

**Histopathologische Merkmale periprothetischer
Membranen in der zweizeitigen
Revisionsendoprothetik**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
Bonn

Alexander Hans Ralf Seuser

aus Bonn

2024

Angefertigt mit der Genehmigung
der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Dieter Christian Wirtz
2. Gutachter: Prof. Dr. med. Glen Kristiansen
3. Gutachter: Prof. Dr. med. Martin Schmid

Tag der Mündlichen Prüfung: 06.03.2024

Aus der Klinik und Poliklinik für Orthopädie und Unfallchirurgie
Direktor: Prof. Dr. med. D.C. Wirtz

Für alle Seelen, die an mich glauben, die mir stets mit unerschütterlicher Zuversicht und Liebe zur Seite stehen, die mich Demut lehren und mich das Leben lieben lassen.

Inhaltsverzeichnis

	Abkürzungsverzeichnis	7
1.	Einleitung	9
1.1	Problemstellung	9
1.2	Grundlagen der Endoprothetik des Hüft- und Kniegelenks	11
1.2.1	Indikationen und Kontraindikationen	12
1.2.2	Implantatcharakteristika und Verankerungsprinzipien	13
1.2.3	Allgemeine Daten, Standzeiten, Population und Outcome	16
1.2.4	Komplikationen in der Endoprothetik	17
1.3	Die periprothetische Infektion (PPI)	18
1.3.1	Definition	18
1.3.2	Klassifikation	22
1.3.3	Differentialdiagnostische Schwierigkeiten	24
1.3.4	Klinik	26
1.3.5	Diagnosealgorithmus	27
1.3.6	Radiologische Bildgebung	28
1.3.7	Laborchemie	31
1.3.8	Gelenkpunktion	34
1.3.9	Mikrobiologie	36
1.3.10	Histopathologie	39
1.3.11	MALDI-TOF MS	41
1.3.12	Gefrierschnitte	43
1.3.13	Die Relevanz immunhistochemischer Marker in der Diagnostik der PPI	43
1.3.14	Behandlungsalgorithmus	43
1.4	Hypothese und Fragestellung	45
2.	Material und Methode	46
2.1	Datenbank Erstellung	46
2.2	Aufbereitung der histopathologischen Proben	47
2.2.1	Tissue microarrays (TMAs)	47
2.2.2	Färbetechnik	48
2.2.3	Verwendete immunhistochemische Marker	50

2.3	Histologische Auswertung	51
2.4	Statistische Auswertung und Interpretation	52
3.	Ergebnisse	53
3.1	Patientenkollektiv	53
3.2	Qualitative Auswertung der immunhistochemischen Färbungen	54
3.3	Quantitative Auswertung der laborchemischen Parameter im Serum	62
3.4	Quantitative Auswertung der immunhistochemischen Färbungen	63
3.4.1	Übersicht und Auswertung der 15 immunhistochemischen Marker mit einem quantifizierbaren Ergebnis, sowie der 4 Serum Laborparameter	63
3.4.2	Auswertung CRP, C3 Komplement	64
3.4.3	Auswertung CD31 und CD34	65
3.4.4	Kollagen II, Kollagen IV und Elastase 3a	65
3.4.5	CD1a, CD3, CD4, CD5, CD20, CD38, CD56, CD138	67
3.4.6	Mastzelltryptase, EGFR, IgA, IgD, IgG 4, IgM	69
3.4.7	PAX2 und PAX5	70
4.	Diskussion	71
4.1	Aussagekraft und Grenzen der heutigen Diagnoseverfahren	71
4.2	Beurteilung der Ergebnisse	73
4.2.1	CRP	73
4.2.2	PAX2	75
4.2.3	Kollagen II und Kollagen IV	77
4.3	Vergleich mit anderen Arbeiten	79
4.4	Beurteilung der Methodik	80
4.4.1	Mögliche Fehlerquellen des Patientenkollektiv	80
4.4.2	Mögliche Fehlerquellen der histopathologischen Proben	80
4.5	Weitere Limitationen der Arbeit	82
5.	Zusammenfassung	83
6.	Abbildungsverzeichnis	84
7.	Tabellenverzeichnis	88
8.	Literaturverzeichnis	89
9.	Danksagung	102

Abkürzungsverzeichnis

PKR	Polymerase-Ketten-Reaktion
ASA	American Society of Anesthesiology
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
CD	Cluster of Differentiation
°C	Celsius
CRP	C-reaktives Protein
CT	Computertomographie
DAB	Diaminobenzidin
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DGOOC	Deutsche Gesellschaft für Orthopädie und Orthopädische Chirurgie
EDTA	Ethylendiaminetetraessigsäure
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
EPW	Einzeitiger Prothesenwechsel
EPRD	Endoprothesenregister
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
HE	Hämatoxylin und Eosin
HTP	Hüftgelenktotalendoprothese
ICG	International Consensus Group
ICM	International Consensus Meeting
IL	Interleukin
Kg	Kilogramm
KTP	Kniegelenktotalendoprothese
l	Liter
max	Maximum
mg	Milligramm
ml	Milliliter
min	Minimum
MAMP	Mikrobiell assoziierte molekulare Muster
mm	Millimeter

MPa	Megapascal
MSIS	Musculoskeletal Infection Society
NAR	Norwegisches Endoprothesenregister
ng	Nanogramm
NG	Neutrophile Granulozyten
p	P-Wert (Signifikanzniveau)
PAMP	Pathogen-assoziierte molekulare Muster
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
pg	Picogramm
PMMA	Polymethylmethacrylat
PMN	Polymorphkernige neutrophile Granulozyten
PPI	Periprothetische Infektion
PRR	Pattern Recognition Receptors
PCT	Procalcitonin
r	Pearson-Korrelationskoeffizient
SOP	Standard Operating Procedure
SOFA	Sequential Organ Failure Assessment
TLR	Toll-like Rezeptor
TVT	Tiefe Venenthrombose
UHMWPE	Ultrahochmolekulares Polyethylen
ZPW	Zweizeitiger Prothesenwechsel
μl	Mikroliter
μm	Mikrometer
h	Stunde
HPF	High-Power-Feld
95 %-KI	95 %-Konfidenzintervall

1. Einleitung

1.1 Problemstellung

Der endoprothetische Gelenkersatz an Knie und Hüfte zählt zu den erfolgreichsten Eingriffen in der Chirurgie überhaupt und weist eine sehr hohe Patientenzufriedenheit und Erfolgsrate auf. Dies hat dazu geführt, dass mit zunehmender Routine und Sicherheit auch die Implantationszahlen in den letzten Jahrzehnten kontinuierlich angestiegen sind und das Indikationsspektrum erweitert wurde. So erfolgten 2021 306.272 endoprothetische Eingriffe an Hüft- oder Kniegelenken (EPRD Jahresbericht, 2022). Auch betagte und umfangreich vorerkrankte Patienten können heutzutage relativ sicher mit einer Endoprothese versorgt werden. Naturgemäß folgt einer steigenden Anzahl an endoprothetisch-versorgten Patienten auch eine zunehmende Anzahl an Revisionsoperationen an diesen Kunstgelenken. Bedingt durch die rasch steigenden Fallzahlen und oft hoch komplexen Eingriffen hat sich die Revisionsendoprothetik zunehmend zu einer eigenen Subspezialisierung in der muskuloskelettalen Chirurgie entwickelt. Die Hauptversagensursachen der Kunstgelenke sind dabei die aseptische, meist abriebbedingte Lockerung (Hüftgelenk: 24,4 %, Kniegelenk: 23,5 %) und der periprothetische Infekt (Hüftgelenk: 16,7 %, Kniegelenk: 15 %) (EPRD Jahresbericht, 2022).

	Anteil [%]	Alter	m/w [%]	BMI	ASA
Infektion	16,7	73	49 / 51	28,7	2,7
Lockerung	24,4	75	42 / 58	27,0	2,5
Pfanne	12,9	75	35 / 65	26,8	2,4
Schaft	9,2	75	50 / 50	27,2	2,4
Pfanne und Schaft	2,3	77	45 / 55	27,1	2,5
Osteolyse bei festem Implantat	0,7	74	48 / 52	26,6	2,4
Pfanne	0,3	72	49 / 51	26,0	2,3
Schaft	0,2	74	31 / 69	28,1	2,5
Pfanne und Schaft	0,2	74,5	60 / 40	28,6	2,3
Periprothetische Fraktur	14,3	80	33 / 67	25,8	2,7
Luxation	13,0	79	32 / 68	26,0	2,6
Implantatverschleiß	5,8	75	42 / 58	27,5	2,3
Versagen einer Implantatkomponente	2,2	76	45 / 55	26,6	2,5
Implantatfehlage (auch Dislokation)	2,0	74	36 / 64	26,3	2,4
Progression der Arthrose	0,4	69	35 / 65	25,3	2,3
Zustand nach Prothesenentfernung	11,0	72	53 / 47	27,8	2,6
Andere Gründe	9,5	74	40 / 60	26,9	2,4

© EPRD Jahresbericht 2022

Abb. 1: EPRD Jahresbericht 2022 mit den dokumentierten Begründungen bei Folgeeingriffen an der Hüfte in 2021

Die differentialdiagnostische Unterscheidung dieser Ursachen ist anspruchsvoll, hat aber in den letzten Jahren dank neuer biochemischer, mikrobiologischer, histologischer, molekularbiologischer und zytometrischer Methoden schon erheblich an Sicherheit gewonnen. Letztlich erfordern beide Versagensursachen in der Regel den Wechsel des Kunstgelenks. Dabei können eine Keimbesiedlung oder der entstandene Weichteil- oder Knochenschaden aber bedingen, dass die Reimplantation eines neuen Gelenks im gleichen Eingriff, also ein sogenannter einzeitiger Prothesenwechsel, nicht möglich ist. Die Patienten durchleben dann ein oft mehrwöchiges prothesenfreies Intervall, was die Mobilität maximal einschränkt und die Reimplantation oft erschwert. Über den idealen Zeitpunkt der Reimplantation nach Explantation und die Therapie im prothesenfreien Intervall gibt es keine evidenzbasierten Leitlinien. In Abhängigkeit der Klinik des Patienten, der laborchemischen Entzündungsparameter, der mikrobiologischen Befunde und der Histopathologie wird bislang entschieden, ob ein Gewebe als konsolidiert und mutmaßlich infektfrei gilt und eine neue Prothese implantiert werden kann. Diese Kriterien sind im

Moment sehr subjektiv und haben bislang keine Validierung erfahren. Diese Arbeit strebt an, diese diagnostische Lücke ein Stück weit zu schließen. Bezüglich der Histopathologie des Protheseninfektes, also der Proben, die beim Prothesenausbau gewonnen werden, hat sich die Klassifikation nach Krenn und Morawietz etabliert. Angelehnt an diese Klassifikation und erweitert um immunhistologische Maßnahmen wollen wir, im Rahmen der histopathologischen Observierung von periprothetischen Membranen in der zweizeitigen Revisionsendoprothetik, immunhistochemische Marker herausarbeiten, welche signifikant mit anderen diagnostischen Kriterien (Mikrobiologie, Zytologie, Laborchemie und klinischem Befund) korrelieren und infektfreies Gewebe von solchem mit persistierender Infektion auch in Anwesenheit von Abriebpartikeln, Narben und Umbauzonen unterscheiden können. Hierfür werden histopathologische Proben, welche sicher solchen Patienten mit konsolidiertem oder persistierendem Infekt nach Explantation einer Endoprothese zugeordnet werden können, als Tissue Mikro Array aufgearbeitet. Dieses Verfahren ermöglicht es aus vorhandenen Paraffinblöcken kleine Ausschnitte aussagekräftiger Areale einzubetten und so zahlreiche Proben in einem Schnitt vergleichen zu können. Im Sinne eines Screenings können dann verschiedene vorhandene immunhistochemische Marker mit vertretbarem Aufwand verwendet und auf ihren diagnostischen Nutzen evaluiert werden. Durch die retrospektive Aufarbeitung der Patienten ist die Krankengeschichte und das Outcome bekannt, sodass alle verfügbaren klinischen und diagnostischen Verfahren verglichen werden und die Analyse damit auf ihre Validität hin überprüft werden kann.

1.2 Grundlagen der Endoprothetik des Hüft- und Kniegelenks

Die Arthrose ist kein Phänomen der Neuzeit. Paläopathologen konnten arthrotisch veränderte Hüftgelenke bereits in frühen Skelettfunden nachweisen (Learmonth et al., 2007). Anhand der Untersuchung von größeren Kollektiven von Skeletten aus dem Mittelalter konnte gezeigt werden, dass sich die Prävalenz der Hüftgelenksarthrose über die Zeit kaum verändert hat (Rogers und Dieppe, 1994). Der bedeutendste, erste dokumentierte Gelenkersatz der Neuzeit wurde bereits im Jahr 1890 in Berlin durch den Chirurgen Themistocles Gluck (1853 - 1942) durchgeführt. Dieser Gelenkersatz bestand aus Elfenbein mit Kolophonium sowie Gips als Knochenzement.

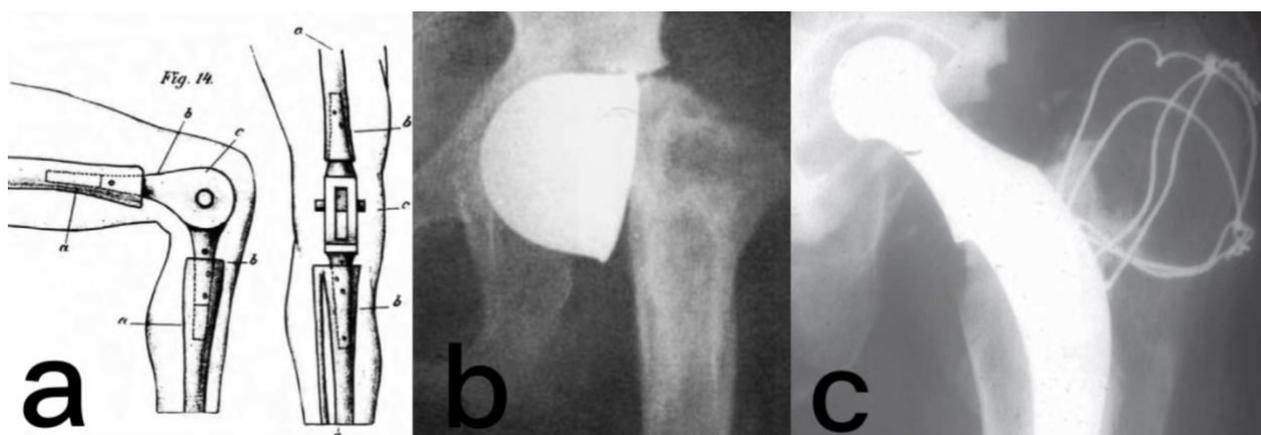


Abb. 2: a) Kniegelenkapparat nach Gluck b) Smith-Petersen vitallium mould arthroplasty: A 62-year follow-up (Baker et al., 2011) c) John Charnley's low friction arthroplasty (Charnley, 1961)

Diese Versuche missglückten auf Grund der folgenden Infektionen (Wessinghage, 1991). Die ersten erfolgsversprechenden Operationen erfolgten um 1938 durch Smith-Peterson, welcher den Hüftkopf mit einer mit Vitallium legierten Kappe ersetzte (Learmonth et al., 2007). John Charnley gelang schließlich der Durchbruch in der Hüftendoprothetik mit der Einführung der revolutionären "Low-Friction-Arthroplasty" (Learmonth et al., 2007). Die drei Grundpfeiler seiner neuen Philosophie bestanden aus der Reduktion von Reibung, dem Gebrauch des Acrylzements Polymethylmethacrylat (PMMA) als Bindemittel zwischen Prothese und Knochen sowie die Verwendung von hochvernetztem Polyethylen für die Gleitpaarung (Learmonth et al., 2007). Die Versagensrate lag zu Beginn noch bei 9 % und die Hauptursachen waren Implantatbruch, aseptische Lockerung, Infektion, Aufbrauch des Polyethylens, sowie Luxation (Learmonth et al., 2007). In den folgenden Jahrzehnten sollte eine kontinuierliche Verbesserung und Optimierung dieser Grundpfeiler der modernen Endoprothetik stattfinden.

1.2.1 Indikationen und Kontraindikationen

Die Indikationen des primären Gelenkersatzes an Hüft- und Kniegelenk erfolgen nicht starr in Abhängigkeit der nativradiologischen Befunde. In der Indikationsstellung kommt es vielmehr zu einem Zusammenspiel mehrere Faktoren. Als ausschlaggebender Befund sollte eine konservativ, therapierefraktäre Beschwerdesymptomatik vorliegen, welche als solche eine Reduktion der Lebensqualität bewirkt, die der Patient nicht mehr gewillt ist in Kauf zu nehmen. Passend hierzu sollte ein klinisch überprüfbarer Funktionsverlust des

Gelenks mit einem nativradiologischen Verschleiß des Gelenks entsprechend einer 2 - 4 gradigen Arthrose nach Kellgren und Lawrence vorliegen (Wirtz, 2019). Die Indikationsstellung erfolgt heutzutage immer breiter auf Grund des immer sichereren und routinierteren Einsatzes. Dies bedingt steigende Revisionszahlen trotz insgesamt gutem Erfolg der Prozedur.

1.2.2 Implantatcharakteristika und Verankerungsprinzipien

Grundlegend sollten Implantate, welche in den Körper eingebracht werden, ganz gleich welche Funktion sie ausfüllen sollen, bestimmte Eigenschaften mit sich bringen. So sollten Implantate wie von der „European Society Biomaterials“ klassifiziert sowohl eine mechanische Eignung als auch eine Biokompatibilität und chemische Eignung vorweisen (Windhagen und Hurschier, 2014) Mechanisch eignet sich ein Implantat, welches zug- und druckfest ist sowie einen günstigen Reibekoeffizienten hat. Werkstoffe und deren Abriebprodukte sind biokompatibel, wenn sie nicht toxisch sind und ein niedriges allergenes Potential vorweisen. Die Toxizität eines Werkstoffes ist auch von der chemischen Eignung, zum Beispiel der Korrosionsbeständigkeit, abhängig (Wirtz, 2019). Der Aufbau einer Endoprothese folgt, unabhängig des zu ersetzenden Gelenks, im Bauprinzip stets der gleichen Grundidee. Das Gelenk wird ersetzt durch zwei in den angrenzenden Knochen verankerten Komponenten mit einem dazwischen gelagerten Gleit- oder Drehkompartiment (Wirtz, 2019).

Die Implantatcharakteristika unterscheiden sich entsprechend der Anforderungen des zu ersetzenden Gelenks, der Funktionalität und der Beschaffenheit der Knochenqualität. So kann bei entsprechend guter muskulotendinöser Führung ein ungekoppeltes Gleit- oder Drehkompartiment verwendet werden. Kommt es hier zu einer zunehmenden Kompromittierung der biologischen Gelenkführung, übernimmt der Gelenkersatz durch die Auswahl eines entsprechenden Gleit- Drehkompartiments die Stabilisierung der Gelenkführung. Entsprechend lässt sich eine ungekoppelte von einer teilgekoppelten und einer gekoppelten Prothesenföhrung unterscheiden. Des Weiteren lässt sich die Form der Komponenten entsprechend den Verankerungsprinzipien, zementierte oder unzementierte, unterscheiden (Wirtz, 2019). So weisen zementierte Implantate eine runde Form ohne Ecken und Kanten auf. Außerdem kommen Kragen zur Optimierung der Krafteinleitung zum Einsatz.

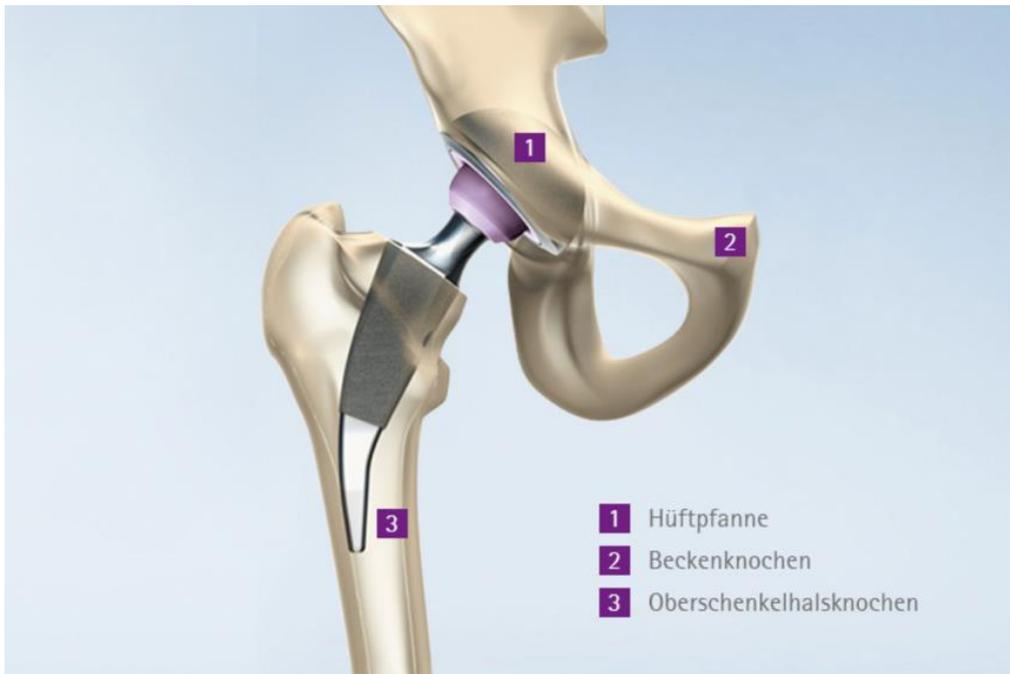


Abb. 3: Aufbau des Metha® Kurzschaftprothesensystems der Firma Braun

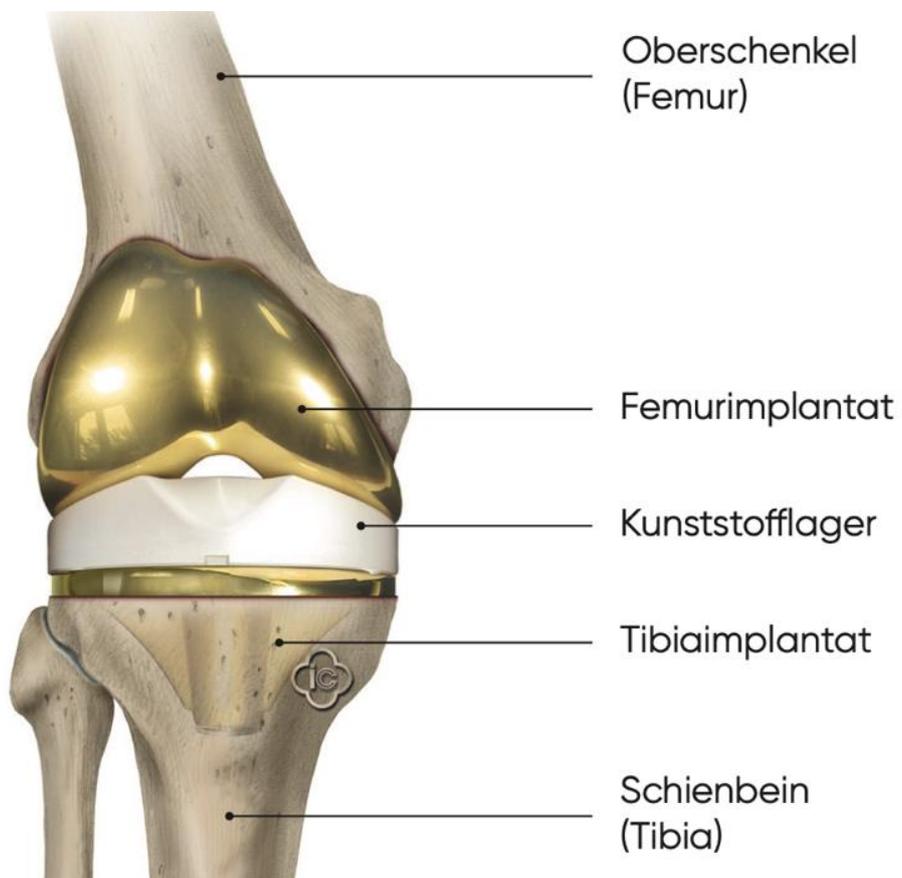


Abb. 4: Aufbau des Oberflächenersatzes der Firma Implantcast, Typ ACS FB

Die Oberfläche zementierter Implantate weist entweder ein hochpoliertes oder mattes Profil auf. Hierbei liegt der Unterschied in der Möglichkeit von Mikromotion im Sinne eines Setzvorgangs bei hochpolierten Oberflächen und der Unfähigkeit derselben bei der Verwendung von matten Oberflächen. Bei zementierten Prothesen bedarf es des Knochenzements Polymethylmethacrylat (PMMA). Die Kraftübertragung erfolgt über den Kontakt zwischen PMMA und der ganzen Prothesenoberfläche und dem Formschluss mit dem Knochen. Die Stabilität wird im Bereich des Knochens durch eine Mikroverzahnung und im Bereich der Prothese durch einen Formschluss erreicht (Windhagen und Hurschier, 2014; Wirtz, 2019).

Bei den zementfreien Implantaten kann die Prothese kragenlos, keilförmig und flach rechteckig geformt sein. Sie weisen als Charakteristika eine makrorauhe Oberfläche mit Porengröße von 0,5 - 5 mm und mikroporöse Oberflächen mit Porengrößen zwischen 50 µm und 400 µm auf. Diese können durch zwei verschiedene Verfahren hergestellt werden. Zum einen durch das Plasmaspritzverfahren, wobei Titan oder Calciumphosphatpulver in einem Plasmabrenner geschmolzen wird und als dann auf die Prothese aufgespritzt wird. Zum anderen besteht die Möglichkeit des Ausfällungsverfahrens. Hierbei kommt es zur Präzipitatbildung in einer übersättigten Kalziumphosphat-Lösung. Diese legt sich an geätzte Titanoberflächen an. Ziel dieser Methoden ist eine ossäre Integration des Schaftimplantats. In Abhängigkeit davon, wo auf der Prothese welches Charakteristikum zum Tragen kommt, erfolgt die Verklebung und Krafteinleitung in den Knochen metaphysär, metadiaphysär oder diaphysär. Die primäre Verklebung wird durch das sogenannte Pressfit erreicht. Hierbei wird das Implantat 1 - 2 mm größer als das vorbereitete Knochenlager gewählt (Windhagen und Hurschier, 2014; Wirtz, 2019).

Die Gleit- und Drehkompartimente können aus verschiedenen Werkstoffen bestehen. Zum Einsatz kommen metallische, polymere und keramische Werkstoffe. Als Metall kommen hauptsächlich Eisen-, Kobaltchrom- und Titanlegierungen zum Einsatz, welche in dieser Reihenfolge zunehmende Bruchfestigkeiten von circa 490 - 900 MPa erreichen können. Ein Nachteil metallischer Werkstoffe, insbesondere bei der direkten Artikulation miteinander, ist der Abrieb, welcher von Rundheit, Glattheit und der Passgenauigkeit abhängt. Zu den polymeren Werkstoffen gehört neben dem oben genannten PMMA auch der ultrahochmolekulare Polyethylen (UHMWPE). Auch hier kommt es zu einer Abnutzung der Komponente, welche im Verlauf zu einer abnehmenden Funktion des

Gelenks führt und eine Wechseloperation bedingen kann. Bei keramischen Werkstoffen kommen vor allem Aluminiumoxide, Zirkonoxide und Komposite zum Einsatz (Leão et al., 2020; Windhagen und Hurschier, 2014; Wirtz, 2019).

1.2.3 Allgemeine Daten, Standzeiten, Population und Outcome

Die Daten des deutschen Endoprothesenregisters (EPRD) ergeben, dass im Jahr 2021 in Deutschland 306.272 endoprothetische Eingriffe an Hüft- oder Kniegelenken erfolgt sind. Davon 158.690 Primärimplantationen einer Endoprothese im Bereich des Hüftgelenks und 115.581 Primärimplantationen einer Endoprothese im Bereich des Kniegelenks (EPRD Jahresbericht, 2022). Im gleichen Jahr sind im Bereich des Hüftgelenks 17.752 und im Bereich Kniegelenks 13.961 Revisionseingriffe an einer Endoprothese durchgeführt worden (EPRD Jahresbericht, 2022). Das durchschnittliche Alter der Population bei Primärimplantation war in diesem Zeitraum bei Hüft- und Knieendoprothesen 72 respektive 69 Jahre, wobei das Durchschnittsalter im Revisionsfall 76 respektive 69 betrug (EPRD Jahresbericht, 2022).

Bezüglich der verwendeten Prothesendesigns kommen bei den Primärimplantationen im Bereich des Hüftgelenks immer mehr Insertkomponenten aus hochvernetztem Polyethylen zur Verwendung (57,4 %). Neben der Verwendung von Hüftschäften mit Modularkopf (85,6 %) steigt der Anteil an Kurzschaftprothesen (12 %) (EPRD Jahresbericht, 2022).

Im Bereich des Kniegelenks wird bei 95 % der primären Knieendoprothesen und bei 90% der unikondylären Versorgungen komplett zementiert. Bei den Gelenkfreiheitsgraden kommen vor allem feste Plattformen zum Einsatz (89,3 %) (EPRD Jahresbericht, 2022). Die Standzeiten der Endoprothesen hängen nicht nur von Prothesendesign und Verankerung ab, sondern auch maßgeblich von Faktoren wie Alter, Geschlecht, BMI und Vorerkrankungen (EPRD Jahresbericht, 2022).

Hinsichtlich der Wahrscheinlichkeit für einen erneuten Wechseleingriff innerhalb von zwei Jahren nach erstem Wechsel ist diese bei der periprothetischen Infektion deutlich erhöht (23,5 % bis 35,1 %). Hiervon unterscheidet sich die Wahrscheinlichkeit für einen erneuten Wechseleingriff nach aseptischem Wechsel deutlich (11,3 % bis 17,5 %) (EPRD Jahresbericht, 2022).

Das Modell und die Verankerungsart mit der längsten Standzeit bei den Hüftprothesen ist die elektiv implantierte Avenir (Hüftschaft), Allofit (Hüftpfanne) Prothese der Firma Zimmer Biomet mit einer Hybridverankerung. Die Wahrscheinlichkeit eines Ausfalles beträgt nach 6 Jahren 2,9 %.

In der Knieendoprothetik ist die Genesis II CR Cocr (femoral), Genesis II (tibial) Standard-Knietotalendoprothese mit Kreuzbanderhalt und fester Plattform die Prothese mit den längsten Standzeiten über 7 Jahre (1,6 %) (EPRD Jahresbericht, 2022).

1.2.4 Komplikationen in der Endoprothetik

Die Komplikationen in der primären Endoprothetik lassen sich in Komplikationen im Rahmen eines operativen Eingriffs (perioperativ) mit Komplikationen während der Operation (intraoperativ) und im Verlauf des stationären Aufenthaltes von Komplikationen, die im späteren Verlauf auftreten können, unterscheiden.

Zu den intraoperativen Komplikationen gehören die Blutung, sowie die Gewebeverletzungen von Haut, Unterhautfettgewebe, faszioligamentärer Strukturen, Muskulatur, Knochen und Gefäßnervenstraßen. Daneben gehören technische Fehler bei der Implantation mit Achs- und Rotationsfehlstellung, signifikante Beinlängendifferenz, Fettembolien im Rahmen der Verdrängung von Knochenmark beim Zementieren, jedoch auch beim Impaktieren und Einschlagen unzementierter Implantate, sowie allergische Reaktionen zu weiteren intraoperativen Komplikationen (Harrasser et al., 2016; Pagenstert et al., 2019; Stukenborg-Colsman, 2014; Windhagen, 2014). Weitere perioperative Komplikationen sind die Nachblutung, Wundheilungsstörung und die postoperative Wundinfektion. Im Verlauf des klinischen Aufenthaltes und in Folge der Mobilitätseinschränkung kann es zu Thrombosen und Embolien kommen (Harrasser et al., 2016; Pagenstert et al., 2019; Stukenborg-Colsman, 2014; Windhagen, 2014). Die Hauptversagensursachen der Endoprothese sind die aseptische, meist abriebbedingte Lockerung (Hüftgelenk: 24,4 %, Kniegelenk: 23,5 %) und der periprothetische Infekt (Hüftgelenk: 16,7 %, Kniegelenk: 15 %). Weitere häufige Ursachen sind die periprothetische Fraktur (Hüftgelenk: 14,3 %, Kniegelenk: 4,2 %), die Luxation im Bereich des Hüftgelenks (13 %) und die Bandinstabilität im Bereich des Kniegelenks (8,4 %) (EPRD Jahresbericht, 2022). Wobei die Luxation nach der Implantation einer Hüftendoprothese, innerhalb der ersten zwei Jahre nach Implantation zu den häufigsten

Ursachen für eine Revisionsoperation gehört (Bozic et al., 2010). Innerhalb der ersten drei Monate ereignen sich dabei etwa 50 % der Luxationen als so genannte Frühluxation. Im ersten Jahr sind es 75 % aller Luxationen (Bolland et al., 2012).

Die Gründe für das Versagen eine Prothese lassen sich in mechanische und nichtmechanische Ursachen einteilen. Zu den mechanischen Ursachen gehören die weichteiligen Komplikationen wie zum Beispiel Instabilität und ligamentäre Verletzungen. Daneben gehört die aseptische Lockerung mit klinisch oder radiologischem Nachweis mit zu den häufigsten Ursachen. Hierrunter fallen abrieb- und verschleißbedingte Ursachen. Eine weitere Ursache einer mechanischen Lockerung besteht in einem strukturellen Versagen der knöchernen oder prothetischen Strukturen. Deziert ist hiermit die periprothetische Fraktur, der Implantatbruch oder eine Defizienz der knöchernen Struktur, zum Beispiel im Rahmen einer Osteoporose, gemeint. Zu den nichtmechanischen Ursachen zählt die periprothetische Infektion, welche die zweithäufigste Ursache eines Implantatversagens darstellt. Darüber hinaus zählen auch Tumorprogressionen zu den Ursachen eines nichtmechanischen Implantatversagens (Henderson et al., 2011).

1.3 Die periprothetische Infektion (PPI)

1.3.1 Definition

Die Diagnostik und Behandlung der PPI ist seit Jahrzehnten im Fokus der Wissenschaft und unterliegt einem stetigen Wandel. Auch wenn die eingeschlagene Richtung in den letzten 10 Jahren die richtige ist, so gibt es doch bislang keinen international anerkannten Goldstandard. So erfolgt die Diagnostik und Therapie weltweit immer noch nach unterschiedlichen Kriterien (Walter und Gramlich, 2019). Eine Leitlinienkommission um PD Dr. med. Michael Müller im Auftrag der Deutschen Gesellschaft für Orthopädie und Orthopädische Chirurgie e.V. (DGOOC) plant die Veröffentlichung einer deutschsprachigen Leitlinie, welche zum aktuellen Zeitpunkt noch nicht fertiggestellt ist. Gemäß dem aktuellen Stand der Wissenschaft lassen sich bisher folgende Definitionen unterscheiden:

Definition nach Matthews et al. von 2009: Hierbei gilt die PPI als gegeben beim Vorliegen von einem von fünf folgenden Kriterien. 1. Fistel, 2. Eiter im Punktat oder im Situs, 3. Nachweis von identischen Erregern in zwei Gewebeproben oder Punktaten, 4. histopathologischer Nachweis akuter Entzündungszeichen Typ 2 oder 3 nach Krenn und

Morawietz oder 5. Nachweis einer erhöhten Leukozytenzahl und Neutrophilenanteil im Punktat (≥ 2000 Leukozyten bei ≥ 70 % Granulozyten) (Matthews et al., 2009; Shohat et al., 2019; Walter und Gramlich, 2019).

Die "Musculoskeletal Infection Society" (MSIS) hat ab 2011 eine Definition der PPI erarbeitet und seitdem im Rahmen der „Consensus Meetings“ weiterentwickelt. Laut der initialen Definition von 2011 handelt es sich um eine PPI, wenn entweder eins von zwei Majorkriterien oder vier von sechs Minorkriterien vorliegen. Demnach gehört der Nachweis einer Fistel und der identische Nachweis von Erregern in zwei Gewebeproben oder Punktaten zu den Majorkriterien. Die Minorkriterien setzen sich aus folgenden sechs Punkten zusammen:

1. Erhöhte CRP oder BSG Werte
 2. Erhöhte Zellzahl in der Punktion
 3. Erhöhter Anteil an polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten (PMN)
 4. Nachweis von Pus im Gelenk
 5. Nachweis eines Mikroorganismus in der Mikrobiologie
 6. Nachweis von mehr als fünf PMN pro High power Field (HPF) in der Histopathologie
- Definition nach dem „International Consensus Meeting“ (ICM) in Philadelphia 2013, welche eine überarbeitete Fassung der Definition der MSIS von 2011 darstellt: Eine PPI liegt vor bei Vorhandensein von einem von zwei Major- oder drei von fünf Minorkriterien. Dabei gehören der Nachweis einer Fistel und der identische Nachweis von Erregern in zwei Gewebeproben oder Punktaten zu den Majorkriterien und eine positive Histologie, singulärer Erregernachweis, eine erhöhte Zellzahl im Gelenkpunktat mit größer 3000 Zellen/ μ l oder Veränderungen auf Leukozyten-Esterase-Teststreifen sowie ein erhöhter Anteil an neutrophilen Granulozyten im Gelenkpunktat von größer 80 % und letztlich eine Erhöhung des C-reaktiven Proteins (CRP) größer 10 mg/l und der Blutsenkungsgeschwindigkeit größer 30 mm/h zu den Minorkriterien (Pannu et al., 2020; Youssef et al., 2014). Diese Definition galt wiederum als Grundlage für die von Shohat et al. konzipierte Definition von 2019. Die Majorkriterien entsprechen denen der ICM-Definition. Die Minorkriterien unterscheiden prä- und postoperative diagnostische Parameter. Diese erhalten eine punktebasierte Wichtung, welche addiert für eine Infektion (\geq sechs Punkte), für den Ausschluss einer Infektion ($<$ drei Punkte) oder für ein

inkonklusives Ergebnis (3 - 5 Punkte) sprechen. Werte unter 2 Punkten sind als „nicht-infiziert“ zu betrachten

Major criteria (at least one of the following)			Decision
Two positive growth of the same organism using standard culture methods			Infected
Sinus tract with evidence of communication to the joint or visualization of the prosthesis			

Minor Criteria	Threshold		Score	Decision
	Acute [€]	Chronic		
Serum CRP (mg/L)	100	10	2	Combined preoperative and postoperative score: ≥6 Infected 3-5 Inconclusive* <3 Not Infected
<i>or</i> D-Dimer (ug/L)	Unknown	860		
Elevated Serum ESR (mm/hr)	No role	30	1	
Elevated Synovial WBC (cells/μL)	10,000	3,000	3	
<i>or</i> Leukocyte Esterase	++	++		
<i>or</i> Positive Alpha-defensin (signal/cutoff)	1.0	1.0		
Elevated Synovial PMN (%)	90	70	2	
Single Positive Culture			2	
Positive Histology			3	
Positive Intraoperative Purulence [§]			3	

Abb. 5: ICM-Kriterien für die PPI von 2018, modifiziert von Shohat et al., 2019

Außerdem wird bei den präoperativen diagnostischen Parametern zwischen einer akuten und einer chronischen Infektion bezüglich der Grenzwerte unterschieden, wobei die Grenzwerte für eine akute Infektion aktuell nicht validiert sind. Für das Vorhandensein einer positiven Histologie mit dem Nachweis von Entzündungszellen und dem intraoperativen Nachweis von Eiter werden jeweils drei Punkte vergeben. Für das Vorhandensein einer positiven mikrobiologischen Kultur werden zwei Punkte vergeben. Ebenfalls zwei Punkte gibt es für einen Anteil von 90 % (akut) und 70 % (chronisch) polymorphkernigen, neutrophilen Granulozyten im Punktat. Drei Punkte gibt es für den

Nachweis von Leukozyten im Punktat mit einem Grenzwert von 10 000 Zellen (akut) und 3000 Zellen (chronisch) oder dem positiven Nachweis von Leukozyten Esterase oder Alpha Defensin. Ein Punkt wird für eine erhöhte Blutsenkungsgeschwindigkeit >30 mm/h (nur chronisch) vergeben. Sowie zwei Punkte für eine Erhöhung von CRP ≥ 100 mg/l/(akut) versus ≥ 10 mg/l (chronisch) oder einer Erhöhung von D-Dimeren ≥ 860 $\mu\text{g/l}$ (nur bei chronischen Infektionen) im Serum (Shohat et al., 2019). Die in der Literatur angegebene Sensitivität und Spezifität dieser Tests beträgt für die ICM-Definition 86,9 % und 99,5 %. Die Definition nach Shohat weist laut Angabe der Autoren eine Sensitivität und Spezifität von 97,7 % und 99,5 % auf (Pannu et al., 2020)

In der internationalen Wahrnehmung bleibt die Definition insbesondere bei der Identifizierung von sogenannten Low-Grade-Infekten schwach. Im europäischen Konsens hat sich daher die Definition der „Pro-Implant-Foundation“ eher etabliert, die weit niederschwelliger eine Infektion als wahrscheinlich annimmt:

Klinische Merkmale wie das Vorhandensein einer Fistel oder Nachweis von Eiter um die Prothese herum gelten als beweisend für eine periprotetische Infektion mit einer Sensitivität von 20 - 30 % und einer Spezifität von 100 %. Eine Leukozytenzahl von $>2000/\mu\text{l}$ oder ein Anteil von >70 % Granulozyten (PMN) im Punktat ist ebenfalls ein Hinweis auf das Vorliegen einer PPI mit einer Sensitivität von 90 % und einer Spezifität von 95 %. In der histopathologischen Untersuchung von periprotetischem Gewebe ist ein Grenzwert von ≥ 23 Granulozyten pro 10 hochauflösenden Feldern aussagekräftig. Die mikrobiologischen Kriterien umfassen ≥ 2 positive Gewebeproben (von mindestens 3 gesammelten), mikrobielles Wachstum in der Synovialflüssigkeit oder Sonikationsflüssigkeit (>50 CFU/ml). Die Empfindlichkeit der Mikrobiologie-Tests beträgt zwischen 45 - 90 % und die Spezifität zwischen 92 - 95 % (Izakovicova et al., 2019).

Test	Criteria	Sensitivity	Specificity
Clinical features	Sinus tract (fistula) or purulence around prosthesis ^a	20–30%	100%
Leukocyte count in synovial fluid^b	$> 2000/\mu\text{l}$ leukocytes or $> 70\%$ granulocytes (PMN)	$\approx 90\%$	$\approx 95\%$
Periprosthetic tissue histology^c	Inflammation (≥ 23 granulocytes per 10 high-power fields)	73%	95%
Microbiology	Microbial growth in:		
	• Synovial fluid ^d or	45–75%	95%
	• ≥ 2 positive tissue samples (of at least 3 collected) ^d or	60–80%	92%
	• Sonication fluid (> 50 CFU/ml) ^e	80–90%	95%

^aMetal-on-metal bearing components can simulate pus (“pseudopus”), leukocyte count is usually normal (metal debris is visible). ^bLeukocyte count can be high without infection in the first six weeks after surgery, in rheumatic joint disease (including crystallopathy), periprosthetic fracture or luxation. Leukocyte count should be determined within 24 hours after aspiration using microscopy or automated counter; clotted specimens are treated with 10 μl hyaluronidase. ^cClassification after Krenn and Morawietz⁶¹: PJI corresponds to type 2 or type 3. ^dFor highly virulent organisms (e.g. *S. aureus*, streptococci, *E. coli*) or patients under antibiotics, one positive sample confirms infection. ^eUnder antibiotics, for *S. aureus* and anaerobes, < 50 CFU/ml can be significant.

Abb. 6: Definition der PPI von der „Pro-Implant-Foundation“ (Izakovicova et al., 2019)

1.3.2 Klassifikation

Anhand des Zeitpunkts des Auftretens der ersten Symptome und der Dauer der Symptome erfolgt die klinische Einteilung der PPI.

So spricht man von einem Frühinfekt, wenn die Symptome erstmals weniger als vier Wochen nach der Primärimplantation auftreten. Ein verspäteter Frühinfekt liegt vor, wenn sich die ersten Symptome nach vier Wochen bis drei Monate nach der Primärimplantation manifestieren. Treten die Symptome nach drei Monaten auf, so spricht man von einem Spätinfekt. Eine akute Infektion liegt vor, wenn die Dauer der Beschwerden weniger als zwei bis drei Wochen beträgt. Bestehen die Beschwerden im Rahmen einer PPI länger als zwei bis drei Wochen, bezeichnet man den Verlauf als chronisch (Pagenstert et al., 2019; Renz und Trampuz, 2015).

Präziser kann die Einteilung gemäß dem von der Arbeitsgruppe Alt et al. 2020 vorgeschlagene TNM-System erfolgen. Die Buchstaben der ursprünglichen onkologischen TNM Klassifikation tauchen analog in der PJI-TNM-Klassifikation auf, stehen jedoch für Faktoren, die bei periprothetischen Infektionen von Bedeutung sind. „T“ steht für „tissue and implant“. Hierunter werden die Stabilität des Implantates, die Art der Prothese, Standard versus Revisionsimplantat sowie der Weichteilstatus beurteilt. „N“ kategorisiert die Erreger und die Reife des Biofilms und „M“ berücksichtigt die Komorbiditäten der Patienten. Zuletzt steht ein vorangestelltes „r“ für das Rezidiv einer Protheseninfektion (Alt et al., 2020; Rupp et al., 2021).

Der Vergleich zu bösartigen Erkrankungen scheint zunächst ungewöhnlich, ist aber hinsichtlich der Ernsthaftigkeit der Erkrankungen und Verläufe nicht von der Hand zu weisen. So zeigte sich in der Auswertung des schwedischen Endoprothesenregisters eine 1- und 5-Jahresmortalität von 5 % respektive 21 % nach PPI. Die Mortalität steigt über einen Zeitraum von 10 Jahren auf 48 % nach PPI versus 34 % in der Vergleichsgruppe mit Hüftendoprothese (Wildeman et al., 2021).

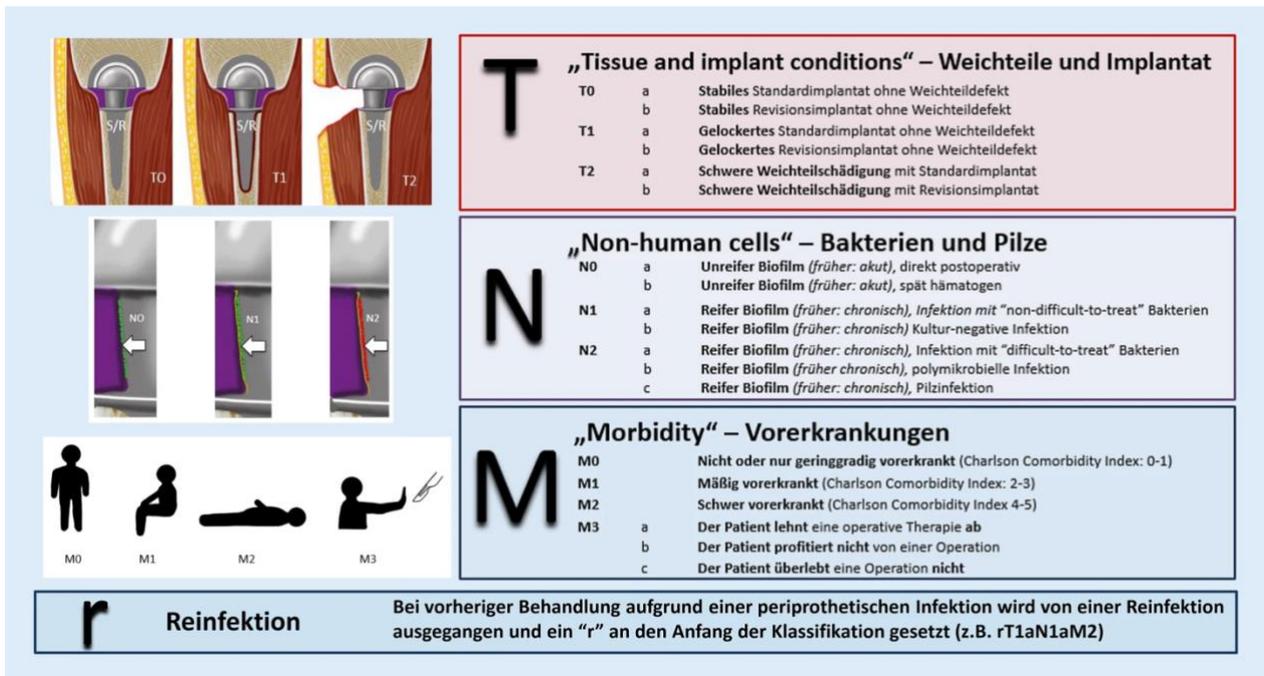


Abb. 7: TNM Klassifikation für PPI (Alt et al., 2020; Rupp et al., 2021)

Daten des norwegischen Endoprothesenregisters (NAR) belegen eine Mortalität von 2,5 %, andere Arbeiten weisen eine höhere Mortalität von bis zu 4,3 % nach einem Jahr nach PPI einer Knieendoprothese auf. Auch hier zeigt sich die Mortalität deutlich höher als in der aseptischen Vergleichsgruppe (Lum et al., 2018; Sabah et al., 2021). Die 5-Jahresmortalität liegt bei 21,64 % (Lum et al., 2018). Vergleicht man diese Daten mit denen von Krebspatienten, so besteht bei einem lokal begrenztem Weichteilsarkom oder einem Hodgkin Lymphom eine höhere Überlebenschancen als bei einer PPI (Sabah et al., 2021).

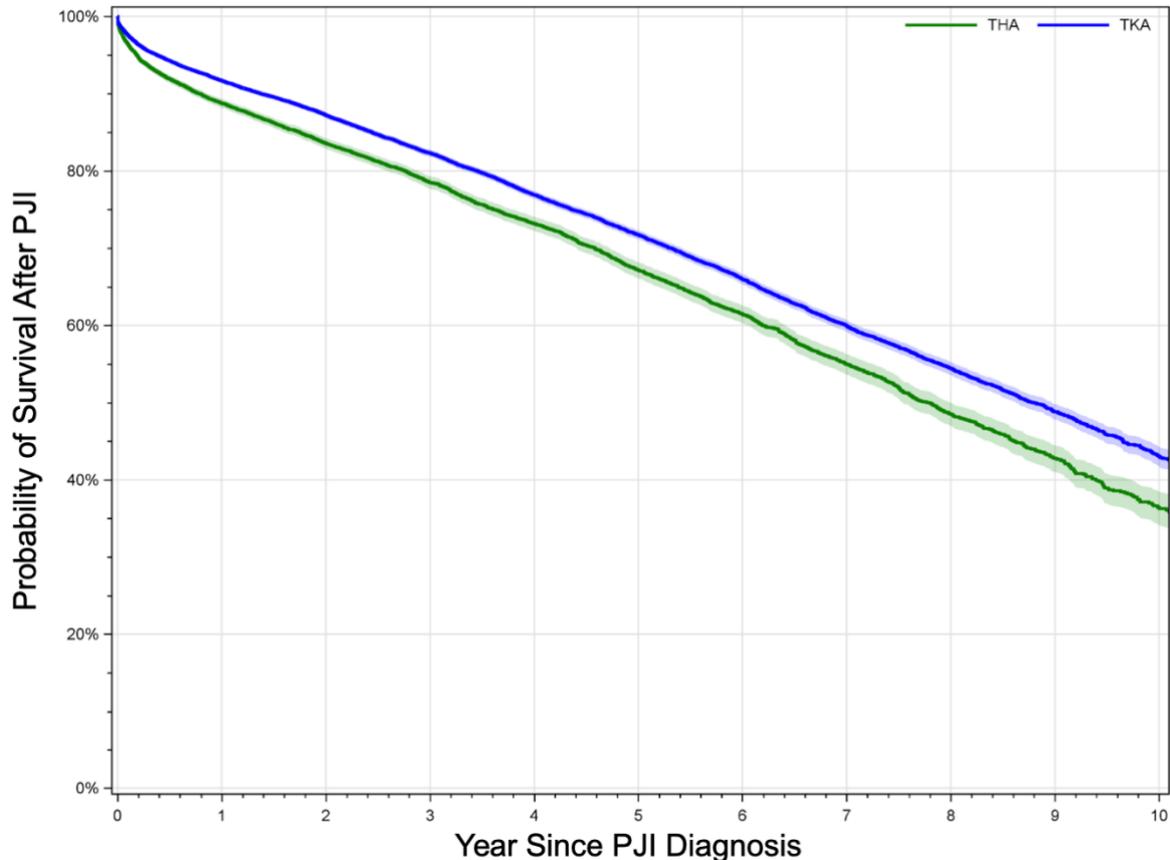


Abb. 8: Überlebenswahrscheinlichkeit nach PPI bei Hüft- und Knie- TEP gegenüber der Zeit (Kurtz et al., 2018), THA= Total Hip Arthroplasty, TKA= Total Knee Arthroplasty

1.3.3 Differentialdiagnostische Schwierigkeiten

Um die differentialdiagnostischen Schwierigkeiten bei der Abgrenzung der septischen Lockerung zur aseptischen Lockerung verstehen zu können, muss man die molekularbiologische Ebene der zugrunde liegenden Entzündungsreaktion betrachten.

Im Gewebe residente Makrophagen phagozytieren apoptotische Zellen, Zellschutt und exogene Pathogene mit typischer Größe von 1 μm oder größer und führen somit zu einer Induktion und Regulation von Inflammation. Rezeptoren auf der Makrophagenoberfläche erkennen Pathogene. Zu diesen Rezeptoren die unter dem Überbegriff Merkmalerkennungsrezeptoren („Pattern-Recognition-Receptors“: PRR) zusammengefasst werden, gehört auch der „Toll-Like-Receptor“ (TLR), welcher ein breites Spektrum an exogenen pathogenen Merkmalen erkennt. Diese werden unter dem Überbegriff PAMP zusammengefasst und schließen auch die mikrobiell assoziierten

molekulare Merkmale („Microbial-Associated-Molecular-Patterns“: MAMPs) mit ein (Nich et al., 2013). Die nun folgende Signalkaskade bewirkt die Freisetzung der proinflammatorischen Zytokine wie z.B.: IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α und IL-12, welche im Rahmen einer unspezifischen Immunantwort zur Rekrutierung von weiteren Immunzellen führt (Goodman, 2007; Nich et al., 2013). Letztendlich kommt es zu einer Aktivierung von Osteoklasten und Inhibierung von Osteoblasten. Dies führt zu einer zunehmenden Knochenresorption im Knochen-Prothesen-Interface und schlussendlich zur Lockerung und zum Versagen der Prothese.

Je nach Gleitpaarung und verwendetem Prothesendesign ist Kunststoff-, Metall- und oder Keramikabrieb unausweichlich in Kunstgelenken. Abriebpartikel stimulieren über die ähnliche Signalkaskade ebenfalls wie bakterielle Strukturen eine lokale und systemische Inflammation, welche zu einer periprothetischen knöchernen Destruktion und in letzter Konsequenz zu Lockerung und Implantatversagen führt (Nich et al., 2013).

In diesem gemeinsamen Weg der unspezifischen Immunabwehr ist die Schwierigkeit der differentialdiagnostischen Abgrenzung begründet.

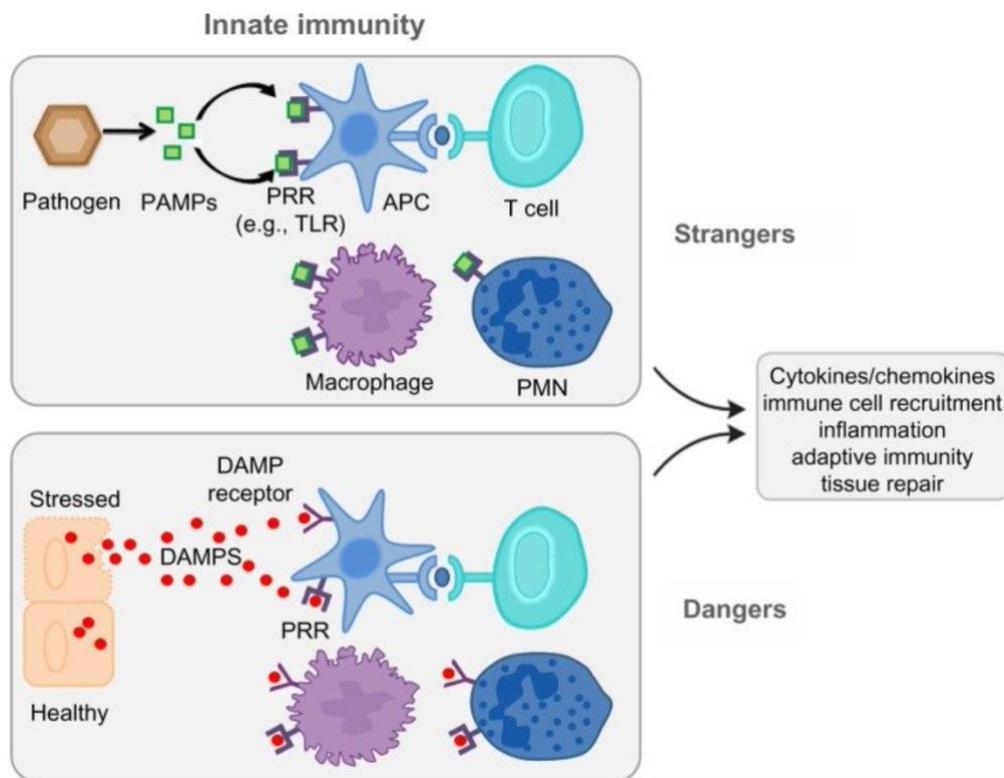


Abb. 9: Immunmodulatorische Reaktion ortsständiger Makrophagen und dendritischer Zellen auf Pathogene und Stressoren (Vallés et al., 2014), PAMPs= Pathogen Associated

Molecular Pattern, PRR= Pattern Recognition Receptors, TLR= Toll Like Receptor, APC= Antigen Presenting Cell, DAMPs: Damage Associated Molecular Patterns

1.3.4 Klinik

Das klinische Bild einer PPI ist so vielseitig wie ein Chamäleon. Die Abgrenzung vom akuten, hoch virulenten Frühinfekt mit den klassischen Entzündungszeichen Rötung, Schwellung, Überwärmung, Schmerzen und Funktionsverlust, welche dem behandelnden Arzt unmittelbar eine Diagnose aufzwingen wollen, gilt es von den teilweise subklinischen Verläufen eines Low-Grade-Infekts abzugrenzen. Diese Vielseitigkeit bedingt, dass bei Beschwerden rund um einen einliegenden Gelenkersatz stets eine PPI in Erwägung gezogen werden muss.

Symptome einer akuten Infektion sind klassische Entzündungszeichen mit Rötung, Schwellung, Überwärmung über der Operationsnarbe sowie Schmerzen und Funktionsverlust. Unmittelbar postoperativ kann sich eine akute Infektion mit Wund- oder Narbendehiszenz mit oder ohne putrider Sekretion präsentieren.



Abb. 10: a) "Frühinfekt einer Hüft-TEP mit typischen Entzündungszeichen", b) "Fistelnder Spätinfekt einer Hüft- TEP, 13 Monate post-operativ" (Lehner et al. 2009)

Je nach Vorerkrankungen oder Alter der Patienten, aber auch bei einliegenden Drainagen oder unter laufender Immunsuppression, kann eine akute PPI auch oligo- oder asymptomatisch verlaufen. Einzig wegweisend kann in diesem Fall einer Erhöhung der laborchemischen Infektionsparameter sein (Walter und Gramlich, 2019). Allgemeinzustandsverschlechterung sowie Schüttelfrost und Fieber sprechen für eine beginnende Bakteriämie mit einer systemischen Immunantwort. Unbehandelt kann der Patient auch das Vollbild einer Sepsis mit einem positiven SOFA Score und der

entsprechenden Abnahme des mittleren arteriellen Drucks und des Sauerstoffpartialdrucks mit Affektion sowohl der Vigilanz als auch der Organfunktion der Niere, Leber und des Gerinnungssystems präsentieren (Vincent et al., 1996). Patienten mit chronischen Infektionen haben nicht selten bereits einen langen Leidens- und Diagnostikweg hinter sich. Nicht selten präsentiert sich das Gelenk lange unauffällig oder monosymptomatisch. Hier kann die radiologisch nachweisbare Lockerung mit folgenden Schmerzen und im Verlauf Funktionsverlust neben den oben genannten Anzeichen erstes Symptom sein. Der Schmerz kann zunächst nur bei Belastung und im Verlauf auch lagerungsabhängig oder in Ruhe auftreten (Walter und Gramlich, 2019).

1.3.5 Diagnosealgorithmus

Es können präoperative und intra- beziehungsweise postoperative diagnostische Schritte unterschieden werden. Außerdem lässt sich eine Basisdiagnostik von einer erweiterten Diagnostik abgrenzen.

Bereits in der Anamnese, der klinischen Untersuchung und im Röntgenbild, können sich Hinweise für das Vorliegen einer PPI ergeben. So sollten ein anhaltender Gelenkschmerz, stattgehabte Bakteriämien, ein mehrfach voroperiertes Gelenk, eine PPI in der Vorgeschichte, eine laufende Immunsuppression, eine gestörte Hautbarriere, angrenzende Weichteilinfektionen oder ein prolongierter Heilungsverlauf hellhörig machen (Walter und Gramlich, 2019). In der klinischen Untersuchung können Wunddehiszenzen und Entzündungszeichen wegweisend, eine Fistel beweisend sein (Pagenstert et al., 2019; Walter und Gramlich, 2019).

Bei nun anamnestisch und klinischem Verdacht werden weitere diagnostische Schritte eingeleitet. Zur präoperativen Basisdiagnostik gehören das native Röntgen in zwei Ebenen des zu untersuchenden Gelenks sowie die Laboruntersuchung mit kleinem Blutbild und C-reaktivem Protein (CRP). In den USA wird auch die Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG) noch bestimmt, was in Europa unüblich ist. Des Weiteren zählt bei dem Verdacht einer PPI die Gelenkpunktion zwingend zur Basisdiagnostik dazu. Aus dem gewonnenen Punktat lässt sich die Zellzahl und die Zelldifferenzierung bestimmen. Außerdem kann hieraus die mikrobiologische Bebrütung zum direkten Nachweis und die Polymerase Kettenreaktion Untersuchung (PCR) zum Nachweis von Bakterienbestandteilen erfolgen (Pagenstert et al., 2019; Walter und

Gramlich, 2019). Zur Abgrenzung gegenüber anderen Entitäten sollte stets eine differentialdiagnostische Abklärung erfolgen. Hierbei gilt es vor allem, Erkrankungen des rheumatologischen Formenkreises und weitere infektiöse Erkrankungen mit einem Suchtest auf Borrelien und Chlamydien sowie virale Erkrankungen auszuschließen. Darüber hinaus sollten Stoffwechselerkrankungen wie Hyperurikämie laborchemisch ausgeschlossen werden (Walter und Gramlich, 2019).

Als erweiterte diagnostische Maßnahmen kommen in der Bildgebung die Ultraschallsonographie und die Schnittbildgebung mit Computertomographie (CT) oder die Magnetresonanztomographie (MRT) in Frage (Walter und Gramlich, 2019). Neben Blutkulturen zum Erregernachweis können laborchemisch als weiterer Schritt Procalcitonin (PCT) oder Interleukin 6 (IL-6) bestimmt werden (Pagenstert et al., 2019; Walter und Gramlich, 2019). Die intraoperative diagnostische Basisdiagnostik sieht neben der Inspektion des Gewebesitus mit dem möglichen Nachweis von Eiter, die Gewinnung von mindestens drei, besser sechs, Gewebeproben vor, welche jeweils anteilig für die Mikrobiologie und Histopathologie asserviert werden. Erweitert können etwaige Explantate in die Mikrobiologie zur Sonifikation eingeschendet werden (Pagenstert et al., 2019; Walter und Gramlich, 2019).

1.3.6 Radiologische Bildgebung

Native Röntgenbildgebung

Eine native Röntgenbildgebung des betroffenen Gelenks in zwei Ebenen ist im Rahmen von Beschwerden obligat. Vor allem die Verlaufsbildgebung ermöglicht eine Aussage über Migration des Implantats, Lockerung, Verschleiß der Komponenten, Osteolysen oder periprothetischer Fraktur. Im Röntgenbild können neu aufgetretene Lockerungen, periostale Reaktionen oder periartikuläre Verkalkungen Hinweise auf eine PPI sein (Pagenstert et al., 2019; Walter und Gramlich, 2019).



Abb. 11: Natives Röntgenbild des linken Hüftgelenks in 2 Ebenen mit dem Nachweis großer osteolytischer Auftreibungen bei einliegender Hüft-TeP. Mit freundlicher Genehmigung von Herrn PD. Dr. Thomas, Randau (Universitätsklinikum Bonn, Klinik und Poliklinik für Orthopädie und Unfallchirurgie)

Computertomographie (CT)

Besteht nach der Durchführung einer nativen Röntgenbildgebung weiterhin Unklarheit bezüglich der Beschwerdesymptomatik, kann eine Computertomographie (CT) erwogen werden. Die Sensitivität in der Erkennung kleinerer Fissuren, Lockerungssäume, oder

Osteolysen ist der des nativen Röntgenbildes überlegen. Außerdem kann eine CT Bildgebung bei ausgeprägten Knochendefekten zur Planung der weiteren Operationsschritte oder der Planung eines Individualimplantats angebracht sein (Pagenstert et al., 2019; Walter und Gramlich, 2019). Erfolgt die CT-Bildgebung mit Kontrastmittelgabe, kann das periprothetische Weichgewebe hinsichtlich des Vorliegens möglicher Abszessformationen und/oder entzündlicher Veränderungen untersucht werden.

Magnetresonanztomographie (MRT)

Die Anfertigung einer Magnetresonanztomographie (MRT) hat auf Grund der Artefakte, welche durch die Prothese generiert werden, einen untergeordneten diagnostischen Stellenwert. Eine artefaktunterdrückte Wichtung kann bei Kontrastmittelgabe Abszessformationen, zum Beispiel im Bereich des weichteiligen Zugangsweges zum Implantat, von aseptischen Verhalten unterscheiden; daher kommt der MRT Diagnostik eigentlich nur Bedeutung zu, um das prothesenferne Weichgewebe zu untersuchen, zudem in der Differentialdiagnostik zu metallabrieb-bedingten Pseudotumoren oder Malignitäten im Knochen (Della Valle et al., 2010). Postoperativ ist dieses Verfahren jedoch wenig aussagekräftig (Jungmann et al., 2017).

Sonographie

Die Sonographie eignet sich vor allem als schnell verfügbare und kostengünstige Bildgebung auf Station oder im Notfallzentrum, um einen subkutanen oder intraartikulären Flüssigkeitsverhalt zu erkennen und ggf. sonographisch gestützt punktieren zu können (Randelli et al., 2018). Anhand der Durchblutung des Gewebes kann ein entzündlicher Verhalt von einem nichtentzündlichen Verhalt grob unterschieden werden (Subramaniam et al., 2016). Als Mittel zur Differenzierung zwischen PPI und einem aseptischen Geschehen eignet sich diese Untersuchungsmethode jedoch nicht.

Nuklearmedizinische Untersuchungsmethoden

Die Drei-Phasen-Szintigraphie, die Leukozytenszintigraphie (99 m Tc-Anti-Granulozyten-Antikörper) und das PET (18-FDG)/PET-CT (Positronenemissionstomographie mit ¹⁸F-Fluordesoxyglukose) sind nuklearmedizinische Untersuchungsmethoden, die bei

genügend zeitlichem Abstand von der Operation eine Aussage bezüglich des Knochenstoffwechsels und der Lockerung eines Implantats treffen können. So bedarf es mindestens 18 Monate, bevor eine Drei-Phasen-Skelettszintigraphie einen diagnostischen Wert hat. Eine negative Szintigraphie kann eine Lockerung, aber auch eine PPI ausschließen. Eine positive Szintigraphie weist jedoch lediglich auf einen erhöhten Knochenstoffwechsel hin und ist somit sehr unspezifisch. In einer Metaanalyse konnte der diagnostische Nutzen einer Leukozytenszintigraphie zur Erkennung der PPI mit einer Sensitivität und Spezifität von 83 % und 79 % beziffert werden (Xing et al., 2013). Auch die Positronenemissionstomographie mit ¹⁸F-Fluordesoxyglukose als Marker zeigt eine ähnliche Wertigkeit mit einer Sensitivität und Spezifität von 82 % und 87 % (Kwee et al., 2008). Die Nachteile sind jedoch die enormen Kosten, die schlechte Verfügbarkeit, sowie die hohe Strahlenbelastung dieser diagnostischen Mittel (Basu et al., 2014; Della Valle et al., 2010; Kwee et al., 2008; Verberne et al., 2018).

1.3.7 Laborchemie

Zu den laborchemischen Parametern, welche im Rahmen der Basisdiagnostik bestimmt werden sollten, gehören das kleine Blutbild sowie eine Blutserumanalyse mit Bestimmung organspezifischer Parameter und eine Gerinnungsdiagnostik mit aPTT, Quick ggf. D-Dimeren. Das kleine Blutbild gibt einen quantitativen Aufschluss über die drei Zellreihen rote Blutkörperchen (Erythrozyten), weiße Blutkörperchen (Leukozyten) und Blutplättchen (Thrombozyten). Die Erythrozyten mit dem sauerstoffbindenden Hämoglobin sind für die operative Planung und die Bereitstellung etwaiger Blutprodukte (Erythrozytenkonzentrate) im Falle einer Blutung notwendig. Die Leukozyten geben einen unspezifischen Hinweis auf eine Infektion im menschlichen Körper. Die Thrombozyten sind für die primäre Blutgerinnung (Hämostase) erforderlich, können aber auch im Rahmen einer Infektion als akute Phase-Marker erhöht sein. Zur Evaluation der Nierenfunktion werden die Elektrolyte sowie das Kreatinin und der Harnstoff bestimmt. Aufschluss über die Leberfunktion gibt die Bestimmung des Quicks, welcher direkt abhängig von den in der Leber synthetisierten Gerinnungsfaktoren Faktor II, Faktor VII, Faktor IX und Faktor X ist, sowie der Leberzellenzyme GOT und GPT. Als weitere Marker im Serum werden das CRP und das Procalcitonin, ggf. auch das Interleukin 6, bestimmt. Dies sind serologische Marker, die auf Entzündung hinweisen, und werden im Folgenden detaillierter beschrieben.

Das C-reaktive Protein (CRP)

Das CRP ist ein Akute-Phase-Protein, welches in der Leber gebildet wird. Es ist ein relativ unspezifischer Marker und weist auf bestehende Entzündungen im Körper hin. Für den Nachweis einer PPI werden in der Literatur unterschiedliche CRP-Werte von 10 mg/l gemäß den Werten der „Musculoskeletal Infection Society“ (MSIS), bis 13,5 mg/l mit einer Sensitivität von 88 % (MSIS) beziehungsweise 91 % und einer Spezifität von 74 % (MISIS) respektive 86 % angegeben (Greidanus et al., 2007). Ein festgelegter Grenzwert ist derzeit nicht definiert.

Die Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG)

Die BSG ist wie die CRP Bestimmung ein unspezifischer Marker für das Vorhandensein einer Entzündung im Körper. Hierbei wird eine definierte Menge der gewonnenen Blutprobe über einen gewissen Zeitraum, meist eine Stunde, stehen gelassen. Aufgrund eines Zusatzes, welcher das Blut an Gerinnung hindert, kommt es nun langsam zum Absinken der korpuskulären Bestandteile des Blutes. Im entzündungsfreien Zustand sind rote Blutkörperchen (Erythrozyten) negativ geladen und stoßen sich eher ab. Im Rahmen einer Infektion kommt es zu einer Umkehr dieser negativen Ladung und dies führt zu einer Agglomeration von Zellen. Durch die nun verringerte Oberfläche, in Bezug zur Partikelgröße, verbessert sich der Strömungswiderstand und die zellulären Bestandteile des Blutes sinken schneller ab. Der zellfreie Überstand wird nun zu festgelegten Zeiten in Millimetern abgelesen (Reinhart, 1988; Zhbanov und Yang, 2015). Grenzwerte rangieren hier von 22,5 mm/h bis 30 mm/h mit einer Sensitivität von 93 % (Greidanus et al., 2007) beziehungsweise 89 % (Costa et al., 2012) und einer Spezifität von 83 % (Greidanus et al., 2007) respektive 69 % (Costa et al., 2012).

Interleukin 6 (IL-6)

IL-6 gehört zu den Zytokinen, welche im Körper inflammatorische Prozesse regulieren. Dabei kommt IL-6 eine Schlüsselfunktion in der Vermittlung von Immunantworten zwischen angeborenen und erworbenen Immunsystemen zu. Es wird von Makrophagen als Antwort auf spezifischen Kontakt zu pathogenen Mikroorganismen sezerniert. Es sorgt durch die Stimulation der Bildung von Akute-Phase-Proteinen für die Initiierung einer

spezifischen Immunantwort. Des Weiteren führt der Anstieg von IL-6 im Gewebe zu einer Aktivierung von B-Zellen.

Interleukin kann sowohl im Serum als auch im Gelenkpunktat bestimmt werden. Erhöhte Interleukinwerte im Serum und Gelenkpunktat weisen auf das Vorliegen einer PPI hin (Yoon et al., 2018). Die diagnostische Wertigkeit von Serum IL-6 konnte in einer Metaanalyse von Yoon et al. 2018 mit einer Sensitivität und einer Spezifität von 83 % respektive 91 % beziffert werden. Hinsichtlich der diagnostischen Wertigkeit ist IL-6 dem PCT überlegen (Yoon et al., 2018).

Procalcitonin (PCT)

Das PCT ist ein Vorläuferpeptid des Hormons Calcitonin und wird in den neuroendokrinen Zellen und in den parafollikulären Zellen der Schilddrüse gebildet. Im gesunden Individuum ist die PCT Konzentration im Serum kaum nachweisbar. Es wird zu den Akute-Phase-Proteinen gezählt, ist hochsensitiv für den Nachweis einer bakteriellen Infektion und spricht bei Erhöhung für das Vorliegen einer systemischen Infektion. Es wird unter anderem in der Intensivmedizin zum Monitoring von Antibiotikatherapie genutzt. Das PCT kann zur Unterscheidung von septischen Arthritiden und Gichtarthropathie genutzt werden (Butbul-Aviel et al., 2005; Hügler et al., 2008; Martinot et al., 2005). Auf Grund der geringen Sensitivität für das Vorliegen einer PPI ist das PCT nur begrenzt nützlich im standardisierten Einsatz zur Diagnostik der PPI (Xie et al. 2017). Auch hinsichtlich der diagnostischen Wertigkeit eines Low-Grade-Infektes eignet sich das PCT nicht (Busch et al., 2020). Eine Pilotstudie von 2018 zeigte eine höhere diagnostische Wertigkeit von PCT in synovialer Flüssigkeit gegenüber der Bestimmung im Serum (Sa-Ngasoongsong et al., 2018).

D-Dimere

D-Dimere werden auf Grund des hohen negativen prädiktiven Werts routinemäßig zum Ausschluss einer tiefen Venenthrombose (TVT) genutzt. Es handelt sich um ein Fibrinolyseprodukt, welches im Rahmen von der Hämostase gebildet wird. Eine Erhöhung von D-Dimeren findet jedoch auch im Rahmen inflammatorischer Prozesse statt. So weist die Konzentration von Serum D-Dimeren eine höhere Sensitivität und Spezifität in der Erkennung einer PPI als BSG und CRP auf (Shahi et al., 2017). Aus diesem Grund

erfolgte die Aufnahme der D-Dimere in die durch Shohat modifizierten ICM-Kriterien für die PPI von 2018 (Shohat et al., 2019). Hier wird ein Wert von größer 850 ng/ml als Minor-Kriterium aufgeführt (Shohat et al., 2019). In einer Metaanalyse von 2020 legte Li et al. dar, dass die Bestimmungsart von D-Dimeren unterschiedliche Bedeutung hinsichtlich ihrer diagnostischen Wertigkeit haben. So zeigt die Bestimmung vom Serum D-Dimeren einen höheren diagnostischen Nutzen in der Erkennung der PPI als die Plasma D-Dimere Konzentration (Li et al., 2020).

1.3.8 Gelenkpunktion

Steht der Verdacht eines Gelenkinfektes im Raum, so ist eine sterile Gelenkpunktion zwingend erforderlich. Es wird auf eine Lokalanästhesie verzichtet, um das bestehende Milieu nicht zu verändern, welches den Nachweis eines Erregers erschweren kann (Johnson et al., 2008). Es wird die Zellzahl sowie die Zelldifferenzierung vorgenommen. Die Grenzwerte für das Vorliegen einer PPI sind jedoch nicht einheitlich festgelegt. In der evidenzbasierten Definition der PPI von 2018 gelten Grenzwerte von 3000 Zellen/ μ l und ein Anteil von größer 80 % neutrophilen Granulozyten. Diese Grenzwerte zählen vor allem für den Spätinfekt. Bei der akuten PPI sind die entsprechenden Grenzwerte gemäß dem Konsens des ICM von 2013 bei 10000 Zellen/ μ l und größer 90 % neutrophile Granulozyten angesetzt. Darüber hinaus sollte, wenn möglich eine Beimpfung von Blutkulturmedien erfolgen. Kritisch muss das Ergebnis der Zellzahl und Zelldifferenzierung betrachtet werden innerhalb von sechs Wochen postoperativ bei rheumatoiden Grunderkrankungen, bei gleichzeitiger Luxation sowie im Rahmen einer periprothetischen Fraktur. Außerdem können aus dem gewonnenen Punktat Pathogenbestandteile mittels Polymerase-Ketten-Reaktion amplifiziert und hierdurch nachgewiesen werden.

Der Wunsch nach mehr Entscheidungshilfe vor, aber auch während eines operativen Eingriffes hinsichtlich der Unterscheidung zwischen PPI und aseptischem Implantatversagen hat in den vergangenen Jahren auch die Aufmerksamkeit auf die synoviale Flüssigkeit und ihre Inhaltsstoffe gelenkt. Das Resultat sind unter anderem Schnelltestverfahren des Gelenkpunktats, welche die Spezifität des Nachweises verbessern sollen.

Alpha Defensin (α -Defensin)

α -Defensin ist ein körpereigenes Peptid, welches von Immunzellen, vor allem von dendritischen Zellen und neutrophilen Granulozyten (NG), und von Epithelzellen des Dünndarms gebildet wird. α -Defensin ist Teil der unspezifischen Immunantwort und wird durch Stimulation von Cytokinen, wie zum Beispiel Interleukin 1 (IL-1) und 6 (IL-6) sowie Tumornekrosefaktor alpha (TNF- α), ausgeschüttet. Es kommt vor allem bei der Abwehr von grampositiven und gramnegativen Bakterien, Mykobakterien sowie Pilz und Virusinfektionen zum Tragen und dient als indirekter Nachweis von aktiven NG (Hazlett und Wu, 2011; Ostaff et al., 2013). Es lässt sich sowohl im Serum als auch in der Synovia nachweisen, wobei die synoviale Testung der Serumtestung in diagnostischer Wertigkeit bei der PPI deutlich überlegen ist (Carli et al., 2019). Für akute Infekte zeigt das α -Defensin eine Sensitivität von 100 % sowie eine Spezifität von 98 %, wobei sich für chronische Infektionen ein Abfall auf 67 % Sensitivität respektive 97 % Spezifität zeigt (Frangiamore et al., 2016a). Deirmengian et al. konnte 2010 zeigen, dass synoviales α -Defensin sich im Rahmen einer PPI unabhängig von dem auslösenden Mikroorganismus und von der Lokalisation nachweisen lässt. Weiterhin wird der Nachweis von α -Defensin nicht von systemisch entzündlichen Erkrankungen oder einer laufenden Antibiotikatherapie beeinflusst (Pupaibool et al., 2016; Walter und Gramlich, 2019). Es gibt verschiedene Verfahren zum Nachweis von α -Defensin in der Synovia. Auf dem Markt ist zurzeit ein synoviales Testverfahren erhältlich, welches sich vor allem als Schnelltest, zum Beispiel intraoperativ, bewährt hat. Der Laterale-Flow-Test „Synoviasure“ der Firma Zimmer Biomet zeigt das Ergebnis sofort an, ist jedoch dem ELISA-Test, welcher ein Ergebnis nach 24 - 72 Stunden vorweist, hinsichtlich der Sensitivität und Spezifität deutlich unterlegen (Gomez-Urena et al., 2017).

Leukozytenesterase (LE)

Bei der LE handelt es sich um ein Enzym, welches von neutrophilen Granulozyten sezerniert wird und somit mit deren Anzahl im Punktat eng korreliert. Die Testung erfolgt mit Indikatorstreifen, welche bereits für die Bedsidediagnostik von Harnwegsinfekten in Verwendung sind und als indirekter Nachweis einer aktiven bakteriellen Infektion dienen. Hinsichtlich der PPI eignet sich der LE-Test vor allem als Ausschluss-test, da ihm ein hoher negativ-prädiktiver Wert zugeschrieben wird (Gomez-Urena et al., 2017). So kann dieser

Test sowohl präoperativ im Rahmen einer Gelenkpunktion als auch intraoperative zum Einsatz kommen.

Interleukin 6

Obwohl auch im Gewebe von aseptischen Lockerungen hohe IL-6 Konzentrationen gefunden werden können (Waddell et al., 2005), so spricht doch die Mehrheit der Studien für die diagnostische Wertigkeit von synovialen IL-6 zur Detektion einer PPI und Abgrenzung vom einem aseptischen Implantatversagen mit Genauigkeiten von 0,89 - 0,9 (Deirmengian et al., 2010; Frangiamore et al., 2016b). Die Wertigkeit dieser Untersuchung hängt jedoch sehr stark von den festgelegten Grenzwerten der IL-6 Konzentration zur Bestimmung der PPI ab (Randau et al., 2014). Liegt der Grenzwert des synovialen IL-6 bei >2100 pg/ml, so ist die Spezifität bei 85,7 % und Sensitivität bei 59,4 %. Wird ein höherer Cut-off Wert von 9000 pg/ml festgelegt, so ist die Spezifität bei nahezu 100 % und die Sensitivität bei knapp unter 50 % (Randau et al., 2014).

1.3.9 Mikrobiologie

Zu den typischen Erregern von periprothetischen Infektionen gehören koagulase negative Staphylokokken (ca. 30 %), *Staphylococcus aureus* (ca. 20 %), Streptokokken und Enterokokken (ca. 10 %), gramnegative Stäbchen (ca. 10 %) und Anaerobier (ca. 10 %), darunter insbesondere *Propionibacterium acnes* und *Finnegoldia magna*. In weiteren ca. 10 % liegt eine Mischinfektion mit mehreren Bakterien vor und bei 10 - 30 % kann kein Erreger gefunden werden (Trampuz et al., 2007).

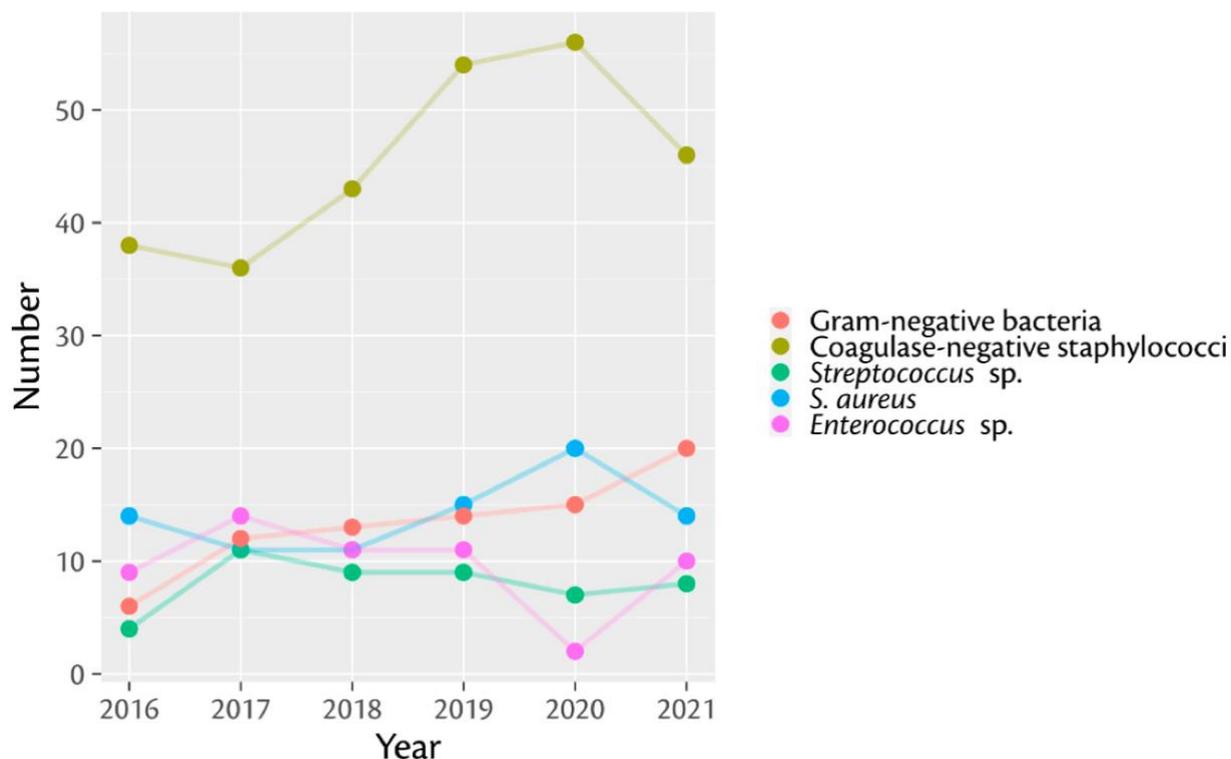


Abb. 12: Jährliche Detektionsrate der 5 häufigsten Pathogenen von 2016 bis 2021 (Fröschen et al., 2022)

Pilze (*Candida*) kommen in 1 - 5 % der periprothetischen Infektionen vor, häufiger bei mehrfach operierten Patienten, ungenügender chirurgischer Sanierung und bei Anwendung einer Vakuumversiegelung.

Das Material für die mikrobiologische Untersuchung kann vor einer Operation, oder während des operativen Eingriffs gewonnen werden. Im Rahmen des operativen Eingriffs sollten mindestens drei, besser fünf bis sechs repräsentative Gewebeproben gewonnen werden. In neueren Studien gibt es Hinweise auf eine verbesserte Sensitivität hinsichtlich des Gebrauchs von Blutkulturmedien bei der Bebrütung von Gewebeproben gegenüber dem herkömmlich verwendeten Agarmedium. Auch die Zeit bis zum Erregernachweis scheint in einem Blutkulturmedium signifikant beschleunigt zu sein (Peel et al., 2016). Ein Nachteil von Gewebekulturen kann die lange Bebrütungszeit sein, welche bei zum Beispiel *Propionibacterium acnes* bis zu elf Tagen im Standardkulturmedium andauern kann (Abdulmassih et al., 2016). Bei akuten PPI reicht oftmals eine Bebrütung für fünf Tage aus, während die Bebrütung bis zum positiven Keimnachweis bei einem chronischem PPI elf Tage andauern kann (Talsma et al., 2021). Diese Verzögerung in der

Diagnosefindung bestimmt das Therapiemanagement und den Zeitpunkt etwaiger Folgeoperationen (Xie et al., 2017).

Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)

Die PCR ist ein Verfahren, welches nicht zur Basisdiagnostik der PPI gezählt wird. Hierbei werden Bakterienbestandteile amplifiziert und nachgewiesen. Theoretisch reicht eine DNA-Kopie für den Erregernachweis aus. Jedoch steigt die Wertigkeit des Tests mit der Anzahl der initial vorhandenen DNA-Kopien, da es extrem unwahrscheinlich erscheint, die singuläre DNA-Kopie genau in der untersuchten Probe anzutreffen (Gallo et al., 2008). Ein großer Vorteil besteht in der hohen Sensitivität des Nachweises trotz vorheriger Antibiotikagabe und selbst bei schwierig kulturell anzüchtbaren Erregern. Es lässt sich keine Unterscheidung hinsichtlich abgestorbener und vitaler Erregerbestandteile treffen. Daher ist die Wertigkeit dieses Testes in der Aussage bezüglich einer persistierenden Infektion eingeschränkt (Gallo et al., 2008).

Kultureller Nachweis und Sonifikation

Die Sonikation stellt mit >99,9 % das effizienteste Verfahren zur Ablösung von Biofilmbakterien von Implantatoberflächen dar (Renz et al., 2015). Die Sonikationsflüssigkeit wird im Anschluss in Kulturmedien bebrütet mit dem Ziel des kulturellen Nachweises und der Erstellung eines Antibioogrammes. Die Bebrütung in Blutkulturflaschen kann den Diagnoseprozess im Vergleich zu herkömmlichen Nährböden, um bis zu fünf Tage beschleunigen (Izakovicova et al., 2019). Dies gilt jedoch vor allem für chronische PPI. Bei der akuten PPI ist die Sonikation dem herkömmlichen Kulturmedium nicht überlegen (Talsma et al., 2021). Die PCR der Sonikationsflüssigkeit beschleunigt den Nachweis von Bakterienbestandteilen, jedoch ohne genauere Spezifizierung. Die diagnostische Wertigkeit für das Erkennen einer PPI weist durch die PCR eine Sensitivität und Spezifität von 75 % und 96 % auf (Liu et al., 2018). Wurden die Gewebeproben und oder Implantate unter einer laufenden Antibiotikatherapie innerhalb von vierzehn Tagen präoperativ gewonnen, so zeigt sich die Sonikation der herkömmlichen Bebrütung hinsichtlich der Sensitivität überlegen (Rothenberg et al., 2017; Trampuz et al., 2007). Eine Schwachstelle der Sonikation von Implantaten ist die Möglichkeit der Kontamination, die im Rahmen unsachgemäßer Handhabung signifikant zunehmen kann.

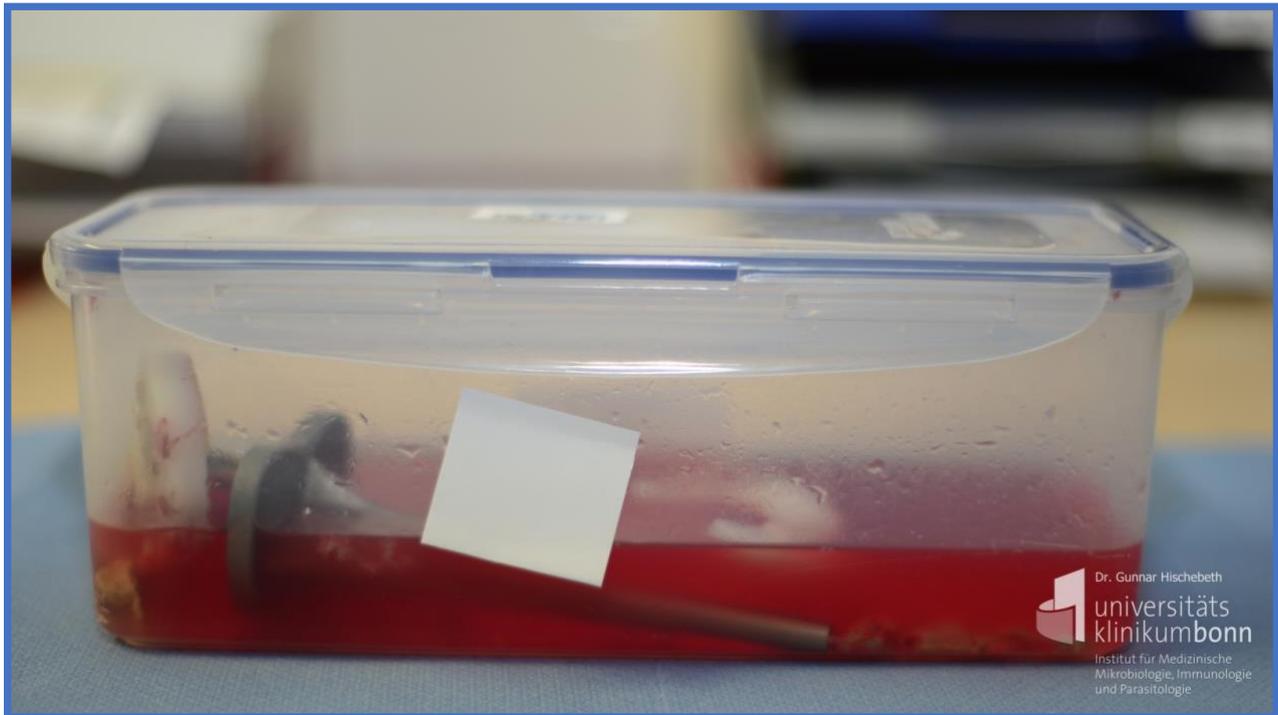


Abb. 13: Sonikationsbehälter mit einliegender explantierter Knieendoprothese, sowie Zementresten. Mit freundlicher Genehmigung von Herrn PD. Dr. Gunnar Hischebeth (Universitätsklinikum Bonn, Institut für medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Parasitologie)

So sollte das Implantat nach dem Ausbau umgehend in sterile, feste und luftdichte Plastikcontainer verstaut werden. Beutel können zu falsch positiven Ergebnissen führen. Weiterhin kann verbliebener, mit Antibiotika versetzter Knochenzement im Rahmen des Sonikationsprozesses die antimikrobiell wirksamen Inhaltsstoffe freigegeben und so ein falsch negatives Ergebnis bewirken (Izakovicova et al., 2019).

1.3.10 Histopathologie

Im Bereich eines einliegenden Gelenkersatzes sind zwei unterschiedliche Gewebetypen zur weiteren Diagnostik von prothesenassoziierten Beschwerden von Interesse. Zum einen die vormalige Gelenkinnenhaut, die Synovia ersetzende Neosynovia und eine Gewebeschicht, welche periprotetische Membran genannt wird und die sich zwischen Prothese und Knochen, dem so genannte Interface, finden lässt (Morawietz und Krenn, 2014). Letztere weist beim Gesunden im Bereich des Femurs eine Dicke von 0,1 - 0,3 mm auf und im Bereich des Acetabulums eine Dicke von größer als 0,1 mm (Bos et al., 1995; Hahn et al., 1992; Krenn et al., 2009). Die histopathologische Aufarbeitung von

repräsentativen Gewebeproben erfolgt nach einem zertifizierten und akkreditierten Procedere. Der angewandte Qualitätsstandard entspricht der DIN ISO/IEC 17020 (Kölbel et al., 2015). Die histopathologischen Schritte sind Fixierung in Formalin (4 %), mit anschließender Einbettung in Paraffin (Kölbel et al., 2015). Es erfolgt die Mikrotomie mit Schnittdicken von 1 - 3 μm mit anschließender Färbung mit Hämatoxylin und Eosin (HE), sowie zusätzlich eine Färbung mit Periodic-Acid-Shiff (PAS) (Kölbel et al., 2015). Hiernach erfolgt die Einteilung nach der Klassifikation von Krenn und Morawietz, beziehungsweise der „Consensus Classification of Joint Implant Related Pathology“ in vier Typen (Krenn et al., 2009; Morawietz und Krenn, 2014). Typ 1 beschreibt Membranen vom abriebinduzierten Typ. Abriebinduzierte Membranen entstehen durch die Phagozytose von Abriebpartikeln metallischen, keramischen oder polymerischen Ursprungs durch ortsansässige Makrophagen. Die durch die Phagozytose aktivierte Entzündungsreaktion bedingt die Einwanderung weiterer Makrophagen und anderer Immunzellen, wie zum Beispiel mehrkerniger Riesenzellen in die oben genannten Gewebetypen. Die Partikelgröße kann variieren. Kleinere Partikel um 1 μm werden eher durch Makrophagen aufgenommen (phagozytiert), während größere Partikel $>5 \mu\text{m}$ eher durch die mehrkernigen Riesenzellen phagozytiert werden (Krenn et al., 2014; Morawietz und Krenn, 2014). Im Verlauf kann diese Anreicherung der Immunzellen mit nachfolgender Entzündungsreaktion zu Osteolysen und konsekutiver Lockerung führen (Hahn et al., 1992; Krenn et al., 2014). Typ 2 beschreibt Membranen vom infektiösen Typ. In Abhängigkeit der Virulenz und der Anzahl des Erregers kommt es zu unterschiedlich stark ausgeprägten Immunantworten, die entsprechend das histopathologische Bild eines High-Grade- oder Low-Grade-Infekts bewirken. Der Schwellenwert mit der größten Sensitivität und Spezifität hinsichtlich der Unterscheidung zwischen infiziertem und nicht infiziertem Gewebe beträgt größer beziehungsweise gleich dreiundzwanzig neutrophilen Granulozyten (NG) pro „High Power Field“ (HPF) (Morawietz et al., 2009). Dieses unter dem Durchlichtmikroskop zu beurteilende repräsentative Feld wird in der Literatur als 0,625 mm im Durchmesser festgelegt (Morawietz et al., 2009). Für eine High-Grade-Infektion gibt es aktuell keinen Schwellenwert an neutrophilen Granulozyten pro HPF (Krenn et al., 2014).

Der auf der CD15 immunhistochemischen Färbung basierende CD 15 Score ermöglicht über die Programmierung einer morphometrischen Software die computergestützte

verlässliche Auszählung bei grenzwertiger Erhöhung von NG (Kölbel et al., 2015). Hier zeigt sich mit 83 % und 86,4 % bei 50 CD15 NG/HPF die größte Sensitivität und Spezifität unter Berücksichtigung der mikrobiologischen Diagnose als Goldstandard für einen PPI. Dient die Konsensusklassifikation als Goldstandard der PPI als Referenzierung so beträgt die Sensitivität und Spezifität 87,5 % und 93 % (Kölbel et al., 2015). Typ 3 beschreibt Membranen vom kombinierten Typ. Hier zeigen sich sowohl abriebinduzierte Zellen als auch NG. Typ 4 beschreibt Membranen vom Indifferenztyp. Hier lässt sich weder phagozytiertes Abriebmaterial noch NG nachweisen. Es handelt sich vielmehr um Bindegewebe mit hohem Kollagenanteil. Abriebmaterial kann nachgewiesen werden, aber nur vereinzelt. NG können mit einem Anteil von deutlich weniger als 23 NG pro HPF vorkommen. Der Nachweis von NG erfolgt vielmehr in fibrinhaltigen Geweben. Als Ursache für Typ 4 Membrane kommt eine schlechte Funktionalität des Kunstgelenks auf Grund verschiedener Faktoren in Betracht. Diese können durch eine insuffiziente Verankerung, durch mangelnde Knochenqualität oder fehlerhafte Implantation oder durch insuffiziente muskuläre Führung des Gelenks, zum Beispiel durch Atrophie, bedingt sein (Krenn et al., 2014).

1.3.11 MALDI-TOF MS

MALDI-TOF dient zur Analyse großer Moleküle und Bio-Polymere. Die Moleküle einer Probe werden zuerst ionisiert (MALDI) und dann mittels Massenspektroskopie entsprechend ihrer Flugzeit (TOF) analysiert (Koichi et al., 1987).

MALDI-TOF MS wird routinemäßig in der Diagnostik der PPI genutzt, um Pathogene aus potenziell infiziertem Gewebe oder Flüssigkeit zeitnah identifizieren zu können. Es stellt eine Alternative zur herkömmlichen kulturellen Anzucht auf Agarplatten dar.

Dabei kann bei positiven Blutkulturen, zum Beispiel aus gewonnenem Gelenkpunktat, eine direkte Analyse mittels MALDI-TOF MS erfolgen, ohne diese erst auf Agarplatten anzüchten zu müssen. Dies weist einen Benefit hinsichtlich der benötigten Zeit bis zur Identifizierung des Pathogens auf (Higgins et al., 2022; Kuo et al., 2020).

So kann die Identifizierung von 24 - 48 Stunden auf weniger als eine Stunde reduziert werden.

In der Literatur finden sich zwei verschiedene Ansätze des MALDI-TOFs. Die direkte und die Standard MALDI-TOF (Lin et al., 2018). Bei der direkten Messung wird die Erstellung einer Subkultur übergangen (Lin et al., 2018).

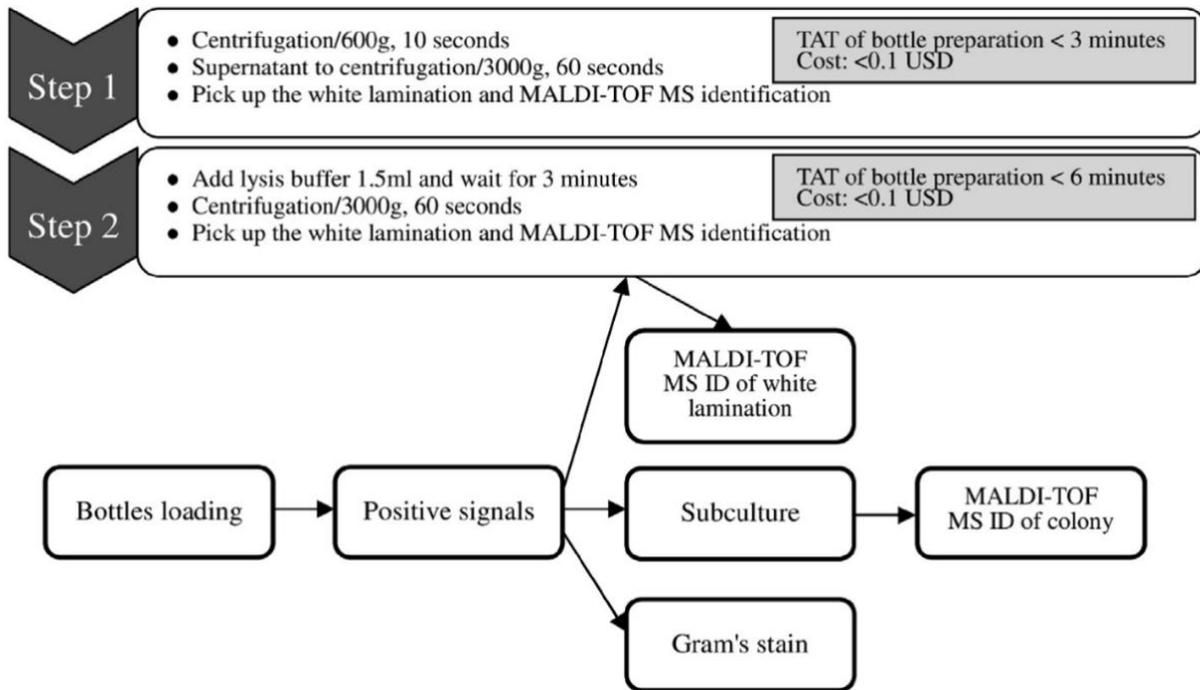


Abb. 14: „Zusammenfassung der direkten MALDI-TOF MS Messung (zweistufiger Prozess, der direkte und lytische Methoden umfasst) und Standard-Kolonieidentifizierung durch MALDI-TOF MS. g: Erdbeschleunigung; MALDI-TOF MS: Matrix-unterstützte Laser Desorption/Ionisation time-of-flight Massen Spektrometrie“ (Lin et al., 2018), g= gravitational acceleration, TAT= Turnaround time, ID= Identification

Beim Vergleich von direktem und routinemäßigem MALDI-TOF MS in der Analyse von Synovialflüssigkeit zeigte der direkte Ansatz eine schnellere Bearbeitungszeit, aber eine geringere Erregeridentifizierungsrate als das Standardverfahren. Die direkte MALDI-TOF MS identifizierte 85,3 % der grampositiven Organismen und 92,3 % der gramnegativen Organismen im Vergleich zum Standard MALDI-TOF MS (Higgins et al., 2022; Kuo et al., 2020). Dies gilt es insbesondere bei der Diagnostik der PPI zu berücksichtigen, bei der die häufigsten Erreger grampositiv sind (Higgins et al., 2022).

Außerdem kann die MALDI-TOF MS Technik zur Detektion von α -Defensin in synovialer Flüssigkeit verwendet werden. Hier zeigten sich eine Sensitivität und Spezifität von 93 % und 98 % respektive (Higgins et al., 2022).

1.3.12 Gefrierschnitte

Analog zu den üblichen histopathologischen Proben können intraoperative Gefrierschnitte entnommen werden. Hierzu werden repräsentative Proben durch den Chirurgen identifiziert und noch während der Operation durch den Pathologen begutachtet. Die histopathologischen Kriterien eines Infektes sind analog zur allgemein gültigen Klassifikation von Krenn und Morawietz.

Die Nachteile dieser Methode bestehen in der benötigten Infrastruktur und Expertise sowie in einem höheren Kostenfaktor im Vergleich zu anderen Testmethoden (Buttaro et al., 2015; Kelly et al., 2021). Referenziert man die Wertigkeit intraoperativer Gefrierschnitte an den modifizierten MSIS Kriterien so erhält man eine hohe Spezifität von 99 % und eine moderate Sensitivität von 74 %. Die Diskrepanzrate zwischen gefrorenen Schnellschnitten und dem standardmäßig erhobenen histopathologischen Befund ist gering (Kelly et al., 2021; Kwiecien et al., 2017). Voraussetzung hierfür ist die Evaluation durch einen erfahrenen Pathologen (Kwiecien et al., 2017).

Kelly et al. kommt zum Schluss, dass Gefrierschnitte vor allem bei inkonklusiven Fällen einen diagnostischen Mehrwert darstellen und hinsichtlich des Therapieregimes Sicherheit bringen können (Kelly et al., 2021).

1.3.13 Die Relevanz immunhistochemischer Marker in der Diagnostik der PPI

Immunhistochemische Marker werden zum jetzigen Zeitpunkt nicht routinemäßig zur Diagnostik der PPI eingesetzt. Die Aufmerksamkeit galt in den vergangenen Jahren vielmehr den Biomarkern in der synovialen Flüssigkeit, welche mitunter eine deutlich höhere diagnostische Wertigkeit haben als der Nachweis im Serum (Gomez-Urena et al., 2017). Im Folgenden soll die Anwendung und Relevanz einiger immunhistochemischer Marker, die im Rahmen dieser wissenschaftlichen Arbeit untersucht wurden, dargelegt werden.

1.3.14 Behandlungsalgorithmus

Die präoperative Diagnosefindung ist essenziell wichtig, da davon die Behandlung relevant abhängt. Wenn die PPI nachgewiesen oder vermutet wird dann sieht der Behandlungsalgorithmus bei dem operativen Eingriff stets das Debridement mit

Gewinnung von Proben für Mikrobiologie und Pathologie vor. Grundsätzlich erfolgt die intravenöse Antibiotikagabe im Rahmen eines stationären Aufenthaltes und stets über zwei Wochen oder länger, gefolgt von einer oralen Antibiotikagabe, sodass die antimikrobielle Therapie insgesamt zwölf Wochen umfasst (Pagenstert et al., 2019; Renz und Trampuz, 2015).

Der Behandlungsalgorithmus ist von verschiedenen Faktoren abhängig. So besteht bei einer akuten PPI die Möglichkeit entweder einen Prothesenerhalt anzustreben oder einen ein- oder mehrzeitigen Prothesenwechsel vorzunehmen.

Bei einer akuten PPI ist die Therapie abhängig vom potenziell nachgewiesenen Keimspektrum, von den weichteiligen und knöchernen Verhältnissen sowie von der Prothesenstabilität. Im Fall des Nachweises eines niedrig virulenten Erregers, unproblematischen Weichteilen und fest verankerter Prothese kann der Prothesenerhalt angestrebt werden. Beim Versuch des Prothesenerhalts erfolgt primär das Debridement und der Wechsel aller mobilen Teile, gefolgt von einer zweiwöchigen intravenösen Antibiotika-Gabe und einer anschließenden zehnwöchigen oralen mikrobiologisch angepassten Antibiotikagabe (Pagenstert et al., 2019; Renz und Trampuz, 2015).

Werden Problemerreger nachgewiesen, gibt es kompromittierte Weichteile oder liegt eine Lockerung vor, so erfolgt ein mehrzeitiges Vorgehen mit der Explantation der Prothese. Zeigt sich intraoperativ lediglich eine Lockerung der Prothese und es konnten im Vorfeld oben genannte Faktoren ausgeschlossen werden, so kann ein einzeitiger Wechsel der Prothese erfolgen. Diesem schließt sich wie auch beim Erhalt der Prothese eine zweiwöchige intravenöse Antibiotikagabe gefolgt von einer zehnwöchigen oralen mikrobiologisch angepassten Antibiotikagabe an. Ansonsten erfolgt ein zwei- oder mehrzeitiger Wechsel (Pagenstert et al., 2019; Renz und Trampuz, 2015).

Der zweizeitige Wechsel kann in Abhängigkeit oben genannter Faktoren in einem kurzen Intervall oder in einem langen Intervall erfolgen. Im kurzen Intervall folgt der Explantation der Prothese die intravenöse Antibiotika-Gabe mit anschließender Reimplantation der Prothese gefolgt von einer erneuten intravenösen Antibiotika-Gabe über eine Woche gefolgt von einer neunwöchigen oralen Antibiotika-Gabe. Der zweizeitige Wechsel im langen Intervall beinhaltet die Indexoperation mit Explantation, gefolgt von der oben genannten zweiwöchigen intravenösen Antibiotika-Gabe, gefolgt von einer vierwöchigen oralen Antibiotika-Gabe mit anschließender Reimplantation nach 6 Wochen, gefolgt von

einer einwöchigen intravenösen Antibiotika-Gabe, gefolgt von einer fünföchigen oralen Antibiotika-Gabe (Pagenstert et al., 2019; Renz und Trampuz, 2015).

Der drei- und mehrzeitige Wechsel sieht die Explantation im ersten Eingriff vor, gefolgt von einer mehrwöchigen intravenösen Antibiotika-Gabe, unterbrochen von erneuten Eingriffen mit möglichem Wechsel des Platzhalters oder ausschließlich erneutem Débridement mit anschließender Reimplantation nach sechs Wochen, gefolgt von einer einwöchigen intravenösen Antibiotika-Gabe. Im Anschluss erfolgt eine fünföchige orale Antibiotika-Gabe (Pagenstert et al., 2019; Renz und Trampuz, 2015). Der mehrzeitige Wechsel bleibt den Fällen vorbehalten, bei denen desaströse Weichteilverhältnisse, komplexe Keimkonstellationen oder andere Faktoren die Behandlung verkomplizieren.

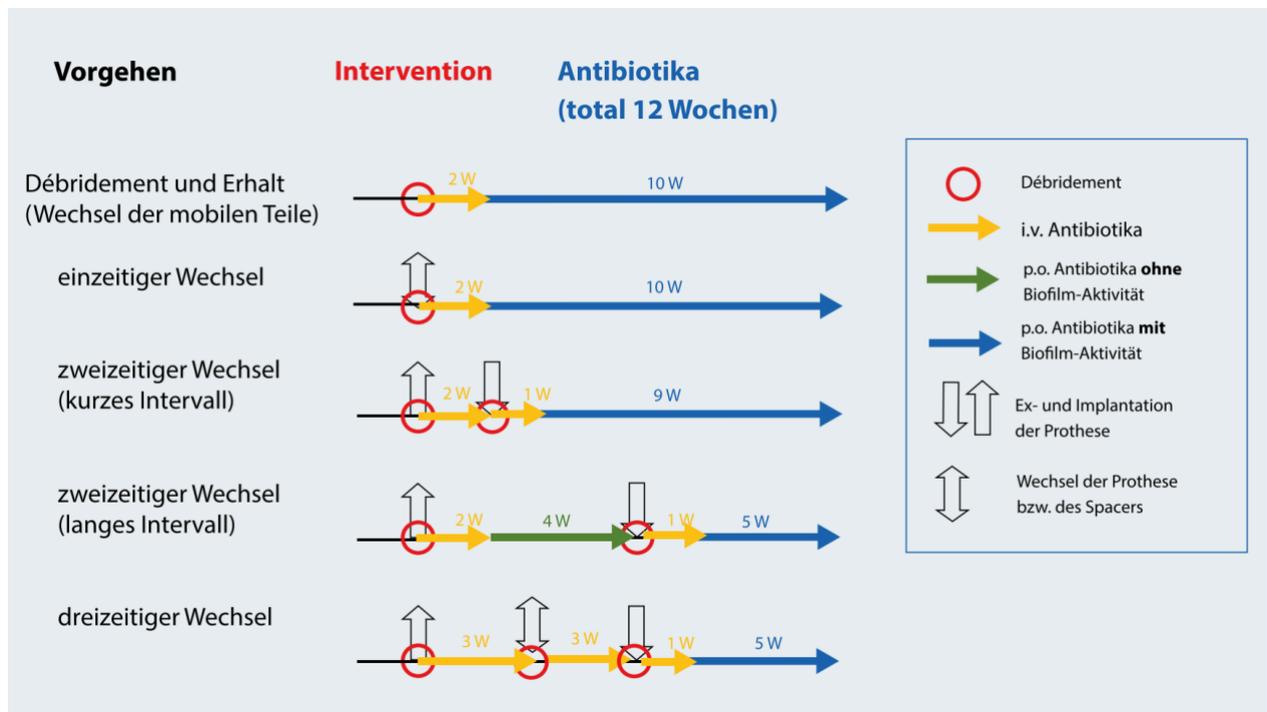


Abb. 15: Chirurgisches Vorgehen bei infizierten Gelenkprothesen (Renz und Trampuz, 2015)

1.4 Hypothese und Fragestellung

Die PPI stellt nach wie vor eine schwerwiegende komplexe Komplikation der Endoprothetik dar. Im vergangenen Jahrzehnt wurden verschiedene Definitionskriterien für PPI beschrieben. Auf den internationalen „Consensus Meetings“ in den Jahren 2014 und 2018 wurden Definitionskriterien vorgeschlagen und in einer Vielzahl wissenschaftlicher Arbeiten untersucht und validiert. Die Definition der „Pro Implant

Foundation“ ist die progressivste bislang (Izakovicova et al., 2019). Trotzdem schaffen es diese Kriterien nicht, eine beträchtliche Anzahl von chronischen Low-Grade PPI zu erkennen bzw. den besten Zeitpunkt einer Reimplantation zu bestimmen (Bian et al., 2018; Izakovicova et al., 2019; Preininger et al., 2017).

Die Frage, wann ein Gelenk infektkonsolidiert ist, wird bislang nicht einheitlich definiert und hängt somit nach wie vor von einer Vielzahl an Faktoren ab. Wobei die hohe Anzahl an Implantatversagen nach Reimplantation im Rahmen eines zweizeitigen Vorgehens zeigt, dass hier noch ein großer Forschungsbedarf besteht (Bian et al., 2018; Preininger et al., 2017). Der aktuelle Goldstandard sieht ein chirurgisches zweizeitiges Vorgehen vor mit begleitender initial kalkulierter im Verlauf keimadaptierter Antibiotika-Therapie (Bian et al., 2018). In besonders schweren Fällen muss eine mehrzeitige chirurgische Sanierung erfolgen. Hier stellt sich, wie auch beim zweizeitigen Wechsel, die alles entscheidende Frage nach dem Zeitpunkt der Infektkonsolidierung. Das Ziel dieser Arbeit gilt der Identifizierung neuer immunhistochemischer Marker die Gewebe, welches im Rahmen eines drei- und oder mehrzeitigen Vorgehens oder im Rahmen einer minimalinvasiven Probenentnahme in Lokalanästhesie (Wimmer et al., 2017) gewonnen worden ist, hinsichtlich einer Infektkonsolidierung bzw. Infektpersistenz unterscheiden zu können. Gerade in diesen besonders kritischen Fällen stellt ein neues histopathologisches „Diagnosetool“ eine wertvolle Ergänzung dar.

2. Material und Methode

2.1 Datenbank Erstellung

Primär erfolgte die Erstellung einer Datenbank zur Identifikation geeigneter Fälle zur erneuten immunhistopathologischen Aufarbeitung und Auswertung. Hierfür erfolgte eine diagnosenspezifische Suche im Softwaresystem ORBIS® der Universitätsklinik Bonn nach dem ICD 10 Code T84.5 „Infektion und entzündliche Reaktion durch eine Gelenkendoprothese“. In einem ersten Schritt wurden Fälle mit ausreichend repräsentativen histopathologischen und mikrobiologischen Proben ausgewählt, welche im Rahmen einer offenen Probenentnahme zwecks der Evaluation bezüglich „infektfrei“ oder „persistierende Infektion“ gewonnen worden sind. Mit dieser Information konnte die Datenbank um epidemiologische Daten, Informationen rund um die operative Prozedur,

Daten bezüglich des klinischen Verlaufs des Patienten, der Informationen zum Follow up sowie der laborchemischen, therapeutischen, mikrobiologischen und histopathologischen Daten ergänzt werden.

Anhand der derzeit gängigen laborchemischen (Zellzahl des Punktats, serologische Infektparameter), histopathologischen (Krenn und Morawietz) und mikrobiologischen (Keimnachweis vs. steril) Entscheidungskriterien gemäß den Vorgaben der ICM erfolgte nun die Identifikation von 10 Fällen, bei denen eindeutig eine persistierende Infektion vorgelegen hat. Diesen wurden 9 Fälle gegenübergestellt, welche sich retrospektiv sicher infektfrei dargestellt haben.

2.2 Aufbereitung der histopathologischen Proben

Durch das Institut für Pathologie der Universitätsklinik Bonn erfolgte nun die Überprüfung der Tauglichkeit der Gewebeproben. Im nächsten Schritt wurden zwecks der Erstellung von TMAs repräsentative Bereiche der histopathologischen Gewebsschnitte eruiert und markiert. Die identifizierten Bereiche konnten nun folgend zur Herstellung von TMAs genutzt werden.

2.2.1 Tissue microarrays (TMAs)

Die Herstellung der TMAs erfolgte im Institut für Pathologie der Universitätsklinik Bonn. Zur Anwendung kam der Tissue Arrayer Minocore^{®3} der Firma Alphelys. TMAs wurden aus Paraffinblöcken mit in Formalin fixierten periprothetischen Membranen durch den Pathologen Herrn Lau und die technische Mitarbeiterin Frau Aktekin erstellt. In Hematoxylin und Eosinfärbungen wurden jeweils repräsentative Bereiche, in denen die respektiven diagnostischen Kriterien der Läsion (z.B. normale Synovia oder High-Grade-Synovitis) der Spenderparaffinblöcke markiert und alsdann zylindrisch mit einer 1 mm messenden Nadel ausgestanzt und in einem einzigen neuen, 38 mm x 25 mm messenden Empfängerblock nebeneinander eingebettet. Jeweils vier Stanzen aus den Gewebelöcken eines Patienten wurden nebeneinander auf den Empfängerblock transferiert. So erfolgte die Besetzung der Positionen im Empfängerblock mit 36 Gewebestanden aus nicht infiziertem Gewebe (Siehe Abbildung 1, oberen 3 Reihen) und 40 Gewebeständen von infiziertem Gewebe (Siehe Abbildung 1, untere 4 Reihen). Die ersten beiden Spalten des Empfängergewebeparaffinblocks wurde mit Kontrollen aus

Lungengewebe besetzt. Anschließend konnte der Paraffinblock entsprechend der gewünschten Anzahl an immunhistochemischen Färbungen in 30, 4 µm dicke Schnitte mit dem Microtom geschnitten und jeweils auf einem Objektträger fixiert werden. Im Anschluss erfolgten jeweils die 30 unterschiedlichen immunhistochemischen Färbungen.



Abb. 16: TMA Block

2.2.2 Färbetechnik

Im Institut für Pathologie der Universitätsklinik Bonn wurden für die verschiedenen immunhistochemischen Färbungen zwei unterschiedliche Geräte genutzt.

Bei dem Marker CD4 kam die vollautomatische immunhistochemische Färbung mit UltraView/OptiView Detektionskit BenchMark Ultra der Firma Roche zum Einsatz.

Bei diesem vollautomatisierten Vorgang wird das formolfixierte Gewebe in Paraffin eingebettet. Von den erstellten Gewebeparaffinblöcken werden 2 - 3 µm dicke Schnittpräparate angefertigt. Diese Schnitte werden zum Strecken auf ein circa 45°C warmes Wasserbad gelegt, wodurch die Zellen nebeneinander zum Liegen kommen. Hieraufhin werden diese Schnitte auf TOMO Objektträger aufgezogen und ca. eine

Stunde bei 65°C getrocknet. Im Anschluss werden die Objektträger in den BenchMark Ultra gelegt. Die Entparaffinierung, die Hitzevorbehandlung und die komplette weitere Reaktion erfolgen im Gerät. Außerhalb des Gerätes erfolgt die Kerngegenfärbung mit Hämalaun nach Mayer. Im Anschluss wird das Präparat über eine aufsteigende Alkoholreihe vollständig entwässert und mit einem wasserfreien Eindeckmittel (Pertex) eingedeckt.

Alle anderen immunhistochemischen Färbungen wurden mit dem Autostainer 480 S der Firma Medac durchgeführt. Bei diesen semiautomatischen immunhistochemischen Färbungen mit einem Polymersystem wurden folgende Marker enzymatisch vorbehandelt: C3 Komplement, EGFR, IgA, IgG4, IgM, Mastzelltryptase. Der Ablauf dieser semiautomatisierten immunhistochemischen Färbung ist wie folgt: Das formalinixierte Gewebe wird in Paraffin eingebettet und mit dem Mikrotom TOMO-OT mit einer Schnittdicke von 2 - 3 µm geschnitten. Es folgt die einstündige Trocknung bei 65°C im Brutschrank. Nun erfolgt die Vorbehandlung der Schnitte: Zunächst erfolgt eine Entparaffinierung über eine absteigende Alkoholreihe bis zum destillierten Wasser. Als nächstes erfolgt die enzymatische Vorbehandlung mit 0,01 % Protease bei 37°C für sechs Minuten. Es folgt die Spülung in destilliertem Wasser. Nach der Vorbereitung erfolgt ein zehninütiger Peroxidase-Block gefolgt von der Spülung mit Waschpuffer. Nun schließt sich über 30 Minuten die primäre Antikörperfärbung an, gefolgt von der Spülung mit Waschpuffer. Es folgt die Enhancer-Färbung nach Angaben des Detektionssystem für weitere 10 Minuten, gefolgt von der Spülung mit Waschpuffer. Es folgt die Polymerisation für weitere 20 Minuten, gefolgt von der Spülung mit Waschpuffer. Es folgt die Farbentwicklung mit Diaminobenzidine (DAB) für weitere 8 Minuten, gefolgt von der Spülung mit destilliertem Wasser. Es schließt sich die dreiminütige Kernfärbung mit Hämatoxylin nach Mayer an, gefolgt von dem sogenannten Bläuen unter warmem Leitungswasser und einer aufsteigenden Alkoholreihe, gefolgt von der Zugabe von Xylol und abschließend der Eindeckelung mit Pertex.

Reagenzien	Firma	Referenz
Waschpuffer	Medac	B1-30A
Modul-Puffer , pH 6	Medac	PMB-1-250
Peroxidase Blocking	Medac	925B-05
Detectionssystem	Medac	C-DPVB 500 HRP

DAB	Medac	495192 F
Protease	Sigma	6901P

Tabelle 1: Zum Einsatz kommende Reagenzien

Alle anderen Färbungen erfolgten ohne enzymatische Vorbehandlung nach folgendem Ablauf: Das formolfixierte Gewebe wird in Paraffin eingebettet und mit dem Mikrotom TOMO-OT mit einer Schnittdicke von 2 - 3 µm geschnitten. Es folgt die einstündige Trocknung bei 65°C im Brutschrank. Nun erfolgt die Vorbehandlung der Schnitte ohne enzymatische Vorbehandlung. Diese besteht in einer Hitzedemaskierung im PT-Modul bei einem pH von 6,0 über 20 min bei 99°C. Hierbei entfällt das Entparaffinieren.

Nach der Vorbereitung erfolgt der Ablauf analog zur semiautomatischen immunhistochemischen Färbung mit enzymatischer Vorbehandlung. Die genutzten Reagenzien sind die oben bereits aufgeführten.

2.2.3 Verwendete immunhistochemische Marker

Antikörper	Clone	Firma	Best.Nr.	Verdünnung	Vorbehandlung
CD1a	MTB1	Leica	NCL-L- CD1a-235	1:100	Citrat pH6
CD3	CN10	Leica	NCL-L- CD3-565	1:50	Citrat pH6
CD4	SP35	Roche		RTU	CC1
CD5	4C7	Leica	NCL-L- CD5-4C7	1:50	Citrat pH6
CD20	L26	Agilent	M 7055	1:2000	Citrat pH6
CD31	JC70A	Agilent	M 0823	1:250	Citrat pH6
CD34	QBEnd1 0	Agilent	M 7165	1:200	Citrat pH6
CD38	SPC32	Leica	NCL-L- CD38-290	1:100	Citrat pH6
CD56	RCD56	Zytome d	RBK 050	1:100	Citrat pH6
CD138	MI15	Agilent	M 7228	1:100	Citrat pH6

C3 Komplement	poly	Agilent	A 0062	1:15000	Protease 0,01%
CRP	Y284	Abcam	ab 32412	1:250	Citrat pH6
EGFR	E30	Agilent	M 7239	1:50	Protease 0,1%
Elastase 3A	14-3	Santa Cruz	sc-100527	1:2000	Citrat pH6
IgA	poly	Agilent	M 0262	1:60.000	Protease 0,01%
IgD	poly	DCS	11755C01	1:100	Citrat pH6
IgG4	HP6025	Acris	SM 2069P	1:500	Protease 0,1%
IgM	poly	Agilent	A 0425	1:60.000	Protease 0,01%
Mastzelltryptase	AA1	Agilent	M 7052	1:6000	Protease 0,01%
Kollagen II	?	Quartett	2031500305	1:50	Citrat pH6
Kollagen IV	CIV22	Agilent	M 0785	1:50	Citrat pH6
PAX2					
PAX5					

Tabelle 2: Verwendete immunhistochemische Marker

2.3 Histologische Auswertung

Die histologische Auswertung erfolgte unter Anleitung eines erfahrenen Pathologen (Herr Lau). Die Auswertung der folgenden unterschiedlichen Färbungen erfolgte stets mit einer 400-fachen Vergrößerung.

Es folgte die Auswertung anhand eines Färbescores, Gefäßscores, sowie anhand einer direkten Zellauszählung.

Bei zytoplasmatisch anfärbenden Markern erfolgte die Auswertung anhand eines Färbescores.

Dabei erfolgte die Unterteilung in vier verschiedene Färbintensitäten. 0=keine Färbung, 1=schwache Färbung, 2=moderate Färbung und 3=intensive Färbung. Zu diesen Markern gehören: CRP und C3 Komplement.

Gefäßmembrananfärbende Marker wurden anhand eines Gefäßscores ausgewertet. Hierbei wurde die Anzahl der getrennt voneinander liegenden gefäßmorphologischen

Anschnitten pro Hauptgesichtsfeld gezählt. Analog zu dem Verfahren von Weidner et al. 1991 (Talsma et al., 2021) wurden zunächst unter dem Mikroskop in der 100-fachen Vergrößerung die Gewebeausschnitte mit der höchsten gefärbten Gefäßanzahl („hot spots“) ausgesucht und anschließend in der 400-fachen Vergrößerung die Anzahl der positiv-gefärbten Mikrogefäße ausgezählt. Zu diesen Markern gehörten CD31 und CD34. Kollagen II, Kollagen IV und Elastase 3a zeigen eine Anfärbung um Gefäßanschnitte herum und wurden anhand eines Färbescores ausgewertet. So wurde die Intensität der Färbung um Gefäße herum im Hauptgesichtsfeld gezählt. Die Einteilung erfolgte von 0=keine Färbung um Gefäße herum, 1=schwache Färbung um Gefäße herum, 2=mäßige Färbung um Gefäße herum bis 3=kräftige Färbung um Gefäße herum.

Die Auswertung der lymphozytenanfärbenden Marker erfolgte, indem alle gefärbten Zellen pro Hauptgesichtsfeld (HPF) ausgezählt und der Gesamtzahl der lymphatischen Zellen gegenübergestellt wurden. Nach diesem Schema wurden folgenden Marker ausgewertet: CD1a, CD3, CD4, CD5, CD20, CD38, CD56, CD138.

Die Auswertung von Mastzelltryptase, EGFR, IgG 4, IgM, IgA und IgD positiv gefärbten Strukturen erfolgte als direkte Auszählung von angereicherten Zellen mit abgrenzbaren Zellstrukturen und sicher rundlicher Morphologie.

PAX2 und PAX5 sind nukleäre Marker (PAX5 färbt B-Lymphozyten verschiedener Reifestadien (Pathology outlines)). Es erfolgte die Zählung der angefärbten Zellen pro Hauptgesichtsfeld.

2.4 Statistische Auswertung und Interpretation

Die aus dem klinischen Arbeitsplatz-System ausgelesenen und entsprechend ergänzten klinischen Daten wurden in einer Excel-Liste (Microsoft Excel 356, Microsoft Corporation, Richmond, Virginia, USA) aufgeführt und mit den Daten der Tissue Arrays zusammengeführt und anonymisiert. Deskriptive Statistiken (Mittelwerte, Summen, Standardabweichungen) wurden mittels Excel berechnet. Für die statistische Auswertung wurden die Daten in GraphPad Prism (Prism v 7.02, GraphPad, LaJolla, CA, USA) exportiert. Nicht-numerische Parameter (wie Geschlecht, Gelenk, etc.) wurden mittels Fisher's Exact Test hinsichtlich ihrer Verteilung in den beiden Gruppen „infiziert“ und „nicht infiziert“ analysiert. Zum Mittelwertvergleich zwischen den Gruppen wurden sowohl für die rein quantitativen Werte (Laborparameter, Zellzahl, etc.) als auch für die semi-

quantitativen Werte (Färbungsintensität) der Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test angewendet, da bei $n=10$ eine Normalverteilung der Werte nicht beweisbar war. P-Werte < 0.05 wurden als signifikanter Unterschied angenommen. Bei denjenigen Parametern, die einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen zeigten, wurden Receiver-Operator Characteristics berechnet, um den besten Cut-off, sowie die Sensitivität und Spezifität zur Differenzierung hinsichtlich „infiziert“ und „nicht infiziert“ zu berechnen.

3. Ergebnisse

3.1 Patientenkollektiv

Hinsichtlich der Verteilung zwischen den Gruppen fanden sich keine signifikanten Unterschiede bzgl. Alter, Geschlecht und den behandelten Gelenken (Hüfte od. Knie). Auch bzgl. der Klassifikation der „American Society of Anaesthesiology“ (ASA) zeigte sich kein Unterschied zwischen den Gruppen.

	Nicht-Infiziert	Infiziert	P-Wert
Alter	68,9 (+/- 9,9) Jahre	72,9 (+/- 8,3) Jahre	0,34*
Geschlecht (W:M)	5:4	5:5	1,00**
Gelenk (Knie:Hüfte)	6:3	3:7	0,17**
ASA-Score	2,3 (+/- 0.67)	2,3 (+/- 0.95)	0,83*
Diabetes [%]	40%	10%	0,30*

Tabelle 3: Charakteristika des Patientenkollektivs; hinsichtlich Alter, ASA-Score, Diabetes zeigten sich ebensowenig Unterschiede wie bei der Geschlechter- und Gelenkverteilung. Angegeben sind die Mittelwerte +/- Standardabweichung; *: P-Werte anhand Mann-Whitney-U-Test; **: P-Werte anhand Fisher's Exact Test

Hinsichtlich der Anzahl an Voroperationen zeigte sich zwischen den Gruppen ein signifikanter Unterschied: Die Gruppe der Patienten mit einer Infektpersistenz hatte im Durchschnitt 5,3 Voroperationen (+/- 2,6), während die Gruppe der Patienten mit Infektkonsolidierung nur 4,8 Voroperationen aufwies (+/- 6,2).

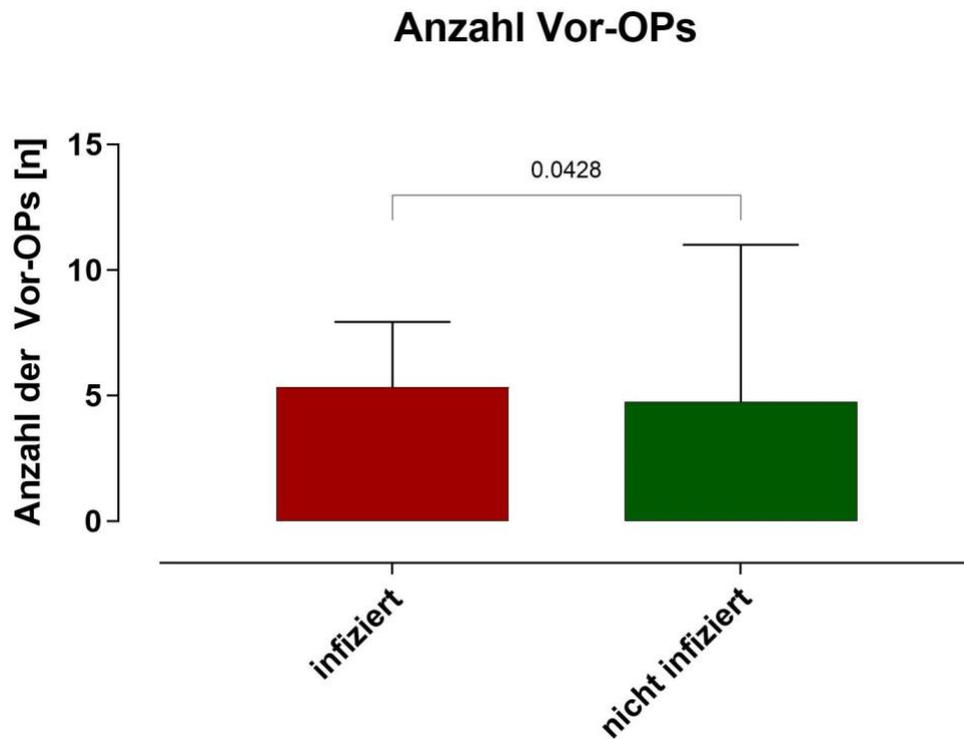


Abb. 17: Dargestellt ist die Anzahl der Vor-OPs im Vergleich zwischen den beiden Gruppen als Balkendiagramm; Die Höhe des Balkens entspricht dem Mittelwert (Mean), die Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung (SD). Der P-Wert im Mann-Whitney-U-Test betrug 0.0428, damit zeigt sich ein knapp signifikanter Unterschied.

3.2 Qualitative Auswertung der immunhistochemischen Färbungen

Eine exemplarische Übersicht der Färberegebnisse des Färbescores am Beispiel von CRP, Kollagen II sowie Kollagen IV zeigen die Abbildungen 18 - 29.

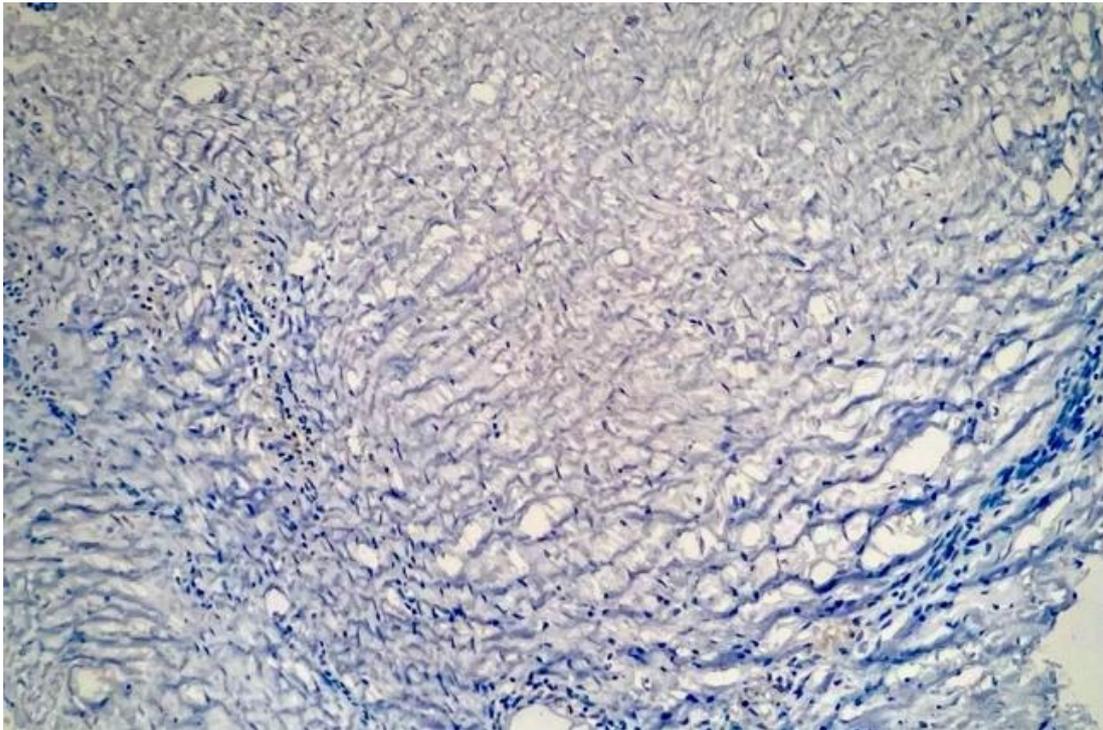


Abb. 18: Immunohistochemische Färbung: CRP; Präparat: Aseptisch, Position: 1743/14A1; keine Anfärbung des Bindegewebes (blau) abgrenzbar Score: 0

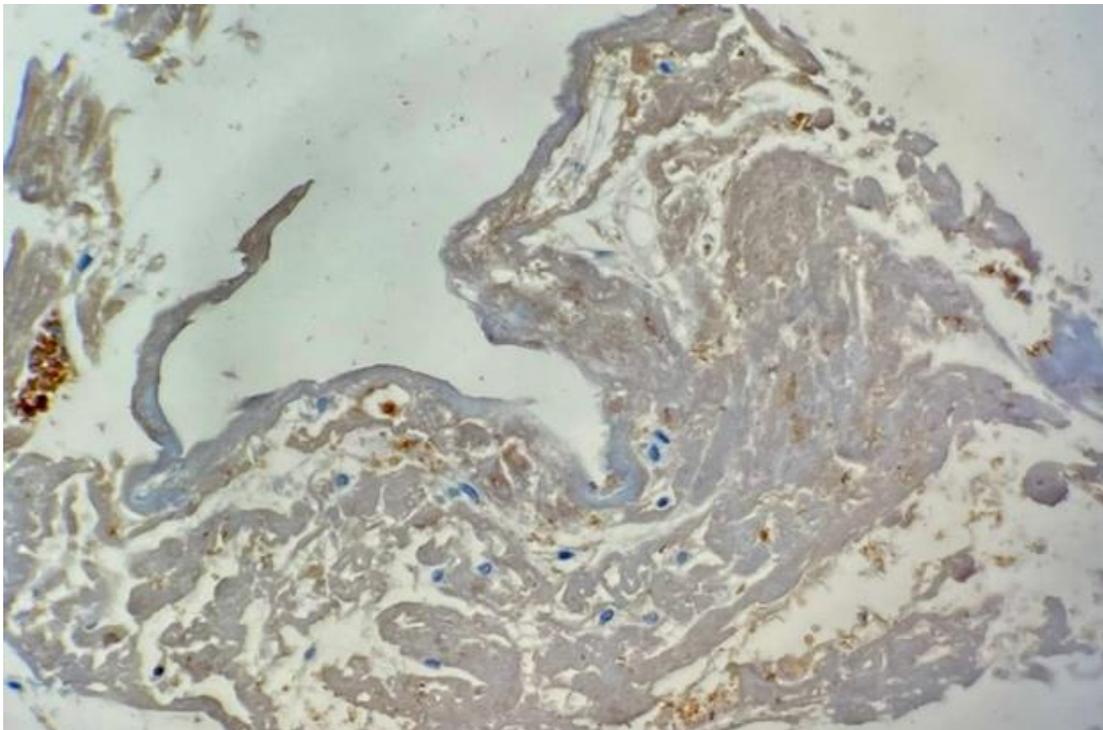


Abb. 19: Immunohistochemische Färbung: CRP; Präparat: Aseptisch, Position: 8668/16/2; schwache Färbung des Bindegewebes schwach bräunlich abgrenzbar Score:1

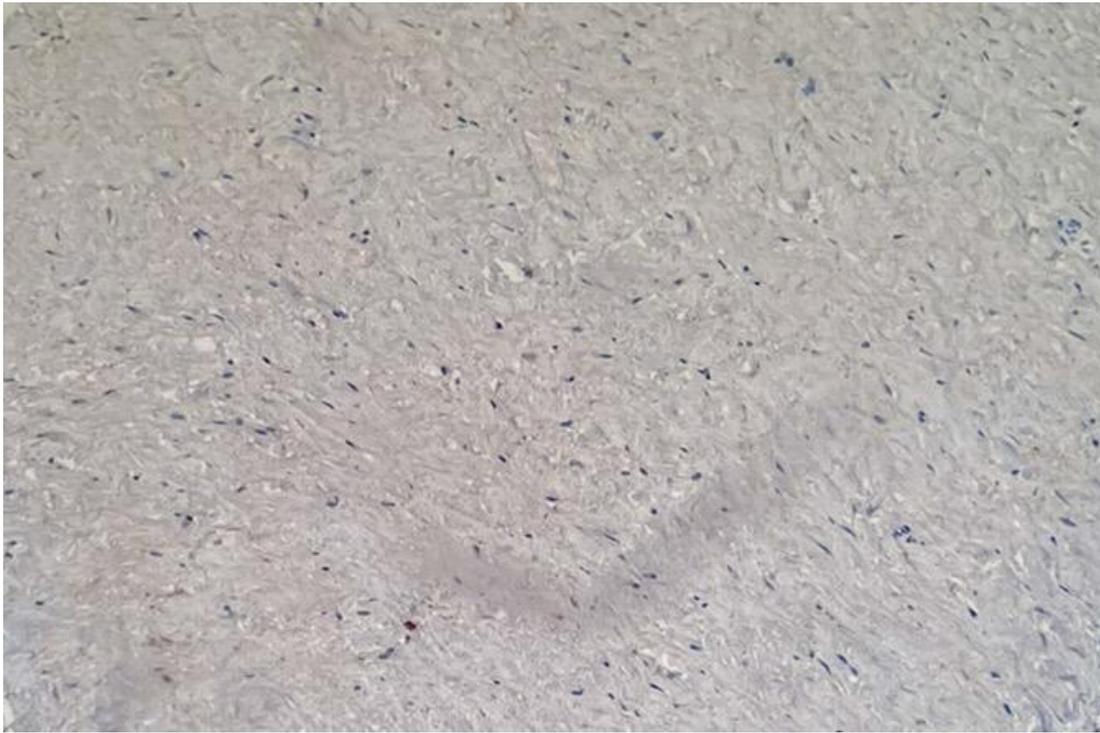


Abb. 20: Immunhistochemische Färbung: CRP; Präparat: Aseptisch; Position: 2567/16/2; schwache Färbung des Bindegewebes schwach bräunlich abgrenzbar Score:1

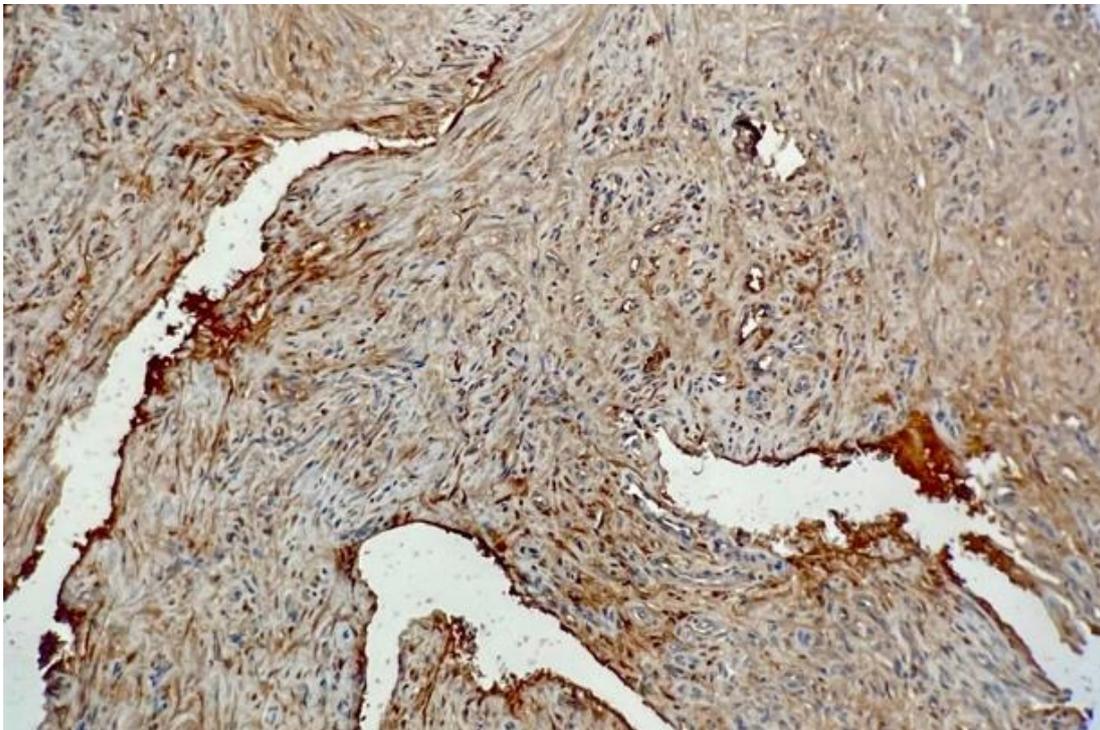


Abb. 21: Immunhistochemische Färbung: CRP; Präparat: Septisch; Position: 9282/15/4; moderate Färbung des Bindegewebes und des Zytoplasmas deutlich bräunlich abgrenzbar Score:2

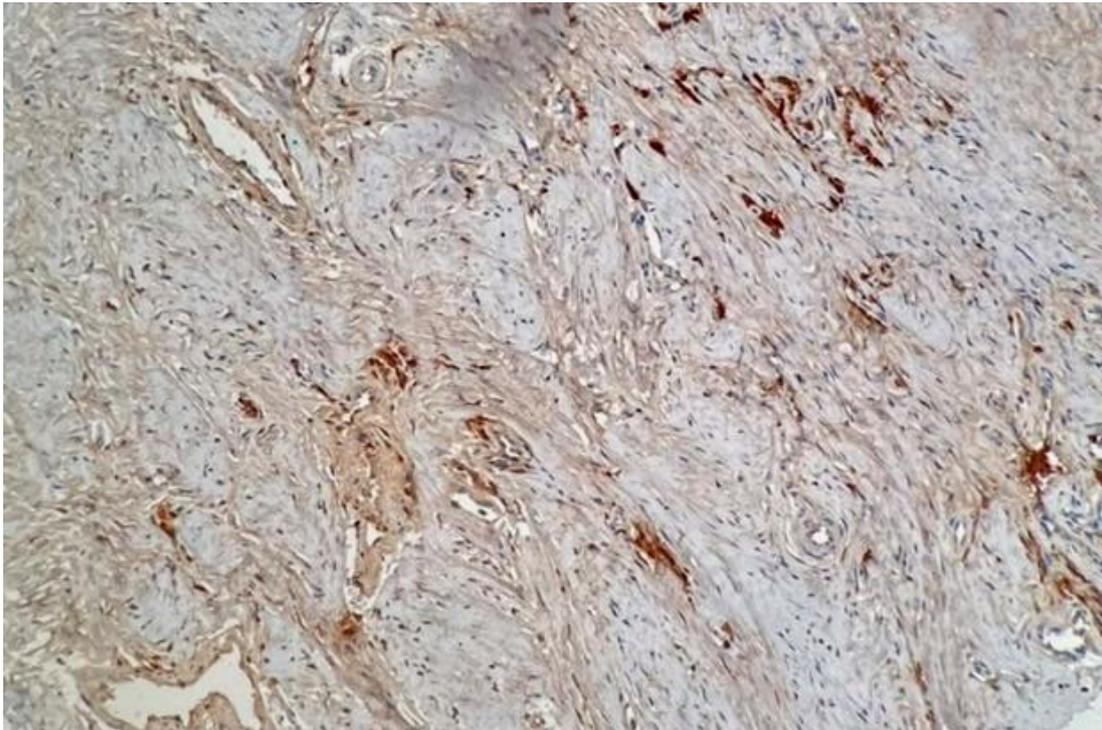


Abb. 22: Immunohistochemische Färbung: CRP; Präparat: Septisch; Position: 10960/16/6; moderate Färbung des Bindegewebes und des Zytoplasmas deutlich bräunlich abgrenzbar Score:2

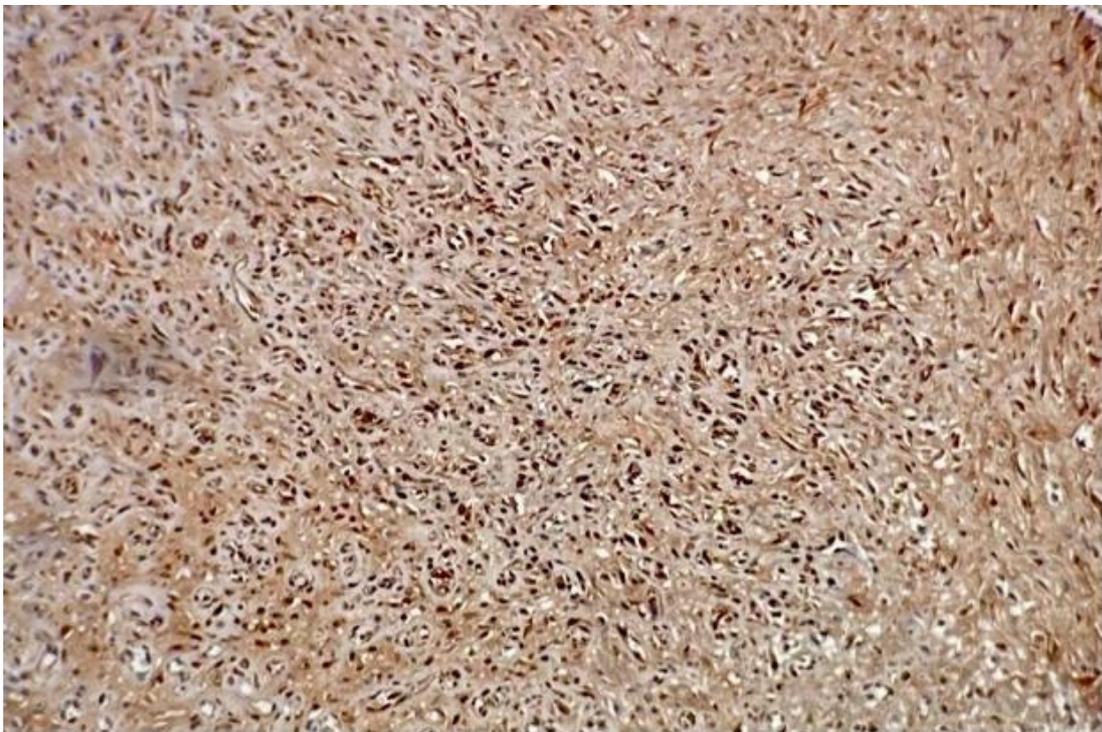


Abb. 23: Immunohistochemische Färbung: CRP; Präparat: Septisch; Position: 10960/16/4D; intensive Färbung des Zytoplasma intensiv bräunlich abgrenzbar Score: 3

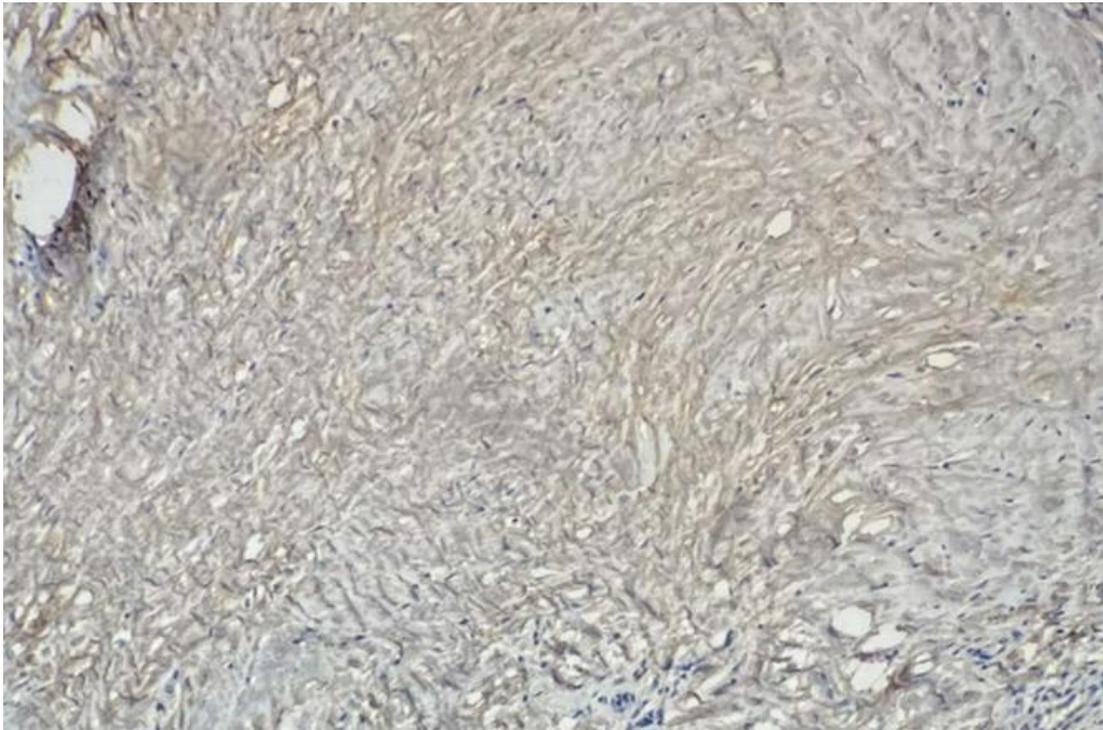


Abb. 24: Immunhistochemische Färbung: Kollagen II; Präparat: aseptisch; Position: 1743/14/A1; schwache bräunliche Färbung um Gefäße herum; Score: 1

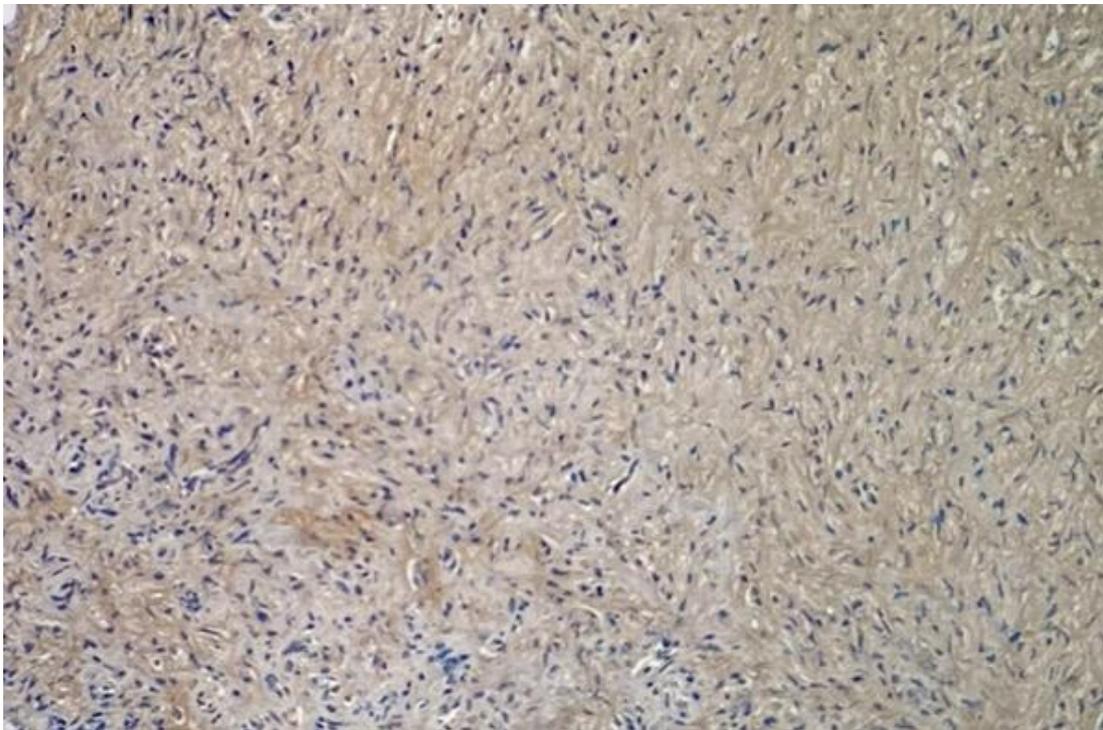


Abb. 25: Immunhistochemische Färbung: Kollagen II; Präparat: septisch; Position: 10960/16/4d; mäßige bräunliche Färbung um Gefäße herum; Score: 2

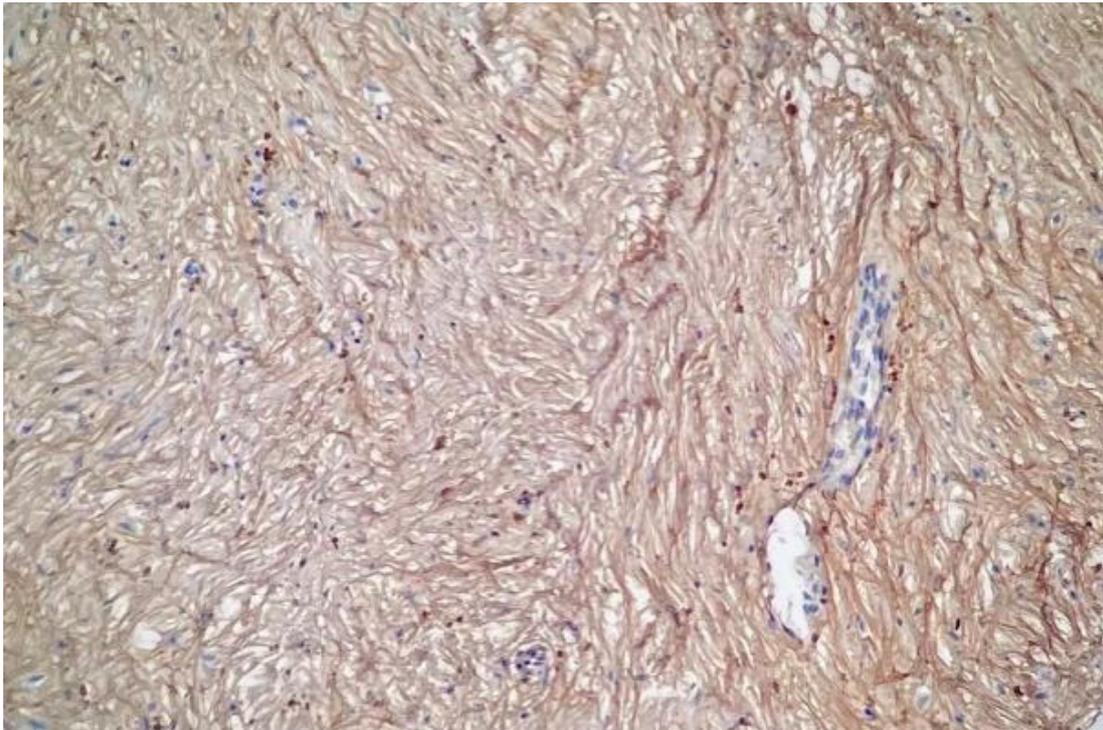


Abb. 26: Immunhistochemische Färbung: Kollagen II; Präparat: septisch; Position: 5955/14/1; kräftige bräunliche Färbung um Gefäße herum; Score: 3

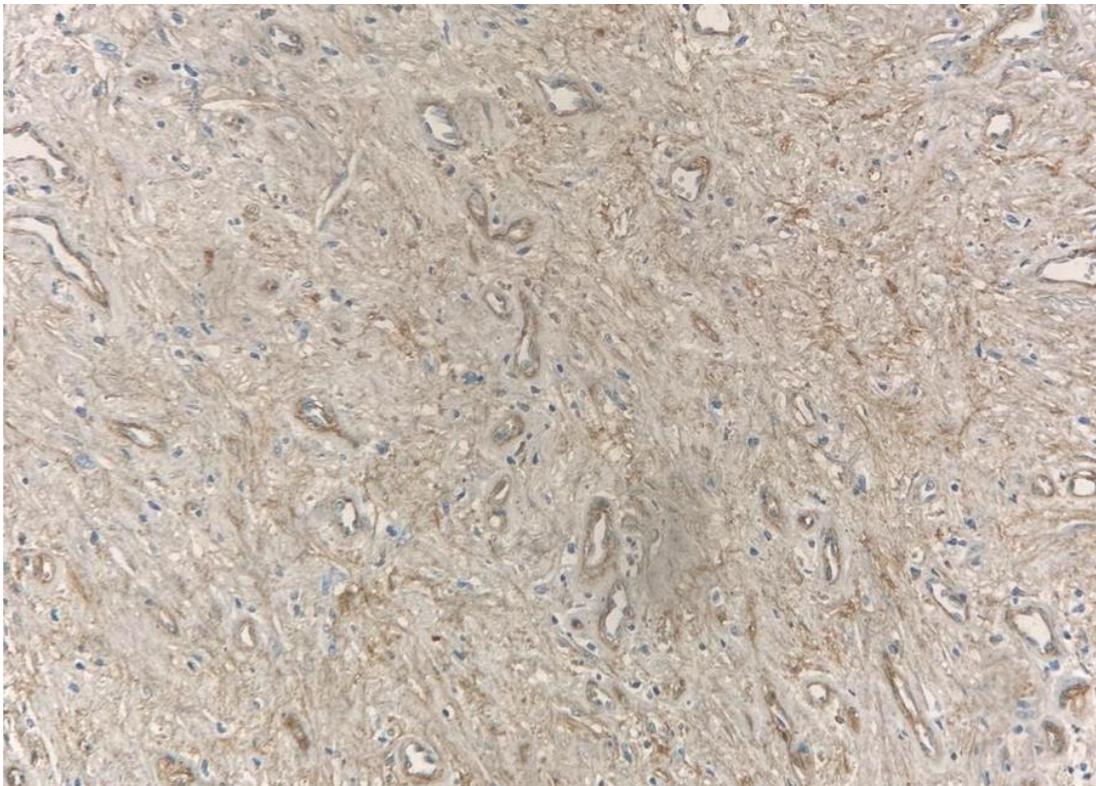


Abb. 27: Immunhistochemische Färbung: Kollagen IV; Präparat: aseptisch; Position: 11365/14/3; mäßige bräunliche Färbung um Gefäße herum; Score: 2

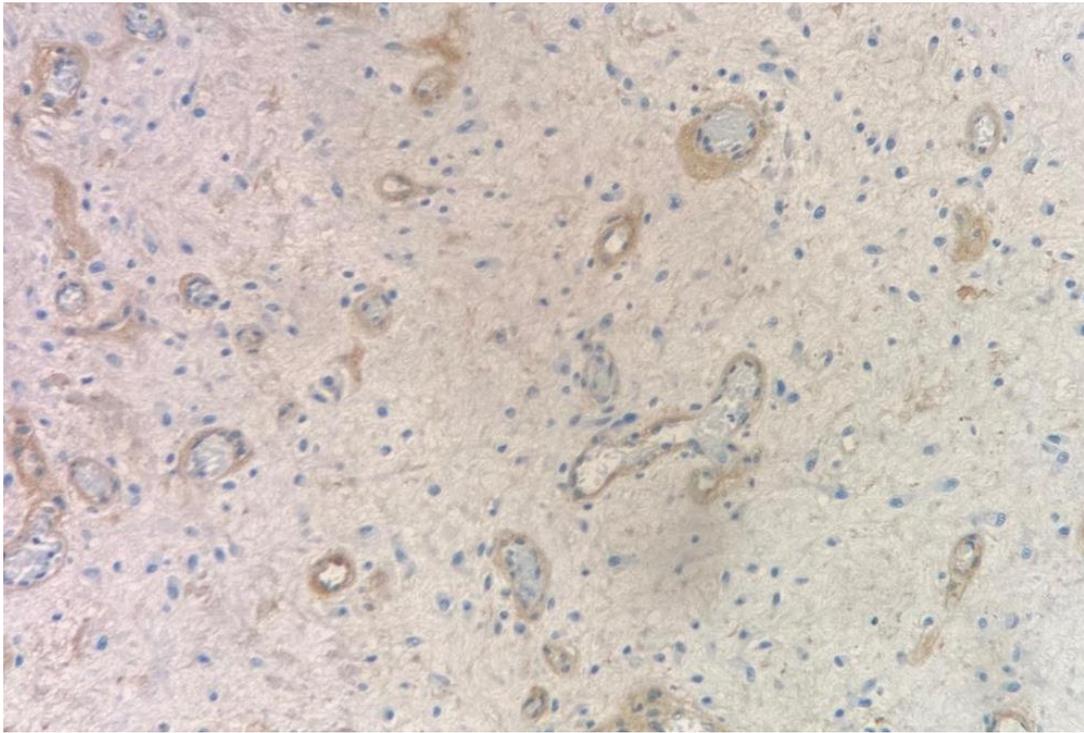


Abb. 28: Immunhistochemische Färbung: Kollagen IV; Präparat: septisch; Position: 14797/14/1; mäßige bräunliche Färbung um Gefäße herum; Score: 2



Abb. 29: Immunhistochemische Färbung: Kollagen IV; Präparat: septisch; Position: 13953/15/; schwache bräunliche Färbung um Gefäße herum; Score: 1

Eine exemplarische Übersicht der Färberegebnisse des nukleären Markers PAX2 zeigen die Abbildungen 30 - 31.

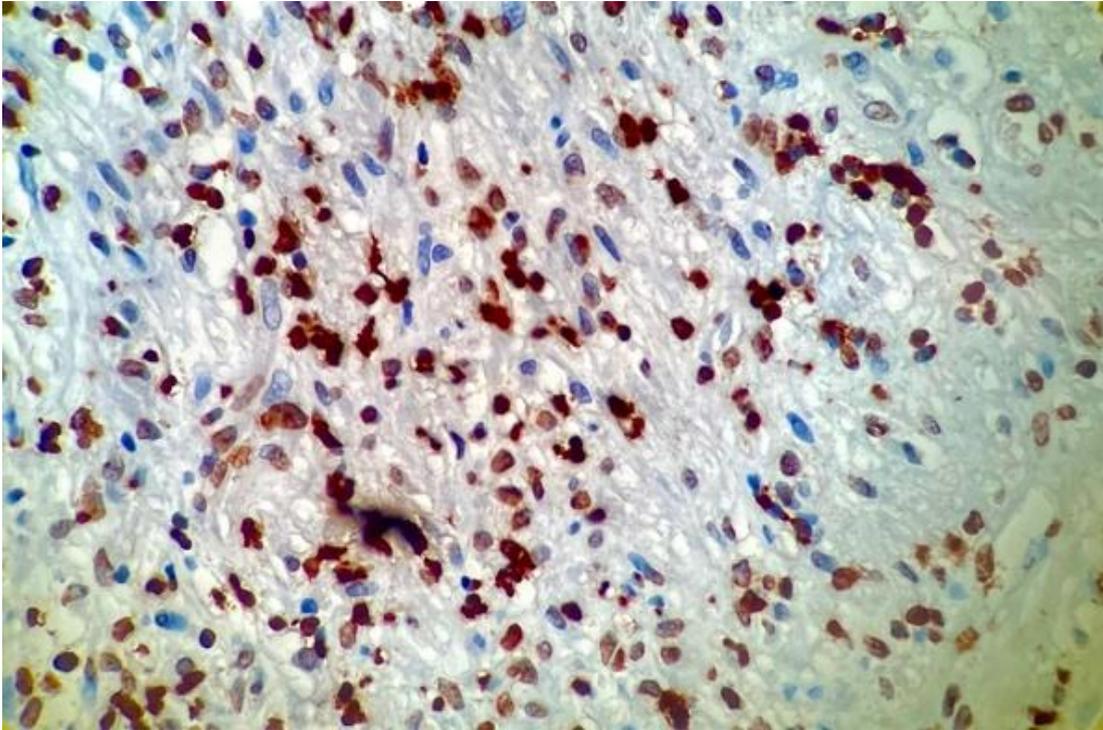


Abb. 30: PAX 2; Position: 12931/1/6/1

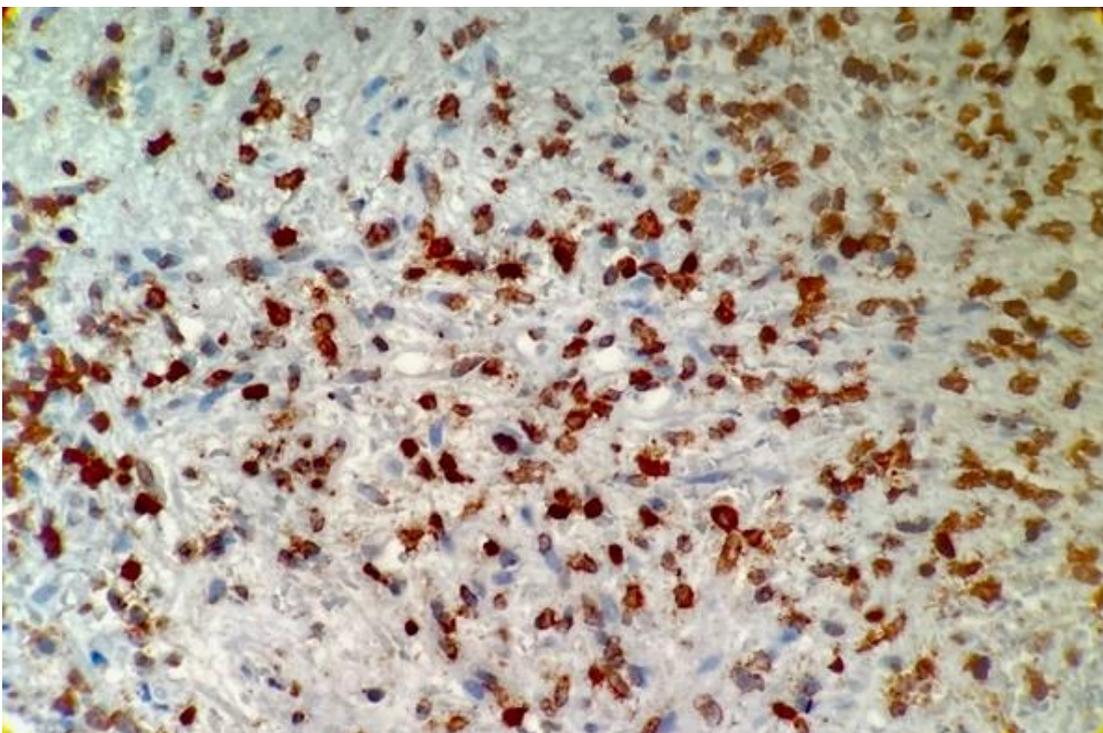


Abb. 31: PAX 2; Position: 9282/15/14

In der Auswertung der einzelnen Marker nach oben genannten Kriterien ergab sich für folgende Färbungen keine Anfärbung weder im infizierten noch im nicht infizierten Gewebe: Elastase 3a, IgA, IgD, IgG 4, IgM, CD1a, CD138, EGFR.

Aus den entsprechenden Färbungen wurde per semiquantitativer Auswertung ein Score der Färbeintensität gemäß den oben genannten Kriterien vergeben und zur statistischen Analyse genutzt.

3.3 Quantitative Auswertung der laborchemischen Parameter im Serum

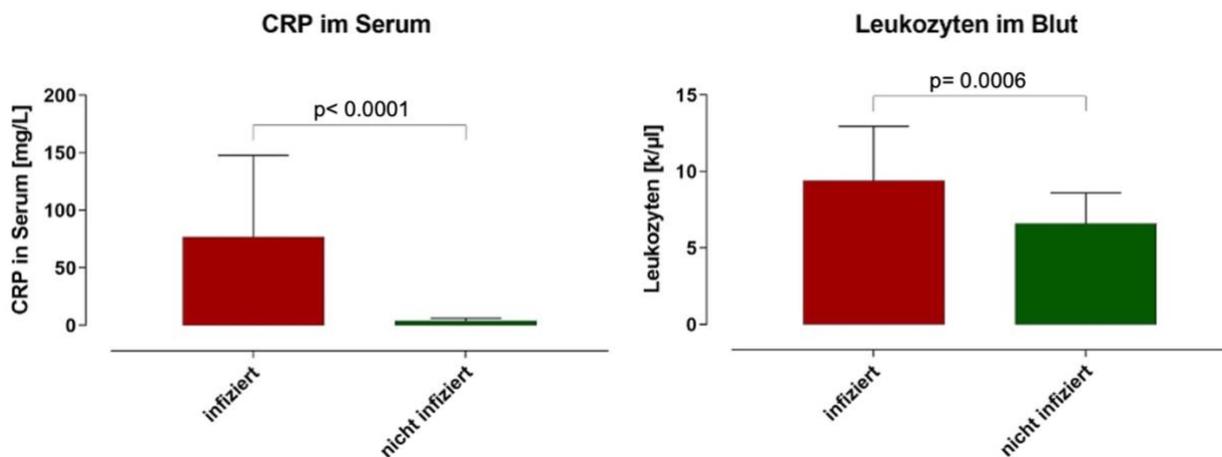


Abb. 32: Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test dargestellt in Balkendiagrammen zeigt jeweils die Korrelation zwischen Höhe der Serum CRP Konzentration sowie der Serum Leukozytenkonzentration und einer Infektpersistenz

Dargestellt ist jeweils die Korrelation zwischen der Höhe der Serum CRP Konzentration sowie der Serum Leukozytenkonzentration und einer Infektpersistenz als Balkendiagramm; Die Höhe des Balkens entspricht dem Mittelwert (Mean), die Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung (SD). Der P-Wert im Mann-Whitney-U-Test betrug $p < 0,0001$ und $p = 0,0006$, damit zeigt sich ein signifikanter Unterschied.

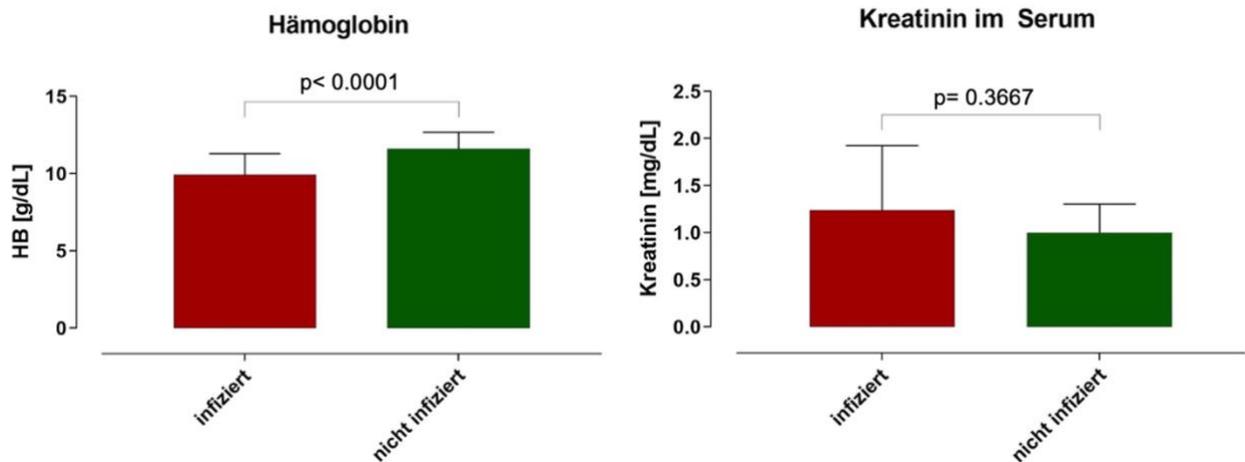


Abb. 33: Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test dargestellt in Balkendiagrammen zeigt die Korrelation der Serumkonzentration von Hämoglobin und Kreatinin mit einer Infektpersistenz bzw. Infektfreiheit

Dargestellt ist jeweils die Korrelation zwischen der Konzentration von Hämoglobin und Kreatinin im Serum und einer Infektpersistenz als Balkendiagramm; Die Höhe des Balkens entspricht dem Mittelwert (Mean), die Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung (SD). Der P-Wert im Mann-Whitney-U-Test betrug jeweils $p \Rightarrow > 0,05$, damit zeigt sich jeweils kein signifikanter Unterschied.

3.4 Quantitative Auswertung der immunhistochemischen Färbungen

3.4.1 Übersicht und Auswertung der 15 immunhistochemischen Marker mit einem quantifizierbaren Ergebnis, sowie der 4 Serum Laborparameter

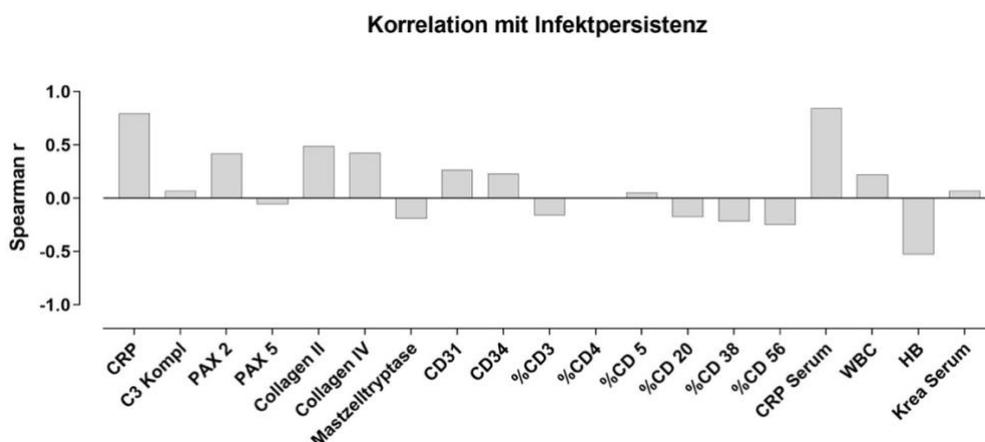


Abb. 34: Nebeneinanderstellung der Korrelation der 15 immunhistochemischen Marker mit quantifizierbarem Ergebnis, sowie 4 Serum Laborparameter mit Infektpersistenz im Spearman r

In der Spearman r-Auswertung zeigt sich vor allem eine Korrelation mit Infektpersistenz der immunhistochemischen Marker CRP, PAX2, Kollagen II und IV, CD31 und 34 sowie des laborchemischen Parameters CRP.

3.4.2 Auswertung CRP, C3 Komplement

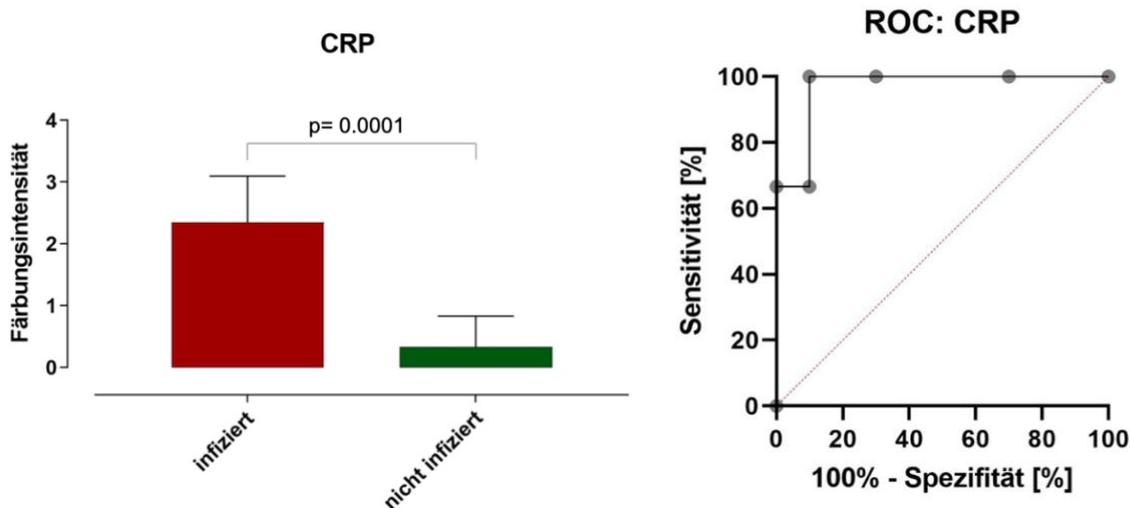


Abb. 35: Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test dargestellt in einem Balkendiagramm zur Darstellung der Färbungsintensitäten von CRP in infiziertem und nichtinfiziertem Gewebe und ROC

Dargestellt ist jeweils die Korrelation der Färbungsintensität des Gewebes mit CRP mit einer Infektpersistenz bzw. Infektfreiheit als Balkendiagramm; Die Höhe des Balkens entspricht dem Mittelwert (Mean), die Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung (SD). Der P-Wert im Mann-Whitney-U-Test betrug $p=0,0001$, damit zeigt sich ein signifikanter Unterschied. In der ROC ergibt sich eine hohe Sensitivität (100 %) und Spezifität (90 %) bei einem Cut-off im gemittelten Färbescore von 1,5.

Hinsichtlich der Untersuchung von C3 Komplement ergab sich im Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test kein signifikanter Unterschied zwischen infiziertem und nicht infiziertem Gewebe ($p=0,05$).

3.4.3 Auswertung CD31 und CD34

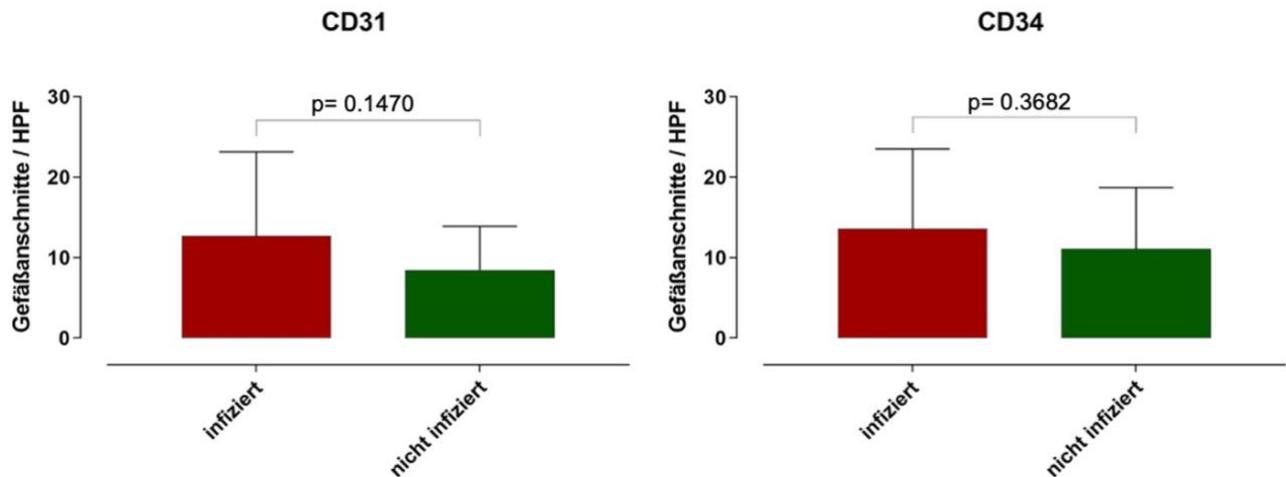


Abb. 36: Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test dargestellt in Balkendiagrammen zur Darstellung der CD31 und CD34 gefärbten Gefäßanschnitte in infiziertem und nichtinfiziertem Gewebe

Dargestellt ist jeweils die Korrelation zwischen der Anzahl der mit CD31 und CD34 angefärbten Gefäßanschnitten und einer Infektpersistenz als Balkendiagramm; Die Höhe des Balkens entspricht dem Mittelwert (Mean), die Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung (SD). Der P-Wert im Mann-Whitney-U-Test betrug jeweils $P \Rightarrow > 0,05$, damit zeigt sich jeweils kein signifikanter Unterschied.

3.4.4 Kollagen II, Kollagen IV und Elastase 3a

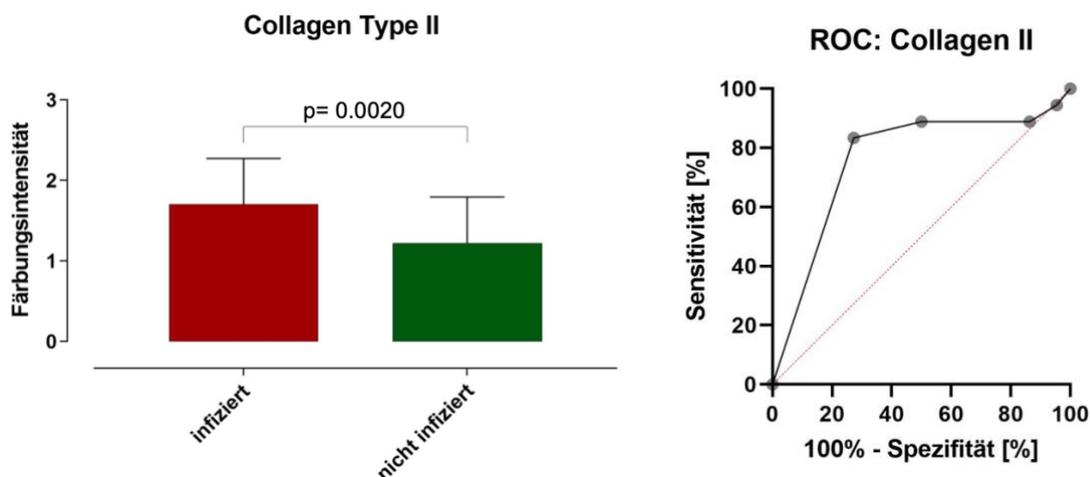


Abb. 37: Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test dargestellt in einem Balkendiagramm zur Darstellung der Färbungsintensitäten von Kollagen II in infiziertem und nichtinfiziertem Gewebe und ROC

Dargestellt ist die Korrelation der Färbungsintensität des Gewebes mit Kollagen II mit einer Infektpersistenz bzw. Infektfreiheit als Balkendiagramm; Die Höhe des Balkens entspricht dem Mittelwert (Mean), die Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung (SD). Der P-Wert im Mann-Whitney-U-Test betrug $p=0,002$, damit zeigt sich ein signifikanter Unterschied. In der ROC ergibt sich bei einer Sensitivität von 85 % eine Spezifität von ca. 50 %.

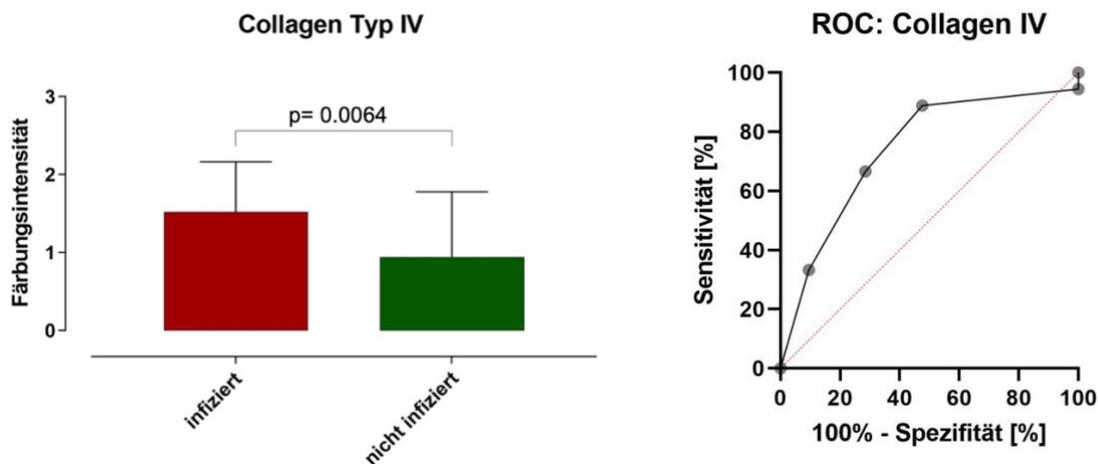


Abb. 38: Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test dargestellt in einem Balkendiagramm zur Darstellung der Färbungsintensitäten von Kollagen IV in infiziertem und nichtinfiziertem Gewebe und ROC

Dargestellt ist die Korrelation der Färbungsintensität des Gewebes mit Kollagen IV mit einer Infektpersistenz bzw. Infektfreiheit als Balkendiagramm; Die Höhe des Balkens entspricht dem Mittelwert (Mean), die Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung (SD). Der P-Wert im Mann-Whitney-U-Test betrug $p=0,0064$, damit zeigt sich ein signifikanter Unterschied. In der ROC ergibt sich bei einer Sensitivität von 85 % eine Spezifität von ca. 50 %.

Hinsichtlich der Untersuchung von Elastase 3a ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen infiziertem und nicht infiziertem Gewebe ($p=0,05$)

3.4.5 CD1a, CD3, CD4, CD5, CD20, CD38, CD56, CD138

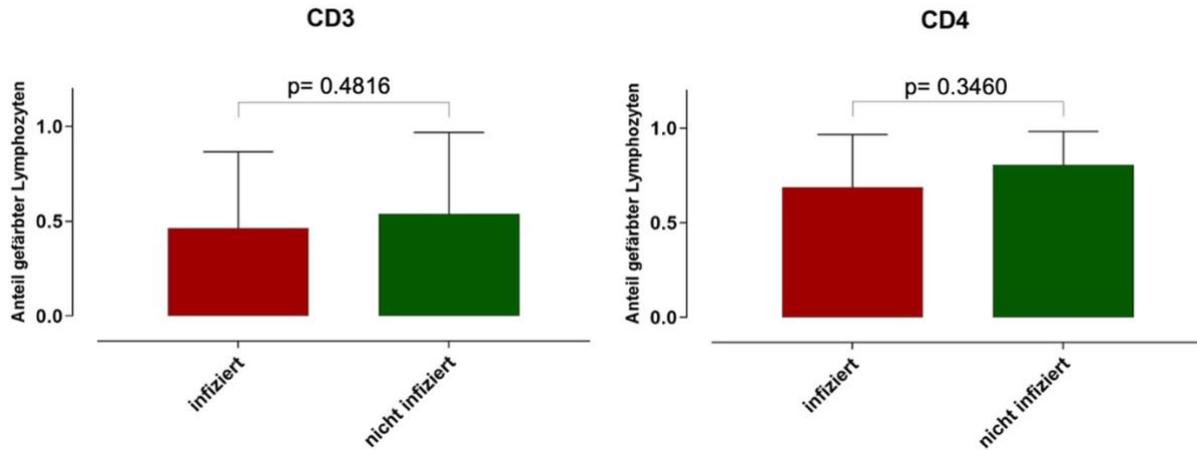


Abb. 39: Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test dargestellt in Balkendiagrammen zur Darstellung des Anteils an CD3 und CD4 gefärbten Lymphozyten an der Gesamtanzahl an Lymphozyten in infiziertem und nicht infiziertem Gewebe

Dargestellt ist jeweils die Korrelation des Anteils CD3 und CD4 gefärbter Lymphozyten pro HPF mit einer Infektpersistenz bzw. Infektfreiheit als Balkendiagramm; Die Höhe des Balkens entspricht dem Mittelwert (Mean), die Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung (SD). Der P-Wert im Mann-Whitney-U-Test betrug $p=0,4816$ und $p=0,346$, damit zeigt sich jeweils kein signifikanter Unterschied.

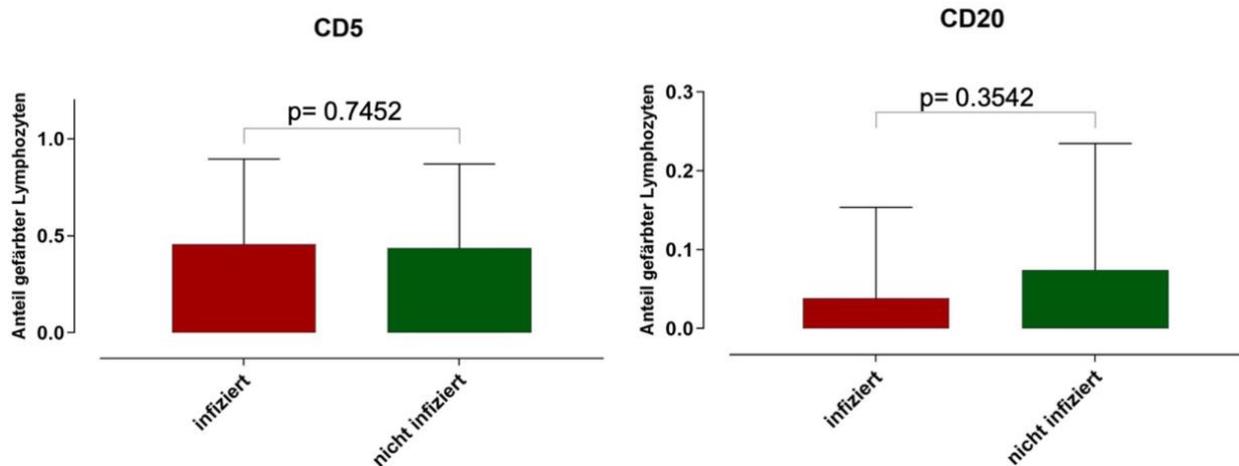


Abb. 40: Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test dargestellt in Balkendiagrammen zur Darstellung des Anteils an CD5 und CD20 gefärbten Lymphozyten an der Gesamtanzahl an Lymphozyten in infiziertem und nicht infiziertem Gewebe

Dargestellt ist jeweils die Korrelation des Anteils CD5 und CD20 gefärbter Lymphozyten pro HPF mit einer Infektpersistenz bzw. Infektfreiheit als Balkendiagramm; Die Höhe des

Balkens entspricht dem Mittelwert (Mean), die Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung (SD). Der P-Wert im Mann-Whitney-U-Test betrug $p=0,7452$ und $p=0,3542$, damit zeigt sich jeweils kein signifikanter Unterschied.

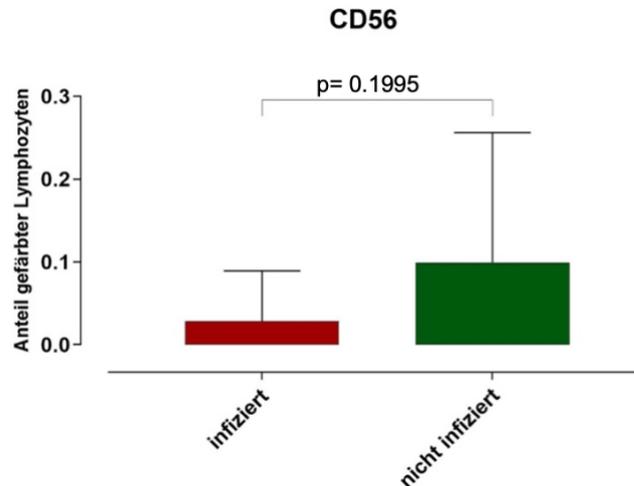


Abb. 41: Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test dargestellt in einem Balkendiagramm zur Darstellung des Anteils an CD56 gefärbten Lymphozyten an der Gesamtanzahl an Lymphozyten in infiziertem und nicht infiziertem Gewebe

Dargestellt ist die Korrelation des Anteils CD 56 positiv gefärbter Lymphozyten pro HPF mit einer Infektpersistenz bzw. Infektfreiheit als Balkendiagramm; Die Höhe des Balkens entspricht dem Mittelwert (Mean), die Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung (SD). Der P-Wert im Mann-Whitney-U-Test betrug $p=0,1995$, damit zeigt sich kein signifikanter Unterschied.

Des Weiteren zeigte sich auch hinsichtlich der Untersuchung von CD38 kein signifikanter Unterschied zwischen infiziertem und nicht infiziertem Gewebe.

In der Auswertung der einzelnen Marker nach oben genannten Kriterien ergab sich für folgende Färbungen keine Anfärbung, weder im infizierten noch im nicht infizierten Gewebe: CD1a, CD138. Hierdurch ergibt sich in der quantitativen Auswertung kein signifikanter Unterschied zwischen infiziertem und nicht infiziertem Gewebe hinsichtlich des Anteils gefärbter Lymphozyten.

3.4.6 Mastzelltryptase, EGFR, IgA, IgD, IgG 4, IgM

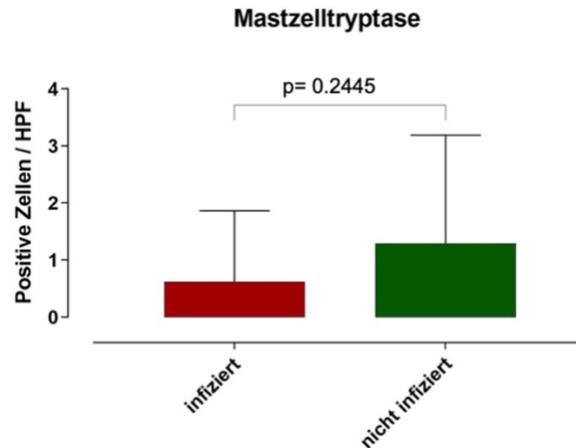


Abb. 42: Dargestellt ist die Korrelation der Anzahl Mastzelltryptase positiv gefärbter Zellen pro HPF mit einer Infektpersistenz bzw. Infektfreiheit als Balkendiagramm; Die Höhe des Balkens entspricht dem Mittelwert (Mean), die Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung (SD). Der P-Wert im Mann-Whitney-U-Test betrug $p=0,2445$, damit zeigt sich kein signifikanter Unterschied.

In der qualitativen wie quantitativen Auswertung der Marker nach oben genannten Kriterien ergab sich für folgende Färbungen keine Anfärbung weder im infizierten, noch im nicht infizierten Gewebe: EGFR, IgA, IgD, IgG 4, IgM. Hierdurch ergibt sich in der quantitativen Auswertung kein signifikanter Unterschied zwischen infiziertem und nicht infiziertem Gewebe hinsichtlich des Anteils positiv gefärbter Zellen pro HPF.

3.4.7 PAX2 und PAX5

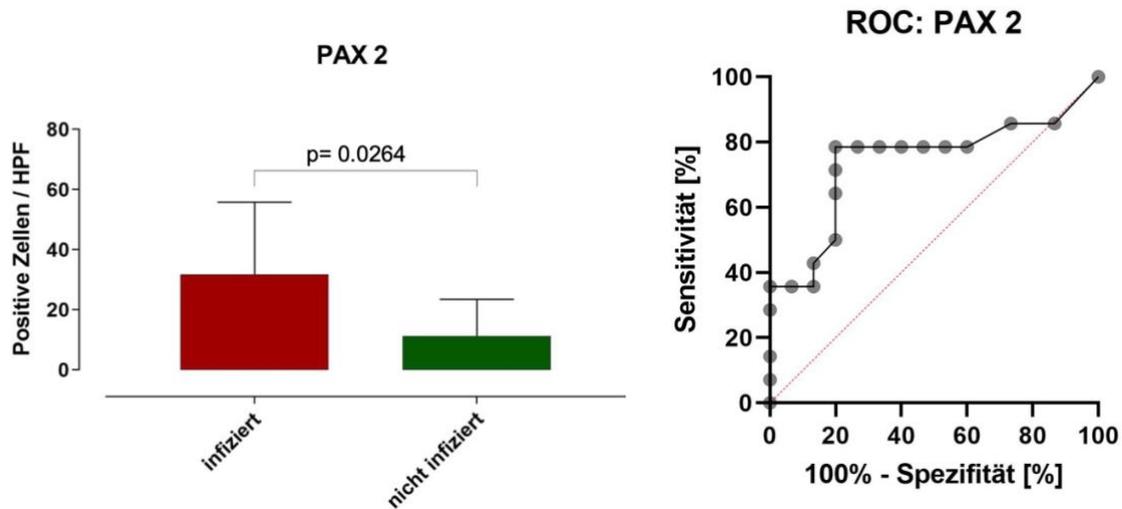


Abb. 43: Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test dargestellt in einem Balkendiagramm zur Darstellung von PAX2 positiven Zellen pro Gesichtsfeld in infiziertem und nicht infiziertem Gewebe, und ROC

Dargestellt ist die Korrelation der Anzahl PAX2 positiv gefärbter Zellen pro HPF mit einer Infektpersistenz bzw. Infektfreiheit als Balkendiagramm; Die Höhe des Balkens entspricht dem Mittelwert (Mean), die Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung (SD). Der P-Wert im Mann-Whitney-U-Test betrug $p=0,8732$, damit zeigt sich ein signifikanter Unterschied. In der ROC ergibt sich bei einer Sensitivität von 85 % eine Spezifität von ca. 50 %.

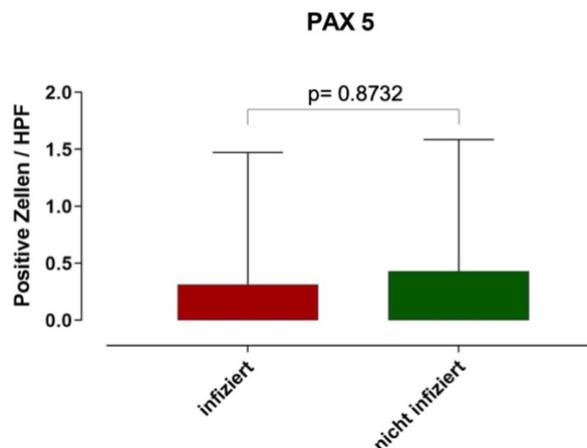


Abb. 44: Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test dargestellt in einem Balkendiagramm zur Darstellung von PAX5 positiven Zellen pro Gesichtsfeld in infiziertem und nicht infiziertem Gewebe

Dargestellt ist die Korrelation der Anzahl PAX5 positiv gefärbter Zellen pro HPF mit einer Infektpersistenz bzw. Infektfreiheit als Balkendiagramm; Die Höhe des Balkens entspricht dem Mittelwert (Mean), die Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung (SD). Der P-Wert im Mann-Whitney-U-Test betrug $p=0,8732$, damit zeigt sich kein signifikanter Unterschied.

4. Diskussion

4.1 Aussagekraft und Grenzen der heutigen Diagnoseverfahren

Die periprothetische Gelenkinfektion (PPI) ist eine extrem schwere Komplikation nach endoprothetischem Gelenkersatz. Der zweizeitige Wechsel ist der Goldstandard in der Therapie der PPI. Die Reinfektionsraten nach zweizeitigen Revisionen bei PPI variieren in verschiedenen Studien. So zeigte Puhto et al 2014 nach einem 6-wöchigen Antibiotikaintervall und einem vierwöchigen antibiotikafreien Intervall eine mikrobiologische Infektpersistenz bei Wiedereinbau von lediglich 5,2 % und mutmaßte keine Korrelation zwischen einem Keimnachweis bei Reimplantation und dem Erfolg der Therapie. Jedoch zeigen Registerdaten wie oben beschrieben eine deutlich erhöhte Wahrscheinlichkeit (23,5 % bis 35,1 %) für eine erneute Revision innerhalb von zwei Jahren (Puhto et al., 2014; EPRD Jahresbericht, 2022). Um so wichtiger ist es, den richtigen Zeitpunkt für die Reimplantation beim zweizeitigen Wechsel verlässlich bestimmen zu können. Hierfür bedarf es diagnostischer Mittel, um eine Infektpersistenz ausschließen zu können. Die bestehenden Kriterien zur Definition der PPI wurden bereits in verschiedenen Studien auf ihre Wertigkeit hinsichtlich der Erkennung einer persistierenden Infektion untersucht.

George et al. und Kheir et al. zeigten, dass die Anwendung der MSIS Klassifikation der PPI zur Identifikation einer Infektpersistenz mit einer Sensitivität von jeweils 26 % eine nur unzureichende Wertigkeit hat bei Spezifitäten von 96 % und 88 % (Bian et al., 2018; George et al., 2016; Kheir et al., 2017).

Die im Serum bestimmbaren Parameter zeigten sich alle nicht geeignet für die Detektion einer persistierenden Infektion sowie als Prädiktor für das Versagen nach Reimplantation. So präsentierten CRP und BSG in der Metaanalyse von Bian et al. lediglich eine geringe Genauigkeit in der Detektion von persistierenden Infektionen und hinsichtlich der Aussage

über eine erfolgreiche Reimplantation mit einer Sensitivität und Spezifität von 45 % und 73 % für das CRP und 57 % und 50 % für die BSG (Bian et al., 2018).

Das Serum IL-6 konnte ebenfalls nicht adäquat als Surrogatmarker dienen. Hoell et al. zeigte eine Sensitivität von 67 % und Spezifität von 90 % (Hoell et al., 2015).

Während die Bestimmung der D-Dimere in der Diagnostik der PPI noch ein vielversprechender Serummarker zu sein scheint und eine höhere Sensitivität und Spezifität als CRP und BSG aufweist (89 % und 93 %), so konnte Shahi et al. lediglich in 2 von 5 Fällen mit präoperativ erhöhten rtn (Cut-off von 850 ng/ml) eine persistierende Infektion (positiver mikrobiologischer Nachweis) bei Reimplantation nachweisen (Shahi et al., 2017).

Die Gelenkpunktion ist eines der am häufigsten verwendeten diagnostischen Mittel zum Ausschluss einer Infektpersistenz. Preininger et al. konnten zeigen, dass die mikrobiologische Bebrütung der Gelenkpunktion nach einem zweiwöchigen antibiotikafreien Intervall eine sehr niedrige Sensitivität hinsichtlich der Detektion einer persistierenden PPI von 21 % bei einer Spezifität von 100 % aufweist (Preininger et al., 2017).

Auch der Anteil an polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten (PMN) sowie die Anzahl an Leukozyten im Gelenkpunktat, welchen in der primären Diagnostik eine hohe Wertigkeit zukommt, zeigten gemäß Zmistowski et al. eine hohe Sensitivität (67 % und 55 %) jedoch eine geringe Spezifität mit 56 % und 60 % respektive (Zmistowski et al., 2017). Kheir et al. konnte in einer prospektiven Studie zeigen, dass der Leukozyten-Esterase-Strip-Test bei Reimplantation eine Sensitivität von 26,3 % und eine Spezifität von 100 % aufweist (Kheir et al., 2017).

Auch Frangiamore et al. kommen 2016 zum Schluss, dass keiner der von ihnen bestimmten synovialen Marker hinreichend ist zur Identifikation einer Infektfreiheit. So konnten die synovialen Marker IFN- γ , IL-1 β und GM-CSF die höchste Sensitivität (75 %) bezüglich der Vorhersage eines Versagens nach Reimplantation aufweisen, jedoch mit einer niedrigen Spezifität von 64 %, 29 % und 46 %. Synoviales IL-6 hatte die geringste Sensitivität von 0 % bei einer hohen Spezifität von 89 % (Frangiamore et al., 2016b).

Der Histopathologie kommt bezüglich der Entscheidung einer Infektfreiheit bei der Reimplantation bislang lediglich eine untergeordnete Rolle zu. Populärer ist die Anfertigung von gefrorenen Schnellschnitten, welche eine ähnliche Genauigkeit wie

permanenten Proben haben (Kelly et al., 2021; Kwiecien et al., 2017). Della Valle et al. berichteten erstmals über intraoperative gefrorene Schnellschnitte, welche auf eine Infektpersistenz untersucht wurden. Obwohl die Spezifität 98 % betrug, lag die Sensitivität lediglich bei 25 % (Della Valle et al., 1999).

Die Aussagekraft von histopathologischen Gefrierschnitten zum Zeitpunkt der Reimplantation wurde auch von George et al. 2016 untersucht. Hier erfolgte die Validierung anhand der gängigen MSIS Kriterien unter Exklusion des histopathologischen Befundes. Es zeigte sich eine Spezifität von 94 % bei einer schwachen Sensitivität von 50 % (George et al., 2016). Auch die Vorhersage eines Versagens der Prozedur zeigte eine hohe Spezifität der Gefrierschnitte mit 95 %, während die Sensitivität lediglich 22 % betrug (George et al., 2016).

Zusammenfassend besteht bislang kein Konsens bezüglich der optimalen Diagnostik, welche eine persistierende Infektion ausschließen kann beziehungsweise welche eine Vorhersage hinsichtlich einer erfolgreichen Reimplantation treffen könnte.

Verschiedene Metaanalyse haben gezeigt, dass ein einzelner Marker nicht ausreicht, um die Infektfreiheit des Gewebes im Rahmen eines mehrzeitigen Behandlungsregimes bei PPI sicher zu bestätigen und anhand dessen eine Entscheidung bezüglich der Reimplantation zu treffen. Vielmehr kommt es zum Einsatz verschiedener Parameter um eine möglichst dezidierte Aussage bezüglich der Infektfreiheit treffen zu können (Bian et al., 2018; Lee et al., 2018).

4.2 Beurteilung der Ergebnisse

4.2.1 CRP

Das in der Leber synthetisierte CRP ist ein etablierter Serummarker für den Nachweis einer unspezifischen Inflammation im Körper. Die Induktion von CRP und Freisetzung wird durch IL-6 und zu einem geringeren Anteil auch durch IL-1 β getriggert (McFadyen, 2018). Als immunhistochemischer Marker kommt das CRP hauptsächlich im Zusammenhang mit Leberpathologien zum Einsatz. So korreliert die Konzentration von Gewebe CRP in gesundem Lebergewebe mit dem Outcome von Hepatitis B Virus assoziiertem Hepatozellulärem Karzinom. Des Weiteren zeigt sich stets eine Korrelation mit der im Serum nachgewiesenen CRP-Konzentration (Shin et al., 2018). CRP lässt sich in kleineren Untereinheiten, sogenanntem Monomer CRP (mCRP), nachweisen (Boncler et

al., 2019). Dieses lässt sich nach einem ischämischen Schlaganfall in der extrazellulären Matrix des geschädigten Hirngewebe nachweisen und steht hier in Verbindung mit Inflammation und dem Progress von Alzheimerdemenz (Slevin et al., 2015). Hinweise verdichten sich, dass es über den lokalen Inflammationsprogress hinaus auch in gesundem, örtlich nicht in unmittelbarer Nähe zu dem geschädigten Gewebeareal liegenden Bereich zu Inflammation kommen kann (Slevin et al., 2020). Auch bei inflammatorisch vermittelten Prozessen im Bereich des Herzes spielt CRP eine Rolle. So finden sich erhöhte extrazelluläre CRP Färbeintensitäten in artherosklerotischen Plaques der Koronarien. Der Nachweis von signifikant erhöhten CRP Färbeintensitäten in instabilen Plaques suggeriert eine wichtige Rolle in der Mediation und Unterhaltung von inflammatorischen Prozessen von Gewebe (Rittersma et al., 2006).

Insofern macht es Sinn, dass im Rahmen unserer Analysen sowohl das Serum-CRP, aber auch die lokale Anfärbarkeit von CRP im Gewebe sich deutlich zwischen den Gruppen unterschied. Im Falle einer Infektpersistenz ist anzunehmen, dass entsprechend inflammatorische Prozesse zu einer Erhöhung des Gewebe-CRPs führen.

Die Ursache für die proinflammatorische Wirkung von CRP liegt in dessen Form begründet. So besteht das CRP Molekül aus einer pentameren Struktur (pCRP), welches durch den Kontakt mit nekrotischem Gewebe und apoptotischen und ischämischen Zellen in die proinflammatorische Form (pCRP*) und schließlich in die monomere Form mCRP überführt wird (McFadyen, 2018). Diese kann wiederum durch die Aktivierung von Thrombozyten, Leukozyten, Endothelzellen und des Komplementsystems eine zelluläre Immunantwort stimulieren (McFadyen, 2018). Die nachgewiesenen erhöhten Konzentrationen vom proinflammatorischen pCRP* in entzündlich verändertem Gewebe (ischämisch verändert, verletzte Organe, Transplantate, etc.) und die Eigenschaft der Aufrechterhaltung der Inflammation sind weitere Indizien für die Wertigkeit von CRP als immunhistochemischer Marker, um eine Infektfreiheit von Gewebe bzw. eine bakterielle Infektpersistenz zu detektieren (McFadyen, 2018).

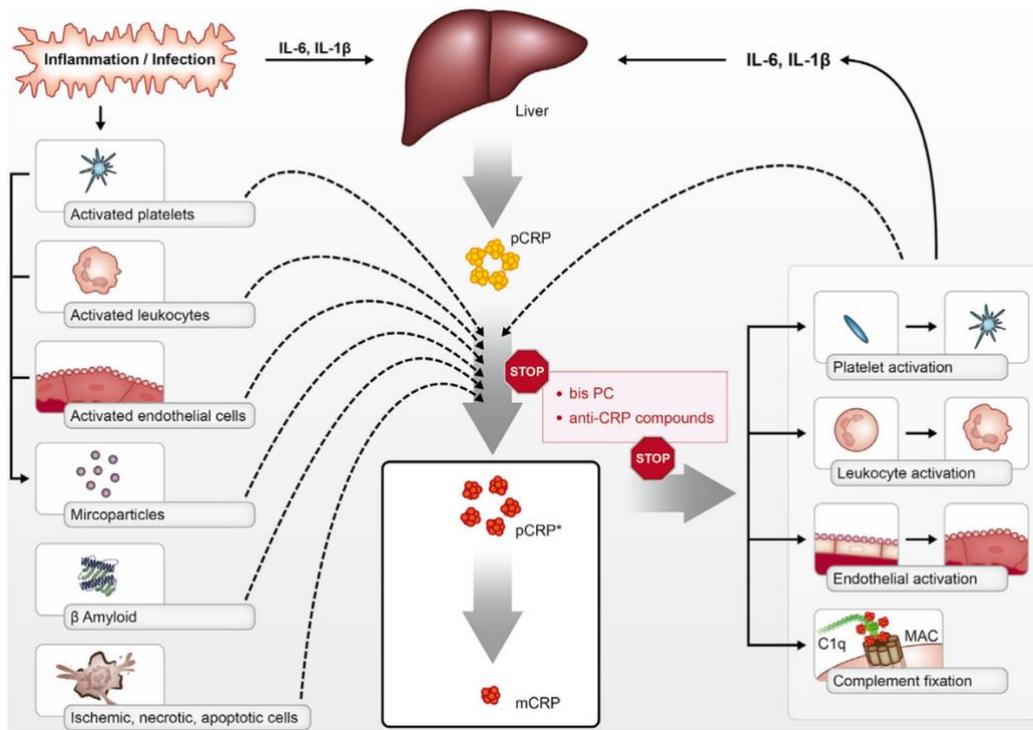


Abb. 45: Das Zusammenspiel von pCRP und Inflammation/Infektion (McFadyen, 2018)

Zusammenfassend kommt CRP in durch inflammatorisch-, ischämisch verändertem Gewebe sowie bei malignombedingten Gewebeerkrankungen vor und weist eine Korrelation zur Serum-CRP Konzentration auf.

In den Proben zeigte sich das CRP als relevanter und signifikant unterschiedlicher Marker in den Gewebeproben und kann in schwierigen vom zweizeitigen Wechsel abweichenden Vorgehen eine Entscheidungshilfe hinsichtlich des richtigen Zeitpunktes der Reimplantation darstellen.

4.2.2 PAX2

In den Färbungen zeigte sich PAX2 als signifikanter Parameter zur Differenzierung von Infektpersistenz und Konsolidierung; dieser Marker ist in dieser Funktion bisher nicht beschrieben und wird in der Literatur in gänzlich anderem Zusammenhang diskutiert: Paired box 2 (PAX2) ist ein nuklearer Transkriptionsfaktor, welcher in der Embryogenese essenziell an der Entwicklung der Müller Organe und des Hinterhirns beteiligt ist. PAX2 lässt sich in Epithelzellen des Eileiters, der Nierenepithelien, im Bereich der Prostata (Quick et al., 2010) sowie im Epithel von Cervix und Endometrium des Uterus nachweisen

(Ozcan et al., 2011). In der histopathologischen Diagnostik wird PAX2 als nukleäre Färbung benutzt, um im Bereich der Cervix zwischen gutartigen Läsionen (PAX2 positiv) und dem Adenokarzinom (PAX2 negativ) zu unterscheiden (Rabban et al., 2010). Im ZNS dient PAX2 zur Differenzierung zwischen einem Hemangioblastom (PAX2 negativ) und einem Nierenzellkarzinom (PAX2 positiv) (Carney et al., 2011). Der PAX2 Nachweis in der Zytologie kann zur Bestätigung eines Nierenzellkarzinoms dienen (Knoepp et al., 2012).

PAX2 inhibiert dosisabhängig und synergistisch mit Tamoxifen das Zellwachstum in Östrogen positiven (ER+/HER2-) Tumorzellen im Mamma Karzinom und gilt als positiv prädiktiver Marker für einen Therapieerfolg (Wang et al., 2020). Auf molekularer Ebene sorgt PAX2 über eRNAs für die Hochregulierung von proapoptotischen Genen. Vor allem das Gen BDH1 induziert Autophagie dem Vorläufer der Apoptose (Wang et al., 2020).

Hinsichtlich der Relevanz von PAX2 als Marker der Infektpersistenz und um den Zusammenhang zwischen PAX2 und der PPI zu verstehen, bedarf es der Begutachtung des Inflammasoms NLRC4 und der molekularen Gewebereaktion im Rahmen einer bakteriellen Infektion (Lu et al., 2020):

Die Homöostase von Gewebe ist entscheidend für die Gesundheit von mehrzelligen Organismen. Dieses Gefüge gerät bei Infektionen und traumatischen Gewebeerletzungen aus dem Gleichgewicht. Die Zell- und Gewebereaktion auf diese Angriffe ist sehr komplex und für die Gesundheit und das Überleben des Organismus maßgeblich (Rathinam und Chan, 2018). Das Ziel derselben besteht in der Abwehr der Pathogene, der Gewebereparatur und der Wiederherstellung der Homöostase (Rathinam und Chan, 2018).

Ortständige Makrophagen und dendritische Zellen erkennen durch das Inflammasom NLRC4 die bakteriellen Flaggeline und T3SS- Proteine, welche der Fortbewegung dienen. Hierdurch wird eine Vielzahl intrazellulärer Reaktionen ausgelöst. Durch die Aktivierung von Caspase 1 kommt es zur Sekretion von Zytokinen der IL1 Familie (IL1 und IL18) und der Initiierung von Pyroptose (Rathinam und Chan, 2018). Der induzierte Zelltod im Rahmen einer bakteriellen Infektion, Pyroptose, ähnelt dem programmierten Zelltod der Apoptose sehr (LaRock und Cookson, 2013), sodass hier durchaus ein Zusammenhang zwischen apoptoseinitiierenden PAX2 und einer bakteriellen Inflammation mit entsprechender inflammasominitiiertes Pyroptose hergestellt werden kann.

PAX2 als signifikanter Marker in unserer Untersuchung scheint zunächst überraschend und ungewöhnlich, in Zusammenschau der oben dargestellten komplexen Regulationsmechanismen aber nachvollziehbar. Abgesehen von seinem potenziellen Einsatz als Differenzierungsmarker vor der Reimplantation mag es lohnenswert sein, die Rolle von PAX2 im Rahmen fremdkörperassoziiierter Infektionen insgesamt in der Zukunft weiter zu beleuchten, da sich hieraus ggf. weitere diagnostische und therapeutische Ansätze ergeben könnten.

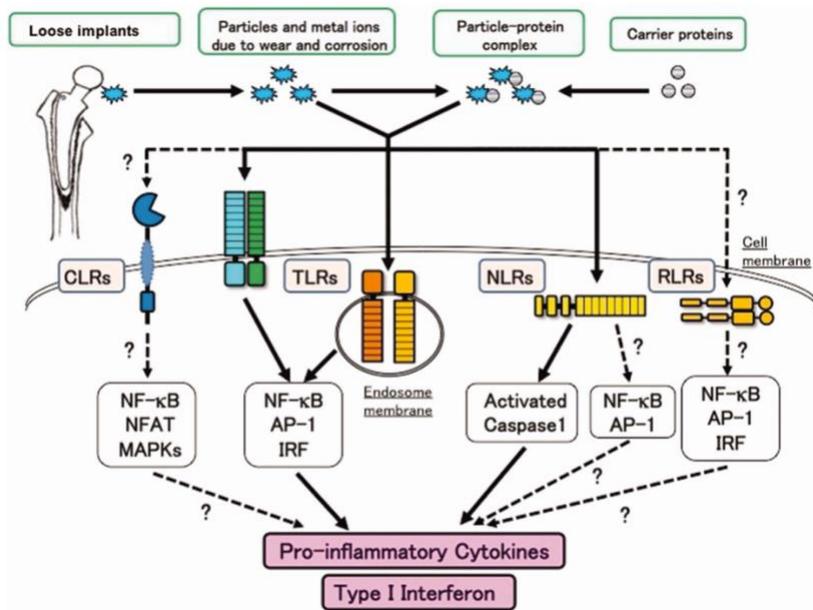


Abb. 46: Inflammationskaskade mit Bildung von Interferon Typ 1 als Reaktion auf Implantat assoziierten Abrieb und Korrosion (Nich et al., 2013), CLR= Chemokine Like Receptors, TLR= Toll Like Receptor, NLR= Nod Like Receptor, RLR= Rig I Like Receptor

4.2.3 Kollagen II und Kollagen IV

Gleiches wie oben ausgeführt gilt auch für Kollagen II und Kollagen IV, welches ebenfalls bislang keinerlei Relevanz in der Infektdiagnostik oder im Zusammenhang mit PPIs erlangt hat.

Auch hier können inflammatorische Prozesse den gemeinsamen Nenner darstellen. Die Aktivierung von Caspase 1 und die folgende Freisetzung von Chemokinen und antimikrobiellen Defensinen (u.a. IL-1 β , IL-18, TNF- α sowie PDGF) initiieren, neben der Beseitigung des auslösenden Pathogens, die Gewebereparatur (Bainbridge et al., 2013; Rathinam und Chan, 2018; Vallés et al., 2014). So spielen die entzündungsfördernden Zytokine IL-1 β und IL-18 eine wichtige Rolle in der Regulierung der Gewebemöostase

(Rathinam und Chan, 2018). Sowohl IL-1 β als auch IL-18 steuern eine Vielzahl von Immunzellen des angeborenen und auch des erworbenen Immunsystems. So fördern sie deren Aktivierung, Differenzierung und Migration in das betroffene Gebiet. Sie haben darüber hinaus auch eine Wirkung auf nicht-hämatopoetische Zellen wie Endothel- und Epithelzellen, um die lokale Blutversorgung zu steuern und die Gewebereparatur zu stimulieren. So kommt es im Rahmen der Inflammation auch zur Aktivierung von Fibroblasten, welche Kollagen bilden (Bainbridge et al., 2013). Fibroblasten infiltrieren das geschädigte Gewebe und bauen Fibringerinnsel ab, indem sie verschiedene Matrixmetalloproteinasen (MMPs) produzieren und sie durch Komponenten der extrazellulären Matrix (ECM) wie Kollagen Typ I–IV, XVIII, Glykoproteine, Proteoglykane, Laminin und Thrombospondin ersetzen (Bainbridge et al., 2013).

Auch wenn Kollagen Typ II und Kollagen Typ IV sich hauptsächlich in hyalinem, elastischem und fibrösem Knorpel des Auges, der Bandscheibe, der Chorda dorsalis, im Epithel der embryonalen Cornea und der neuralen Retina sowie in der Basallamina befinden (Hall und Jackson, 1973; Von der Mark, 1981), ist eine Verbindung zu matrixregeneratorischen Prozessen im Rahmen der Inflammation, welche durch Zytokine gesteuert und durch Fibroblasten durchgeführt werden, denkbar. Da Kollagen II und IV aktuell kein Bestandteil routinemäßig durchgeführter immunhistochemischer Färbungen ist und diese Hypothese daher sehr vage erscheint, bedarf es hier weiterer Grundlagenforschung.

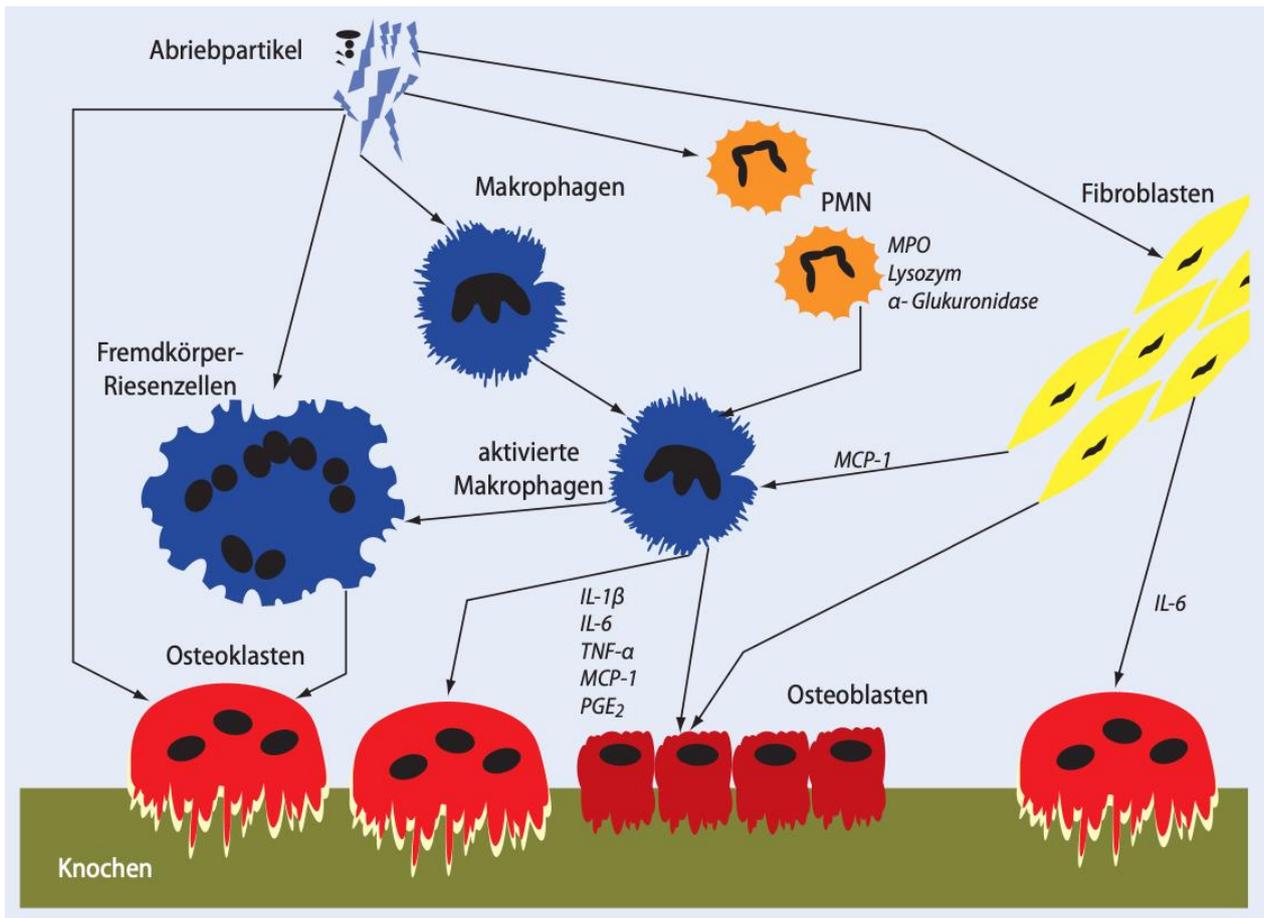


Abb. 47: Die abriebpartikelinduzierten Zell-Zell-Wechselwirkungen werden durch proinflammatorische Zytokine vermittelt (PMN= neutrophile Granulozyten, MPO= Myeloperoxidase, MCP= Membrane Cofactor Protein) (Otto et al., 2006)

4.3 Vergleich mit anderen Arbeiten

Im Vergleich zu anderen Markern, die zur Detektion einer Infektpersistenz direkt oder zur Vorhersage einer erfolgreichen Reimplantation indirekt publiziert wurden, war keiner der von uns getesteten Marker den bisher publizierten allein überlegen.

Limitierend und vermutlich auch der Grund dafür, dass histologische Marker in der Fragestellung nach Infektpersistenz im Sine-Gelenk wenig Bedeutung zukommt ist sicher die Tatsache, dass der zweizeitige Wechsel heutzutage der klinische Standard ist – insofern die Analyse der entnommenen Gewebeproben zum Zeitpunkt der Reimplantation keine unmittelbare Therapiekonsequenz mehr hat, da mit der Probenentnahme ja die Implantation entweder bereits erfolgt ist, oder eben nicht. Allenfalls die Dauer und Aggressivität der weiteren Antibiotikatherapie nach der Reimplantation könnte anhand der Klassifikation dann noch modifiziert werden.

Anders gestaltet es sich bei den drei- und mehrzeitigen Wechsell. Wird zum Beispiel der Spacer zwischenzeitlich gewechselt, oder ein erneutes Debridement nötig, so kann zu diesem Zeitpunkt Gewebe entnommen und anhand der vorgeschlagenen Kriterien analysiert werden, was insbesondere bei diesen hochkomplexen und aufwändigen Fällen mehr Sicherheit schaffen kann.

Zudem ist es prinzipiell möglich, vor der geplanten Reimplantation minimalinvasiv oder bei besonders komplexen Fällen im Rahmen einer Arthroskopie Gewebeprobe zu entnehmen (Wimmer et al., 2017).

4.4 Beurteilung der Methodik

4.4.1 Mögliche Fehlerquellen des Patientenkollektiv

Das durchschnittliche Patientenalter in der infektfreien Gruppe lag bei 68,9 Jahren gegenüber 72,9 Jahren in der infizierten Gruppe was keinen signifikanten Unterschied darstellt. Dennoch ist das Patientenkollektiv insgesamt sehr heterogen. Bei den eingeschlossenen Gelenken handelt es sich sowohl um Knie- als auch um Hüftgelenke. Hier erfolgte keine gesonderte Betrachtung. Die Keimzuordnung in der Infektpersistenzkohorte zeigte sich ebenfalls heterogen. Auch die Anzahl der Voroperationen unterscheidet sich in den beiden Kohorten. So wiesen die Patienten mit Infektpersistenz eine signifikant höhere Anzahl an Voroperationen auf. Hier ist bewusst auf eine Vorauswahl verzichtet worden, um einen Querschnitt durch das gesamte Patientengut zu erhalten.

4.4.2 Mögliche Fehlerquellen der histopathologischen Proben

Einfluss der Vorerkrankungen auf die histopathologische Auswertung

Chronisch entzündliche Erkrankungen wie die rheumatoide Arthritis können Einfluss auf die histopathologische Auswertung haben. So kann eine aktive rheumatoide Arthritis sowohl die Vaskularisierung als auch den Nachweis von Zellinfiltrationen (z.B.: CD3, CD4, CD20, CD22, CD38) wie auch den Nachweis von Zytokinen (z.B.: TNF- α IL-1 β , IL-6) beeinflussen und somit die Ergebnisse verfälschen. Ein Patient der Infektpersistenzkohorte hatte eine rheumatoide Vorerkrankung, welche die Ergebnisse als falsch positiv dargestellt haben könnte. Über die Aktivität der Erkrankung lässt sich retrospektiv keine Aussage mehr treffen (Najm et al., 2022).

Auch die Gicht kann durch eine synoviale Migration von Lymphozyten und neutrophilen Granulozyten zu einer Verfälschung der histopathologischen Ergebnisse führen. Im infektfreien Kollektiv waren 2 Patienten mit einer vorbekannten Gicht. Ein histopathologischer Nachweis von Kristallen konnte nicht erbracht werden. Eine aktive Gicht könnte die Auswertung verfälscht haben, jedoch die Wertigkeit der signifikanten Ergebnisse nicht schmälern (Krenn et al., 2006).

Anzahl der Voroperationen

Während das infektkonsolidierte Kollektiv im Durchschnitt $\geq 4,3$ Voroperationen des betroffenen Gelenks hatte, hatte das Infekt-Kollektiv im Durchschnitt $\geq 5,6$ Voroperationen. Bei Patienten mit mehrfachen Revisionen kann das Gewebe vermehrt neutrophile Granulozyten enthalten und somit zu falsch-positiven Ergebnissen führen. Dies wird bei nicht signifikantem Unterschied bezogen auf die Anzahl der Voroperationen keinen nennenswerten Effekt gehabt haben (Pandey, 2000).

Andererseits haben diverse Studien zeigen können, dass die Anzahl der Voroperationen einen unabhängigen negativen Prädiktor für das Outcome im Rahmen von PPI darstellt. Unsere Ergebnisse bestätigen dies insofern, als auch im hier dargestellten Kollektiv Patienten mit einer höheren Anzahl an Vor-Ops eher zu einer Infektpersistenz neigten. Die Streuung der Daten ist allerdings in dem heterogenen Kollektiv sehr breit; daher ist dieser Zusammenhang vermutlich zurückhaltend zu interpretieren.

Fehler bei der Identifikation geeigneten Gewebeproben

Im infektkonsolidierten Kollektiv erfolgte im Schnitt die Entnahme von lediglich 2 (gegenüber 5 im Infekt persistierenden Kollektiv) Gewebeproben für die mikrobiologische Bebrütung. Diese waren gemäß der Majorkriterien alle negativ. Da jedoch die Wahrscheinlichkeit des Keimnachweises bei einer persistierenden Infektion mit der Anzahl an entnommenen Gewebeproben korreliert kann hierin eine Fehlerquelle liegen und zu falsch negativen Ergebnissen geführt haben.

Bezüglich des fokalen Charakters der Infektion konnten Ergebnisse von Atkins et al. bestätigt werden. Im Durchschnitt erfolgte die Entnahme von 5 Gewebeproben für die mikrobiologische Bebrütung im Infekt-Kollektiv mit 3 positiven Gewebeproben, sodass auch in dieser Studie von einem fokalen Charakter ausgegangen werden muss. Dies

könnte zur Folge haben, dass auch bei Infektpersistenz die Gewebeproben aus nicht infizierten Bereichen entnommen worden sind (sogenannte „Sampling“ Fehler). Dies und eine fehlende oder ungenaue Beschriftung der Proben kann das Ergebnis einer Arbeit erschweren. So bedarf es eines geschulten Pathologen, um eine Identifikation und Auswahl repräsentativer Schnitte vorzunehmen, welche dann der weiteren Untersuchung zugeführt werden können (Atkins et al., 1998).

Fehler bei der Auszählung der Lymphozyten in HE Färbung

Eine Differenzierung der Lymphozyten (B-Zellen, T-Zellen) ist auch nach standardisierter Haematoxylin- und Eosin-Färbung (HE Färbung) nicht zuverlässig möglich. Daher kommen immunhistochemische Färbungen zum Einsatz, welche dies ermöglichen (Morawietz et al., 2009).

4.5 Weitere Limitationen der Arbeit

Dem retrospektiven Studiendesign geschuldet, können die gesammelten Informationen der Patientenversorgung unvollständig sein. Da zum Zeitpunkt der Erstellung der Datenbank noch keine elektronische Patientenakte vorlag, kann z.B. eine Antibiotikatherapie zu beliebigem Zeitpunkt nicht dokumentiert gewesen sein. Dies könnte einen negativen Einfluss auf die Zuverlässigkeit der mikrobiologischen Befunde haben. Ein weiterer Gesichtspunkt ist der verwendete diagnostische Algorithmus zur Detektion persistierender Infektion bzw. infektkonsolidierter Situationen. Hierzu existiert bislang in der Literatur kein Goldstandard und es erfolgte die Diagnosestellung anhand der älteren ICM-Kriterien von 2013. Neuere diagnostische Kriterien, welche in der Klassifikation der ICM von 2018 mitaufgenommen wurden wie z.B.: D-Dimere, Leukozyten-Esterase, Alpha Defensin sind nicht zum Einsatz gekommen und wurden zum Nachweis einer Infektpersistenz, weder validiert noch untersucht.

5. Zusammenfassung

Der periprothetische Infekt (PPI) ist eine der bedeutendsten Komplikation der muskuloskelettalen Chirurgie und wird mit steigenden Primärimplantation auch in Zukunft eine wichtige Rolle für Patienten und Chirurgen spielen. Die Therapie ist für die Betroffenen eine körperliche wie geistige Herausforderung und bedarf eines multimodalen Ansatzes. Durch die Immobilisation ist sie oftmals Grundlage für weitere Komplikationen und führt mitunter zum Versterben der Patienten. Zur Detektion des PPI stehen dem Chirurgen eine Palette an Hilfsmitteln zur Verfügung. Die ICM-Definition gilt als international anerkannt. Neue immunhistochemische Färbungen von periprothetischen Membranen haben bislang keinen Einzug in die Diagnosefindung der PPI gefunden. Hier ist bislang die histologische Klassifikation nach Krenn und Morawietz entscheidend.

Das Hauptziel der vorgelegten Arbeit war es, die Basis einer neuen immunhistochemischen Evaluation von periprothetischer Membranen in Sinesituationen zu schaffen, um eine verlässliche Aussage zum Zeitpunkt einer Reimplantation bzgl. einer Infektkonsolidierung treffen zu können. Durch die Erstellung von Gewebechips (englisch. tissue micro arrays, TMA) konnten eine Vielzahl immunhistochemischer Marker in ökonomischer Weise untersucht werden. Hier zeigten sich vor allem CRP, PAX2, Kollagen II und IV als vielversprechende Indikatoren zur Diskriminierung zwischen infiziertem und nicht infiziertem Gewebe.

6. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: EPRD Jahresbericht 2022 mit den dokumentierten Begründungen bei Folgeeingriffen an der Hüfte in 2021	10
Abb. 2: a) Kniescharnierapparat nach Gluck b) Smith-Petersen vitallium mould arthroplasty: A 62-year follow-up (Baker et al., 2011) c) John Charnley's low friction arthroplasty (Charnley, 1955)	12
Abb. 3: Aufbau des Metha [®] Kurzschaftprothesensystems der Firma Braun	14
Abb. 4: Aufbau des Oberflächenersatzes der Firma Implantcast, Typ ACS FB	14
Abb. 5: ICM-Kriterien für die PPI von 2018, modifiziert von Shohat et al., 2019	20
Abb. 6: Definition der PPI von der „Pro-Implant-Foundation“ (Izakovicova et al., 2019)	21
Abb. 7: TNM Klassifikation für PPI (Alt et al., 2020; Rupp et al., 2021)	23
Abb. 8: Überlebenswahrscheinlichkeit nach PPI bei Hüft- und Knie- TEP gegenüber der Zeit (Kurtz et al., 2018)	24
Abb. 9: Immunmodulatorische Reaktion ortsständiger Makrophagen und dendritischer Zellen auf Pathogene und Stressoren (Vallés et al., 2014)	25
Abb. 10: a) "Frühinfekt einer Hüft-TEP mit typischen Entzündungszeichen", b) "Fistelnder Spätinfekt einer Hüft- TEP, 13 Monate post-operativ" (Lehner et al. 2009)	26
Abb. 11: Natives Röntgenbild des linken Hüftgelenks in 2 Ebenen mit dem Nachweis großer osteolytischer Auftreibungen bei einliegender Hüft-Tep. Mit freundlicher Genehmigung von Herrn PD. Dr. Thomas, Randau (Universitätsklinikum Bonn, Klinik und Poliklinik für Orthopädie und Unfallchirurgie)	29
Abb. 12: Jährliche Detektionsrate der 5 häufigsten Pathogenen von 2016 bis 2021 (Fröschen et al., 2022)	37
Abb. 13: Sonikationsbehälter mit einliegender explantierter Knieendoprothese, sowie Zementresten. Mit freundlicher Genehmigung von Herrn PD. Dr. Gunnar Hischebeth (Universitätsklinikum Bonn, Institut für medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Parasitologie)	39
Abb. 14: „Zusammenfassung der direkten MALDI-TOF MS Messung (zweistufiger Prozess, der direkte und lytische Methoden umfasst) und Standard-Kolonieidentifizierung durch MALDI-TOF MS. g: Erdbeschleunigung; MALDI-TOF MS:	

Matrix-unterstützte Laser Desorption/Ionisation time-of-flight Massen Spektrometrie“ (Lin et al., 2018)	42
Abb. 15: Chirurgisches Vorgehen bei infizierten Gelenkprothesen (Renz und Trampuz, 2015)	45
Abb. 16: TMA Block	48
Abb. 17: Dargestellt ist die Anzahl der Vor-OPs im Vergleich zwischen den beiden Gruppen als Balkendiagramm; Die Höhe des Balkens entspricht dem Mittelwert (Mean), die Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung (SD). Der P-Wert im Mann-Whitney-U-Test betrug 0.0428, damit zeigt sich ein knapp signifikanter Unterschied	54
Abb. 18: Immunhistochemische Färbung: CRP; Präparat: Aseptisch, Position: 1743/14A1; keine Anfärbung des Bindegewebes (blau) abgrenzbar Score: 0	55
Abb. 19: Immunhistochemische Färbung: CRP; Präparat: Aseptisch, Position: 8668/16/2; schwache Färbung des Bindegewebes schwach bräunlich abgrenzbar Score:1	55
Abb. 20: Immunhistochemische Färbung: CRP; Präparat: Aseptisch; Position: 2567/16/2; schwache Färbung des Bindegewebes schwach bräunlich abgrenzbar Score:1	56
Abb. 21: Immunhistochemische Färbung: CRP; Präparat: Septisch; Position: 9282/15/4; moderate Färbung des Bindegewebes und des Zytoplasmas deutlich bräunlich abgrenzbar Score:2	56
Abb. 22: Immunhistochemische Färbung: CRP; Präparat: Septisch; Position: 10960/16/6; moderate Färbung des Bindegewebes und des Zytoplasmas deutlich bräunlich abgrenzbar Score:2	57
Abb. 23: Immunhistochemische Färbung: CRP; Präparat: Septisch; Position: 10960/16/4D; intensive Färbung des Zytoplasma intensiv bräunlich abgrenzbar Score: 3	57
Abb. 24: Immunhistochemische Färbung: Kollagen II; Präparat: aseptisch; Position: 1743/14/A1; schwache bräunliche Färbung um Gefäße herum; Score: 1	58
Abb. 25: Immunhistochemische Färbung: Kollagen II; Präparat: septisch; Position: 10960/16/4d; mäßige bräunliche Färbung um Gefäße herum; Score: 2	58
Abb. 26: Immunhistochemische Färbung: Kollagen II; Präparat: septisch; Position: 5955/14/1; kräftige bräunliche Färbung um Gefäße herum; Score: 3	59

- Abb. 27:** Immunhistochemische Färbung: Kollagen IV; Präparat: aseptisch; Position: 11365/14/3; mäßige bräunliche Färbung um Gefäße herum; Score: 2 59
- Abb. 28:** Immunhistochemische Färbung: Kollagen IV; Präparat: septisch; Position: 14797/14/1; mäßige bräunliche Färbung um Gefäße herum; Score: 2 60
- Abb. 29:** Immunhistochemische Färbung: Kollagen IV; Präparat: septisch; Position: 13953/15/; schwache bräunliche Färbung um Gefäße herum; Score: 1 60
- Abb. 30:** PAX 2; Position: 12931/1/6/1 61
- Abb. 31:** PAX 2; Position: 9282/15/14 61
- Abb. 32:** W Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test dargestellt in Balkendiagrammen zeigt jeweils die Korrelation zwischen Höhe der Serum CRP Konzentration sowie der Serum Leukozytenkonzentration und einer Infektpersistenz 62
- Abb. 33:** Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test dargestellt in Balkendiagrammen zeigt die Korrelation der Serumkonzentration von Hämoglobin und Kreatinin mit einer Infektpersistenz bzw. Infektfreiheit 63
- Abb. 34:** Nebeneinanderstellung der Korrelation der 15 immunhistochemischen Marker mit quantifizierbarem Ergebnis, sowie 4 Serum Laborparameter mit Infektpersistenz im Spearman r 63
- Abb. 35:** Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test dargestellt in einem Balkendiagramm zur Darstellung der Färbungsintensitäten von CRP in infiziertem und nichtinfiziertem Gewebe und ROC 64
- Abb. 36:** Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test dargestellt in Balkendiagrammen zur Darstellung der CD31 und CD34 gefärbten Gefäßanschnitte in infiziertem und nichtinfiziertem Gewebe 65
- Abb. 37:** Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test dargestellt in einem Balkendiagramm zur Darstellung der Färbungsintensitäten von Kollagen II in infiziertem und nichtinfiziertem Gewebe und ROC 65
- Abb. 38:** Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test dargestellt in einem Balkendiagramm zur Darstellung der Färbungsintensitäten von Kollagen IV in infiziertem und nichtinfiziertem Gewebe und ROC 66

- Abb. 39:** Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test dargestellt in Balkendiagrammen zur Darstellung des Anteils an CD3 und CD4 gefärbten Lymphozyten an der Gesamtanzahl an Lymphozyten in infiziertem und nicht infiziertem Gewebe 67
- Abb. 40:** Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test dargestellt in Balkendiagrammen zur Darstellung des Anteils an CD5 und CD20 gefärbten Lymphozyten an der Gesamtanzahl an Lymphozyten in infiziertem und nicht infiziertem Gewebe 67
- Abb. 41:** Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test dargestellt in einem Balkendiagramm zur Darstellung des Anteils an CD56 gefärbten Lymphozyten an der Gesamtanzahl an Lymphozyten in infiziertem und nicht infiziertem Gewebe 68
- Abb. 42:** Dargestellt ist die Korrelation der Anzahl Mastzelltryptase positiv gefärbter Zellen pro HPF mit einer Infektpersistenz bzw. Infektfreiheit als Balkendiagramm; Die Höhe des Balkens entspricht dem Mittelwert (Mean), die Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung (SD). Der P-Wert im Mann-Whitney-U-Test betrug $p=0,2445$, damit zeigt sich kein signifikanter Unterschied 69
- Abb. 43:** Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test dargestellt in einem Balkendiagramm zur Darstellung von PAX2 positiven Zellen pro Gesichtsfeld in infiziertem und nicht infiziertem Gewebe, und ROC 70
- Abb. 44:** Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test dargestellt in einem Balkendiagramm zur Darstellung von PAX5 positiven Zellen pro Gesichtsfeld in infiziertem und nicht infiziertem Gewebe 70
- Abb. 45:** Das Zusammenspiel von pCRP und Inflammation/Infektion (McFadyen, 2018) 75
- Abb. 46:** Inflammationskaskade mit Bildung von Interferon Typ 1 als Reaktion auf Implantat assoziierten Abrieb und Korrosion (Nich et al., 2013), CLR= Chemokine Like Receptors, TLR= Toll Like Receptor, NLR= Nod Like Receptor, RLR= Rig I Like Receptor 77
- Abb. 47:** Die abriebpartikelinduzierten Zell-Zell-Wechselwirkungen werden durch proinflammatorische Zytokine vermittelt (PMN= neutrophile Granulozyten, MPO= Myeloperoxidase, MCP= Membrane Cofactor Protein) (Otto et al., 2006) 79

7. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Zum Einsatz kommende Reagenzien	50
Tabelle 2: Verwendete immunhistochemische Marker	51
Tabelle 3: Charakteristika des Patientenkollektivs; hinsichtlich Alter, ASA-Score, Diabetes zeigten sich ebensowenig Unterschiede wie bei der Geschlechter- und Gelenkverteilung. Angegeben sind die Mittelwerte +/- Standardabweichung; *: P-Werte anhand Mann-Whitney-U-Test; **: P-Werte anhand Fisher's Exact Test	53

8. Literaturverzeichnis

Abdulmassih R, Makadia J, Como J, Paulson M, Min Z, Bhanot N. Propionibacterium acnes : Time-to-Positivity in Standard Bacterial Culture From Different Anatomical Sites. J Clin Med Res. 2016; 12:916-918

Alt V, Rupp M, Langer M, Baumann F, Trampuz A. Can the oncology classification system be used for prosthetic joint infection? Bone Jt Res. 2020; 2:77-78

Atkins B L, Athanasou N, Deeks J J, Crook D W M, Simpson H, Peto T E A. Prospective Evaluation of Criteria for Microbiological Diagnosis of Prosthetic-Joint Infection. Revision Arthroplasty. 1998; 10:2932-2939

Bainbridge P, Healing W, Repair T. Wound healing and the role of Fibroblasts. Journal of Woundcare. 2013; 08:407-412

Baker J F, Vioreanu M H, Khan H A. Smith-Petersen vitallium mould arthroplasty: A 62-year follow-up. J Bone Jt Surg. 2011; 9:1285-1286

Basu S, Hons M, Kwee T C, Saboury B, Garino J P, Nelson C L. FDG PET for Diagnosing Infection in Hip and Knee Prostheses. Clin Nucl Med. 2014; 7:609-615

Bian T, Shao H, Zhou Y, Huang Y, Song Y. Tests for predicting reimplantation success of two-stage revision for periprosthetic joint infection: A systematic review and meta-analysis. Orthop Traumatol Surg Res. 2018; 7:1115-1123

Bolland B J, Whitehouse S L, John Timperley A. Indications for early hip revision surgery in the UK - A re-analysis of NJR data. HIP Int. 2012; 2:145-152

Boncler M, Wu Y, Watala C. The multiple faces of c-reactive protein-physiological and pathophysiological implications in cardiovascular disease. Molecules. 2019; 24:1-18

Bos I, Berner J, Diebold J, Löhrs U. Histologische und morphometrische Untersuchungen an Femora mit stabilen Hüftgelenkendoprothesen. Z Orthop. 1995; 5:460-466

Bozic K J, Ong K, Lau E, Kurtz S M, Vail T P, Rubash H E. Risk of complication and revision total hip arthroplasty among medicare patients with different bearing surfaces. *Clin Orthop Relat Res.* 2010; 9:2357-2362

Busch A, Jäger M, Engler H, Haversath M, Bielefeld C, Landgraeber S. Is Procalcitonin (PCT) a reliable biomarker for preoperative diagnosing of low grade periprosthetic joint infection? A prospective study. *BMC Musculoskelet Disord.* 2020; 21:1–8

Butbul-Aviel Y, Koren A, Halevy R, Sakran W. Procalcitonin as a Diagnostic Aid in Osteomyelitis and Septic Arthritis. *Pediatric Emergency Care.* 2005; 12:828-832

Buttaro M A, Martorell G, Quinteros M, Comba F, Zanotti G, Piccaluga F. Intraoperative Synovial C-reactive Protein Is as Useful as Frozen Section to Detect Periprosthetic Hip Infection. *Clin Orthop Relat Res.* 2015; 12:3876-3881

Carli A V, Abdelbary H, Ahmadzai N, Cheng W, Shea B, Hutton B. Diagnostic Accuracy of Serum, Synovial, and Tissue Testing for Chronic Periprosthetic Joint Infection after Hip and Knee Replacements: A Systematic Review. *J Bone Jt Surg.* 2019;101:635-649

Carney EM, Banerjee P, Ellis C L, Albadine R, Sharma R, Chaux A M. PAX2(-)/PAX8(-)/inhibin A(+) immunoprofile in hemangioblastoma: A helpful combination in the differential diagnosis with metastatic clear cell renal cellcarcinoma to the central nervous system. *Am J Surg Pathol.* 2011;35:262-267

Charnley J. Arthroplasty of the hip. A new operation. *Lancet.* 1961;1:1129-1132

Costa C R, Johnson A J, Naziri Q, Maralunda G A, Delanois R E, Mont M A. Efficacy of erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein level in determining periprosthetic hip infections. *Am J Orthop.* 2012;41:160-165

Deirmengian C, Hallab N, Tarabishy A, Della Valle C, Jacobs J J, Lonner J. Synovial fluid biomarkers for periprosthetic infection. *Clin Orthop Relat Res.* 2010;468:2017-2023

Della Valle C J, Parvizi J, Bauer T W, DiCesare P E, Evans R P, Segreti J, Spangehl M. Guideline and Evidence report: The Diagnosis of periprosthetic joint infections of the hip and knee. Rosemont: American Academy of Orthopaedic, 2010

Della Valle C J, Bogner E, P Desai, J H Lonner, E Adler, J D Zuckerman PEDC. Analysis of frozen sections of intraoperative specimens obtained at the time of reoperation after hip or knee resection arthroplasty for the treatment of infection. *J Bone Jt Surg.* 1999; 81:684-689

EPRD Jahresbericht 2022. Berlin: EPRD Deutsche Endoprothesenregister gGmbH, 2022

Frangiamore S J, Gajewski N D, Saleh A, Farias-Kovac M, Barsoum W K, Higuera C A. α -Defensin Accuracy to Diagnose Periprosthetic Joint Infection-Best Available Test? *J Arthroplasty.* 2016a; 2:456-460

Frangiamore S J, Siqueira M B P, Saleh A, Daly T, Higuera C A, Barsoum W K. Synovial Cytokines and the MSIS Criteria Are Not Useful for Determining Infection Resolution After Periprosthetic Joint Infection Explantation. *Clin Orthop Relat Res.* 2016b; 7:1630-1639

Fröschen F S, Randau T M, Franz A, Molitor E, Hoerauf A, Hischebeth G T R. Microbiological Trends and Antibiotic Susceptibility Patterns in Patients with Periprosthetic Joint Infection of the Hip or Knee over 6 Years. *Antibiotics.* 2022; 11

Gallo J, Kolar M, Dendis M, Loveckova Y, Sauer P, Zapletalova J. Culture and PCR analysis of joint fluid in the diagnosis of prosthetic joint infection. *New Microbiol.* 2008; 31:97-104

George J, Kwiecien G, Klika A K, Ramanathan D, Bauer T W, Barsoum W K. Are Frozen Sections and MSIS Criteria Reliable at the Time of Reimplantation of Two-stage Revision Arthroplasty? *Clin Orthop Relat Res.* 2016; 474:1619-26

Gomez-Urena E O, Tande A J, Osmon D R, Berbari E F. Diagnosis of Prosthetic Joint Infection: Cultures, Biomarker and Criteria. *Infectious Dis Clin N Am.* 2017; 2:219-235

Goodman S B. Wear particles, periprosthetic osteolysis and the immune system. *Biomaterials.* 2007; 28:5044-5048

Greidanus N V., Masri B A, Garbuz D S, Wilson S D, McAlinden M G, Xu M. Use of erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein level to diagnose infection before

revision total knee arthroplasty: A prospective evaluation. *J Bone Jt Surg - Ser A.* 2007; 89:1409-1416

Hahn M, Vogel M, Schultz C, Niecke M D G. Histologic reactions of the bone-implant zone and cortical bone area after long-term hip. *Chirurg.* 1992; 63:958-963

Hall D A, Jackson D S. International review of connective tissue research. Elsevier Science. 1973; 341

Harrasser N, Eisenhart-Rothe R, Biberthaler P., Hrsg. Facharztwissen Orthopädie Unfallchirurgie. Berlin-Heidelberg: Springer Verlag; 2016

Hazlett L, Wu M. Defensins in innate immunity. *Cell Tissue Res.* 2011; 343:175-188

Henderson E R, Groundland J S, Pala E, Dennis J A, Wooten R, Cheong D. Failure mode classification for tumor endoprostheses: Retrospective review of five institutions and a literature review. *J Bone Jt Surg - Ser A.* 2011; 93:418-429

Higgins E, Suh G A, Tande A J. Enhancing Diagnostics in Orthopedic Infections. *J Clin Microbiol.* 2022; 60:1-12

Hoell S, Borgers L, Gosheger G, Dieckmann R, Schulz D, Gerss J. Interleukin-6 in two-stage revision arthroplasty. *Bone Joint J.* 2015; 97-B:71-75

Hügler T, Schuetz P, Mueller B, Laifer G, Tyndall A, Regenass S. Serum procalcitonin for discrimination between septic and non-septic arthritis. *Clin Exp Rheumatol.* 2008; 26:453-456

Izakovicova P, Borens O, Trampuz A. Periprosthetic joint infection: current concepts and outlook. *EFORT Open Rev.* 2019; 4:482-494

Johnson S M, Saint John B E, Dine A P. Local anesthetics as antimicrobial agents: A review. *Surg Infect (Larchmt).* 2008; 9:205-213

Jungmann P M, Agten C A, Pfirrmann C W, Sutter R. Advances in MRI around metal. *Journal of Magnetic Resonance Imaging.* 2017; 4:972–991

Kelly M E, Bahethi S R, King M E, Elstner B C, Turcotte J J, King P J. The Utility of Frozen Section Histology in Diagnosing Periprosthetic Joint Infection in Revision Total Joint Arthroplasty. *J Arthroplasty*. 2021; 36:2137-2143

Kheir M M, Ackerman C T, Tan T L, Benazzo A, Tischler E H, Parvizi J. Leukocyte Esterase Strip Test Can Predict Subsequent Failure Following Reimplantation in Patients With Periprosthetic Joint Infection. *J Arthroplasty*. 2017; 32:1976-1979

Knoepf S M, Kunju L P, Roh M H. Utility of PAX8 and PAX2 immunohistochemistry in the identification of renal cell carcinoma in diagnostic cytology. *Diagn Cytopathol*. 2012; 40:667-672

Koichi Tanaka, Ido, S, Akita, Y, Yoshida T Y. Detection of high mass molecules by laser desorption time-of-flight mass spectrometry. *Second Japan-China Joint Symposium on Mass Spectrometry*. 1987, 185-188

Kölbel B, Wienert S, Dimitriadis J, Kendoff D, Gehrke T, Huber M. CD15-Fokus-Score zur Diagnostik der periprosthetischen Gelenkinfektion: Neutrophile-Granulozyten-Quantifizierungs-Modus und Entwicklung einer morphometrischen Software („CD15-Quantifier“). *Z Rheumatol*. 2015; 7:622-630

Krenn V, Morawietz L, König A, Haeupl T. Differenzialdiagnostik der chronischen synovialitis. *Pathologe*. 2006; 6:402-408

Krenn V, Morawietz L, Perino G, Kienapfel H, Ascherl R, Hassenpflug G J. Revised histopathological consensus classification of joint implant related pathology. *Pathol Res Pract*. 2014; 12:779-786

Krenn V, Otto M, Morawietz L, Hopf T, Jakobs M, Klauser W. Histopathologische Diagnostik in der Endoprothetik: Periprosthetische Neosynovialitis, Hypersensitivitätsreaktion und Arthrofibrose. *Orthopäde*. 2009; 6:520-530

Kuo F C, Chien C C, Lee M S, Wang J W, Lin P C, Lee C H. Rapid diagnosis of periprosthetic joint infection from synovial fluid in blood culture bottles by direct matrix-

assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *PLoS One*. 2020; 15:1-12

Kurtz S M, Lau E C, Son M S, Chang E T, Zimmerli W, Parvizi J. Are We Winning or Losing the Battle With Periprosthetic Joint Infection: Trends in Periprosthetic Joint Infection and Mortality Risk for the Medicare Population. *J Arthroplasty*. 2018; 33:3238-3245

Kwee T C, Kwee R M, Alavi A. FDG-PET for diagnosing prosthetic joint infection: Systematic review and metaanalysis. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2008; 35:2122-2132

Kwiecien G, George J, Klika AK, Zhang Y, Bauer T W, Rueda C A H. Intraoperative Frozen Section Histology: Matched for Musculoskeletal Infection Society Criteria. *J Arthroplasty*. 2017; 1:223-227

LaRock C N, Cookson B T. Burning Down the House: Cellular Actions during Pyroptosis. *PLoS Pathog*. 2013; 9:1-3

Leão R de S, Moraes S L D de, Gomes J M de L, Lemos C A A, Casado B G da S, Vasconcelos B C do E. Influence of addition of zirconia on PMMA: A systematic review. *Mater Sci Eng C*. 2020; 106:110292

Learmonth I D, Young C, Rorabeck C. The operation of the century: total hip replacement. *Lancet*. 2007; 370:1508-1519

Lee Y S, Fernando N, Koo K H, Kim H J, Vahedi H, Chen A F. What markers best guide the timing of reimplantation in twostage exchange arthroplasty for PJI? A systematic review and meta-analysis. *Clin Orthop Relat Res*. 2018; 476:1972-1983

Lehner B, Witte D, Suda A, Weiss S. Revisionsstrategie bei der Protheseninfektion. *Orthopade*. 2009; 38:681-689

Li C, Margaryan D, Ojeda-Thies C, Perka C, Trampuz A. Meta-analysis of serum and/or plasma D-dimer in the diagnosis of periprosthetic joint infection. *J Orthop Surg Res*. 2020; 15:1-9

Lin J F, Ge M C, Liu T P, Chang S C, Lu J J. A simple method for rapid microbial identification from positive monomicrobial blood culture bottles through matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *J Microbiol Immunol Infect.* 2018; 51:659-665

Liu K, Fu J, Yu B, Sun W, Chen J, Hao L. Meta-analysis of sonication prosthetic fluid PCR for diagnosing periprosthetic joint infection. *PLoS One.* 2018; 13:1-11

Lu F, Lan Z, Xin Z, He C, Guo Z, Xia X. Emerging insights into molecular mechanisms underlying pyroptosis and functions of inflammasomes in diseases. *J Cell Physiol.* 2020; 235:3207-3221

Lum Z C, Natsuhara K M, Shelton T J, Giordani M, Pereira G C, Meehan J P. Mortality During Total Knee Periprosthetic Joint Infection. *J Arthroplasty.* 2018; 33:3783-3788

Martinot M, Sordet C, Soubrier M, Puéchal X, Saraux A, Lioté F. Diagnostic value of serum and synovial procalcitonin in acute arthritis: a prospective study of 42 patients. *Clin Exp Rheumatol.* 2005; 23:303-310

Matthews P. C, Berendt A R, McNally M A, Byren I. Diagnosis and management of prosthetic joint infection. *BMJ.* 2009; 338:1378-1383

McFadyen J D, Kiefer J, Braig D, Loseff-Silver J, Potempa L A, Eisenhardt S U, Peter K. Dissociation of C-Reactive Protein Localizes and Amplifies inflammation: evidence for a Direct Biological Role of C-Reactive Protein and its Conformational Changes. *Frontiers of* 2018; 9

Morawietz L, Krenn V. Das Spektrum histopathologischer Veränderungen in endoprothetisch versorgten Gelenken. *Pathologe.* 2014; 35:218-224

Morawietz L, Tiddens O, Mueller M, Tohtz S, Gansukh T, Schroeder J H. Twenty-three neutrophil granulocytes in 10 high-power fields is the best histopathological threshold to differentiate between aseptic and septic endoprosthesis loosening. *Histopathology.* 2009; 54:847-853

Najm A, Costantino F, Weill C, Filer A, D'Agostino M A. Impact of synovial biopsy procedures and disease-specific aspects on synovial tissue outcome: A systematic literature review informing the EULAR points to consider for the minimal reporting requirements in synovial tissue research in rheumatology. *RMD Open*. 2022; 8:1-14

Nich C, Takakubo Y, Pajarinen J, Ainola M, Salem A, Sillat T. Macrophages - Key cells in the response to wear debris from joint replacements. *J Biomed Mater Res - Part A*. 2013; 101:3033-3045

Ostaff M J, Stange E F, Wehkamp J. Antimicrobial peptides and gut microbiota in homeostasis and pathology. *EMBO Mol Med*. 2013; 5:1465-1483

Otto M, Kriegsmann J, Gehrke T, Bertz S. Abriebpartikel: Schlüssel der aseptischen prothesenlockerung? *Pathologe*. 2006; 27:447-460

Ozcan A, Liles N, Coffey D, Shen S S, Truong L D. PAX2 and PAX8 expression in primary and metastatic müllerian epithelial tumors: A comprehensive comparison. *Am J Surg Pathol*. 2011; 35:1837-1847

Pagenstert G, Gravius S, Zimmerli W, Weber O, Hoppe T. Implantatassoziierte Infekte. In: Ruchholtz S, Wirtz DC, editors. *Orthopädie und Unfallchirurgie essentials Intensivkurs zur Weiterbildung*. 3. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2019. p. 158–168

Pandey R, Berendt A R, Athanasou N A. Histological and microbiological findings in non-infected and infected revision arthroplasty tissues. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2000; 120:570-574

Pannu T S, Villa J M, Riesgo A M, Patel P D, Barsoum W K, Higuera-Rueda C A. Serum D-Dimer in the Diagnosis of Periprosthetic Knee Infection: Where Are We Today? *J Knee Surg*. 2020; 33:106-110

Peel T N, Dylla B L, Hughes J G, Lynch D T, Greenwood-Quaintance K E, Cheng A C. Improved diagnosis of prosthetic joint infection by culturing periprosthetic tissue specimens in blood culture bottles. *MBio*. 2016;7

Preininger B, Janz V, Von Roth P, Trampuz A, Perka C F, Pfitzner T. Inadequacy of joint aspiration for detection of persistent periprosthetic infection during two-stage septic revision knee surgery. *Orthopedics*. 2017; 40:231-234

Puhto A P, Puhto T M, Niinimäki T T, Leppilahti J I, Syrjälä H P T. Two-stage revision for prosthetic joint infection: Outcome and role of reimplantation microbiology in 107 cases. *J Arthroplasty*. 2014; 29:1101-1104

Pupaibool J, Fulnecky E J, Swords R L, Sistrunk W W, Haddow A D. Alpha-defensin—novel synovial fluid biomarker for the diagnosis of periprosthetic joint infection. *Int Orthop*. 2016; 40:2447-2452

Quick C M, Gokden N, Sangoi A R, Brooks J D, McKenney J K. The distribution of PAX-2 immunoreactivity in the prostate gland, seminal vesicle, and ejaculatory duct: Comparison with prostatic adenocarcinoma and discussion of prostatic zonal embryogenesis. *Hum Pathol*. 2010; 41:1145-1149

Rabban J T, McAlhany S, Lerwill M F, Grenert J P, Zaloudek C J. PAX2 distinguishes benign mesonephric and mullerian glandular lesions of the cervix from endocervical adenocarcinoma, including minimal deviation adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2010; 34:137-146

Randau T M, Friedrich M J, Wimmer M D, Reichert B, Kuberra D, Stoffel-Wagner B. Interleukin-6 in serum and in synovial fluid enhances the differentiation between periprosthetic joint infection and aseptic loosening. *PLoS One*. 2014; 9:1-6

Randelli F, Brioschi M, Randelli P, Ambrogi F, Sdao S, Aliprandi A. Fluoroscopy- vs ultrasound-guided aspiration techniques in the management of periprosthetic joint infection: which is the best? *Radiol Medica*. 2018; 123:28-35

Rathinam V A K, Chan F K-M. Inflammasome, Inflammation and Tissue Homeostasis. *Trends Mol Med*. 2018; 3: 304-318

Reinhart W H. Blood sedimentation--a simple and useful test? *Schweiz Med Wochenschr*. 1988; 118:839-844

Renz N, Cabric S, Janz V, Trampuz A. Sonikation in der Diagnostik periprothetischer Infektionen: Stellenwert und praktische Umsetzung. *Orthopäde*. 2015; 44:942-945

Renz N, Trampuz A. Periprothetische Infektionen: aktueller Stand der Diagnostik und Therapie. *Orthopädie & Rheuma*. 2015; 18:20-28

Rittersma S Z H, Chamuleau S A J, Tijssen J G P, Becker A E, Piek J J. Colocalisation of intraplaque C reactive protein, complement, oxidised low density lipoprotein, and macrophages in stable and unstable angina and acute myocardial infarction. 2006; 8:196-201

Rogers J, Dieppe P. Is tibiofemoral osteoarthritis in the knee joint a new disease? *Ann Rheum Dis*. 1994; 53:612-613

Rothenberg A C, Wilson A E, Hayes J P, O'Malley M J, Klatt B A. Sonication of Arthroplasty Implants Improves Accuracy of Periprosthetic Joint Infection Cultures. *Clin Orthop Relat Res*. 2017; 475:1827-1836

Ruchholtz S, Wirtz D C, editors. *Orthopädie und Unfallchirurgie essentials*. 3rd ed. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2019

Rupp M, Kerschbaum M, Freigang V, Bärtil S, Baumann F, Trampuz A. PJI-TNM as new classification system for periprosthetic joint infections: An evaluation of 20 cases. *Orthopäde*. 2021; 50:198-206

Sa-Ngasoongsong P, Wongsak S, Jarungvittayakon C, Limsamutpetch K, Channoom T, Kawinwonggowit V. Comparison of Synovial Fluid and Serum Procalcitonin for Diagnosis of Periprosthetic Joint Infection: A Pilot Study in 32 Patients. *Biomed Res Int*. 2018; 1-6

Sabah S A, Alvand A, Price A J. Revision knee replacement for prosthetic joint infection: Epidemiology, clinical outcomes and health-economic considerations. *Knee*. 2021; 28:417-421

Shahi A, Kheir M M, Tarabichi M, Hosseinzadeh H R S, Tan T L, Parvizi J. Serum D-Dimer Test Is Promising for the Diagnosis of Periprosthetic Joint Infection and Timing of Reimplantation. *J Bone Jt Surg - Am Vol*. 2017; 99:1419-1427

Shin J H, Yu E, Kim E N, Kim C J. C-reactive protein overexpression in the background liver of hepatitis b virus-associated hepatocellular carcinoma is a prognostic biomarker. *J Pathol Transl Med.* 2018; 52:267-274

Shohat N, Bauer T, Buttaro M, Budhiparama N, Cashman J, Della Valle C J. Hip and Knee Section, What is the Definition of a Periprosthetic Joint Infection (PJI) of the Knee and the Hip? Can the Same Criteria be Used for Both Joints?: Proceedings of International Consensus on Orthopedic Infections. *J Arthroplasty.* 2019; 34:325-327

Slevin M, Garcia-Lara E, Capitanescu B, Sanfeliu C, Zeinolabediny Y, AlBaradie R. Monomeric C-Reactive Protein Aggravates Secondary Degeneration after Intracerebral Haemorrhagic Stroke and May Function as a Sensor for Systemic Inflammation. *J Clin Med.* 2020; 9:1-12

Slevin M, Matou S, Zeinolabediny Y, Corpas R, Weston R, Liu D. Monomeric C-reactive protein - A key molecule driving development of Alzheimer's disease associated with brain ischaemia? *Sci Rep.* 2015; 5:1-21

Stukenborg-Colsman C. Degenerative Erkrankungen Kniegelenk. In: Wirth CJ, Mutschler W, Kohn D, Pohlemann T, editors. *Praxis der Orthopädie und Unfallchirurgie.* 3rd ed. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2014. p. 795-807

Subramaniam S, Bober J, Chao J, Zehtabchi S. Point-of-care Ultrasound for Diagnosis of Abscess in Skin and Soft Tissue Infections. *Acad Emerg Med.* 2016; 23:1298-1306

Talsma D T, Ploegmakers J J W, Jutte P C, Kampinga G, Wouthuyzen-Bakker M. Time to positivity of acute and chronic periprosthetic joint infection cultures. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2021; 99:115178

Trampuz A, Piper K E, Jacobson M J, Hanssen A D, Unni K K, Osmon D R. Sonication of Removed Hip and Knee Prostheses for Diagnosis of Infection. *N Engl J Med.* 2007; 357:654-663

Vallés P G, Lorenzo A G, Bocanegra V, Vallés R. Acute kidney injury: What part do toll-like receptors play? *Int J Nephrol Renovasc Dis.* 2014; 241-251

Verberne S J, Temmerman O P P, Vuong B H, Raijmakers P G. Fluorodeoxyglucose positron emission tomography imaging for diagnosing periprosthetic hip infection: the importance of diagnostic criteria. *Int Orthop.* 2018; 42:2025-2034

Vincent J L, Moreno R, Takala J, Willatts S, De Mendonça A, Bruining H. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. *Intensive Care Med.* 1996; 22:707-710

Von Der Mark K. Localization of collagen types in tissues. *International Review of Connective Tissue Research.* 1981; 9:265-324

Waddell J, Pritzker K P, Boynton E L. Increased cytokine secretion in patients with failed implants compared with patients with primary implants. *Clin Orthop Relat Res.* 2005; 434:170-176

Walter G, Gramlich Y. Periprothetische Infektionen. In: *Orthopädie und Unfallchirurgie* Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2019. p. 1-25

Wang S, Somisetty V S, Bai B, Chernukhin I, Niskanen H, Kaikkonen M U. The proapoptotic gene interferon regulatory factor-1 mediates the antiproliferative outcome of paired box 2 gene and tamoxifen. *Oncogene* 2020; 39:6300-6312

Weidner N, Semple J P, Welch W R, Folkman J. Tumor Angiogenesis and Metastasis - Correlation in Invasive Breast Carcinoma. *New England Journal of Medicine* 1991; 1:1-8

Wessinghage D. Themistocles Gluck 100 Jahre künstlicher Gelenkersatz. *Z. Orthop.* 1991; 129:383-388

Wildeman P, Rolfson O, Söderquist B, Wretenberg P, Lindgren V. What Are the Long-term Outcomes of Mortality, Quality of Life, and Hip Function after Prosthetic Joint Infection of the Hip? A 10-year Follow-up from Sweden. *Clin Orthop Relat Res.* 2021; 479:2203-2213

Wimmer M D, Ploeger M M, Friedrich M J, Hügler T, Gravius S, Randau T M. Pre-operative intra-articular deep tissue sampling with novel retrograde forceps improves the diagnostics in periprosthetic joint infection. *Int Orthop.* 2017; 2-6

Windhagen H, Hurschier C. Implantate und Biomaterialien. In: Wirth C J, Mutschler W, Kohn D, Pohlemann T, editors. Praxis der Orthopädie und Unfallchirurgie. 3rd ed. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2014

Windhagen H. Degenerative Erkrankungen Hüftgelenk und Oberschenkel. In: Wirth C J, Mutschler W, Kohn D, Pohlemann T, editors. Praxis der Orthopädie und Unfallchirurgie. 3rd ed. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2014. p. 728-36

Wirth C J, Mutschler W, Kohn D, Pohlemann T, editors. Praxis der Orthopädie und Unfallchirurgie. 3rd ed. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2014

Wirtz D C. Endoprothetik. In: Ruchholtz S, Wirtz DC, editors. Orthopädie und Unfallchirurgie essentials. 3rd ed. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2019

Xie K, Qu X, Yan M. Procalcitonin and α -Defensin for Diagnosis of Periprosthetic Joint Infections. J Arthroplasty. 2017; 32:1387-1394

Xing D, Ma X L, Ma J X, Wang J, Chen Y, Yang Y. Use of Anti-Granulocyte Scintigraphy with ^{99m}Tc -Labeled Monoclonal Antibodies for the Diagnosis of Periprosthetic Infection in Patients after Total Joint Arthroplasty: A Diagnostic Meta-Analysis. PLoS One. 2013; 8:7-9

Yoon J R, Yang S H, Shin Y S. Diagnostic accuracy of interleukin-6 and procalcitonin in patients with periprosthetic joint infection: a systematic review and meta-analysis. Int Orthop. 2018; 42:1213-1226

Youssef B, Pavlou G, Tsiridis E. Philadelphia 2013: International consensus meeting on periprosthetic joint infection. HIP Int. 2014; 24:3-4

Zhbanov A, Yang S. Effects of aggregation on blood sedimentation and conductivity. PLoS One. 2015; 10:1-25

Zmistowski B M, Clyde C T, Ghanem E S, Gotoff JR , Deirmengian C A, Parvizi J. Utility of Synovial White Blood Cell Count and Differential Before Reimplantation Surgery. J Arthroplasty. 2017; 32:2820-2824

9. Danksagung

Ich möchte mich hiermit herzlich bei allen Personen bedanken, die zum erfolgreichen Abschluss meiner Dissertation beigetragen haben. Ohne Ihre Unterstützung und Engagement wäre dies nicht möglich gewesen.

Ein besonderes Dankeschön geht an Prof. Dr. Kristiansen, Direktor des Instituts für Pathologie des Universitätsklinikums Bonn, für die Ermöglichung dieser Dissertation, die Erarbeitung des Themas zusammen mit PD. Dr. Thomas Randau, das Brainstorming bezüglich geeigneter immunhistochemischer Färbungen und die stets gute Zusammenarbeit.

Auch Jan-Frederic Lau hat einen unverzichtbaren Beitrag geleistet, indem er die bestehenden histopathologischen Schnitte überprüft und geeignete Areale für die Erstellung der TMAs identifiziert hat. Er hat zudem die Auswertungskriterien erarbeitet und die Auswertung ausführlich erklärt und im Verlauf supervidiert, sowie stets für Fragen zur Verfügung gestanden.

Das Team des immunhistochemischen Labors, insbesondere Frau Aktekin, hat die Erstellung der TMAs übernommen und den Prozess detailliert erklärt.

PD Dr. Thomas Randau, mein Betreuer, stand mir in guten wie in schlechten Zeiten zur Seite und hat mit seinem statistischen Know-How maßgeblich zur Qualität dieser Arbeit beigetragen.

Ein großer Dank gilt auch Prof. Dr. Wirtz, Direktor der Klinik und Poliklinik für Orthopädie und Unfallchirurgie des Universitätsklinikums Bonn, meinem Doktorvater, der sich sehr für die Entstehung der Arbeit eingesetzt und stets beharrlich motivierend auf mich eingewirkt hat, damit alles zu einem erfolgreichen Abschluss kommt.

Besonderer Dank gilt auch meiner Mutter, Prof. Dr. Katharina Seuser, für ihre tolle Lektorenarbeit und ihr stetes Interesse.

Zuletzt möchte ich mich bei meiner Partnerin Regina Havenith bedanken, für ihren hervorragenden Input und ihre engagierte Unterstützung.

Vielen Dank!