Aus der Klinik für Unfallchirurgie, Orthopädie und Plastische Chirurgie
(Prof. Dr. med. W. Lehmann)
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

Bakterielle Kolonisation von teleskopierbaren Titanimplantaten (VEPTR-System) bei Kindern und Jugendlichen mit Wirbelsäulendeformitäten

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät der
Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Leonie Wagner

aus

Landshut

Göttingen 2017

Dekan:	Prof. Dr. rer. nat. H. K. Kroemer
Referent/in	Prof. Dr. med. A.-K. Hell
Ko-Referent/in:	Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. H. Eiffert

Datum der mündlichen Prüfung: 21.09.2017

Hiermit erkläre ich, die Dissertation mit dem Titel „Bakterielle Kolonisation von teleskopierbaren Titanimplantaten (VEPTR-System) bei Kindern und Jugendlichen mit Wirbelsäulendeformitäten“ eigenständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

München, den …… ……

(Unterschrift)

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis ..... **III**

Tabellenverzeichnis ..... **IV**

Abkürzungsverzeichnis ..... **V**

1 Einleitung **1**

1.1 Skoliosen im Kindes- und Jugendalter 1

1.2 Behandlung von Wirbelsäulendeformitäten im Kindes- und Jugendalter 4

1.3 Operative Versorgung von Wirbelsäulendeformitäten im Kindes- und Jugendalter 5

1.4 Keimbesiedlung auf Implantaten 6

1.4.1 Definition Infektion 6

1.4.2 Implantat-assoziierte Infektionen 7

1.4.3 Biofilm-Bildung 8

1.4.4 Keimspektren bei Implantat-assoziierten Infektionen 8

1.4.5 Nachweismethoden 9

1.5 Fragestellung 10

2 Material und Methoden **11**

2.1 Ethikkommission 11

2.2 Studiendesign 11

2.2.1 Patientenkollektiv 11

2.2.2 Einschlusskriterien 11

2.2.3 Ausschlusskriterien 12

2.2.4 Studienablauf 12

2.3 Kinderorthopädie 13

2.4 Mikrobiologie 16

2.5 Mikroskopie 18

2.6 Reagenzien, Materialien und Geräte 22

2.6.1 Nährmedien 22

2.6.2 Puffer- und Nährlösungen 22

2.6.3 Chemikalien 23

2.6.4 Materialien und Geräte 24

2.7 Statistische Auswertung 26

2.8 Definition eines positiven Ergebnisses 26

3 Ergebnisse **27**

3.1 Patienten 27

3.2 Rate positiver Ergebnisse 27

3.3 Patientenspezifische Daten 28

3.3.1 Geschlecht ... 28
3.3.2 Alter ... 29
3.3.3 Körpergröße ... 30
3.3.4 Körpergewicht ... 31
3.4 Grunderkrankung ... 33
3.5 Voroperationen ... 34
3.5.1 Anzahl Operationen ... 34
3.5.2 Komplikationen: Mechanisch ... 36
3.5.3 Komplikationen: Infekt ... 36
3.6 Mögliche Einflussfaktoren ... 36
3.6.1 VEPTR-System ... 36
3.6.2 Vorerkrankungen ... 36
3.6.3 Risikofaktoren für pathogene Keimbesiedlung ... 37
3.6.4 Hautabstriche ... 37
3.7 Klinische Beobachtung ... 37
3.7.1 Dauer des stationären Aufenthaltes ... 37
3.7.2 Präoperative Evaluation ... 39
3.7.3 Postoperative Evaluation ... 39
3.8 Laborchemische Testverfahren ... 39
3.9 Untersuchungsverfahren ... 39
3.9.1 Abstrich vom Implantat ... 39
3.9.2 Abstrich mit Gewebe ... 40
3.9.3 Analyse der Implantatschlösser ... 41
3.9.4 Polymerase-Kettenreaktion (PCR) ... 42
3.9.5 Konfokalmikroskopie ... 42
3.10 Keimspektrum ... 43
3.11 Nachbeobachtung ... 44
3.12 Zusammenfassung der Ergebnisse ... 47

4 Diskussion ... 48
4.1 Bakterielle Kolonisationsrate ... 49
4.2 Mögliche Einflussfaktoren ... 49
4.3 Klinische Beobachtung ... 51
4.4 Testverfahren ... 51
4.5 Keimspektrum ... 53
4.6 Nachbeobachtung ... 54
4.7 Therapeutische Konsequenz und Ausblick ... 54

5 Zusammenfassung ... 57

6 Anhang ... 59

7 Literaturverzeichnis ... 62

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Eine mögliche Einteilung der Skoliose nach der Ätiologie modifiziert nach Lonstein et al. 1995 ... 2
Abbildung 2: Das VEPTR-System am Modell ... 5
Abbildung 3: Übersicht über die Arbeitsabläufe in den beteiligten Instituten ... 12
Abbildung 4: Stammblatt ... 13
Abbildung 5: Operations-Dokumentationsbogen ... 14
Abbildung 6: Teilstücke des Verbindungsstückes auf steriler Kompresse ... 15
Abbildung 7: Exemplarisches Teilstück für die Mikroskopie ... 19
Abbildung 8: Objektträger mit gefärbtem und fixiertem Metallplättchen ... 21
Abbildung 9: Anteil der Patienten mit positivem Testergebnis ... 27
Abbildung 10: Anteil der Patienten mit sicher positivem Testergebnis ... 28
Abbildung 11: Geschlechterverteilung Gesamtkollektiv ... 29
Abbildung 12: Vergleich der Altersverteilung beider Gruppen ... 30
Abbildung 13: Vergleich der Körpergrößen beider Gruppen ... 31
Abbildung 14: Vergleich des Körpergewichts beider Gruppen ... 32
Abbildung 15: Verteilung der Grunderkrankungen ... 33
Abbildung 16: Verteilung der Grunderkrankungen und Anteil positiver Patienten nach der Grunderkrankung ... 34
Abbildung 17: Vergleich der Anzahl an Operationen beider Gruppen ... 35
Abbildung 18: Vergleich der Dauer des stationären Aufenthaltes beider Gruppen ... 38
Abbildung 19: Anteil positiver Implantat-Abstriche bei positiven Patienten ... 40
Abbildung 20: Anteil positiver Abstriche mit Gewebe bei positiven Patienten ... 41
Abbildung 21: Anteil positiver Implantatschlösser bei positiven Patienten ... 42
Abbildung 22: Exemplarische Bildgebung in der Projektion mit Concanavalin A 1:100 ... 43
Abbildung 23: Keimverteilung bei den positiven Patienten ... 44

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Progressionswahrscheinlichkeit unbehandelter idiopathischer Skoliosen nach Lonstein und Carlson 1984 ... 3
Tabelle 2: Kurvenprogression mindestens zwei Jahre unbehandelter kongenitaler Skoliosen durch einseitig unsegmentierte Spangenbildung exemplarisch nach McMaster und McMaster 2013 ... 4
Tabelle 3: Nährmedien ... 22
Tabelle 4: Pufferlösungen ... 22
Tabelle 5: Chemikalien ... 23
Tabelle 6: Materialien und Geräte ... 24
Tabelle 7: Altersverteilung in Abhängigkeit von den Testergebnissen ... 29
Tabelle 8: Körpergröße der Patienten ... 31
Tabelle 9: Körpergewicht der Patienten ... 32
Tabelle 10: Anzahl der stattgehabten Operationen ... 35
Tabelle 11: Stationäre Aufenthaltsdauer ... 38
Tabelle 12: Nachbeobachtung aller Patienten ... 46

Abkürzungsverzeichnis

BSG	Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit
CNS	Koagulase-negative Staphylokokken
CO_2	Kohlenstoffdioxid
CPAP	*Continuous-Positive-Airway-Pressure*
CRP	C-reaktives Protein
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ESBL	*Extended-Spectrum*-Betalaktamase
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
ICP	Infantile Zerebralparese
IL	Interleukin
MALDI-TOF	Matrix-unterstützte Laser-Desorption-/ Ionisation-*Time-of-flight*
MMC	Myelomeningocele
MRSA	Methicillin-resistenter *Staphylokokkus aureus*
PBS	*Phosphate buffered saline*
PEG	Perkutane endoskopische Gastrostomie
PCR	*Polymerase chain reaction* (Polymerasekettenreaktion)
PCT	Procalcitonin
SMA	Spinale Muskelatrophie
TNF	Tumornekrosefaktor
UMG	Universitätsmedizin Göttingen
UV	Ultraviolett
VEPTR	*Vertical-expandable-prosthetic-titanium-rib*

1 Einleitung

1.1 Skoliosen im Kindes- und Jugendalter

Als Skoliose bezeichnet man eine seitliche Verkrümmung der Wirbelsäule mit Rotationskomponente. Es handelt sich dabei um eine dreidimensionale strukturelle Deformität der Wirbelsäule mit einer Seitverbiegung in der Frontal- und Sagittalebene sowie einer Rotation in der Axialebene. Ursächlich hierfür finden sich Fehlbildungen und Fehlstellungen der Wirbelkörper sowie der Rippen oder Wachstumsstörungen (Bunnell 1986; Brunner und Gebhard 2002; Hefti 2002; Goldberg et al. 2008).

Der Verdacht auf eine Skoliose entsteht zumeist zunächst klinisch durch das Auftreten eines Rippenbuckels, eines Lendenwulstes, verstrichener Taillendreiecke oder eines Schulterschiefstandes (Buckup et al. 2001).

Zur Diagnosestellung werden radiologische Verfahren angewendet. Zur Beurteilung des Vorhandenseins sowie des Ausprägungsgrades einer Skoliose im Röntgenbild der Wirbelsäule wird konventionell der Cobb-Winkel herangezogen (Cobb 1948). Die Methode nach Cobb bestimmt das Ausmaß der Kippung zweier definierter Wirbelkörper zueinander in der Frontalebene im konventionellen Summationsröntgenbild im posterior-anterioren (p.a.) bzw. anterior-posterioren (a.p.) Strahlengang. Diese sogenannten Neutralwirbel stehen als erster und letzter Wirbelkörper jeweils am Umschlagpunkt zwischen Konvexität und Konkavität und sind im Vergleich zu allen anderen Wirbeln am meisten gekippt und am wenigsten rotiert. Der Deckplatte des oberen Wirbelkörpers sowie der Bodenplatte des unteren Wirbelkörpers wird jeweils eine Tangente angelegt. Der Winkel, unter dem sich diese beiden Geraden schneiden, wird als Cobb-Winkel bezeichnet (Cobb 1948). Bei einem Cobb-Winkel von mehr als 10 ° wird eine Skoliose diagnostiziert (Bunnell 1986). Die unterschiedlichen Behandlungsformen sind abhängig von Ätiologie, Ausmaß der Skoliose, Progredienz, Alter des Kindes und Allgemeinzustand (siehe Kapitel 1.2).

Eine Skoliose kann als Entität begleitend zu einer bestehenden Grunderkrankung auftreten, aber auch eigenständig ohne weitere erkennbare Erkrankungen des Patienten entstehen. Trotzdem werden die verschiedenen Formen der Skoliose zusammenfassend nicht als voneinander unabhängige Krankheitsbilder angesehen, sondern vielmehr als verschiedene Varianten einer Erkrankung (Goldberg et al. 2008).

Eine Klassifizierung ist wichtig, da von der Ätiologie maßgeblich das Risiko einer Progression und die Therapieform abhängen. Die ätiologische Einteilung der Skoliose erfolgt in idiopathisch, kongenital und sekundär (Lonstein et al. 1995). Manche Autoren differenzieren deutlich mehr verschiedene Gruppen, und dennoch gibt es Mischformen, die aus der Systematik herausfallen (siehe Abbildung 1):

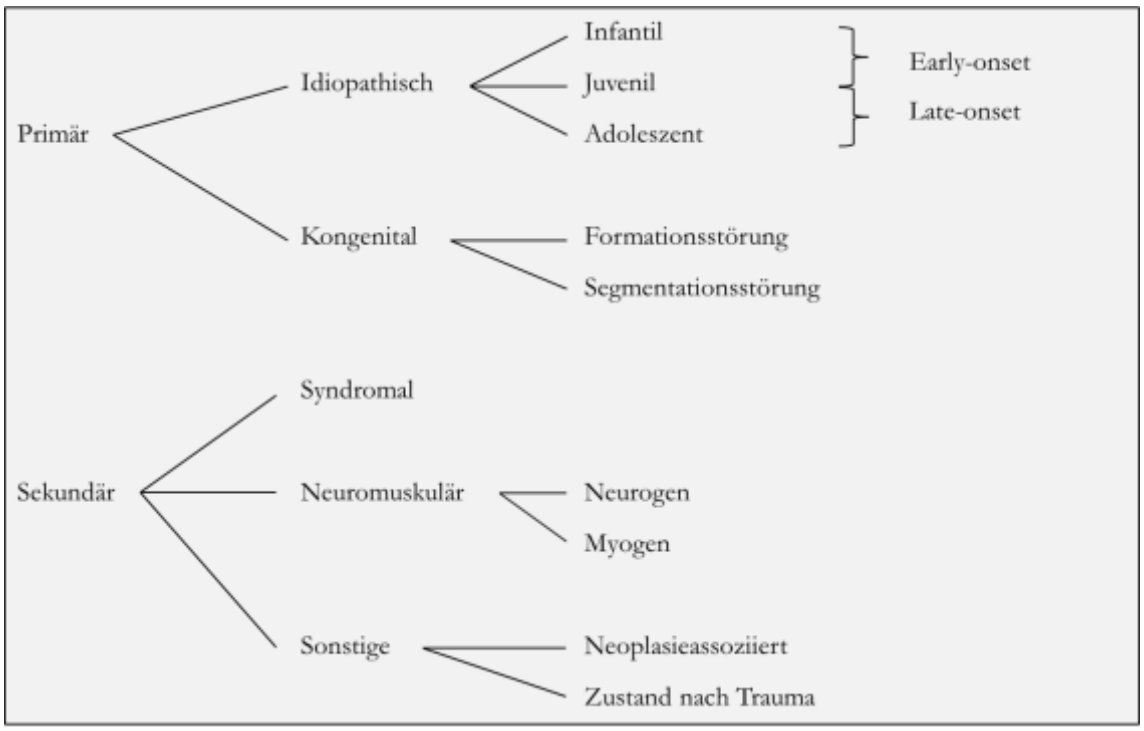


Abbildung 1: Eine mögliche Einteilung der Skoliose nach der Ätiologie modifiziert nach Lonstein et al. 1995

Am häufigsten tritt eine sogenannte idiopathische Skoliose auf. Gleichzeitig wird diese Diagnose aber erst gestellt, wenn keine anderen Gründe für das Auftreten der Skoliose gefunden werden können. Es liegt also keine Grunderkrankung vor, die das Auftreten der Skoliose erklären könnte. Daher ist die Ätiologie unbekannt, eine multifaktorielle Genese ist anzunehmen (Lowe et al. 2000). Eingeteilt werden kann eine idiopathische Skoliose aufgrund ihres unterschiedlichen klinischen Verlaufs und der Prognose nach dem Alter der Patienten zum Zeitpunkt der Erstdiagnose in infantile (<3 Jahre), juvenile (3-9 Jahre) und adoleszente (10-18 Jahre) Skoliosen. Gebräuchlich ist außerdem die Differenzierung zwischen früh-einsetzenden (*early-onset*) und spät-einsetzenden (*late-onset*) Skoliosen mit einer Grenze um den 5. Geburtstag (Sanders 2007). Dies beruht auf der Tatsache, dass sehr früh einsetzende Skoliosen (mit Ausnahme der Säuglingsskoliose) eine eher schlechtere Prognose aufweisen als die später im Wachstumsalter beginnenden Skoliosen (Lonstein und Carlson 1984).

Kongenitale Skoliosen sind angeborene Fehlbildungen der Wirbelsäule. In seltenen Fällen entstehen sie durch hereditäre Defekte, der überwiegende Teil ist jedoch auf eine intrauterine toxische Schädigung in der Frühschwangerschaft zurückzuführen (Hefti 2002). Aus diesem Grund sind kongenitale Skoliosen häufig mit Anomalien anderer Organsysteme (z. B. Nieren oder Herz) vergesellschaftet, eine Abklärung diesbezüglich ist zwingend erforderlich (Hefti 2002). Bei der Entstehung kongenitaler Skoliosen wird unterschieden zwischen einer Anlagestörung (z. B. Keilwirbel, Halbwirbel), einer

Segmentationsstörung (z. B. Spangenbildung, Blockwirbel) oder der Kombination aus beidem. Je nach Art der Fehlbildung ist mit einer definierten Kurvenprogression zu rechnen, weshalb konservative Therapieverfahren in der Regel ohne Aussicht auf Erfolg bleiben (McMaster und Ohtsuka 1982; Hefti 2002).

Eine als sekundär bezeichnete Skoliose geht einher mit einer weiteren Pathologie, die in Zusammenhang mit der Entstehung der Skoliose gebracht werden kann. Dazu zählen u.a. neuromuskuläre Erkrankungen, syndromale Erkrankungen durch genetische Anomalien sowie ein Zustand nach jedweder Art von Trauma oder einer Tumorerkrankung. Bei jeder dieser Entitäten gibt es spezielle Eigenarten zu beachten, welche einen Einfluss auf die Therapieentscheidung haben können.

Beispielhaft zeigen die neuromyopathischen Skoliosen oftmals einen schwereren Krankheitsverlauf und sind in der Kombination mit weiteren Einschränkungen durch die Grunderkrankung für die Patienten besonders belastend (Allam und Schwabe 2013). Bei einer operativen Therapie konnte zudem gezeigt werden, dass eine höhere Wahrscheinlichkeit für peri- und postoperative Komplikationen besteht (Brunner und Gebhard 2002; Barsdorf et al. 2010; Reames et al. 2011).

Die Pathophysiologie einer Skoliose auf molekularbiologischer Ebene ist Gegenstand aktueller Forschung und nicht abschließend geklärt (Goldberg et al. 2008). Ein Zusammenhang zwischen den Perioden verstärkten Wachstums und einem Auftreten bzw. einer Zunahme der Deformität gilt als sehr wahrscheinlich (Goldberg et al. 2008), das Reifestadium der Patienten gibt einen Hinweis auf den noch zu erwartenden Progress der Erkrankung (Sanders et al. 2007).

Als Faustregel wurde postuliert, dass je jünger das Kind beim Auftreten der Skoliose und je schwerwiegender die Deformität zum Diagnosezeitpunkt bereits ist, desto wahrscheinlicher ist eine Zunahme der Deformität im Krankheitsverlauf (vgl. Goldberg et al. 2008). Eine Untersuchung zur Progressionswahrscheinlichkeit unbehandelter idiopathischer Skoliosen konnte diese Annahme zumindest für diese Entität unterstreichen (Lonstein und Carlson 1984)(siehe Tabelle 1).

Tabelle 1: Progressionswahrscheinlichkeit unbehandelter idiopathischer Skoliosen nach Lonstein und Carlson 1984

Cobb-Winkel [°]	10-12 Jahre alt	13-15 Jahre alt	16 Jahre alt
<20	25 %	10 %	0 %
20-29	60 %	40 %	10 %
30-59	90 %	70 %	30 %
>60	100 %	90 %	70 %

Für die unbehandelte Kurvenentwicklung bei kongenitalen Skoliosen konnte gezeigt werden, dass je nach Ausmaß der Fehlbildung eine kontinuierliche, unaufhaltsame Zunahme des Krümmungswinkels während des gesamten Wachstums stattfindet (McMaster und Ohtsuka 1982; McMaster und McMaster 2013), beispielhaft gezeigt bei Patienten mit unsegmentierten Spangen unterschiedlicher Ausdehnung (siehe Tabelle 2).

Tabelle 2: Kurvenprogression mindestens zwei Jahre unbehandelter kongenitaler Skoliosen durch einseitig unsegmentierte Spangenbildung exemplarisch nach McMaster und McMaster 2013

Anzahl der durch Spangenbildung verbundenen Wirbelkörper	<10 Jahre	>10 Jahre
2	2 °	4 °
3	3 °	5 °
4	4 °	5 °
5	5 °	7 °

1.2 Behandlung von Wirbelsäulendeformitäten im Kindes- und Jugendalter

Prinzipiell können behandlungsbedürftige Skoliosen bei Kindern und Jugendlichen konservativ oder operativ versorgt werden.

Zu möglichen konservativen Therapieverfahren zählen die Korsetttherapie, Physiotherapie, Atemtherapie und weitere alternativmedizinische Verfahren. Evidenz-basierte Daten sind für diese Behandlungsverfahren schwierig und werden kontrovers diskutiert (Brunner und Gebhard 2002; Weiss et al. 2008).

Eine eindeutige einheitliche Empfehlung, wann eine operative Versorgung kindlicher Skoliosen erfolgen muss, ist nicht vorhanden und individuell vom Reifegrad des Patienten, der zu erwartenden Progredienz, aber auch vom Zugriff auf medizinische Ressourcen abhängig (McMaster und Ohtsuka 1982; Hefti 2002; Trobisch et al. 2010).

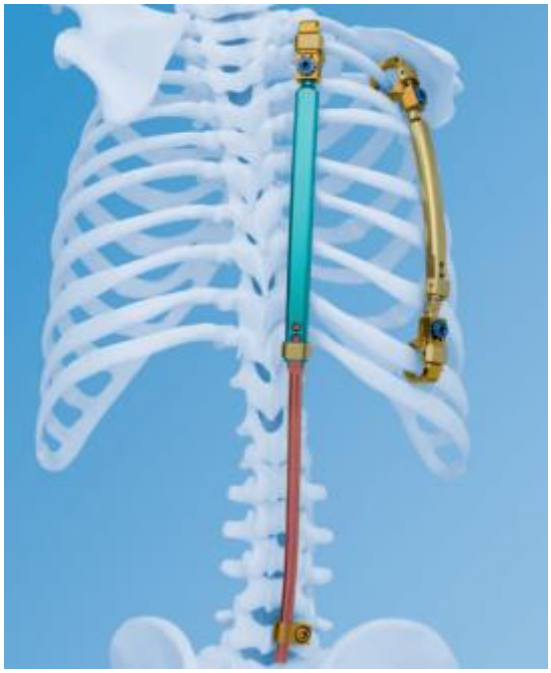
Grundsätzlich ist eine Therapie bei nicht-idiopathischen Skoliosen früher notwendig als bei idiopathischen Skoliosen. In Abhängigkeit von der Ätiologie stehen häufig nicht alle Therapieoptionen zur Verfügung. Bei idiopathischen Skoliosen im Wachstumsalter besteht im deutschsprachigen Raum ein überwiegender Konsens für die Anwendung von Physiotherapie bei einer Krümmung ab 10 °, für eine Korsetttherapie ab 20 ° oder einer

Krümmungszunahme von über 5 ° pro Jahr und für eine Operation ab ca. 50 ° (Trobisch et al. 2010). Die nicht idiopathischen Skoliosen sind eine so inhomogene Gruppe, dass ähnliche Empfehlungen nicht existieren. In der Regel werden diese früher und aggressiver behandelt (Brunner und Gebhard 2002). Oft spielen aber auch additive Problematiken wie eine Keimbesiedlung mit resistenten Keimen, eine prognostizierte verkürzte Lebenserwartung oder eine zu erwartende Verschlechterung des Allgemeinzustandes eine Rolle in der Therapieentscheidung (Forst et al. 1997).

1.3 Operative Versorgung von Wirbelsäulendeformitäten im Kindes- und Jugendalter

Neben den ventral und/ oder dorsal versteifenden operativen Skoliosekorrekturverfahren (Halm et al. 2009), welche sich im Kindesalter negativ auf das Wachstum von Wirbelsäule und Thorax und damit auf das Gesamtüberleben des Kindes auswirken (Campbell et al. 1992; Campbell und Smith 2007), werden aktuell hauptsächlich sogenannte „mitwachsende Wirbelsäulensysteme“ im Kindesalter angewandt (Campbell und Hell-Vocke 2003; Hasler et al. 2010).

Eines hiervon ist das des Vertical-expandable-prosthetic-titanium-rib (VEPTR) System. Das VEPTR-System (Synthes Spine Co., Paoli, Pa.) ist ein longitudinales Teleskopimplantat aus Titan.



Die Abbildung 2 zeigt exemplarisch eine Anwendung des VEPTR-Systems am Modell. Die Anzahl der verwendeten Teleskopsysteme ist von Patient zu Patient variabel. Das System ist in zwei verschiedenen Ausführungen verfügbar, VEPTR I und VEPTR II. Das Bild zeigt eine VEPTR II-Ausführung.

Mit freundlicher Genehmigung der Firma DePuy Synthes.

Abbildung 2: Das VEPTR-System am Modell

Die Entwicklung des VEPTR-Systems begann vor nahezu 30 Jahren in San Antonio, Texas, als individueller Therapieversuch für ein Kind mit schweren angeborenen Fehlbildungen (Campbell et al. 1992). Aufgrund guter Therapieergebnisse wurde das System weiter entwickelt und auch bei anderen Patienten eingesetzt.

Bei der Analyse des VEPTR-Implantates bei kongenitaler Skoliose im Langzeitverlauf konnte gezeigt werden, dass sowohl die konkave Deformitätsseite als auch die unilateral unsegmentierten Spangen eine signifikante Längenzunahme aufwiesen (Campbell und Hell-Vocke 2003), welche nicht auf eine mechanische Verlängerung zurückzuführen war.

Die primäre Hauptindikation zur Anwendung des VEPTR-Systems bilden kongenitale Skoliosen mit multiplen Fehlbildungen (Hell et al. 2004), wobei über die Jahre das Indikationsspektrum deutlich erweitert wurde (Campbell und Smith 2007). Auch die Anwendung bei nicht-kongenitalen *early-onset*-Wirbelsäulendeformitäten erwies sich als wertvolle Alternative zu bestehenden Therapieverfahren (Hasler et al. 2010, White et al. 2011).

Bei der primären VEPTR-Implantation werden kranial eine oder mehrere Rippen einseitig oder bilateral neben der Wirbelsäule mit Rippenringen gefasst. Eine kaudale Verankerung erfolgt z. B. durch einen Laminahaken an der Lendenwirbelsäule oder beidseits mit DunnMcCarty-Haken am Beckenkamm (Campbell et al. 2004).

Nach primärer Korrektur wird die Wirbelsäule durch das stattfindende Wachstum des Kindes wieder krummer, sodass die Systeme im Abstand von sechs Monaten durch minimalinvasive Eingriffe entsprechend verlängert werden. Dazu wird eine Distraktionssperre entfernt, mittels spezieller Instrumentarien findet eine Aufdehnung und somit Verlängerung der *in situ* befindlichen Teleskopstangen statt, zur Stabilisierung wird schließlich eine neue Sperre, später Schloss genannt, eingesetzt (Hell et al. 2004). Sobald die maximale Endlänge des Teleskopsystems erreicht ist, findet ein Teilaustausch des Systems statt, um eine weitere Expansionsreserve zu schaffen (Hell et al. 2004). Die endgültige Versorgung der Patienten besteht in einer versteifenden Operation der Wirbelsäule, welche je nach Befund und Alter frühestens ab 10 Jahre, günstiger jedoch später in der Pubertät durchgeführt wird (Hopf 2000; Halm et al. 2009).

1.4 Keimbesiedlung auf Implantaten

1.4.1 Definition Infektion

Unter einer Infektion versteht man das Eindringen von Erregern mit einer durch die Ansiedlung und Vermehrung der Erreger ausgelösten Reaktion des Körpers. Eine Infektion kann akut und subakut mit der Ausbildung der klassischen Entzündungszeichen „rubor, calor, tumor, dolor und functio laesa“ (Celsus, Aulus Cornelius 1465) ablaufen oder

auch chronische oder latente Verläufe zeigen. Viele verschiedene Faktoren haben einen Einfluss auf die Entstehung und den Verlauf einer Infektion.

Das Vorhandensein von Erregern, im Speziellen Bakterien, im menschlichen Körper führt nicht zwangsläufig zu einer Infektion. Dies zeigt sich beispielsweise an der natürlichen bakteriellen Besiedlung der Körperoberfläche (Grice und Segre 2011). Dabei kommt es zur Kolonisation durch die Bakterien, welche im Gegensatz zur Infektion ohne klinische Hinweise für eine Infektion verläuft. Die Abgrenzung zwischen einer Kolonisation durch Bakterien und einer klinisch unentdeckten latenten Infektion ist nicht trivial sondern unter Umständen hochkomplex und mit einer aufwendigen Fokussuche anderer Infektionsquellen verbunden (Groß 2013).

1.4.2 Implantat-assoziierte Infektionen

Seit der Erstbeschreibung 1987 ist bekannt, dass sich Bakterien an Biomaterialien anheften und Infektionen auslösen können (Gristina 1987). Bei orthopädischen Langzeitimplantaten wie Gelenkprothesen oder Osteosynthesen treten bakterielle Früh- und Spätinfekte nicht selten auf. So beträgt beispielsweise bei primären Hüft- und Knieprothesen-Implantationen das Risiko, einen Infekt zu erleiden 1,5-2,5 % und bei Wechseloperationen bereits 3,2-5,6 % (Montanaro et al. 2011b). Bei Versteifungen der Wirbelsäule unter Einbringung von Implantaten treten in 0,7-3,2 % postoperative Wundinfektionen auf (Picada et al. 2000; O'Toole et al. 2009).

In der operativen Therapie von Skoliosen ist schon seit mehr als 20 Jahren das Auftreten von verzögert auftretenden Wundinfektionen mit einer Inzidenz von 1,7-6,9 % beschrieben (Richards 1995; Clark und Shufflebarger 1999; Richards und Emara 2001; Hahn et al. 2005). Bei multimorbiden Kindern mit medizinisch notwendigen Unterstützungssystemen wie einem Tracheostoma oder einer perkutanen endoskopischen Gastrostomie-Sonde (PEG-Sonde) ist eine andauernde Keimbesiedlung bekannt (Czogała et al. 2010; Kusahara et al. 2012). Eine unmittelbare Auswirkung auf die Rate von Infektionen bzw. Kolonisationen nach operativen Eingriffen ist nicht untersucht, die klinische Beobachtung ergibt jedoch Hinweise auf einen möglichen Zusammenhang.

Biomaterial-assoziierte Infektionen sind schwerwiegende Komplikationen und können zu einer Osteomyelitis mit verheerenden Folgen für den Knochen und das umliegende Weichteilgewebe führen (Arciola et al. 2011; Montanaro et al. 2011a). Im Falle eines chronischen Verlaufs ist die Infektion nicht mehr durch ein einfaches chirurgisches Debridement oder eine konventionelle antibiotische Therapie behandelbar, und der Implantatwechsel ist häufig die einzige Option (Campoccia et al. 2006). Im schlimmsten Fall kann es zum Extremitätenverlust oder Tod des Patienten kommen.

1.4.3 Biofilm-Bildung

Die Bildung von Biofilmen als Ursache Fremdmaterial-assoziierter, mitunter langwieriger, Infektionen ist bekannt (Costerton et al. 1999; Bayston et al. 2007).

Lang bekannte Beispiele stellen intravasale Katheter (Marrie und Costerton 1984; Passerini et al. 1992), Herzschrittmacher (Marrie et al. 1982) oder Katheter im Urogenitaltrakt (Nickel et al. 1994) dar. Spätinfekte und chronische Implantatinfektionen werden mutmaßlich fast immer durch Biofilm-bildende sessile Bakterienkolonien hervorgerufen (Costerton et al. 1999).

Biofilme sind komplex aufgebaute bakterielle Kolonien. In der Natur kommen Bakterien überwiegend in Form von Biofilmen vor (Dalton und March 1998). Die Bakterien bilden dreidimensionale Strukturen, durch die ein gut entwickeltes Kanalsystem Wasser und Nährstoffe zu allen Teilen der Kolonie leitet. Die Mikrokolonien sind sehr viskös, elastisch, deformierbar und dadurch sehr widerstandsfähig gegen Scherkräfte. Nur 15 % des Matrixvolumens nehmen sessile Bakterien ein (Costerton et al. 2003). Diese können mittels Botenstoffen kommunizieren und Desoxyribonukleinsäure (DNA) austauschen. Die Zusammensetzung der selbstproduzierten Matrix hängt unter anderem von der Bakterienart ab und kann Exopolysaccharide, Proteine, Teichonsäure und extrazelluläre DNA enthalten (Costerton et al. 2003).

Durch die Entstehung eines Biofilmes auf Fremdoberflächen verschiedenster Materialen wird der Stoffwechsel der Bakterien stark reduziert, und sie sind um ein Vielfaches resistenter gegen mechanische, chemische und immunologische Noxen (Donlan 2002). Folglich sind die Bakterien auch deutlich unempfindlicher gegen eine üblicherweise wirkungsvolle antibiotische Therapie (Stewart und Costerton 2001; Arciola et al. 2005).

1.4.4 Keimspektren bei Implantat-assoziierten Infektionen

Für eine Vielzahl humanpathogener Bakterien konnte die Fähigkeit zur Ausbildung eines Biofilmes nachgewiesen werden. Bei der Ursachenforschung von Spätinfekten und chronischen Implantatinfektionen treten gehäuft vormals als apathogen eingestufte Hautkeime in den Fokus. Entsprechend konnte auch die Bildung eines Biofilmes durch diese Erreger auf Implantaten nachgewiesen werden (Ramage et al. 2003; Mack et al. 2006).

Bei den am häufigsten nachgewiesenen Bakterienspezies bei verzögert eintretenden Wundinfekten im Zusammenhang mit Implantaten handelt es sich neben Staphylokokkus-Spezies vor allem um das *Propionibacterium acnes*.

Staphylokokken sind als Auslöser von Wundinfektionen in der operativen Therapie von Skoliosen weit verbreitet (Mackenzie et al. 2013). Während *Staphylococcus aureus* als häufigste Staphylokokken-Spezies vor allem für akute Wundinfektionen nach chirurgischen Eingriffen verantwortlich gemacht wird (Giacometti et al. 2000), werden Koagulase-

negative Staphylokokken (CNS) vermehrt als Erreger Implantat-assoziierter Spätinfektionen nachgewiesen (Huebner und Goldmann 1999).

Neben den CNS wird *Propionibacterium acnes* bei Implantat-assoziierten Infekten vielfach detektiert (Ramage et al. 2003). Als Bestandteil der Normalflora der Haut war der invasive Charakter mancher Spezies lange unbekannt. Die Fähigkeit zur Ausbildung eines Biofilmes ist als ein entscheidender Virulenzfaktor maßgeblich für die Invasion und Besiedlung von Fremdmaterialen (Holmberg et al. 2009).

1.4.5 Nachweismethoden

Für den Nachweis einer Implantat-assoziierten Infektion und die Detektion des verantwortlichen Erregers gibt es keine alleinige anerkannte zuverlässige Nachweismethode. Deshalb sind zurzeit laborchemische, histopathologische, mikrobiologische und bildgebende Verfahren notwendig (Borens et al. 2012; Cooper und Della Valle 2013).

Exemplarisch am Beispiel eines Protheseninfektes aufgezeigt bedeutet dies, dass die Bestimmung der Leukozyten und Granulozyten im Differentialblutbild keine ausreichende Sensitivität und Spezifität aufweist (Della Valle et al. 2004). Für das C-reaktive Protein (CRP) und die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BSG) existieren widersprüchliche Angaben (Bottner et al. 2007; Piper et al. 2010). Die Bedeutung von Procalcitonin (PCT), Interleukin-6 (IL-6) und Tumornekrosefaktor-α (TNF-α) ist noch nicht abschließend geklärt (Bottner et al. 2007). Die Zählung der Leukozyten und neutrophilen Granulozyten in der synovialen Flüssigkeit zeigt eine hohe Sensitivität (94 % und 97 %) und Spezifität (88 % und 98 %) (Trampuz et al. 2004).

Die histopathologische Untersuchung weist eine Sensitivität von 80 % und eine Spezifität von 90 % auf (Trampuz et al. 2003a). Abstrichergebnisse sind insgesamt unsicher (Sensitivität 45-100 %) (Trampuz et al. 2003a). Kulturen intraoperativ gewonnener Gewebeproben haben, wenn drei Proben entnommen wurden und weder 14 Tage vorher ein Antibiotikum eingenommen wurde noch intraoperativ vor Probenentnahme eine einmalige Antibiotikagabe verabreicht wurde, die genaueste Nachweisgrenze (Nachweis in 65-94 %) (Atkins et al. 1998; Spangehl et al. 1999; Widmer 2001).

Röntgen- und Ultraschalluntersuchungen sind sehr unspezifisch. Eine Szintigraphie weist eine hohe Sensitivität, aber eine geringe Spezifität auf (Corstens und van der Meer 1999; Smith et al. 2001). Eine Computertomographie, eine Magnetresonanztomographie und eine Positronen-Emissions-Tomographie haben aufgrund von periprothetischen Artefakten große Limitationen.

Experimentell werden aktuell weitere Methoden untersucht. Es besteht beispielsweise die Möglichkeit, mittels elektronenmikroskopischer Verfahren den Biofilm direkt nachzuweisen und in manchen Fällen auch die Gattung der Bakterien zu bestimmen (Al-

Ahmad et al. 2010). Außerdem kann insbesondere bei vermuteten Infektionen mit einem negativen Kulturergebnis der bakterielle Nachweis mittels Polymerasekettenreaktion gelingen (Trampuz et al. 2003b; Hartley und Harris 2014).

Zur Verbesserung der Detektionsrate bei der mikrobiologischen Analyse kann eine Sonifikation der zu untersuchenden Probe durchgeführt werden. Die Idee dahinter ist, dass die Bakterien durch Ultraschallwellen aus dem Biofilm gelöst werden und in freier Form eher in Kulturmedien wachsen und somit erkannt werden können. Tatsächlich zeigt die Vorbereitung im Ultraschallbad höhere Raten an positiven Ergebnissen als vergleichbare kulturelle Anzuchten ohne Vorbehandlung (Trampuz et al. 2007; Piper et al. 2009).

1.5 Fragestellung

In der vorliegenden Arbeit wurden Kinder und Jugendliche mit Wirbelsäulendeformitäten und VEPTR-System untersucht, welche im Verlauf mehrfach operativ am Titanimplantat behandelt wurden.

Primäres Ziel der Studie ist die Frage nach der Rate einer bakteriellen Kolonisation der eingebrachten VEPTR-Implantate unter Zuhilfenahme multipler klinischer, laborchemischer, mikrobiologischer sowie apparativer Diagnosekriterien. Darüber hinaus soll eine Identifikation der *in situ* befindlichen Bakterienspezies erreicht und außerdem untersucht werden, ob eine Biofilmbildung bei der Kolonisation der Implantate von klinischer Bedeutung und z. B. der Ausbau der Implantate nötig ist.

In Ermangelung eines Goldstandards zur Detektion einer Kolonisation des Implantats ist das sekundäre Ziel der Studie, geeignete Untersuchungsmethoden und Prognosefaktoren zu ermitteln, anhand derer das Risiko für eine bakterielle Kolonisation langfristig liegender Titanimplantate an der Wirbelsäule abgeschätzt werden kann.

Abschließend soll anhand dieser Arbeit die klinische Relevanz einer Implantat-assoziierten bakteriellen Kolonisation diskutiert werden, um eine therapeutische Konsequenz für das bestmögliche operative und konservative Management von Kindern und Jugendlichen mit Wirbelsäulendeformitäten ableiten zu können.

2 Material und Methoden

2.1 Ethikkommission

Das Studienprotokoll „Biofilm auf Langzeitimplantaten am Beispiel des VEPTR-Systems“ wurde am 30.04.2013 zur Prüfung durch die Ethikkommission der Georg-August-Universität Göttingen eingereicht. Am 06.09.2013 wurde die Durchführung der Studie bewilligt. Die Nummer des Ethikantrags lautet: 10/5/13.

2.2 Studiendesign

Es wurde eine prospektive Kohortenstudie vom September 2013 bis August 2015 durchgeführt. Beteiligt waren die Klinik für Unfallchirurgie und Orthopädie – Schwerpunktbereich Kinderorthopädie der Universitätsmedizin Göttingen (UMG) unter der Leitung von Frau Prof. Anna-K. Hell, das Institut für Medizinische Mikrobiologie der UMG unter der Leitung von Herrn Prof. Uwe Groß und Herrn Prof. Helmut Eiffert sowie das Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie Göttingen unter der Leitung von Herrn Prof. Stefan Hell.

2.2.1 Patientenkollektiv

In der Abteilung Kinderorthopädie der UMG wurden im Studienzeitraum 57 Patienten mit Wirbelsäulendeformitäten wiederholt operativ mit dem VEPTR-System behandelt. Alle Patienten waren Kinder und Jugendliche, die an einer angeborenen oder während des Wachstums entstandenen Wirbelsäulendeformität leiden. Viele dieser Patienten haben darüber hinaus weitere schwerwiegende medizinische Probleme.

Bei den Patienten finden über mehrere Jahre halbjährlich Verlängerungsoperationen statt. Aufgrund dieser häufigen Krankenhausaufenthalte sind sie häufiger pathogenen Keimen ausgesetzt als gesunde Kinder.

2.2.2 Einschlusskriterien

In die Studie eingeschlossen wurden alle Patienten, bei denen die Indikation zu einer operativen Therapie mit dem VEPTR-System bestand. Dabei wurden sowohl Patienten mit bereits vorhandenem Implantat, als auch jene eingeschlossen, welche im Zeitraum der Studie erstmalig mit einem VEPTR-System versorgt wurden. Von den 57 mit dem VEPTR-System behandelten Patienten konnten 42 in die Studie eingeschlossen werden.

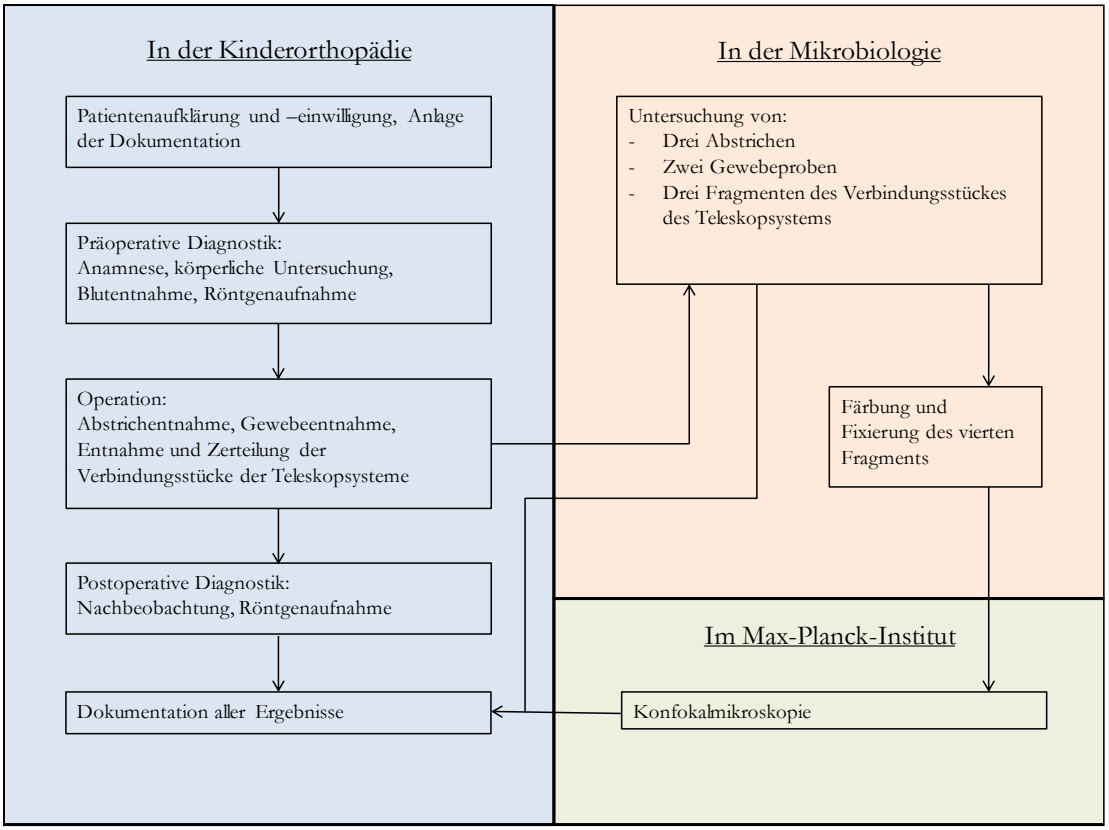
Für die Aufnahme in die Studie war die Einwilligung sowohl der minderjährigen Patienten als auch ihrer Erziehungsberechtigten notwendig (siehe Anhang).

2.2.3 Ausschlusskriterien

Ausschlusskriterien für die Studie waren viele vorangegangene Implantatinfekte unabhängig von deren Ursache. Letztendlich musste deshalb kein Patient ausgeschlossen werden. Wegen fehlender Einwilligung wurde ein Patient ausgeschlossen.

2.2.4 Studienablauf

Bei der routinemäßigen Aufnahme eines Patienten zu einer geplanten Operation am VEPTR-System folgte der Ablauf einem festgelegten Studienplan. Eine Übersicht über das Prozedere vermittelt Abbildung 3.



Die Abbildung 3 zeigt das Prozedere bei Studieneinschluss eines Patienten. Dabei sind alle beteiligten Institutionen sowie der dort zugeführte diagnostische Ablauf dargestellt. Im Max-Planck-Institut wird eine Probe mittels Konfokalmikroskopie analysiert.

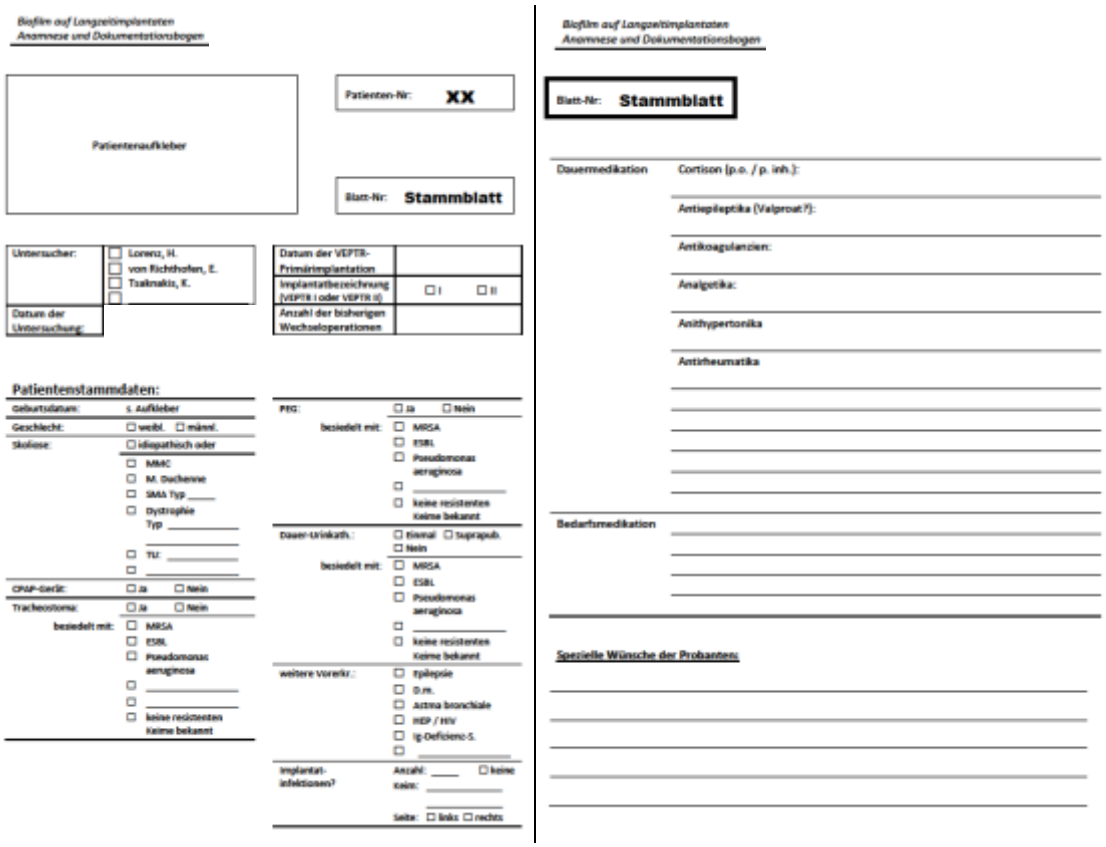
Abbildung 3: Übersicht über die Arbeitsabläufe in den beteiligten Instituten

Die Aufnahme der Patienten in die Studie fand durch die Prüfärzte der Abteilung Kinderorthopädie der UMG statt. Nach Probenweitergabe an die anderen Institute wurden die Ergebnisse in der Kinderorthopädie dokumentiert und ausgewertet.

2.3 Kinderorthopädie

Die Patienten und Erziehungsberechtigten wurden durch fachärztliche Mitarbeiter der Kinderorthopädie ausführlich aufgeklärt. Dazu wurde ein schriftlicher Aufklärungsbogen (siehe Anhang) ausgehändigt sowie zusätzlich ein altersgerechter schriftlicher Aufklärungsbogen für die minderjährigen Patienten ab sieben Jahre (siehe Anhang). Es wurde ausdrücklich auf die Freiwilligkeit der Teilnahme an der Studie hingewiesen. Das Aufklärungsgespräch sowie die Einwilligung wurden schriftlich dokumentiert. Bei jedem weiteren Aufenthalt wurde die fortbestehende Bereitschaft zur Studie abgefragt und erneut auf dem Einwilligungsbogen festgehalten.

Bei Aufnahme in die Studie wurde ein ausführliches Anamnesegespräch durchgeführt. Zur Dokumentation aller erhobenen Daten wurde für jeden Patienten ein Stammblatt angelegt (siehe Abbildung 4).


Biofilm auf Langzeitimplantaten
Anamnese und Dokumentationsbogen

Patientenaufkleber

Patienten-Nr: XX

Blatt-Nr: Stammblatt

Untersucher: ☐ Lorenz, H. ☐ von Richthofen, E. ☐ Tsaknakis, K. ☐

Datum der Untersuchung:

Datum der VEPTR-Primärimplantation

Implantatbezeichnung (VEPTR I oder VEPTR II): ☐ I ☐ II

Anzahl der bisherigen Wechseloperationen

Patientenstammdaten:

Geburtsdatum: s. Aufkleber

Geschlecht: ☐ weibl. ☐ männl.

Skoliose: ☐ idiopathisch oder ☐ MMC ☐ M. Duchenne ☐ SMA Typ ____ ☐ Dystrophie Typ ____ ☐ TU: ____ ☐ ____

CPAP-Gerät: ☐ Ja ☐ Nein

Tracheostoma: ☐ Ja ☐ Nein

besiedelt mit: ☐ MRSA ☐ ESBL ☐ Pseudomonas aeruginosa ☐ ____ ☐ ____ ☐ keine resistenten Keime bekannt

PEG: ☐ Ja ☐ Nein

besiedelt mit: ☐ MRSA ☐ ESBL ☐ Pseudomonas aeruginosa ☐ ____ ☐ keine resistenten Keime bekannt

Dauer-Urinkath.: ☐ Einmal ☐ Suprapub. ☐ Nein

besiedelt mit: ☐ MRSA ☐ ESBL ☐ Pseudomonas aeruginosa ☐ ____ ☐ keine resistenten Keime bekannt

weitere Vorerkr.: ☐ Epilepsie ☐ D.m. ☐ Asthma bronchiale ☐ HEP / HIV ☐ Ig-Defizienz-S. ☐ ____

Implantat-infektionen? Anzahl: ____ ☐ keine Keim: ____ Seite: ☐ links ☐ rechts

Biofilm auf Langzeitimplantaten
Anamnese und Dokumentationsbogen

Blatt-Nr: Stammblatt

Dauermedikation: Cortison (p.o. / p. inh.): Antiepileptika (Valproat?): Antikoagulancien: Analgetika: Antihypertonika: Antirheumatika

Bedarfsmedikation

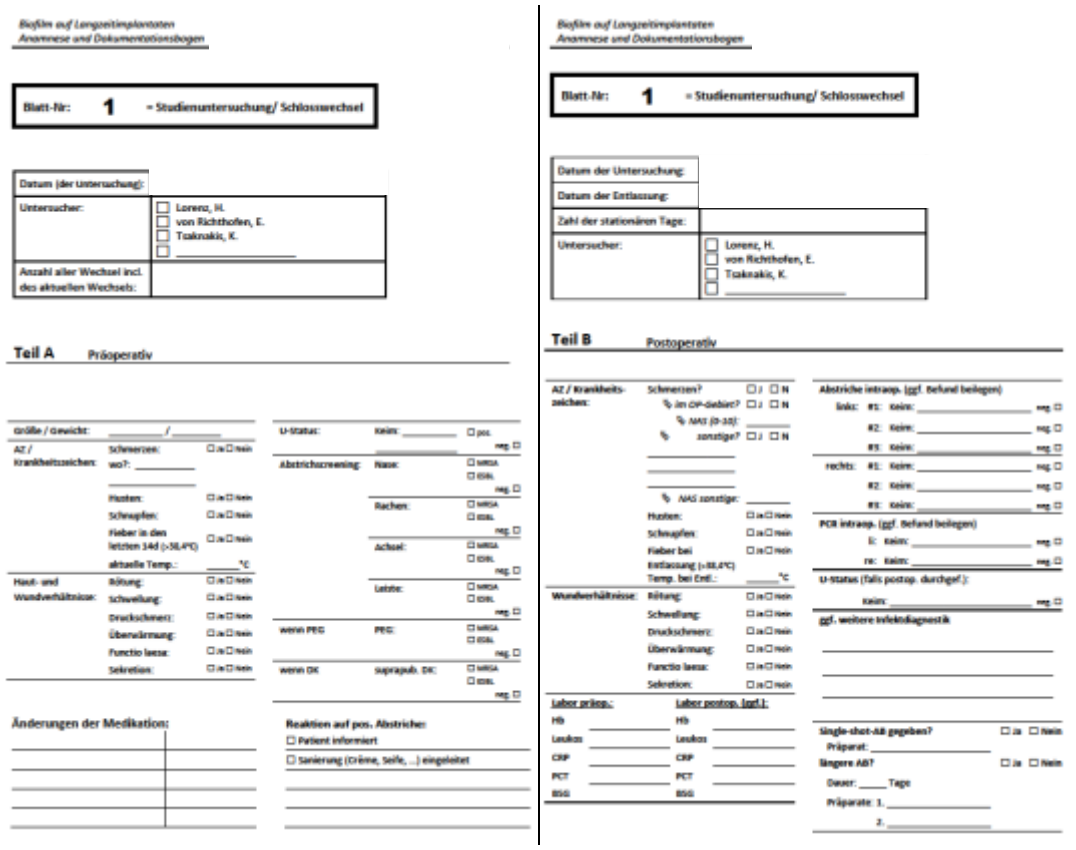
Spezielle Wünsche der Probanten:

Die Abbildung 4 zeigt das Stammblatt, welches für jeden Patienten bei Eintritt in die Studie angelegt wurde. Hierauf wurden wichtige Patientendaten festgehalten sowie gegebenenfalls Besonderheiten notiert.

Abbildung 4: Stammblatt

Jedem Patienten wurde eine individuelle Studiennummer zugewiesen und somit eine Pseudonymisierung erreicht. Alle Daten wurden dieser Studiennummer zugeordnet. Die Verknüpfung zwischen Patientennamen und Studiennummer war einzig durch das Stammblatt durch Mitarbeiter der Kinderorthopädie möglich. Erfasst wurden u.a. Daten zu Alter, Geschlecht und Vorerkrankungen sowie die Anzahl vorheriger Operation und Komplikationen in Form von Infektionen.

Neben dem Stammblatt, welches für jeden Studienpatienten nur einmal erhoben wurde, wurde bei jeder Verlängerungsoperation ein separater Operations-Dokumentationsbogen erstellt (siehe Abbildung 5).


Biofilm auf Langzeitimplantaten
Anamnese und Dokumentationsbogen

Blatt-Nr: 1 = Studienuntersuchung/ Schlosswechsel

Datum (der Untersuchung):
Untersucher: ☐ Lorenz, H. ☐ von Richthofen, E. ☐ Tsaknakis, K. ☐ _____
Anzahl aller Wechsel incl. des aktuellen Wechsels:

Teil A Präoperativ

Größe / Gewicht: _____ / _____
AZ / Krankheitszeichen: Schmerzen: ☐ja ☐nein; wo?: _____; Husten: ☐ja ☐nein; Schnupfen: ☐ja ☐nein; Fieber in den letzten 14d (>38,4°C): ☐ja ☐nein; aktuelle Temp.: _____ °C
Haut- und Wundverhältnisse: Rötung: ☐ja ☐nein; Schwellung: ☐ja ☐nein; Druckschmerz: ☐ja ☐nein; Überwärmung: ☐ja ☐nein; Functio laesa: ☐ja ☐nein; Sekretion: ☐ja ☐nein

U-Status: Keim: _____ ☐ pos. ☐ neg.
Abstrichscreening: Nase: ☐ MRSA ☐ ESBL ☐ neg.; Rachen: ☐ MRSA ☐ ESBL ☐ neg.; Achsel: ☐ MRSA ☐ ESBL ☐ neg.; Leiste: ☐ MRSA ☐ ESBL ☐ neg.
wenn PEG: PEG: ☐ MRSA ☐ ESBL ☐ neg.
wenn DK: suprapub. DK: ☐ MRSA ☐ ESBL ☐ neg.

Änderungen der Medikation:

Reaktion auf pos. Abstriche:
☐ Patient informiert
☐ Sanierung (Creme, Seife, ...) eingeleitet

Biofilm auf Langzeitimplantaten
Anamnese und Dokumentationsbogen

Blatt-Nr: 1 = Studienuntersuchung/ Schlosswechsel

Datum der Untersuchung:
Datum der Entlassung:
Zahl der stationären Tage:
Untersucher: ☐ Lorenz, H. ☐ von Richthofen, E. ☐ Tsaknakis, K. ☐ _____

Teil B Postoperativ

AZ / Krankheitszeichen: Schmerzen? ☐ J ☐ N; % im OP-Gebiet? ☐ J ☐ N; % NAS (0-10): _____; % sonstige? ☐ J ☐ N; % NAS sonstige: _____; Husten: ☐ja ☐nein; Schnupfen: ☐ja ☐nein; Fieber bei Entlassung (>38,4°C): ☐ja ☐nein; Temp. bei Entl.: _____ °C
Wundverhältnisse: Rötung: ☐ja ☐nein; Schwellung: ☐ja ☐nein; Druckschmerz: ☐ja ☐nein; Überwärmung: ☐ja ☐nein; Functio laesa: ☐ja ☐nein; Sekretion: ☐ja ☐nein

Abstriche intraop. (ggf. Befund beilegen)
links: #1: Keim: _____ neg. ☐; #2: Keim: _____ neg. ☐; #3: Keim: _____ neg. ☐
rechts: #1: Keim: _____ neg. ☐; #2: Keim: _____ neg. ☐; #3: Keim: _____ neg. ☐
PCR intraop. (ggf. Befund beilegen)
li: Keim: _____ neg. ☐; re: Keim: _____ neg. ☐
U-Status (falls postop. durchgef.): Keim: _____ neg. ☐
ggf. weitere Infektdiagnostik

Laborprikop.: Hb, Leukos, CRP, PCT, BSG
Laborpostop. (ggf.): Hb, Leukos, CRP, PCT, BSG

Single-shot-AB gegeben? ☐ja ☐Nein; Präparat: _____
längere AB? ☐ja ☐Nein; Dauer: ____ Tage; Präparate: 1. _____; 2. _____

Die Abbildung 5 vermittelt einen Eindruck über Umfang und erfasste Daten auf dem Operations-Dokumentationsbogen, welcher bei jeder in der Studie erfassten Operation für den jeweiligen Patienten neu angelegt wurde.

Abbildung 5: Operations-Dokumentationsbogen

Vor der Operation wurde die aktuelle Anamnese erhoben, eine körperliche Untersuchung durchgeführt und Blut zur Bestimmung von Hämoglobin, Leukozytenzahl, C-reaktivem Protein, Procalcitonin und der Blutsenkungsgeschwindigkeit entnommen. Bei jedem ersten

studienrelevanten Aufenthalt wurden darüber hinaus Abstriche von der Haut der Patienten entnommen und auf pathogene Keime untersucht.

Am Operationstag wurde die Verlängerung des VEPTR-Systems durchgeführt. Die Operation wurde in gleicher Weise durchgeführt, wie sie auch außerhalb des Studienregimes stattgefunden hätte. Es wurden zunächst die Verbindungsstücke der Teleskopsysteme, in der Patienten- und Elternaufklärung als Schloss bezeichnet, routinemäßig entnommen. In direkter Nähe zum Implantat wurden von jedem Operationszugang, in der Regel ein Zugang pro Seite, drei Abstriche mittels Abstrichtupfer entnommen. Ein Abstrich wurde in ein steriles Röhrchen ohne Medium verbracht. Zusätzlich wurden zwei ca. 2 x 2 x 2 mm große Biopsien des direkt dem Implantat anliegenden Gewebes entnommen und dem sterilen Röhrchen beigefügt. Die beiden weiteren Abstriche wurden in ein Abstrichröhrchen mit Medium überführt.

Die Verbindungsstücke der Teleskopsysteme müssen im Rahmen jeder Verlängerungsoperation ersetzt werden. Bei den Studienpatienten wurden die explantierten Verbindungsstücke nicht entsorgt, sondern noch im Operationssaal unter sterilen Bedingungen in vier Teile zerkleinert (siehe Abbildung 6) und jedes Fragment in je ein separates, steriles Probengefäß mit einer Kochsalzlösung gegeben.

Abbildung 6: Teilstücke des Verbindungsstückes auf steriler Kompresse

Alle entnommenen Proben wurden direkt im Anschluss an den Operationstag und stets innerhalb von vier Stunden nach Probenentnahme bei Raumtemperatur in das Mikrobiologische Institut der UMG zur Analyse gebracht

Im postoperativen Verlauf wurden die Operationswunden genauestens beobachtet und eventuell auftretende Wundheilungsstörungen oder lokal Beschwerden auf dem Operations-Dokumentationsbogen vermerkt. Nach Fertigstellung aller Untersuchungen wurden alle Ergebnisse dokumentiert und das Protokoll somit vollendet.

Bei erneuter Wiedervorstellung des Patienten zu einer routinemäßigen Verlängerung des Implantates wurde das Prozedere wie beschrieben wiederholt, ebenso bei notfallmäßigen Vorstellungen mit notwendiger operativer Intervention am VEPTR-System.

Nach der Auswertung der Daten fand eine telefonische Nachbefragung der positiven Patienten zur Evaluation einer Akne im Gesicht und Rückenbereich statt.

2.4 Mikrobiologie

Die Probenentnahme für die mikrobiologische Diagnostik fand während der Operation unter sterilen Kautelen statt. Bei Probeneingang im Institut für Medizinische Mikrobiologie wurden die Proben noch am Operationstag der weiteren Diagnostik zugeführt.

Die geschilderten mikrobiologischen Untersuchungen wurden in Zusammenarbeit mit den Kollegen des Instituts für Medizinische Mikrobiologie unter der wissenschaftlichen Leitung von Herrn Prof. Eiffert durchgeführt. Darüber hinaus wurde dort zur Vorbereitung der Mikroskopie ein Teilstück des Verbindungsstückes durch die Studien-Assistentin bearbeitet. Dies wird im Folgenden genauer in Kapitel 2.6 Mikroskopie beschrieben.

Der erste Abstrich wurde zusammen mit einem Gewebestück in eine Thioglykolat-Bouillon (Oxoid, Wesel) gegeben. Direkt im Anschluss erfolgte eine dreiminütige Behandlung im Ultraschallbad. Diese Bouillon-Lösung inklusive des Gewebestückes wurde nunmehr zehn Tage bei 35-37 °C bebrütet (Heraeus Holding GmbH, Hanau). Am achten Tag dieser Bebrütung erfolgte die Anlage einer Subkultur auf drei festen Nährmedien. Bei jeder Subkultivierung wurden nach einem festen Protokoll vorgegangen. Dazu wurden zwei Columbia-Blutagarplatten (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, Frankreich) verwendet, wobei jeweils eine unter aeroben beziehungsweise anaeroben Bedingungen bebrütet wurde. Zusätzlich wurde eine Columbia-Kochblutagarplatte (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, Frankreich) verwendet und unter Zuführung von Kohlenstoffdioxid (CO_2) bebrütet. Sobald ein Wachstum in den flüssigen Nährmedien stattfand, wurde die Subkultivierung unmittelbar und in diesem Fall auch vor Ablauf von acht Tagen durchgeführt.

Die weiteren Abstriche wurden zunächst in eine Hirn-Herz-Bouillon (Oxoid, Wesel) sowie eine Thioglykolat-Bouillon eingetaucht. Anschließend wurde der Ausstrichtupfer unter Zuhilfenahme einer sterilen Öse auf drei Agarplatten ausgestrichen. Dabei wurde nach dem bereits beschriebenen Schema zur Anlage einer Subkultur gearbeitet. Es wurden sowohl die

Bouillon-Nährlösungen als auch die festen Nährmedien für drei Tage bei 35-37 °C bebrütet. Nach 48 Stunden erfolgte ein erneutes Ausstreichen der flüssigen Nährmedien. Dazu wurde eine sterile Öse in die Hirn-Herz-Bouillon getaucht und auf eine Columbia-Blutagarplatte aufgebracht, welche im Anschluss aerob bebrütet wurde. Die Thioglykolat-Bouillon wurde mit einer sterilen Öse auf eine Columbia-Kochblutagarplatte aufgebracht und unter CO_2-Zufuhr bebrütet. Die Bebrütung erfolgte für 24 Stunden bei 35-37 °C. Nach drei Tagen wurden alle Kulturen ausgewertet und analysiert.

Bei Wachstum auf einem festen Nährmedium fand unmittelbar eine Identifizierung des Keims mittels Massenspektrometrie unter Verwendung des Matrix-unterstützten Laser-Desorption/Ionisation-time-of-flight (MALDI-TOF) Verfahrens (Bruker Corporation, Billerica, USA) statt. Darüber hinaus wurde eine Resistenzbestimmung durchgeführt. Das Antibiogramm wurde unter Verwendung der Mikrodilutionsmethode und automatisiert durch die VITEK®-Technologie (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, Frankreich) angefertigt.

Die Untersuchung der Implantat-Verbindungsstücke gliederte sich in drei verschiedene Analyseverfahren. Noch im Operationssaal wurden vier Metallplättchenanteile durch die Studien-Assistentin separiert und in Kochsalzlösung (Carl Roth GmbH+Co.KG, Karlsruhe) zum Institut für Medizinische Mikrobiologie transportiert. Die weiteren Arbeitsschritte wurden wiederum durch Mitarbeiter des Instituts ausgeführt.

Das erste und nach Möglichkeit größte Metallplättchen wurde als Probe für eine semiquantitative Keimzahlbestimmung verwendet. Dazu wurde es unter dem Laborabzug (Heraeus Holding GmbH, Hanau) aus der Kochsalzlösung entnommen und auf eine Columbia-Blutagarplatte gegeben. Dabei wurde das Plättchen unter Zuhilfenahme einer sterilen Öse über die Länge der Agarplatte immer wieder gewendet, um auf diesem Streifen einen Kontakt zwischen der Oberfläche des Metallplättchens und der Agarplatte herzustellen.

Im Anschluss wurde das Metallplättchen in die Thioglykolat-Bouillon überführt und für drei Minuten in einem Ultraschallbad behandelt. Es folgte die Entnahme einer Probe aus dem Thioglykolat-Bouillon-Röhrchen zur Durchführung einer 16S-Polymerase-Kettenreaktion (16S-PCR). Hierfür wurde ein *Real-Time* PCR Gerät (Roche, Mannheim) inklusive PCR-*Kit* (Qiagen, Hilden) mit folgendem Programm genutzt: 95 °C für 15 min gefolgt von 40 Zyklen bei 94 °C für 15 s, 55 °C für 30 s und 72 °C für 30 s. Die verwendeten Primer waren: *Forward* (DE74, agg gag gtc atc caa ccg ca) sowie *Reverse* (RW01, aac tgg agg aag gtg ggg at) (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München).

Danach wurde das Metallplättchen in der Thioglykolat-Bouillon für zehn Tage bei 35-37 °C bebrütet. Am achten Tag der Bebrütung erfolgte die Anlage einer Subkultur nach dem bereits beschriebenen Bebrütungsschema unter Verwendung dreier Agarplatten.

Zwei weitere Metallplättchenanteile wurden ohne vorherige Behandlung im Ultraschallbad in jeweils ein Röhrchen mit einer Thioglykolat-Bouillon gegeben und für zehn Tage bei 35-

37 °C bebrütet. Am achten Tag erfolgte wiederum eine Subkultivierung nach Protokoll. Wenn nach zehn Tagen alle Kulturen steril blieben, wurde aus allen Röhrchen eine Probe für die Durchführung einer 16S-PCR entnommen.

Bei einer Keimanzucht in den flüssigen Nährmedien mit Metallplättchenanteilen erfolgte unmittelbar die Anlage einer Subkultur nach vorgeschriebenem Schema. Wenn ein Wachstum auf einem dieser festen Nährmedien reproduzierbar war, wurde die entstandene Bakterienkolonie über ein Massenspektrometer mit dem MALDI-TOF-Verfahren identifiziert. Darüber hinaus wurde die minimale Hemmkonzentration dieser Bakterienkolonien für das Antibiotikum Rifampicin bestimmt. Ermittelt wurde diese durch einen Epsilometer-Test unter Verwendung eines Teststreifens (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, Frankreich) mit einer steigenden Konzentration des Antibiotikums. Genau 24 Stunden nach der Beimpfung der Agarplatte inklusive Applikation des Teststreifens erfolgte die Analyse und Erfassung der minimalen Hemmkonzentration.

Zusätzlich zur Durchführung des Testverfahrens zur Charakterisierung des Bakteriums wurde das Metallplättchen weiter untersucht. Dazu wurde es in eine neue Nährbouillon mit Antibiotika überführt. Die genaue Zusammensetzung dieser Nährbouillon mit Antibiotika ist aus Tabelle 3 zu ersehen. In dieser Nährbouillon wurde das Metallplättchen für weitere zehn Tage bei 35-37 °C bebrütet und am achten Tag eine Subkultivierung durchgeführt.

Wenn nach zehn Tagen kein Wachstum stattfand, wurde das Metallplättchen erneut umgesetzt, wie zu Beginn in eine Thioglykolat-Bouillon ohne Antibiotikum. Es folgte eine erneute zehntägige Bebrütung bei 35-37 °C sowie eine Subkultivierung am achten Tag.

Bei sterilen Kulturen nach Abschluss dieses Prozederes wurde nochmals eine 16S-PCR durchgeführt.

Während der gesamten Untersuchungen wurden alle Kulturen täglich kontrolliert und sobald ein Wachstum festzustellen war, wurde unmittelbar eine Subkultur zur Identifizierung des Keims angelegt. Erst wenn alle Untersuchungen abgeschlossen waren, erfolgte die endgültige Analyse und Ergebnismittelung an die studentische Studien-Assistentin der Kinderorthopädie.

2.5 Mikroskopie

Ein Teilstück der entfernten Verbindungsstücke der Implantate wurde mit Konfokalmikroskopie (Leica Microsystems GmbH, Mannheim) im Max-Planck-Institut für Biophysikalische Chemie in Göttingen untersucht. Dabei wurde ein seitlicher Anteil des Verbindungsstückes verwendet, da das zu mikroskopierende Teilstück eine ebene Oberfläche haben muss (siehe Abbildung 7). Zur Vorbereitung für die Fluoreszenzmikroskopie wurde es nach einem festgelegten Protokoll behandelt. Die Arbeitsschritte hierfür wurden im Institut für Medizinische Mikrobiologie am Tag der Operation durchgeführt. Dabei wurde unter oben genanntem Laborabzug gearbeitet.

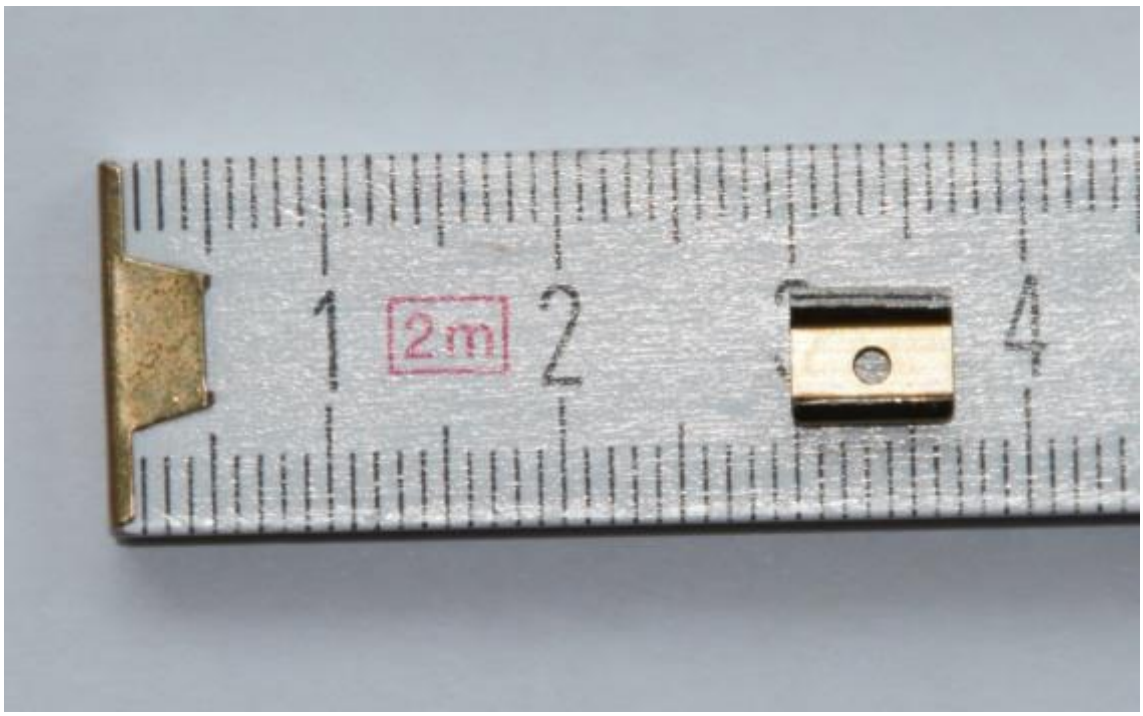


Abbildung 7: Exemplarisches Teilstück für die Mikroskopie

Für die Mikroskopie wurden spezielle Objektträger verwendet (ibidi GmbH, Planegg). Diese bestehen aus acht Kammern mit einem Fassungsvermögen von jeweils 500 µl Maximalvolumen (siehe Abbildung 8). Das Aufbringen aller Reagenzien wurde mit einer Pipette (Eppendorf AG, Hamburg) durchgeführt. Das Absaugen der Reagenzien erfolgte mithilfe einer Pumpe (Hettich Benelux, PC Geldermalsen, Niederlande) und sterilen Pipettenspitzen (Carl Roth GmbH+Co.KG, Karlsruhe).

Im ersten Schritt wurde das Teilstück des Verbindungsstückes unter Zuhilfenahme einer sterilen Öse auf den Objektträger überführt. Für das spätere Aufbringen von Farbstoffen musste die später zu mikroskopierende glatte Oberfläche vorerst nach oben zeigen. In dieser Kammer wurde das Teilstück dreimal mit einer PBS+(*phosphate buffered saline*)-Lösung gewaschen. Dazu wurde jeweils 300 µl dieser Lösung mit einer Pipette und 1000 µl Pipettenspitzen in die Kammer des Objektträgers gegeben. Dabei wurde dafür Sorge getragen, die PBS+-Lösung nicht direkt auf die Oberfläche der Probe zu applizieren, um nicht einen eventuell vorhandenen Biofilm abzuspülen. Im Anschluss wurde die Lösung mit der Pumpe und einer neu aufgesetzten sterilen Pipettenspitze wieder aus der Kammer gesaugt. Diese beiden Arbeitsschritte wurden insgesamt dreimal nacheinander ausgeführt.

Für die Färbung der Probe wurden anschließend die benötigten Reagenzien zusammen geführt. Für jede Probe wurden hierfür 282 µl PBS+-Lösung mit einer Pipette und 1000 µl-Pipettenspitzen, 9 µl Concanavalin A (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München) sowie 9 µl FM 4-64 FX (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) mit einer Pipette

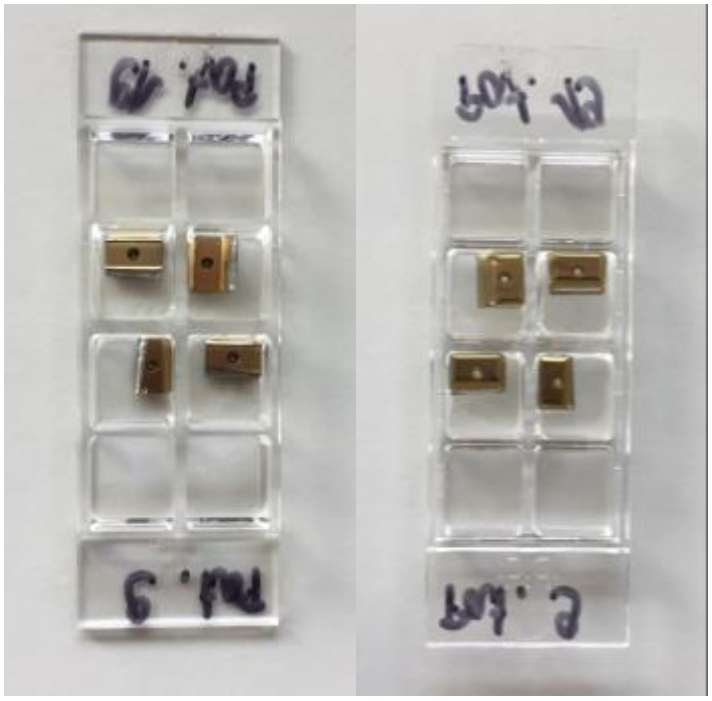
und 20 µl-Pipettenspitzen in ein Eppendorf-Gefäß (Carl Roth GmbH+Co.KG, Karlsruhe) pipettiert und durch leichtes Schwenken gemischt. Die PBS+-Lösung lag in Raumtemperatur vor, wohingegen die Farbstoff-Reagenzien gefroren bei -18 °C und lichtgeschützt gelagert wurden. Für die Verwendung wurden diese nur aus dem Gefrierschrank (Heraeus Holding GmbH, Hanau) genommen, um sie durch kurze Erwärmung aufzutauen, einen Anteil zu entnehmen und direkt wieder einzufrieren. Während dieser Zeit wurden die Probengefäße mit Alufolie umwickelt, um die Proben vor UV-Licht zu schützen.

Die gemischten Reagenzien mit einem Volumen von 300 µl wurden im Anschluss auf das Teilstück pipettiert und bedeckten es somit vollständig. Dabei wurde wiederum darauf geachtet, dass das Reagenz nicht direkt auf die Oberfläche pipettiert wurde. Die einzelnen Kammern wurden mit dem zum Objektträger gehörigen Deckel verschlossen und zum Schutz vor UV-Licht mit Aluminiumfolie abgedeckt. Auf diese Weise versiegelt wurde das Teilstück im Farbstoff-Reagenz für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert.

Nach dieser Inkubationszeit folgte eine einmalige erneute Waschung des Teilstückes mit PBS+-Lösung, wie bereits oben beschrieben. Danach wurden 300 µl 4 %ige Paraformaldehyd-Lösung (Carl Roth GmbH+Co.KG, Karlsruhe) darauf gegeben. Der Objektträger wurde wiederum mit dem Deckel verschlossen und die Probe im lichtgeschützten Brutschrank für zehn Minuten bei 35-37 °C inkubiert.

Im Anschluss an die Inkubation wurde die Probe erneut, wie oben beschrieben, gewaschen. Dazu wurde in diesem Fall allerdings die PBS-Lösung (*phosphate buffered saline*) verwendet. Das Teilstück wurde dann mittels einer sterilen Öse in der Objektträgerkammer gedreht, damit die zu mikroskopierende Oberfläche nun flach auf dem Objektträger auflag. Dies war notwendig, da unter dem Mikroskop die Probe von unten, also vom Boden des Objektträgers aus, untersucht wurde. Um die Probe in dieser Position zu fixieren, wurde 100 µl Mowiol-DABCO (siehe Tabelle 4) hinzu pipettiert. Dazu musste eine 1000 µl-Pipettenspitze verwendet werden, da das Reagenz aufgrund seiner hohen Viskosität bei Verwendung einer kleineren Öffnung der Pipettenspitze nicht ohne Blasenbildung zu pipettieren war.

Es folgte eine einstündige Trocknungszeit der Probe in der mit Deckel verschlossenen Objektträgerkammer bei Raumtemperatur, wobei die Probe erneut durch das Abdecken mit Aluminiumfolie vor UV-Licht geschützt wurde.



Die Abbildung 8 zeigt den Objektträger mit den gefärbten und fixierten Metallplättchen von zwei exemplarischen Patientenproben. Im linken Bild ist die Ansicht von oben gezeigt, im rechten Bild die Ansicht von unten. Die glatte Oberfläche der Metallplättchen, hier gut zu sehen in der Ansicht von unten, wurde gefärbt und diese Seite wurde später auch mikroskopiert.

Nebenstehendes Bild zeigt den Objektträger in seitlicher Ansicht.

Abbildung 8: Objektträger mit gefärbtem und fixiertem Metallplättchen

Noch am Operationstag wurde die gefärbte und fixierte Probe lichtgeschützt in der Objektträgerkammer (Abbildung 8) in das Max-Planck-Institut für Biophysikalische Chemie transportiert und dort mit einem Konfokalmikroskop mit einem Objektiv (Leica Microsystems GmbH, Mannheim) mit 100 x Vergrößerung analysiert. Für den Nachweis von Bakterien wurden Concanavalin A und FM 4-64 X gleichzeitig bei 488nm angeregt und die Erfassung wurde auf 500-600 nm bzw. 630-800 nm eingestellt.

2.6 Reagenzien, Materialien und Geräte

2.6.1 Nährmedien

Tabelle 3: Nährmedien

Name	Artikelnummer/ Rezept	Hersteller
Columbia-Blutagarplatte	43049	bioMérieux, Marcy-l'Étoile, Frankreich
Columbia-Kochblutagarplatte	43109	bioMérieux, Marcy-l'Étoile, Frankreich
Hirn-Herz-Bouillon	BO1230D	Oxoid, Wesel
Kälberserum	F9665	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München
Mueller-Hinton-Bouillon	CM0405B	Oxioid, Wesel
Thioglykolat-Bouillon	BO0368M	Oxoid, Wesel

2.6.2 Puffer- und Nährlösungen

Tabelle 4: Pufferlösungen

Name	Zusammensetzung	Konzentration
Kochsalzlösung	Destilliertes Wasser	
	Natriumchlorid	0,9 %
Mowiol-DABCO	Mowiol	2,4 g
	Glycerol	6 g
	Destilliertes Wasser	6 ml
	Tris-Hydrochlorid	12 ml (0,2 M)
	DABCO	2,5 %
Nährlösung mit Antibiotika	Mueller-Hinton-Bouillon	8 ml
	Vancomycinlösung	1 ml
	Rifampicinlösung	1 ml
	Kälberserum	0,5 ml

Paraformaldehyd-Lösung	PBS (s.u.), zusätzlich:	
	Paraformaldehyd (PFA)	4 %
PBS-Lösung	Destilliertes Wasser	
	Natriumchlorid	140 mM
	Di-Natirum-Hydrogen-Phosphat-Dihydrat	19 mM
	Kaliumchlorid	2,7 mM
	Kalium-Di-Hydrogen-Phosphat	1,8 mM
PBS+-Lösung	PBS (s.o.), zusätzlich:	
	Calciumchlorid	1 mM
	Manganchlorid	1 mM

2.6.3 Chemikalien

Tabelle 5: Chemikalien

Name	Artikelnummer	Hersteller
Calciumchlorid	HN04.1	Carl Roth GmbH+Co.KG, Karlsruhe
Concanavalin A	C7642 SIGMA	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München
Dabco	290734	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München
Destilliertes Wasser	T143.3	Carl Roth GmbH+Co.KG, Karlsruhe
di-Natriumhydrogen-phosphat-Dihydrat	4984.2	Carl Roth GmbH+Co.KG, Karlsruhe
FM 4-64 FX	F34653	Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA
Glycerol	G5516	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München

Kaliumchlorid	HN02.1	Carl Roth GmbH+Co.KG, Karlsruhe
Kaliumdihydrogenphosphat	P018.1	Carl Roth GmbH+Co.KG, Karlsruhe
Manganchlorid	4320.1	Carl Roth GmbH+Co.KG, Karlsruhe
Mowiol	81381	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München
Natriumchlorid	9265.1	Carl Roth GmbH+Co.KG, Karlsruhe
Paraformaldehyd	0335.3	Carl Roth GmbH+Co.KG, Karlsruhe
Rifampicinlösung	R3501	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München
Tris-Hydrochlorid	9090.1	Carl Roth GmbH+Co.KG, Karlsruhe
Vancomycinlösung	75423	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München

2.6.4 Materialien und Geräte

Tabelle 6: Materialien und Geräte

Gerätebezeichnung im Text	Typenbezeichnung (Artikelnummer)	Firma
Abstrichröhrchen mit Amies-Medium	80.1361	Sarstedt AG & Co, Nümbrecht
Abstrichröhrchen steril	80.1301	Sarstedt AG & Co, Nümbrecht
Brutschrank	BK 700	Heraeus Holding GmbH, Hanau
Eppendorf-Gefäß	CH76.1	Carl Roth GmbH+Co.KG, Karlsruhe

Gefrierschrank	HFU 686	Heraeus Holding GmbH, Hanau
Gewindeflaschen	Rotilabo®-Gewindeflaschen, Klarglas (X714.1)	Carl Roth GmbH+Co.KG, Karlsruhe
Laborabzug	HS 12/2	Heraeus Holding GmbH, Hanau
Real-Time PCR Gerät	LightCycler 1.5	Roche Diagnostics GmbH, Mannheim
Massenspektrometer	Autoflex III	Bruker Corporation, Billerica, USA
Objektiv	HCX PL APO OIL STED (NA 1.40)	Leica Microsystems GmbH, Mannheim
Objektträger (µ-Slide 8 Well)	80821	ibidi GmbH, Planegg
PCR-*Kit*	SYBR Green PCR Kit	Qiagen, Hilden
Pipetten	Reference	Eppendorf AG, Hamburg
Pipettenspitzen	Standard UNIVERSAL 100-1000 µl (2679.1)	Carl Roth GmbH+Co.KG, Karlsruhe
Pipettenspitzen-Box	TipBox (HL71.1)	Carl Roth GmbH+Co.KG, Karlsruhe
Pumpe	Vakuum-Sicherheits-Absaugsysteme AZ 02 (CE30.1)	Hettich Benelux, PC Geldermalsen, Niederlande über Carl Roth GmbH+Co.KG, Karlsruhe
Konfokalmikroskop	Leica TCS SP5	Leica Microsystems GmbH, Mannheim
Teststreifen	559904	bioMérieux, Marcy-l'Étoile, Frankreich
VITEK®	VITEK 2 XL, VTK2XL2624	bioMérieux, Marcy-l'Étoile, Frankreich

2.7 Statistische Auswertung

Die Ergebnisse aller Analysen wurden in pseudonymisierter Form in einer Exceltabelle (Microsoft Corporation, Redmond, USA) zusammengeführt. Die statistische Analyse erfolgte mittels des Programms Statistica Version 12.7 (StatSoft GmbH, Hamburg).

Dabei wurden Tests zur Bestimmung von Lageparametern (t-Test und Mann-Whitney-Test) und Streuung durchgeführt sowie Assoziationsparameter berechnet (Fisher Test und Chi-Quadrat-Unabhängigkeitstest).

Das Signifikanzniveau wurde auf $p < 0{,}05$ festgelegt. Bei $p < 0{,}01$ wurde das Signifikanzniveau als hochsignifikant bezeichnet.

Zur graphischen Darstellung wurden Kreisdiagramme, Histogramme sowie Boxplots erzeugt und in die Ergebnisse integriert.

2.8 Definition eines positiven Ergebnisses

Für die Auswertung musste charakterisiert werden, in welchem Fall ein Patient als positiv im Sinne einer möglicherweise vorhandenen Besiedelung anzusehen war.

Dazu wurden folgende Untersuchungsverfahren heran gezogen:

1. Mikrobiologische Untersuchung eines Abstrichs vom Implantat (siehe 2.4)
2. Mikrobiologische Untersuchung eines Abstrichs mit Gewebe (siehe 2.4)
3. Mikrobiologische Untersuchung des entnommenen Schlosses (siehe 2.4)
4. Untersuchung von Gewebe mit der Polymerase-Kettenreaktion (siehe 2.4)
5. Untersuchung mit dem Konfokalmikroskop (siehe 2.5)

Definiert als positiv im Rahmen der Auswertung wurde ein Patient bei pathologischen Testergebnissen in mindestens einem Untersuchungsverfahren. Wenn das Untersuchungsverfahren aus mehreren Proben bestand, wurde die Übereinstimmung der Ergebnisse innerhalb des Verfahrens vorausgesetzt. Bei Nicht-Übereinstimmung wurde die Probe als Kontamination gewertet.

Definiert als sicher positiv wurde ein Patient bei übereinstimmend pathologischen Testergebnissen in zwei unterschiedlichen Untersuchungsverfahren. Diese Einstufung ist als Teilgruppe der insgesamt positiven Patienten zu verstehen.

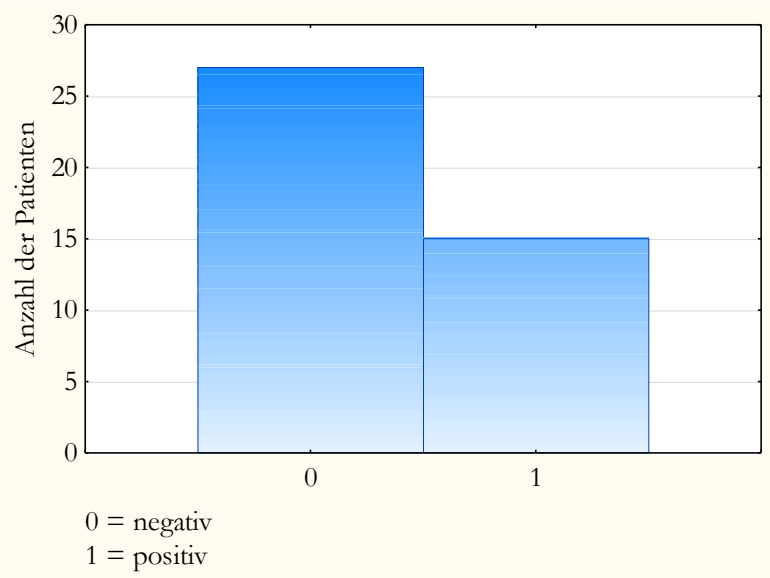
3 Ergebnisse

3.1 Patienten

In der vorliegenden Studie wurden die Daten von 42 Patienten ausgewertet, welche mit einer Wirbelsäulendeformität im Kindesalter mittels eines VEPTR-Systems versorgt und wiederholt operativ behandelt wurden.

3.2 Rate positiver Ergebnisse

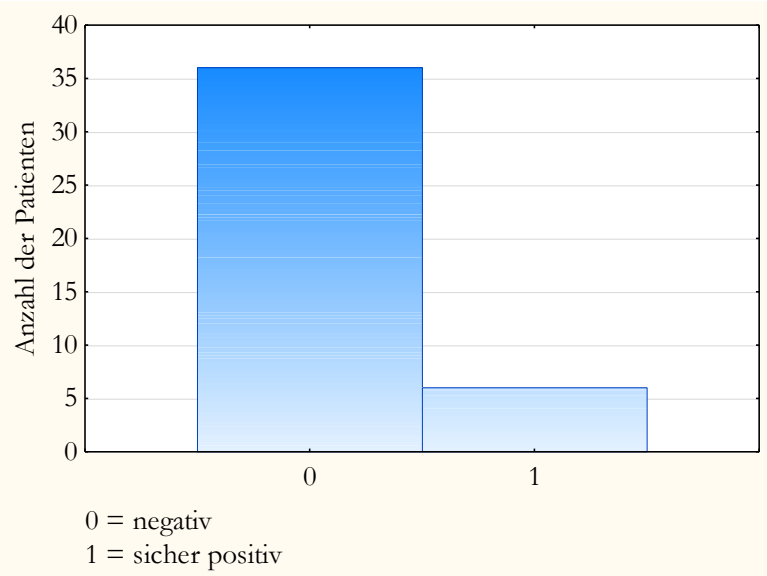
Aus dem Gesamtkollektiv wurden 15 Patienten und somit 36 % des Patientenkollektivs (n = 42) als positiv klassifiziert (siehe Abbildung 9).



Die Abbildung 9 zeigt die Anzahl von negativen (n = 27) sowie positiven (n = 15) Patienten, d.h. Patienten mit mindestens einem pathologischen Ergebnis in einem Testverfahren.

Abbildung 9: Anteil der Patienten mit positivem Testergebnis

Ein definitionsgemäß sicher positives Testergebnis wiesen 14 % (n = 6) aller Patienten (n = 42) auf (siehe Abbildung 10).



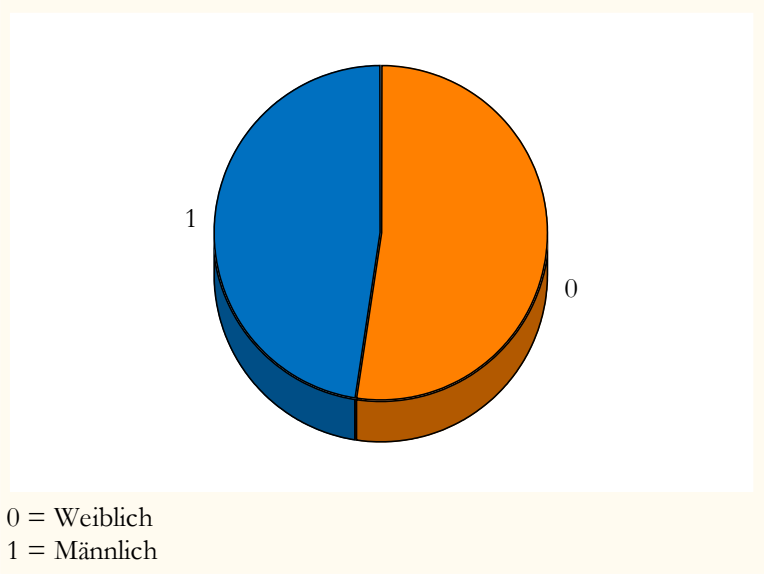
Die Abbildung 10 zeigt die Anzahl der Patienten mit negativem (n = 36) sowie mit sicher positivem (n = 6) Testergebnis, d.h. Patienten mit übereinstimmend pathologischen Testergebnissen in zwei unterschiedlichen Untersuchungsverfahren.

Abbildung 10: Anteil der Patienten mit sicher positivem Testergebnis

3.3 Patientenspezifische Daten

3.3.1 Geschlecht

Von den 42 in die Studie eingeschlossenen Patienten waren 22 (52,4 %) weiblich und 20 (47,6 %) männlich. Der Vergleich beider Patientengruppen ergab keinen signifikanten Unterschied hinsichtlich der Geschlechterverteilung zwischen den als positiv und den als negativ getesteten Patienten ($p \approx 0{,}531$).



Die Abbildung 11 zeigt das Verhältnis von männlichen zu weiblichen Patienten im Gesamtkollektiv (n = 42). Dieses beträgt 1 : 1,1 zugunsten der männlichen Patienten.

Abbildung 11: Geschlechterverteilung Gesamtkollektiv

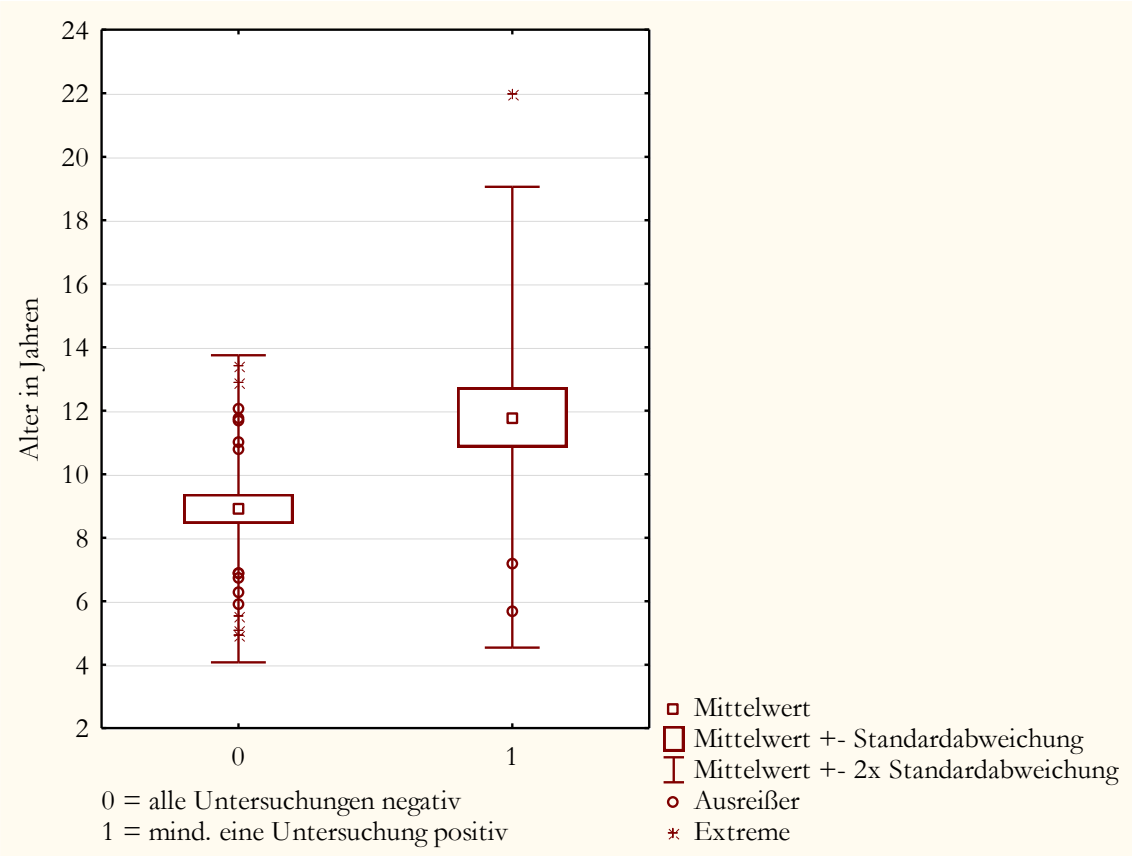
3.3.2 Alter

Das Alter aller Patienten betrug im Durchschnitt 9,9 Jahre (n = 42). Die positiv getesteten Patienten hatten ein Durchschnittsalter von 11,8 Jahren (n = 15) und die negativ getesteten Patienten waren durchschnittlich 8,9 Jahre alt (n = 27) (siehe Tabelle 7).

Zwischen beiden Gruppen konnte ein signifikanter Unterschied bezüglich der Altersverteilung gezeigt werden ($p \approx 0{,}004$). Die positiv getesteten Patienten waren im Durchschnitt älter als die negativ getesteten Patienten (siehe Abbildung 12).

Tabelle 7: Altersverteilung in Abhängigkeit von den Testergebnissen

	Gesamtkollektiv	Positiv	Negativ
Anzahl	42	15	27
Mittelwert (a)	9,9	11,8	8,9
Minimum (a)	4,9	5,7	4,9
Maximum (a)	22,0	22,0	13,4
Standardabweichung (a)	3,2	3,6	2,4



Die Abbildung 12 zeigt, wie alt die Patienten bei der erfassten Verlängerungsoperation waren, gruppiert nach ihrer späteren Charakterisierung als negative bzw. positive Patienten.

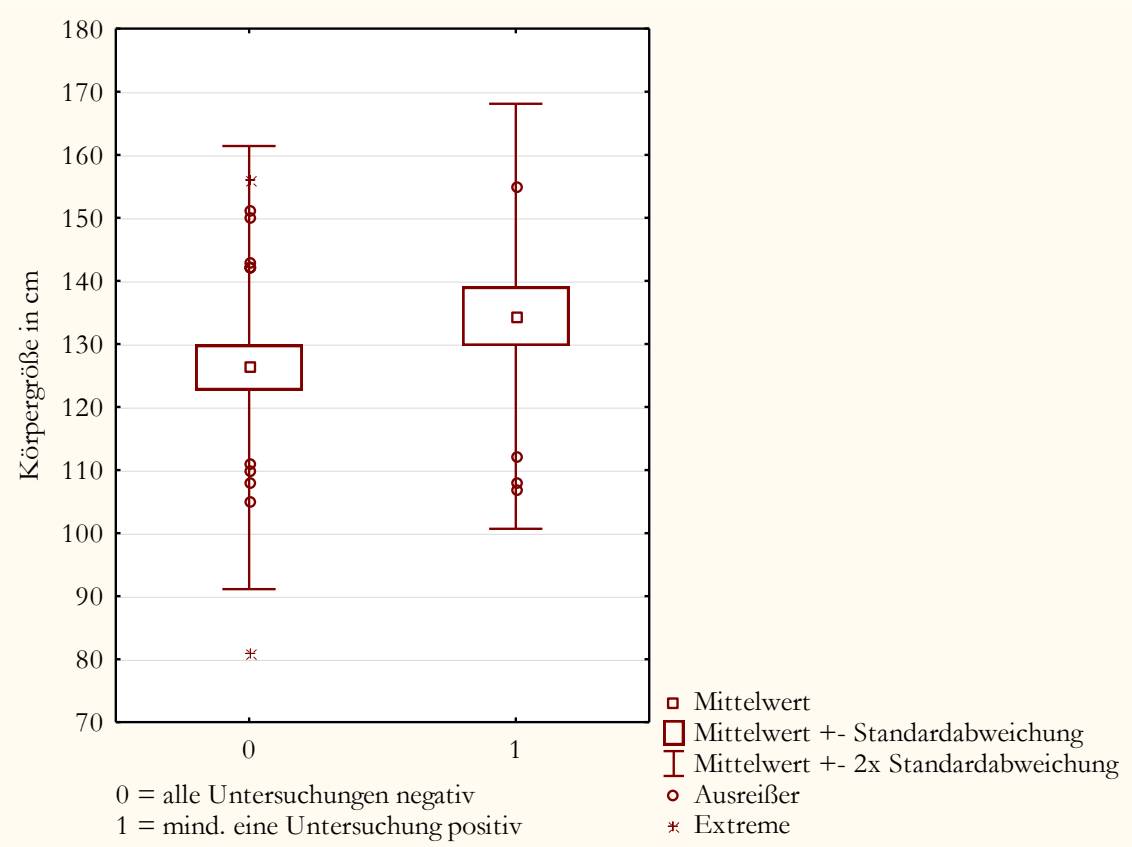
Abbildung 12: Vergleich der Altersverteilung beider Gruppen

3.3.3 Körpergröße

Alle Patienten zusammen gefasst waren zum beobachteten Zeitpunkt durchschnittlich 129,1 cm groß (n = 37), die positiv getesteten Patienten (n = 13) waren mit 134,4 cm durchschnittlich etwas größer als die negativ getesteten Patienten (n = 24) mit 126,3 cm (Tabelle 8, Abbildung 13). Ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen bestand nicht ($p \approx 0{,}181$).

Tabelle 8: Körpergröße der Patienten

Körpergröße	Gesamtkollektiv	Positiv	Negativ
Anzahl	37	13	24
Mittelwert (cm)	129,1	134,4	126,3
Standard-abweichung (cm)	17,5	16,9	17,6



Die Abbildung 13 zeigt die Körpergröße des negativen sowie positiven Kollektivs im Vergleich. Die später positiv klassifizierten Patienten sind durchschnittlich etwas größer.

Abbildung 13: Vergleich der Körpergrößen beider Gruppen

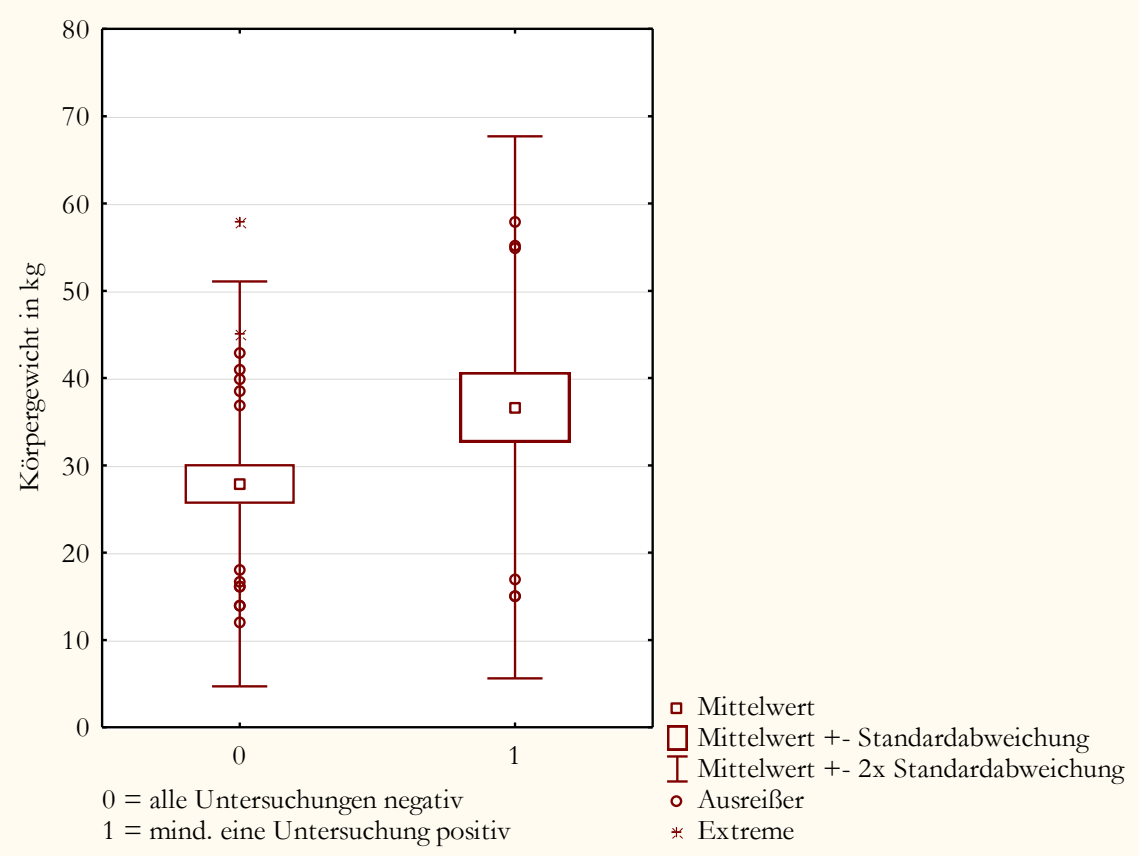
3.3.4 Körpergewicht

Das Körpergewicht beider Gruppen lag durchschnittlich bei 31,1 kg (n = 41), die positiv getesteten Patienten waren mit 36,7 kg im Durchschnitt etwas schwerer als die negativ

getesteten Patienten mit 27,9 kg (Tabelle 9, Abbildung 14). Die Differenz beider Durchschnittswerte war nicht signifikant (p ≈ 0,074).

Tabelle 9: Körpergewicht der Patienten

	Gesamtkollektiv	Positiv	Negativ
Anzahl	41	15	26
Mittelwert (kg)	31,1	36,7	27,9
Standard-abweichung (kg)	13,7	15,5	11,6



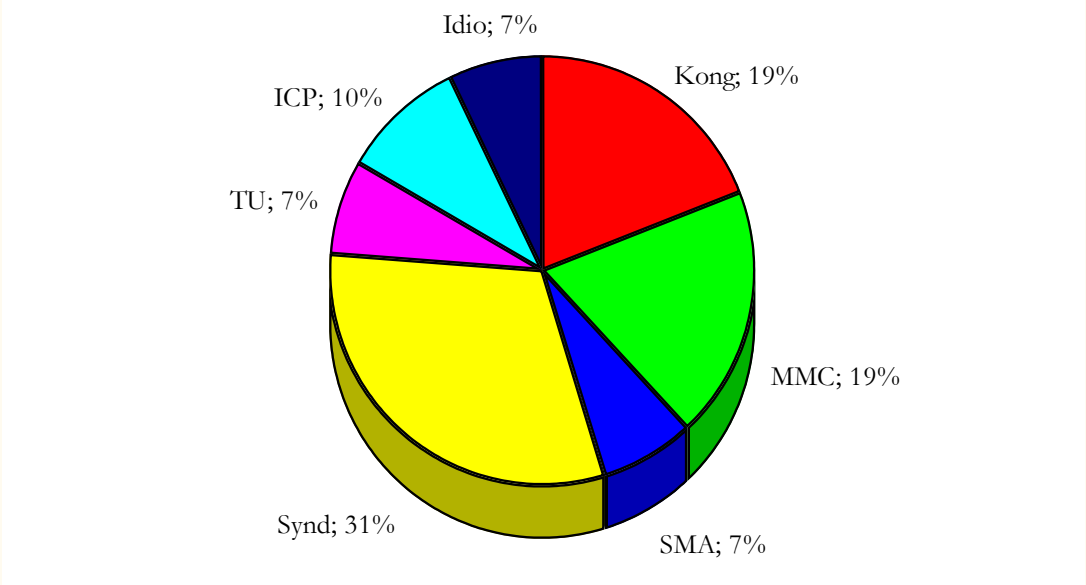
In der Abbildung 14 ist das Körpergewicht der Patientengruppen mit negativen bzw. positiven Untersuchungsergebnissen aufgetragen, hierbei zeigt sich, dass die positiven Patienten etwas schwerer waren als die negativen Patienten.

Abbildung 14: Vergleich des Körpergewichts beider Gruppen

3.4 Grunderkrankung

Die Patienten (n = 42) wurden anhand ihrer, mit der Skoliose assoziierten Grunderkrankung (siehe Kapitel 1), in sieben Gruppen eingeteilt (Abbildung 15):

1. Kongenital (n = 8)
2. Myelomeningocele (n = 8)
3. Spinale Muskelatrophie (n = 3)
4. Syndromal (n = 13)
5. Raumforderung (n = 3)
6. Infantile Zerebralparese (n = 4)
7. Idiopathisch (n = 3)



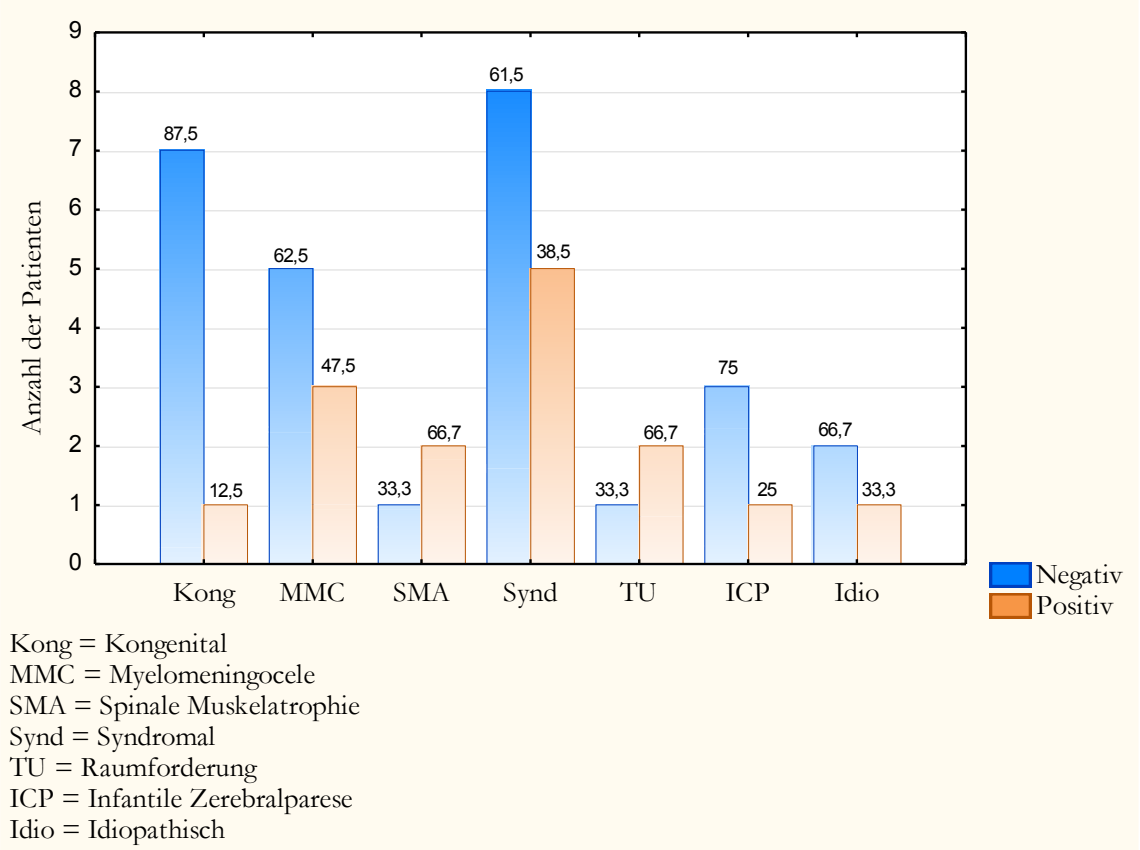
Kong = Kongenital
MMC = Myelomeningocele
SMA = Spinale Muskelatrophie
Synd = Syndromal
TU = Raumforderung
ICP = Infantile Zerebralparese
Idio = Idiopathisch

Die Abbildung 15 zeigt den prozentualen Anteil einer jeden Grunderkrankung am Gesamtkollektiv aller Patienten (n = 42).

Abbildung 15: Verteilung der Grunderkrankungen

Nach dieser Einteilung ergaben sich anteilige Werte für positive Patienten unterteilt nach der Grunderkrankung von 12,5 % (Kongenital), 25,0 % (Infantile Zerebralparese), 33,3 % (Idiopathisch), 38,5 % (Syndromal), 47,5 % (Myelomeningocele) und 66,7 % (Spinale Muskelatrophie, Raumforderung) (siehe Abbildung 16).

Ein signifikanter Unterschied bezüglich des Anteils positiv getesteter Patienten konnte im Vergleich aller Gruppen nicht nachgewiesen werden ($p \approx 0{,}398$).



Die Abbildung 16 zeigt für jede Erkrankungsgruppe die Anzahl der positiven und der negativen Patienten. Die Prozentzahlen geben nicht den Anteil am Gesamtkollektiv, sondern das Verhältnis zwischen positiv und negativ getesteten Patienten mit der jeweiligen Erkrankung an.

Abbildung 16: Verteilung der Grunderkrankungen und Anteil positiver Patienten nach der Grunderkrankung

3.5 Voroperationen

3.5.1 Anzahl Operationen

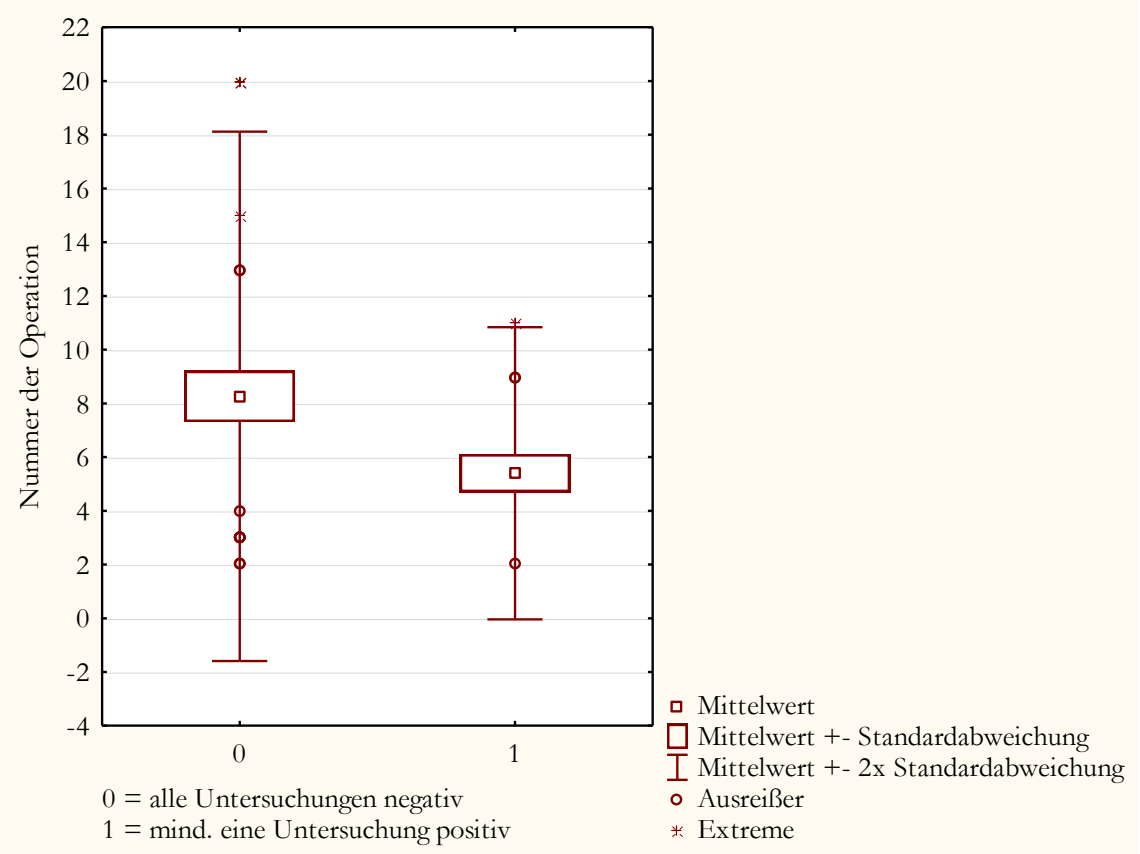
Die Patienten waren bei Eintritt in die Studie schon mindestens einmalig voroperiert zur Implantation des VEPTR-Systems. Erfasst wurde die Anzahl der stattgehabten Operationen inklusive der aktuellen Verlängerungsoperation. Mitgezählt wurden alle Voroperationen mit Zugang zum VEPTR-System, unabhängig davon, ob diese planmäßig oder aufgrund einer Komplikation stattfanden (Tabelle 10).

Bei einer durchschnittlichen Anzahl an Operationen von 7,2 Operationen im Gesamtkollektiv (n = 42) wurden die positiven Patienten (n = 15) durchschnittlich 5,4 Mal operiert und die negativen (n = 27) wurden durchschnittlich 8,3 Mal operiert (Abbildung 17).

Ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen konnte hinsichtlich der Anzahl stattgehabter Operationen nicht gezeigt werden ($p \approx 0{,}071$).

Tabelle 10: Anzahl der stattgehabten Operationen

	Gesamtkollektiv	Positiv	Negativ
Anzahl	42	15	27
Mittelwert	7,2	5,4	8,3
Minimum	2	2	2
Maximum	20	11	20
Standardabweichung	4,5	2,7	4,9



In der Abbildung 17 ist zu sehen, wie viele vorangegangene Operationen vor Einschluss in die Studie stattgefunden haben. Dabei wurden die Patienten in negative (n = 27) und positive (n = 15) Patienten eingeteilt, und es ist zu erkennen, dass die negativen Patienten im Durchschnitt mehr Voroperationen hatten als die positiven Patienten.

Abbildung 17: Vergleich der Anzahl an Operationen beider Gruppen

3.5.2 Komplikationen: Mechanisch

Zu den mechanischen Komplikationen wurden alle Komplikationen gezählt, welche ohne den Verdacht auf ein infektiöses Geschehen eine operative Intervention zur Folge hatten, beispielsweise ein Stabbruch oder eine Dislokation des VEPTR-Systems.

Bei 7,1 % (n = 3) der Patienten (n = 42) war eine mechanische Komplikation in der Vorgeschichte aufgetreten. Ein signifikanter Unterschied zwischen positiven und negativen Patienten bestand hierbei nicht ($p \approx 0{,}541$).

3.5.3 Komplikationen: Infekt

Als eine Infekt-Komplikation wurden alle Ereignisse gewertet, bei denen aufgrund des Verdachtes auf ein infektiöses Geschehen eine operative Revision durchgeführt werden musste, beispielsweise eine Wundheilungsstörung mit erhöhten Entzündungsparametern.

Bei 16,7 % (n = 7) der Patienten (n = 42) war eine solche Komplikation im Behandlungsverlauf dokumentiert worden. Zwischen den als positiv bzw. negativ getesteten Patienten bestand kein signifikanter Unterschied ($p \approx 1{,}000$).

3.6 Mögliche Einflussfaktoren

3.6.1 VEPTR-System

Das VEPTR-System wurde in zwei verschiedenen Ausführungen angewendet. Ein Wechsel zwischen beiden Varianten war möglich. Von den 42 Patienten wurden 76,2 % (n = 32) nur mit dem VEPTR I-System behandelt, 14,3 % (n = 6) nur mit dem VEPTR II-System und bei 9,5 % (n = 4) fanden beide Systeme Verwendung.

Weder für das VEPTR I- ($p \approx 0{,}395$) noch für das VEPTR II-System ($p \approx 0{,}286$) konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen der positiv bzw. negativ getesteten Patienten gezeigt werden.

3.6.2 Vorerkrankungen

Es wurden alle weiteren Vorerkrankungen der Patienten dokumentiert. Bestimmte Vorerkrankungen wurden gesondert erfasst, da der Verdacht bestand, dass ein Zusammenhang mit einem positiven Testergebnis bestehen könnte. Diese wurden zusätzlich auf dem Stammblatt (siehe Abbildung 4 in Kap. 2.3) dokumentiert. Dazu zählen: Epilepsie, Diabetes mellitus, Asthma bronchiale, Hepatitis/ Humanes Immundefizienz-Virus (HIV), Ig-Antikörperdefizienz-Syndrom.

Bei 16,7 % (n = 7) der Patienten bestand mindestens eine dieser Erkrankungen. Verglichen mit den Patienten, die an keiner dieser Erkrankungen litten, zeigte sich kein signifikanter

Unterschied hinsichtlich des Auftretens eines positiven Testergebnisses zur Detektion einer Keimbesiedlung ($p \approx 1{,}000$).

3.6.3 Risikofaktoren für pathogene Keimbesiedlung

Definiert als Risikofaktoren wurden im Rahmen der Studie Fremdmaterial-assoziierte medizinische Hilfsmittel, auf die ein Patient dauerhaft angewiesen war. Dazu zählte die Anwendung einer nicht-invasiven Beatmung durch Continuous-Positive-Airway-Pressure (CPAP), das Vorhandensein eines Tracheostomas, einer Perkutanen endoskopischen Gastrostomie-Sonde (PEG-Sonde) und der Gebrauch eines Katheters zur Harnableitung, sowohl in Form eines Dauerkatheters als auch durch mehrmals tägliche Einmalkatheterisierung (siehe Abbildung 4 in Kap. 2.3).

Ein Anteil von 38,1 % ($n = 15$) aller Patienten war auf die Verwendung mindestens eines dieser Hilfsmittel angewiesen. Verglichen mit den Patienten ohne diese spezifischen Hilfsmittel konnte kein signifikanter Unterschied im Auftreten eines positiven Testergebnisses nachgewiesen werden ($p \approx 0{,}511$).

3.6.4 Hautabstriche

Bei Eintritt in die Studie wurden Hautabstriche von Nase, Rachen, Achsel und Leiste entnommen und auf eine Besiedlung mit Methicillin-resistentem Staphylococcus aureus (MRSA) und Extended-Spectrum-Betalaktamase (ESBL)-bildende Bakterien untersucht. Nur bei einem Patienten konnte eine derartige Besiedlung nachgewiesen werden. Dieser Patient wurde später als negativ kategorisiert.

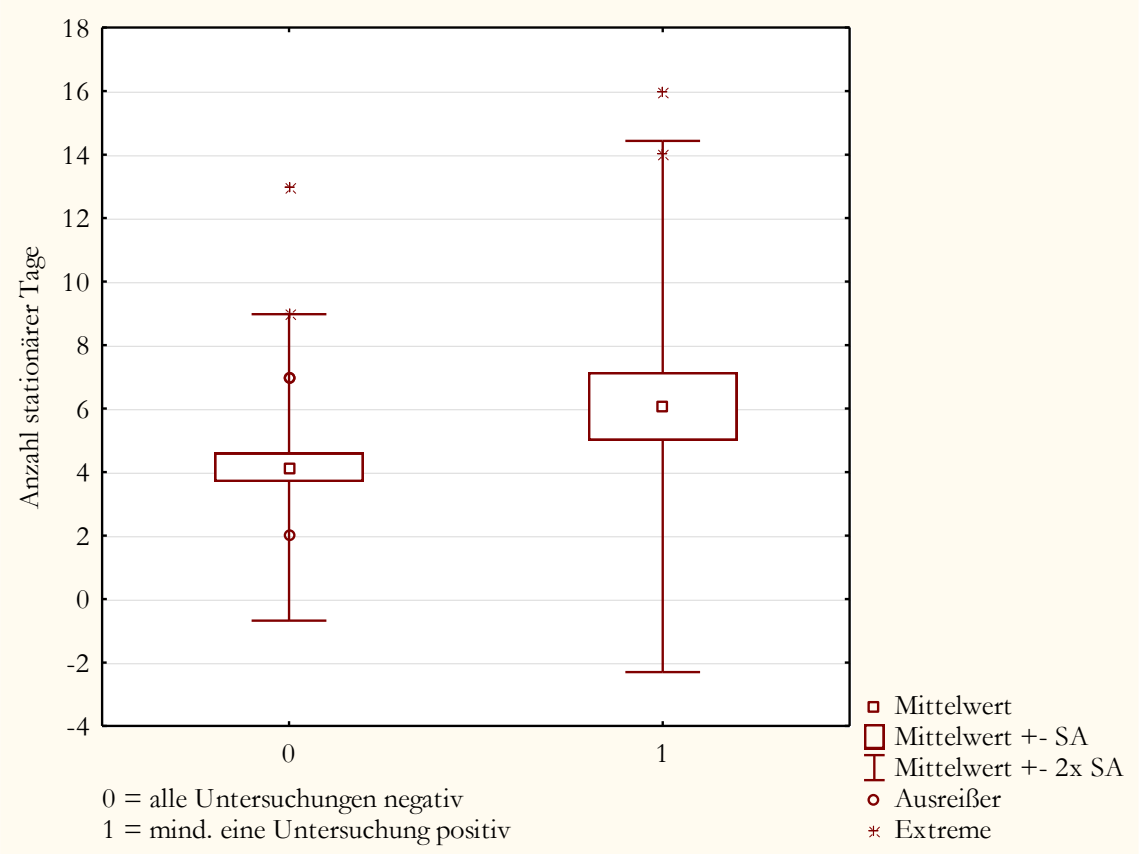
3.7 Klinische Beobachtung

3.7.1 Dauer des stationären Aufenthaltes

Im Mittel wurden die Patienten 4,8 Tage während einer Verlängerungsoperation stationär behandelt. Die positiv getesteten waren mit 6,1 Tagen durchschnittlich länger im Krankenhaus als die negativ getesteten mit 4,1 Tagen (Tabelle 11, Abbildung 18). Ein signifikanter Unterschied bestand jedoch nicht ($p \approx 0{,}082$).

Tabelle 11: Stationäre Aufenthaltsdauer

	Gesamtkollektiv	Positiv	Negativ
Anzahl	42	15	27
Mittelwert (d)	4,8	6,1	4,1
Minimum (d)	2,0	2,0	2,0
Maximum (d)	16,0	16,0	13,0
Standard-abweichung (d)	3,2	4,2	2,4



Die Abbildung 18 zeigt die Dauer des stationären Aufenthaltes der Patienten gruppiert nach dem Merkmal negativ (n = 27) und positiv (n = 15). Hierbei ist zu erkennen, dass das Kollektiv der positiven Patienten mit durchschnittlich 6,1 Tagen länger im Krankenhaus war als die negativen Patienten mit 4,1 Tagen im Durchschnitt.

Abbildung 18: Vergleich der Dauer des stationären Aufenthaltes beider Gruppen

3.7.2 Präoperative Evaluation

Vor der Operation wurden alle Patienten nach Schmerzen oder anderen Befindlichkeitsstörungen befragt. Dabei gaben 26,8 % (n = 11) der Patienten (n = 41) Einschränkungen ihres Wohlbefindens an. Zwischen den später als positiv bzw. negativ getesteten Patienten konnte kein signifikanter Unterschied gezeigt werden ($p \approx 0{,}491$).

3.7.3 Postoperative Evaluation

Nach der Operation und vor Entlassung aus dem Krankenhaus wurden die Patienten erneut befragt. Auch hierbei gaben 26,8 % (n = 11) aller Patienten (n = 41) Beschwerden an, ein signifikanter Unterschied zwischen positiven und negativen Patienten konnte nicht festgestellt werden ($p \approx 0{,}491$).

Bei vier Patienten bestanden Beschwerden sowohl prä- als auch postoperativ. Dies ergibt einen Anteil von 9,8 %. Von diesen vier Patienten konnte bei drei dieser Patienten später ein positives Testergebnis nachgewiesen werden.

3.8 Laborchemische Testverfahren

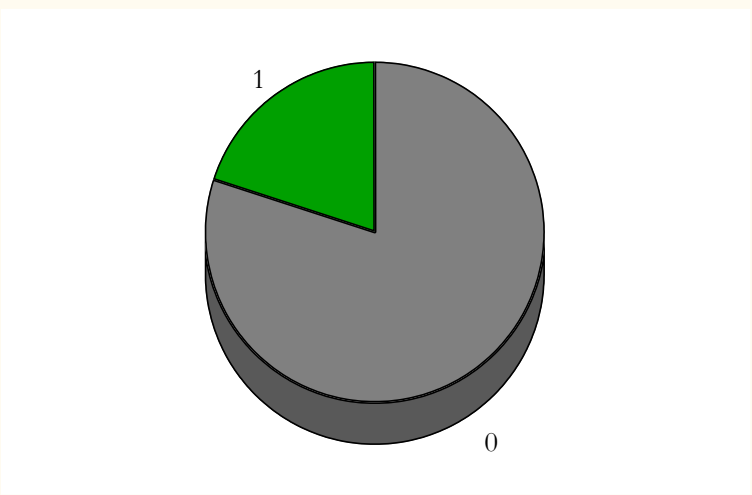
Vor der Operation wurden Blut und Urin analysiert. Bei 22,0 % (n = 9) der Patienten (n = 41) zeigten sich Auffälligkeiten im Blut, bei 3,2 % (n = 1) der Patienten (n = 31) fand sich ein auffälliger Urinbefund.

Im Vergleich der Gruppen positiv bzw. negativ getesteter Patienten konnte laborchemisch kein signifikanter Unterschied gezeigt werden, sowohl für die Blut- ($p \approx 0{,}248$) als auch für die Urin-Untersuchung ($p \approx 1{,}000$).

3.9 Untersuchungsverfahren

3.9.1 Abstrich vom Implantat

Ein Abstrich wurde in Abgrenzung zu einer Kontamination nur dann als positiv gewertet, wenn das entsprechende Bakterium mindestens zweimal auf der gleichen Seite nachgewiesen werden konnte, unabhängig ob durch mindestens zwei positive Abstriche vom Implantat oder die Bestätigung durch ein anderes Untersuchungsverfahren. Ein einmalig auffälliger Abstrich vom Implantat ohne Korrelat wurde als Kontamination gewertet.



0 = negativ
1 = positiv

In der Abbildung 19 ist dargestellt, dass 20 % (n = 3) der später als positiv klassifizierten Patienten (n = 15) einen bakteriellen Keimnachweis in mind. zwei Abstrichen vom Implantat bzw. einem positiven Abstrich in Kombination mit einem weiteren positiven Testergebnis in einer anderen Methode hatten.

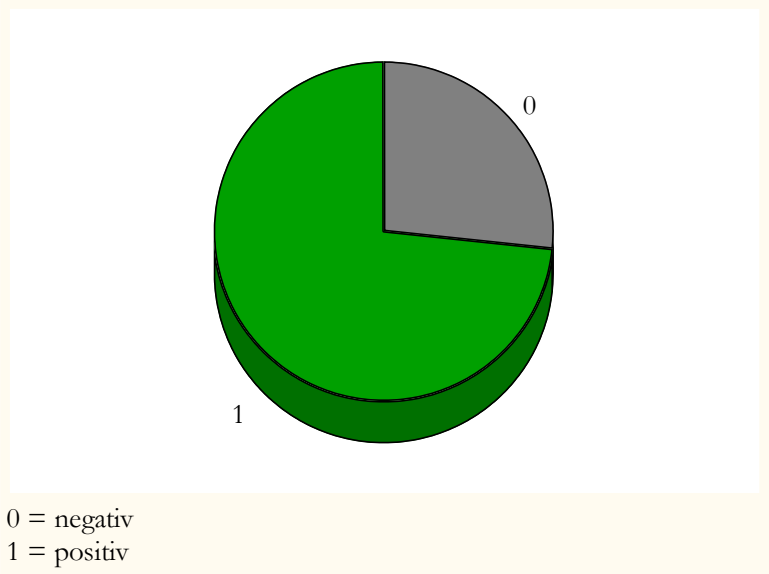
Abbildung 19: Anteil positiver Implantat-Abstriche bei positiven Patienten

Bei 7,1 % (n = 3) der Patienten (n = 42) konnte ein Bakterium durch die mikrobiologische Untersuchung der Abstriche vom Implantat nachgewiesen werden und wurde als positiv gewertet. Von allen später als positiv klassifizierten Patienten (n = 15) hatten somit 20 % (n = 3) einen auffälligen Abstrich vom Implantat (Abbildung 19).

3.9.2 Abstrich mit Gewebe

Da von jeder operierten Seite nur ein Gewebestück zur mikrobiologischen Analyse entnommen wurde, wurde jede Charakterisierung eines Bakteriums als positiv gewertet.

Insgesamt war bei 26,2 % (n = 11) aller Patienten (n = 42) ein Abstrich mit Gewebe positiv. Von den 15 insgesamt als positiv kategorisierten Patienten wiesen 73,3 % (n = 11) einen auffälligen Abstrich mit Gewebe auf (Abbildung 20).



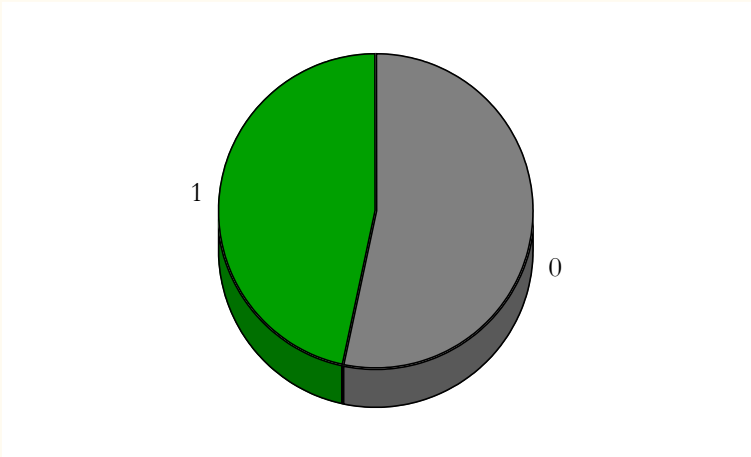
Die Abbildung 20 zeigt einen Anteil von 73,3 % (n = 11) an positiven Abstrichen mit Gewebe im Kollektiv der später als positiv klassifizierten Patienten (n = 15). Da diese Untersuchung nur einmal pro Seite durchgeführt wurde, wurde jeder positive Abstrich mit Gewebe als positiv klassifiziert.

Abbildung 20: Anteil positiver Abstriche mit Gewebe bei positiven Patienten

3.9.3 Analyse der Implantatschlösser

Ein auffälliger Befund wurde nur dann als positiv gewertet, wenn das entsprechende Bakterium mehrmals auf einer Seite nachgewiesen werden konnte oder das Ergebnis in einem der anderen Untersuchungsverfahren bestätigt werden konnte.

Die mikrobiologische Untersuchung der Implantatschlösser ergab bei 16,7 % (n = 7) der Patienten (n = 42) einen positiven Befund. Von den Patienten mit insgesamt positivem Testergebnis (n = 15) konnte auch bei 46,7 % (n = 7) eine auffälliges Ergebnis bei der Analyse der Implantatschlösser dokumentiert werden (Abbildung 21).



0 = negativ
1 = positiv

Die Abbildung 21 zeigt einen Anteil am Kollektiv der positiven Patienten (n = 15) von 46,7 % (n = 7), bei dem die Analyse der Implantatschlösser ein positives Ergebnis zeigte durch mind. zwei positive Ergebnisse innerhalb dieses Verfahrens oder in Kombination mit einer weiteren Methode.

Abbildung 21: Anteil positiver Implantatschlösser bei positiven Patienten

3.9.4 Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

Nur bei einem Patienten war die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zum Nachweis eines Bakteriums positiv (n = 41). Eine Charakterisierung des Bakteriums war nicht möglich.

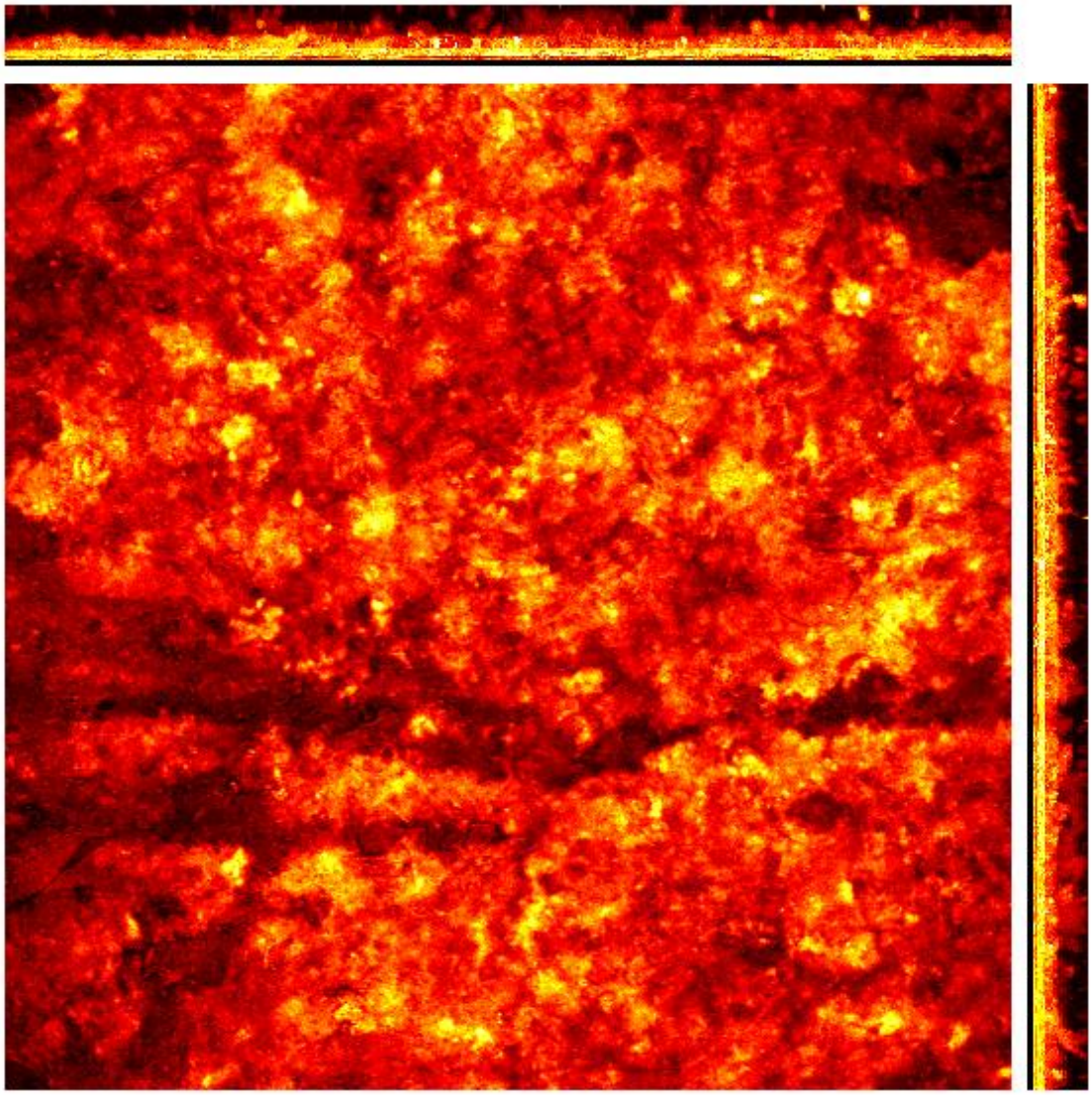
Somit war bei 6,7 % (n = 1) der Patienten (n = 15) mit positivem Testergebnis die PCR positiv.

3.9.5 Konfokalmikroskopie

Eine Analyse der zuvor gefärbten Proben mit dem Konfokalmikroskop wurde bei der ersten erfassten Verlängerungsoperation bei 31 Patienten durchgeführt. Von diesen Patienten wurden bei zwei Patienten die Proben als positiv gewertet. Bezogen auf die später als positiv kategorisierten Patienten (n = 11) konnte bei 18,2 % (n = 2) dieser Patienten eine auffällige Probe detektiert werden.

Sofern nicht durch ein anderes Untersuchungsverfahren ein Keimnachweis erbracht wurde, war die Charakterisierung des Bakteriums nur durch dieses Untersuchungsverfahren nicht möglich.

Exemplarisch ist die als positiv gewertete Bildgebung eines beispielhaften Patienten dargestellt (Abbildung 22).



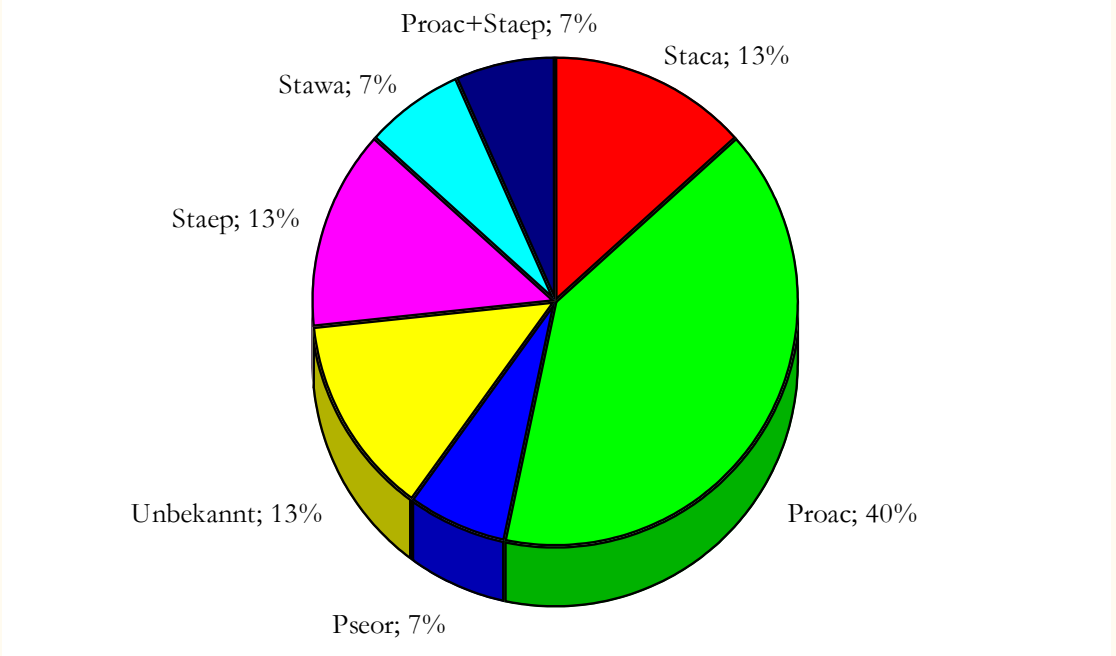
Die Abbildung 22 zeigt die exemplarische Bildgebung eines Patienten mit dem Kofokalmikroskop. Dabei wird die Oberfläche des mikroskopierten Metallplättchens wiedergegeben. Anhand der Fluoreszenzfarbstoffe lässt sich erkennen, dass die Oberfläche nicht glatt ist. Concanavalin A bindet Kohlenhydrate. Die Projektion zeigt demnach, dass sich auf der Metalloberfläche eine kohlenhydratreiche dreidimensionale Schicht festgesetzt hat. Dies lässt sich besonders gut an der seitlichen Projektion am rechten Bildrand erkennen.

Abbildung 22: Exemplarische Bildgebung in der Projektion mit Concanavalin A 1:100

3.10 Keimspektrum

Bei den 15 Patienten mit insgesamt positivem Testergebnis waren fünf verschiedene Bakterien nachweisbar. Bei sechs Patienten wurde *Propionibacterium acnes*, bei jeweils zwei Patienten *Staphylococcus capitis* und *Staphylococcus epidermidis*, bei einem Patienten *Staphylococcus warneri*, bei einem Patienten *Pseudomonas oryzihabitans*, bei einem Patienten wurden

Propionibacterium acnes sowie *Staphylococcus epidermidis* nachgewiesen und bei zwei Patienten war eine Charakterisierung des Keims nicht möglich (Abbildung 23).



Proac = Propionibacterium acnes
Pseor = Pseudomonas oryzihabitans
Staca = Staphylococcus capitis
Staep = Staphylococcus epidermidis
Stawa = Staphylococcus warneri

Die Abbildung 23 zeigt den prozentualen Anteil der verschiedenen nachgewiesenen Bakterienspezies.

Abbildung 23: Keimverteilung bei den positiven Patienten

In einer telefonischen Nachbefragung der positiven Patienten hatten die Patienten, bei denen später Propionibakterien nachgewiesen wurden, in 57 % der Fälle eine Akne im Gesicht sowie Rückenbereich. Die positiven Patienten mit einem anderen Keimnachweis litten zu 12,5 % an Akne.

3.11 Nachbeobachtung

Alle in die Studie eingeschlossenen Patienten wurden nach Möglichkeit über mehrere Verlängerungsoperationen im Studienzeitraum nachbeobachtet. Die Patienten konnten unterschiedlich oft nachbeobachtet werden, abhängig davon, ob beispielsweise der

Zeitpunkt der Explantation des VEPTR-Systems während des Beobachtungszeitraums erreicht wurde.

Bis auf die nur einmalig durchgeführten Hautabstriche (siehe 3.6.4) wurde das Prozedere unverändert bei jeder weiteren Verlängerungsoperation angewandt. Nach Anwendung der Kriterien erfolgte die Charakterisierung jedes Patienten als positiv oder negativ (Tabelle 12).

Von den Patienten mit einem erstmalig positiven Testergebnis, unabhängig davon in welcher von der Studie erfassten Verlängerungsoperation, bei welchen die darauf folgende Operation erfasst wurde (n = 11), konnte bei 82 % (n = 9) das positive Testergebnis reproduziert werden. Von diesen zweifach positiven Patienten konnte bei drei Patienten eine weitere, darauf folgende, Operation erfasst werden. Von diesen Patienten (n = 3) blieben alle weiterhin positiv.

Tabelle 12: Nachbeobachtung aller Patienten

ID	OP1	OP2	OP3	OP4	OP5
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
21					
22					
24					
25					
26					
28					
30					
31					
32					
33					
34					
35					
37					
38					
39					
40					
41					
42					
44					
45					
46					
47					
48					
49					

Anmerkung: Patienten-ID nicht fortlaufend (n = 42)

Legende:

	Charakterisierung: negativ
	Charakterisierung: positiv
	Keine weiteren Operationen oder Operation nicht erfasst

3.12 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die Auswertung der erhobenen Daten dieser klinischen Studie lieferte folgende Ergebnisse:

- Zu den positiven Patienten mit mindestens einem pathologischen Untersuchungsergebnis wurden 36 % (n = 15) aller Patienten (n = 42) gezählt.
- Als sicher positiv wurden 14 % (n = 6) aller Patienten (n = 42) klassifiziert, d.h. sie hatten positive Ergebnisse in mind. zwei verschiedenen Untersuchungsverfahren.

Vergleich von positiven und negativen Patienten:

- Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede in Hinblick auf Geschlecht, Körpergröße, Körpergewicht, Grunderkrankung, Anzahl der Voroperationen, vorangegangene mechanische sowie infektiöse Komplikationen, Ausführung des VEPTR-Systems (VEPTR I/ II), weitere Vorerkrankungen (s.o.), weitere Risikofaktoren (s.o.) und Hautabstriche.
- Die positiven Patienten waren signifikant älter als die negativen Patienten ($p \approx 0{,}004$).
- Weder die klinische Beobachtung noch laborchemische Testverfahren konnten einen signifikanten Unterschied zwischen beiden Gruppen zeigen.

Evaluation möglicher Untersuchungsverfahren:

- Von den später als positiv klassifizierten Patienten (n = 15) hatten bei der mikrobiologischen Analyse 20 % (n = 3) ein positives Ergebnis bei den Abstrichen vom Implantat, 73,3 % (n = 11) einen auffälligen Abstrich mit Gewebe, 46,7 % (n = 7) ein positives Testergebnis bei der Analyse der Implantatschlösser und nur bei einem Patienten war die Polymerase-Kettenreaktion positiv.
- Die mikroskopische Untersuchung von 31 Proben konnte bei 18,2 % (n = 2) der später als positiv kategorisierten Patienten (n = 11) ein positives Ergebnis detektieren.

Keimspektrum:

- Von den 15 positiven Patienten wiesen sechs Patienten Propionibakterien, fünf Patienten Koagulase-negative Staphylokokken und ein Patient die Kombination der vorher genannten auf.
- Bei einem Patienten wurde ein *Pseudomonas oryzihabitans* nachgewiesen.
- Bei zwei Patienten gelang keine Charakterisierung der Bakterien.

Nachbeobachtung der Patienten:

- Von den Patienten mit einem positiven Testergebnis sowie einer weiteren erfassten Operation (n = 11) konnte bei 82 % (n = 9) das positive Testergebnis reproduziert werden.
- Bei drei Patienten, die bereits in zwei vorangegangenen Operationen ein positives Ergebnis aufwiesen, konnte eine weitere Operation dokumentiert werden. Dabei blieben alle drei Patienten weiterhin positiv.

4 Diskussion

Das Vertical-expandable-prosthetic-titanium-rib (VEPTR)-System ist ein etabliertes Verfahren zur operativen Behandlung von Kindern und Jugendlichen mit Wirbelsäulendeformitäten im Wachstumsalter (Hell et al. 2005; Hasler et al. 2010). Nach Implantation der Teleskopstangen muss in der Regel im Abstand von jeweils sechs Monaten eine operative Verlängerung des Systems erfolgen (Hell et al. 2004). Bis zur endgültigen operativen Versorgung mittels versteifender Wirbelsäulenoperation sind die Patienten demnach wiederholten operativen Eingriffen ausgesetzt. Teilweise werden die Kinder und Jugendlichen über 20 Mal an gleicher Lokalisation operativ versorgt.

Bei jedem operativen Eingriff besteht die Gefahr einer Kontamination der Operationswunde mit Bakterien. Wie hoch das Risiko ist, hängt individuell sowohl vom Patienten als auch von der Art der Operation ab. Das Einbringen von Implantaten und anderen Fremdmaterialien gilt als besonders riskant für die Entwicklung einer Infektion. Dafür werden Bakterien verantwortlich gemacht, die sich an Fremdmaterialen anheften können (Gristina 2004; Mack et al. 2006).

Das hier untersuchte Kollektiv von Kindern, deren Wirbelsäulendeformität mittels eines VEPTR-Systems versorgt wurden, vereint somit zwei wesentliche Risikofaktoren für die Entwicklung einer Infektion: das Vorhandensein eines Implantats im Körper sowie die wiederholte Eröffnung des operativen Zugangs als Eintrittspforte für Bakterien.

In der operativen Therapie von Skoliosen sind neben akut auftretenden Wundheilungsstörungen vor allem verzögert auftretende Wundinfektionen vorbeschrieben (Richards und Emara 2001). Als möglicher Ausgangspunkt einer solchen erst latent und dann verzögert auftretenden Infektion muss eine bakterielle Kolonisation der Implantate diskutiert werden. Für das VEPTR-System liegen keine umfassenden Untersuchungen vor, in welchem Maße von einer bakteriellen Kolonisation der Implantate ausgegangen werden muss. Eine erste Untersuchung lässt allerdings vermuten, dass die Rate einer bakteriellen Kolonisation die Rate an klinisch manifesten Infektionen deutlich übersteigt (Plaass et al. 2016). Verkomplizierend kommt hinzu, dass nicht bekannt ist, welches diagnostische Verfahren eine bakterielle Kolonisation am zuverlässigsten nachweisen kann, ohne die Inzidenz zu über- oder zu unterschätzen.

In der vorliegenden Arbeit wurden daher multiple Verfahren angewendet, um in der Zusammenschau aller Ergebnisse zu entscheiden, bei welchen Patienten von einer bakteriellen Kolonisation ausgegangen werden muss. Bei Fehlen eines Goldstandards konnten folglich alle Ergebnisse in den verschiedenen Verfahren nur durch wiederholte Durchführung und untereinander auf interne Validität geprüft werden, eine endgültige Sicherheit bezüglich der Korrektheit der einzelnen Verfahren war nicht möglich.

4.1 Bakterielle Kolonisationsrate

Mit diesem Hintergrund wurden zwei verschiedene Kategorisierungen der Patienten vorgenommen. Bei übereinstimmenden Ergebnissen in zwei verschiedenen Testverfahren zur bakteriellen Besiedlung wurde ein Patient als sicher positiv kategorisiert. Der Anteil an sicher positiven Patienten betrug 14 % (n = 6). Bereits dieser Wert übersteigt die Rate von vorbeschriebenen verzögert auftretenden Wundheilungsstörungen in der operativen Therapie von Skoliosen deutlich, welcher zwischen 1,7-6,9 % angegeben wird (Richards 1995; Clark und Shufflebarger 1999; Richards und Emara 2001; Hahn et al. 2005). Bei Kindern mit VEPTR-Implantat finden sich in der Literatur Wund- und Implantatinfekte in bis zu 22 % der Fälle (Hasler et al. 2010; Plaass et al. 2016).

Um möglichst alle Patienten zu erfassen, bei denen eine bakterielle Kolonisation der Implantate angenommen werden muss, wurden alle Patienten mit positivem Ergebnis in mindestens einem einzelnen Testverfahren als positiv kategorisiert. Um trotzdem von einem korrekt positiven Ergebnis ausgehen zu können, wurde nur dann ein Ergebnis als positiv gewertet, wenn bei einem mehrfach durchgeführten Test das gleiche Bakterium identifiziert werden konnte. Eine Ausnahme von dieser Regel bildet der Abstrich mit Gewebe, da jeweils nur eine Gewebeprobe entnommen wurde. Es wurden 36 % (n = 15) der Patienten als positiv kategorisiert. Diese hohe Rate findet sich bisher nicht in der Literatur, wobei überwiegend nur klinisch manifeste Infektionen erfasst wurden und nicht auf eine bakterielle Kolonisation untersucht wurde. Die Bedeutung dieser Besiedlung im Langzeitverlauf ist unklar.

4.2 Mögliche Einflussfaktoren

Um Risikofaktoren zu erkennen, wurde das Patientenkollektiv nach dem Merkmal positiv in zwei Gruppen eingeteilt. Anhand dieser beiden Gruppen wurde verglichen, in welchen Faktoren sie sich signifikant unterscheiden (Signifikanzniveau 95 %). Für die Vergleiche wurden alle Patienten mit mindestens einem positiven Testergebnis als positiv kategorisiert, um mit höherer Wahrscheinlichkeit alle Patienten für die Berechnungen zu erfassen, bei welchen eine Kolonisation der Implantate anzunehmen ist. Wenn bei Patienten in zwei verschiedenen Untersuchungsverfahren positive Ergebnisse aufgetreten sind, werden diese explizit als sicher positiv bezeichnet.

Zwischen positiven und negativen Patienten konnte kein signifikanter Unterscheid hinsichtlich des Geschlechtes, der Körpergröße sowie des Körpergewichtes gezeigt werden. Die positiven Patienten waren allerdings signifikant älter als die negativen Patienten.

Eine denkbare Erklärung hierfür hätte sein können, dass die Patienten mit steigendem Alter schon länger therapiert werden und ihr Risiko für eine bakterielle Kolonisation zunimmt, weil schon mehr Operationen stattgefunden hätten. Bei der Anzahl der Voroperationen konnte jedoch kein signifikanter Unterschied beider Gruppen detektiert

werden. Tendenziell hatten die positiven Patienten sogar weniger Voroperationen als die negativen Patienten. Daher bleibt die Ursache für die Altersverteilung der Gruppen ungeklärt.

Hinsichtlich der Grunderkrankung der Patienten konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen detektiert werden. Dabei bleibt allerdings anzumerken, dass die Fallzahlen für jede einzelne Grunderkrankung Kollektiv-bedingt teilweise sehr klein waren.

Darüber hinaus ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen in Bezug auf die Frage, ob in der Vorgeschichte eine Komplikation in der Therapie aufgetreten war, sowohl in Bezug auf mechanische Komplikationen als auch Infekte in Zusammenhang mit dem Implantat. Diese Erkenntnis betont nochmals die Tatsache, dass die Diagnose klinisch manifester Infekte keinesfalls hinreicht, um eine bakterielle Kolonisation zu detektieren. Nicht nur scheint die Rate bakterieller Kolonisationen die Rate von Implantat-assoziierten Infektionen deutlich zu übersteigen (Plaass et al. 2016), auch ist es denkbar, dass beide Entitäten nicht eindeutig korrelieren. Die Ursache hierfür könnte zum einen am Erreger selbst liegen, welcher dazu tendiert, entweder eine akute oder latente Infektion auszulösen. Dafür spricht, dass das Keimspektrum bei verschiedenen Arten von Infektionen durchaus verschieden ist und eher purulente und weniger purulente Erreger aufweist (siehe 1.4.4). Darüber hinaus spielt möglicherweise auch die Reaktion des patienteneigenen Immunsystems auf den Erreger eine Rolle und entscheidet darüber, ob eine akute Infektion mit den klassischen Zeichen einer Entzündung entsteht.

Das VEPTR-System besteht aus Titan. Inwieweit Titan verglichen mit anderen Materialien eine Kolonisation mit Bakterien begünstigt oder verhindert, wird aktuell untersucht (Shida et al. 2013; Yoda et al. 2014). Es wird außerdem intensiv an Implantatoberflächen geforscht, die antimikrobiell wirken und eine Kolonisation von Bakterien verhindern können (Al-Ahmad et al. 2010). Im Rahmen der Studie wurde das VEPTR-System in zwei verschiedenen Ausführungen (VEPTR I und VEPTR II) verwendet. Ein Wechsel zwischen beiden Systemen war möglich. Für keine der beiden Varianten konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen der positiven bzw. negativen Patienten gezeigt werden. Die Ergebnisse dieser Arbeit lassen einen Material-bedingten Einfluss innerhalb des VEPTR-Systems auf die Rate einer bakteriellen Kolonisation somit nicht vermuten.

Es wurde ein bestimmtes Spektrum an Vorerkrankungen der Patienten dokumentiert, da diese als mögliche Einflussfaktoren für die Begünstigung einer bakteriellen Kolonisation verdächtigt wurden. Dabei handelte es sich um Vorerkrankungen, in deren Rahmen eine negative Beeinflussung der Infektabwehr vermutet werden kann. Ein signifikant häufigeres Vorliegen dieser Vorerkrankungen in der Gruppe der positiven Patienten konnte nicht gezeigt werden. Da die Gruppe der ausgewählten Erkrankungen inhomogen und die Fallzahl der eingeschlossenen Patienten gering war, kann eine endgültige Aussage diesbezüglich nicht abgeleitet werden.

Auch die Dokumentation weiteren Risikofaktoren in Form Fremdmaterial-assoziierter medizinische Hilfsmittel konnte nur ein kleines Spektrum abdecken. Dabei berücksichtigt wurden Hilfsmittel zur invasiven und nicht-invasiven Beatmung, zur künstlichen Ernährung sowie verschiedene Varianten von Kathetern zur Harnableitung. In diesem Rahmen zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den positiven und negativen Patienten.

Die Untersuchung von Hautabstrichen auf Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA) sowie Extended-Spectrum-Betalaktamase-bildende Bakterien (ESBL) fiel nur bei einem Patienten positiv aus. Daher konnte daraus keine Bewertung als Risikofaktor erwachsen. In der Literatur konnte in einer Untersuchung von 95 Patienten mit orthopädischen Implantatinfekten durch MRSA bei 58 % der Patienten ein MRSA Trägerstatus nachgewiesen werden (Uçkay et al. 2009). Auch ESBL konnte als Risikofaktor zusammen mit vielen weiteren Risikofaktoren für Infektionen nach Hüftprothesen-Implantationen identifiziert werden (Radtke et al. 2016). Eine Kausalität ist aufgrund der bislang wenigen Untersuchungen jedoch schwer abzuleiten.

4.3 Klinische Beobachtung

Die positiv getesteten Patienten waren nach der erfassten Operation durchschnittlich länger in stationärer Behandlung als die negativ getesteten. Dieser Unterschied war allerdings nicht signifikant. Dazu passt auch die Beobachtung, dass sowohl die prä- als auch die postoperative Angabe von Beschwerden bei den positiv getesteten Patienten nicht signifikant häufiger vorkam. Die oftmals fehlende klinische Repräsentation einer bakteriellen Kolonisation ist bereits vorbeschreiben (Plaass et al. 2016). Daher kann davon ausgegangen werden, dass andere Gründe ausschlaggebend für die längere stationäre Behandlung der Patienten waren.

Interessanterweise gab es vier Patienten, die sowohl prä- als auch postoperativ Beschwerden angaben. Von diesen Patienten wurden drei später als positiv klassifiziert. Möglicherweise könnte also doch ein Zusammenhang zwischen milden dauerhaften Beschwerden und einer latenten Infektion bestehen, die Anzahl der Patienten kann dies allerdings keinesfalls belegen.

4.4 Testverfahren

Da es keine etablierten Verfahren zur Detektion einer bakteriellen Kolonisation auf Implantaten gibt, war es notwendig, viele verschiedene Testverfahren durchzuführen, um sich in der Zusammenschau aller Ergebnisse der korrekten Diagnose bestmöglich zu nähern.

Als erweiterte Routinediagnostik vor einem operativen Eingriff wurden zunächst Blut- und Urinproben analysiert. Das weit verbreitete C-reaktive Protein (CRP) sowie die

Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG) als häufig bestimmte Entzündungsparamter werden in der Literatur sehr widersprüchlich bewertet, was die Korrelation beispielsweise bei periprothetischen Infektionen angeht (Bottner et al. 2007; Piper et al. 2010). Die Bestimmung der Leukozyten und Granulozyten im Differentialblutbild weist keine ausreichende Sensitivität und Spezifität auf (Della Valle et al. 2004). Inwieweit die Bestimmung von Procalcitonin (PCT) aussagekräftig ist, ist noch nicht ausreichend gut belegt (Bottner et al. 2007). In der vorliegenden Studie konnte für keinen der beschriebenen Blutwerte (CRP, BSG, Leukozyten, PCT) ein signifikanter Unterschied zwischen den positiven und den negativen Patienten nachgewiesen werden. Auch die Untersuchung der Urinproben zeigte nur selten ein pathologisches Ergebnis und konnte nicht mit der Differenzierung zwischen positiv und negativ korreliert werden.

Die mikrobiologische Diagnostik bestand aus mehreren Verfahren mit verschiedenen Proben. In früheren Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass eine Vorbehandlung der Proben mit Ultraschall die Detektionsrate erhöht (Plaass et al. 2016). Da ein positives Testergebnis in einem der Verfahren zu einer Kategorisierung des Patienten als positiv geführt hat und es keinen Goldstandard gibt, mit dem das Ergebnis validiert werden kann, ist eine Bestimmung von Sensitivität und Spezifität der Verfahren nicht möglich. Vielmehr ist das Ziel abzuschätzen, mit welchem Verfahren bei praktikablem und vertretbarem Aufwand die höchste Rate von möglichen bakteriellen Kolonisationen ermittelt werden kann.

Die Gefahr besteht dabei natürlich darin, das Vorhandensein einer bakteriellen Kolonisation zu überschätzen. Für die spätere Therapiekonsequenz der Patienten ist es allerdings entscheidend, möglichst alle tatsächlich besiedelten Implantate zu detektieren, also eine hohe Sensitivität zu erreichen. Sollte die Spezifität des Testverfahrens dafür geringer ausfallen, so kann diese Problematik durch die Beobachtung im Verlauf zumindest zum Teil kompensiert werden. Da die Patienten wiederholten Eingriffen ausgesetzt sind und die Ergebnisse im Verlauf verglichen werden können, kann in der Analyse über mehrere Verlängerungsoperationen die Reproduzierbarkeit des positiven Ergebnisses überprüft werden.

Die höchste Rate an positiven Ergebnissen lieferte in der vorliegenden Untersuchung die mikrobiologische Untersuchung eines Abstriches mit Gewebe da 73,3 % (n = 15) aller als positiv kategorisierten Patienten in diesem Testverfahren ein positives Ergebnis aufwiesen. Immerhin noch 46,7 % (n = 15) aller positiven Patienten zeigten ein positives Ergebnis bei der Analyse der Implantatschlösser. Die Untersuchung eines konventionellen Abstrichs wurde nur bei 20 % aller positiven Patienten positiv. Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) einer Gewebeprobe sowie die Analyse mittels Kofokalmikroskopie wurden nur in Einzelfällen positiv.

Die mikrobiologische Untersuchung mit Gewebe lieferte somit die höchste Rate an positiven Testergebnissen. Im Gegensatz zu der Analyse der Implantatschlösser ist diese

Methode zudem auch außerhalb der Studie im Rahmen der mikrobiologischen Routinediagnostik durchführbar und scheint eine sinnvolle Relation von Arbeitsaufwand und diagnostischem Nutzen zu vereinen. Die Probenentnahme ist während der Operation schnell durchgeführt und mit keiner zusätzlichen Belastung oder Zeitverzögerung für den Patienten verbunden. Darüber hinaus erlaubt dieses Testverfahren zusätzlich eine Charakterisierung des Bakteriums, was vor allem für die Beobachtung im Verlauf zur Überprüfung der Reproduzierbarkeit einen großen Vorteil bietet (Groß 2013).

4.5 Keimspektrum

Bei Implantat-assoziierten Infekten werden vor allem bei verzögert auftretenden Infektionen vermehrt Koagulase-negative Staphylokokken sowie das *Propionibacterium acnes* nachgewiesen (Huebner und Goldmann 1999; Ramage et al. 2003). Auch in der operativen Skoliosentherapie sind beide Bakterienspezies vorbeschrieben (Richards und Emara 2001; Hahn et al. 2005).

In der vorliegenden Studie konnten mehrheitlich genau diese Bakterien nachgewiesen werden, in 47 % der Fälle *Propionibacterium acnes*, bei 40 % der positiven Patienten Koagulase-negative Staphylokokken. Alle anderen Spezies waren mit weniger als 7 % nachweisbar, in 13 % der Fälle konnte das Bakterium nicht identifiziert werden. Für Propionibakterien und Staphylokokken ist bekannt, dass sie Biofilme bilden können, was den Verdacht unterstützt, dass die Bildung von Biofilmen entscheidend sein könnte für die bakterielle Kolonisation der Implantate und den inapparenten klinischen Verlauf (Arciola et al. 2005; Holmberg et al. 2009).

In einer Untersuchung zur Prävalenz einer bakteriellen Kontamination von Gewebe bei operativen Eingriffen bei Kindern mit Wirbelsäulendeformitäten konnte gezeigt werden, dass speziell die Propionibakterien nur bei Kindern im Alter ab 11 Jahren nachgewiesen werden konnte und hierbei ein hochsignifkanter Zusammenhang mit dem Vorliegen einer Akne am Rücken bestand (Nandyala und Schwend 2013). Propionibakterien spielen vor allem im Verlauf des Entzündungsprozesses bei der Akne eine Rolle (Liu et al. 2015). Von den positiven Patienten mit Nachweis von Propionibakterien litten 57 % an Akne wohingegen die positiven Patienten mit dem Nachweis anderer Bakterien nur zu 12,5 % von Akne betroffen waren. Allerdings ist die Akne in dieser Altersgruppe ein sehr häufiges Krankheitsbild. Bei Schülern im Teenageralter wird die Prävalenz mit über 90 % angegeben, 14 % leiden an schwerer Akne (Ghodsi et al. 2009). Aufgrund dieser Häufigkeiten ist ein Kausalzusammenhang nicht unstrittig, das Vorliegen von Akne sollte aber als Risikofaktor nicht außer Acht gelassen werden.

4.6 Nachbeobachtung

Die Studie beinhaltet die Erfassung aller Verlängerungsoperationen der eingeschlossenen Patienten im Zeitraum der Datensammlung. Dadurch ist nicht nur ein Kohortenquerschnitt zum Zeitpunkt einer bestimmten Operation möglich, sondern auch ein begrenzter Rückschluss auf die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse im Verlauf weiterer Operationen.

Die Anzahl der eingeschlossenen Operationen variiert zwischen den Patienten, da ihr Einschluss in die Studie zu verschiedenen Zeitpunkten ihrer operativen Therapie stattfand. Daher konnten bei einigen Patienten nur wenige Operationen erfasst werden, wenn während des Studienzeitraums das VEPTR-System entfernt oder implantiert wurde.

Es ist hervorzuheben, dass von den erstmalig als positiv erfassten Patienten bei der darauf folgenden Operation bei 82 % dieser Patienten das Ergebnis reproduziert werden konnte. Dabei wurde ausdrücklich auf die Übereinstimmung des detektierten Bakteriums in beiden Untersuchungszyklen geachtet. Alle Patienten mit in zwei aufeinanderfolgenden Operationen positiven übereinstimmenden Ergebnissen blieben bis zur letzten erfassten Operation positiv. Da dies nur auf drei Patienten zutrifft, lässt sich daraus nur ein Trend ableiten. Zumindest lässt sich aber festhalten, dass es bei neun Patienten gelungen ist, das erstmalig positive Ergebnis zu reproduzieren. Bei einem Patienten konnte zudem die mutmaßliche Erstmanifestation einer bakteriellen Kolonisation aufgezeigt werden, da erst die zweite erfasste Operation ein positives Ergebnis lieferte und sich dieses auch in der darauf folgenden Operation reproduzieren ließ.

Der durch die Nachbeobachtung aufgezeigte Verlauf lässt vermuten, dass eine bakterielle Kolonisation zu einem mutmaßlich willkürlichen Zeitpunkt der Therapie auftritt und dann tendenziell nicht mehr eliminiert wird. Für den Nachweis dieser Theorie müssen natürlich größere Fallzahlen sowie längere Beobachtungszeiträume angestrebt werden, um trotz Unsicherheiten in den Untersuchungsverfahren zu einem logisch nachvollziehbaren Ergebnis zu gelangen. Außerdem lassen die Daten die Vermutung zu, dass eine einmal aufgetretene Kolonisation nicht mehr spontan zur Ausheilung zu kommen scheint. Auch um diese These zu untermauern, müsste ein wesentlich längerer Beobachtungszeitraum herangezogen werden.

4.7 Therapeutische Konsequenz und Ausblick

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass eine bakterielle Kolonisation bei der Verwendung des VEPTR-Systems zur operativen Therapie von Patienten mit Wirbelsäulendeformitäten in einem nicht unerheblichen Prozentsatz vorkommt. Um alle Patienten mit einer bakteriellen Besiedlung frühzeitig zu erkennen, erscheint ein Screening sinnvoll, welches routinemäßig durchzuführen ist. Die Daten zeigen, dass das Risiko für eine Keimbesiedlung nicht anhand von anderen Faktoren abgeschätzt werden kann und

daher eine zusätzliche Diagnostik angewendet werden sollte, um Patienten mit einer annehmbaren Keimbesiedlung zu erfassen.

Die Untersuchung verschiedenster diagnostischer Verfahren hat den Abstrich mit Gewebe als potenziell zum Screening einsetzbare Methode ermittelt. Ein Screening der Patienten während aller Verlängerungsoperationen allein mit diesem Testverfahren hat neben vielen Vorteilen im Wesentlichen zwei Nachteile. Zum einen ist zu vermuten, dass die tatsächliche Sensitivität dieser Methode noch deutlich unter dem Maximum liegt, da schon im Rahmen dieser Studie nur 73,3 % aller positiv kategorisierten Patienten ein positives Testergebnis aufwiesen. Da die Exaktheit aller anderen Testverfahren allerdings ebenfalls nicht nachzuweisen ist, kann diese Hypothese weder belegt noch widerlegt werden. Zum anderen könnten trotzdem einige falsch positive Ergebnisse vorliegen, was die Inzidenz der bakteriellen Kolonisation überschätzen würde.

Daher stellt sich die Frage nach der therapeutischen Konsequenz eines positiven Ergebnisses bei einem Screening aller Patienten während aller Verlängerungsoperationen mit diesem Testverfahren. Allgemein stellt die Versorgung mit dem VEPTR-System eine vorübergehende Therapie während des Wachstums des Patienten dar (Hasler et al. 2010; White et al. 2011). Nach überwiegendem Abschluss des Wachstums muss eine versteifende Wirbelsäulenoperation angeschlossen werden, bei welcher das VEPTR-System entfernt und ein neues endgültiges Implantat eingebracht wird. Wird dieser Eingriff in einer Operation durchgeführt und es liegt eine bakterielle Kolonisation der Teleskopstangen vor, dann besteht vermutlich ein hohes Risiko, dass auch das neue Implantat besiedelt werden kann. Sollte es dazu kommen und die Besiedlung im Verlauf zu einer Infektion führen, so ist das therapeutische Management sehr komplex.

Eine Sanierung von *in vivo* befindlichen Implantaten gilt als ausgesprochen schwierig. Die einzige Option ist im Normalfall der Ausbau allen Fremdmaterials mit anschließender antibiotischer Sanierung und im Anschluss erneutem Einbau eines Implantates (Campoccia et al. 2006). Im Falle einer Wirbelsäulenversteifung ist dies aufgrund der beabsichtigten herbeigeführten Instabilität ohne Implantat in der ersten Zeit nach der Operation praktisch keine Option. Daher muss versucht werden, die Infektion durch wiederholte chirurgische Eingriffe, antiseptische Spülungen und eine hochdosierte antibiotische Therapie zu bekämpfen. Für den Patienten ist die Behandlung einer Infektion nach einer Wirbelsäulenversteifung in jedem Fall ausgesprochen risikoreich und mitunter auch lebensbedrohlich.

Die Alternative zur Minimierung der Infektionsrate nach der endgültigen Versteifungsoperation besteht in einem zweizeitigen Vorgehen. Dabei wird in einem ersten Eingriff das VEPTR-System entfernt und es erfolgt eine antibiotische Therapie sowie eine genaue Beobachtung der Wundverhältnisse. Wenn es keinen Hinweis auf eine persistierende bakterielle Kolonisation gibt, wird in einem zweiten Eingriff die Wirbelsäule unter Einbringung neuer Implantate endgültig operativ versorgt.

Als Konsequenz der durchgeführten Studie und der unerwartet hohen Rate an anzunehmenden bakteriellen Kolonisationen des VEPTR-Systems wird in der Kinderorthopädie der UMG seither jeder Patient mittels oben beschriebenen Screenings untersucht und ein zweizeitiges Vorgehen für die Spondylodese angestrebt. Für den Zeitraum zwischen dem VEPTR-Ausbau und der Spondylodese sollte der Patient mit einem Korsett versorgt werden, um zum einen einem Fortschreiten der Skoliose entgegenzuwirken und zum anderen dem Patienten mehr Rumpfstabilität und –kontrolle zu bieten. Dies ist je nach Grunderkrankung auch mit Problemen beispielsweise bezüglich der Atmung verbunden. In Abwägung mit dem Risiko einer Infektion der endgültigen Implantate im Falle eines einzeitigen Vorgehens scheint das aufgezeigte zweizeitige Vorgehen allerdings die sicherere und insgesamt risikoärmere Option für den Patienten darzustellen.

5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde die bakterielle Kolonisation des Vertical-expandable-prosthetic-titanium-rib (VEPTR)-Systems für die Behandlung von Kindern und Jugendlichen mit Wirbelsäulendeformitäten untersucht. Mögliche Einflussfaktoren zur Abschätzung des Risikos für eine Keimbesiedlung wurden analysiert sowie geeignete Untersuchungsverfahren detektiert.

Das Patientenkollektiv umfasste 42 Kinder und Jugendliche, welche aufgrund einer skoliotischen Deformität der Wirbelsäule mit einem teleskopierbaren Titanimplantat (VEPTR-System) behandelt wurden. Bei den routinemäßig im Abstand von sechs Monaten durchgeführten Verlängerungsoperationen des Teleskopsystems wurden biometrische, klinische, laborchemische, mikrobiologische sowie mikroskopische Daten erhoben. Als Untersuchungsmaterial für die mikrobiologische und mikroskopische Diagnostik dienten die bei der Verlängerungsoperation routinemäßig entnommenen Verbindungsstücke des Teleskopsystems, Abstriche und Gewebeproben.

Anhand aller Untersuchungsverfahren erfolgte die Einteilung der Patienten in die positive Gruppe, bei denen eine bakterielle Kolonisation wahrscheinlich war, und negative Patienten, bei denen sich kein Hinweis ergab. Dabei wurde genauer differenziert zwischen positiven Patienten, bei denen in mindestens einem Untersuchungsverfahren ein positives Ergebnis auftrat und sicher positiven Patienten, die in mindestens zwei Untersuchungsverfahren ein pathologisches Ergebnis aufwiesen. Die sicher positiven Patienten waren eine Teilmenge der Gruppe aller positiven Patienten.

Anhand dieses Vorgehens ergab sich eine bakterielle Kolonisationsrate von 36 % (n = 15) positiven Patienten, wobei 14 % (n = 6) der Patienten sicher positiv waren. Mögliche Einflussfaktoren auf eine bakterielle Kolonisation wurden im Vergleich des positiven (n = 15) bzw. negativen (n = 27) Kollektivs korreliert.

Hierbei zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in beiden Gruppen in Bezug auf Geschlecht, Körpergröße, Körpergewicht, Grunderkrankung, Begleiterkrankung, Anzahl der Voroperationen, Ausführung des VEPTR-Systems (VEPTR I/ II) und zuvor aufgetretene mechanische oder infektiöse Komplikationen im Implantatbereich. Lediglich das Alter der positiven Patienten war signifikant höher als das der negativen Patienten. Auch klinisch bzw. laborchemisch konnte kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen detektiert werden.

Im Vergleich unterschiedlicher Untersuchungsverfahren für die Detektion einer Kolonisation zeigte der Abstrich mit Gewebe die meisten positiven Ergebnisse und war bei 73,3 % (n = 11) aller später als positiv klassifizierten Patienten pathologisch. Andere

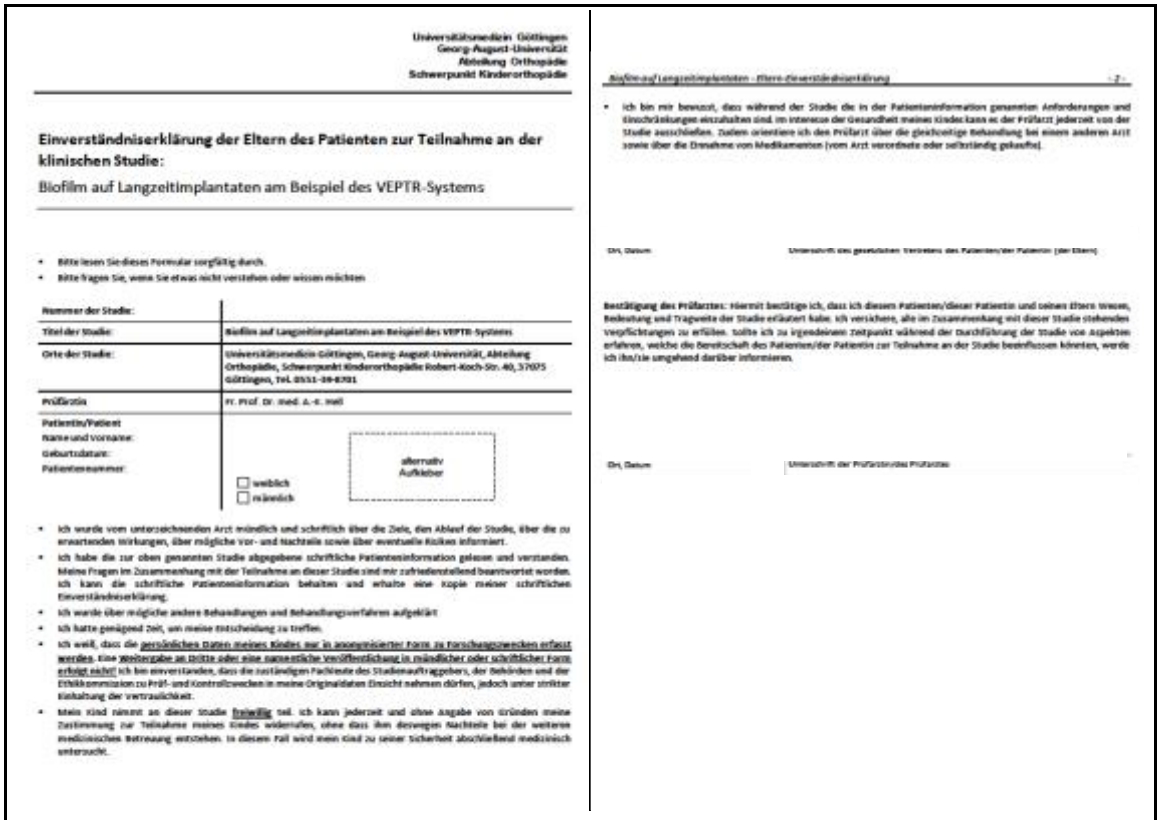
Verfahren, insbesondere die Polymerase-Kettenreaktion, zeigte nur eine geringe Detektionsrate von 7 %.

Im Einklang mit der vorhandenen Literatur wurden bei den positiven Patienten (n = 15) überwiegend Koagulase-negative Staphylokokken (40 %) sowie Propionibakterien (47 %) nachgewiesen. Letztere Besiedlung war in 57 % der Fälle mit einer Akne im Rückenbereich assoziiert.

In 82 % der Fälle konnte das positive Ergebnis mindestens in einer weiteren dokumentierten Verlängerungsoperation bestätigt werden. Zur Überprüfung dieser Hypothese im Langzeitverlauf sind allerdings größere Fallzahlen sowie längere Beobachtungszeiträume notwendig.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen deutlich höhere Wahrscheinlichkeiten für eine bakterielle Kolonisation an Titanimplantaten bei Kindern als bisher bekannt. Mögliche therapeutische Konsequenzen wären, beispielsweise für die endgültige operative Versorgung der Patienten, ein zweizeitiges Vorgehen zu wählen, um ein Übergreifen einer bakteriellen Kolonisation vom VEPTR-System auf das endgültige, bei einer Spondylodese eingebrachte Implantatsystem zu verhindern. Mit einem individuellen, am Patienten ausgerichteten Prozedere, könnte so eine erhöhte therapeutische Sicherheit erzielt werden.

6 Anhang



Universitätsmedizin Göttingen
Georg-August-Universität
Abteilung Orthopädie
Schwerpunkt Kinderorthopädie

Einverständniserklärung der Eltern des Patienten zur Teilnahme an der klinischen Studie:

Biofilm auf Langzeitimplantaten am Beispiel des VEPTR-Systems

- Bitte lesen Sie dieses Formular sorgfältig durch.
- Bitte fragen Sie, wenn Sie etwas nicht verstehen oder wissen möchten.

Nummer der Studie:	
Titel der Studie:	Biofilm auf Langzeitimplantaten am Beispiel des VEPTR-Systems
Orte der Studie:	Universitätsmedizin Göttingen, Georg-August-Universität, Abteilung Orthopädie, Schwerpunkt Kinderorthopädie Robert-Koch-Str. 40, 37075 Göttingen, Tel. 0551-39-8781
Prüfärztin	Fr. Prof. Dr. med. A.-K. Hell
Patientin/Patient Name und Vorname: Geburtsdatum: Patientennummer:	☐ weiblich ☐ männlich alternativ Aufkleber

- Ich wurde vom unterzeichnenden Arzt mündlich und schriftlich über die Ziele, den Ablauf der Studie, über die zu erwartenden Wirkungen, über mögliche Vor- und Nachteile sowie über eventuelle Risiken informiert.
- Ich habe die zur oben genannten Studie abgegebene schriftliche Patienteninformation gelesen und verstanden. Meine Fragen im Zusammenhang mit der Teilnahme an dieser Studie sind mir zufriedenstellend beantwortet worden. Ich kann die schriftliche Patienteninformation behalten und erhalte eine Kopie meiner schriftlichen Einverständniserklärung.
- Ich wurde über mögliche andere Behandlungen und Behandlungsverfahren aufgeklärt.
- Ich hatte genügend Zeit, um meine Entscheidung zu treffen.
- Ich weiß, dass die persönlichen Daten meines Kindes nur in anonymisierter Form zu Forschungszwecken erfasst werden. Eine Weitergabe an Dritte oder eine namentliche Veröffentlichung in mündlicher oder schriftlicher Form erfolgt nicht! Ich bin einverstanden, dass die zuständigen Fachkräfte des Studienauftraggebers, der Behörden und der Ethikkommission zu Prüf- und Kontrollzwecken in meine Originaldaten Einsicht nehmen dürfen, jedoch unter strikter Einhaltung der Vertraulichkeit.
- Mein Kind nimmt an dieser Studie freiwillig teil. Ich kann jederzeit und ohne Angabe von Gründen meine Zustimmung zur Teilnahme meines Kindes widerrufen, ohne dass ihm deswegen Nachteile bei der weiteren medizinischen Betreuung entstehen. In diesem Fall wird mein Kind zu seiner Sicherheit abschließend medizinisch untersucht.

Biofilm auf Langzeitimplantaten – Eltern-Einverständniserklärung -2-

- Ich bin mir bewusst, dass während der Studie die in der Patienteninformation genannten Anforderungen und Einschränkungen einzuhalten sind. Im Interesse der Gesundheit meines Kindes kann es der Prüfarzt jederzeit von der Studie ausschließen. Dabei orientiere ich den Prüfarzt über die gleichzeitige Behandlung bei einem anderen Arzt sowie über die Einnahme von Medikamenten (vom Arzt verordnete oder selbständig gekaufte).

Ort, Datum — Unterschrift des gesetzlichen Vertreters des Patienten/der Patientin (der Eltern)

Bestätigung des Prüfarztes: Hiermit bestätige ich, dass ich diesen Patienten/dieser Patientin und seinen Eltern Wesen, Bedeutung und Tragweite der Studie erläutert habe. Ich versichere, alle im Zusammenhang mit dieser Studie stehenden Verpflichtungen zu erfüllen. Sollte ich zu irgendeinem Zeitpunkt während der Durchführung der Studie von Aspekten erfahren, welche die Bereitschaft des Patienten/der Patientin zur Teilnahme an der Studie beeinflussen könnten, werde ich ihn/sie umgehend darüber informieren.

Ort, Datum — Unterschrift der Prüfärztin/des Prüfarztes

Abbildung 1: Einverständniserklärung der Eltern des Patienten zur Teilnahme an der klinischen Studie

Universitätsmedizin Göttingen
Georg-August-Universität
Abteilung Orthopädie
Schwerpunkt Kinderorthopädie

Elterninformation

Studie: Biofilm auf Langzeitimplantaten am Beispiel des VEPTR-Systems

Sehr geehrte(r) Patient(in), sehr geehrte Eltern (Erziehungsberechtigte),

wir möchten Sie hiermit fragen, ob sie und Ihr Kind bereit wären, an folgender Studie teilzunehmen:

Auswahl der Studienteilnehmer

Sie wurden für die Studie ausgewählt, weil bei Ihrem Kind eine Skoliose der Wirbelsäule vorliegt und eine Verlängerungsoperation des VEPTR-Systems ansteht. Wie Ihnen im Rahmen des präoperativen Aufklärungsgesprächs bereits ausführlich erläutert wurde, wird dieses Implantat nach der primären Implantation ca. alle 6 Monate verlängert. Wenn mit ca. 10-14 Jahren das Wirbelsäulenwachstum Ihres Kindes abgeschlossen ist, wird in aller Regel eine Versteifung der Wirbelsäule durchgeführt (eine sogenannte Derotationsspondylodese).

Ab und an treten im Verlauf der Jahre bei manchen Patienten Wundheilungsstörungen auf. Uns interessiert, ob diese Wundheilungsstörungen durch Bakterien ausgelöst werden oder nicht.

Das bei Ihrem Kind gewählte Operationsverfahren ist nicht von dieser Studie abhängig, sondern richtet sich einzig und allein nach der Grunderkrankung. Die Behandlung wird mit dem in unserem Haus für diesen Fall üblichen Operationsverfahren durchgeführt. Vielmehr möchten wir im Rahmen dieser Studie Untersuchungsdaten - die routinemäßig erhoben werden - möglichst vieler betroffener Kinder anonym auswerten.

Ziel der Studie

Wir möchten mit Hilfe unterschiedlicher Untersuchungen herausfinden, ob Implantate, die viele Jahre im Patientenkörper verweilen, nach mehreren Operationen mit einem Bakterienrasen (einem sogenannten Biofilm) überzogen sind oder nicht.

Freiwilligkeit der Teilnahme

Die Teilnahme Ihres Kindes an dieser Studie ist **freiwillig**. Wenn Sie auf die Teilnahme an dieser Studie verzichten, hat Ihr Kind **keine** Nachteile für seine weitere medizinische Betreuung zu erwarten. Das gleiche gilt, wenn Sie Ihre dazu gegebene Einwilligung zu einem späteren Zeitpunkt widerrufen. Diese Möglichkeit haben Sie jederzeit. Einen Widerruf Ihrer Einwilligung bzw. den Rücktritt von der Studie müssen Sie nicht begründen. Im Falle eines Widerrufes werden die bis zu diesem Zeitpunkt erhobenen Daten Ihrem Wunsch entsprechend weiterverwendet oder gelöscht.

Studienablauf

Es handelt sich um eine sogenannte Beobachtungsstudie, d.h. die Studie nimmt keinen Einfluss auf die Behandlung Ihres Kindes, sondern es werden lediglich Daten aus der Krankenakte gesammelt und anonym ausgewertet. Sollten Sie einer Studienteilnahme zustimmen, dann würden die folgenden Daten gesammelt werden:

- Geburtsdatum
- Geschlecht
- Größe, Gewicht
- Datum der VEPTR-Primärimplantation
- Implantatbezeichnung (VEPTR I oder VEPTR II)
- Anzahl der bisherigen Wechseloperationen
- wichtige Grunderkrankungen im Bezug auf die Skoliose, wie z.B. eine Muskelatrophie, ein intraspinaler Tumor, eine Myelomeningozele, ...
- weitere Grunderkrankungen, die einen Risikofaktor darstellen, wie z.B. Diabetes mellitus, immunsuppressive Grunderkrankungen
- fragliche Risikofaktoren: Asthma bronchiale, Epilepsie, Vorhandensein einer PEG/ eines Tracheostomas/ eines Blasenkatheters, einer chronischen Besiedlung mit MRSA/ ESBL ...
- Dauermedikation, speziell Cortisontherapie, Valproatherapie, Immunsuppressiva/ Rheumamittel
- Vorausgegangene Implantat-Infektionen und Wundheilungsstörungen
- aktuelle Krankheitszeichen (Fieber, Schupfen, Husten)
- klinischer Befund: Haut- und Wundverhältnisse
- Körpertemperatur
- Laborparameter, welche unter Umständen erst kurz vor OP-Beginn im OP-Saal bestimmt werden (kleines Blutbild, CRP, PCT, BSG)
- Dokumentation der Antibiosen (intraoperative Single-shot-Antibiose Ja/ Nein & welches Präparat, ggf. Dauer eine Anschlussantibiose)
- Dokumentation des klinischen Verlaufes der Wundheilung: anhand der Parameter Rötung Ja/ Nein, Schwellung Ja/ Nein, Druckschmerz JA/ Nein, Fieber/ Temperatur > 38,4°C
- Dokumentation eventueller Komplikationen und Folgeeingriffe

Die aufgezählten Daten werden routinemäßig bei jeder Operation erfasst und gehen größtenteils aus der Patientenakte Ihres Kindes hervor. Als zusätzliche Maßnahme würde ein Abstrichscreening des Nasen-Rachen-Raumes und der Hautfalten durchgeführt werden. Dies geschieht mit Wattetupfern und ist schmerzfrei.

Mit die wichtigsten Informationen gewinnen wir aus einem Implantatstückchen, das normalerweise bei jeder Wechseloperation entsorgt wird, dem sogenannten Schloss. Dieses wird in unseren Laboren auf Biofilme untersucht.

Es entstehen dabei für Sie keinerlei Kosten. Für Ihr Kind sind diese Untersuchungen ohne Risiko und bieten ihm sogar einen zusätzlichen Schutz.

Alternative Behandlungsmethoden

Falls sie nicht an der Studie teilnehmen wollen, empfehlen wir genau die gleiche Behandlung. Es werden lediglich die Daten Ihres Kindes nicht für wissenschaftliche Zwecke ausgewertet.

Nutzen für die Teilnehmer

- Die Teilnahme an dieser klinischen Studie hat für Ihr Kind wahrscheinlich keinen direkten persönlichen Nutzen, außer es würde im Verlauf der nächsten Jahre ein Infekt des Implantatlagers auftreten. Dann könnte man auf die mikrobiologischen Untersuchungsergebnisse zurückgreifen.
- Dank Ihrer Studienteilnahme können die Ergebnisse jedoch nach Auswertung der Daten zu einem späteren Zeitpunkt anderen Kindern mit dem gleichen Leiden einen wesentlichen Nutzen bringen.

Risiken und Unannehmlichkeiten

- Die Behandlung läuft genau gleich ab, ob Ihr Kind an der Studie teilnimmt oder nicht. Sie müssen auch nicht zu zusätzlichen, nicht ohnehin vorgesehenen Kontrollen kommen. Die Teilnahme an der Studie bewirkt somit keine zusätzlichen Risiken oder Unannehmlichkeiten. Die Daten Ihres Kindes werden vertraulich behandelt und fließen nur anonymisiert in die Studie ein.

Neue Erkenntnisse

Der Prüfarzt informiert Sie über alle neuen Erkenntnisse, die den Nutzen oder die Sicherheit der Studie und somit Ihre Einwilligung zur Teilnahme an der Studie beeinflussen können. Sie werden diese Information schriftlich erhalten.

Vertraulichkeit der Daten

In dieser Studie werden persönliche Daten von Ihrem Kind erfasst. Diese Daten werden anonymisiert. Sie sind nur Mitarbeitern unserer Klinik zur wissenschaftlichen Auswertung zugänglich. Diese, sowie im Rahmen von Inspektionen auch die Mitglieder der zuständigen Behörden können Einsicht in Ihre Originaldaten nehmen. Ebenso kann die zuständige Ethikkommission Einsicht in die Originaldaten nehmen. Während der ganzen Studie und bei den erwähnten Kontrollen wird die Vertraulichkeit strikt gewahrt. **Ihr Name wird in keiner Weise in Vorträgen oder Publikationen, die aus der Studie hervorgehen, veröffentlicht.**

Kosten

Die in dieser Patienten- Information erwähnten Untersuchungen bzw. Studienmedikamente sind **kostenlos**. Ihnen entstehen im Zusammenhang mit Ihrer Teilnahme keine zusätzlichen Kosten.

Entschädigung für die Studienteilnehmenden

Für die Teilnahme an dieser klinischen Studie erhalten weder Sie noch Ihr Kind eine Entschädigung.

Unfreiwilliger Studienabbruch

Ihre Teilnahme kann durch den Prüfarzt, abgebrochen werden, wenn die Daten ungenügend erfasst wurden.

Kontaktperson(en)

Bei Unklarheiten, Notfällen, unerwarteten oder unerwünschten Ereignissen, die während der Studie oder nach deren Abschluss auftreten, können Sie sich jederzeit an die Kollegen des Kinderorthopädischen Schwerpunktes wenden.

Abbildung 2: Elterninformation zur Teilnahme an der Studie

Universitätsmedizin Göttingen
Georg-August-Universität
Abteilung Orthopädie
Schwerpunkt Kinderorthopädie

Patienteninformation für Kinder im Alter von 7-12 Jahren

Studie: Biofilm auf Langzeitimplantaten am Beispiel des VEPTR-Systems

Sehr geehrte(r) Patient(in), liebe Kinder!

Bald steht eine Verlängerungsoperation Deines Wirbelsäulenimplantates an. Um die sogenannten Titanrippen, die unter Deiner Haut versteckt sind und Deinen Rücken gerade halten, verlängern zu können, muss eine kleine Klammer getauscht werden. Diese Klammer nennen wir Schloss.

Leider heilen nicht alle Wunden immer problemlos und deshalb fragen wir uns, ob vielleicht Bakterien auf den Implantaten sitzen, ähnlich wie Karies-Bakterien auf den Zähnen, und ob man diese entfernen muss. Um das herauszufinden, möchten wir gerne das Schloss unter ein spezielles Laser-Mikroskop legen und nach den Bakterien suchen.

Außerdem würden wir gerne mit einem Wattetupfer Deine Nase, Deinen Mund, Deine Achseln und Deine Leisten auf krankmachende Bakterien untersuchen, um herauszufinden, ob es möglicherweise einen Zusammenhang gibt.

Wenn ganz viele Kinder an dieser Studie teilgenommen haben, werden wir wahrscheinlich die Operationen für alle noch sicherer machen können.

Du solltest wissen, dass Deine Behandlung immer die gleiche sein wird, egal ob Du Dein Schloss untersuchen lässt oder nicht. Wenn Du mitmachen möchtest, werden keine zusätzlichen Untersuchungen oder Operationen im Anschluss an die geplante Operation durchgeführt.

Außer den genannten Untersuchungen würden wir noch weitere Daten notieren und während der Narkose, wenn Du fest schläfst, würde noch eine Blutprobe entnommen werden. All diese Daten sind nicht mit Deinem Namen gekennzeichnet sondern tragen eine anonymisierte Nummer, eine Art Geheimnummer. Deinen wahren Namen kennen nur die Ärzte von der Station 2023 und es wird über Dich niemals namentlich berichtet!

Wir würden uns freuen, wenn Du neugierig geworden wärst und mitmachen möchtest. Wenn nicht, ist das auch nicht schlimm. Dann verläuft ebenfalls alles so weiter wie geplant.

Das Team der Station 2023 wünscht Dir

ALLES GUTE !

Abbildung 3: Information für Kinder im Alter von 7-12 Jahren zur Teilnahme an der Studie

7 Literaturverzeichnis

Al-Ahmad A, Wiedmann-Al-Ahmad M, Faust J, Bächle M, Follo M, Wolkewitz M, Hannig C, Hellwig E, Carvalho C, Kohal R (2010): Biofilm formation and composition on different implant materials in vivo. J Biomed Mater Res B Appl Biomater 95, 101–109

Allam AM, Schwabe AL (2013): Neuromuscular scoliosis. PM R 5, 957–963

Arciola CR, Campoccia D, Gamberini S, Donati ME, Pirini V, Visai L, Speziale P, Montanaro L (2005): Antibiotic resistance in exopolysaccharide-forming Staphylococcus epidermidis clinical isolates from orthopaedic implant infections. Biomaterials 26, 6530–6535

Arciola CR, Visai L, Testoni F, Arciola S, Campoccia D, Speziale P, Montanaro L (2011): Concise survey of Staphylococcus aureus virulence factors that promote adhesion and damage to peri-implant tissues. Int J Artif Organs 34, 771–780

Atkins BL, Athanasou N, Deeks JJ, Crook DW, Simpson H, Peto TE, McLardy-Smith P, Berendt AR (1998): Prospective evaluation of criteria for microbiological diagnosis of prosthetic-joint infection at revision arthroplasty. The OSIRIS Collaborative Study Group. J Clin Microbiol 36, 2932–2939

Barsdorf AI, Sproule DM, Kaufmann P (2010): Scoliosis surgery in children with neuromuscular disease: findings from the US National Inpatient Sample, 1997 to 2003. Arch Neurol 67, 231–235

Bayston R, Ashraf W, Barker-Davies R, Tucker E, Clement R, Clayton J, Freeman BJC, Nuradeen B (2007): Biofilm formation by Propionibacterium acnes on biomaterials in vitro and in vivo: impact on diagnosis and treatment. J Biomed Mater Res A 81, 705–709

Borens O, Corvec S, Trampuz A (2012): Diagnosis of periprosthetic joint infections. Hip Int J Clin Exp Res Hip Pathol Ther 22 Suppl 8, S9-14

Bottner F, Wegner A, Winkelmann W, Becker K, Erren M, Götze C (2007): Interleukin-6, procalcitonin and TNF-alpha: markers of peri-prosthetic infection following total joint replacement. J Bone Joint Surg Br 89, 94–99

Brunner R, Gebhard F (2002): Neurogenic spinal deformities. I. Conservative and surgical treatment of spinal deformities. Orthop 31, 51–57

Buckup K, Linke L-C, Pothmann M, Cordier W: Kinderorthopädie. 2. Auflage; Thieme, Stuttgart 2001

Bunnell WP (1986): The natural history of idiopathic scoliosis before skeletal maturity. Spine 11, 773–776

Campbell RM, Hell-Vocke AK (2003): Growth of the thoracic spine in congenital scoliosis after expansion thoracoplasty. J Bone Joint Surg Am 85–A, 409–420

Campbell RM, Smith MD (2007): Thoracic insufficiency syndrome and exotic scoliosis. J Bone Joint Surg Am 89 Suppl 1, 108–122

Campbell RM, Smith MD, Mayes T, Pinero R: The treatment of thoracic insufficiency syndrome scientific exhibit; American Academy of Orthopaedic Surgeons annual meeting, Washington DC, Februar 1992

Campbell RM, Smith MD, Hell-Vocke AK (2004): Expansion thoracoplasty: the surgical technique of opening-wedge thoracostomy. Surgical technique. J Bone Joint Surg Am 86–A Suppl 1, 51–64

Campoccia D, Montanaro L, Arciola CR (2006): The significance of infection related to orthopedic devices and issues of antibiotic resistance. Biomaterials 27, 2331–2339

Celsus, Aulus Cornelius: De medicina libri VIII. BSB Clm 69; Florenz 1465

Clark CE, Shufflebarger HL (1999): Late-developing infection in instrumented idiopathic scoliosis. Spine 24, 1909–1912

Cobb JR (1948): Outline for the study of scoliosis. AAOS 7, 261-275

Cooper HJ, Della Valle CJ (2013): Advances in the diagnosis of periprosthetic joint infection. Expert Opin Med Diagn 7, 257–263

Corstens FH, van der Meer JW (1999): Nuclear medicine's role in infection and inflammation. Lancet Lond Engl 354, 765–770

Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP (1999): Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. Science 284, 1318–1322

Costerton W, Veeh R, Shirtliff M, Pasmore M, Post C, Ehrlich G (2003): The application of biofilm science to the study and control of chronic bacterial infections. J Clin Invest 112, 1466–1477

Czogała W, Goździk J, Czogała M, Klepacka J, Krasowska-Kwiecień A, Skoczen S, Wiecha O, Pietrys D, Wedrychowicz A (2010): Evaluation of colonization by multidrug-resistant organisms and infections' frequency in chronically and incurably ill children under care of the Cracow children's Hospice of Father J. Tischner. Przegl Lek 67, 40–44

Dalton HM, March PE (1998): Molecular genetics of bacterial attachment and biofouling. Curr Opin Biotechnol 9, 252–255

Della Valle CJ, Zuckerman JD, Di Cesare PE (2004): Periprosthetic sepsis. Clin Orthop 420, 26–31

Donlan RM (2002): Biofilms: microbial life on surfaces. Emerg Infect Dis 8, 881–890

Forst R, Forst J, Heller KD, Hengstler K (1997): Characteristics in the treatment of scoliosis in muscular diseases. Z Für Orthop Ihre Grenzgeb 135, 95–105

Ghodsi SZ, Orawa H, Zouboulis CC (2009): Prevalence, severity, and severity risk factors of acne in high school pupils: a community-based study. J Invest Dermatol 129, 2136–2141

Giacometti A, Cirioni O, Schimizzi AM, Del Prete MS, Barchiesi F, D'Errico MM, Petrelli E, Scalise G (2000): Epidemiology and microbiology of surgical wound infections. J Clin Microbiol 38, 918–922

Goldberg CJ, Moore DP, Fogarty EE, Dowling FE (2008): Scoliosis: a review. Pediatr Surg Int 24, 129–144

Grice EA, Segre JA (2011): The skin microbiome. Nat Rev Microbiol 9, 244–253

Gristina AG (1987): Biomaterial-centered infection: microbial adhesion versus tissue integration. Science 237, 1588–1595

Groß U: Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie. 3. Auflage; Thieme, Stuttgart 2013

Hahn F, Zbinden R, Min K (2005): Late implant infections caused by Propionibacterium acnes in scoliosis surgery. Eur Spine J 14, 783–788

Halm H, Richter A, Thomsen B, Köszegvary M, Ahrens M, Quante M (2009): Anterior scoliosis surgery. State of the art and a comparison with posterior techniques. Orthopäde 38, 131–145

Hartley JC, Harris KA (2014): Molecular techniques for diagnosing prosthetic joint infections. J Antimicrob Chemother 69, 21-24

Hasler C-C, Mehrkens A, Hefti F (2010): Efficacy and safety of VEPTR instrumentation for progressive spine deformities in young children without rib fusions. Eur Spine J 19, 400–408

Hefti F (2002): Congenital anomalies of the spine. Orthop 31, 34–43

Hell AK, Hefti F, Campbell RM (2004): Treatment of congenital scoliosis with the vertical expandable prosthetic titanium rib implant. Orthop 33, 911–918

Hell AK, Campbell RM, Hefti F (2005): The vertical expandable prosthetic titanium rib implant for the treatment of thoracic insufficiency syndrome associated with congenital and neuromuscular scoliosis in young children. J Pediatr Orthop Part B 14, 287–293

Holmberg A, Lood R, Mörgelin M, Söderquist B, Holst E, Collin M, Christensson B, Rasmussen M (2009): Biofilm formation by Propionibacterium acnes is a characteristic of invasive isolates. Clin Microbiol Infect 15, 787–795

Hopf C (2000): Criteria for treatment of idiopathic scoliosis between 40 degrees and 50 degrees. Surgical vs. conservative therapy. Orthopade 29, 500–506

Huebner J, Goldmann DA (1999): Coagulase-negative staphylococci: role as pathogens. Annu Rev Med 50, 223–236

Kusahara DM, Friedlander LT, Peterlini MAS, Pedreira MLG (2012): Oral care and oropharyngeal and tracheal colonization by Gram-negative pathogens in children. Nurs Crit Care 17, 115–122

Liu P-F, Hsieh Y-D, Lin Y-C, Two A, Shu C-W, Huang C-M (2015): Propionibacterium acnes in the pathogenesis and immunotherapy of acne vulgaris. Curr Drug Metab 16, 245–254

Lonstein JE, Carlson JM (1984): The prediction of curve progression in untreated idiopathic scoliosis during growth. J Bone Joint Surg Am 66, 1061–1071

Lonstein JE, Bradford DS, Winter RB: Moe's Textbook of Scoliosis & Other Spinal Deformities; Saunders, Philadelphia 1995

Lowe TG, Edgar M, Margulies JY, Miller NH, Raso VJ, Reinker KA, Rivard CH (2000): Etiology of idiopathic scoliosis: current trends in research. J Bone Joint Surg Am 82–A, 1157–1168

Mack D, Rohde H, Harris LG, Davies AP, Horstkotte MA, Knobloch JK-M (2006): Biofilm formation in medical device-related infection. Int J Artif Organs 29, 343–359

Mackenzie WGS, Matsumoto H, Williams BA, Corona J, Lee C, Cody SR, Covington L, Saiman L, Flynn JM, Skaggs DL, et al. (2013): Surgical site infection following spinal instrumentation for scoliosis: a multicenter analysis of rates, risk factors, and pathogens. J Bone Joint Surg Am 95, 800–806

Marrie TJ, Costerton JW (1984): Scanning and transmission electron microscopy of in situ bacterial colonization of intravenous and intraarterial catheters. J Clin Microbiol 19, 687–693

Marrie TJ, Nelligan J, Costerton JW (1982): A scanning and transmission electron microscopic study of an infected endocardial pacemaker lead. Circulation 66, 1339–1341

McMaster MJ, Ohtsuka K (1982): The natural history of congenital scoliosis. A study of two hundred and fifty-one patients. J Bone Joint Surg Am 64, 1128–1147

McMaster MJ, McMaster ME (2013): Prognosis for congenital scoliosis due to a unilateral failure of vertebral segmentation. J Bone Joint Surg Am 95, 972–979

Montanaro L, Testoni F, Poggi A, Visai L, Speziale P, Arciola CR (2011a): Emerging pathogenetic mechanisms of the implant-related osteomyelitis by Staphylococcus aureus. Int J Artif Organs 34, 781–788

Montanaro L, Speziale P, Campoccia D, Ravaioli S, Cangini I, Pietrocola G, Giannini S, Arciola CR (2011b): Scenery of Staphylococcus implant infections in orthopedics. Future Microbiol 6, 1329–1349

Nandyala SV, Schwend RM (2013): Prevalence of intraoperative tissue bacterial contamination in posterior pediatric spinal deformity surgery. Spine 38, 482-486

Nickel JC, Costerton JW, McLean RJ, Olson M (1994): Bacterial biofilms: influence on the pathogenesis, diagnosis and treatment of urinary tract infections. J Antimicrob Chemother 33, 31–41

O'Toole JE, Eichholz KM, Fessler RG (2009): Surgical site infection rates after minimally invasive spinal surgery. J Neurosurg Spine 11, 471–476

Passerini L, Lam K, Costerton JW, King EG (1992): Biofilms on indwelling vascular catheters. Crit Care Med 20, 665–673

Picada R, Winter RB, Lonstein JE, Denis F, Pinto MR, Smith MD, Perra JH (2000): Postoperative deep wound infection in adults after posterior lumbosacral spine fusion with instrumentation: incidence and management. J Spinal Disord 13, 42–45

Piper KE, Jacobson MJ, Cofield RH, Sperling JW, Sanchez-Sotelo J, Osmon DR, McDowell A, Patrick S, Steckelberg JM, Mandrekar JN, et al. (2009): Microbiologic diagnosis of prosthetic shoulder infection by use of implant sonication. J Clin Microbiol 47, 1878–1884

Piper KE, Fernandez-Sampedro M, Steckelberg KE, Mandrekar JN, Karau MJ, Steckelberg JM, Berbari EF, Osmon DR, Hanssen AD, Lewallen DG, et al. (2010): C-reactive protein, erythrocyte sedimentation rate and orthopedic implant infection. PloS One 5, 9358

Plaass C, Hasler CC, Heininger U, Studer D (2016): Bacterial colonization of VEPTR implants under repeated expansions in children with severe early onset spinal deformities. Eur Spine J Soc 25, 549–556

Radtke K, Tetzlaff T, Vaske B, Ettinger M, Claaßen L, Flörkemeier T, Windhagen H, Lewinski G von (2016): Arthroplasty-center related retrospective analysis of risk factors for Periprosthetic Joint Infection after primary and after revision Total Hip Arthroplasty. Technol Health Care Off J Eur Soc Eng Med 24, 721–728

Ramage G, Tunney MM, Patrick S, Gorman SP, Nixon JR (2003): Formation of Propionibacterium acnes biofilms on orthopaedic biomaterials and their susceptibility to antimicrobials. Biomaterials 24, 3221–3227

Reames DL, Smith JS, Fu K-MG, Polly DW, Ames CP, Berven SH, Perra JH, Glassman SD, McCarthy RE, Knapp RD, et al. (2011): Complications in the surgical treatment of 19,360 cases of pediatric scoliosis: a review of the Scoliosis Research Society Morbidity and Mortality database. Spine 36, 1484–1491

Richards BR, Emara KM (2001): Delayed infections after posterior TSRH spinal instrumentation for idiopathic scoliosis: revisited. Spine 26, 1990–1996

Richards BS (1995): Delayed infections following posterior spinal instrumentation for the treatment of idiopathic scoliosis. J Bone Joint Surg Am 77, 524–529

Sanders JO (2007): Maturity indicators in spinal deformity. J Bone Joint Surg Am 89 Suppl 1, 14–20

Sanders JO, Browne RH, McConnell SJ, Margraf SA, Cooney TE, Finegold DN (2007): Maturity assessment and curve progression in girls with idiopathic scoliosis. J Bone Joint Surg Am 89, 64–73

Shida T, Koseki H, Yoda I, Horiuchi H, Sakoda H, Osaki M (2013): Adherence ability of Staphylococcus epidermidis on prosthetic biomaterials: an in vitro study. Int J Nanomedicine 8, 3955–3961

Smith SL, Wastie ML, Forster I (2001): Radionuclide bone scintigraphy in the detection of significant complications after total knee joint replacement. Clin Radiol 56, 221–224

Spangehl MJ, Masri BA, O'Connell JX, Duncan CP (1999): Prospective analysis of preoperative and intraoperative investigations for the diagnosis of infection at the sites of two hundred and two revision total hip arthroplasties. J Bone Joint Surg Am 81, 672–683

Stewart PS, Costerton JW (2001): Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. Lancet Lond Engl 358, 135–138

Trampuz A, Steckelberg JM, Osmon DR, Cockerill FR, Hanssen AD, Patel R (2003a): Advances in the laboratory diagnosis of prosthetic joint infection. Rev Med Microbiol 14, 1-14

Trampuz A, Osmon DR, Hanssen AD, Steckelberg JM, Patel R (2003b): Molecular and antibiofilm approaches to prosthetic joint infection. Clin Orthop 414, 69–88

Trampuz A, Hanssen AD, Osmon DR, Mandrekar J, Steckelberg JM, Patel R (2004): Synovial fluid leukocyte count and differential for the diagnosis of prosthetic knee infection. Am J Med 117, 556–562

Trampuz A, Piper KE, Jacobson MJ, Hanssen AD, Unni KK, Osmon DR, Mandrekar JN, Cockerill FR, Steckelberg JM, Greenleaf JF, Patel R (2007): Sonication of removed hip and knee prostheses for diagnosis of infection. N Engl J Med 357, 654–663

Trobisch P, Suess O, Schwab F (2010): Idiopathic scoliosis. Dtsch Ärztebl Int 107, 875-883

Uçkay I, Teterycz D, Ferry T, Harbarth S, Lübbeke A, Emonet S, Chilcott M, Hoffmeyer P, Bernard L (2009): Poor utility of MRSA screening to predict staphylococcal species in orthopaedic implant infections. J Hosp Infect 73, 89–91

Weiss H-R, Negrini S, Rigo M, Kotwicki T, Hawes MC, Grivas TB, Maruyama T, Landauer F (2008): Indications for conservative management of scoliosis (SOSORT guidelines). Stud Health Technol Inform 135, 164–170

White KK, Song KM, Frost N, Daines BK (2011): VEPTR™ Growing Rods for Early-onset Neuromuscular Scoliosis: Feasible and Effective. Clin Orthop 469, 1335–1341

Widmer AF (2001): New developments in diagnosis and treatment of infection in orthopedic implants. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am 33 Suppl 2, 94-106

Yoda I, Koseki H, Tomita M, Shida T, Horiuchi H, Sakoda H, Osaki M (2014): Effect of surface roughness of biomaterials on Staphylococcus epidermidis adhesion. BMC Microbiol 14, 234

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. med. Anna-Kathrin Hell für die Möglichkeit zur Erstellung dieser Dissertation und für die wohlwollende Begleitung dieser Arbeit.

Ganz herzlich möchte ich mich bei meinem Betreuer Dr. med. Heiko Lorenz bedanken, der mich mit viel Einsatz während der gesamten Zeit unterstützte und wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.

Ich danke allen weiteren Mitarbeitern der Kinderorthopädie an der Universitätsmedizin Göttingen für ihre engagierte Mithilfe und stets hilfsbereite Art bei der Betreuung der Studienpatienten.

Ich möchte auch den Mitarbeitern der Mikrobiologie, besonders Frau Silvia Kellner, recht herzlich danken, die durch ein erhebliches Ausmaß an Mehrarbeit alle erforderlichen Untersuchungen im Rahmen der Studie zusätzlich zu ihrer regulären Arbeit im erforderlichen Zeitfenster ausgeführt haben und mir für meine eigene Labortätigkeit die Räumlichkeiten sowie wissenschaftliche Unterstützung zur Seite gestellt haben.

Für die Auswertung dieser Arbeit danke ich außerdem den Mitarbeitern der Medizinischen Statistik für ihre kompetente und geduldige Beratung und Betreuung.

Lebenslauf

Am 6. Oktober 1993 wurde ich als Tochter von Anja-Kathrin Wagner, geborene Friederichs, und Diplom-Ingenieur Claus Wagner in Landshut geboren.

Im Rahmen meiner Schulausbildung besuchte ich von 1999-2002 die Grundschule Destedt und von 2002-2010 das Dr. Wilhelm-Meyer-Gymnasium im Christlichen Jugenddorfwerk Deutschlands e.V. in Braunschweig. Dort erlangte ich im Juni 2010 die Allgemeine Hochschulreife mit der Note 1,0.

Mein Studium der Humanmedizin begann ich im Oktober 2010 an der Ludwig-Maximilians-Universität in München und beendete den 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung im August 2012 mit der Gesamtnote 1,5. Zur Weiterführung meines Studiums wechselte ich an die Georg-August-Universität in Göttingen und begann im Frühjahr 2013 mit den Arbeiten für die vorliegende Dissertation. Im Oktober 2015 bestand ich den 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung mit der Note 1,0.

Das Praktische Jahr absolvierte ich in der Klinik für Klinische Neurophysiologie der Universitätsmedizin Göttingen, in der Chirurgie des Städtischen Klinikums Wolfenbüttel sowie in der Kardiologie und Nephrologie/ Rheumatologie ebenfalls in der Universitätsmedizin Göttingen.

Im November 2016 habe ich mein Studium mit dem 3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung und der Gesamtnote 1,16 erfolgreich abgeschlossen.