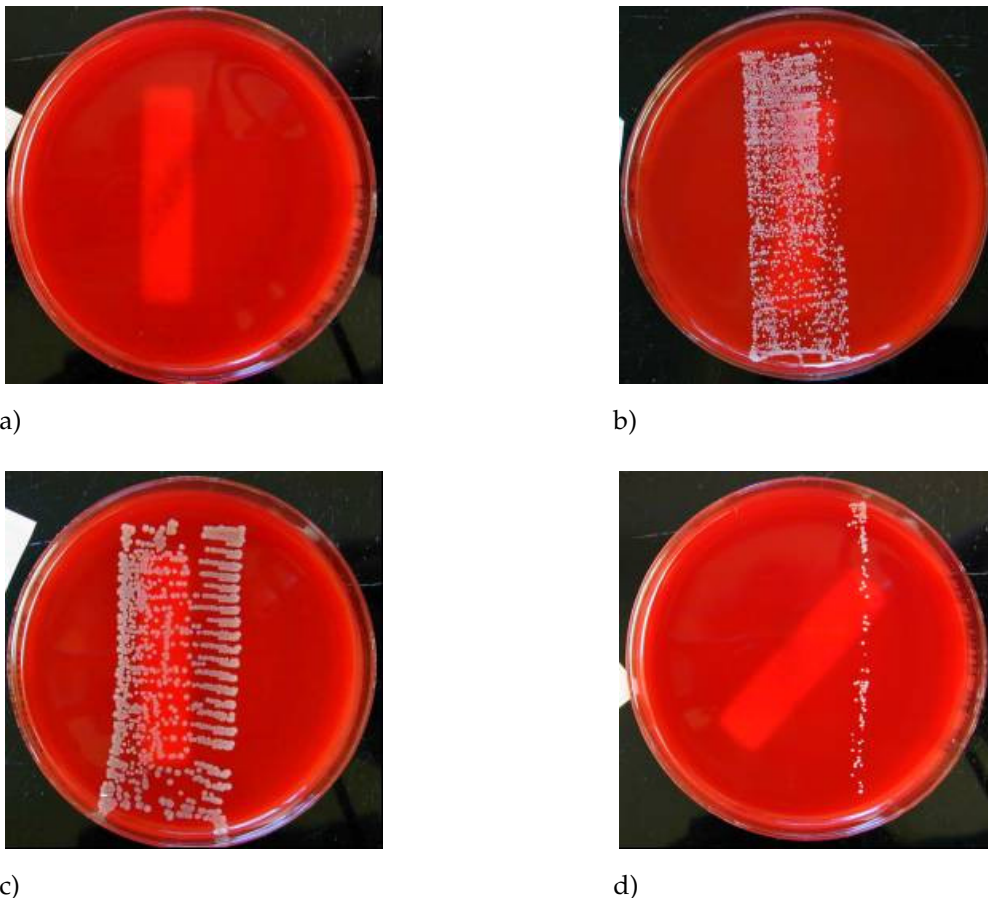


Abb. 19: Abrollkultur der explantierten Kirschner-Drähte auf Blutagar nach einer Inkubationszeit von 24 h. a) Sterile Agar-Platte eines Tieres der Gruppe Genta. Dagegen zeigte sich ein massiver Bewuchs der Agar-Platte, deren Implantat keine antimikrobielle Beschichtung enthielt, sowohl ohne systemische Gentamicinapplikation b), als auch mit systemischer Gentamicinapplikation c). Bild d) zeigt die Kultur eines Tieres aus der Gruppe Genta/syst mit wenigen gebildeten Kolonien im Bereich der Spitze des Implantates.

Von 17 der 20 Tiere, die entweder unbeschichtete oder mit PDLLA beschichtete Kirschner-Drähte erhielten (Gruppe I, II, IV, V), konnte *Staph. aureus* im pulverisierten Knochen angezüchtet werden. Dabei variierte die Bakterienmenge von 1.33×10^4 bis 1.03×10^5 KBE/g Knochen. Die verbleibenden drei Kulturen blieben steril. Eine einzige Kultur pulverisierten Knochens in der Gruppe Genta zeigte ein Wachstum von *Staph. aureus*. In den Kulturen der Gruppe Genta/syst konnte kein bakterielles Wachstum nachgewiesen werden.

4 Diskussion

Biomaterialien finden in der Orthopädie und Unfallchirurgie verbreitete Verwendung. Jährlich werden in Deutschland etwa 150000 bis 180000 Hüft- und etwa 50000 Knieendoprothesen implantiert [97]. Hinzu kommen die im Rahmen von Osteosynthesen in der Unfallchirurgie verwendeten Implantate. Ihre Anwesenheit kann jedoch, im Falle einer bakteriellen Kontamination, die Entstehung tiefer Wundinfektionen begünstigen [18,19,20,98].

Der Ausbruch von Osteomyelitiden in Verbindung mit Implantaten ist Gegenstand unterschiedlicher tierexperimenteller Studien. Verschiedene Arbeiten, in denen eine Osteomyelitis im Tiermodell experimentell induziert wurde, verwendeten zusätzliche Fremdmaterialien [99], thermische Schädigung [100] oder sklerosierende Agenzien [101], um das Knochengewebe zu schädigen und den Ausbruch der Infektion zu sichern. Die hierbei entstandenen Knochennekrosen und die eingeschränkte Durchblutung boten den Mikroorganismen in Verbindung mit dem Implantat ausreichend Nährboden zur Adhäsion und förderten so eine Infektion. Im klinischen Alltag kommt es bei elektiven Operationen trotz Einhaltung der Sterilitätskriterien und fortschrittlicher Operationstechniken immer wieder vor, dass Keime in das Operationsgebiet eingeschleppt werden und dort insbesondere in Verbindung mit dem Implantat zu schweren Infektionen führen. Dabei wirken jedoch nur das Implantat und der durch das Operationstrauma geschädigte Knochen als Promotoren für die Infektion.

Das verwendete Infektmodell geht davon aus, dass insbesondere Frühinfektionen in der orthopädischen Chirurgie durch intraoperativ eingebrachte Bakterien verursacht werden. Es kommt, im Gegensatz zu den oben erwähnten Studien, ohne weitere Manipulation des Knochens außer der Erweiterung des Markraumes und der Implantation des Titan-Kirschner-Drahtes aus. In dieser Studie erfolgt die Kontamination des Knochens im Rahmen der Insertion des Implantats [90] und ahmt

damit die Pathogenese der implantatassoziierten Osteomyelitis in der klinischen Realität nach.

Vorhergehende Versuche konnten zeigen, dass mit dem verwendeten Modell valide und reproduzierbar implantatassoziierte Knocheninfektionen induziert werden können [90,102].

Als Inokulum wurde *Staph. aureus* (ATCC 49230) verwendet. *Staph. aureus* ist ein Bakterium mit hoher klinischer Relevanz, da dieser, besonders in frühen Stadien von tiefen Wundinfektionen, der häufigste isolierte Keim an metallischen Implantaten ist [3]. Wegen seiner hohen Pathogenität im Rahmen von Infektionen und seiner Ubiquität ist *Staph. aureus* ein häufig verwendeter Versuchskeim bei der Erforschung implantatassoziiertes Osteomyelitiden [5,99,103,104]. Der in dieser Studie verwendete *Staph. aureus* (ATCC 49230) war knochenpathogen und sensibel gegen Gentamicin (siehe Abbildung 6).

Staph. aureus adhärirt wie viele andere Mikroorganismen an der Oberfläche von Materialien und beginnt eine Glykokalix zu produzieren, womit er sich den Immunmechanismen des Wirtes entziehen kann und gegenüber Chemotherapeutika unempfindlicher wird. Nach Formation des Biofilms ist die Empfindlichkeit des Bakteriums gegen den antimikrobiellen Wirkstoff um das 10-1000fache verringert [45,105].

Durch Verbesserung der Strategien in der Infektprophylaxe konnte die Infektionsrate in der orthopädischen Chirurgie deutlich gesenkt werden. Wichtige Pfeiler in der Prävention implantatassoziiertes Osteomyelitiden sind dabei die Standardisierung von Operationstechniken mit Verkürzung der OP-Zeit [17], Optimierung des Implantatdesigns [19] und der Einsatz lokaler Antibiotikaträger wie Knochenzement und PMMA-Ketten [106]. Insbesondere mit Einführung einer systemischen perioperativen Antibiotikaprophylaxe konnte eine deutlichen Senkung der Inzidenz von tiefen Wundinfektionen erreicht werden [8,60,61,62,64]. Eine individuelle und risikoadaptierte perioperative antibiotische Prophylaxe wird heutzutage für nahezu jeden operativen Eingriff angewandt [107]. Die Frage ist weniger ob, sondern welche Antibiotika, bzw. Antibiotikakombinationen in welchen Mengen und zu welchen

Zeitpunkten eingesetzt werden sollten, um die Inzidenz von Infektionen zu verringern.

Eine antibiotische Prophylaxe, unabhängig von der Applikationsform, sollte gewährleisten, dass ausreichend hohe Gewebekonzentrationen eines Antibiotikums an dem Ort erreicht werden, wo es tatsächlich benötigt wird. Die Anflutung des Wirkstoffes sollte schnell erfolgen und Wirkstoffkonzentrationen weit oberhalb der minimalen Hemmkonzentration (MHK) für die erwarteten Bakterien sollten erreicht werden. Dabei sollten systemische Nebenwirkungen möglichst vermieden werden. Betroffen ist insbesondere das Interface von Implantat und Knochen, da hier ohnehin durch das unfallbedingte oder operative Trauma bereits eine Minderperfusion vorliegt, die durch das Einbringen eines Implantates noch verstärkt wird. Die lokale körpereigene Abwehr und die Verteilung eines systemisch applizierten Antibiotikums werden hierdurch negativ beeinflusst und einer Infektion wird somit Vorschub geleistet.

Fremdkörper jeder Art, die in den Körper eingebracht werden, bieten Mikroorganismen Gelegenheit zur Adhäsion. Bekannt ist auch, dass die Anwesenheit eines Fremdkörpers im Organismus die benötigte Keimmenge für die Etablierung einer Infektion deutlich senkt [56]. Die Gründe hierfür liegen unter anderem in der Schwächung des Immunsystems durch Hemmung von Funktion und Proliferation von Abwehrzellen [108,109]. Weiterhin beeinflussen Faktoren wie Größe, Material und Oberflächenbeschaffenheit eines Fremdkörpers bzw. eines Implantates dessen Empfänglichkeit für eine Besiedelung durch Bakterien [109,110]. Gleiches gilt grundsätzlich auch für antibiotikahaltige Fremdmaterialien, wie Knochenzement, PMMA-Ketten und Zementspacer, die bei der Infektprophylaxe und -behandlung in der orthopädischen Chirurgie eingesetzt werden. Zwar setzen diese initial große Mengen von antimikrobiellen Substanzen frei, die für einen kurzen Zeitraum lokal höhere Konzentrationen erreichen als dies bei der systemischen Gabe möglich ist [106], durch ihre permanente Anwesenheit können sie jedoch früher oder später das Substrat für eine bakterielle Adhäsion und konsekutive Besiedlung bieten.

Weiterhin zeigt die Freisetzungskinetik von Wirkstoffen aus Kunstharzen wie PMMA typischerweise einen zweiphasigen Verlauf. Der initialen Phase der Freisetzung hoher Dosen von Antibiotikum folgt eine lange, Wochen bis Monate andauernde Phase der Freisetzung teilweise subinhibitorischer Konzentrationen der Substanzen [111]. So konnte gezeigt werden, dass selbst nach mehreren Jahren immer noch über 80% des Wirkstoffes in den Zement eingeschlossen ist [112]. Dieser wird, wenn auch in geringen Mengen, fortwährend freigesetzt. Um einer bakteriellen Resistenzentwicklung in solchen Fällen vorzubeugen werden Zementspacer und PMMA-Ketten in den meisten Fällen nach kurzer Zeit wieder entfernt.

Beide zuvor genannten Probleme könnten jedoch durch den Einsatz eines biodegradierbaren „Drug Carriers“ wie Poly(D,L-Laktid) umgangen werden, da sowohl die Anwesenheit des Trägerstoffes, als auch die Freisetzung und Anwesenheit des inkorporierten Wirkstoffes durch den vollständigen Abbau der Carriersubstanz in definierten zeitlichen Grenzen liegt.

In der vorliegenden Studie wurde Gentamicin aus einer biodegradierbaren Beschichtung aus PDLLA freigesetzt, die direkt auf das Titanimplantat aufgetragen wurde. PDLLA wird primär durch hydrolytische Prozesse vollständig abgebaut und gibt dabei den inkorporierten Wirkstoff frei [83]. Das Polymer wird dabei gut vom lebenden Gewebe toleriert. Milde bis moderate Fremdkörperreaktionen wurden dabei in Studien beobachtet, die meist aber nur vorübergehend waren [89,113].

Die Freisetzungskinetik von Gentamicin aus PDLLA zeigt einen zweiphasigen Verlauf. In vorhergehenden in vitro Studien konnte so gezeigt werden, dass 60% des eingearbeiteten Gentamicin mit einem initialen Schub in den ersten 24 Stunden aus der Beschichtung vor allem durch Diffusionsprozesse freigesetzt werden. Darauf folgte eine kontinuierliche Phase der Freisetzung, bei der nach sechs Wochen über 90% des inkorporierten Gentamicin herausgelöst war [91].

Das breite Wirkspektrum, welches die meisten Erreger, die üblicherweise in

Osteomyelitiden zu finden sind, einschließt, die primär bakterizide Wirkung selbst auf nicht proliferierende Mikroorganismen [114] und der rasche Wirkungseintritt machen Gentamicin zu einem bevorzugten Antibiotikum im Rahmen der lokalen Applikation. Seit Jahrzehnten wird es erfolgreich in der orthopädischen Chirurgie als Zusatz in PMMA-Ketten oder Knochenzement eingesetzt [69].

Die Wirksamkeit von Gentamicin gegenüber dem in der vorliegenden Studie verwendeten *Staph. aureus* konnte nachgewiesen werden. Auf jedem Implantat befanden sich durchschnittlich ca. 100 µg Gentamicin und damit ein Bruchteil der im Rahmen der systemischen Applikation anfallenden Wirkstoffmenge von ca. 1 mg Gentamicin. Die Abgabe dieser Menge Wirkstoff in den Raum zwischen Implantat und Knochen sicherte eine ausreichend hohe Antibiotikakonzentration weit oberhalb der ermittelten minimalen Hemmkonzentration (MHK) für den verwendeten *Staph. aureus*. Gleichzeitig war diese Konzentration jedoch zu gering, um zytotoxische Effekte auf Osteoblasten, wie sie in der Literatur beschrieben werden, auszuüben [115]. Auch konnten keine negativen Effekte in den Tieren, die ein gentamicinbeschichtetes Implantat erhielten, radiologisch oder histomorphologisch beobachtet werden.

Gentamicin ist hydrophil. Dadurch kann es fast nicht in die Körperzellen eindringen und ist so exklusiv gegen extrazellulär gelegene Keime wirksam [74]. Dies erhöht den Evolutionsdruck auf vorkommende Mikroorganismen. Insbesondere bei einer langsamen Freisetzung subinhibitorischer Mengen des Wirkstoffs wird Mikroorganismen die Möglichkeit gegeben, Verteidigungsstrategien zu entwickeln. So kann dies die Ausbildung von *Staph. aureus* Small Colony Variants (SCV), einer Variante von *Staph. aureus*, die zum eigenen Schutz in die Zelle ausweichen kann und dort über einen längeren Zeitraum persistiert und sogar Resistenzen gegen Gentamicin ausbildet, fördern [2,105]. Ziel der lokalen Applikation eines antimikrobiellen Wirkstoffes muss es also sein, einen so hohen Wirkstoffspiegel über einen kurzen Zeitraum zu erhalten, dass es nicht zur Ausbildung von SCVs oder anderen Resistenzbildungen kommen kann. Alternativ könnte die Kombination mit einem zellwandgängigem Antibiotikum, systemisch oder als Bestandteil der

Beschichtung, die Möglichkeit bieten der Evasion von *Staph. aureus* nach intrazellulär wirkungsvoll entgegenzutreten [116].

Auch könnte die Verwendung von Antibiotikakombinationen in der PDLLA-Beschichtung einer möglichen Verschiebung des Erregerspektrums entgegenwirken.

In der klinischen Anwendung ist Gentamicin nicht Antibiotikum der Wahl in der systemischen Prophylaxe. Um ausreichend hohe Wirkspiegel in situ zu erlangen wird eine intravenös applizierte, tägliche Einmaldosis von 3-5 mg/kg Körpergewicht empfohlen. Die Ausscheidung von Gentamicin erfolgt vorwiegend renal durch glomeruläre Filtration. Ist diese eingeschränkt oder muss der Wirkstoff höher dosiert bzw. über einen längeren Zeitraum verabreicht werden, kann der Gentamicin im Körper kumulieren und zu nephro- und ototoxischen Nebenwirkungen führen, die proportional zur verabreichten Gesamtdosis steigen [73]. Aus diesem Grund muss bei Einschränkung der Nierenfunktion eine Dosisanpassung vorgenommen werden. Um für Studienzwecke jedoch vergleichbare Verhältnisse zu schaffen, wurde Gentamicin auch als Wirkstoff für die perioperative Antibiotikaphylaxe ausgewählt und intraperitoneal appliziert. Ausreichende Serumkonzentrationen innerhalb des empfohlenen therapeutischen Bereichs wurden durch die Ermittlung der MHK für den verwendeten *Staph. aureus* und des Gentamicin-Serumspiegels kurz vor Beginn der Operation sichergestellt.

Ziel dieser Studie war es, die Effektivität einer gentmycinhaltigen Beschichtung von Implantaten mit der systemischen Applikation eines Antibiotikums zur Osteomyelitisprophylaxe am Rattenmodell zu vergleichen. Dazu wurde Gentamicin in eine Beschichtungsmasse aus Poly(D,L-Laktid) eingebracht und auf Titanimplantate aufgetragen. Diese wurden anschließend in den kontaminierten Markraum der Versuchstiere implantiert.

Alle Tiere der Gruppen, die weder Gentamicin in der Beschichtung des Implantats, noch als systemische perioperative Single-Shot-Antibiose erhielten, entwickelten eine Osteomyelitis. Radiologische Zeichen der ossären Destruktion konnten hier bereits kurz nach der Operation (zwei Wochen post operationem) gefunden werden. Bis

zum Zeitpunkt der Tötung, wiesen die Infektionen bei diesen Tieren einen progredienten Verlauf auf. Auch in der histologischen Auswertung zeigte sich, dass alle Tiere dieser Gruppen knöcherne Destruktionen im Sinne einer Osteomyelitis aufwiesen. Die Ergebnisse der mikrobiologischen Kulturen unterstützen diese Auswertungsergebnisse.

Die alleinige systemische antibiotische Prophylaxe verminderte die Infektionsrate in den Gruppen Titan/syst und PDLLA/syst bereits um 15 %. Drei von 20 Tieren aus diesen Gruppen zeigten in der radiologischen Auswertung keine Anzeichen einer Infektion. Auch in der histologischen Auswertung blieben drei von 10 Tieren ohne histologische Anzeichen einer Infektion. In der mikrobiologischen Analyse ließ sich bei diesen Tieren der Erreger nicht anzüchten. Die übrigen Tiere dieser beiden Gruppen entwickelten dagegen Infektzeichen, die in ihrer Ausprägung mit denen der Gruppen Titan und PDLLA vergleichbar waren.

In der Multivarianzanalyse zeigte sich, dass alle Gruppen, die keine antibiotikabeschichteten Tibianägel erhielten, in der radiologischen Analyse statistisch parallel verliefen.

Auch das Vorhandensein von PDLLA auf dem Implantat schien die Infektionsrate und Ausprägung zu beeinflussen. So wurden Infektionen der Gruppe PDLLA zu den Zeitpunkten U5 (28 Tage) und U7 (42 Tage, Tötung) in der radiologischen Auswertung signifikant niedriger bewertet als die Tiere der Gruppe Titan. Diese Beobachtungen stimmen mit Ergebnissen anderer Studien überein, in der eine PDLLA-Beschichtung getestet wurde und ein antimikrobieller Effekt der Beschichtung beobachtet werden konnte [91].

Insgesamt wurden 20 Tiere mit gentamicinbeschichteten Implantaten behandelt, wobei in 85% dieser Fälle eine Infektion verhindert werden konnte. Zehn dieser 20 Tiere wurden lediglich mit einem gentamicinbeschichteten Kirschner-Draht behandelt, während die verbleibenden zehn Tiere eine Kombination aus antimikrobiell beschichtetem Implantat und systemischer Antibiose erhielten. Die zusätzliche systemische Applikation erbrachte bei diesen Gruppen keine erkennbare

zusätzliche Reduktion der Infektrate. Es zeigte sich, dass bei lediglich einem Tier der Gruppe Genta eine Infektion entwickelte, während zwei Tiere der Gruppe Genta/syst typische Anzeichen einer Osteomyelitis aufwiesen.

Die Multivarianzanalyse des radiologischen Scores ergab einen statistisch parallelen Verlauf über den Beobachtungszeitraum bei den Tieren, die einen gentamicinbeschichteten Marknagel erhielten.

Auch in der vorliegenden Studie zeigte sich die Effektivität des entwickelten Infektmodells. Tiere, die weder ein gentamicinbeschichtetes Implantat noch Gentamicin als systemische perioperative Single-Shot-Antibiose erhielten, zeigten histologische und radiologische Zeichen einer Osteomyelitis bereits nach 14 Tagen. Die Resultate der mikrobiologischen Analyse unterstützten diese Ergebnisse und bestätigten, dass die implantatassoziierte Osteomyelitis mit dem bestehenden Modell und bei der gegebenen Bakterienkonzentration (10^2 KBE/ $10 \mu\text{l}$) sicher induziert werden konnte und einen progredienten Verlauf aufwies.

Die Effizienz von gentamicinbeschichteten Implantaten konnte in einer vorhergehenden Studie bereits dargestellt werden [88,91]. Dort konnte die Infektion durch Implantation gentamicinbeschichteter Kirschner-Drähte in lediglich 30% der Fälle verhindert werden, verglichen mit der jetzigen Studie, in der es 85% waren. Der Grund hierfür könnte in den unterschiedlichen Bakterienkonzentrationen liegen. In der Vorgängerstudie wurden 10^3 KBE *Staph. aureus* in den Markraum inokuliert, eine zehnfach höhere Bakterienkonzentration als es in dieser Studie der Fall war. Aus den gewonnenen Erfahrungen wurde in dieser Studie die geringste Bakterienkonzentration verwendet, die nötig war, um in 100% der Fälle eine implantatassoziierte Osteomyelitis zu induzieren.

Wie bereits oben beschrieben konnte eine Osteomyelitis bei den Tieren, die weder Gentamicin im Implantat noch eine systemische antibiotische Prophylaxe erhielten zu 100% induziert werden. Erste radiologische Anzeichen für die Infektion präsentierten sich bereits kurz nach der Operation und zeigten eine rasche Progredienz über den gesamten Beobachtungszeitraum.

Auch einige Tiere der Gruppen, die Gentamicin im Implantat erhielten entwickelten eine Osteomyelitis. Auffallend ist jedoch, dass die Infektionen sich hier mit einer gewissen Verzögerung entwickelten und erst nach 28 Tagen radiologisch erkennbar waren. Mit Ausnahme eines Tieres aus der Gruppe Genta, bei dem der gesamte Markraum im Bereich des Implantat-Knochen-Interfaces im Bereich der Diaphyse infiziert war, waren bei Tieren dieser Gruppen die Infektionen weniger stark ausgeprägt. Histologisch und radiologisch zeigten diese Tiere eine Entwicklung des Infektes lediglich im Bereich der Nagelspitze.

Mögliche Gründe für die Entstehung einer lokalen Infektion im Bereich der Nagelspitze mit Ausbreitung in den distalen epiphysären Anteil der Tibia bei den Tieren, deren Nagel die antimikrobielle Beschichtung enthielt, könnten in der Struktur des in der Metaphyse vorkommenden spongiösen Knochens liegen. Die aufgelockert spongiöse, labyrinthartige Struktur könnte dazu führen, dass sich die Mikroorganismen leichter dem freigesetzten Antibiotikum entziehen können. Desweiteren könnte das bakterielle Inokulat weiter, der Schwerkraft folgend, in die Metaphyse geflossen sein und damit in Bereiche gelangt sein, in die das Antibiotikum aus der Beschichtung gar nicht freigesetzt werden kann. Diese Bereiche werden „Deadspace“ genannt.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass in der vorliegenden Studie die Effektivität der lokalen Applikation von Gentamicin aus einer biodegradierbaren PDLLA-Beschichtung eines Titan-Kirschner-Drahtes zur Prophylaxe der implantatassoziierten Osteomyelitis demonstriert werden konnte. In dieser Studie führte diese Applikationsform zu einer höheren Reduktion der Infekte als die alleinige perioperative, gewichtsadaptierte „Single-Shot“ Applikation. Die Kombination der lokalen und der systemischen Applikation zeigte eine vergleichbare Minderung der Infektionsrate.

Die Senkung der Infektionsrate in der vorliegenden Studie lässt sich vornehmlich auf die Wirkung der antimikrobiellen Beschichtung zurückführen. Dies kann daraus geschlossen werden, dass die Multivarianzanalyse der radiologischen Daten zeigte, dass die Verläufe der Gruppen Titan, PDLLA, Titan/syst und PDLLA/syst, also der

Tiere, die kein Gentamicin lokal im Implantat erhalten hatten, statistisch parallel verliefen. Im Gegensatz dazu verliefen auch die Infektionen in den Gruppen Genta und Genta/syst, also der Tiere, deren Implantate Gentamicin enthielten, im Beobachtungszeitraum statistisch parallel. Letztere änderten sich über den Beobachtungszeitraum hinweg nicht signifikant, während alle Gruppen, die kein Gentamicin im Implantat enthielten, signifikante Änderungen im Verlauf im Sinne einer Infektion aufwiesen (siehe Abbildung 10).

Diese Ergebnisse werfen die Frage auf, warum die systemische Antibiotikaapplikation in der vorliegenden Studie nicht den erwarteten Effekt auf die Osteomyelitisprophylaxe hatte. Dem könnten die folgenden Ursachen zugrunde liegen:

- Die lokale Applikation hat sich als sehr effektiv erwiesen und könnte so Wirkungen der systemischen Administration überdeckt haben. Mit einer höheren Fallzahl könnten die Wirkungen der verschiedenen Formen der Prophylaxe eventuell besser differenziert werden.
- Gentamicin ist nicht das optimale Antibiotikum für eine systemische Antibiotikaprophylaxe. Die Verwendung eines alternativen Wirkstoffes, wie einem Cephalosporin der ersten oder zweiten Generation hätte wahrscheinlich eine ausgeprägtere Wirkung in der systemischen Prophylaxe erbracht.

Die perioperative systemische Antibiotikaprophylaxe ist eine sinnvolle und etablierte Methode, einer implantatassoziierten Osteomyelitis vorzubeugen. Dies ist allgemein anerkannt und konnte bereits mehrfach in Studien gezeigt werden. Nachteile sind relativ hohe systemische Spiegel des Pharmakons bei geringer lokaler Verfügbarkeit. Die lokale Applikationsform setzt antimikrobielle Substanzen direkt am Implantat-Knochen-Interface frei und schützt dabei sowohl das kompromittierte Gewebe als auch das Implantat vor Besiedelung durch Bakterien. Dabei stellt die lokal

applizierte Menge nur einen Bruchteil der systemisch empfohlenen Dosis dar. Sie kann einen zusätzlichen sinnvollen Beitrag zur Prophylaxe in der orthopädischen Chirurgie zur Vermeidung bakterieller postoperativer Komplikationen leisten.

Eine CE-Kennzeichnung und damit die Konformitätsbestätigung mit den EG-Richtlinien für gentamicinbeschichtete intramedulläre Tibianägel ist zwischenzeitlich erfolgt. Mehrere Patienten mit implantatassoziierten Infektionen wurden bereits mit gentamicinbeschichteten unaufgebohrten Tibiamarknägeln (UTN) behandelt, ohne dass diese postoperativ eine Infektion entwickelten. Derzeit wird der breite Einsatz dieser Implantate im Rahmen einer prospektiv randomisierten Multicenter-Studie erprobt.

5 Zusammenfassung

Die Osteomyelitis ist ein schweres Krankheitsbild, bei dem langwierige und häufig schmerzhafte Verläufe nicht selten sind. Der Prophylaxe kommt deshalb eine besondere Bedeutung zu. Verschiedene Verfahren sind etabliert und finden in der Klinik Anwendung. Insbesondere die perioperative Antibiotikaprophylaxe hat zu einer deutlichen Senkung der Inzidenz von Osteomyelitiden geführt, aber auch lokale prophylaktische Maßnahmen, wie gentamicinhaltiger Knochenzement und PMMA-Ketten kommen zur Anwendung. Letztere haben jedoch Nachteile, wie die unkontrollierte Freisetzung von Wirkstoffen und die Notwendigkeit der Materialentfernung.

Ziel dieser Studie war es, die lokale Applikation von Gentamicin aus einer biodegradierbaren Beschichtung von Implantaten mit der systemischen perioperativen Single-Shot-Prophylaxe in ihrer Wirkung auf die Osteomyelitisprophylaxe und eine Kombination beider Applikationssysteme zu vergleichen. In vorangegangenen Studien konnte bereits der positive Effekt der lokalen Applikation von Gentamicin, eingebracht mittels eines resorbierbaren Drug Carriers auf dem Implantat, auf die Prophylaxe der Infektion gezeigt werden.

Zu diesem Zweck wurde den Versuchstieren eine *Staph. aureus* Suspension in den Markraum der Tibia inokuliert und ein beschichteter bzw. unbeschichteter Kirschner-Draht implantiert. Die Hälfte der Tiere erhielt eine perioperative Antibiotikaprophylaxe. Entstehung und Verlauf von Infektionen wurden radiologisch, histologisch und mikrobiologisch evaluiert. Als Referenz dienten Tiere mit unbeschichteten bzw. PDLLA-beschichteten Kirschner-Drähten.

Zusammenfassend zeigen die in dieser Studie präsentierten Daten eine deutliche Reduktion der Infektionsrate bei der Verwendung gentamicinbeschichteter Implantate. Trat trotz der Beschichtung eine Infektion auf, so zeigte sich diese zeitlich deutlich verzögert und in geringerer Ausprägung. Auch die reine perioperative Antibiotikaprophylaxe senkte in der vorliegenden Studie die Inzidenz der Infektionen, jedoch weniger ausgeprägt, als dies mit der lokalen antibiotischen

Beschichtung gezeigt werden konnte.

Die Kombination beider Verfahren zeigte eine der rein lokalen Antibiose vergleichbare Minderung der Infektionsrate.

Somit konnte gezeigt werden, dass die lokale antibiotische Beschichtung eines Implantates mittels eines bioresorbierbaren „Drug Carriers“ die Infektionsrate signifikant senken kann.

Der Einsatz gentamicinbeschichteter Implantate kann einen sinnvollen Beitrag zur Vermeidung implantatassoziiertes Infektionen leisten. Der klinische Einsatz wird derzeit in einer prospektiv randomisierten Studie erprobt.

6 Literaturverzeichnis

- [1] Tsukayama, D. T. (1999): Pathophysiology of posttraumatic osteomyelitis, Clin Orthop [360], Seite 22-29. URL: PM:10101307
- [2] Waldvogel, F. A.; Medoff, G. und Swartz, M. N. (1970): Osteomyelitis: a review of clinical features, therapeutic considerations and unusual aspects, N Engl J Med 282 [4], Seite 198-206. URL: PM:4902833
- [3] Cioffi, G. A.; Terezhalmay, G. T. und Taybos, G. M. (1988): Total joint replacement: a consideration for antimicrobial prophylaxis, Oral Surg Oral Med Oral Pathol 66 [1], Seite 124-129. URL: PM:2970053
- [4] Bauer, T. W. und Schils, J. (1999): The pathology of total joint arthroplasty.II. Mechanisms of implant failure, Skeletal Radiol. 28 [9], Seite 483-497. URL: PM:10525792
- [5] An, Y. H. und Friedman, R. J. (1998): Animal models of orthopedic implant infection, J Invest Surg 11 [2], Seite 139-146. URL: PM:9700622
- [6] Isiklar, Z. U.; Darouiche, R. O. ; Landon, G. C. und Beck, T. (1996): Efficacy of antibiotics alone for orthopaedic device related infections, Clin Orthop [332], Seite 184-189. URL: PM:8913162
- [7] Salvati, E. A.; Robinson, R. P.; Zeno, S. M.; Koslin, B. L.; Brause, B. D. und Wilson, P. D., Jr. (1982): Infection rates after 3175 total hip and total knee replacements performed with and without a horizontal unidirectional filtered air-flow system, J Bone Joint Surg Am 64 [4], Seite 525-535. URL: PM:7068695
- [8] Periti, P.; Mini, E. und Mosconi, G. (1998): Antimicrobial prophylaxis in orthopaedic surgery: the role of teicoplanin [see comments] [published errata appear in J Antimicrob Chemother 1998 Nov;42(5):682 and 1998 Dec;42(6):840], J Antimicrob.Chemother. 41 [3], Seite 329-340.
- [9] Mader, J. T.; Landon, G. C. und Calhoun, J. (1993): Antimicrobial treatment of osteomyelitis, Clin.Orthop. [295], Seite 87-95.
- [10] Ostermann, P. A.; Henry, S. L. und Seligson, D. (1994): Timing of wound closure in severe compound fractures, Orthopedics. 17 [5], Seite 397-399.
- [11] Seligson, D. und Klemm, K. (1999): Adult posttraumatic osteomyelitis of the tibial diaphysis of the tibial shaft, Clin Orthop Relat Res [360], Seite 30-36. URL: PM:10101308
- [12] Dellinger, E. P. (1991): Antibiotic prophylaxis in trauma: penetrating abdominal injuries and open fractures, Rev.Infect Dis 13 Suppl 10, Seite S847-S857. URL: PM:1754794
- [13] Gustilo, R. B.; Mendoza, R. M. und Williams, D. N. (1984): Problems in the management of type III (severe) open fractures: a new classification of type III open fractures, J Trauma 24 [8], Seite 742-746. URL: PM:6471139
- [14] Holtom, P. D. und Smith, A. M. (1999): Introduction to adult posttraumatic osteomyelitis of the tibia, Clin.Orthop. [360], Seite 6-13.
- [15] Robson, M. C. (1979): Infection in the surgical patient: an imbalance in the normal equilibrium, Clin Plast.Surg 6 [4], Seite 493-503. URL: PM:391469

- [16] Hansis, M. (1996): Pathophysiology of infection--a theoretical approach, *Injury* 27 Suppl 3, Seite SC5-SC8. URL: PM:9039347
- [17] Kalicke, T.; Kutscha-Lissberg, F.; Frangen, T. M.; Muhr, G. und Arens, S. (2004): [Pathophysiology of posttraumatic osteitis], *Orthopade* 33 [4], Seite 405-410. URL: PM:15141665
- [18] Petty, W.; Spanier, S.; Shuster, J. J. und Silverthorne, C. (1985): The influence of skeletal implants on incidence of infection. Experiments in a canine model, *J Bone Joint Surg Am* 67 [8], Seite 1236-1244. URL: PM:3902846
- [19] Melcher, G. A.; Claudi, B.; Schlegel, U.; Perren, S. M.; Printzen, G. und Munzinger, J. (1994): Influence of type of medullary nail on the development of local infection. An experimental study of solid and slotted nails in rabbits, *J Bone Joint Surg Br* 76 [6], Seite 955-959. URL: PM:7983127
- [20] Gristina, A. G. und Costerton, J. W. (1985): Bacterial adherence to biomaterials and tissue. The significance of its role in clinical sepsis, *J Bone Joint Surg Am* 67 [2], Seite 264-273. URL: PM:3881449
- [21] Lew, D. P. und Waldvogel, F. A. (2004): Osteomyelitis, *Lancet* 364 [9431], Seite 369-379. URL: PM:15276398
- [22] Roesgen, M.; Hierholzer, G. und Hax, P. M. (1989): Post-traumatic osteomyelitis. Pathophysiology and management, *Arch Orthop Trauma Surg* 108 [1], Seite 1-9. URL: PM:2643936
- [23] Gross, T.; Kaim, A. H.; Regazzoni, P. und Widmer, A. F. (2002): Current concepts in posttraumatic osteomyelitis: a diagnostic challenge with new imaging options, *J Trauma* 52 [6], Seite 1210 -1219. URL: PM:12045656
- [24] Mackowiak, P. A.; Jones, S. R. und Smith, J. W. (1978): Diagnostic value of sinus-tract cultures in chronic osteomyelitis, *JAMA* 239 [26], Seite 2772-2775. URL: PM:349185
- [25] Perry, C. R.; Pearson, R. L. und Miller, G. A. (1991): Accuracy of cultures of material from swabbing of the superficial aspect of the wound and needle biopsy in the preoperative assessment of osteomyelitis, *J Bone Joint Surg Am* 73 [5], Seite 745-749. URL: PM:2045400
- [26] Lew, D. P. und Waldvogel, F. A. (1997): Osteomyelitis, *N Engl J Med* 336 [14], Seite 999-1007. URL: PM:9077380
- [27] Schwameis, E.; Abdolvahab, F. und Wurnig, C. (1996): [Osteomyelitis. Clinical aspects, diagnosis and therapy], *Radiologe* 36 [10], Seite 823-833. URL: PM:9036420
- [28] Kraft, C. N.; Schlegel, U.; Pfluger, D.; Eijer, H.; Textor, J.; Hansis, M. und Arens, S. (2001): Radiological signs of osteitis around extramedullary metal implants. A radiographic-microbiological correlative analysis in rabbit tibiae after local inoculation of *Staphylococcus aureus*, *Arch.Orthop Trauma Surg* 121 [6], Seite 338-342. URL: PM:11482467
- [29] Garvin, K. L. und Hanssen, A. D. (1995): Infection after total hip arthroplasty. Past, present, and future, *J Bone Joint Surg Am* 77 [10], Seite 1576-1588. URL: PM:7593069
- [30] El Esper, I; Blondet, C.; Moullart, V.; Saidi, L.; Havet, E.; Mertl, P.; Canarelli, B.; Schmit, J. L. und Meyer, M. E. (2004): The usefulness of ^{99m}Tc sulfur colloid bone marrow scintigraphy combined with ¹¹¹In leucocyte scintigraphy in prosthetic joint infection, *Nucl.Med Commun.* 25 [2], Seite 171-175. URL: PM:15154708

- [31] Worlock, P.; Slack, R.; Harvey, L. und Mawhinney, R. (1994): The prevention of infection in open fractures: an experimental study of the effect of fracture stability, *Injury* 25 [1], Seite 31-38. URL: PM:8132308
- [32] Morrissy, R. T. und Haynes, D. W. (1989): Acute hematogenous osteomyelitis: a model with trauma as an etiology, *J Pediatr Orthop* 9 [4], Seite 447-456. URL: PM:2732326
- [33] Lowy, F. D. (1998): Staphylococcus aureus infections, *N Engl J Med* 339 [8], Seite 520-532. URL: PM:9709046
- [34] Gristina, A. G. und Costerton, J. W. (1984): Bacterial adherence and the glycocalyx and their role in musculoskeletal infection, *Orthop Clin North Am* 15 [3], Seite 517-535. URL: PM:6472832
- [35] Gristina, A. G.; Oga, M.; Webb, L. X. und Hobgood, C. D. (1985): Adherent bacterial colonization in the pathogenesis of osteomyelitis, *Science* 228 [4702], Seite 990-993. URL: PM:4001933
- [36] Evans, R. P.; Nelson, C. L. und Harrison, B. H. (1993): The effect of wound environment on the incidence of acute osteomyelitis, *Clin Orthop* [286], Seite 289-297. URL: PM:8425360
- [37] Gustilo, R. B. und Anderson, J. T. (1976): Prevention of infection in the treatment of one thousand and twenty-five open fractures of long bones: retrospective and prospective analyses, *J Bone Joint Surg Am* 58 [4], Seite 453-458. URL: PM:773941
- [38] Lidwell, O. M.; Lowbury, E. J.; Whyte, W.; Blowers, R.; Stanley, S. J. und Lowe, D. (1984): Infection and sepsis after operations for total hip or knee-joint replacement: influence of ultraclean air, prophylactic antibiotics and other factors, *J Hyg (Lond)* 93 [3], Seite 505-529. URL: PM:6512253
- [39] Court-Brown CM; Wheelwright, E. F.; Christie, J. und McQueen, M. M. (1990): External fixation for type III open tibial fractures, *J Bone Joint Surg Br* 72 [5], Seite 801-804. URL: PM:2211760
- [40] van de Belt, H.; Neut, D.; Schenk, W.; van Horn, J. R.; van der Mei, H. C. und Busscher, H. J. (2001): Infection of orthopedic implants and the use of antibiotic-loaded bone cements. A review, *Acta Orthop Scand.* 72 [6], Seite 557-571. URL: PM:11817870
- [41] Casewell, M. W. und Hill, R. L. (1986): The carrier state: methicillin-resistant Staphylococcus aureus, *J Antimicrob.Chemother* 18 Suppl A, Seite 1-12. URL: PM:3091562
- [42] Noble, W. C.; Valkenburg, H. A. und Wolters, C. H. (1967): Carriage of Staphylococcus aureus in random samples of a normal population, *J Hyg (Lond)* 65 [4], Seite 567-573. URL: PM:5235259
- [43] Konig, B.; Prevost, G.; Piemont, Y. und Konig, W. (1995): Effects of Staphylococcus aureus leukocidins on inflammatory mediator release from human granulocytes, *J Infect Dis* 171 [3], Seite 607-613. URL: PM:7533198
- [44] Davies, D. G.; Parsek, M. R.; Pearson, J. P.; Iglewski, B. H.; Costerton, J. W. und Greenberg, E. P. (1998): The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm, *Science* 280 [5361], Seite 295-298. URL: PM:9535661
- [45] Olson, M. E.; Ceri, H.; Morck, D. W.; Buret, A. G. und Read, R. R. (2002): Biofilm bacteria: formation and comparative susceptibility to antibiotics, *Can J Vet Res* 66 [2], Seite 86-92. URL: PM:11989739

- [46] Johnson, G. M.; Lee, D. A.; Regelman, W. E.; Gray, E. D.; Peters, G. und Quie, P. G. (1986): Interference with granulocyte function by *Staphylococcus epidermidis* slime, *Infect Immun.* 54 [1], Seite 13-20. URL: PM:3019888
- [47] Gray, E. D.; Peters, G.; Verstegen, M. und Regelman, W. E. (1984): Effect of extracellular slime substance from *Staphylococcus epidermidis* on the human cellular immune response, *Lancet* 1 [8373], Seite 365-367. URL: PM:6141426
- [48] Costerton, J. W.; Lewandowski, Z.; Caldwell, D. E.; Korber, D. R. und Lappin-Scott, H. M. (1995): Microbial biofilms, *Annu.Rev.Microbiol.* 49, Seite 711-745. URL: PM:8561477
- [49] Gristina, A. G. (1987): Biomaterial-centered infection: microbial adhesion versus tissue integration, *Science* 237 [4822], Seite 1588-1595. URL: PM:3629258
- [50] Marrie, T. J. und Costerton, J. W. (1985): Mode of growth of bacterial pathogens in chronic polymicrobial human osteomyelitis, *J Clin Microbiol* 22 [6], Seite 924-933. URL: PM:4066923
- [51] van Loosdrecht, M. C.; Lyklema, J.; Norde, W. und Zehnder, A. J. (1990): Influence of interfaces on microbial activity, *Microbiol Rev.* 54 [1], Seite 75-87. URL: PM:2181260
- [52] Arens, S.; Schlegel, U.; Printzen, G.; Ziegler, W. J.; Perren, S. M. und Hansis, M. (1996): Influence of materials for fixation implants on local infection. An experimental study of steel versus titanium DCP in rabbits, *J Bone Joint Surg Br* 78 [4], Seite 647-651. URL: PM:8682836
- [53] Dickinson, G. M. und Bisno, A. L. (1989): Infections associated with indwelling devices: concepts of pathogenesis; infections associated with intravascular devices, *Antimicrob.Agents Chemother* 33 [5], Seite 597-601. URL: PM:2665637
- [54] Williams, R. J.; Henderson, B. und Nair, S. P. (2002): *Staphylococcus aureus* fibronectin binding proteins A and B possess a second fibronectin binding region that may have biological relevance to bone tissues, *Calcif Tissue Int* 70 [5], Seite 416-421. URL: PM:12055657
- [55] Vaudaux, P.; Pittet, D.; Haeberli, A.; Lerch, P. G.; Morgenthaler, J. J.; Proctor, R. A.; Waldvogel, F. A. und Lew, D. P. (1993): Fibronectin is more active than fibrin or fibrinogen in promoting *Staphylococcus aureus* adherence to inserted intravascular catheters, *J Infect Dis* 167 [3], Seite 633-641. URL: PM:8440934
- [56] ELEK, S. D. und CONEN, P. E. (1957): The virulence of *Staphylococcus pyogenes* for man; a study of the problems of wound infection, *Br J Exp Pathol* 38 [6], Seite 573-586. URL: [PM:13499821](#)
- [57] Zimmerli, W.; Lew, P. D. und Waldvogel, F. A. (1984): Pathogenesis of foreign body infection. Evidence for a local granulocyte defect, *J Clin Invest* 73 [4], Seite 1191-1200. URL: PM:6323536
- [58] Lidwell, O. M. (1993): Sir John Charnley, surgeon (1911-82): the control of infection after total joint replacement, *J Hosp.Infect* 23 [1], Seite 5-15. URL: PM:8095948
- [59] Norden, C. W. (1991): Antibiotic prophylaxis in orthopedic surgery, *Rev.Infect Dis* 13 Suppl 10, Seite S842-S846. URL: PM:1754793
- [60] Court-Brown CM (1990): Antibiotic prophylaxis in orthopaedic surgery, *Scand.J Infect Dis Suppl* 70, Seite 74- 79. URL: PM:2287906

- [61] Wildfeuer, A.; Mallwitz, J.; Gotthardt, H.; Hille, E.; Gruber, H.; Dahmen, G.; Pfaff, G. und Gobel, C. (1997): Pharmacokinetics of ampicillin, sulbactam and cefotiam in patients undergoing orthopedic surgery, *Infection* 25 [4], Seite 258-262. URL: PM:9266270
- [62] Periti, P.; Stringa, G. und Mini, E. (1999): Comparative multicenter trial of teicoplanin versus cefazolin for antimicrobial prophylaxis in prosthetic joint implant surgery. Italian Study Group for Antimicrobial Prophylaxis in Orthopedic Surgery, *Eur J Clin.Microbiol.Infect.Dis.* 18 [2], Seite 113-119.
- [63] Vogel, F und Bodmann, KF (2004): Empfehlungen zur kalkulierten parenteralen Initialtherapie bakterieller Erkrankungen bei Erwachsenen, *Chemother J* 4, Seite 46-105.
- [64] Beck, A.; Kinzl, L. und Bischoff, M. (1999): [Antibiotic prophylaxis and therapy in trauma surgery], *Unfallchirurg* 102 [12], Seite 955-966. URL: PM:10643395
- [65] Haaker, R.; Senge, A.; Kramer, J. und Rubenthaler, F. (2004): [Osteomyelitis after endoprostheses], *Orthopade* 33 [4], Seite 431-438. URL: PM:15146838
- [66] Zimmerli, W. (1998): [Antibiotic therapy in surgery], *Chirurg* 69 [12], Seite 1392-1398. URL: PM:10023571
- [67] Dietz, H. G.; Bachmeyr, A. und Joppich, I. (2004): [Osteomyelitis in children], *Orthopade* 33 [3], Seite 287-296. URL: PM:15007553
- [68] Langer, R. (1990): New methods of drug delivery, *Science* 249 [4976], Seite 1527-1533. URL: PM:2218494
- [69] Buchholz, H. W. und Engelbrecht, H. (1970): [Depot effects of various antibiotics mixed with Palacos resins], *Chirurg* 41 [11], Seite 511-515. URL: PM:5487941
- [70] Hendriks, J. G.; van Horn, J. R.; van der Mei, H. C. und Busscher, H. J. (2004): Backgrounds of antibiotic-loaded bone cement and prosthesis-related infection, *Biomaterials* 25 [3], Seite 545-556. URL: PM:14585704
- [71] Sterling, G. J.; Crawford, S.; Potter, J. H.; Koerbin, G. und Crawford, R. (2003): The pharmacokinetics of Simplex-tobramycin bone cement, *J Bone Joint Surg Br* 85 [5], Seite 646-649. URL: PM:12892183
- [72] van de Belt, H.; Neut, D.; van Horn, J. R.; van der Mei, H. C.; Schenk, W. und Busscher, H. J. (1999): ...or not to treat?, *Nat.Med* 5 [4], Seite 358-359. URL: PM:10202905
- [73] Forth, W; Henschler, D; Rummel, W; Förstermann, U und Starke, K (2001): Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, 8. Auflage , Urban & Fischer Verlag, München,Jena.
- [74] Mutschler, E; Geisslinger, G; Kroemer, HK und Schäfer-Korting, M (2001): Mutschler Arzneimittelwirkungen, 8. Auflage , Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, ISBN: 3-8047-1763-2.
- [75] Nieuwenhuis, J. (1992): Synthesis of polylactides, polyglycolides and their copolymers, *Clin Mater* 10 [1-2], Seite 59-67. URL: PM:10149978
- [76] Rokkanen, P.; Bostman, O.; Vainionpaa, S.; Vihtonen, K.; Tormala, P.; Laiho, J.; Kilpikari, J. und Tamminmaki, M. (1985): Biodegradable implants in fracture fixation: early results of treatment of fractures of the ankle, *Lancet* 1 [8443], Seite 1422-1424. URL: PM:2861365

- [77] Ashammakhi, N. und Rokkanen, P. (1997): Absorbable polyglycolide devices in trauma and bone surgery, *Biomaterials* 18 [1], Seite 3-9. URL: PM:9003889
- [78] Juutilainen, T.; Patiala, H.; Ruuskanen, M. und Rokkanen, P. (1997): Comparison of costs in ankle fractures treated with absorbable or metallic fixation devices, *Arch Orthop Trauma Surg* 116 [4], Seite 204-208. URL: PM:9128772
- [79] Kumta, S. M.; Spinner, R. und Leung, P. C. (1992): Absorbable intramedullary implants for hand fractures. Animal experiments and clinical trial, *J Bone Joint Surg Br* 74 [4], Seite 563-566. URL: PM:1320621
- [80] Rokkanen, P. U. (1991): Absorbable materials in orthopaedic surgery, *Ann.Med* 23 [2], Seite 109-115. URL: PM:2069786
- [81] Göpferich, A. (1998): Bioresorbable Polymers as Drug Delivery Systems, Walenkamp, G., *Biomaterials in Surgery*, Seite 121-127, Thieme, Stuttgart, New York.
- [82] Kulkarni, R. K.; Moore, E. G.; Hegyeli, A. F. und Leonard, F. (1971): Biodegradable poly(lactic acid) polymers, *J Biomed Mater Res* 5 [3], Seite 169-181. URL: PM:5560994
- [83] Lendlein, A. (1999): Polymere als Implantatwerkstoffe, *Chemie in unserer Zeit*, Seite 279-295.
- [84] Kulkarni, R. K.; Pani, K. C.; Neuman, C. und Leonard, F. (1966): Polylactic acid for surgical implants, *Arch Surg* 93 [5], Seite 839-843. URL: PM:5921307
- [85] Schmidmaier, G.; Wildemann, B.; Stemberger, A.; Haas, N. P. und Raschke, M. (2001): Biodegradable poly(D,L-lactide) coating of implants for continuous release of growth factors, *J Biomed Mater Res* 58 [4], Seite 449-455. URL: PM:11410904
- [86] Schmidmaier, G.; Wildemann, B.; Lubberstedt, M.; Haas, N. P. und Raschke, M. (2003): IGF-I and TGF-beta 1 incorporated in a poly(D,L-lactide) implant coating stimulates osteoblast differentiation and collagen-1 production but reduces osteoblast proliferation in cell culture, *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 65 [1], Seite 157-162. URL: PM:12632385
- [87] Schmidmaier, G.; Wildemann, B.; Bail, H.; Lucke, M.; Fuchs, T.; Stemberger, A.; Flyvbjerg, A.; Haas, N. P. und Raschke, M. (2001): Local application of growth factors (insulin-like growth factor-1 and transforming growth factor-beta1) from a biodegradable poly(D,L-lactide) coating of osteosynthetic implants accelerates fracture healing in rats, *Bone* 28 [4], Seite 341-350. URL: PM:11336914
- [88] Lucke, M.; Schmidmaier, G.; Sadoni, S.; Wildemann, B.; Schiller, R.; Haas, N. P. und Raschke, M. (2003): Gentamicin coating of metallic implants reduces implant-related osteomyelitis in rats, *Bone* 32 [5], Seite 521-531. URL: PM:12753868
- [89] Wildemann, B.; Sander, A.; Schwabe, P.; Lucke, M.; Stockle, U.; Raschke, M.; Haas, N. P. und Schmidmaier, G. (2005): Short term in vivo biocompatibility testing of biodegradable poly(D,L-lactide)-growth factor coating for orthopaedic implants, *Biomaterials* 26 [18], Seite 4035-4040. URL: PM:15626449

- [90] Lucke, M.; Schmidmaier, G.; Sadoni, S.; Wildemann, B.; Schiller, R.; Stemberger, A.; Haas, N. P. und Raschke, M. (2003): A new model of implant-related osteomyelitis in rats, *J Biomed.Mater.Res* 67B [1], Seite 593-602. URL: PM:14528456
- [91] Lucke, M.; Schmidmaier, G.; Gollwitzer, H. und Raschke, M. (2000): Entwicklung einer biodegradierbaren und antibiotisch wirksamen Beschichtung von Implantaten., *Hefte zu der Unfallchirurg.* 282, Seite 362-363.
- [92] Wolfensohn, S. und Lloyd, M. (1994): *Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare*, Oxford University Press, Oxford New York Tokyo.
- [93] Reilly J (1995): *Basic animal handling and anaesthesia for rats, mice and rabbits*, Green MK, Mandel TE, *Experimental transplantation models in small animals* , Seite 1-53, Harwood Academic Publishers GmbH, Chur, Switzerland.
- [94] Petty, W.; Spanier, S.; Shuster, J. J. und Silverthorne, C. (1985): The influence of skeletal implants on incidence of infection. Experiments in a canine model, *J Bone Joint Surg Am.* 67 [8], Seite 1236-1244.
- [95] Brunner, E (1999): *Nichtparametrische Analyse longitudinaler Daten*, R.Oldenbourg Verlag.
- [96] Sachs, L (2002): *Angewandte Statistik*, 10. Auflage , Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York.
- [97] Heinz, B. C. und von Mallek, D. (2005): [Survey of incidents associated with hip and knee replacement devices. Analysis of the surveillance and registration system for medical products for the years 2000-2002], *Orthopade* 34 [1], Seite 47-54. URL: PM:15365612
- [98] Jansen, B. und Peters, G. (1993): Foreign body associated infection, *J Antimicrob.Chemother.* 32 Suppl A, Seite 69-75.
- [99] Spagnolo, N.; Greco, F.; Rossi, A.; Ciolli, L.; Teti, A. und Posteraro, P. (1993): Chronic staphylococcal osteomyelitis: a new experimental rat model, *Infect Immun.* 61 [12], Seite 5225-5230. URL: PM:8225597
- [100] Solberg, B. D.; Gutow, A. P. und Baumgaertner, M. R. (1999): Efficacy of gentamycin-impregnated resorbable hydroxyapatite cement in treating osteomyelitis in a rat model, *J Orthop Trauma* 13 [2], Seite 102-106. URL: PM:10052784
- [101] Littlewood-Evans, A. J.; Hattenberger, M. R.; Luscher, C.; Pataki, A.; Zak, O. und O'Reilly, T. (1997): Local expression of tumor necrosis factor alpha in an experimental model of acute osteomyelitis in rats, *Infect Immun.* 65 [8], Seite 3438-3443. URL: PM:9234809
- [102] Sadoni, S.; Lucke, M.; Schiller, R.; Schmidmaier G und Raschke M (2001): Entwicklung eines Infektmodells an der Ratte., *Hefte zu der Unfallchirurg.* 283, Seite 407-408.
- [103] Rissing, J. P.; Buxton, T. B.; Weinstein, R. S. und Shockley, R. K. (1985): Model of experimental chronic osteomyelitis in rats, *Infect Immun.* 47 [3], Seite 581-586. URL: PM:3972440
- [104] Eerenberg, J. P.; Patka, P.; Haarman, H. J. und Dwars, B. J. (1994): A new model for posttraumatic osteomyelitis in rabbits, *J Invest Surg* 7 [5], Seite 453-465. URL: PM:7841165
- [105] von Eiff, C.; Jansen, B.; Kohlen, W. und Becker, K. (2005): Infections associated with medical devices: pathogenesis, management and prophylaxis, *Drugs* 65 [2], Seite 179-214. URL: PM:15631541

- [106] Klemm, K. (2001): The use of antibiotic-containing bead chains in the treatment of chronic bone infections, *Clin.Microbiol.Infect.* 7 [1], Seite 28-31. URL: PM:11284941
- [107] Kujath, P.; Bouchard, R.; Scheele, J. und Esnaashari, H. (2006): [Current perioperative antibiotic prophylaxis], *Chirurg* 77 [6], Seite 490, 492-490, 498. URL: PM:16773347
- [108] Wang, J. Y.; Tsukayama, D. T.; Wicklund, B. H. und Gustilo, R. B. (1996): Inhibition of T and B cell proliferation by titanium, cobalt, and chromium: role of IL-2 and IL-6, *J Biomed Mater Res* 32 [4], Seite 655-661. URL: PM:8953156
- [109] Wang, J. Y.; Wicklund, B. H.; Gustilo, R. B. und Tsukayama, D. T. (1996): Titanium, chromium and cobalt ions modulate the release of bone-associated cytokines by human monocytes/macrophages in vitro, *Biomaterials* 17 [23], Seite 2233-2240. URL: PM:8968517
- [110] Verran, J. und Maryan, C. J. (1997): Retention of *Candida albicans* on acrylic resin and silicone of different surface topography, *J Prosthet.Dent.* 77 [5], Seite 535-539. URL: PM:9151275
- [111] Neut, D.; van de, Belt H.; van Horn, J. R.; van der Mei, H. C. und Busscher, H. J. (2003): Residual gentamicin-release from antibiotic-loaded polymethylmethacrylate beads after 5 years of implantation, *Biomaterials* 24 [10], Seite 1829-1831. URL: PM:12593965
- [112] Powles, J. W.; Spencer, R. F. und Lovering, A. M. (1998): Gentamicin release from old cement during revision hip arthroplasty, *J Bone Joint Surg Br* 80 [4], Seite 607-610. URL: PM:9699820
- [113] Laurencin, C. und Lane, J. M. (1994): Poly/(lactic acid) and Poly(glycolic acid):Orthopaedic Surgery Applications, Brighton, C.; Friedlaender, G. und Lane, J. M., *Bone Formation and Repair*, 1. Auflage, Seite 325-339, American Academy of Orthopaedic Surgeons, Rosemont, ISBN: 0-89203-116-6.
- [114] Eron, L. J. (1985): Prevention of infection following orthopedic surgery, *Antibiot.Chemother* 33, Seite 140-164. URL: PM:2859835
- [115] Isefuku, S.; Joyner, C. J. und Simpson, A. H. (2003): Gentamicin may have an adverse effect on osteogenesis, *J Orthop Trauma* 17 [3], Seite 212-216. URL: PM:12621263
- [116] Ellington, J. K.; Harris, M.; Hudson, M. C.; Vishin, S.; Webb, L. X. und Sherertz, R. (2006): Intracellular *Staphylococcus aureus* and antibiotic resistance: implications for treatment of staphylococcal osteomyelitis, *J Orthop Res* 24 [1], Seite 87-93. URL: PM:16419973

7 Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1: Schematischer Verlauf der chronischen Osteomyelitis [21]. In I ist zusätzlich die intraartikuläre Ausbreitung eines Abszesses zu erkennen. 10
- Abb. 2: Röntgenbilder einer linken Tibia im p.a. (links) und lateralem (rechts) Strahlengang. Es zeigt sich insbesondere diaphysär eine hochgradige Osteomyelitis. Der Schaft ist infolge der entzündlichen Prozesse in der Achse deformiert. Kortikalis und Markraum sind durch die ausgeprägte Sklerosierung kaum voneinander abzugrenzen. Medialseitig haben sich zwei Sequester gebildet. In der proximalen Metaphyse ist die Spongiosa nicht mehr zu erkennen. Die distale Metaphyse ist osteolytisch bedingt deutlich aufgehellte..... 12
- Abb. 3: Schematische Darstellung von *Staphylococcus aureus* mit exprimierten Oberflächenproteinen (linke Seite) und den sezernierten Toxinen (rechte Seite) (Abbildung modifiziert aus [33])..... 14
- Abb. 4: a) Abfolge der Entstehung von Biofilm auf Fremdkörperoberflächen durch 1) Benetzen der Fremdkörperoberfläche mit Serumbestandteilen, 2) Einwanderung von Bakterien, 3) initiale Adhäsion und Verankerung durch Produktion von Glykokalix, 4) Vermehrung der adhärierenden Mikroorganismen. (Abbildung modifiziert aus [51])..... 15
- Abb. 5: Dargestellt sind elektronenmikroskopische Aufnahmen zweier Titan Kirschner-Drähte. Aufnahmen a) und c) zeigen die Titanoberfläche eines unbeschichteten Drahtes, während b) und d) die Oberfläche eines identischen Drahtes mit einer PDLLA-Beschichtung zeigen (Vergrößerungen: a) und b) 50x, c) und d) 1000x) (aus [86])..... 23
- Abb. 6: Resistogramm des verwendeten *Staph. aureus* ATCC 49230..... 28
- Abb. 7: Röntgenbild eines Knochens mit Einteilung in ROI 44
- Abb. 8: Histologisches Bild eines Knochens mit Einteilung in ROI's 45
- Abb. 9: Dargestellt ist das Röntgenbild der linken Tibia einer Ratte der Gruppe PDLLA/syst nach einer Standzeit von 42 Tagen im lateralen Strahlengang. Pfeil 1 kennzeichnet eine Osteolyse, wie sie hier ubiquitär verteilt, entlang des Marknagels vorkommen. Pfeil 2 zeigt einen Sequester.

Pfeil 3 weist auf eine kortikale Verdickung aus appositionellem Knochen. Pfeil 4 markiert eine deutliche Abhebung des Periosts, typisch für eine ausgeprägte Entzündung in diesem Bereich der Tibia. Pfeil 5 deutet auf einen Einbruch der Osteomyelitis in das obere Sprunggelenk hin... 53	
Abb. 10: Radiologischer Score im Verlauf	55
Abb. 11: Radiologische Scorewerte am Tag der Operation	57
Abb. 12: Radiologische Scorewerte nach einer Standzeit von 14 Tagen postop.....	57
Abb. 13: Radiologische Scorewerte nach einer Standzeit von 28 Tagen postop.....	58
Abb. 14: Radiologische Scorewerte nach einer Standzeit von 42 Tagen postop.....	58
Abb. 15: Radiologische Darstellung der linken Tibiae im lateralen Strahlengang zum Zeitpunkt der Tötung nach sechs Wochen post operationem. Die Tibiae der Gruppen Titan, PDLLA, Titan/syst und PDLLA/syst zeigten deutliche Zeichen der Osteomyelitis mit Osteolysen, Sequesterbildung und periostalem Anbau. Die Tibiae der Gruppen Genta und Genta/syst zeigten zu diesem Zeitpunkt keine Infektionszeichen.	59
Abb. 16: Dargestellt ist eine Tibia der Gruppe Titan mit typischen Zeichen einer schweren Osteomyelitis mit den Ausschnittsvergrößerungen B1 (Vergrößerung 1,6x), B2 (1,6x), B3 (10x) und B4 (5x).....	61
Abb. 17: Histologische Scorewerte nach 42 Tagen zum Zeitpunkt der Tötung.	63
Abb. 18: Dargestellt sind repräsentative histologische Präparate der Tibiae der Gruppen I-VI nach einer Standzeit von 42 Tagen zum Zeitpunkt der Tötung. Deutlich zu erkennen sind die für die Osteomyelitis typischen Veränderungen in den Gruppen Titan, PDLLA, Titan/syst und PDLLA/syst mit Osteolysen, Sequestrierung, Abszessbildung und Knochendeformation. Die Tibiae der Gruppen Genta und Genta/syst dagegen zeigen zu diesem Zeitpunkt keine morphologischen Korrelate für Entzündungen.	64
Abb. 19: Abrollkultur der explantierten Kirschner-Drähte auf Blutagar nach einer Inkubationszeit von 24 h. a) Sterile Agar-Platte eines Tieres der Gruppe Genta. Dagegen zeigte sich ein massiver Bewuchs der Agar-Platte, deren Implantat keine antimikrobielle Beschichtung enthielt, sowohl	

ohne systemische Gentamicinapplikation b), als auch mit systemischer Gentamicinapplikation
c). Bild d) zeigt die Kultur eines Tieres aus der Gruppe Genta/syst mit wenigen gebildeten
Kolonien im Bereich der Spitze des Implantates..... 66

8 Anhang

Radiologischer Scorebogen

Ratte: Gutachter:	Epiphyse proximal	Diaphyse	Epiphyse distal
Gruppe: Titan PDLLA Genta Titan/syst PDLLA/syst Genta/syst			
I: diaphysäre periostale Reaktion			
II: Weichteilschwellung			
III: Osteolysen			
IV: Sequesterbildung (nein=0; ja=1)			
V: Spontanfraktur (nein=0; ja=1)			
VI: Deformität (nein=0; ja=1)			
VII: radiologischer Gesamteindruck			
Summe			
Gesamt			

Punkte/Bewertung: 0 = keine/r
1 = leicht
2 = mittel
3 = schwer

Histologischer Scorebogen

Ratte: Gutachter:	Epi-/ Metaphyse proximal	Diaphyse proximal	Diaphyse distal	Epi-/ Metaphyse distal
Gruppe: Titan PDLLA Genta Titan/syst PDLLA/syst Genta/syst				
I: Abszesse (nein=0; ja=1)				
II: Sequester (nein=0; ja=1)				
III: Kortikalis (je 1 Punkt) Verbreiterung Destruktion				
IV: Gesamteindruck				
Summe				
Gesamt				

Punkte/Bewertung:

0 = keine/unauffällig

1 = vereinzelt/leichter Befund

2 = massenhaft/starker Befund

Titan		OP	U 3	U 5	U 7
Tier Nr.:	Gutachter	Summe	Summe	Summe	Summe
185	1	0	7	8	11
	2	0	7	8	10
	3	2	5	6	14
	4	3	3	10	9
192	1	0	3	8	15
	2	0	3	6	17
	3	0	5	15	15
	4	0	2	7	15
203	1	0	2	5	9
	2	0	2	4	7
	3	0	1	5	10
	4	0	0	3	7
209	1	2	4	8	10
	2	2	2	10	7
	3	0	3	11	9
	4	0	4	9	9
216	1	2	2	3	5
	2	2	0	6	0
	3	0	3	5	7
	4	0	2	2	3
222	1	2	0	10	10
	2	2	0	9	16
	3	4	6	6	16
	4	2	2	10	10
227	1	0	2	7	11
	2	2	2	7	9
	3	0	0	7	10
	4	0	2	7	11
234	1	2	4	4	12
	2	0	3	6	11
	3	0	4	5	13
	4	0	3	7	12
241	1	0	3	6	11
	2	0	2	4	12
	3	0	3	6	11
	4	0	2	4	13
245	1	0	2	4	7
	2	0	3	3	8
	3	0	5	9	9
	4	0	3	6	6
Median		0	3	6	10

Radiologische Scorewerte der Gruppe PDLLA zu den einzelnen Zeitpunkten und der jeweils ermittelte Median.

PDLLA		OP	U 3	U 5	U 7
Tier Nr.:	Gutachter	Summe	Summe	Summe	Summe
186	1	0	2	2	4
	2	0	2	2	4
	3	0	3	0	5
	4	0	0	2	5
197	1	2	3	10	18
	2	0	3	10	16
	3	0	5	10	15
	4	0	3	9	15
202	1	2	5	8	11
	2	2	2	8	13
	3	0	7	9	11
	4	0	4	8	13
210	1	0	2	5	4
	2	0	2	4	2
	3	0	2	2	6
	4	0	2	2	3
214	1	0	2	3	9
	2	0	2	4	6
	3	0	3	5	8
	4	0	2	4	6
221	1	0	2	2	6
	2	0	2	2	4
	3	0	3	2	7
	4	0	2	4	5
228	1	0	2	0	0
	2	0	2	0	0
	3	0	2	0	4
	4	0	2	0	2
233	1	2	0	5	7
	2	0	0	5	6
	3	2	0	7	6
	4	0	0	6	7
240	1	0	2	2	10
	2	0	0	3	10
	3	0	2	3	11
	4	0	0	2	10
249	1	0	2	2	2
	2	0	3	2	2
	3	0	3	3	2
	4	0	2	2	2
Median		0	2	3	6

Radiologische Scorewerte der Gruppe PDLLA zu den einzelnen Zeitpunkten und der jeweils ermittelte Median.

Genta		OP	U 3	U 5	U 7
Tier Nr.:	Gutachter	Summe	Summe	Summe	Summe
187	1	0	0	2	3
	2	2	0	2	0
	3	0	0	2	0
	4	0	0	2	0
196	1	2	2	6	11
	2	2	0	3	13
	3	0	0	7	13
	4	0	0	4	11
204	1	2	2	2	0
	2	0	0	0	2
	3	0	2	0	0
	4	0	0	0	0
208	1	0	0	0	0
	2	2	0	0	0
	3	0	0	0	0
	4	2	0	0	0
215	1	2	0	2	0
	2	2	2	0	0
	3	0	2	0	0
	4	0	0	0	2
220	1	0	2	2	2
	2	2	3	2	2
	3	0	2	2	2
	4	0	2	2	0
226	1	0	2	2	0
	2	0	2	2	2
	3	0	0	0	0
	4	0	0	0	0
232	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
	4	0	0	0	0
239	1	0	0	9	4
	2	0	0	6	5
	3	0	0	9	5
	4	0	0	8	7
248	1	2	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
	4	0	0	0	0
Median		0	0	1	0

Radiologische Scorewerte der Gruppe Genta zu den einzelnen Zeitpunkten und der jeweils ermittelte Median.

Titan/syst		OP	U 3	U 5	U 7
Tier Nr.:	Gutachter	Summe	Summe	Summe	Summe
188	1	0	2	3	5
	2	0	0	2	7
	3	0	0	4	8
	4	0	0	0	7
193	1	0	4	6	12
	2	0	2	5	12
	3	0	7	6	18
	4	0	2	5	12
200	1	0	0	0	2
	2	0	2	0	2
	3	0	0	0	0
	4	0	0	0	0
207	1	0	3	5	6
	2	2	4	2	6
	3	0	2	2	8
	4	0	2	2	5
213	1	0	2	2	8
	2	2	3	2	8
	3	0	3	2	9
	4	0	3	2	9
218	1	0	3	4	10
	2	0	2	6	12
	3	0	5	8	9
	4	2	2	9	12
223	1	2	5	5	16
	2	2	3	5	19
	3	2	6	7	18
	4	2	4	6	14
230	1	0	2	7	9
	2	0	3	4	7
	3	0	4	8	9
	4	0	3	9	9
236	1	0	6	9	16
	2	0	4	6	12
	3	0	8	10	16
	4	0	2	9	14
244	1	0	0	8	14
	2	0	0	9	13
	3	0	0	13	15
	4	0	0	13	13
Median		0	2	5	9

Radiologische Scorewerte der Gruppe Titan/syst zu den einzelnen Zeitpunkten und der jeweils ermittelte Median.

PDLLA/syst		OP	U 3	U 5	U 7
Tier Nr.:	Gutachter	Summe	Summe	Summe	Summe
189	1	0	0	2	7
	2	0	2	2	9
	3	0	3	3	10
	4	0	0	3	11
194	1	0	0	8	13
	2	0	0	6	12
	3	2	0	8	12
	4	0	0	7	11
201	1	2	3	7	9
	2	2	2	5	9
	3	0	2	6	8
	4	3	3	5	7
206	1	0	3	9	10
	2	2	2	6	10
	3	0	5	9	10
	4	2	3	9	11
212	1	0	0	0	2
	2	2	0	0	0
	3	0	0	0	0
	4	0	0	0	0
219	1	2	3	10	12
	2	2	6	10	13
	3	2	6	12	15
	4	0	3	15	13
225	1	4	0	0	0
	2	2	0	0	2
	3	0	0	0	0
	4	0	0	0	0
231	1	0	2	3	10
	2	2	0	2	6
	3	0	0	4	9
	4	0	0	2	8
235	1	0	1	3	8
	2	0	0	2	10
	3	0	0	2	9
	4	0	0	3	10
243	1	0	2	7	9
	2	0	3	5	8
	3	0	8	9	13
	4	0	2	6	10
Median		0	0,5	4,5	9

Radiologische Scorewerte der Gruppe PDLLA/syst zu den einzelnen Zeitpunkten und der jeweils ermittelte Median.

Genta/syst		OP	U 3	U 5	U 7
Tier Nr.:	Gutachter	Summe	Summe	Summe	Summe
191	1	0	0	0	2
	2	0	0	2	2
	3	0	0	0	2
	4	0	0	0	0
195	1	0	2	7	10
	2	0	0	5	5
	3	0	0	7	10
	4	2	0	4	3
199	1	2	0	2	0
	2	2	0	0	0
	3	0	0	4	0
	4	0	0	2	0
205	1	0	2	2	6
	2	0	2	2	5
	3	0	0	3	7
	4	0	0	2	7
211	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	2	0
	4	0	2	2	0
217	1	0	2	2	0
	2	2	2	2	0
	3	0	2	3	0
	4	2	2	3	0
224	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
	4	0	0	0	0
229	1	0	2	0	0
	2	0	2	2	0
	3	5	0	0	0
	4	3	0	0	0
238	1	2	0	0	0
	2	2	0	2	2
	3	0	0	0	0
	4	0	0	0	0
242	1	0	0	0	0
	2	2	0	0	0
	3	3	2	0	0
	4	3	0	0	0
Median		0	0	1	0

Radiologische Scorewerte der Gruppe Genta/syst zu den einzelnen Zeitpunkten und der jeweils ermittelte Median

Titan		
Tier Nr.	Gutachter	Summe
185	1	16
	2	14
	3	9
	4	15
203	1	8
	2	7
	3	9
	4	12
222	1	11
	2	15
	3	14
	4	17
227	1	9
	2	9
	3	11
	4	12
241	1	12
	2	15
	3	13
	4	16
Median		12

Genta		
Tier Nr.	Gutachter	Summe
187	1	0
	2	0
	3	2
	4	0
204	1	0
	2	0
	3	2
	4	0
215	1	0
	2	0
	3	0
	4	0
226	1	0
	2	0
	3	0
	4	0
239	1	6
	2	5
	3	7
	4	5
Median		0

PDLLA		
Tier Nr.	Gutachter	Summe
186	1	11
	2	10
	3	12
	4	12
202	1	8
	2	13
	3	12
	4	14
214	1	12
	2	10
	3	10
	4	12
233	1	6
	2	7
	3	6
	4	9
240	1	10
	2	10
	3	11
	4	12
Median		10,5

Titan/syst		
Tier Nr.	Gutachter	Summe
193	1	6
	2	9
	3	11
	4	12
207	1	5
	2	8
	3	6
	4	3
213	1	8
	2	10
	3	9
	4	11
230	1	9
	2	13
	3	9
	4	12
244	1	10
	2	13
	3	18
	4	16
Median		9,5

PDLLA/syst		
Tier Nr.	Gutachter	Summe
194	1	10
	2	10
	3	8
	4	10
206	1	11
	2	13
	3	13
	4	13
219	1	15
	2	16
	3	16
	4	18
225	1	0
	2	0
	3	0
	4	0
243	1	14
	2	13
	3	15
	4	19
Median		13

Genta/syst		
Tier Nr.	Gutachter	Summe
195	1	3
	2	8
	3	5
	4	7
205	1	5
	2	4
	3	2
	4	4
217	1	0
	2	0
	3	0
	4	0
229	1	0
	2	0
	3	0
	4	0
242	1	0
	2	0
	3	0
	4	0
Median		0

Histologische Scorewerte aller Gruppen zum der Tötung (42 Tage) und der jeweils ermittelte Median.

Veröffentlichung von Teilen der Promotionsarbeit

Teile dieser Promotionsarbeit wurden in den folgenden Artikeln bzw. Vorträgen publiziert.

Lucke M, Wildemann B, Sadoni S, **Surke C**, Schiller R, Stemberger A, Raschke M, Haas NP and Schmidmaier, G

SYSTEMIC VERSUS LOCAL APPLICATION OF GENTAMICIN IN PROPHYLAXIS OF IMPLANT RELATED OSTEOMYELITIS IN A RAT MODEL.

Bone 2005, 36(5):770-8

Lucke M, Schmidmaier G, **Surke C**, Kuhn H, Wildemann B, Haas NP Raschke M

EFFEKT EINER GENTAMYCIN-HALTIGEN POLY(D,L-LAKTID) BESCHICHTUNG VON TITANIMPLANTATEN ZUR LOKALEN OSTEOMYELITISPROPHYLAXE IM VERGLEICH ZUR SYSTEMISCHEN APPLIKATION. UNTERSUCHUNGEN AM TIERMODELL DER RATTE.

H.z.d. Unfallchirurg 2003, 285

Lucke M; Wildemann B; **Surke C**; Schiller R; Haas NP; Raschke M; Schmidmaier G

GENTAMICIN COATED IMPLANTS IN PROPHYLAXIS OF INFECTION. A COMPARISON OF LOCAL VS. SYSTEMIC APPLICATION IN RATS.

7th World Congress of Biomaterials, Sydney Australien, 2004

Lucke M; Schmidmaier G; Schiller R; Wildemann B; **Surke C**; Haas NP; Raschke M

EFFICACY OF A GENTAMICIN COATING OF METALLIC IMPLANTS IN PROPHYLAXIS OF IMPLANT RELATED OSTEOMYELITIS. A COMPARISON OF LOCAL VERSUS SYSTEMIC APPLICATION IN RATS.

Trans. Orthopaedic Research Society, San Francisco USA, 2004

Weitere Publikationen

Kongressbeiträge

Fuchs T, Schmidmaier G, **Surke C**, Quandt S, Petersen W, Düsel W, Neuhaus P, Raschke M
LOKAL APPLIZIERTES IGF-I BESCHLEUNIGT DIE DARMHEILUNG VON
DARMANASTOMOSEN IM RATTENMODELL.

Jahrestagung DGCH, Berlin, 2004

Fuchs T, Schmidmaier G, **Surke C**, Haebler C, Wildemann B, Schuhmacher, Krieglstein C, Senninger
N, Neuhaus P, Raschke M

IGF-I COATED SUTURE MATERIAL IMPROVES HEALING OF COLON ANASTOMOSIS IN RATS.

7th World Congress of Biomaterials, Sydney Australien, 2004

Danksagung

In erster Linie möchte ich mich bei dem Direktor des Centrum für Musculoskeletale Chirurgie der Charité, Universitätsmedizin Berlin

Herrn Univ.-Prof. Dr. med. N. P. Haas

bedanken, in dessen Abteilung ich meine wissenschaftliche Arbeit durchführen durfte.

Mein besonderer Dank und Respekt gilt

Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Michael J. Raschke

für die freundliche Überlassung des Themas dieser Arbeit, sowie

Herrn Dr. med. Martin Lucke

Frau Priv. Doz. Dr. rer. nat. Britt Wildemann

und

Herrn Priv. Doz. Dr. med. Gerhard Schmidmaier

des Centrum für Musculoskeletale Chirurgie der Charité für die hervorragende Betreuung. Unter hohem zeitlichen Einsatz wurde ich durch sie unermüdlich bei der Planung, Durchführung und Auswertung meiner Arbeit unterstützt.

Des Weiteren gilt mein Dank folgenden Personen

Herrn Sebastian Sadoni

Frau Henrike Kuhn

Frau Gabriele Hardung

und insbesondere den Mitarbeitern der tierexperimentellen Einrichtung der Charité, Campus Virchow, Universitätsmedizin Berlin.

Carsten Surke

Lebenslauf

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

Erklärung

„Ich, Carsten Surke, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: Antiinfektive Beschichtung intramedullärer Kraftträger -ein Vergleich der lokalen zur systemischen Antibiose am Rattenmodell- 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.“

.....
Ort, Datum

.....
Carsten Surke