

Aus dem Fachbereich Medizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

betreut am
Zentrum der Chirurgie
Klinik für Unfall-, Hand- und Wiederherstellungschirurgie
Direktor: Prof. Dr. Ingo Marzi

**Lokale Fixierung von Colistin durch Fibrinbesprühung in einem
In-vivo-Weichteilmodell als Therapieoption der
Haut- und Weichteilinfektion**

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
des Fachbereichs Medizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

vorgelegt von
Fabian Dust

aus Aschaffenburg

Frankfurt am Main, 2022

Aus dem Fachbereich Medizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

betreut am
Zentrum der Chirurgie
Klinik für Unfall-, Hand- und Wiederherstellungschirurgie
Direktor: Prof. Dr. Ingo Marzi

**Lokale Fixierung von Colistin durch Fibrinbesprühung in einem
In-vivo-Weichteilmodell als Therapieoption der
Haut- und Weichteilinfektion**

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
des Fachbereichs Medizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

vorgelegt von
Fabian Dust

aus Aschaffenburg

Frankfurt am Main, 2022

Dekan:	Prof. Dr. Stefan Zeuzem
Referentin:	PD Dr. Maren Janko
Korreferentin:	Prof. Dr. Maria Vehreschild
Tag der mündlichen Prüfung:	27.09.2022

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	5
1.1	Haut- und Weichteilinfektion und Osteomyelitis.....	6
1.1.1	Ätiologie von Haut- und Weichteilinfektionen	6
1.1.2	Klassifikationen von Haut- und Weichteilgewebe nach Kriterien der <i>Food and Drug Administration</i>	7
1.1.3	Klassifikationen von Haut- und Weichteilinfektionen nach Kriterien der <i>Infection Disease Society of America</i>	8
1.1.4	Osteomyelitis als schwerwiegende Komplikation der Haut- und Weichteilinfektion	10
1.1.5	Erregerspektrum von Haut- und Weichteilinfektionen	11
1.1.6	Postoperative Wundinfektion.....	13
1.2	Therapie von Haut- und Weichteilinfektionen	15
1.2.1	Operativer Eingriff als Grundpfeiler der Therapie	15
1.2.2	Kalkulierte und gezielte antibiotische Therapie	17
1.2.3	Zusätzliche Therapie.....	21
1.2.4	Lokale Antibiotikafixierung durch Fibrinbesprühung.....	22
1.3	Fragestellung	24
2	Material und Methoden.....	25
2.1	Material.....	25
2.1.1	Versuchstiere	25
2.1.2	Colistin	26
2.1.3	Fibrinkleber	26
2.1.4	Sprühvorrichtung.....	27
2.2	Methoden.....	28
2.2.1	Versuchsgruppen	28
2.2.2	Operation und Probengewinnung.....	28
2.2.3	Besprühung der Wundflächen.....	29
2.2.4	Probenaufbereitung und -messung	32
2.2.5	Statistische Auswertung.....	34

3	Ergebnisse	35
3.1	Basisdaten der Versuchstiere	35
3.2	Messwerte	35
3.3	Gewebekonzentration von Colistin A nach einer Stunde	37
3.4	Gewebekonzentration von Colistin A nach zwei Stunden	40
3.5	Gewebekonzentration von Colistin A nach vier Stunden	41
4	Diskussion	44
4.1	Die postoperative Wundinfektion	45
4.2	Probleme der systemischen Antibiotikatherapie bei SSI	46
4.3	Vor- und Nachteile der lokalen Antibiotikatherapie	46
4.4	Multiresistente Erreger als Herausforderung der Medizin	48
4.5	Colistin – Vor- und Nachteile des Reserveantibiotikums	49
4.6	Fibrinkleber	51
4.7	Die lokale Fixierung von Colistin mit Fibrinkleber	52
4.8	Fazit	55
4.9	Limitationen der Studie	55
5	Zusammenfassung	57
6	Summary	59
7	Literaturverzeichnis	61
8	Anhang	77
8.1	Abbildungsverzeichnis	77
8.2	Tabellenverzeichnis	77
8.3	Abkürzungsverzeichnis	78
8.4	Danksagung	81
8.5	Schriftliche Erklärung	82

1 Einleitung

Haut- und Weichteilinfektionen (*Skin and Soft Tissue Infections, SSTI*) umfassen eine heterogene Gruppe von Krankheitsbildern, die durch mikrobielle Besiedlung aller Hautschichten sowie der subdermalen Bindegewebsschichten charakterisiert ist.¹ Goldstandard in der Therapie der schweren SSTI ist das chirurgische Wunddébridement mit im gegebenen Fall Stabilisierung des Skelettsystems sowie adjuvanter, systemischer und intravenöser Antibiotikatherapie.²⁻³ Um eine ausreichend granulierte Wundfläche zu erreichen, können vor dem Sekundärverschluss im Rahmen der *Second-Look-Operationen* ein- oder mehrzeitige Revisionsoperationen notwendig werden.⁴ Weit verbreiteter Bestandteil dieses Therapieregimes ist die Vakuumversiegelung.⁵⁻⁶ Ausreichend vaskularisierte Wunden können hierunter zur Ausheilung gebracht werden, bei kompromittierter Perfusion aufgrund mangelhafter Vaskularisation kann eine lokale oder mikrochirurgische Lappenplastik indiziert sein.²

Die Verwendung lokaler Antibiotikaträger stellt ein weiteres Behandlungskonzept dar. So ist das Einbringen von antibiotikahaltigen Kollagenschwämmen auf das Wundbett ein etabliertes Verfahren nach vorangegangener chirurgischer Infektsanierung. Auch Festkörpern wie Polymethylmethacrylat (PMMA, Septopal®) können antibiotisch wirksame Substanzen beigefügt und beispielsweise zur Behandlung von Beugesehnenscheidenphlegmonen der Hand eingesetzt werden.⁷ Die lokale Antibiotikatherapie kann die Anzahl der Operationen verringern, den Krankenhausaufenthalt der Behandelten reduzieren und ist aufgrund der geringeren systemischen Wirkung bei gleichzeitig hoher lokaler Konzentration gegenüber der intravenösen Antibiotikatherapie nebenwirkungsärmer.⁸⁻¹⁰ Andererseits müssen Feststoffe wie Polymethylmethacrylat operativ oder durch sukzessives Ziehen im stationären Behandlungssetting entfernt werden, was zu seelischer Belastung der zu Operierenden und zu höheren Behandlungskosten führt. Bei flüssigen oder biologisch abbaubaren Trägermaterialien entfällt die Notwendigkeit der Entfernungsoperationen.

In Anbetracht der zunehmenden Anzahl an SSTI mit multiresistenten, gram-negativen Bakterien¹¹⁻¹³ und ausgeschöpften Maßnahmen zur Infektkontrolle soll in der

vorliegenden Arbeit die lokale Fixierung des Antibiotikums Colistin mit einem Fibrinkleber als flüssiges, biologisch abbaubares Trägermaterial in einem In-vivo-Weichteilmodell tierexperimentell untersucht werden, um eine neue Therapieoption der SSTI zu eröffnen.

1.1 Haut- und Weichteilinfektion und Osteomyelitis

1.1.1 Ätiologie von Haut- und Weichteilinfektionen

Eine SSTI kann zur Infektion des Knochens (Osteitis) und weiter zur Infektion des Markraums (Osteomyelitis) führen, worunter die inflammatorische Erkrankung des Knochens als Reaktion auf einen infektiösen Erreger verstanden wird.¹⁴ Durch den lokalen, knöchernen Gewebetod kommt es wiederum zu einer Begleitreaktion des umgebenden Weichteilgewebes.¹⁵ Das Verständnis darüber, dass sich Knochen- und Weichteilinfektionen gegenseitig bedingen, ist zur erfolgreichen Therapie der Wundinfektion grundlegend.

Die Infektion der Haut und der Weichteile hat zum Großteil exogene Ursachen. Das Gewebe wird entweder traumatisch oder operativ kontaminiert. In der Folge kann es zu einer komplexen Immunreaktion zwischen den aufgenommenen Mikroorganismen und dem Wirt kommen.¹⁶ Der Verlauf der Infektion ist abhängig von der Virulenz des Erregers, einer eventuellen Endo- oder Exotoxinbildung, der Biofilmproduktion, dem mikrobiellen Stoffwechsel und der Interaktion der einzelnen Erregerspezies bei polymikrobiellem Erregerspektrum sowie dem Gesundheitsstatus der zu Behandelnden (Alter, Vorerkrankungen, Immunstatus).^{2,17} Die Bandbreite reicht von oberflächlichen Pyodermien bis zur lebensbedrohlichen Myonekrose.¹⁸ Ursächlich für die posttraumatischen Infektionen ist potenziell jeder Verletzungsmechanismus, in dessen Folge die Erreger die Hautbarriere überwinden. Jener ist eine mechanische, thermische, chemische oder energetische Krafteinwirkung beziehungsweise eine Kombination hieraus. Neben chronischen Wunden, deren Häufigkeit mit zunehmendem Alter der Erkrankten steigt, und kleinen oberflächlichen Läsionen wie

beispielsweise einer Nagelmykose des Fußes stellen Traumata wie offene Frakturen die klassischen Ursachen der posttraumatischen Infektion dar. Eine endogene Infektion durch hämatogene Streuung einer (latenten) Bakteriämie, die ihren Ursprung in der Haut (z. B. Erysipel), der Lunge (z. B. Pneumonie), dem Herzen (z. B. Endokarditis), den Harnwegen (z. B. Harnwegsinfekt) oder anderen Organen hat, ist ebenfalls möglich, aber vergleichsweise selten.¹⁹⁻²⁰

1.1.2 Klassifikationen von Haut- und Weichteilgewebe nach Kriterien der *Food and Drug Administration*

Seit 2013 empfiehlt die *Food and Drug Administration (FDA)* die Nutzung des Überbegriffs *akute bakterielle Haut- und Weichteilinfektion (Acute Bacterial Skin and Skin Structure Infections, ABSSSI)*.²¹ Hierunter zu subsumieren sind die Phlegmone, das Erysipel, die postoperative Wundinfektion und kutane Abszesse.

Die Begriffe Phlegmone und Erysipel werden in der deutsch- und englischsprachigen Literatur unterschiedlich verwendet, was zu Definitionsschwierigkeiten führt. Im deutsch- und englischsprachigen Raum werden bakterielle Entzündungen der oberen Hautschichten (Epidermis und Dermis) Erysipel bzw. *Erysipelas* genannt. Sind die Subkutis und tiefere Weichgewebeschichten auf Faszien-, Sehnen- oder Muskelniveau entzündet, spricht die deutschsprachige Literatur von einer Phlegmone, die angelsächsische von *Cellulitis*. Im Englischen kann *Cellulitis* jedoch auch Überbegriff für das Erysipel und eine tiefe, aber begrenzte Weichteilinfektion sein.

In der aktuellen S2k-Leitlinie der *Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF)*²² zur kalkulierten parenteralen Initialtherapie bakterieller Erkrankungen bei Erwachsenen vom Juli 2019 wird in Abgrenzung zur *schweren Phlegmone* daher der Begriff *begrenzte Phlegmone* benutzt, um die begrenzte Weichteilinfektion, z. B. bei chronischen Wunden, abzugrenzen. Unter der *begrenzten Phlegmone* wird eine teilweise eitrige Infektion der Dermis und Subkutis verstanden, die jedoch in Abgrenzung zur *schweren Phlegmone* mit invasiver, meist

eitriger Infektion und systemischer Reaktion sowie der Notwendigkeit einer chirurgischen Intervention lokal begrenzt ist und nicht eitrig-nekrotisch subkutane Gewebeschichten erreicht. In der Regel ist keine chirurgische Intervention notwendig, es wird jedoch eine antimikrobielle Therapie eingeleitet. Die *schwere Phlegmone* lässt sich demnach den Kriterien des *Center for Disease Control and Prevention (CDC)* folgend als cSSTI, die *begrenzte Phlegmone* als uSSTI klassifizieren.

Weiter liegt nach FDA eine cSSTI vor, wenn aufgrund der Ausbreitung der Infektion auf subkutanes Niveau (*schwere Phlegmone*) eine größere chirurgische Intervention (Débridement, Drainage, Fasziotomie, Amputation) notwendig ist, mehr als 3 % der Körperoberfläche infiziert sind oder schwere Grunderkrankungen vorliegen, die ein Ansprechen auf die Therapie verhindern oder erschweren.²³ Der progressive, destruiende Entzündungsprozess in tiefere Gewebeschichten mit der Gefahr der Osteomyelitis ist dabei fließend.²⁴

1.1.3 Klassifikationen von Haut- und Weichteilinfektionen nach Kriterien der *Infection Disease Society of America*

Aufgrund der Heterogenität der Krankheitsbilder existiert nach aktuellem Stand keine allgemeingültige Klassifikation der Haut- und Weichteilinfektionen. Bereits 1990 schlugen Kingston et al.²⁵ anhand der Dringlichkeit von chirurgischen Interventionen die Einteilung in drei Schweregrade vor. Daraufhin formulierte die *Infection Diseases Society of America (IDSA)* eine Klassifikation der Haut- und Weichteilinfektionen anhand folgender Kriterien: ihre Flächen- und Tiefenausbreitung, ihre Ausbreitungsdynamik und ihre Tendenz zu nekrotisieren.²⁶

Werden die Flächen- und Tiefenausbreitung betrachtet, sind eine unkomplizierte (*Uncomplicated Skin and Soft Tissue Infection, uSSTI*) von einer komplizierten SSTI (*Complicated Skin and Soft Tissue Infection, cSSTI*) zu unterscheiden. Eine uSSTI ist typischerweise – aber nicht zwingend – eine oberflächliche Infektion, die in der Regel komplikationslos ohne Therapie abheilt. Bei Therapiebedürftigkeit orientiert

sich die Behandlung am Ausprägungsgrad der Infektion und reicht von der lokalen, antiseptischen Wundbehandlung bis zur topischen oder systemischen Antibiotikatherapie. Beispiele hierfür sind das Erysipel, die Follikulitis bzw. Furunkulitis oder die Impetigo contagiosa.

Die cSSTI hingegen betrifft üblicherweise tieferliegende Gewebeschichten und ist mit komplizierten Verläufen bei schweren Grunderkrankungen, Immunsuppression, Infektion mit Anaerobiern oder gramnegativen Erregern sowie Infektionen mit multi-resistenten Erregern assoziiert. In Anlehnung an die SIRS-Kriterien (*Systemisches inflammatorisches Responsesyndrom, SIRS*) unterteilte die IDSA die Haut- und Weichteilinfektionen in mäßig starke (≥ 1 SIRS-Kriterien) bzw. schwere Haut- und Weichteilinfektionen (≥ 2 SIRS-Kriterien). Entsprechende Zeichen sind Fieber ($> 38\text{ °C}$), Hypothermie ($< 36\text{ °C}$), Leukozytose ($> 12.000/\mu\text{l}$) oder Leukopenie ($< 400/\mu\text{l}$), Tachykardie ($> 90\text{ min}^{-1}$) und Tachypnoe ($> 24\text{ min}^{-1}$). Seit der Konsensus-Definition von 2016 werden die SIRS-Kriterien jedoch nicht mehr zur Definition der Sepsis herangezogen; sie wurden durch den SOFA- bzw. qSOFA-Score (*Quick Sequential Organ Failure Assessment, qSOFA*) bzw. abgelöst, der sich zur Ermittlung einer möglichen Sepsis bzw. eines erhöhten Risikos für einen ungünstigen Verlauf bei zu Behandelnden mit Verdacht auf eine Haut- und Weichteilinfektion eignet. Die Betrachtung der Ausbreitungsdynamik lässt eine Unterteilung in eine akute oder chronische Wundinfektion zu.

Einige Bakterienstämme neigen zur Nekrotisierung des Weichteilgewebes (*Necrotizing Skin and Soft Tissue Infection, nSSTI*) mit foudroyantem Verlauf und sind damit eine Unterform der cSSTI. Darunter fallen die Fasziiitis, die Myonekrose und das Gangrän. Sie stellen einen akut operativ behandlungsbedürftigen Notfall dar.

1.1.4 Osteomyelitis als schwerwiegende Komplikation der Haut- und Weichteilinfektion

Die Osteomyelitis ist die Entzündung des Markraums des Knochens, worunter die inflammatorische Erkrankung des Knochens als Reaktion auf einen infektiösen Erreger verstanden wird.¹⁴ *Osteomyelitis* wird dabei im klinischen Sprachgebrauch häufig anstelle des treffenderen Begriffs *Osteitis* verwendet, um eine Entzündung des Knochens als Ganzes – also nicht nur eine auf den Markraum beschränkte Entzündung – zu beschreiben. Entgegen der Haut- und Weichteilinfektionen wird die Osteomyelitis einheitlich anhand der Klassifikationen nach Lew/Waldvogel¹⁴ und Cierny et al.²⁷ eingeteilt. Nach Lew/Waldvogel, die neben dem zeitlichen Verlauf auch die Ursachen der Osteomyelitis unterscheiden, entspräche der beschriebene progressive Entzündungsprozess des Weichteilmantels einer exogenen Ursache. In Abgrenzung zu dieser ist die endogene Form als eine sekundäre Besiedlung des Knochenmarks durch septische Streuung eines Primärherdes zu sehen.

Basierend auf der Pathogenese differenzieren Lew/Waldvogel¹⁴ zudem den zeitlichen Verlauf der Osteomyelitis. Dieser wird in eine akute und eine chronische Form separiert. Eine exakte zeitliche Trennung der beiden Ausprägungen ist jedoch nicht definierbar, da die Entwicklung fließend ist. Die klinisch weitaus geläufigere Klassifikation der Osteomyelitis wurde von Cierny, Mader und Penninck festgelegt.²⁷ Sie berücksichtigt anatomische, klinische und radiologische Gesichtspunkte der chronischen Osteomyelitis (der langen Röhrenknochen) und macht sie damit für den klinischen Alltag relevanter. Osteomyelitiden nach exogener Infektion des den Knochen umgebenden Weichteilmantels stellen eine schwerwiegende Komplikation dar und bedürfen interdisziplinärer Therapiestrategien. Die vorliegende Arbeit beleuchtet das Element der Weichteilinfektion, weshalb im Weiteren lediglich in Auszügen auf die Pathogenese und Therapie der Osteomyelitis eingegangen wird.

1.1.5 Erregerspektrum von Haut- und Weichteilinfektionen

Der Großteil aller uSSTI ist auf eine Infektion mit *Staphylococcus aureus* und Streptokokken zurückzuführen.¹ *Streptococci spp.* sind die häufigsten Erreger des Erysipels.²⁸ Dabei werden Infektionen im Gesichtsbereich großteils von β -hämolyisierenden Streptokokken der Lancefield-Gruppe A (GABHS, häufig *Streptococcus pyogenes*) verursacht. Weichteilinfektionen der unteren Extremitäten werden zunehmend von Nicht-GABHS ausgelöst.¹ Darunter werden grundsätzlich Gruppe-B-, -C-, -D- und -G-Streptokokken gefasst, wobei besonders Gruppe-C- und -G-Streptokokken aufgrund ihrer evolutionären Nähe zu GABHS mit der Standardmethode zum Erregernachweis (Latexagglutination) und vor Einführung neuer Techniken zur Protein- und RNA-Sequenzierung (*Matrix-Assisted Laser Desorption Time-of-Flight*, *MALDI-TOF* und *Next Generation Sequencing*, *NGS*) routinemäßig nicht zu unterscheiden waren.²⁹

Die Unterteilung in Gruppe-C-Streptokokken (GCS) und Gruppe-G-Streptokokken (GGS) war anhand der Reaktion mit Typ-C- oder -G-Serum nach Lancefield möglich. Unter den GCS und GGS ist *Streptococcus dysgalactiae subs. equisimilis* (*SDSE*) der Erreger, der im Menschen am häufigsten Haut- und Weichteilinfektionen verursacht.²⁹ GCS und GGS sind Kommensalen der menschlichen Hautflora und haben mit dem M-Protein, Streptolysin O, Streptolysin S und der Streptokinase die gleichen Virulenzfaktoren wie GABHS.³⁰ Sie verursachen abszedierende Infektionen, welche typischerweise polymikrobiell sind, wobei Moran et al.³¹ schon im Jahr 2006 eine Zunahme des prozentualen Anteils von *Staphylococcus aureus* und dessen Resistenzformen verzeichneten.

Phlegmonöse Entzündungen, also tiefliegende, eitrige Infektionen von Muskel-, Faszi- und Bindegewebe werden ebenfalls am häufigsten durch *Staphylococcus aureus* oder GABHS verursacht. Phlegmone der unteren Extremitäten im Zusammenhang mit venösen Ulzera bei chronisch venöser Insuffizienz oder nach Entnahme der *V. saphena* für Bypass-Operationen sind häufig von Infektionen mit GABHS, GCS und GGS assoziiert.¹ *Staphylococcus aureus* allein oder als Mischinfektion mit

GABHS ist auch bei der nSSTI der häufigste Erreger. Eine Koinfektion mit den Anaerobiern *Bacteroides spp.*, *Clostridium spp.*, *Peptostreptococcus spp.* ist möglich. Unter allen Clostridien ist *Clostridium perfringens* der am häufigsten nachgewiesene Erreger bei Myonekrosen.³²

Bei Drogenkonsumenten, die intravenöse Applikationsformen nutzen, sind *Staphylokokken spp.* und *Streptokokken spp.* die häufigsten Erregerspezies.²⁶ Es werden aber auch Infektionen mit selteneren Erregern wie *Enterococcus faecalis*, *Enterobakterien*, *Bacteroides spp.*, und *Clostridien spp.* beschrieben.¹ Infektionen bei diabetischen Fußwunden werden vorwiegend durch grampositive Kokken verursacht, bei ausbleibendem Wundverschluss, rezidivierenden Verläufen oder antibiotisch vorbehandelten Infekten steigt die Wahrscheinlichkeit einer Infektion mit gramnegativen Bakterien, bei Ischämien oder Gangränen dazu die Wahrscheinlichkeit einer Infektion mit obligat anaeroben Erregern.³³

Vor allem Patientinnen und Patienten mit Granulozytopenien durch cytotoxische Therapie oder bei Malignitäten des blutbildenden Systems sind gefährdet für hämatogene Ausbreitung einer bakteriellen Infektion, vor allem mit *Pseudomonaden spp.* und *Stenotrophomonas maltophilia*, aber auch für Pilzinfektionen.^{34,35} Immunsupprimierte Operierte nach Organtransplantation haben ein ebenso erhöhtes Risiko für eine Infektion mit eher untypischen Erregern wie Anaerobiern, gramnegativen Erregern, Mykobakterien und Pilzen.¹

Ein besonderes Augenmerk dieser Arbeit liegt auf der postoperativen Wundinfektion als Sonderfall der Haut- und Weichteilinfektion, die im Folgenden beschrieben und deren Erregerspektrum im Anschluss vorgestellt wird.

1.1.6 Postoperative Wundinfektion

Infektepideziologische Daten

Infektionen nach operativen oder interventionellen Behandlungen beispielsweise geschlossener oder offener Frakturen werden als postoperativer Wundinfekt bezeichnet. Die dem US-Gesundheitsministerium nachgeordnete Behörde *Centers for Disease Control and Prevention* beschreibt den postoperativen Wundinfekt als *Surgical Site Infection (SSI)* und definiert ihn als eine Infektion, die dort am Körper auftritt, wo ein chirurgischer Eingriff stattfand.³⁶ Sie betont dabei die Heterogenität des entzündeten Gewebes. Daten der CDC zeigen, dass die SSI bereits im Jahre 2002 die zweithäufigste nosokomiale Infektion war.³⁶ Auch aus dem Abschlussbericht der *Deutschen nationalen Punkt-Prävalenzerhebung zu nosokomialen Infektionen und Antibiotika-Anwendung*³⁷ von 2016 geht hervor, dass die SSI mit 22 % aller nosokomialen Infektionen in Deutschland den zweiten Platz belegt. Die *Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO)* des *Robert Koch-Instituts (RKI)* veröffentlicht in diesem Zusammenhang Leitlinien³⁸ unter Berücksichtigung aktueller infektionsepidemiologischer Auswertung gemäß dem Infektionsschutzgesetz (IfSG) und veröffentlicht diese im Bundesgesundheitsblatt. Die aktuelle Version datiert von 2020.

SSI sind für die Erkrankten wie auf andere Weise auch für das Gesundheitssystem eine große Belastung. Neben Pneumonien und Harnwegsinfektionen stellen sie den Großteil aller nosokomialen Infektionen dar.^{39,40} Sie führen zu einer Verlängerung der Krankenhausverweildauer um durchschnittlich sieben bis acht Tage.⁴¹ Auf Deutschland bezogen und nach Daten des *Krankenhaus-Infektions-Surveillance-Systems (KISS)* treten bei 6,4 Mio. chirurgischen Eingriffen in stationärer Behandlung allein 130.000 Fälle von SSI auf (2 %).⁴²

Erregerspektrum

Die häufigsten Erreger der SSI sind Bakterien der residenten Hautflora und damit wiederum *Staphylococcus aureus*, koagulasenegative Staphylokokken wie *Staphylococcus epidermidis*, Enterokokken wie *Enterococcus faecalis* und *Enterococcus*

faecium, aber auch Enterobakterien aus dem gramnegativen Spektrum wie *Escherichia coli*, Klebsiellen, Proteus, Serratien und Yersinien.⁴⁰ Letztere finden sich vor allem bei SSI im Abdominal- sowie Perineal- und Analbereich.⁴³ Die Hälfte aller SSI steht mittlerweile im Zusammenhang mit einer Infektion mit MRSA (*Methicillin-resistenter Staphylokokkus aureus*).⁴⁴ Bei chronischen Infektionen und cSSTI nimmt neben MRSA der Anteil an Infektionen mit multiresistenten Erregern wie *vancomycinresistenten Enterokokken (VRE)* und *multiresistenten gramnegativen Bakterien (MRGN)* zu.⁴⁴

Aus Wundabstrichen intensivpflichtiger, kritischer Patientinnen oder Patienten mit sekundärer oder tertiärer Peritonitis waren nach einer prospektiven Studie von Ballus et al.⁴⁵ die beiden am häufigsten nachgewiesenen Erreger im gramnegativen Spektrum *Escherichia coli* (20,4 %) und *Pseudomonas spp.* (19,3 %). Die Studie zeigte einen Anteil an *ESBL (Extended Spectrum Beta Lactamase)* bildenden Enterobakterien von 11,1 % und einen Anteil von *carbapenemresistenten Pseudomonaden* von 11,9 %. *Acinetobacter baumannii* ist ein multiresistenter, gramnegativer Erreger, der im Zusammenhang mit Infektionen nach Implantation medizinischer Utensilien und penetrierenden Verletzungen, beispielsweise Schusswunden, steht.

Eine systematische Übersichtsarbeit von El-Sayed Ahmed et al.¹¹ aus dem Jahr 2020 macht deutlich, mit welchen Herausforderungen die Gesundheitssysteme in Hinblick auf MRGN zu kämpfen haben werden. Die seit den 1970ern vermehrt auftretenden MRGN sind als eine weltweite Gesundheitskrise zu betrachten und werden in der Literatur auch als *Bad Bugs* bezeichnet.¹¹⁻¹³ Nosokomiale Infektionen mit Erregerstämmen wie *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* und *Pseudomonas aeruginosa* konnten unter Selektionsdruck durch inadäquaten Einsatz von Antibiotika Resistenzmechanismen entwickeln.^{46,47} Diese Resistenzen führten zum vermehrten Einsatz des Reserveantibiotikums Colistin, das auch aufgrund seines als ungünstig bewerteten Nebenwirkungsprofils in den letzten Jahrzehnten nur restriktiv gegeben wurde. Bereits im Jahr 2004 wurde in

einem Report der IDSA auf die dramatische Situation der *Bad-Bugs-No-Drugs-Ära* aufmerksam gemacht.⁴⁸ Durch die breite Anwendung von Reserveantibiotika in der Nahrungsmittelindustrie sowie der Veterinär- als auch der Humanmedizin wurden bereits Fälle von colistinresistenten MRGN beschrieben.⁴⁹⁻⁵¹ Daraus erwächst die Herausforderung, alternative Möglichkeiten zur Erregereradikation zu finden und den Einsatz von Reserveantibiotika einer strengen Rationalität zu unterwerfen.

1.2 Therapie von Haut- und Weichteilinfektionen

Die Behandlung von chronischen Weichteilinfektionen ist ein oft langwieriges, teures und problembehaftetes Unterfangen.^{2,52} Die Säulen der Behandlung bestehen aus Infektkontrolle durch chirurgisches Débridement und erregerspezifische Antibiotikatherapie, Weichgewebsdeckung und Wiederherstellung der ossären Integrität.² Eine Infektion mit multiresistenten Erregern erschwert die Therapie zusätzlich.

1.2.1 Operativer Eingriff als Grundpfeiler der Therapie

Débridement

Der Goldstandard in der Behandlung schwerer Knochen-, Haut- und Weichteilinfektionen ist das chirurgische Débridement, das sich in seiner Radikalität an der Tumorchirurgie orientiert.^{2,15,53-55} Hier wird die enge Verzahnung von Knochen- und Weichteilinfektionen deutlich, die sich in der pathophysiologischen Genese gegenseitig bedingen. Per continuitatem fortgeleitete SSTI können zu chronisch entzündetem Knochengewebe mit avaskulären Nekrosen führen, die sich bei kompromittierter medullärer und periostaler Durchblutung formieren können. Als Reaktion auf einen Erreger vermitteln Leukozyten und deren cytotoxische Entzündungsmediatoren Gewebenekrosen sowie eine Zerstörung der trabekulären und medullären Knochenstruktur. Aus dem Verlust dieser Strukturen und einer zunehmenden Obliteration der Gefäße resultiert eine Ischämie des betroffenen Gewebes. Das zunehmend

avaskuläre, ischämische Knochengewebe wird nekrotisch, um den Defekt herum bildet sich ein irregulär geformter, teils perforierter Mantel aus neuer Knochenmatrix – das sogenannte Involucrum. Der eingeschlossene Nekroseherd wird als Sequestrum bezeichnet. Durch das zerklüftete Involucrum kann fortlaufend entzündliches Sekret vom Sequestrum aus durch Fistelbildung in das umgebende Weichteilgewebe fließen und ist dort für Entzündungsrezidive verantwortlich.^{2,52,56}

Charakteristisch für eine chronische Infektion sind außerdem die Persistenz der Erreger und eine latente Inflammation über mehrere Monate bis Jahre. Das knöcherne Débridement muss demnach zwingend die Sequestrotomie, Nekrotomie und Fistulotomie einbeziehen. Sowohl das Weichteil- als auch das Knochendébridement müssen auf der einen Seite großzügig und in sano erfolgen,⁵³⁻⁵⁵ um ein Wiederaufflammen der Infektion zu verhindern, auf der anderen Seite folgt einem größeren Gewebeerlust und dem dadurch entstandenen Totraum die Notwendigkeit, diesen entsprechend zu versorgen.⁵⁷ Der entstandene avaskuläre und durch Narbenbildung bradytrophe Raum ist für immunkompetente Zellen nicht oder nur schwer zu erreichen. Auch systemisch applizierte Antibiotika erreichen aufgrund der Avaskularität den Totraum nur in geringen Mengen und können dort keine wirksamen Konzentrationen aufbauen. Es ist daher wichtig, den Totraum lokal antibiotisch abzudecken.

Unterdruckwundtherapie

Um vor dem Sekundärverschluss ein sauberes Wundbett mit ausreichend Granulationsgewebe zu erzielen, ist im Rahmen der einmaligen oder mehrfachen Revisionsoperation die von Fleischmann et al. bereits 1993 beschriebene Unterdrucktherapie (*Negative Pressure Wound Therapy, NPWT*) mit der Entwicklung des *Vacuum Assisted Closure-Systems (VAC-System)* ein weit verbreiteter Therapiestandard.^{5,6,58,59} Über einen Schwamm aus Polyurethan oder Polyvinylalkohol wird dabei ein subatmosphärischer Druck erzeugt, der auf der Wundoberfläche überschüssiges Exsudat, Bakterien und Zelldetritus absaugt und die Einsprossung von Granulationsgewebe fördert.

Gewebetransplantation

Kann durch die im letzten Unterabschnitt genannten Maßnahmen keine suffiziente lokale Perfusion des Gewebes erreicht werden, ist eine Gewebetransplantation notwendig. Bei einem rein auf die Weichteile beschränkten Perfusionsdefizit ist eine freie oder gestielte mikrochirurgische Lappenplastik das Mittel der Wahl. Das Gewebe wird sekundär einige Tage nach dem Débridement transplantiert.^{2,60,61}

Stabilisierung des Knochens

Bei knöchernen Defekten kann es – wie beschrieben – notwendig werden, die Stabilität des Knochens wiederherzustellen. In der septischen Chirurgie ist eine externe Stabilisierung mit einem *Fixateur externe* üblich. Da keine Implantate in das Infektionsgebiet eingebracht werden, ist eine Biofilmproduktion sehr unwahrscheinlich. Im Zusammenhang mit der Infektion stehendes, eingebrachtes Fremdmaterial (Implantate, Osteosynthesematerial, Zement) ist vorher aufgrund seines potentiellen bakteriellen Biofilms zwingend zu entfernen.³ Bei einem mehrzeitigen septischen Prothesenaustausch wird in der Interimsphase ein Spacer eingesetzt.⁶² Dieser kann bereits mit antibakteriell wirksamen Substanzen beschichtet sein.

1.2.2 Kalkulierte und gezielte antibiotische Therapie

Die antibiotische Standardtherapie der Knochen-, Haut- und Weichteilinfektion ist die systemische Antibiotikagabe durch intravenöse Applikation.³⁶ Nach aktueller AWMF-Leitlinie (2019)²² ist die systemische Antibiotikagabe indiziert, wenn sich die Infektion diffus im Weichgewebe ausbreitet, wenn Symptome, die auf eine Infektion hinweisen (Fieber, Abgeschlagenheit, Schüttelfrost), vorliegen oder Infektionsparameter darauf hindeuten – also, wie unter 1.1.2 beschrieben, eine cSSTI vorliegt. Weiter ist die parenterale Antibiotikatherapie angezeigt, wenn die Infektion in einer Körperregion mit dem Risiko gravierender Folgen (z. B. Hand- oder Gesichtsbereich) lokalisiert ist, relevante Komorbiditäten wie Durchblutungsstörungen oder gastrointestinale Resorptionsstörungen diagnostiziert wurden oder die zu

Behandelnden relevant immunsupprimiert sind. Nach Probengewinnung, Erregerspezifisierung und Resistenztestung wird eine anfänglich kalkulierte Antibiotikatherapie auf eine gezielte antibiogrammgerichte Therapie umgestellt. Eine Kombination mit lokal applizierten, antibiotisch wirksamen Trägersubstanzen wird empfohlen, ist jedoch noch kein fester Bestandteil der Standardtherapie. Die Anwendung lokaler Antibiotikaträger bringt viele Vorteile mit sich, die im Diskussionsteil dieser Arbeit ausführlich besprochen werden.

Polymethylmethacrylat (PMMA)

Buchholz et al.⁸ beschrieben 1970 das Verfahren, einen mit Antibiotikum versetzten Knochenzement zur Hüftgelenksimplantation zu verwenden. Der Knochenzement auf Basis von polymerisiertem Polymethylmethacrylat (PMMA) – meist in Kombination mit dem Aminoglykosidantibiotikum Gentamycin – ist auch heute noch das mit Abstand am häufigsten eingesetzte Festmaterial zur lokalen Antibiotikatherapie.¹⁵ Denn wenig später leiteten Klemm et al.¹⁰ 1979 daraus ein Verfahren zur Therapie der chronischen Osteomyelitis ab, indem sie zu Kugeln geformten, gentamycinhaltigen PMMA-Knochenzement als lokalen Antibiotikaträger nach dem Knochen- und Weichteildébridement in das entstandene Wundbett einlegten.

Das mit Antibiotikum versetzte PMMA (*Polymethylmethacrylat-Antibiotic-Loaded-Cement, PMMA-ALC*) wird auch heute noch bei Knochen- wie auch bei Weichteilinfektionen angewandt. Im Tiermodell von Mader et al.⁵² hatten die Gruppen ohne Implantation lokaler Antibiotikaträger eine 100%-Infektionsrate der untersuchten Knochenmark- und Kompaktproben. In klinischen Studien hatten Krankengruppen mit eingelegten PMMA-ALC-Ketten dahingegen Remissionsraten der chronischen Osteomyelitis von 80–100 %.^{10,15} PMMA-ALC ist auf dem europäischen Markt industriell vorgefertigt in Form von Kugelketten (z. B. Septopal[®]) erhältlich. Es besteht außerdem die Möglichkeit, PMMA noch intraoperativ mit dem nach Antibiogramm ermittelten geeigneten Antibiotikum zu mischen und so eine gezieltere antibiotische Therapie einzuleiten. PMMA gilt als Goldstandard der lokalen Antibiotikaträgersubstanzen.

Kollagenschwämme

Kollagenhaltige Trägersubstanzen mit eingearbeitetem Antibiotikum – auf dem Markt erhältlich ist ein Kollagen-Gentamycin-Schwamm (*Gentamycin Containing Collagen Implants, GCCI*) – werden bevorzugt bei chronischen Knochen- und Weichteilinfektionen, z. B. chronischer Infektion bei diabetischem Fußsyndrom,⁶³ aber auch zur Prophylaxe einer SSI^{64,65} angewandt. Da es sich bei Kollagen um ein körpereigenes Biomolekül handelt, wird es enzymatisch degradiert und das eingearbeitete Gentamycin rasch freigesetzt.^{66,67}

Kalziumsulfat

Kalziumverbindungen sind als Grundstoff vieler Knochenersatzwerkstoffe seit Jahren in klinischer Anwendung, insbesondere Kalziumsulfat (CaSO_4). Im Falle der lokalen antibiotischen Therapie wird Kalziumsulfatpulver mit dem entsprechenden Antibiotikum nach Herstellerangaben versetzt und die Mischung wiederum nach Herstellerangaben in Pellets geformt, die entsprechend in den Operationssitus eingebracht werden können. In einer In-vitro-Studie von Wahl et al.⁶⁸ lagen die Gewebekonzentrationen von Vancomycin um den Faktor zehn höher, wenn das Vancomycin in Kalziumsulfat statt PMMA formuliert wurde. Auch weitere Arbeiten verglichen den Goldstandard PMMA-ALC mit der lokalen Applikation von antibiotikumhaltigem Kalziumsulfat im Kontext der Osteomyelitisbehandlung sowie der (begleitenden) Weichteilinfektion und zeigten eine Nicht-Unterlegenheit bzw. Überlegenheit von antibiotikumhaltigem Kalziumsulfat hinsichtlich lokaler Gewebekonzentration in-vitro und klinischem Outcome der Behandelten.⁶⁹⁻⁷²

Aufgrund der Hydrophilie des Kalziumsulfats wird das inkorporierte Antibiotikum jedoch rasch abgebaut.⁶² Bereits in den ersten Minuten nach Kontakt mit Blut oder Gewebsflüssigkeit werden 80–90 % des Wirkstoffs absorbiert.⁷³ Um einen besseren Retardeffekt zu erzielen, wird der Kalziumverbindung beispielsweise resorbierbare Polymere oder Kalziumkarbonat zugefügt oder der Wirkstoff in eine hydrophobe Verbindung formuliert, beispielsweise in Fettsäureverbindungen wie Gentamicinpalmitat.⁷⁴ Auf dem Markt sind synthetische, mit Gentamycin beladene

Knochenersatzwerkstoffe (KEW) aus Hydroxyapatit und Kalziumsulfat, die zur Infektsanierung und Knochenneubildung beitragen.

In Kombination mit autologem KEW oder trikortikalem Beckenkammspan wurden in einer klinischen Studie versorgten Rauschmann et al.⁷⁵ Operationswunden von zwölf Erkrankten mit Spondylodiszitis/Osteomyelitis nach dorsaler oder dorsoventraler Stabilisierungsoperation, radikalem Débridement und Wundspülung mit antibiotikabeschichteten Pellets aus nanokristallisiertem Hydroxyapatit und Kalziumsulfat. Padrão et al.⁷⁶ diente ein heparinisierendes Nanohydroxyapatit-Kollagen-Gemisch als lokaler Träger für Vancomycin. Wurde das Kalziumsulfatpulver-Antibiotikum-Gemisch als Knochenersatzwerkstoff eingesetzt, war der Abbau des Kalziumsulfats schneller als die Knochenwachstumsrate. Die bei dem Abbau freigesetzten Kalziumionen können des Weiteren Entzündungsprozesse unterhalten und so die Heilungstendenz negativ beeinflussen.⁵⁷

Implantate

Diverse Osteosynthesematerialien wie Marknägel können antimikrobiell wirksam sein, indem sie mit Antibiotika beschichtet werden.⁵⁷ Im Rahmen einer mehrzeitigen Revisionsoperation bei septischem Prothesenwechsel und Implantation von Interim-Spacern können sie ebenfalls mit antibiotisch wirksamen Substanzen beladen oder beschichtet sein.⁷⁷⁻⁷⁹

Gel

Die Gruppe um Penn-Barwell⁹ verglich PMMA-ALC und ein biologisch abbaubares Gel, denen jeweils entweder Vancomycin oder Gentamycin in klinisch relevanten Dosen beigemischt wurde, in Bezug auf die Fähigkeit, in einem segmentalen In-vivo-Wundmodell der Ratte *Staphylococcus aureus* zu eradizieren. Es konnte gezeigt werden, dass in der Gel-Gruppe eine signifikant niedrigere Infektionsrate als in der Kontrollgruppe (kein Antibiotikum) und der PMMA-ALC-Gruppe vorlag. Die Ergebnisse lassen die Schlussfolgerung zu, dass biologisch abbaubares Gel als Trägermaterial besser zur lokalen Antibiotikaapplikation geeignet ist als PMMA-ALC.

Pulver

Antibiotika können in Pulverform direkt in den Situs eingebracht werden. In der Literatur werden verschiedene chirurgische Eingriffe beschrieben, in denen mit dieser Methode das Risiko einer SSI reduziert werden soll.⁸⁰⁻⁸² Die Ergebnisse einer Metaanalyse von Khan et al. lassen beispielsweise die Schlussfolgerung zu, dass Vancomycinpulver bei offener Wirbelsäulenchirurgie eine SSI verhindern kann.⁸³

Weitere Trägersubstanzen

Es wurden Studien veröffentlicht, die weitere Trägersubstanzen und -materialien zur lokalen Antibiotikaapplikation vorschlagen, darunter bioaktives Glas⁸⁴ und Vitamin D₃⁸⁵.

1.2.3 Zusätzliche Therapie

Antisepsis

Die Irrigation der Wunde oder der Wundhöhle mit antiseptischen Flüssigkeiten ist ein weit verbreitetes Standardverfahren.^{86,87} Außerdem steht eine Vielzahl an Pflastern und Verbänden zur antiseptischen Wundabdeckung zur Verfügung, beispielsweise mit hydrophilem, biologisch abbaubarem Polyvinylalkohol oder Natriumalginat.⁸⁸

Hyperbarer Sauerstoff

Die hyperbare Sauerstofftherapie (*Hyperbaric Oxygen Treatment, HBOT*) wird seit Jahrzehnten bei verschiedenen Erkrankungen angewandt. Auch bei nSSTI wie beispielsweise der nekrotisierenden Fasziiitis, die zum Großteil durch eine Mischinfektion aus anaeroben und aeroben Erregern ausgelöst wird, findet die HBOT ihre Indikation. Die Studienlage ist jedoch uneins über deren Nutzen: Eine systematische Übersichtsarbeit und Metaanalyse aus dem Jahr 2021 beschreibt einen Benefit durch HBOT bei nSSTI (verringerte Letalität und verringerte Anzahl an Amputationen),⁸⁹ andere Metaanalysen sehen jedoch keinen signifikanten Nutzen dieser Therapie.^{90,91}

Reaktive Sauerstoffspezies

Reaktive Sauerstoffspezies (*Reactive Oxygen Species, ROS*) sind Sauerstoffradikale wie das Superoxid-Anion O_2^- , Peroxid O_2^{2-} , Hydroxylperoxid H_2O_2 sowie Hydroxyl-Ionen und Hydroxyl-Radikale. Sie wirken direkt antimikrobiell und sind natürlich vorkommende Metabolite immunkompetenter Zellen der unspezifischen Erregerabwehr.⁹² ROS sind beispielsweise in Gelen enthalten bzw. werden über längere Zeit aus diesen freigesetzt und sind lokal antimikrobiell einsetzbar.

Plättchenreiches Plasma

Plättchenreiches Plasma (*Platelet Rich Plasma, PRP*) ist ein autologes Biomaterial. Nach Plasmapherese und Zentrifugation weist das Plasma eine hohe Konzentration an Thrombozyten und Wachstumsfaktoren auf, die einen positiven Effekt auf die Wundheilung haben.^{93,94} PRP kann als ergänzende Therapie bei chronischer Osteomyelitis mit Weichteilinfektion dienen.⁹⁵

Weitere zusätzliche Therapien

Die Wundheilung ist einer der ältesten Zweige der Medizin. Es ist daher eine Vielzahl an Methoden und Materialien in Anwendung und Erforschung, die positive Effekte auf die Wundheilung propagieren. Darunter fallen knochenmorphogenetische Proteine, die gepulste elektromagnetische Feldtherapie und die Ultraschalltherapie.

1.2.4 Lokale Antibiotikafixierung durch Fibrinbesprühung

Eine weitere Möglichkeit der lokalen Antibiotikaapplikation ist die Besprühung der Wundfläche mit einem Gemisch aus Antibiotikum und Fibrinkleber. Das nach Resistenztestung ermittelte wirksame Antibiotikum wird dabei in Kombination mit dem Fibrinkleber durch ein Sprühgerät auf das Wundbett aufgetragen und dort fixiert. Fibrinkleber bestehen aus zwei Komponenten: einem Fibrinkleberprotein, das als Hauptbestandteil humanes Fibrinogen enthält, und humanem Thrombin. Kommen beide Bestandteile in Kontakt, entsteht Fibrin – das Endprodukt der plasmatischen Gerinnung.

In einer retrospektiven Studie von Janko et al.⁹⁶ wurden 21 an chronischer Infektion Leidende mit akuten oder chronischen Knocheninfektionen und begleitender Weichteilinfektion mittels einer Kombination aus Antibiotikum und Fibrinkleber behandelt. Trotz vorausgegangenem, mehrzeitigem chirurgischem radikalem Débridement und gezielter, zweiwöchiger systemischer Antibiotikatherapie war es zu keiner Infektberuhigung gekommen. Nach der Besprühung mit dem Gemisch aus Antibiotikum und Fibrinkleber konnten acht von neun behandelten Infektbereichen der Extremitäten zur Ausheilung gebracht werden.

Janko et al. stellten damit eine Art der lokalen Anwendung von Antibiotika bei knöchernen Infektionen vor, die den Aspekt der Weichteilbeteiligung stärker in den Vordergrund stellt.⁹⁶ Die aus dieser Studie abgeleiteten Fragen nach Gewebewirkung, Verweildauer, systemischer Resorption und bester Applikationsart der Antibiotika wurden weiter in einer tierexperimentellen Studie von Verboket et al.⁹⁷ untersucht. Dabei wurde die Konzentration des Glykopeptidantibiotikums Vancomycin in Gewebeproben nach einer, zwei und vier Stunden gemessen, das mit einem Sprühgerät auf Weichteilwunden am Rücken von 39 Sprague-Dawley-Ratten aufgetragen worden war. Die Ergebnisse lassen die Interpretation zu, dass die lokale Wirkstoffkonzentration von Vancomycin durch Fibrinfixierung über einen Zeitraum von vier Stunden höher war als ohne Fibrinfixierung. Die Fixierung von Vancomycin durch Fibrin wird als Benefit bewertet.

1.3 Fragestellung

In der vorliegenden Studie wird analog den Vorversuchen von Janko et al. und Verboket et al. die Konzentration von Colistin nach Besprühung mit Fibrinkleber im Wundmodell massenspektrometrisch ermittelt. Die daraus abgeleiteten Fragen lauten:

1. Wie unterscheiden sich die Gewebekonzentrationen von Colistin mit Fixierung durch Fibrinkleber und ohne derartige Fixierung eine, zwei und vier Stunden nach Besprühung einer Weichteilwunde?
2. Mit welcher Applikationsmethode von Colistin und Fibrinkleber sind die höchsten lokalen Wirkspiegel von Colistin in den Gewebeproben nachweisbar?

2 Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Versuchstiere

Alle Tierversuche fanden gemäß geltenden Normen sowie nach behördlicher Genehmigung durch das Regierungspräsidium Darmstadt statt (Projektnummer Gen. Nr. FK/1133). Insgesamt 29 männliche Ratten aus dem Stamm *Wistar* (Envigo RMS GmbH, Roßdorf, Deutschland) mit einem Gewicht von 330–365 g wurden in Käfigen mit je drei bis fünf Tieren gehalten und erhielten Futter und Wasser *ad libitum*. Zum Zeitpunkt des Experiments waren die Tiere 8 Wochen alt. Die Käfige befanden sich in konstant belüfteten, temperatur- (15-21 °C) und lichtkontrollierten (14 Stunden Tag, 10 Stunden Nacht) Räumen der Zentralen Forschungseinrichtung (ZFE) der Goethe-Universität-Frankfurt am Main (Sandhofer Allee, Frankfurt am Main, Deutschland).



Abbildung 1: Verwendetes Pulver für die Colistimethat-Natrium-Lösung

2.1.2 Colistin

Im Experiment wurden 1 Million IE Colistimethat-Natrium (CMS) in Pulverform (*Pro-mixin*[®], Zambon, Berlin, Deutschland, vgl. Abbildung 1) in 20 ml einer 0,9%-isotonen Kochsalzlösung (Braun, Melsungen, Deutschland) rekonstituiert und in eine 10ml-Spritze aufgezogen. 1 Million IE Colistimethat-Natrium entsprechen ca. 80 mg Colistimethat-Natrium bzw. ca. 33,3 mg Colistin. Somit enthält 1 ml des CMS-NaCl-Gemischs 50.000 IE Colistimethat-Natrium (ca. 4 mg).

2.1.3 Fibrinkleber

Der Fibrinkleber (*TISSUCOL Duo S Immuno*[®], Baxter, Unterschleißheim, Deutschland) wurde nach Herstellerangaben aufgetaut (> 110 Minuten bei Raumtemperatur). Er besteht aus zwei Komponenten, nämlich zwei 2ml-Fertigspritzen: Die eine enthält eine Kleberproteinlösung mit 160–240 mg Humanplasmaproteinfraktion (davon 140–220 mg Fibrinogen), 20–100 IE Blutgerinnungsfaktor XIII, 4–18 mg Plasmafibrinogen und 6.000 KIE bovines Aprotinin, die zweite wiederum 1.000 IE humanes Thrombin und 11,76 mg Kalziumchlorid.

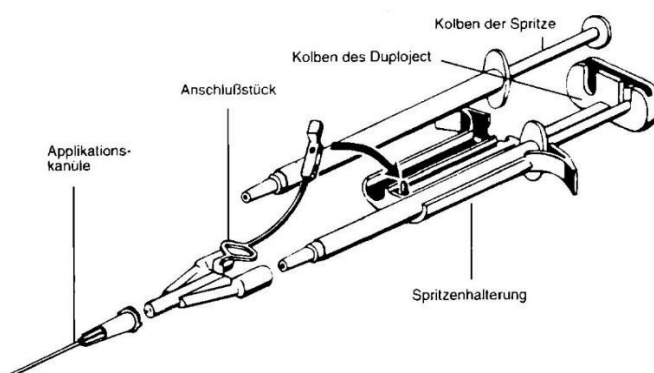


Abbildung 2: Aufbau der Spritzenhalterung DUPLOJECT[®]

2.1.4 Sprühvorrichtung

Die beiden 2ml-Fertigspritzen des Fibrinklebers *TISSUCOL DUO S Immuno*[®] wurden sachgemäß in die in der Kombinationspackung enthaltene Spritzenhalterung *DUPLOJECT*[®] (siehe Abbildung 2) eingelegt. Mit einem Dreiweghahn wurde eine 10ml-Spritze mit dem aufbereiteten Antibiotikum an das Anschlussstück gesteckt und die Applikationskanüle durch den mitgelieferten, konisch zulaufenden Sprühkopf ersetzt. Die Sprühvorrichtung wurde anschließend mit dem *EASYSpray*[®]-Druckregler (Baxter, Unterschleißheim, Deutschland) verbunden, siehe Abbildung 3.



Abbildung 3: Sprühvorrichtung für das Antibiotikum-Fibrinkleber-Gemisch

2.2 Methoden

2.2.1 Versuchsgruppen

Tabelle 1: Anzahl der Versuchstiere pro Untersuchungsvariablen

Applikationsart von CMS	simultan			konsekutiv			ohne Fibrinfixierung		
	CF+			CF-			C		
Kürzel	1h	2h	4h	1h	2h	4h	1h	2h	4h
Zeitpunkte	1h	2h	4h	1h	2h	4h	1h	2h	4h
Gruppengröße (Tiere)	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Probenanzahl pro Tier	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Probenanzahl generiert	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Probenanzahl gemessen*	7	7	7	7	7	7	7	7	7
Reservetiere	2								
Insges. Anzahl der Tiere	29								

CF+ = simultane Besprühung, CF- = konsekutive Besprühung, C = ohne Fibrinfixierung

*Aufgrund mangelnder Laborkapazität konnten von den jeweils 12 generierten Proben nur 7 ausgewertet werden (n = 7).

Die Gruppengröße sowie die Anzahl der labortechnisch generierten und gemessenen Proben (Probenanzahl) sind in Tabelle 1 aufgelistet. Pro Gruppe und Zeitpunkt wurden an 3 Tieren 12 Proben generiert. Aufgrund mangelnder Laborkapazität konnten von den jeweils 12 generierten Proben jedoch nur 7 ausgewertet (n = 7) werden.

2.2.2 Operation und Probengewinnung

Die Ratten wurden durch intraperitoneale Applikation von *Ketaset 100 mg/ml* (Zoetis, New Jersey, USA) und *Xylavet 20 mg/ml* (CP-Pharma, Burgdorf, Deutschland) in gewichtsadaptierten Dosen narkotisiert. Das Injektionsvolumen betrug 1–2,5 ml. Die Rücken der Ratten wurden rasiert, gesäubert und mit *Octeniderm* (Schülke, Nordstedt, Deutschland) desinfiziert (s. Abbildung 4). Nach steriler Abdeckung der rasierten und desinfizierten Fläche mit einem sterilen Lochtuch wurden unter aseptischen Bedingungen mittels Skalpell und Schere je vier 100 mm² große Wunden

gesetzt, die das Muskel-/Faszien-Niveau erreichten (s. Abbildung 5). Die Faszie wurde mit dem Skalpell angeraut. Es folgte die Besprühung der Wunden entsprechend der Gruppe (s. Abbildung 6). Pro Wunde wurde eine Probe entnommen. Nach der Operation wurden die Tiere einzeln gesetzt und nach einer, zwei oder vier Stunden durch eine Überdosis Pentobarbital 500 mg/kg i. p. und dem Zufügen von beidseitigen Pneumothoraces getötet. Es wurden Gewebeproben aus dem subkutanen Muskelgewebe entnommen, in 1ml-Eppendorfgefäße überführt und auf Trockeneis bei minus 80 °C bis zur Probenaufbereitung und -messung im Labor gelagert.



Abbildung 4: Zur Operation vorbereitete Ratte

2.2.3 Besprühung der Wundflächen

Die beiden Fertigspritzen des Fibrinklebers *TISSUCOL DUO S Immuno*[®] wurden wie beschrieben vorschriftsgemäß in den Spritzenaufsatz *DUPLOJECT*[®] eingesetzt und

dieser mit dem *EASYS*PRAY®-Druckregler verbunden. Es sind drei Applikationsarten zu unterscheiden:

Alleinige Besprühung mit CMS (C)

Bei der alleinigen Besprühung mit CMS (C) wurde nur die mit dem Antibiotikum gefüllte 10ml-Spritze betätigt und 1 ml des CMS-NaCl-Gemischs pro Wunde abgegeben. Das entspricht 50.000 IE Colistimethat-Natrium pro Wunde (ca. 100 mm²).

Konsequente Besprühung mit CMS und Fibrinkleber (CF-)

Bei der konsekutiven Besprühung mit CMS und Fibrinkleber (CF-) wurde zuerst die mit dem Antibiotikum gefüllte 10ml-Spritze betätigt und 1 ml auf die Wundfläche gesprüht. Das entspricht 50.000 IE Colistimethat-Natrium pro Wunde. Direkt im Anschluss wurde der Spritzenaufsatz mit dem Fibrinkleber betätigt und die Wunde von ca. 100 mm² mit 0,5 ml Fibrinkleber besprüht.

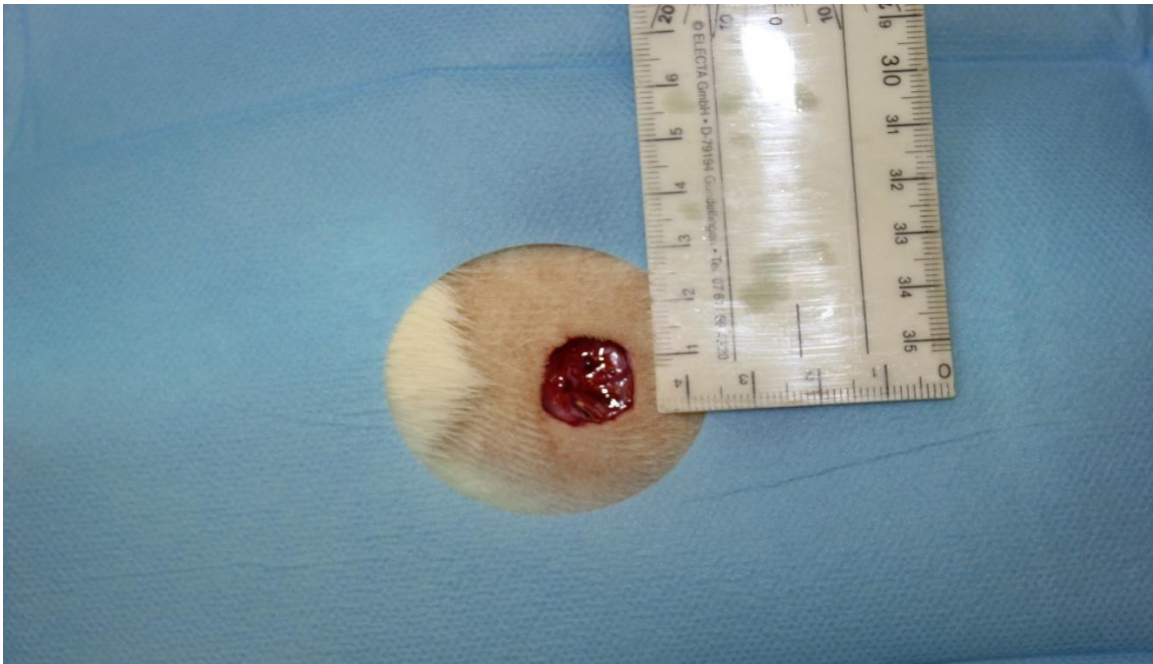


Abbildung 5: Operationssitus, Weichteilwunde (ca. 100 mm², Faszieniveau)

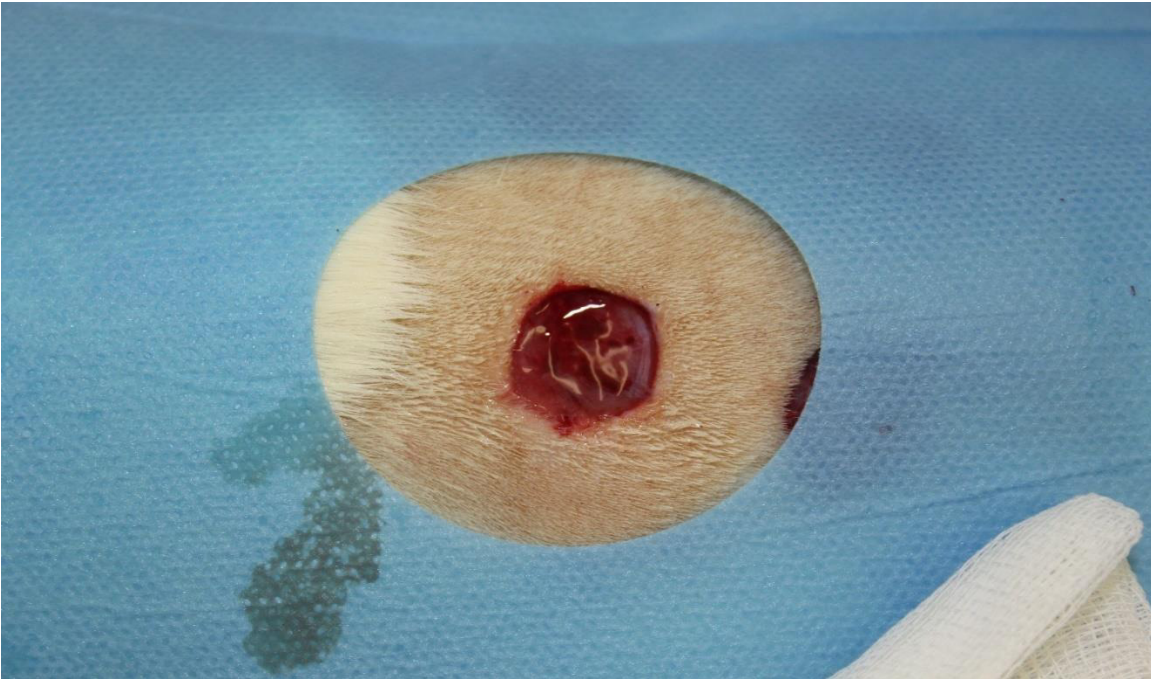


Abbildung 6: Besprühte Weichteilwunde: Fibrin glasig schimmernd

Simultane Besprühung mit CMS und Fibrinkleber (CF+):

Bei der simultanen Besprühung mit CMS und Fibrinkleber (CF+) wurde 1 ml des CMS-NaCl-Gemischs in die Thrombin-Fertigspritze des Fibrinklebers *TISSUCOL Duo S Immuno*[®] gegeben und der Spritzenkolben betätigt. Pro Wunde wurden 0,5 ml des Gemischs appliziert. Das entspricht 25.000 IE Colistimethat-Natrium pro Wunde von ca. 100 mm².

Der Abstand der Wunde zum Sprühkopf betrug 10–15 cm und der *EASYSpray*[®]-Druckregler wurde auf den empfohlenen Sprühdruck von 1,5–2,0 bar (21,5–28,5 psi) eingestellt. Um Kreuzkontaminationen zu verhindern, wurden die Rückenwunden eines einzelnen Tieres ausschließlich mittels einer der drei möglichen Applikationsarten behandelt. So wurde eine eventuelle systemische Aufnahme des Antibiotikums bzw. dessen Anreicherung in den verbleibenden Rückenwunden verhindert. Um Kontamination der benachbarten Wunden zu vermeiden, wurde eine saubere Abdeckung als Vorlage genutzt (s. Abbildung 7).

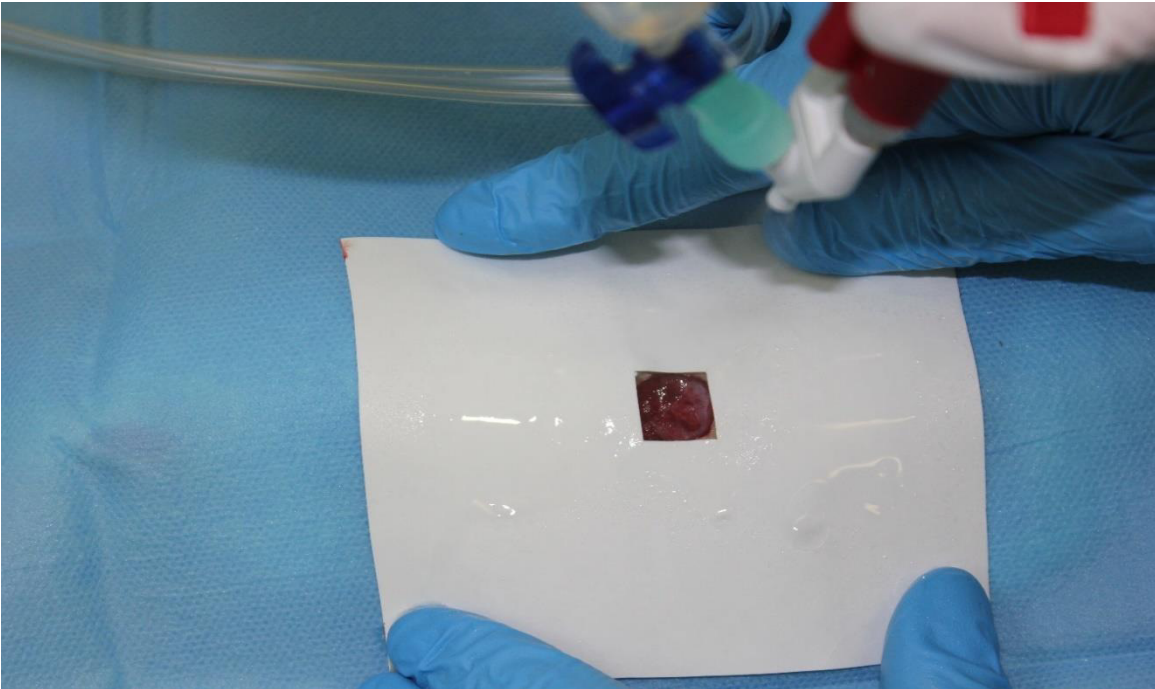


Abbildung 7: Besprühung der Wundfläche

2.2.4 Probenaufbereitung und -messung

Als Standard wurden Colistinsulfat (Polymyxin E; Colistin A 31,1 %; Colistin B 53,6 %; Sigma Adrich, Steinheim, Deutschland) sowie Polymyxin B (Merck, Darmstadt, Deutschland) als interner Standard eingesetzt. Folgende Lösungsmittel wurden von Fa. Carl Roth (Karlsruhe, Deutschland) zur Verfügung gestellt: Wasser (LC-MS Grade), Isopropylalkohol (Reinheit $\geq 99,95$ %), Methanol (Reinheit $\geq 99,95$ %) Acetonitril (Reinheit $\geq 99,95$ %). Ameisensäure (Reinheit 99–100 %) wurde von VWR Prolabo chemicals (Darmstadt, Deutschland) und Ethanol (Reinheit $\geq 99,8$ %) von Sigma Aldrich (Steinheim, Deutschland) bezogen.

Die Muskelproben wurden eingewogen und ein gewichtsabhängiges Wasservolumen zugegeben. Anschließend wurden die Proben unter Kühlung (*Precellys 24*[®], VWR, Darmstadt, Deutschland) auf eine finale Gewebekonzentration von 0,075 mg/l homogenisiert. 20 μ l internem Standard (Polymyxin B, 63 g/ml in Wasser) und 300 μ l Methanol wurden 125 μ l Homogenat zugesetzt. Nach Wirbeln und

Zentrifugieren (5 min, 20.000 g) wurde der Überstand unter einem sanften Stickstoffstrom bei 45 °C verdampft und mit 100 µl 0,1%-Ameisensäure resuspendiert. Normen und Qualitätskontrollproben wurden entsprechend mit homogenisierter Rohmatrix (Mäusemuskelgewebe ohne injizierte Antibiotika) und dem entsprechenden Standard (Colistin A 3.11-3110 ng; Colistin B 5.36-5360 ng in Wasser) erstellt. Die LC-MS-/MS-Analyse wurde mit einem *Agilent-1290-Infinity*-LC-System mit binärer HPLC-Pumpe, Säulenofen und Autosampler (Agilent, Waldbronn, Deutschland) in Verbindung mit einem dreifachen Quadrupol-Massenspektrometer QTRAP 5500 (AB Sciex, Darmstadt, Deutschland) durchgeführt. Eine *Luna® Omega Polar C18*-Säule (100 x 2,1 mm, 1,6 µm, Phenomenex, Aschaffenburg, Deutschland) wurde mit einem Durchfluss von 0,3 ml/min und einer Säulentemperatur von 40 °C eingesetzt. Als Lösungsmittel wurden 0,5%-Ameisensäure (Lösungsmittel A) und Acetonitril/Isopropylalkohol/Aceton (v : v : v 5 : 3 : 2) mit 1%-Ameisensäure (Lösungsmittel B) mit folgenden Gradienten (Zeit, Prozentsatz B): 0,0 min, 2 %; 1,0 min, 2 %, 6,0 min, 100 %; 7,0 min, 100 %; 7,5 min, 2 %; 10,0 min, 2 %. 10 µl jeder Probe injiziert. Die Datenerfassung erfolgte mit *Analyst Software 1.7.1* und die Quantifizierung mittels *MultiQuant Software 3.0.3* (beide Sciex, Darmstadt, Deutschland) unter Verwendung der internen Standardmethode. Kalibrierkurven wurden durch lineare Regression mit 1/x-Gewichtung berechnet.

Die beschriebene labortechnische Nachweismethode von Colistin konnte jenseits der oberen und unteren Nachweisgrenze Messwerte nur semiquantitativ angeben. Die untere Nachweisgrenze (*Lower Limit of Quantification, LLOQ*) für Colistin A lag bei 93,3 ng, die obere (*Upper Limit of Quantification, ULOQ*) bei 1741,6 ng. Auf ein Milligramm Gewebeprobe errechnen sich LLOQ = 9,95 ng/mg und ULOQ = 185,67 ng/mg. Für Colistin B lagen der LLOQ bei 17,05 ng/mg und der ULOQ bei 320 ng/mg. Da alle Messergebnisse für Colistin B (Ausnahme: simultane Besprühung nach einer Stunde, CF+1h) unterhalb des LLOQ lagen und somit nur semiquantitativ angegeben wurden, lässt sich im Folgenden ausschließlich Colistin A auswerten.

2.2.5 Statistische Auswertung

Die Untersuchungsvariable ist die Konzentration von Colistin A eine, zwei und vier Stunden nach Besprühung. Die Anzahl der Proben pro Gruppe betrug $n = 7$. Die Ergebnisse werden in einem Box-Plot dargestellt (s. Abbildungen 8–11). Um die Signifikanz der Unterschiede zwischen den Ergebnissen der einzelnen Gruppen bestimmen zu können, wurde ein Kruskal-Wallis-Test mit multiplem Conover-Iman-Vergleich zur Post-hoc-Analyse durchgeführt. Ein p -Wert $< 0,05$ (Bonferroni-Holm-korrigiert) wird dabei als signifikant angesehen. Verwendet wurde die Software *BiAS* für Windows Version 11.12 – 01/2021.

3 Ergebnisse

3.1 Basisdaten der Versuchstiere

Die Ergebnisse wurden aus Gewebeproben von insgesamt 27 männlichen Ratten aus dem Stamm *Wistar* (Envigo RMS GmbH, Roßdorf, Deutschland) mit einem Körpergewicht von 330-365 g generiert. Zwei Tiere starben an Anästhesieunverträglichkeit. Zum Zeitpunkt des Experiments waren die Tiere 8 Wochen alt. Pro Untersuchungsvariablen wurden sieben Proben ausgewertet (n = 7).

3.2 Messwerte

Tabelle 2 listet die erhobenen Messwerte aus den Gewebeproben für Colistin A; die zugehörigen Standards und Qualitätskontrollen führt Tabelle 3 auf.

Tabelle 2: Messwerte für Colistin A

Probennummer	Applikationsmethode	Einwirkdauer [h]	Probengewicht [mg]	Analytmenge absolut [ng]	Analytmenge pro mg Gewebeprobe [ng/mg]
96-36_01	C	4	9,38	< LLOQ	< LLOQ
96-36_02	C	4	9,38	280,7	29,93
96-36_03	C	4	9,38	< LLOQ	< LLOQ
96-36_04	C	4	9,38	363,8	38,78
96-36_05	C	4	9,38	< LLOQ	< LLOQ
96-36_06	C	4	9,38	< LLOQ	< LLOQ
96-36_07	C	4	9,38	< LLOQ	< LLOQ
96-36_08	CF-	4	9,38	111,1	11,84
96-36_09	CF-	4	9,38	178,5	19,03
96-36_10	CF-	4	9,38	360,2	38,40
96-36_11	CF-	4	9,38	248,8	26,52
96-36_12	CF-	4	9,38	332,8	35,48
96-36_13	CF-	4	9,38	130,9	13,96
96-36_14	CF-	4	9,38	139,4	14,86
96-36_15	CF+	4	9,38	140,3	14,96
96-36_16	CF+	4	9,38	491,9	52,44
96-36_17	CF+	4	9,38	424,5	45,26
96-36_18	CF+	4	9,38	213,7	22,78

Probennummer	Applikationsmethode	Einwirkdauer [h]	Probengewicht [mg]	Analytmenge absolut [ng]	Analytmenge pro mg Gewebeprobe [ng/mg]
96-36_19	CF+	4	9,38	304,2	32,43
96-36_20	CF+	4	9,38	347,1	37,00
96-36_21	CF+	4	9,38	462,8	49,34
96-36_22	C	2	9,38	392,5	41,84
96-36_23	C	2	9,38	670,4	71,47
96-36_24	C	2	9,38	524,3	55,90
96-36_25	C	2	9,38	265,4	28,29
96-36_26	C	2	9,38	205,7	21,93
96-36_27	C	2	9,38	243,5	25,96
96-36_28	C	2	9,38	433,9	46,26
96-36_29	CF-	2	9,38	600,6	64,03
96-36_30	CF-	2	9,38	453,6	48,36
96-36_31	CF-	2	9,38	342,6	36,52
96-36_32	CF-	2	9,38	568,8	60,64
96-36_33	CF-	2	9,38	445,3	47,47
96-36_34	CF-	2	9,38	346,1	36,90
96-36_35	CF-	2	9,38	426,1	45,43
96-36_36	CF+	2	9,38	574,0	61,19
96-36_37	CF+	2	9,38	677,7	72,25
96-36_38	CF+	2	9,38	1.110,2	118,36
96-36_39	CF+	2	9,38	682,8	72,79
96-36_40	CF+	2	9,38	466,9	49,78
96-36_41	CF+	2	9,38	433,2	46,18
96-36_42	CF+	2	9,38	369,6	39,40
96-36_43	C	1	9,38	624,8	66,61
96-36_44	C	1	9,38	571,7	60,95
96-36_45	C	1	9,38	337,8	36,01
96-36_46	C	1	9,38	521,0	55,54
96-36_47	C	1	9,38	713,2	76,03
96-36_48	C	1	9,38	718,3	76,58
96-36_49	C	1	9,38	349,3	37,24
96-36_50	CF-	1	9,38	519,3	55,36
96-36_51	CF-	1	9,38	788,1	84,02
96-36_52	CF-	1	9,38	839,0	89,45
96-36_53	CF-	1	9,38	845,2	90,11
96-36_54	CF-	1	9,38	1.064,2	113,45
96-36_55	CF-	1	9,38	1.320,6	140,79
96-36_56	CF-	1	9,38	582,6	62,11
96-36_57	CF+	1	9,38	> ULOQ	> ULOQ

Probennummer	Applikationsmethode	Einwirkdauer [h]	Probengewicht [mg]	Analytmenge absolut [ng]	Analytmenge pro mg Gewebeprobe [ng/mg]
96-36_58	CF+	1	9,38	> ULOQ	> ULOQ
96-36_59	CF+	1	9,38	> ULOQ	> ULOQ
96-36_60	CF+	1	9,38	> ULOQ	> ULOQ
96-36_61	CF+	1	9,38	> ULOQ	> ULOQ
96-36_62	CF+	1	9,38	> ULOQ	> ULOQ
96-36_63	CF+	1	9,38	> ULOQ	> ULOQ

CF+ = simultane Besprühung, CF- = konsekutive Besprühung, C = ohne Fibrinfixierung, LLOQ = Lower Limit of Quantification (9,95 ng/mg), ULOQ = Upper Limit of Quantification (185,67 ng/mg)

Tabelle 3: Standards und Qualitätskontrollen für die Messung von Colistin A

Probennummer	Probentyp	Standardkonzentration [ng]	Berechnete Konzentration [ng]	Genauigkeit [%]
STD 1	Standard	n/a	n/a	n/a
STD 2	Standard	93,3	100,9	108,17
STD 3	Standard	124,4	106,0	85,23
STD 4	Standard	248,8	240,7	96,75
STD 5	Standard	373,2	412,8	110,62
STD 6	Standard	746,4	732,8	98,18
STD 7	Standard	1.492,8	1.645,7	110,24
STD 8	Standard	1.741,6	1.581,5	90,81
LQC 1	Qualitätskontrolle	186,6	170,3	91,24
MQC 1	Qualitätskontrolle	622,0	613,5	98,63
HQC 1	Qualitätskontrolle	1.368,4	1.330,3	97,22
LQC 2	Qualitätskontrolle	186,6	204,3	109,5
MQC 2	Qualitätskontrolle	622,0	558,1	89,72
HQC 2	Qualitätskontrolle	1.368,4	1.363,4	99,63

STD1-6 = Standard 1-6, LQC = Lower Quality Control, MQC = Medium Quality Control, HQC = High Quality Control

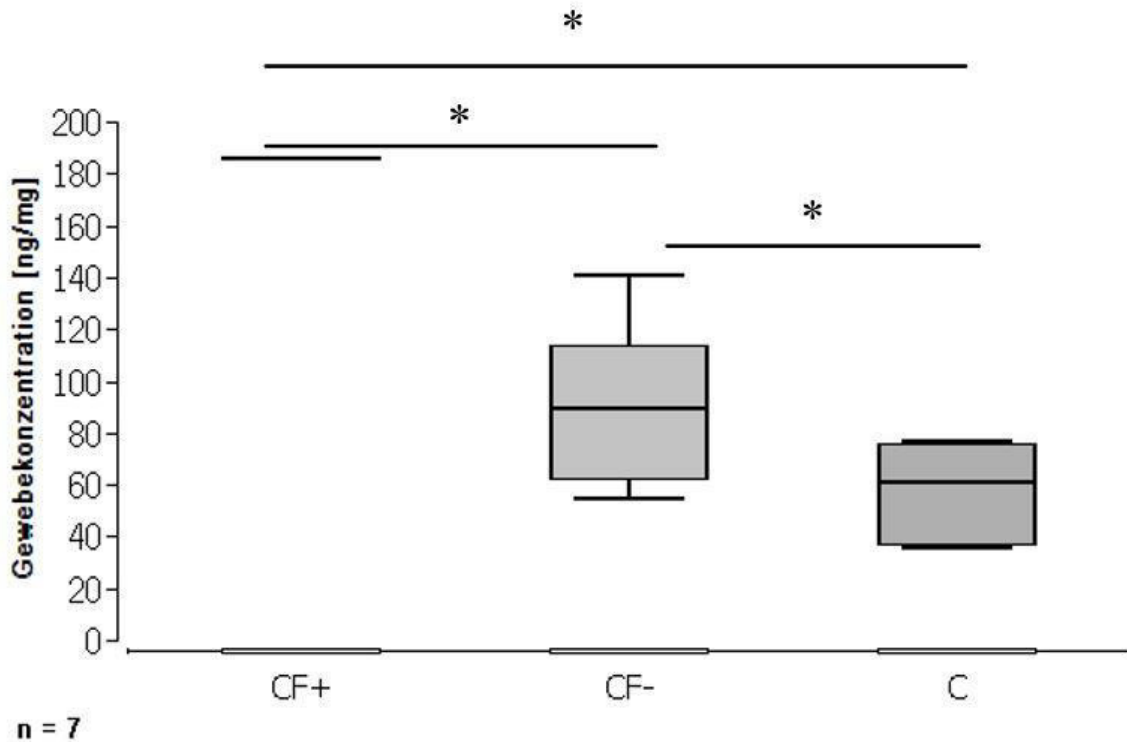
3.3 Gewebekonzentration von Colistin A nach einer Stunde

In der Gruppe der Versuchstiere mit simultaner Besprühung von CMS und Fibrinleber (CF+) lag die Konzentration von Colistin A in der Gewebeprobe nach einer Stunde im Median bei 185,67 ng/mg (Standardabweichung 0 ng/mg, Minimum

185,67 g/mg, Maximum 185,67 ng/mg, Range 0 ng/mg, 1. Quartil 185,67 ng/mg, 3. Quartil 185,67 ng/mg, Interquartilsabstand 0 ng/mg).

In der Gruppe mit konsekutiver Besprühung von CMS und Fibrinkleber (CF-) lag die Konzentration von Colistin A in der Gewebeprobe nach einer Stunde im Median bei 89,45 ng/mg (Standardabweichung 29,2671 ng/mg, Minimum 55,36 ng/mg, Maximum 140,79 ng/mg, Range 85,43 ng/mg, 1. Quartil 62,11 ng/mg, 3. Quartil 113,45 ng/mg, Interquartilsabstand 51,34 ng/mg).

In der Gruppe ohne Fixierung von CMS durch Fibrinkleber (C) lag die Konzentration von Colistin A in der Gewebeprobe nach einer Stunde im Median bei 60,95 ng/mg (Standardabweichung 16,6957 ng/mg, Minimum 36,01 ng/mg, Maximum 67,58 ng/mg, Range 40,57 ng/mg, 1. Quartil 37,24 ng/mg, 3. Quartil 76,03 ng/mg, Interquartilsabstand 40,57 ng/mg).



Konzentrationen in Nanogramm pro Milligramm [ng/mg]; CF+ = simultane Besprühung, CF- = konsekutive Besprühung, C = ohne Fibrinfixierung. Jede Gruppe enthält sieben Proben (n = 7).

* = $p < 0,05$

Abbildung 8: Gewebekonzentrationen von Colistin A nach einer Stunde

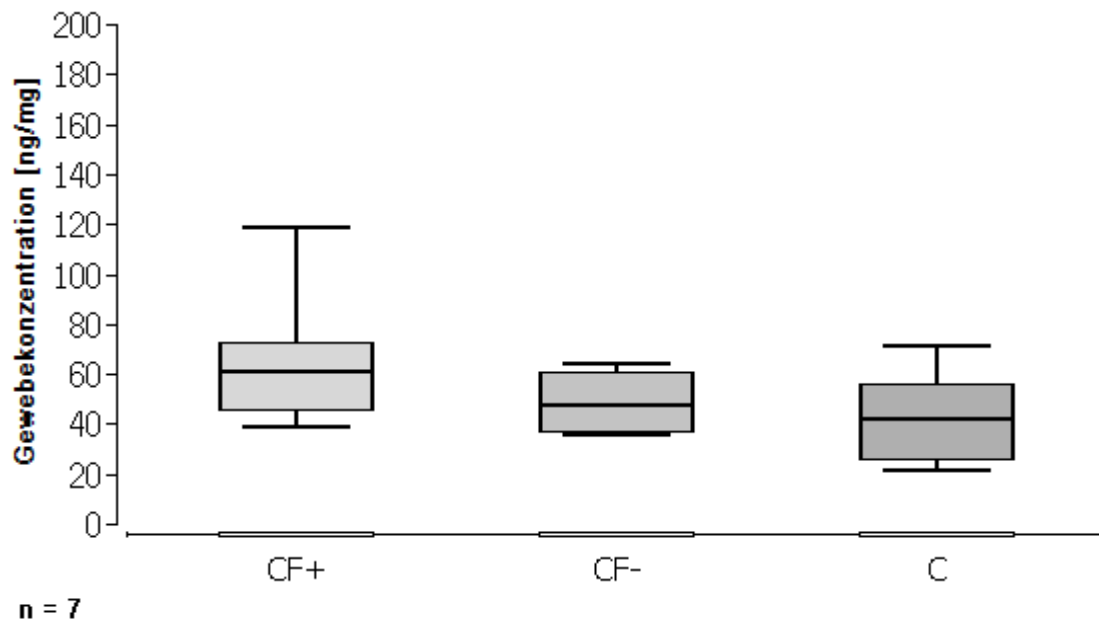
Bei simultaner Besprühung mit Fibrinkleber lag die Konzentration von Colistin A nach einer Stunde im Median über der labortechnischen oberen Nachweisgrenze von 185,67 ng/mg Gewebeprobe. In den Vergleichsgruppen lag die Konzentration im Median bei 89,45 ng/mg (konsekutive Besprühung) bzw. bei 60,95 ng/mg Gewebeprobe (keine Fibrinfixierung) und damit signifikant niedriger ($p = 0,00$ und $p = 0,00$). Im Vergleich simultaner Besprühung gegenüber konsekutiver Besprühung lag ebenso ein signifikant höherer Messwert vor ($p = 0,02$) (s. Abbildung 8). Somit zeigt sich, dass nach einer Stunde die höchste Konzentration von Colistin A auf den Wunden bei CF+ zu finden ist.

3.4 Gewebekonzentration von Colistin A nach zwei Stunden

In der Gruppe der Versuchstiere mit simultaner Besprühung von CMS und Fibrinkleber (CF+) lag die Konzentration von Colistin A in der Gewebeprobe nach zwei Stunden im Median bei 61,19 ng/mg (Standardabweichung 26,4977 ng/mg, Minimum 39,4 ng/mg, Maximum 118,36 ng/mg, Range 78,96 ng/mg, 1. Quartil 46,18 ng/mg, 3. Quartil 72,61 ng/mg, Interquartilsabstand 87,96 ng/mg).

In der Gruppe mit konsekutiver Besprühung von CMS und Fibrinkleber (CF-) lag die Konzentration von Colistin A in der Gewebeprobe nach zwei Stunden im Median bei 47,47 ng/mg (Standardabweichung 10,6234 ng/mg, Minimum 36,52 ng/mg, Maximum 64,03 ng/mg, Range 27,51 ng/mg, 1. Quartil 36,9 ng/mg, 3. Quartil 60,64 ng/mg, Interquartilsabstand 23,74 ng/mg).

In der Gruppe ohne Fixierung von CMS durch Fibrinkleber (C) lag die Konzentration von Colistin A in der Gewebeprobe nach zwei Stunden im Median bei 17,9217 ng/mg (Standardabweichung 17,663 ng/mg, Minimum 21,93 ng/mg, Maximum 71,47 ng/mg, Range 49,54 ng/mg, 1. Quartil 25,96 ng/mg, 3. Quartil 55,90 ng/mg, Interquartilsabstand 29,94 ng/mg).



Konzentrationen in Nanogramm pro Milligramm [ng/mg]; CF+ = simultane Besprühung, CF- = konsekutive Besprühung, C = ohne Fibrinfixierung. Jede Gruppe enthält sieben Proben (n = 7).

Abbildung 9: Gewebekonzentrationen von Colistin A nach zwei Stunden

Bei simultaner Besprühung und zwei Stunden Wirkdauer wurden im Median nur noch 61,19 ng Colistin A pro mg Gewebeprobe gemessen, hingegen sank die Konzentration bei konsekutiver Besprühung in geringerem Maße auf 47,47 ng/mg und ähnlich ohne Fibrinfixierung auf 41,84 ng/mg ($p = 0,46$ und $p = 0,10$). Auch im Vergleich der Gruppen mit konsekutiver Besprühung und ohne Fibrinfixierung konnte nach zwei Stunden Wirkdauer kein signifikanter Unterschied der medianen Konzentrationen von Colistin A festgestellt werden ($p = 1,00$) (s. Abbildung 9).

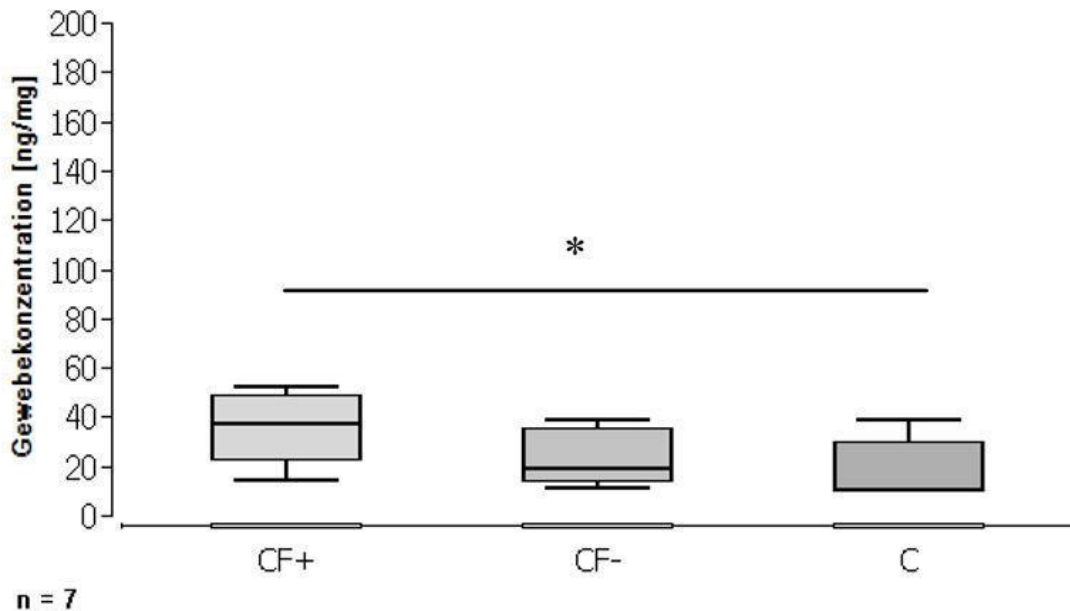
3.5 Gewebekonzentration von Colistin A nach vier Stunden

In der Gruppe der Versuchstiere mit simultaner Besprühung von CMS und Fibrinkleber (CF+) lag die Konzentration von Colistin A in der Gewebeprobe nach vier Stunden im Median bei 37,00 ng/mg (Standardabweichung 13,9312 ng/mg, Minimum

14,96 ng/mg, Maximum 52,44 ng/mg, Range 37,48 ng/mg, 1. Quartil 22,78 ng/mg, 3. Quartil 49,34 ng/mg, Interquartilsabstand 26,56 ng/mg).

In der Gruppe mit konsekutiver Besprühung von CMS und Fibrinkleber (CF-) lag die Konzentration von Colistin A in der Gewebeprobe nach vier Stunden im Median bei 19,03 ng/mg (Standardabweichung 10,7507 ng/mg, Minimum 11,84 ng/mg, Maximum 38,40 ng/mg, Range 26,84 ng/mg, 1. Quartil 13,96 ng/mg, 3. Quartil 35,48 ng/mg, Interquartilsabstand 35,48 ng/mg).

In der Gruppe ohne Fixierung von CMS durch Fibrinkleber (C) lag die Konzentration von Colistin A in der Gewebeprobe nach vier Stunden im Median bei 9,95 ng/mg (Standardabweichung 12,1794 ng/mg, Minimum 9,95 ng/mg, Maximum 38,78 ng/mg, Range 28,83 ng/mg, 1. Quartil 9,95 ng/mg, 3. Quartil 29,93 ng/mg, Interquartilsabstand 19,98 ng/mg).



Konzentrationen in Nanogramm pro Milligramm [ng/mg]; CF+ = simultane Besprühung, CF- = konsekutive Besprühung, C = ohne Fibrinfixierung. Jede Gruppe enthält sieben Proben (n = 7).

* = $p < 0,05$

Abbildung 10: Gewebekonzentrationen von Colistin A nach vier Stunden

Nach vier Stunden waren bei simultaner Besprühung im Median noch 37,00 ng/mg Colistin A im Gewebe nachweisbar, wohingegen die Konzentration von Colistin A

bei konsekutiver Besprühung auf 19,03 ng/mg und ohne Fibrinfixierung auf 9,95 ng/mg abfiel. In der letztgenannten Gruppe lagen fünf der sieben Messwerte unterhalb der labortechnischen Nachweisgrenze von 9,95 ng/mg Gewebeprobe. Während die mediane Gewebekonzentration von Colistin A bei simultaner Besprühung gegenüber der Besprühung ohne Fibrinfixierung ($p = 0,01$) signifikant höher bleibt, unterscheidet sich die mediane Gewebekonzentration von Colistin A bei konsekutiver Besprühung nicht signifikant von derjenigen bei Besprühung ohne Fibrinfixierung ($p = 0,44$). Ebenso unterschieden sich die medianen Gewebekonzentrationen der simultanen Besprühung und die der konsekutiven Besprühung nicht signifikant voneinander ($p = 0,25$) (s. Abbildung 10).

4 Diskussion

In einem In-vivo-Wundmodell wurde die Gewebekonzentration von Colistin A nach Besprühung der Wunde mit Colistin und Fibrinkleber untersucht. Die Fixierung eines Antibiotikums durch Fibrinkleber im Wundbett stellt eine Möglichkeit der lokalen Antibiotikatherapie bei Knochen-, Haut- und Weichteilinfektionen dar, denn die einfache Applikation von wasserlöslichen antibiotischen Substanzen auf das Wundbett ohne Fixierung erzielt lediglich kurzzeitig ausreichende Wirkspiegel^{96,97} und birgt die Gefahr lokaler Resistenzbildung.³⁹

Mit der hier vorgestellten Studie wurde ein neues Konzept zur flächigen, lokalen Anwendung von Antibiotika erprobt. Die Fixierung von Antibiotika im Wundbereich mittels Fibrinkleber ist ein innovativer und noch wenig untersuchter Ansatz. Die hier versuchte Bestimmung der Verweilzeit und Konzentration der Antibiotika im Wundbereich ermöglicht die Abschätzung, ob durch die Kombination mit einem Fibrinkleber die lokale Bioverfügbarkeit der Antibiotika verbessert werden kann. Eine größere Bioverfügbarkeit sollte eine effizientere antibiotische Wirksamkeit zeitigen. Dafür spricht die empfohlene Dosierungsempfehlung der EMA, wonach eine dreimalige Gabe über 24 Stunden einen effizienten Wirkspiegel von Colistin im Gewebe sicherstellen soll. Daher wird in der vorliegenden Arbeit untersucht, ob die Kombination mit einem Fibrinkleber die Resorption des Antibiotikums verlangsamt, um lokal effektivere Wirkspiegel zu erzielen. Langfristig ist es wünschenswert, dass sich aus diesem Ansatz eine verbesserte Methode zur lokalen Applikation von Antibiotika herauskristallisiert. Da die Einzelkomponenten (Fibrinkleber und Colistin) klinisch zugelassen und etabliert sind, kann die Auffassung vertreten werden, dass eine Therapie, die beide Komponenten integriert, gute Realisierungschancen hat.

Posttraumatische oder postoperative Knocheninfekte mit Weichteilbeteiligung sind eine schwerwiegende Komplikation, die mittels operativer Therapie und adjuvanter intravenöser Antibiotikatherapie oder mittels alleiniger intravenöser Antibiotikatherapie behandelt werden. Ein weiterer Ansatz ist die zusätzliche lokale Antibiotikabehandlung, wobei der Wirkstoff auf Trägermaterialien oder flüssig aufgetragen wird.

In der vorliegenden Arbeit wird der Fibrinkleber, der zur Blutstillung schon etabliert ist, auf den Wundgrund gesprüht, um das dort applizierte Antibiotikum zu fixieren. Hierfür wird eine spezielle Sprühapparatur verwendet.

Die Grundidee ist, dass die zusätzliche lokale Antibiotikagabe durch eine längere Fixierung im Wundbereich zu einer Ausheilung der Infekte mit komplexen/multiresistenten Keimen führt. Die Besprühung der Wundfläche mit zusätzlichem Fibrinkleber soll die Wirkung des Antibiotikums verbessern, indem dessen Absorption verringert wird. Zugleich wird das aufgrund seiner nephrotoxischen Nebenwirkungen nur sehr restriktiv eingesetzte Reserveantibiotikum Colistin nicht systemisch verabreicht, was zu einer deutlichen Reduktion der Nebenwirkungen führen sollte. Zusätzlich können die Zahl der Operationen für die einzelnen Erkrankten gesenkt sowie die Ausheilungszeit verkürzt werden, was die Belastung der Behandelten reduziert. In mehreren publizierten Versuchen war dieses Verfahren mit Vancomycin bereits erfolgreich.^{96,97}

4.1 Die postoperative Wundinfektion

Ein Fokus dieser Arbeit liegt auf der Behandlung der SSI, die – je nach Schweregrad – den vorgeschlagenen Klassifikationen der Haut- und Weichteilinfektionen hin bis zur Osteomyelitis subsumiert werden kann. Haut- und Weichteilinfektionen sind eine häufige Entität im medizinischen Alltag. Eine einheitliche Klassifikation existiert nach aktuellem Stand nicht, es wird eine Unterscheidung in unkomplizierte, komplizierte und nekrotisierende Infektionen vorgeschlagen. Die Morbidität wie auch die Mortalität bei chirurgischen Eingriffen steigen erheblich an, wenn eine SSI hinzukommt. So zeigen Kirkland et al.⁹⁸, dass die Notwendigkeit intensivmedizinischer Betreuung um 60 % steigt, wenn nach einem chirurgischen Eingriff eine SSI diagnostiziert wird. Mit der vorgestellten Methode können insbesondere cSSTI ergänzend weiterbehandelt werden, um nach Wundinfektion vor dem Sekundärverschluss eine keimlose Wunde

zu erzielen. Die Probleme der systemischen Antibiotikatherapie werden im Folgenden diskutiert.

4.2 Probleme der systemischen Antibiotikatherapie bei SSI

Die antibiotische Standardtherapie der Knochen-, Haut- und Weichteilinfektion ist die systemische Antibiotikagabe.³⁶ Sie ist jedoch mit einigen Nachteilen behaftet. So stellen bereits der Katheter der Venenverweilkanüle oder die Kanüle zur intramuskulären Applikation mögliche Infektionsquellen dar.⁵² Prothesenassoziierte Infektionen sind nur schwer systemisch antibiotisch therapierbar, da die ursächlichen Bakterienstämme einen Biofilm bilden und systemisch gegebene Antibiotika diesen nur mangelhaft penetrieren. Biofilmbildende Bakterienstämme können auch bei offenen Frakturen erwartet werden. Um die Bakterien in diesem Biofilm abzutöten, wären 50–1000-fach höhere Wirkspiegel des Antibiotikums vonnöten.⁹⁹ Aufgrund toxischer Nebenwirkungen sind solche Wirkspiegel unrealistisch. Die herabgesetzte Vaskularität bei chronischer Osteomyelitis beeinträchtigt die Effektivität systemischer Antibiotika maßgeblich.¹⁰⁰⁻¹⁰⁵ Der Infektionsfokus im Knochen ist von einer Bindegewebsmanschette aus avaskulärem Knochen und verdicktem Periost, Muskelgewebe und subkutanem Bindegewebe umgeben. Die Avaskularität dieses Narbengewebes reduziert die Effektivität systemisch verabreichter Antibiotika erheblich.¹⁰⁰⁻¹⁰⁵ Infektbedingte Zirkulationsdefizite exazerbieren diesen Prozess.

4.3 Vor- und Nachteile der lokalen Antibiotikatherapie

Auch lokal wirksame Antibiotikaträger bringen Nachteile mit sich. Feststoffen wie PMMA-ALC ist eigen, dass sie nicht biologisch abbaubar sind und deshalb als Fremdstoff im Körper verbleiben bzw. die Notwendigkeit weiterer Operationen zur Materialentfernung nach sich ziehen. Dies ist sowohl für die Erkrankten als auch für das Gesundheitssystem als Nachteil zu werten. Folgeoperationen stellen eine

seelische Belastung für die Behandelten dar, gelten als Risiko für Wundinfektionen und sind sowohl kosten- als auch zeitintensiv. Wie jeder Fremdkörper ist auch das eingebrachte PMMA-ALC anfällig für die Besiedlung von biofilmbildenden Bakterienstämmen.^{15,106} Derartige Biofilme komplexieren die Therapie, häufig ist die einzige Option die Explantation des Fremdkörpers.

Ein weiterer Nachteil der nichtresorbierbaren Materialien zur lokalen Antibiotikaapplikation sind ihre ungünstige Freisetzungskinetik¹⁰⁷⁻¹¹⁰ und eine unvollständige Elution des Medikaments.¹⁰⁹⁻¹¹² Cierny et al.²⁷ konnten zeigen, dass die Freisetzungsraten von Tobramycin und Cefotaxim lediglich zwischen 25 % und 50 % liegen, wenn diese in PMMA-Kugeln gemischt appliziert werden. Vergleichbare Ergebnisse lieferte eine In-vitro-Studie von Wilson et al.,¹¹³ die zeigte, dass nach 28 Tagen auf Nährmedium noch 50–75 % des Tobramycins und Cefotaxim in den PMMA-Kugeln nachweisbar waren, also lediglich 25–50 % der Wirkstoffe freigesetzt wurden. Nach DiCiccio et al.¹¹² sinkt die Freisetzungsraten sogar auf 6–12 %, wenn das Antibiotikum im Knochenzement zur Prothesenverankerung formuliert wurde. Die Freisetzungsraten des im PMMA-ALC gelösten Gentamycin bei Intramedullärnägeln, die mit PMMA-ALC beschichtet wurden, liegt Metsemakers et al.¹¹⁴ und Hake et al.¹¹⁵ zufolge ebenfalls bei lediglich 4–17 %. Es ist außerdem davon auszugehen, dass nach einem initial sehr hohen lokalen Wirkspiegel eine rasche Elimination des Antibiotikums folgt und es lange Zeit in subtherapeutischen Konzentrationen vorliegt.^{73,116,117} Um den schnellen Abbau bzw. die mangelhafte Elution der Wirkstoffe zu kompensieren, darf die Wirkstoffdosis nicht exzessiv erhöht werden, da sie sonst toxische Konzentrationen erreichen kann.

Wird das nicht abbaubare PMMA in den zuvor durch chirurgisches Débridement erzeugten Raum eingebracht, kann es außerdem den gewünschten Knochenaufbau verhindern¹⁵ und bietet gleichzeitig keine ausreichende mechanische Stabilität im Sinne einer Osteosynthese.⁵⁷ Auch eine moderate intrinsische Toxizität durch Absorption von Methylmethacrylat-Monomeren (MMA) nach carboxylesterase-vermitteltem Umbau von MMA zu Methacrylsäure wird beschrieben.⁵⁷

Die Suche nach Alternativen zur lokalen Antibiotikatherapie mit nichtabbaubaren Feststoffen als Trägermaterialien rückte den Fokus auf biologisch abbaubare Substanzen. Deren Vorteil liegt darin, dass nur geringe Fremdkörperreaktionen zu befürchten sind und die Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer SSI deutlich abnimmt.⁵² Zur Anwendung kommen derzeit Gele, Pulver, Schwämme und Kalziumsulfat in verschiedenen Formulierungen. Auf der Suche nach weiteren Trägermaterialien sind Substanzen wie Vitamin D₃ und bioaktives Glas Gegenstand aktueller Forschung.

4.4 Multiresistente Erreger als Herausforderung der Medizin

Hygienemaßnahmen wie die chirurgische Händedesinfektion zählen seit Jahrzehnten zum Standardverfahren der Operationsvorbereitung, konnten SSI jedoch nicht gänzlich verhindern. Irrationale Antibiotikagabe zur Prophylaxe oder Therapie der SSI führten unter Selektionsdruck zum Aufkommen multiresistenter Erreger wie MRSA und MRGN. Die *Weltgesundheitsorganisation* (WHO) veröffentlichte 2016 in einer weltweiten Empfehlung insgesamt 16 evidenzbasierte Vorschläge zur intra- und postoperativen Prävention von SSI, darunter den Verzicht auf Wundirrigation mit antibiotischen Substanzen bei schwacher Evidenz zur Prävention der SSI und gleichzeitiger Gefahr der Resistenzförderung³⁹. Auch die CDC sprechen sich in der aktuellen Fassung ihrer Richtlinien zur Prävention von SSI gegen die intraoperative Wundirrigation mit antibiotikumhaltiger Spülflüssigkeit aus und bevorzugen eine antiseptische Spülung mit iodhaltigen Substanzen.¹¹⁸

Der Anteil an SSI mit MRGN nimmt zu.⁴⁴ Analog zum indizierten Einsatz von Vancomycin bei Infektionen mit MRSA wird ein rationaler Einsatz von Colistin zur Eradikation von MRGN notwendig. In einer retrospektiven Auswertung von Janko et al.⁹⁶ wurde nach Erregeridentifikation und Resistenztestung aus Gewebeproben chronischer Wunden von insgesamt zwölf ausgeheilten SSI fünfmal das als Reserveantibiotikum geltende Colistin als einzig sensibles Antibiotikum ermittelt und eingesetzt.

In weiteren sechs Fällen wurden die Erreger als vancomycinsensibel ermittelt und entsprechend behandelt. Verboket et al.⁹⁷ untersuchten daraufhin labortechnisch die Verweildauer und Konzentrationsänderung von Vancomycin und zeigten, dass die Konzentration von Vancomycin in der Gewebeprobe bei simultaner Besprühung mit Fibrinkleber höher als bei der konsekutiven Besprühung oder der Besprühung von Vancomycin ohne Fixiermittel ist.

4.5 Colistin – Vor- und Nachteile des Reserveantibiotikums

Colistin ist ein Metabolit des Bakteriums *Paenibacillus polymyxa subsp. Colistinus* und wird daher synonym auch als *Polymyxin E* bezeichnet. Polymyxine sind eine Gruppe von Polypeptidantibiotika, die sich anhand fünf unterschiedlicher chemischer Verbindungen (A-E) differenzieren lassen. Im klinischen Einsatz sind ausschließlich Polymyxin B und Polymyxin E (*Colistin*). Chemisch betrachtet handelt es sich um ein kationisches, zyklisches Dekapeptid, das über α -Peptidbindung mit einer Fettsäurekette verbunden ist. Je nachdem, mit welcher Fettsäurekette dieses Dekapeptid bindet, lassen sich Colistin A und Colistin B differenzieren. Die Fettsäurekette für Colistin A besteht aus 6-Methyloctansäure, die für Colistin B aus 6-Methylheptansäure. Pharmazeutisch genutztes Colistin besteht grundsätzlich aus beiden Verbindungen in unterschiedlichen Anteilen.

Kommerziell erhältlich ist Colistin in zwei Varianten, dem Colistimethat-Natrium (*Colistimethate Sodium, CMS*), das nach parenteraler Applikation spontan hydrolysiert und erst dann als aktiver Metabolit vorliegt (Prodrug), und dem potenteren Colistinsulfat (*Colistin Sulfat, CS*), das als Tablette oder Sirup zur enteralen Erregereradikation oder in Pulverform topisch bei Hautinfektionen eingesetzt wird. Die spontane Hydrolysierung des inaktiven CMS zur aktiven Form des Colistin erschwert dessen labortechnische Bestimmung. CMS wird auch bei Infektionen der Atemwege mit *Pseudomonas aeruginosa* im Kontext der Therapie der cystischen Fibrose nach Verneblung inhalativ eingenommen.

Durch Schädigung der äußeren Bakterienmembran wirkt Colistin bakterizid. Der Wirkungsbereich liegt im gramnegativen Erregerspektrum und deckt Erregerstämme von *Actinobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonellen spp.*, *Shigellen spp.*, *Citrobacter spp.*, *Yersinien pseudotuberculosis*, *Morganella morganii*, *Haemophilus influenza* und *E. coli spp.* ab.¹¹ Auch carbapenemresistente *Enterobacteriaceae* (CRE) und *Stenotrophomonas spp.* werden von Colistin erfasst.¹¹⁹ Jedoch ist es gegen einige gramnegative Aerobier wie *Pseudomonas mallei*, *Burkholderia cepacia*, *Proteus spp.*, *Providencia spp.*, *Serratia spp.*, *Edwardsiella spp.* und *Brucella spp.* sowie gegen grampositive und gramnegative Kokken, grampositive Aerobier, Pilze und Parasiten nicht wirksam.¹¹⁹

Colistin gilt als Reserveantibiotikum und der Einsatz muss einer strengen Rationalität folgen, um in der *Bad-Bug-No-Drug-Ära* und wegen der nur schleichenden Entwicklung neuer Antibiotikatherapien nicht ohne Therapieoption zu bleiben. Bei der Diagnose der cSSTI bzw. deren Prävention und nach vorausgegangener chirurgischer Therapie ist der Einsatz von Colistin nach Resistenztestung aus Gewebeproben jedoch mitunter die letzte Option vor der Amputation des betroffenen Körperteils. Nach Herstellerangaben sind häufige empfindliche Spezies gegen Colistin *Acinetobacter spp.*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella spp.* und *Pseudomonas aeruginosa*. Colistin deckt folglich einen großen Teil potenzieller MRGN ab. Spezies mit erworbener Resistenz gegen Colistin, die ein Problem für dessen Anwendung sein können, sind *Stenotrophomonas maltophilia* und *Achromobacter xylosoxidans* (früher *Alcaligenes xylosoxidans*) bzw. inhärent resistente Organismen wie *Burkholderia cepacia* und verwandte Spezies *Proteus spp.*, *Providencia spp.* und *Serratia spp.* Kreuzresistenzen zwischen Polymyxinen und anderen Antibiotikafamilien liegen nicht vor.¹¹⁹

Colistin wird klinisch nur sehr restriktiv eingesetzt, da stark nephrotoxische Nebenwirkungen nach intravenöser Applikation beschrieben werden. Es fehlt zudem häufig die klinische Erfahrung der einzelnen Anwendenden oder das antibiotische Regime des jeweiligen Hauses listet Colistin als striktes Reserveantibiotikum, was den

Einsatz erst bei vorhergehendem Therapieversagen erlaubt. Chronisch infizierte Wunden mit resistenten, aber colistinsensiblen MRGN können jedoch nach Dosierungsempfehlung der EMA mit systemischem Colistin behandelt werden. Bei kompromittierter gesundheitlicher Gesamtkonstellation der Erkrankten kann die Nephrotoxizität das Outcome der Behandelten verschlechtern.

4.6 Fibrinkleber

Die Anwendung von Fibrinkleber ist in der Chirurgie bereits etabliert und indiziert, wenn bei operativen Eingriffen eine Blutstillung durch manuellen Druck, Ligaturen oder Elektrokauterisierung ineffektiv oder nicht praktikabel ist.^{120,121} Oberflächenblutungen, beispielsweise bei diffusen Blutungen der Leber oder der Kieferhöhle, können mit Fibrinkleber behandelt werden.^{122,123} Die Anwendung von Fibrinkleber kann der Elektrokauterisierung überlegen sein, da diese zu Gewebenekrosen führt, die im weiteren Verlauf die Wahrscheinlichkeit einer Infektion erhöhen.^{121,124} Fibrinkleber hingegen bietet die Vorteile, keine Nekrosen zu verursachen, großflächig und auf unebener Oberfläche auftragbar sowie einfach und kostengünstig anwendbar zu sein. Behandelnde benötigen für das Sprühen beide Hände, wobei Druckluft den Inhalt der mit Antibiotikum und Fibrinkleber gefüllten Spritzen gleichmäßig, gezielt und flächig auf dem Wundbett verteilt. Die Sprüheinrichtung ist für diesen Einsatz klinisch etabliert.^{125,126}

Der enge Kontakt des Fibrinklebers zum Wundbett und die Retention des Antibiotikums über längere Zeit machen Fibrinkleber zu einem geeigneten Träger für die lokale Antibiotikatherapie.^{52,127-130} Das Antibiotikum wird entweder durch Auflösen des Fibrins oder per Diffusion durch die Fibrinmatrix an das umliegende Gewebe abgegeben, abhängig vom angewandten Antibiotikum und dem Mengenverhältnis der beiden Komponenten.⁵² Die Wirkkonzentration liegt aber mehrere Tage lang oberhalb der minimalen Hemmkonzentration üblicher Erreger von Wundinfektionen.¹³¹⁻¹³⁷ Da es sich bei Fibrin um ein körpereigenes Protein handelt, sind keine

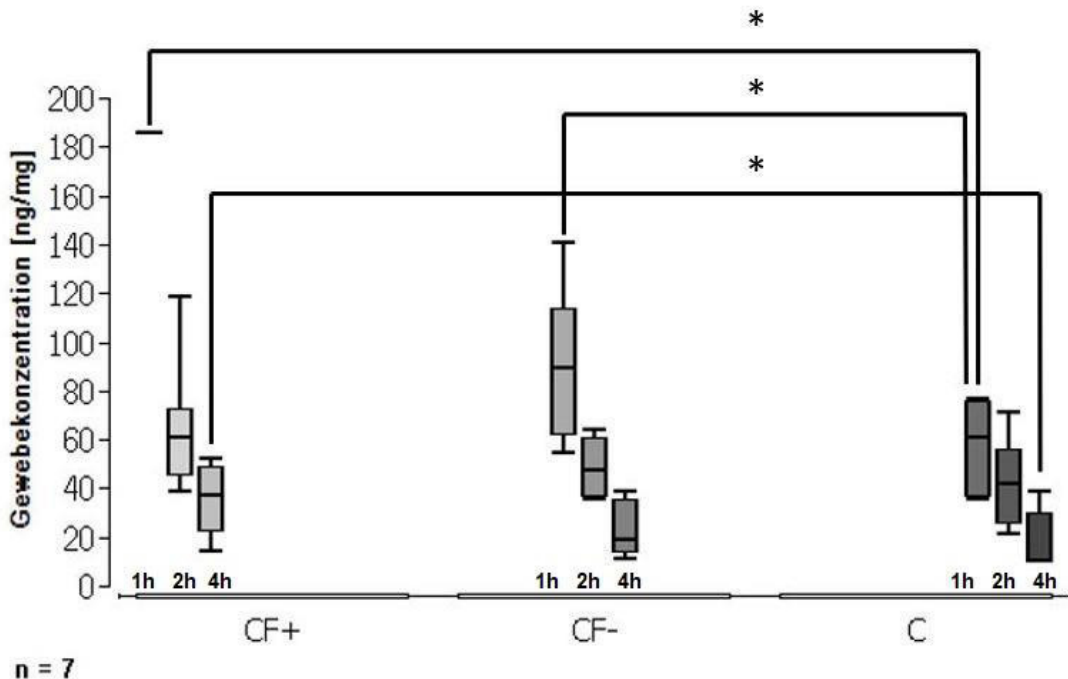
oder nur minimale Immunreaktionen zu erwarten. Aus demselben Grund interferiert die Verwendung von Fibrinkleber nicht mit den Wundheilungsmechanismen. Das aufgebraute Fibrin wird vom fibrinolytischen System abgebaut. Parallel dazu kann neue Knochenmatrix entstehen, die den Wunddefekt allmählich auffüllt. Das kann die Notwendigkeit einer knöchernen Rekonstruktion aufheben.¹²⁸⁻¹³⁰ Da die Bestandteile des Fibrinklebers resorbiert werden, ist ein zweiter Eingriff zur Materialentfernung entbehrlich.^{128,138}

4.7 Die lokale Fixierung von Colistin mit Fibrinkleber

Die zentralen Fragen dieser Studie lauten:

1. Wie unterscheiden sich die Gewebekonzentrationen von Colistin mit Fixierung durch Fibrinkleber und ohne derartige Fixierung eine, zwei und vier Stunden nach Besprühung einer Weichteilwunde?
2. Mit welcher Applikationsmethode von Colistin und Fibrinkleber sind die höchsten lokalen Wirkspiegel von Colistin in der Gewebeprobe nachweisbar?

Zur Beantwortung der ersten Frage sind die Messergebnisse unter 3.3–3.5 heranzuziehen. Es ist festzuhalten, dass gruppenunabhängig jeweils eine Stunde nach Besprühung der höchste Messwert ermittelt wurde. Zur zweiten Frage ist in der Übersichtsdarstellung (Abbildung 11) zu erkennen, dass nach vier Stunden lediglich die simultane, nicht jedoch die konsekutive Besprühung eine signifikant höhere mediane Konzentration von Colistin A im Gewebe im Vergleich zur Besprühung ohne Fibrinfixierung aufweist. Sie scheint daher die geeignetste Applikationsmethode zu sein. Es ist anzunehmen, dass der Fibrinanteil zur Retention der systemischen Aufnahme des Colistin führt und es folglich länger seine lokale antibiotische Wirkung entfalten kann.



Konzentrationen in Nanogramm pro Milligramm [ng/mg] jeweils 1h, 2h und 4h nach Besprühung; CF+ = simultane Besprühung, CF- = konsekutive Besprühung, C = ohne Fibrinfixierung. Jede Gruppe enthält sieben Proben (n = 7).
* = $p < 0,05$

Abbildung 11: Übersicht der Gewebekonzentrationen von Colistin A

Die empfohlene Standarddosierung von Colistin bei intravenöser Gabe liegt in Europa für Erwachsene mit einem Körpergewicht < 60 kg bei 4–6 mg/kg zur Therapie von Infektionen mit multiresistenten gramnegativen Erregern, was 50.000–75.000 IE/kg Körpergewicht entspricht.^{119,139} Erwachsene mit einem Körpergewicht > 60 kg sollen alle acht Stunden 80–160 mg (1–2 Millionen IE) erhalten.^{119,139} Bei intramuskulärer Anwendung bleibt die Dosierempfehlung unverändert. Die Dosierung muss bei Niereninsuffizienz dem Serumkreatinin-Spiegel angepasst werden. In einer Aktualisierungsstudie aus dem Jahr 2014 empfiehlt die EMA ähnliche Dosierungen für Colistin. Hiernach sollen Erwachsene 9 Millionen IE CMS täglich in drei Einzeldosen erhalten.¹³⁹ Ein Wirkspiegel im therapeutischen Bereich über eine Zeitdauer von mehreren Stunden scheint folglich erstrebenswert.

Bezogen auf das Ergebnis der vorliegenden Studie, dass in der Vier-Stunden-Gruppe bei gemischtem Auftragen die höchste Gewebekonzentration von Colistin A

gemessen wurde, wird die im Median höhere Gewebekonzentration von Colistin A als Vorteil gegenüber der alleinigen sowie der konsekutiven Besprühung mit CMS gewertet. Pro Wunde wurden 50.000 IE CMS bei einem Körpergewicht der Ratte von 330–365 g verwendet. Bei einem durchschnittlichen Körpergewicht von 347,6 g ergibt sich eine Dosis von ca. 150.000 IE (ca. 12 mg) CMS pro Kilogramm Körpergewicht der Ratte. In einem *Whole-Body Physiologically Based Pharmacokinetic Model (WB-PBPK)* von Bouchene et al.¹⁴⁰ wurde erst 2018 die Gewebekonzentration von CMS wie auch Colistin nach intravenöser Gabe von 15 mg/kg CMS pro Kilogramm Körpergewicht des Rattenmodells durch LC-MS/MS bestimmt. Die Ergebnisse der genannten Studie wurden durch den *Tissue-to-Plasma Partition Coefficient (K_p)* dargestellt, zu dessen Berechnung die Plasmakonzentration von CMS oder Colistin notwendig ist. Da deren Plasmakonzentration in der vorliegenden Arbeit keine Untersuchungsvariable war, sind die Messwerte der vorliegenden Studie nicht mit denen des WB-PBPK zu vergleichen. Zudem wurde im Experiment nur Colistin A bestimmt, das lediglich einen Anteil des aktiven Colistin darstellt. Die Messwerte für Colistin A sind geeignet, innerhalb des Experiments Vergleiche zu ziehen und die beschriebenen Unterschiede zu identifizieren, können jedoch nicht als absolute Werte zum Vergleich mit Gewebekonzentrationen nach beispielsweise intravenöser Injektion von CMS oder Colistin herangezogen werden.

Anwendungsbereiche der Besprühung von Wunden mit dem Antibiotikum-Fibrinklebergemisch sind vielfältig. Bezug nehmend auf die eingangs vorgestellten Klassifikationen der IDSA und FDA zu den Haut- und Weichteilinfektionen bietet sich diese Methode bei cSSTI an, flankierend zu den etablierten Verfahren des Wundmanagements. Es scheint dabei ein Vorteil zu sein, wenn die Wunde flächig imponiert und satt mit dem Gemisch aus Fibrinkleber und Antibiotikum besprüht werden kann. Gegebenenfalls sollte die Wunde durch vorherige operative Maßnahmen in einen geeigneten Zustand versetzt werden, denn tiefe, zerklüftete Wunden mit schwer erreichbaren Taschen erscheinen für das Besprühen äußerst ungünstig. Generell ist Colistin jedoch erst nach Erregeridentifikation und Resistenztestung einzusetzen.

4.8 Fazit

Bei ausgeschöpften Behandlungsmethoden und antibiogramgerechter Indikation ist die Besprühung einer Wunde mit Colistin und dessen Fixierung mittels Fibrinkleber eine zusätzliche Heilungsmöglichkeit der Haut- und Weichteilinfektionen. Die Entwicklung dieses Verfahrens als zusätzliche Säule der kombinierten systemischen und lokalen Antibiotikatherapie kann das momentan bestehende Therapiespektrum sinnvoll erweitern. So konnte gezeigt werden, dass die simultane Besprühung von Colistin und Fibrinkleber die überlegene Art der Applikation darstellt. Eine Stunde nach Applikation lag bei dieser eine signifikant höhere Gewebekonzentrationen des Colistin A von 185,67 ng/mg gegenüber 60,95 ng/mg ohne Fibrinfixierung vor. Auch vier Stunden nach Applikation zeigte sich eine signifikant höhere Gewebekonzentration des Colistin A von 37,00 ng/mg bei simultaner Besprühung gegenüber 9,95 ng/mg ohne Fibrinfixierung, sodass diese Art der lokalen Fixierung das chirurgische Débridement und die systemische Antibiotikatherapie vorteilhaft ergänzen kann.

4.9 Limitationen der Studie

Die vorliegende Studie verglich die Konzentrationen von Colistin A eine, zwei und vier Stunden nach Besprühung der Wunde. Ein längerer Beobachtungszeitraum kann weitere Erkenntnisse über die Dynamik der lokalen Antibiotikakonzentration liefern. Ein Wundmodell mit Bakterienkolonien und deren Konzentrationsentwicklung nach beschriebener Besprühung kann ebenfalls Aufschluss im Hinblick auf die Entwicklung eines festen Therapiestandards geben. Analog zu dem Weichteilmodell dieser Studie ist ein Knochenmodell mit gleicher Methodik angebracht, um den Einfluss der lokalen Gabe von Antibiotikum und dessen Fixierung durch Fibrinkleber am Osteomyelitis-Modell zu studieren. Um der Frage der systemischen Aufnahme von

Colistin nachzugehen, ist eine Folgestudie wünschenswert, optimal wäre ein *WB-PBPK* nach lokaler Applikation von Colistin.

5 Zusammenfassung

Haut- und Weichteilinfektionen (*Skin and Soft Tissue Infection*, SSTI) stellen eine verbreitete Krankheitsentität mit schwierigem Therapiemanagement dar. Im Fokus dieser Arbeit liegt die Wundinfektion. Der aktuelle Goldstandard ist das radikale chirurgische Débridement und die systemische Gabe von antibiotisch wirksamen Stoffen. Dieses Therapieregime kann von der lokalen Antibiotikatherapie flankiert werden, wobei die antibiotisch aktive Substanz entweder allein oder in Kombination mit einem Trägermaterial auf die Wunde aufgebracht wird. Eine Möglichkeit zur lokalen antibiotischen Therapie ist die Besprühung der Wundfläche mit einem Antibiotikum-Fibrinkleber-Gemisch. Es ist nach aktuellem Stand unklar, wie sich die Konzentration von Colistin in einem Zeitraum von vier Stunden nach Besprühung und Fixierung durch Fibrinkleber verhält und mit welcher Applikationsmethode die Wirkstoffkonzentration des Antibiotikums im Gewebe am höchsten ist.

Unter Berücksichtigung geltender Labor- und Tierwohlstandards wurde eine tierexperimentelle Studie an 29 männlichen Ratten aus dem Stamm Wistar durchgeführt. Es wurden vier je 100 mm² große subkutane Wunden auf Muskel-/Faszienniveau auf dem Rücken der Tiere, die unter sterilen Kautelen operativ zugefügt worden waren, entweder nur mit Colistin (C) oder nur gleichzeitig (CF+) oder nur aufeinanderfolgend (CF-) mit Colistin und einem Fibrinkleber besprüht.

Durch flüssigkeitschromatografische und massenspektrometrische Analysen konnten eine Stunde nach Applikation signifikant höhere Gewebekonzentrationswerte von Colistin A in der Gruppe CF+ gegenüber CF- ($p = 0,02$) und C ($p = 0,00$) sowie in der Gruppe CF- gegenüber C ($p = 0,00$) gemessen werden: mediane Gewebekonzentrationen von Colistin A 185,67 ng/mg (CF+), 89,45 ng/mg (CF-) und 60,95 ng/mg (C). Nach zwei Stunden waren die Unterschiede nicht signifikant. Nach vier Stunden zeigten sich signifikant höhere Werte in der Gruppe CF+ gegenüber C ($p = 0,01$): mediane Gewebekonzentrationen von Colistin A: 37,00 ng/mg (CF+), 19,03 ng/mg (CF-) und 9,95 ng/mg (C).

Die Fixierung von Colistin durch das Besprühen mit Fibrinkleber stellt eine unkomplizierte und günstige Methode zur lokalen antibiotischen Therapie dar und ergibt eine längere Antibiotikaverfügbarkeit im Gewebe. Eine Stunde nach Applikation liegen in allen Gruppen die höchsten Messwerte vor. Die simultane Besprühung ist die zu bevorzugende Methode. Als zusätzliche Maßnahme neben dem chirurgischen Débridement und der systemischen Antibiotikatherapie kann die Besprühung mit einem Gemisch aus Colistin und Fibrinkleber als ein vielversprechendes Verfahren in der Therapie von Haut- und Weichteilwunden angesehen werden.

6 Summary

Skin and soft tissue infections (SSTI) are a common disease entity with difficult therapy management. The focus of this work is wound infection. The current gold standard is radical surgical debridement and systemic administration of antibiotic agents. This therapy regimen can be flanked by local antibiotic therapy, with the antibioticly active substance applied to the wound either alone or in combination with a carrier material. One possibility for local antibiotic therapy is to spray the wound surface with an antibiotic-fibrin glue mixture. According to the current status, it is unclear how the concentration of colistin behaves in a period of four hours after spraying and fixation by fibrin glue and with which application method the active ingredient concentration of the antibiotic in the tissue is highest.

Taking into account applicable laboratory and animal welfare standards, an animal study was carried out on 29 male rats from the Wistar strain. Four subcutaneous wounds each 100 mm² in size were sprayed at muscle/fascia level on the backs of the animals surgically inflicted under sterile conditions, either only with colistin (C) or only simultaneously (CF+) or consecutively (CF-) with colistin and a fibrin adhesive.

By liquid chromatographic and mass spectrometric analyses, one hour after application significantly higher tissue concentration values of colistin A in the group CF+ against CF- ($p = 0.02$) and C ($p = 0.00$) and in the group CF- versus C ($p = 0.00$) could be measured: median tissue concentrations of colistin A 185.67 ng/mg (CF+), 89.45 ng/mg (CF-) and 60.95 ng/mg (C). After two hours, the differences were not significant. After four hours, significantly higher values were found only in the CF+ group compared to C ($p = 0.01$): median tissue concentrations of colistin A 37.00 ng/mg (CF+), 19.03 ng/mg (CF-) and 9.95 ng/mg (C).

The fixation of colistin by spraying with fibrin glue is an uncomplicated and inexpensive method of local antibiotic therapy and results in a longer availability of antibiotics in the tissues. One hour after application, the highest measured values are available in all groups. Simultaneous spraying is the preferred method. As an additional

measure along with surgical debridement and systemic antibiotic therapy spraying with a mixture of colistin and fibrin glue can be considered a promising procedure in the treatment of skin and soft tissue infections.

7 Literaturverzeichnis

1. Esposito S, Noviello S, Leone S. Epidemiology and microbiology of skin and soft tissue infections. *Current opinion in infectious diseases*. 2016;29(2):109-115. doi:10.1097/QCO.000000000000239.
2. Patzakis MJ, Zalavras CG. Chronic posttraumatic osteomyelitis and infected non-union of the tibia: current management concepts. *J Am Acad Orthop Surg*. 2005;13(6):417-427. doi:10.5435/00124635-200510000-00006.
3. Diefenbeck M, Haustedt N, Schmidt HG. Surgical debridement to optimise wound conditions and healing. *Int Wound J*. 2013;10 Suppl 1:43-47. doi:10.1111/iwj.12187.
4. Lögters T, Hakimi M, Windolf J, Schädel-Höpfner M. Chirurgische Realität und prognostische Kriterien bei schweren Handinfektionen. *Handchir Mikrochir Plast Chir*. 2009;271-276. doi:10.1055/s-0029-1238295.
5. Chiummariello S, Guarro G, Pica A, Alfano C. Evaluation of negative pressure vacuum-assisted system in acute and chronic wounds closure: our experience. *G Chir*. 2012;33(10):358-362.
6. Nather A, Chionh SB, Han AYY, Chan PPL, Nambiar A. Effectiveness of vacuum-assisted closure (VAC) therapy in the healing of chronic diabetic foot ulcers. *Ann Acad Med Singap*. 2010;39(5):353-358.
7. Völlinger M, Partecke B-D. Die Behandlung der Beugesehnnenscheidenphlegmone - Behandlungsstrategie und Ergebnisse. *Handchir Mikrochir Plast Chir*. 2003;35(6):392-398. doi:10.1055/s-2003-44676.
8. Buchholz HW, Engelbrecht H. Über die Depotwirkung einiger Antibiotica bei Vermischung mit dem Kunstharz Palacos. *Chirurg*. 1970;41(11):511-515.
9. Penn-Barwell JG, Murray CK, Wenke JC. Local antibiotic delivery by a bioabsorbable gel is superior to PMMA bead depot in reducing infection in an open fracture model. *J Orthop Trauma*. 2014;28(6):370-375. doi:10.1097/BOT.0b013e3182a7739e.
10. Klemm K. Gentamycin-PMMA-Kugeln in der Behandlung abszedierender Knochen- und Weichteilinfektionen. *Zentralbl Chir*. 1979;104(14):934-942.

11. El-Sayed Ahmed MAE-G, Zhong L-L, Shen C, Yang Y, Doi Y, Tian G-B. Colistin and its role in the Era of antibiotic resistance: an extended review (2000-2019). *Emerg Microbes Infect.* 2020;9(1):868-885. doi:10.1080/22221751.2020.1754133.
12. Sherry N, Howden B. Emerging Gram negative resistance to last-line antimicrobial agents fosfomycin, colistin and ceftazidime-avibactam - epidemiology, laboratory detection and treatment implications. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2018;16(4):289-306. doi:10.1080/14787210.2018.1453807.
13. Velkov T, Roberts KD, Nation RL, Thompson PE, Li J. Pharmacology of polymyxins: new insights into an 'old' class of antibiotics. *Future Microbiol.* 2013;8(6):711-724. doi:10.2217/fmb.13.39.
14. Lew DP, Waldvogel FA. Osteomyelitis. *The Lancet.* 2004;364(9431):369-379. doi:10.1016/S0140-6736(04)16727-5.
15. Gramlich Y, Walter G, Gils J, Hoffmann R. Erste Ergebnisse in der Anwendung resorbierbarer, lokaler Antibiotikaträger bei Rezidivosteomyelitiden. *Z Orthop Unfall.* 2017;155(1):35-44. doi:10.1055/s-0042-112228.
16. Schmidt AH, Swiontkowski MF. Pathophysiology of infections after internal fixation of fractures. *J Am Acad Orthop Surg.* 2000;8(5):285-291. doi:10.5435/00124635-200009000-00002.
17. Veis DJ, Cassat JE. Infectious Osteomyelitis: Marrying Bone Biology and Microbiology to Shed New Light on a Persistent Clinical Challenge. *J Bone Miner Res.* 2021. doi:10.1002/jbmr.4279.
18. Jones ME, Karlowsky JA, Draghi DC, Thornsberry C, Sahm DF, Nathwani D. Epidemiology and antibiotic susceptibility of bacteria causing skin and soft tissue infections in the USA and Europe: a guide to appropriate antimicrobial therapy. *Int J Antimicrob Agents.* 2003;22(4):406-419. doi:10.1016/s0924-8579(03)00154-7.
19. Trampuz A, Zimmerli W. Antimicrobial agents in orthopaedic surgery: Prophylaxis and treatment. *Drugs.* 2006;66(8):1089-1105. doi:10.2165/00003495-200666080-00005.

20. Murdoch DR, Roberts SA, Fowler VG, et al. Infection of orthopedic prostheses after *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Clin Infect Dis*. 2001;32(4):647-649. doi:10.1086/318704.
21. Itani KMF, Shorr AF. FDA guidance for ABSSTI trials: implications for conducting and interpreting clinical trials. *Clin Infect Dis*. 2014;58 Suppl 1:S4-9. doi:10.1093/cid/cit612.
22. Bodmann K-F, Grabein B, Kresken M, Derendorf H, Stahlmann R. Kalkulierte parenterale Initialtherapie bakterieller Erkrankungen bei Erwachsenen - Update 2018: PEG S2k Leitlinie. [AWMF-Registernummer 082-006]. Accessed April 11, 2022.
23. Lipsky BA, Weigelt JA, Gupta V, Killian A, Peng MM. Skin, soft tissue, bone, and joint infections in hospitalized patients: epidemiology and microbiological, clinical, and economic outcomes. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2007;28(11):1290-1298. doi:10.1086/520743.
24. Sellei RM, Kobbe P, Knobe M, et al. Therapie der chronischen Osteomyelitis: Die Weichteile als "Schlüssel zum Erfolg". *Orthopade*. 2012;41(1):43-50. doi:10.1007/s00132-011-1840-4.
25. Kingston D, Seal DV. Current hypotheses on synergistic microbial gangrene. *Br J Surg*. 1990;77(3):260-264. doi:10.1002/bjs.1800770309.
26. Stevens DL, Bisno AL, Chambers HF, et al. Practice guidelines for the diagnosis and management of skin and soft tissue infections: 2014 update by the infectious diseases society of America. *Clin Infect Dis*. 2014;59(2):147-159. doi:10.1093/cid/ciu296.
27. Cierny G, Mader JT, Penninck JJ. A clinical staging system for adult osteomyelitis. *Clin Orthop Relat Res*. 2003;(414):7-24. doi:10.1097/01.blo.0000088564.81746.62.
28. Bisno AL, Stevens DL. Streptococcal infections of skin and soft tissues. *N Engl J Med*. 1996;334(4):240-245. doi:10.1056/NEJM199601253340407.

29. Kłos M, Wójkowska-Mach J. Pathogenicity of Virulent Species of Group C Streptococci in Human. *Can J Infect Dis Med Microbiol.* 2017;2017:9509604. doi:10.1155/2017/9509604.
30. Shimomura Y, Okumura K, Murayama SY, et al. Complete genome sequencing and analysis of a Lancefield group G Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis strain causing streptococcal toxic shock syndrome (STSS). *BMC Genomics.* 2011;12:17. doi:10.1186/1471-2164-12-17.
31. Moran GJ, Krishnadasan A, Gorwitz RJ, et al. Methicillin-resistant S. aureus infections among patients in the emergency department. *N Engl J Med.* 2006;355(7):666-674. doi:10.1056/NEJMoa055356.
32. Sarani B, Strong M, Pascual J, Schwab CW. Necrotizing fasciitis: current concepts and review of the literature. *J Am Coll Surg.* 2009;208(2):279-288. doi:10.1016/j.jamcollsurg.2008.10.032.
33. Esposito S, Russo E, Noviello S, Leone S. Management del piede diabetico infetto. *Infez Med.* 2012;20 Suppl 1:28-34.
34. Bodey GP. Unusual presentations of infection in neutropenic patients. *Int J Antimicrob Agents.* 2000;16(2):93-95. doi:10.1016/S0924-8579(00)00241-7.
35. Micozzi A, Venditti M, Monaco M, et al. Bacteremia due to Stenotrophomonas maltophilia in patients with hematologic malignancies. *Clin Infect Dis.* 2000;31(3):705-711. doi:10.1086/314043.
36. O'Neal PB, Itani KMF. Antimicrobial Formulation and Delivery in the Prevention of Surgical Site Infection. *Surg Infect (Larchmt).* 2016;17(3):275-285. doi:10.1089/sur.2015.272.
37. Aghdassi SJS, Behnke M, Gastmeier P, et al. Deutsche nationale Punkt-Prävalenzerhebung zu nosokomialen Infektionen und Antibiotika-Anwendung: Abschlussbericht;2016:1-74. Accessed April 11, 2022.
38. Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut. Surveillance von nosokomialen Infektionen : Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO)

- beim Robert Koch-Institut. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*. 2020;63(2):228-241. doi:10.1007/s00103-019-03077-8.
39. Allegranzi B, Zayed B, Bischoff P, et al. New WHO recommendations on intraoperative and postoperative measures for surgical site infection prevention: an evidence-based global perspective. *The Lancet Infectious Diseases*. 2016;16(12):e288-e303. doi:10.1016/S1473-3099(16)30402-9.
40. Hachenberg T, Sentürk M, Jannasch O, Lippert H. Postoperative Wundinfektionen. Pathophysiologie, Risikofaktoren und präventive Konzepte. *Anaesthesist*. 2010;59(9):851-66; quiz 867-8. doi:10.1007/s00101-010-1789-4.
41. Seidel D, Bunse J. Der postoperative Wundinfekt : Diagnose, Klassifikation und Behandlung. *Chirurg*. 2017;88(5):385-394. doi:10.1007/s00104-017-0368-5.
42. Gastmeier P, Brandt C, Sohr D, et al. Postoperative Wundinfektionen nach stationären und ambulanten Operationen Ergebnisse aus dem Krankenhaus-Infektions-Surveillance-System (KISS). *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*. 2004;47(4):339-344. doi:10.1007/s00103-004-0805-8.
43. Dryden MS. Complicated skin and soft tissue infection. *J Antimicrob Chemother*. 2010;65 Suppl 3:iii35-44. doi:10.1093/jac/dkq302.
44. Guillet CV, Kollef MH. How to stratify patients at risk for resistant bugs in skin and soft tissue infections? *Current opinion in infectious diseases*. 2016;29(2):116-123. doi:10.1097/QCO.0000000000000244.
45. Ballus J, Lopez-Delgado JC, Sabater-Riera J, Perez-Fernandez XL, Betbese AJ, Roncal JA. Surgical site infection in critically ill patients with secondary and tertiary peritonitis: epidemiology, microbiology and influence in outcomes. *BMC Infect Dis*. 2015;15:304. doi:10.1186/s12879-015-1050-5.
46. Jeannot K, Bolard A, Plésiat P. Resistance to polymyxins in Gram-negative organisms. *Int J Antimicrob Agents*. 2017;49(5):526-535. doi:10.1016/j.ijantimicag.2016.11.029.
47. Srinivas P, Rivard K. Polymyxin Resistance in Gram-negative Pathogens. *Curr Infect Dis Rep*. 2017;19(11):38. doi:10.1007/s11908-017-0596-3.

48. Talbot GH, Bradley J, Edwards JE, Gilbert D, Scheld M, Bartlett JG. Bad bugs need drugs: an update on the development pipeline from the Antimicrobial Availability Task Force of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2006;42(5):657-668. doi:10.1086/499819.
49. Sun J, Zhang H, Liu Y-H, Feng Y. Towards Understanding MCR-like Colistin Resistance. *Trends Microbiol*. 2018;26(9):794-808. doi:10.1016/j.tim.2018.02.006.
50. Reis AO, Luz DAM, Tognim MCB, Sader HS, Gales AC. Polymyxin-resistant *Acinetobacter* spp. isolates: what is next? *Emerg Infect Dis*. 2003;9(8):1025-1027. doi:10.3201/eid0908.030052.
51. Towner KJ, Bergogne-Bérézin E, Fewson CA, eds. *The biology of acinetobacter: Taxonomy, clinical importance, molecular, biology, physiology, industrial relevance ; [based on the proceedings of the 2. International Workshop on Acinetobacter held under the auspices of the Federation of European Microbiological Societies, on September 6 - 7, 1990, in Paris, France*. New York: Plenum Pr; 1991. FEMS symposium; 57.
52. Mader JT, Stevens CM, Stevens JH, Ruble R, Lathrop JT, Calhoun JH. Treatment of experimental osteomyelitis with a fibrin sealant antibiotic implant. *Clin Orthop Relat Res*. 2002;(403):58-72. doi:10.1097/00003086-200210000-00011.
53. Sanders J, Mauffrey C. Long bone osteomyelitis in adults: fundamental concepts and current techniques. *Orthopedics*. 2013;36(5):368-375. doi:10.3928/01477447-20130426-07.
54. Walter G, Kemmerer M, Kappler C, Hoffmann R. Treatment algorithms for chronic osteomyelitis. *Dtsch Arztebl Int*. 2012;109(14):257-264. doi:10.3238/arztebl.2012.0257.
55. Smith IM, Austin OMB, Batchelor AG. The treatment of chronic osteomyelitis: a 10 year audit. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2006;59(1):11-15. doi:10.1016/j.bjps.2005.07.002.
56. Calhoun JH, Manring MM, Shirliff M. Osteomyelitis of the long bones. *Semin Plast Surg*. 2009;23(2):59-72. doi:10.1055/s-0029-1214158.

57. Berebichez-Fridman R, Montero-Olvera P, Gómez-García R, Berebichez-Fastlicht E. An intramedullary nail coated with antibiotic and growth factor nanoparticles: An individualized state-of-the-art treatment for chronic osteomyelitis with bone defects. *Medical hypotheses*. 2017;105:63-68. doi:10.1016/j.mehy.2017.06.023.
58. Akil A, Schnorr P, Wiebe K. Behandlungsstrategien bei postoperativen Sternuminfektionen. *Zentralbl Chir*. 2016;141(1):93-101. doi:10.1055/s-0035-1558097.
59. Lee S-S, Lin S-D, Chen H-M, et al. Management of intractable sternal wound infections with topical negative pressure dressing. *J Card Surg*. 2005;20(3):218-222. doi:10.1111/j.1540-8191.2005.200416.x.
60. Möllhoff N, Ehrl D, Giunta RE. Defektdeckung nach schweren Weichteilinfektionen: wann und wie? *Chirurg*. 2020;91(4):313-318. doi:10.1007/s00104-019-01096-4.
61. Ciclamini D, Antonini A, Tos P, Crosio A, Piccato A, Battiston B. Behandlung der chronischen Osteomyelitis mit vaskularisierter Knochenlappenplastik in einer einstufigen Operation. *Handchir Mikrochir Plast Chir*. 2020;52(2):116-122. doi:10.1055/a-1075-2402.
62. Kühn K-D, Renz N, Trampuz A. Lokale Antibiotikatherapie. *Unfallchirurg*. 2017;120(7):561-572. doi:10.1007/s00113-017-0372-8.
63. Griffis CD, Metcalfe S, Bowling FL, Boulton AJM, Armstrong DG. The use of gentamycin-impregnated foam in the management of diabetic foot infections: a promising delivery system? *Expert Opin Drug Deliv*. 2009;6(6):639-642. doi:10.1517/17425240902997919.
64. Zawadzki PJ, Perkowski K, Kotlarski M, Pietruczuk-Padzik A, Chomicz L. Comparative study on usefulness of gentamycin-containing collagen implants in the treatment of patients with osteitis and osteomyelitis of the craniofacial skeleton. *Ann Agric Environ Med*. 2017;24(2):299-302. doi:10.5604/12321966.1235182.
65. Varga M, Sixta B, Bem R, Matia I, Jirkovska A, Adamec M. Application of gentamycin-collagen sponge shortened wound healing time after minor amputations

- in diabetic patients - a prospective, randomised trial. *Arch Med Sci.* 2014;10(2):283-287. doi:10.5114/aoms.2014.42580.
66. Mendel V, Simanowski H-J, Scholz HC, Heymann H. Therapy with gentamicin-PMMA beads, gentamicin-collagen sponge, and cefazolin for experimental osteomyelitis due to *Staphylococcus aureus* in rats. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2005;125(6):363-368. doi:10.1007/s00402-004-0774-2.
67. Nair M, Krishnan A. Antibiotic releasing biodegradable scaffolds for osteomyelitis. *Curr Drug Deliv.* 2014;11(6):687-700. doi:10.2174/1567201811666140414120002.
68. Wahl P, Guidi M, Benninger E, et al. The levels of vancomycin in the blood and the wound after the local treatment of bone and soft-tissue infection with antibiotic-loaded calcium sulphate as carrier material. *Bone Joint J.* 2017;99-B(11):1537-1544. doi:10.1302/0301-620X.99B11.BJJ-2016-0298.R3.
69. Luo S, Jiang T, Yang Y, Yang X, Zhao J. Combination therapy with vancomycin-loaded calcium sulfate and vancomycin-loaded PMMA in the treatment of chronic osteomyelitis. *BMC Musculoskelet Disord.* 2016;17(1):502. doi:10.1186/s12891-016-1352-9.
70. McConoughey SJ, Howlin RP, Wiseman J, Stoodley P, Calhoun JH. Comparing PMMA and calcium sulfate as carriers for the local delivery of antibiotics to infected surgical sites. *Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials.* 2015;103(4):870-877. doi:10.1002/jbm.b.33247.
71. Niikura T, Lee SY, Iwakura T, Sakai Y, Kuroda R, Kurosaka M. Antibiotic-impregnated calcium phosphate cement as part of a comprehensive treatment for patients with established orthopaedic infection. *J Orthop Sci.* 2016;21(4):539-545. doi:10.1016/j.jos.2016.05.003.
72. Yan R, Zhang C, Guo Q, Lu J. One-stage compound grafting of antibiotic-impregnated calcium sulfate and autogenous cancellous bone for the treatment of chronic calcaneal osteomyelitis. *Zhongguo Gu Shang.* 2014;27(10):854-857.

73. Uskoković V, Desai TA. Nanoparticulate drug delivery platforms for advancing bone infection therapies. *Expert Opin Drug Deliv.* 2014;11(12):1899-1912. doi:10.1517/17425247.2014.944860.
74. Coraça-Huber DC, Putzer D, Fille M, Hausdorfer J, Nogler M, Kühn K-D. Gentamicin palmitate as a new antibiotic formulation for mixing with bone tissue and local release. *Cell Tissue Bank.* 2014;15(1):139-144. doi:10.1007/s10561-013-9384-y.
75. Stechow D von, Rauschmann MA. Effectiveness of combination use of antibiotic-loaded PerOssal with spinal surgery in patients with spondylodiscitis. *Eur Surg Res.* 2009:298-305. doi:10.1159/000233525.
76. Padrão T, Coelho CC, Costa P, Alegrete N, Monteiro FJ, Sousa SR. Combining local antibiotic delivery with heparinized nanohydroxyapatite/collagen bone substitute: A novel strategy for osteomyelitis treatment. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2021;119:111329. doi:10.1016/j.msec.2020.111329.
77. Citak M, Masri BA, Springer B, Argenson J-N, Kendoff DO. Are Preformed Articulating Spacers Superior To Surgeon-Made Articulating Spacers in the Treatment Of PJI in THA? A Literature Review. *Open Orthop J.* 2015;9:255-261. doi:10.2174/1874325001509010255.
78. Ferrao P, Myerson MS, Schubert JM, McCourt MJ. Cement spacer as definitive management for postoperative ankle infection. *Foot Ankle Int.* 2012;33(3):173-178. doi:10.3113/FAI.2012.0173.
79. Inzana JA, Schwarz EM, Kates SL, Awad HA. A novel murine model of established Staphylococcal bone infection in the presence of a fracture fixation plate to study therapies utilizing antibiotic-laden spacers after revision surgery. *Bone.* 2015;72:128-136. doi:10.1016/j.bone.2014.11.019.
80. Garcia EJ, Sieg RN, Abdelgawad AA. Local application of free antibiotic powder in the treatment of osteomyelitis in a rat model. *Orthopedics.* 2013;36(8):e986-9. doi:10.3928/01477447-20130724-11.
81. Tubaki VR, Rajasekaran S, Shetty AP. Effects of using intravenous antibiotic only versus local intrawound vancomycin antibiotic powder application in addition to

- intravenous antibiotics on postoperative infection in spine surgery in 907 patients. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2013;38(25):2149-2155. doi:10.1097/BRS.000000000000015.
82. Working ZM, Frederiksen H, Drew A, Loc-Carrillo C, Kubiak EN. Bone penetration of locally administered vancomycin powder in a rat femur fracture model. *Injury*. 2017;48(7):1459-1465. doi:10.1016/j.injury.2017.04.040.
83. Khan NR, Thompson CJ, DeCuyper M, et al. A meta-analysis of spinal surgical site infection and vancomycin powder. *J Neurosurg Spine*. 2014;21(6):974-983. doi:10.3171/2014.8.SPINE1445.
84. Romanò CL, Logoluso N, Meani E, et al. A comparative study of the use of bioactive glass S53P4 and antibiotic-loaded calcium-based bone substitutes in the treatment of chronic osteomyelitis: a retrospective comparative study. *Bone Joint J*. 2014;96-B(6):845-850. doi:10.1302/0301-620X.96B6.33014.
85. Shekhar C. An Innovative Technique in Local Antibiotic Delivery Method in Open Infected Wounds of the Musculoskeletal System. *Int J Low Extrem Wounds*. 2019;18(2):153-160. doi:10.1177/1534734619841764.
86. Klasinc R, Augustin LA, Below H, et al. Evaluation of three experimental in vitro models for the assessment of the mechanical cleansing efficacy of wound irrigation solutions. *Int Wound J*. 2018;15(1):140-147. doi:10.1111/iwj.12850.
87. Whiteside LA, Roy ME. One-stage Revision With Catheter Infusion of Intraarticular Antibiotics Successfully Treats Infected THA. *Clin Orthop Relat Res*. 2017;475(2):419-429. doi:10.1007/s11999-016-4977-y.
88. Kataria K, Gupta A, Rath G, Mathur RB, Dhakate SR. In vivo wound healing performance of drug loaded electrospun composite nanofibers transdermal patch. *Int J Pharm*. 2014:102-110. doi:10.1016/j.ijpharm.2014.04.047.
89. Hedetoft M, Bennett MH, Hyldegaard O. Adjunctive hyperbaric oxygen treatment for necrotising soft-tissue infections: A systematic review and meta-analysis. *Diving Hyperb Med*. 2021;51(1):34-43. doi:10.28920/dhm51.1.34-43.

90. Faunø Thrane J, Ovesen T. Scarce evidence of efficacy of hyperbaric oxygen therapy in necrotizing soft tissue infection: a systematic review. *Infect Dis (Lond)*. 2019;51(7):485-492. doi:10.1080/23744235.2019.1597983.
91. Willy C, Rieger H, Vogt D. Hyperbare Oxygenation bei nekrotisierenden Weichteilinfektionen: Kontra. *Chirurg*. 2012;83(11):960-972. doi:10.1007/s00104-012-2284-z.
92. Dryden M. Reactive oxygen therapy: a novel therapy in soft tissue infection. *Current opinion in infectious diseases*. 2017;30(2):143-149. doi:10.1097/QCO.0000000000000350.
93. Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1999;14(4):529-535.
94. Landesberg R, Roy M, Glickman RS. Quantification of growth factor levels using a simplified method of platelet-rich plasma gel preparation. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2000;58(3):297-300. doi:10.1016/S0278-2391(00)90058-2.
95. Wang H-F, Gao Y-S, Yuan T, Yu X-W, Zhang C-Q. Chronic calcaneal osteomyelitis associated with soft-tissue defect could be successfully treated with platelet-rich plasma: a case report. *Int Wound J*. 2013;10(1):105-109. doi:10.1111/j.1742-481X.2012.00951.x.
96. Janko M, Nau C, Marzi I, Frank J. Lokale Antibiotikafixation durch Fibrinbesprühung : Bei Knocheninfekten mit Weichteilbeteiligung. *Chirurg*. 2017;88(2):166-174. doi:10.1007/s00104-016-0320-0.
97. Verboket R, Marzi I, Fleck SC, Frank J, Janko M. Local fixation of antibiotics with fibrin spray on soft tissues: experimental study on the relevance of the application techniques. *Eur J Trauma Emerg Surg*. 2020:635-640. doi:10.1007/s00068-018-1054-0.
98. Kirkland KB, Briggs JP, Trivette SL, Wilkinson WE, Sexton DJ. The impact of surgical-site infections in the 1990s: attributable mortality, excess length of

- hospitalization, and extra costs. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1999;20(11):725-730. doi:10.1086/501572.
99. Anwar H, Dasgupta MK, Costerton JW. Testing the susceptibility of bacteria in biofilms to antibacterial agents. *Antimicrob Agents Chemother.* 1990;34(11):2043-2046. doi:10.1128/aac.34.11.2043.
100. Blaha JD, Calhoun JH, Nelson CL, et al. Comparison of the clinical efficacy and tolerance of gentamicin PMMA beads on surgical wire versus combined and systemic therapy for osteomyelitis. *Clin Orthop Relat Res.* 1993;(295):8-12.
101. Calhoun JH, Anger DM, Ledbetter BR, Cobos JA, Mader JT. The Ilizarov fixator and polymethylmethacrylate-antibiotic beads for the treatment of infected deformities. *Clin Orthop Relat Res.* 1993;(295):13-22.
102. Calhoun JH, Klemm K, Anger DM, Mader JT. Use of antibiotic-PMMA beads in the ischemic foot. *Orthopedics.* 1994;17(5):453-7; discussion 458.
103. Couch L, Cierny G, Mader JT. Inpatient and outpatient use of the Hickman catheter for adults with osteomyelitis. *Clin Orthop Relat Res.* 1987;(219):226-235.
104. Wininger DA, Fass RJ. Antibiotic-impregnated cement and beads for orthopedic infections. *Antimicrob Agents Chemother.* 1996;40(12):2675-2679. doi:10.1128/AAC.40.12.2675.
105. Kose N, Çaylak R, Pekşen C, et al. Silver ion doped ceramic nano-powder coated nails prevent infection in open fractures: In vivo study. *Injury.* 2016;47(2):320-324. doi:10.1016/j.injury.2015.10.006.
106. Pibalpakdee P, Wongratanacheewin S, Taweechaisupapong S, Niumsup PR. Diffusion and activity of antibiotics against *Burkholderia pseudomallei* biofilms. *Int J Antimicrob Agents.* 2012;39(4):356-359. doi:10.1016/j.ijantimicag.2011.12.010.
107. Kelm J, Anagnostakos K, Regitz T, Schmitt E, Schneider G, Ahlhelm F. MRSA-Infektionen des Bewegungsapparats. Behandlung mit intraoperativ herstellbaren Gentamicin-Vancomycin-PMMA-Ketten. *Chirurg.* 2004;75(10):988-995. doi:10.1007/s00104-004-0847-3.

108. Nelson CL, Griffin FM, Harrison BH, Cooper RE. In vitro elution characteristics of commercially and noncommercially prepared antibiotic PMMA beads. *Clin Orthop Relat Res.* 1992;(284):303-309.
109. Metsemakers WJ, Reul M, Nijs S. The use of gentamicin-coated nails in complex open tibia fracture and revision cases: A retrospective analysis of a single centre case series and review of the literature. *Injury.* 2015;46(12):2433-2437. doi:10.1016/j.injury.2015.09.028.
110. Mauffrey C, Hake ME, Chadayammuri V, Masquelet A-C. Reconstruction of Long Bone Infections Using the Induced Membrane Technique: Tips and Tricks. *J Orthop Trauma.* 2016;30(6):e188-93. doi:10.1097/BOT.0000000000000500.
111. Walenkamp GH, Kleijn LL, Leeuw M de. Osteomyelitis treated with gentamicin-PMMA beads: 100 patients followed for 1-12 years. *Acta Orthop Scand.* 1998;69(5):518-522. doi:10.3109/17453679808997790.
112. DiCicco M, Duong T, Chu A, Jansen SA. Tobramycin and gentamycin elution analysis between two in situ polymerizable orthopedic composites. *Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials.* 2003;65(1):137-149. doi:10.1002/jbm.b.10528.
113. Wilson KJ, Cierny G, Adams KR, Mader JT. Comparative evaluation of the diffusion of tobramycin and cefotaxime out of antibiotic-impregnated polymethylmethacrylate beads. *J Orthop Res.* 1988;6(2):279-286. doi:10.1002/jor.1100060216.
114. Metsemakers W-J, Moriarty TF, Nijs S, Pape HC, Richards RG. Influence of implant properties and local delivery systems on the outcome in operative fracture care. *Injury.* 2016;47(3):595-604. doi:10.1016/j.injury.2016.01.019.
115. Hake ME, Young H, Hak DJ, Stahel PF, Hammerberg EM, Mauffrey C. Local antibiotic therapy strategies in orthopaedic trauma: Practical tips and tricks and review of the literature. *Injury.* 2015;46(8):1447-1456. doi:10.1016/j.injury.2015.05.008.

116. Adams K, Couch L, Cierny G, Calhoun J, Mader JT. In vitro and in vivo evaluation of antibiotic diffusion from antibiotic-impregnated polymethylmethacrylate beads. *Clin Orthop Relat Res.* 1992;(278):244-252.
117. Mader JT, Calhoun J, Cobos J. In vitro evaluation of antibiotic diffusion from antibiotic-impregnated biodegradable beads and polymethylmethacrylate beads. *Antimicrob Agents Chemother.* 1997;41(2):415-418. doi:10.1128/AAC.41.2.415.
118. Berríos-Torres SI, Umscheid CA, Bratzler DW, et al. Centers for Disease Control and Prevention Guideline for the Prevention of Surgical Site Infection, 2017. *JAMA Surg.* 2017;152(8):784-791. doi:10.1001/jamasurg.2017.0904.
119. Falagas ME, Kasiakou SK. Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. *Clin Infect Dis.* 2005;40(9):1333-1341. doi:10.1086/429323.
120. Dhillon S. Fibrin sealant (evicel® quixil®/crosseal™): a review of its use as supportive treatment for haemostasis in surgery. *Drugs.* 2011;71(14):1893-1915. doi:10.2165/11207700-000000000-00000.
121. Sendi P, Zimmerli W. Antimicrobial treatment concepts for orthopaedic device-related infection. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18(12):1176-1184. doi:10.1111/1469-0691.12003.
122. Köckerling F, Scheele J, Gall FP. Fibrin sealing in liver surgery. *Acta Chir Austriaca.* 1991;23(3):100-103. doi:10.1007/BF02658858.
123. Merten H-A, Hönig JF, Giesen K, Halling F. Application of the Fibrin Glue Spray System in Surgery of Maxillary Sinuses. In: Schlag G, ed. *Fibrin sealing in surgical and nonsurgical fields.* Berlin: Springer; 1994:152-157.
124. Jackson MR. Fibrin sealants in surgical practice: An overview. *Am J Surg.* 2001;182(2):S1-S7. doi:10.1016/s0002-9610(01)00770-x.
125. Harkin DG, Dawson RA, Upton Z. Optimized delivery of skin keratinocytes by aerosolization and suspension in fibrin tissue adhesive. *Wound Repair Regen.* 2006;14(3):354-363. doi:10.1111/j.1743-6109.2006.00132.x.

126. Yim H, Yang HT, Cho YS, et al. Clinical study of cultured epithelial autografts in liquid suspension in severe burn patients. *Burns*. 2011;37(6):1067-1071. doi:10.1016/j.burns.2011.03.018.
127. Cashman JD, Jackson JK, Mugabe C, et al. The use of tissue sealants to deliver antibiotics to an orthopaedic surgical site with a titanium implant. *J Orthop Sci*. 2013;18(1):165-174. doi:10.1007/s00776-012-0325-6.
128. Shireman PK, Greisler HP. Fibrin sealant in vascular surgery: a review. *J Long Term Eff Med Implants*. 1998;8(2):117-132.
129. Schlag G, Redl H. Fibrin sealant in orthopedic surgery. *Clin Orthop Relat Res*. 1988;227:269-285.
130. Thompson DF, Davis TW. The addition of antibiotics to fibrin glue. *South Med J*. 1997;90(7):681-684. doi:10.1097/00007611-199707000-00005.
131. Boyce ST, Holder IA, Supp AP, Warden GD, Greenhalgh DG. Delivery and activity of antimicrobial drugs released from human fibrin sealant. *J Burn Care Rehabil*. 1994;15(3):251-255. doi:10.1097/00004630-199405000-00009.
132. Itokazu M, Yamamoto K, Yang WY, Aoki T, Kato N, Watanabe K. The sustained release of antibiotic from freeze-dried fibrin-antibiotic compound and efficacies in a rat model of osteomyelitis. *Infection*. 1997;25(6):359-363. doi:10.1007/BF01740818.
133. Kitazawa H, Sato H, Adachi I, Masuko Y, Horikoshi I. Microdialysis assessment of fibrin glue containing sodium alginate for local delivery of doxorubicin in tumor-bearing rats. *Biol Pharm Bull*. 1997;20(3):278-281. doi:10.1248/bpb.20.278.
134. Marone P, Monzillo V, Segù C, Antoniazzi E. Antibiotic-impregnated fibrin glue in ocular surgery: in vitro antibacterial activity. *Ophthalmologica*. 1999;213(1):12-15. doi:10.1159/000027386.
135. Schlosser RJ, Spotnitz WD, Rodeheaver G, Scheld WM, Iezzoni J, Gross CW. Effects of fibrin sealant-containing antibiotics in a rabbit model of chronic sinusitis. *Am J Rhinol*. 2000;14(4):233-240. doi:10.2500/105065800779954464.

136. Tanemoto K, Fujinami H. Experimental study on bacterial colonization of fibrin glue and its prevention. *Clin Ther.* 1994;16(6):1016-1027.
137. Tsourvakas S, Hatzigrigoris P, Tsibinos A, Kanellakopoulou K, Giamarellou H, Dounis E. Pharmacokinetic study of fibrin clot-ciprofloxacin complex: an in vitro and in vivo experimental investigation. *Arch Orthop Trauma Surg.* 1995;114(5):295-297. doi:10.1007/BF00452091.
138. Spotnitz WD, Prabhu R. Fibrin sealant tissue adhesive--review and update. *J Long Term Eff Med Implants.* 2005;15(3):245-270. doi:10.1615/jlongtermeff-medimplants.v15.i3.20.
139. Cheah S-E, Wang J, van Nguyen TT, Turnidge JD, Li J, Nation RL. New pharmacokinetic/pharmacodynamic studies of systemically administered colistin against *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in mouse thigh and lung infection models: smaller response in lung infection. *J Antimicrob Chemother.* 2015;70(12):3291-3297. doi:10.1093/jac/dkv267.
140. Bouchene S, Marchand S, Couet W, et al. A Whole-Body Physiologically Based Pharmacokinetic Model for Colistin and Colistin Methanesulfonate in Rat. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2018;123(4):407-422. doi:10.1111/bcpt.13026.

8 Anhang

8.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Verwendetes Pulver für die Colistimethat-Natrium-Lösung	25
Abbildung 2: Aufbau der Spritzenhalterung DUPLOJECT®	26
Abbildung 3: Sprühvorrichtung für das Antibiotikum-Fibrinkleber-Gemisch.....	27
Abbildung 4: Zur Operation vorbereitete Ratte	29
Abbildung 5: Operationssitus, Weichteilwunde (ca. 100 mm ² , Fazienniveau)	30
Abbildung 6: Besprühte Weichteilwunde: Fibrin glasig schimmernd	31
Abbildung 7: Besprühung der Wundfläche	32
Abbildung 8: Gewebekonzentrationen von Colistin A nach einer Stunde.....	39
Abbildung 9: Gewebekonzentrationen von Colistin A nach zwei Stunden.....	41
Abbildung 10: Gewebekonzentrationen von Colistin A nach vier Stunden	42
Abbildung 11: Übersicht der Gewebekonzentrationen von Colistin A.....	53

8.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Anzahl der Versuchstiere pro Untersuchungsvariablen	28
Tabelle 2: Messwerte für Colistin A	35
Tabelle 3: Standards und Qualitätskontrollen für die Messung von Colistin A.....	37

8.3 Abkürzungsverzeichnis

ABSSSI	Acute Bacterial Skin and Skin Structure Infection
AWMF	Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften
C	Besprühung von Colistin ohne Fibrinfixierung
CaSO ₄	Kalziumsulfat
CDC	Center for Disease Control and Prevention
CF-	konsekutive Besprühung mit Colistin und Fibrinkleber
CF+	simultane Besprühung mit Colistin und Fibrinkleber
CMS	Colistimethat-Sodium (Colistimethat-Natrium)
CRE	Carbapenemresistente Enterobacteriaceae
CS	Colistinsulfat
cSSTI	Complicated Skin and Soft Tissue Infection
DEGUM	Deutsche Gesellschaft für Ultraschall in der Medizin
DGAV	Deutsche Gesellschaft für Allgemein- und Viszeralchirurgie
EMA	European Medicines Agency
ESBL	Extended Spectrum Beta Lactamase
FDA	Food and Drug Administration
GABHS	Gruppe A beta-hämolyisierende Streptokokken
GCCI	Gentamycin Containing Collagen Implants
GCS	Gruppe C Streptokokken
GGG	Gruppe G Streptokokken
H ₂ O ₂	Hydroxylperoxid
HBOT	Hyperbaric Oxygen Treatment
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HQC	High Quality Control
IDSA	Diseases Society of America
IfSG	Infektionsschutzgesetz
ITLS	International Trauma Life Support
ITMP	Institute for Translational Medicine and Pharmacology

KEW	Knochenersatzwerkstoffe
KISS	Krankenhaus-Infektions-Surveillance-System
Kp	Tissue-to-Plasma Partition Coefficient
KRINKO	Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention
LC	Liquid Chromatography
LC-MS-/MS	Liquid-Chromatographie-Massenspektrometrie/Massenspektrometrie
LLOQ	Lower Limit of Quantification
LQC	Lower Quality Control
MALDI-TOF	Matrix-Assisted Laser Desorption Time-of-Flight
MMA	Methylmethacrylat-Monomeren
MQC	Medium Quality Control
MRGN	Multiresistente gramnegativen Bakterien
MRSA	Methicillin-resistenter Staphylokokkus aureus
NaCl	Natriumchlorid
NGS	Next Generation Sequencing
NPWT	Negative Pressure Wound Therapy
nSSTI	Necrotizing Skin and Soft Tissue Infection
O ₂ -	Superoxid Anion
O ₂₂ -	Peroxid
OH-	Hydroxyl-Ionen
PMMA	Polymethylmethacrylat
PMMA-ALC	Polymethylmethacrylat-Antibiotic-Loaded-Cement
PRP	Platelet Rich Plasma
qSOFA	Quick Sequential Organ Failure Assessement
RKI	Robert Koch-Institut
RNA	Ribonucleic Acid
ROS	Reactive Oxygen Species
S2k	Leitlinie der Stufe 2, konsensbasiert
SDSE	Streptococcus dysgalactiae subs. equisimilis
SIRS	Systemisches inflammatorisches Responsesyndrom

spp	Species (Plural)
SSI	Surgical Site Infection
SSTI	Skin and Soft Tissue Infection
STD	Standard
ULOQ	Upper Limit of Quantification
uSSTI	Uncomplicated Skin and Soft Tissue Infection
VAC	Vacuum Assisted Closure
VRE	Vancomycinresistente Enterokokken
WB-PBPK	Whole-Body Physiologically Based Pharmacokinetic Model
WHO	Weltgesundheitsorganisation
ZAFES	Zentrum für Arzneimittelforschung, -Entwicklung und -Sicherheit
ZFE	Zentrale Forschungseinrichtung

8.4 Danksagung

Ganz herzlich bedanken möchte ich mich beim gesamten Team des Wissenschaftlichen Labors der Klinik für Unfall-, Hand- und Wiederherstellungschirurgie der Goethe-Universität, Frankfurt am Main, unter der Leitung von Professor Dr. Ingo Marzi, dabei vor allem:

Privatdozentin Dr. med. Maren Janko für die Überlassung des Themas, die wissenschaftliche Betreuung und die Unterstützung bei der Versuchsdurchführung,

Professor Dr. phil. nat. Dirk Henrich für den unerschöpflichen Fundus an thematischen und wissenschaftlichen Hinweisen und die vielen angenehmen und konstruktiven Gespräche sowie

den Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen des Fraunhofer Institute for Translational Medicine and Pharmacology ITMP, Frankfurt am Main, und des Pharmazentrums Frankfurt/ZAFES, Institute of Clinical Pharmacology, Frankfurt am Main.

Mein besonderer Dank gilt meinen Eltern und meiner Schwester Samira. Das Selbstvertrauen in mich, das ich nicht zuletzt für dieses Werk benötige, habe ich euch zu verdanken.

Die letzten Worte dieser Arbeit gebühren Lisanne und Alma – ihr seid mein Leben.

8.5 Schriftliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die dem Fachbereich Medizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Dissertation mit dem Titel

Lokale Fixierung von Colistin durch Fibrinbesprühung in einem In-vivo-Weichteilmodell als Therapieoption der Haut- und Weichteilinfektion

in dem Zentrum der Chirurgie – Klinik für Unfall-, Hand- und Wiederherstellungschirurgie unter Betreuung und Anleitung von PD Dr. med. Maren Janko mit Unterstützung von Prof. Dr. Ingo Marzi, Prof. Dr. phil. nat. Dirk Henrich, Prof. Dr. Johannes Frank und PD Dr. René Danilo Verboket ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe. Darüber hinaus versichere ich, nicht die Hilfe einer kommerziellen Promotionsvermittlung in Anspruch genommen zu haben.

Ich habe bisher an keiner in- oder ausländischen Universität ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht. Die vorliegende Arbeit wurde bisher nicht als Dissertation eingereicht.

Vorliegende Ergebnisse der Arbeit wurden in folgendem Publikationsorgan veröffentlicht:

Autoren

Maren Janko MD, PhD, Fabian Dust, Pia Viktoria Wagner, Robert Gurke, PhD, Johannes Frank MD, PhD, Dirk Henrich, PhD, Ingo Marzi MD, PhD, René Danilo Verboket MD, PhD

Titel

Local fixation of colistin with fibrin spray: an *in vivo* animal study for the therapy of skin and soft tissue infections

Zeitschrift

Frontiers in Surgery – Reconstructive and Plastic Surgery

Band, Veröffentlichung

Vol. 9, 17 March 2022 | <https://doi.org/10.3389/fsurg.2022.749600>

(Ort, Datum)

(Unterschrift)