

I. Einleitung**1. Die bakterielle Infektion des Knochens****1.1 Definition**

Eine bakteriell entzündliche Knochenerkrankung wird Osteomyelitis genannt, da sich die entzündlichen Prozesse primär im Markraum abspielen und sich erst sekundär auf die Knochenmatrix (Ostitis) und das Periost (Periostitis) ausdehnen. ¹

1.2 Einteilung der Osteomyelitis

Im Allgemeinen wird eine Osteomyelitis nach dem klinischen Erscheinungsbild in eine akute, subakute oder chronische Form eingeteilt.

Die akute Verlaufsform wird vor allem bei Kindern bis zu 5 Jahren und bei über fünfzigjährigen Erwachsenen ² beobachtet. Hierbei kommt es bei noch nicht komplett ausgereifter bzw. verminderter Immunabwehr zu einer hämatogenen Streuung in die gut durchbluteten metaphysären Abschnitte der langen Röhrenknochen. Das klinische Erscheinungsbild ist durch lokale Entzündungsreaktionen wie Rötung, Schwellung und Funktionseinschränkung geprägt.

Die subakute Verlaufsform der Osteomyelitis entwickelt sich meist bei immunkompetenten Patienten. Sie zeichnet sich durch eine Eingrenzung des Infektes aus und ist durch einen schleichenden Verlauf gekennzeichnet.

In ca. 15-30 % der akuten Fälle einer Osteomyelitis persistiert der Erreger im Knochen und es kann sich eine chronische Infektion entwickeln ³. Diese weist im Allgemeinen eine gering ausgeprägte Klinik auf und ist nicht selten nur durch auffällige radiologische Merkmale wie Sklerosierung, Knochennekrosen und Sequesterbildung ² zu diagnostizieren.

Der Brodie Abszess, die sklerosierende (Garré) und die plasmazelluläre Osteomyelitis stellen Sonderformen der chronischen Knocheninfektion dar.

Es existieren weitere gebräuchliche Klassifikationen einer Osteomyelitis. Zum Beispiel werden anhand der Erreger spezifische und unspezifische Infektionen unterschieden oder es wird auf Grund des Infektionsweges in exogene und endogene Osteomyelitis unterteilt.

1.3 Pathogenese einer Osteomyelitis

Prinzipiell gibt es drei Möglichkeiten für die Entstehung einer Osteomyelitis. Bei der häufigen hämatogenen Osteomyelitis gelangen die Erreger aus einem entfernten Infektionsherd über die Vasa nutritia des Knochens in den Markraum. Diese Erkrankung betrifft vor allem Kinder und Jugendliche im Alter zwischen 2 und 16 Jahren und fällt somit in die Phase des intensivsten Skelettwachstumes.

Die posttraumatische / postoperative Osteomyelitis wird durch Bakterien verursacht, die im Rahmen einer offenen Fraktur oder durch eine Operation in den Markraum gelangen. Die dritte Möglichkeit ist eine per continuitatem fortgeleitete Infektion des Knochens durch eine Entzündung des umgebenden Weichteilgewebes. Beispiele hierfür wären eine diabetische Gangrän oder ein Panaritium ossale.

1.4 Klinik und Komplikationen einer Osteomyelitis

Schmerz und Schwellung im Bereich des Infektionsherdes sind klinische Hauptsymptome einer Osteomyelitis. Die Schmerzen werden unter anderem durch die Abhebung des sensibel innervierten Periostes erklärt. Die Schwellung wird größtenteils durch eine entzündliche Infiltration des Gewebes verursacht. Ist die Infektion in der Nähe eines Gelenkes lokalisiert, kann es zu einem reaktiven Gelenkerguss oder zu einem eitrigen Einbruch in den Gelenkspalt (Pyarthros) kommen. Beides führt zu einer Funktionseinschränkung des betroffenen Gelenkes.

Bei akuten Verläufen können auch systemische Reaktionen wie Fieber und Schüttelfrost auftreten. Hierbei kommt es auch zu einem Anstieg laborchemischer Entzündungsparameter wie C-reaktivem Protein und Leukozyten. Diese Reaktion ist bei milden Verläufen nicht oder nur in einem geringen Maß zu beobachten.

Im Falle einer persistierenden bakteriellen Entzündung kann sich eine chronische Form der Osteomyelitis entwickeln, die mit schwerwiegenden Begleiterkrankungen vergesellschaftet sein kann. Der bakterielle Fokus unterhält rezidivierende Bakteriämien, die zu metastatischen Absiedelungen der Erreger in anderen Organen führen können, z.B. zu Endokarditiden bei Patienten mit künstlichen oder vorgeschädigten Herzklappen. In Abhängigkeit der Immunitätslage können chronische, lokal begrenzte Infektionen exazerbieren und zum klinischen Bild einer Sepsis führen.

Die Chronifizierung kann eine Fistelbildung, eine Deformierung des Knochens sowie das Auftreten von pathologischen Frakturen zur Folge haben ^{4; 5}. Eine maligne Entartung der

Fisteln wird in 0,38 – 2,7%⁶ der Fälle beobachtet. Das Fistelkarzinom kann Jahrzehnte nach der Erstinfektion auftreten und ist nur mit ausgedehnten chirurgischen Maßnahmen zu therapieren^{7;8}.

Auf dem Boden einer chronischen Infektion des Knochens kann sich eine generalisierte Amyloidose entwickeln. Die perivaskuläre Ablagerung der Protein - Polysaccharidkomplexe in den Organen führt über eine Störung des Stoffaustausches zu deren Insuffizienz. Bei Schädigung der Nieren kann es so zur terminalen Niereninsuffizienz mit Dialysepflicht kommen⁹⁻¹¹.

Ein Versagen der Behandlung bei einer chronifizierten Knocheninfektion kann einen bleibenden Funktionsverlust einer Extremität, die Amputation oder sogar den Tod des Patienten zur Folge haben^{12;13}.

2. Erregerspektrum einer Osteomyelitis

Die akute hämatogene Osteomyelitis wird am häufigsten durch *Staphylokokkus aureus* verursacht². Bei chronischen Knocheninfektionen müssen auch Keime wie *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens* und *Escherichia coli* als Verursacher in Betracht gezogen werden¹⁴. Erreger der spezifischen Osteomyelitis ist meistens *Mycobakterium tuberculosis*. Seltener wird sie durch *Salmonella typhi*¹⁵, *Haemophilus influenzae*¹⁶ und bei immunsupprimierten Patienten sogar durch Pilze wie *Aspergillus*¹⁷ oder *Candida albicans*¹⁸ verursacht.

3. Die postoperative / posttraumatische Infektion des Knochens

3.1 Klassifizierung der postoperativen / posttraumatischen Osteomyelitis

Die posttraumatische Osteomyelitis wurde in der Vergangenheit nach unterschiedlichen Aspekten eingeteilt¹⁹⁻²¹. Hierbei stellte sich die Klassifizierung nach Cierny-Mader et al.²², die sich an der anatomischen Lokalisation im Knochen und dem klinischen Zustand des Patienten orientiert, als besonders geeignet heraus.

Die Implantat - assoziierte postoperative Osteomyelitis wird hingegen nach dem zeitlichen Auftreten einer Infektion eingeteilt^{12;23}. Treten Symptome einer Infektion innerhalb von 3 Monaten nach der Operation auf, wird dies als Frühinfektion bezeichnet. Hierfür sind zumeist

die Bakterien verantwortlich, die über einen exogenen Weg bei offenen Frakturen oder während der Operation in den Körper gelangen.

Die nach mehr als drei Monaten auftretende Spätinfektion entwickelt sich oft langsam und ist schwer zu diagnostizieren²³. Sie kann durch eine hämatogene Absiedelung von Keimen aber auch durch perioperativ eingedrungene Bakterien verursacht werden^{24; 25}.

3.2 Erregerspektrum von postoperativer und posttraumatischer Osteomyelitis

In einer Studie von Taylor et al.²⁵ konnte nach elektiven knochenchirurgischen Eingriffen bei 33% der postoperativen Wundinfektionen *Staphylokokkus aureus* als einzig auslösender Keim identifiziert werden. Bei 16% der Infektionen konnten ausschließlich Koagulase - negative Staphylokokken nachgewiesen werden. Mischinfektionen machten mit 51% den größten Anteil aus, wobei in 83% *Staphylokokkus aureus* beteiligt war. Dies bestätigen auch andere Studien, bei denen in 70-90% der postoperativen Wundinfektionen nach elektiven orthopädischen Eingriffen Staphylokokken^{12; 23; 26} isoliert wurden. *Staphylokokkus aureus* ist also der häufigste Erreger nach knochenchirurgischen Eingriffen und auch von Implantat - assoziierten Infektionen^{12; 27}.

Auch bei der Untersuchung von drittgradig offenen Frakturen, die per definitionem als bakteriell kontaminiert gelten², konnte *Staphylokokkus aureus* häufig in der Wunde identifiziert werden. Im Gegensatz zu Infektionen nach elektiven Operationen werden hier jedoch gehäuft gramnegative Keime wie Pseudomonaden und Serratiasträmme nachgewiesen. Auch Anaerobier sind nicht selten Ursache einer posttraumatischen Infektion^{2; 24; 28; 29}.

3.3 Infektionswege

Die Infektion, die zu einer posttraumatischen bzw. postoperativen Osteomyelitis führt, erfolgt entweder exogen oder endogen¹². Eine exogene Kontamination des Knochens erfolgt meistens über die Haut des Patienten, da auch nach einer gründlichen Desinfektion bis zu 20% der Standortflora in den Haarfollikeln und den Talgdrüsen verbleibt³⁰. Seltener ist eine Verunreinigung der Wunde durch inadäquate Sterilisation chirurgischer Instrumente. Auch ein aerogener Infektionsweg im Operationssaal zum Beispiel durch eine defekte Filteranlage ist möglich, jedoch nicht häufig.

Bei offenen Frakturen sind die Verursacher der Infektion zumeist in der Umgebung zu suchen, in der das Trauma stattgefunden hat³¹. Bei stark verschmutzten Wunden sind häufig

Clostridium perfringens, bei Unfällen in Süßwasser Pseudomonaden als Ursache der Infektion auszumachen, obwohl in diesen Fällen auch die primäre oder sekundäre Kontamination der Wunde im Krankenhaus eine wichtige Rolle spielt.

Der endogene Infektionsweg erfolgt durch hämatogene Absiedelung. Ursächlich können triviale Haut- und Weichteilinfektionen aber auch Zahn-, Harnwegs- und pulmonale Infekte der Fokus einer hämatogenen Aussaat sein.

3.4 Inzidenz von Infektionen nach orthopädischen Eingriffen und Traumata

Die Häufigkeit von Infektionen nach künstlichem Gelenkersatz wird in der Literatur mit 1,3% bis 11%^{12; 25; 32} angegeben. Eine Häufung der Infektionen ist bei Knieendoprothesen und bei Revisionseingriffen zu beobachten³². Die erhöhte Infektionsrate beim Kniegelenksersatz ist vermutlich auf die Prothesenverankerung und die schlechtere Weichteildeckung zurückzuführen.³³ Bei Revisionseingriffen scheint die verlängerte Operationsdauer ursächlich für die gehäuften Infektionen zu sein³⁴.

Im Vergleich zu elektiven Operationen ist bei traumatologischen Notfällen, z.B. offenen Frakturen mit starkem Weichteilschaden, die Inzidenz einer Infektion des Knochens mit 15 bis 40 % deutlich erhöht^{28; 31}. Vor allem offene Tibiafrakturen gehen gehäuft mit Infektionen einher, da der geringe Weichteilmantel und die spezielle Gefäßversorgung die Besiedelung mit Bakterien nach einem Trauma begünstigen³⁵.

3.5 Pathophysiologische Vorgänge bei der postoperativen / posttraumatischen Infektion des Knochens

Eine posttraumatische Osteomyelitis wird durch lokale Faktoren wie Nekrosen, Ödeme, Hämatome und Fremdkörper^{27; 36; 37} begünstigt. Vor allem schlecht perfundiertes oder gar nekrotisches Gewebe dient der bakteriellen Besiedelung als Nährboden^{2; 38-41}. Zum einen ist das Gewebe in seiner immunologischen Kompetenz geschwächt, zum anderen wird es von systemisch verabreichten Antibiotika aufgrund mangelnder Durchblutung nur unzureichend erreicht. Auch Begleiterkrankungen und Umstände, bei denen die Mobilisierung polymorphkerniger Zellen vermindert¹² ist, fördern die Entstehung posttraumatischer Knocheninfekte. Dazu zählen vor allem Systemerkrankungen wie Diabetes Mellitus, rheumatoide Arthritis, Urämie, Leberzirrhose und die langwierige Einnahme von Steroiden.^{42; 43}

Die ausgeprägte Pathogenität von *Staphylokokkus aureus* gegenüber dem Knochen wird unter anderem mit der Fähigkeit des Keimes erklärt, sich an Proteinen der Knochenmatrix (Kollagen, Sialoprotein, Fibronectin, Laminin) anzuheften.⁴⁴⁻⁴⁶ Danach führen von den Keimen gebildete Virulenzfaktoren zur Zerstörung der ossären Struktur des Knochens.

Das *surface associated material* (SAM) inhibiert die Kollagensynthese⁴⁷ und ist zugleich ein potenter Osteoklastenaktivator⁴⁸. Zusätzlich hat SAM weitreichende Effekte auf Osteoblasten, Fibroblasten, Epithelzellen, Makrophagen und neutrophile Granulozyten⁴⁹, die eine Zerstörung des Knochens begünstigen.

Die von *Staphylokokkus aureus* produzierten Leukocidine⁵⁰ induzieren die Ausschüttung proteolytischer Enzyme aus Phagozyten und führen zur Destruktion des Knochens. Auch die vom Erreger gebildeten und im Rahmen der Entzündung freiwerdenden Prostaglandine sind potente Aktivoren von knochenresorbierenden Osteoklasten⁵¹.

Durch den Einstrom von Flüssigkeit und von Zellen der Immunabwehr im Rahmen einer akuten Entzündung erhöht sich der intraossäre Druck aufgrund der Rigidität des Knochens. Dies zieht eine Infarzierung von Gewebe und den Zusammenbruch knöcherner Strukturen nach sich. Durch die Fortleitung des Druckes über die Volkmann- und Havers-Kanäle in Richtung Peripherie kommt es zu einer Anhebung des Periostes und einer Unterbrechung der kortikalen Blutversorgung. Daraus resultieren die in diesem Bereich auftretenden Nekrosen und Sequestrationen. Auch sind proinflammatorische Zytokine wie IL-1 β , IL-6 und TNF- α , die bei einer akuten Immunantwort ausgeschüttet werden, wichtige Mediatoren bei der Resorption des Knochens.

IL-6 erhöht unter anderem die Anzahl osteoklastischer Precursorzellen⁵². IL-1 β und TNF- α beeinflussen die Knochenresorption durch Interaktionen mit Osteoblasten⁵³. Für TNF- α konnte zusätzlich die Induktion der Knochenresorption im infizierten Knochen *in vitro*⁵⁴ und *in vivo*⁵⁵ nachgewiesen werden.

Der vitale Knochen reagiert auf die akute Entzündung mit periostaler Knochenneubildung. Diese periostale Reaktion gilt auch als ein wichtiges radiologisches Zeichen einer Infektion.

3.6 Prophylaxe einer Infektion des Knochens bei operativen Eingriffen

Durch technische Neuerungen, z.B. den Einsatz von Luftfilteranlagen^{56; 57} in den Operationssälen und das Tragen von Ganzkörperanzügen⁵⁸, konnte die Rate der Infektionen auf die Hälfte bis ein Viertel gesenkt werden⁵⁹. Verbesserte Operationstechniken⁶⁰, die Anwendung von ultraviolettem Licht⁶¹ und die lokale Applikation von Antibiotika in Form von Polymethylmetacrylat (PMMA) Ketten⁶², Kollagenschwämmen⁶³ oder Knochenzement⁶⁴ führen⁶⁵ zu einer Reduktion der postoperativen Osteomyelitis. Um das Infektionsrisiko nach einem orthopädischen Eingriff weiter zu verringern, wird eine perioperative systemische Antibiotikaphylaxe durchgeführt. Der Nutzen dieser Prophylaxe konnte in diversen Studien belegt werden und gehört seit Längerem zur gängigen Praxis.^{24; 59; 66}

3.7 Therapie der postoperativen / posttraumatischen Osteomyelitis

Die Infektion des Knochens in Zusammenhang mit zuvor implantierten Fremdkörpern wie Prothesen und Osteosynthesematerialien stellt ein therapeutisches Problem dar. Eine konservative Therapie allein ist ineffektiv. So muss häufig neben einer langwierigen systemischen Antibiotikabehandlung mit all ihren Nebenwirkungen⁶⁷⁻⁷⁰ auch das infizierte Implantat entfernt werden. Bei ausgedehnten Infektionen sollte ein mehrmaliges, intensives Debridement der Wunde erfolgen^{71; 72}. Eine zusätzliche lokale Applikation von Antibiotika mittels imprägnierter PMMA Ketten oder Kollagenschwämmen begünstigt die Heilung. Bei einer Instabilität muss das Implantat entfernt werden. Nach Möglichkeit sollte die Fraktur mit einem anderen Stabilisierungsverfahren, z.B. einen Fixateur externe, fixiert werden^{25; 26; 73}. Bei drittgradig offenen Frakturen ist die temporäre Stabilisierung oder definitive osteosynthetische Versorgung^{74; 75} und die rechtzeitige Deckung des Weichteildefektes⁷⁶ zur Prophylaxe und Therapie einer Infektion essentiell. Hier ist die systemische und eventuell auch eine lokale antibiotische Behandlung des Patienten obligat notwendig.

4. Implantat - assoziierte Infektion

Wie schon unter Punkt 3.6 erwähnt begünstigen Fremdkörper, z.B. Implantate, die Entstehung einer Infektion. Die Ursache dafür ist nicht nur eine durch die Operation gestörte Gewebeintegrität, sondern auch die Pathogenität des Mikroorganismus, die sich durch den Kontakt mit dem Implantat verändern kann. Der Ausbildung von Biofilmen scheint dabei eine zentrale Bedeutung zuzukommen. So haben Christensen et al.⁷⁷ nachgewiesen, dass Schleim - produzierende Staphylokokken dreimal häufiger eine Fremdkörper - assoziierte Infektion auslösen als Stämme, die nicht zur Biofilmbildung befähigt sind.

4.1 Entwicklung eines Biofilms auf Implantaten

4.1.1 Ausbildung eines „conditioning film“

Vor der Implantation eines Fremdkörpers in den Patienten wird die Implantatoberfläche als sauber und steril angenommen. Nach dem Einbringen in den menschlichen Organismus umgibt ein conditioning film⁷⁸ aus Bestandteilen von Körperflüssigkeiten den Fremdkörper und verändert die Charakteristik der Implantatoberfläche. So können auch Bakterien, die zuvor nicht die Möglichkeit hatten direkt am Implantat zu binden, sich dort festsetzen. Untersuchungen mit Heparin- oder Fibrinolytika beschichteten Implantaten bestätigen die Existenz dieses „conditioning film“. Hierbei wurde die Ausbildung dieser Oberflächenveränderung mittels der gerinnungshemmenden Beschichtung reduziert und somit eine Hemmung der Adhäsion erreicht⁷⁹. Für eine Anheftung von Mikroorganismen ist nicht immer ein „conditioning film“ notwendig. Für Stämme von *Staphylokokkus epidermidis* zum Beispiel wurde gezeigt, dass eine Adhäsion auch ohne die das Implantat umgebende Schicht möglich ist⁸⁰.

4.1.2 Annäherung des Organismus an die Implantatoberfläche

Für eine spätere Adhäsion ist es wichtig, dass sich der Keim nahe genug der Implantatoberfläche annähert. Für diesen Vorgang werden unterschiedliche Theorien zur Erklärung herangezogen.

Die „Derjaguin - Landau - Verwey und Overbeck Theorie“ der kolloidalen Stabilität beschreibt die Interaktion zwischen kolloidalen Partikeln bei Annäherung an eine Oberfläche^{78; 81}.

Die thermodynamische Theorie postuliert ein Energiegefälle zwischen gelösten Partikeln und der fixierten Implantatoberfläche. Beides führt zu einer „zielgerichteten“ Bewegung des Mikroorganismus zur Implantatoberfläche.

4.1.3 Anheftung und Adhäsion

In einigen Studien wurde nachgewiesen, dass die Adhäsion insbesondere von Koagulase - negativen Staphylokokken an der Oberfläche von Biomaterialien ein wichtiger Schritt bei der Entstehung einer Infektion ist^{38; 39; 82}. Auch ist die Neigung der Organismen an den Implantaten zu haften, eng mit ihrer Pathogenität verknüpft^{83 84}. Schon lange ist bekannt, dass die Adhäsion bestimmter Keime vom Material des Implantates abhängig ist. Chang et al.⁸⁴ wiesen eine sehr hohe Bindungsaffinität von Bakterien an Stahl nach. Die Organismen zeigten im Vergleich dazu eine geringere Adhäsion gegenüber PMMA. Die wenigsten Keime hefteten sich an Titanoberflächen. Die Affinität zu bestimmten Materialoberflächen ist nicht nur von der Art des Materials abhängig, sondern auch von dessen Verarbeitung. So ist eine Adhäsion verständlicherweise an porösen Materialien - aufgrund der vergrößerten Oberfläche - deutlich ausgeprägter⁸⁵.

Den Prozess der Adhäsion beschreiben Buscher und Weerkamp⁸⁶ in entfernungsabhängigen Schritten: In einem Abstand von mehr als 50 nm beginnen die van der Waal`s Kräfte auf die Keime einzuwirken. In einer Entfernung von 10 bis 20 nm ziehen elektrostatische Kräfte die Organismen in Richtung auf die Oberfläche. Hydrophobe Wechselwirkungen verdrängen das zwischen dem Implantat und dem Organismus befindliche Wasser, und es folgt eine Rezeptor - vermittelte Bindung zwischen Bakterium und Implantatoberfläche. Diese Rezeptor - vermittelte Adhäsion wird z. B. bei *Staphylokokkus aureus* über Moleküle auf der Oberfläche, sogenannte MSCRAMM (*microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules*), gesteuert⁸⁷. Diese Strukturen verbinden sich mit Proteinen des „conditioning films“, die das Implantat in vivo umgeben und zu denen *Staphylokokkus aureus* eine hohe Affinität besitzt⁸⁸⁻⁹¹.

Die Adhäsion wird auch zusätzlich durch andere Faktoren wie Keimkonzentration, Zeit und Temperatur beeinflusst^{78; 92}.

4.1.4 Besiedelung der Implantatoberfläche

Die Ausbreitung der Mikroorganismen auf der Implantatoberfläche folgt der Adhäsion. Die Art der Besiedelung ist vom Keimtyp und seiner potentiellen Kolonisationsstrategie abhängig⁷⁸. Kjelleberg et al.⁹³ beschreiben die Migration einzelner Bakterien zu einem anderen Areal auf der Oberfläche, um dort eine neue Kolonie zu gründen. Auch andere Strategien wie ein kontinuierliches Wachstum in Form eines Monolayers oder die Möglichkeit von Bakterien über die Oberfläche zu rollen, können zur Besiedelung des Implantates führen⁹⁴.

4.1.5 Ausbildung eines Biofilmes

Die Adhäsion der Bakterien an die Implantatoberfläche triggert die Expression von Enzymen, die unter anderem extrazelluläre Polysaccharide (EPS) produzieren⁹⁵. Mittels dieser EPS wird die bereits bestehende Rezeptorbindung verstärkt und die Organismen werden auf der Oberfläche verankert^{78; 96; 97}.

Betrachtet man die Struktur des Biofilmes, so zeigen sich Zellen, die in eine Matrix aus EPS und säulen- / pilzförmigen Mikrokolonien angeordnet sind⁹⁸. Diese Mikrokolonien sind durch mit Flüssigkeit gefüllte Kanäle voneinander getrennt⁹⁵, die einen leichteren Zugang von Nährstoffen und einen effektiveren Abtransport von Stoffwechselprodukten ermöglichen⁹⁹. Eine gewisse Zell - zu - Zell - Kommunikation ist notwendig, damit sich so komplexe Strukturen ausbilden können. Sie wurde für die Biofilmbildung von *Pseudomonas aeruginosa* bereits nachgewiesen⁹⁸.

Die Fähigkeit, einen Biofilm auszubilden, erhöht die Flexibilität der Mikroorganismen gegenüber veränderten Umweltbedingungen und stellt somit einen evolutionsbiologischen Vorteil dar.

5. Gesteigerte Antibiotikaresistenz und verminderte Immunabwehr bei Bakterien in Biofilmen

Mehrere Studien hatten gezeigt, dass Bakterien, die in einem Biofilm organisiert sind, eine eingeschränkte Empfindlichkeit gegenüber Antibiotika aufweisen im Vergleich mit denselben Organismen in gelöster Form¹⁰⁰⁻¹⁰⁶. Eine Ursache für diese erhöhte Resistenz ist die extrazelluläre Matrix aus Polysacchariden, die eine mechanische Penetrationsbarriere für Antibiotika bildet¹⁰⁷. Auch verlängert die Mehrschichtigkeit des Biofilmes die

Diffusionsstrecke und somit können wirksame Antibiotikaspiegel im Inneren des Biofilmes nicht erreicht werden. Ein weiterer Grund für die verminderte Effektivität ist die erniedrigte Wachstumsrate von Keimen in Biofilmen¹⁰⁸. Die geringe Wirkung von Antibiotika auf langsam proliferierende Keime ist vor allem bei Beta-Laktamantibiotika ausgeprägt¹⁰⁹. Diese hemmen die Produktion von Zellwandbestandteilen, die nur von sich vermehrenden Organismen gebildet werden. Zusätzlich sind die Zellmembranen langsam wachsender Keime aufgrund von Veränderungen im Fettsäure- und Proteinprofil für Antibiotika schlechter permeabel¹⁰⁸.

Die im Zusammenhang mit Biofilmen häufig auftretenden Mischinfektionen stellen ein zusätzliches Problem für die Behandlung dar. Meistens kann durch einen Abstrich oder durch die Untersuchung von Gelenkflüssigkeit nur ein Keim nachgewiesen werden, obwohl mehrere Organismen den Infekt unterhalten. Hierdurch ergibt sich eine Lücke in der Keimbekämpfung und das eingesetzte Antibiotikum zeigt keine ausreichende Wirkung³⁹.

Eine weitere Ursache für die schlechten Heilungschancen bei Biofilm - assoziierten Infektionen scheint eine Suppression der Immunantwort zu sein. So konnte für Koagulase - negative Staphylokokken (KNS) nachgewiesen werden, dass deren extrazellulärer Schleim mit Lymphozyten und neutrophilen Granulozyten interferiert¹¹⁰⁻¹¹³. So wirkt die extrazelluläre Schleim - Substanz (ESS) von *Staphylococcus epidermidis* antiphagozytotisch, indem sie die über die Opsonierung vermittelte Phagozytose verhindert¹⁰⁷. Des Weiteren inhibiert die ESS die Blastogenese von B- und T-Lymphozyten und stört somit die spezifische zelluläre und humorale Immunantwort¹¹¹.

6. Osteomyelitis im Tiermodell

6.1 Verwendete Tierarten

In der Literatur sind Modelle zur Etablierung einer Knocheninfektion an Hasen^{37; 114}, Hunden^{27; 115}, Hühnern¹¹⁶, Meerschweinchen¹¹⁷ und Ratten¹¹⁸⁻¹²² beschrieben. Sie dienen dazu, die pathophysiologischen Vorgänge bei einer Osteomyelitis und die Möglichkeiten einer Therapie zu untersuchen. Das ideale Modell existiert nicht, da jede Tierart ihre Vor- und Nachteile besitzt. Die Verwendung von Kleintieren ermöglicht die Untersuchung von großen Stückzahlen und durch die genetische und damit immunologische Ähnlichkeit der Tiere ist eine bessere Vergleichbarkeit untereinander gewährleistet. Die Verwendung von Großtieren

hat den Vorteil, dass praxisnähere und komplexere Eingriffe durchführbar sind und die Situation in der humanen Anwendung dadurch besser zu imitieren ist ¹²³.

6.2 Verwendete Keimarten und Dosierungen

In den meisten Tiermodellen wurde zur Infektion des Knochens *Staphylokokkus aureus* verwendet ¹¹⁸⁻¹²². Aber auch mit *Staphylokokkus epidermidis* ^{27; 123}, *Pseudomonas aeruginosa* ¹²⁴, *Proteus mirabilis* ¹²⁵, *Escherichia coli* ²⁷ oder mit einer Kombination aus mehreren Keimen ¹²⁶ wurden Knocheninfektionen erzeugt. Die direkt in den Knochen, in die Markhöhle oder in die Nähe von Implantaten applizierten Keimmengen variierten von Studie zu Studie erheblich. Laurencin et al. ¹²⁰ gelang es schon mit durchschnittlich 10^4 Keimen bei Ratten eine Osteomyelitis zu erzeugen, wohingegen Littlewood et al. ¹²² 10^9 Keime in die Markhöhle männlicher Madorinratten inokulierten, um eine Infektion auszulösen. Zusätzlich zu einer intraossären Inokulation von Keimen wurde auch versucht, einen Biofilm auf dem Implantat durch eine bakterielle Kolonisation der Fremdkörper schon vor der Inkorporation zu erzeugen ^{127; 128}. Monzón et al. gelang es mit zuvor besiedelten Implantaten den Knochen verlässlich zu infizieren ¹²⁹. Eine andere Technik benutzten Hienz et al. ¹³⁰ und Matsushita et al. ¹³¹, die mit einer systemischen Injektion von Bakterien eine hämatogene Osteomyelitis induzierten. Hierfür musste allerdings zuvor eine Läsion des Knochens gesetzt werden, um reproduzierbare Infektionen auszulösen.

6.3 Substanzen und Techniken, die einen Infekt begünstigen

Da es in der Vergangenheit nicht möglich war bei Tieren ohne weitere Hilfsmittel eine ausreichende Infektrate zu erzeugen, wurden in nahezu allen Untersuchungen zusätzliche Substanzen oder Techniken eingesetzt, um die Entstehung einer Osteomyelitis zu begünstigen.

Das zu diesem Zwecke häufig benutzte Natrium – Morrhuat ^{118; 122; 125; 130} kommt normalerweise in der Dermatologie und der Gastroenterologie als Sklerosierungsmittel von Varizen zum Einsatz. Es führt zu einer direkten Zerstörung von Endothelzellen, zu einer Aggregation von Granulozyten und zu einer Hämolyse, die sekundär die Thrombozytenaggregation fördert ¹³². Die durch die Applikation von Morrhuat veränderte Durchblutung des Knochenmarkes ¹³³, die Sklerosierung und die aseptische Nekrosenbildung ¹³⁴ begünstigen die Entwicklung einer Infektion. Zusätzlich verändert Morrhuat das

histologische Bild des Knochens in der Weise, dass es einer Osteomyelitis ähnelt. Die Substanz besitzt weiterhin *in vitro* eine toxische Wirkung gegen *Staphylokokkus aureus*¹¹⁸. Das aus Fischöl hergestellte Morrhuat besteht hauptsächlich aus Fettsäuren, z.B. Öl- und Arachidonsäure¹³⁵. In einer Untersuchung von Rissing et al.¹³⁶ konnte die destruiende Wirkung von Arachidonsäure auf vitalen Knochen nachgewiesen werden. Diese Fettsäure ist auch Ausgangsprodukt für die Synthese von Prostaglandinen, d.h. potenten Aktivatoren der Osteoklasten.

In diversen Modellen werden Hochgeschwindigkeitsbohrer für den Zugang zum Markraum eingesetzt^{118; 120}. Die bei diesem Vorgehen induzierten thermischen Nekrosen¹³⁷ erleichtern den inokulierten Bakterien eine Infektion. Auch führt die traumatische Manipulation am Knochen zu einer Freisetzung von Prostaglandinen, die die Entstehung einer Infektion begünstigen¹³⁸ und durch die Aktivierung der Osteoklasten zu einer Resorption des Knochens führen.

Auch das in einigen Studien verwendete Knochenwachs^{35; 36; 121; 122; 139} scheint die Infektrate zu erhöhen. Der Grund ist wahrscheinlich in dem verminderten Austritt von inokulierter Suspension aus dem infizierten Areal in das umgebende Gewebe sowie in dem Umstand zu sehen, dass ein Entfernen der Bakterien über den austretenden Eiter verhindert wird. Des Weiteren fördert Knochenwachs als implantierter Fremdkörper selbst die Entstehung einer Infektion¹³⁵.

An den von Spagnolo et al.¹⁴⁰ in den Markraum injizierten Fibrinkleber kann *Staphylococcus aureus* hervorragend binden. Der Kleber bietet somit ein optimales Medium für bakterielles Wachstum und hat dazu die Eigenschaft, die Osteogenese zu stimulieren^{141; 142} und verändert somit das histologische Bild der Knocheninfektion.

7. Zielsetzung

Die im Schrifttum beschriebenen Osteomyelitismodelle am Kleintier benutzen zur Induktion einer Knocheninfektion zusätzlich zu einem Implantat auch andere Promotoren, die eine Infektion begünstigen, z.B. Knochenwachs, thermische Nekrosen etc. Somit wird die eigentliche Rolle des Implantates bei der Infektentstehung verschleiert. Die in den unterschiedlichen Modellen beobachtete starke Variabilität der inokulierten Keimmenge und die ungenaue Quantifizierung macht es unmöglich, eventuelle Abhängigkeiten von applizierter Keimmenge und Infektionsausmaß zu erkennen. Die Diagnose der Infektion erfolgte bei den einzelnen Autoren mikrobiologisch, radiologisch, histologisch, laborchemisch und klinisch, wobei meistens eine oder zwei Methoden benutzt wurden. Selten wurden sämtliche diagnostischen Möglichkeiten zur Beschreibung der Infektion herangezogen. Nur in Einzelfällen wurde darüber hinaus eine objektive Auswertung der Befunde (z.B. im Rahmen von Scores) durchgeführt.

Das Ziel dieser Studie war es, ein neues Implantat - assoziiertes Osteomyelitismodell am Kleintier zu etablieren. Hierbei sollte nur das Implantat die Entstehung einer Infektion begünstigen. Somit wurden keine zusätzlichen Substanzen oder Techniken verwendet, die den Zusammenhang zwischen Implantat und Infektion beeinflussen. Außerdem wurde versucht, die inokulierte Keimmenge so niedrig wie möglich zu halten, um Effekte einer möglichen Therapieoption besser zu erkennen. Sowohl die applizierten Keimdosen als auch die Keimkonzentrationen im infizierten Knochen sollten so genau wie möglich quantifiziert werden, um einen möglichen Zusammenhang zwischen inokulierter und postoperativ bestimmter Keimmenge erkennen zu können. Eine genaue Bestimmung der Keimmengen wäre auch beim Wirksamkeitsnachweis von Therapieformen hilfreich. Um Aussagen über das Ausmaß der Infektion treffen zu können, wurden die Untersuchungsmethoden weitestgehend objektiviert. Die Tiere wurden sowohl mikrobiologisch, radiologisch, histologisch, laborchemisch als auch klinisch untersucht, um valide Aussagen treffen zu können.

Ein derartiges tierexperimentelles Modell mit detaillierten Aussagen zu Infektionsausmaß und – intensität wäre sehr nützlich, um darauf aufbauend Möglichkeiten der Prophylaxe oder der Therapie Implantat - assoziierter Infektionen zu evaluieren.