

Aus der
Berufsgenossenschaftlichen Unfallklinik
Klinik für Unfall- und Wiederherstellungschirurgie
an der Universität Tübingen

**Die Rolle von AZU1 als alternativer Marker für Infektionen in
der Orthopädie und Unfallchirurgie**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von

Kloppenburger, Lisa Marie

2024

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter: Professor Dr. A. Nüssler

2. Berichterstatter: Privatdozentin Dr. Dr. S. Kluba

Tag der Disputation: 28.08.2024

In ewiger Dankbarkeit meinen Eltern gewidmet.

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	8
Tabellenverzeichnis	11
Abkürzungsverzeichnis	12
Gender-Disclaimer	15
1 Einleitung.....	16
1.1 Hintergrund.....	16
1.2 Infektionen	17
1.2.1 Postoperative Wundinfektion	17
1.2.2 Periprothetische Infektionen	18
1.2.3 Sepsis.....	21
1.3 Infektionspatienten der Berufsgenossenschaftlichen Unfallklinik Tübingen.....	22
1.4 AIQNET/KIKS	22
1.5 Klassische Laborparameter für Infektionen	23
1.5.1 C-reaktives Protein (CRP)	23
1.5.2 Leukozyten	24
1.5.3 α -Defensin	24
1.5.4 Procalcitonin (PCT).....	25
1.5.5 Azurocidin 1 (AZU1) als neuer Marker	25
1.6 Fragestellung.....	27
1.7 Ziele.....	28
2 Material und Methoden	29

2.1	Material	29
2.1.1	Ethikantrag	29
2.1.2	Fragebögen	29
2.1.3	ELISA-Kits	30
2.1.4	Chemikalien.....	30
2.1.5	Geräte	31
2.1.6	Softwares	32
2.2	Methoden	32
2.2.1	Studienpopulation	32
2.2.2	Patienteneinschluss.....	33
2.2.1	Ablauf der Studie	37
2.2.2	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA).....	38
2.2.3	Statistik.....	40
3	Ergebnisse	42
3.1	Patientenkollektiv	42
3.1.1	Infektionskohorte	42
3.1.2	Kontrollgruppen	44
3.2	Ergebnisse der Analysen	45
3.2.1	Darstellung nach Feineinteilung des Patientenkollektivs	45
3.2.2	Zwischenfazit und neue Einteilung.....	51
3.2.3	Ergebnisse nach neuer Einteilung	52
3.2.4	Analyse nach Keimnachweis	62

3.2.5	Analyse nach OP-Zeitpunkt	66
3.2.6	Bivariate Korrelationsanalyse (JMP)	70
4	Diskussion	71
4.1	Studienpopulation	71
4.2	Zeitpunkt der Studienaufnahme	72
4.3	Einfluss der pathogenen Keime	73
4.4	Vergleich von Testverfahren und deren Praktikabilität	74
4.4.1	Infektionsdiagnostik bei Verdacht auf postoperative Wundinfektion	74
4.4.2	Infektionsdiagnostik bei Verdacht auf eine periprothetische Infektion	75
4.4.1	CRP als diagnostischer Infektionsmarker	77
4.4.1	Leukozyten als diagnostischer Infektionsmarker	79
4.4.1	AZU1 als diagnostischer Infektionsmarker	81
4.4.2	α -Defensin als diagnostischer Infektionsmarker	83
4.4.3	PCT als diagnostischer Infektionsmarker	84
4.5	Einfluss des akuten Frakturereignisses in der „Trauma Kontrolle“	85
5	Limitationen	87
6	Ausblick	89
6.1	Einbeziehung von AZU1 in Folgestudien	89
6.2	Schlussfolgerungen für den klinischen-Alltag	90
7	Zusammenfassung	91
8	Anhang	94
8.1	Tabellarische Zusammenfassung des gesamten Patientenkollektivs nach neuer Einteilung (JMP)	94

8.2	Verteilungshistogramme der CRP-, Leukozyten-, AZU1-, α-Defensin- und PCT-Konzentrationen (JMP)	95
8.3	Bivariate Korrelationsanalyse nach Spearman (JMP)	96
8.3.1	Gruppe „Weichteildefekt/-infekt“	96
8.3.2	Gruppe „Implantat-/Endoprotheseninfekt“	97
8.3.3	Gruppe „Restliche“	98
8.3.4	Gruppe „Trauma Kontrolle“	99
8.3.5	Gruppe „Endo Kontrolle“	100
9	Literaturverzeichnis	101
10	Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift.....	114
11	Veröffentlichungen.....	116
12	Danksagung	117

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Flowchart: Klassifikation der postoperativen Wundinfektion gemäß des KISS des NRZ, basierend auf den Definitionen der CDC (19).....	18
Abbildung 2: Darstellung der Lokalisation von AZU1 (grün) in einem neutrophilen Granulozyten (70-72).....	25
Abbildung 3: Darstellung der Lokalisation von AZU1 (grün) in U2OS-Zellen durch indirekte Immunfluoreszenz und konfokale Mikroskopie (70-72).....	26
Abbildung 4: ROC-Kurven von AZU1 (HBP)-, PCT- und CRP-Plasma-Konzentrationen zur Diagnose einer Sepsis/septischem Schock (68)	27
Abbildung 5: Flussdiagramm zum Ablauf der Studie (erstellt mit BioRender.com)	37
Abbildung 6: Schematische Darstellung zum Ablauf des Sandwich-ELISA (erstellt mit BioRender.com)	38
Abbildung 7: Flussdiagramm der Infektionskohorte.....	42
Abbildung 8: Kuchendiagramm zur Feineinteilung der Infektionskohorte	43
Abbildung 9: Kuchendiagramm zur Grobeinteilung der Infektionskohorte	44
Abbildung 10: Box-Plots: CRP-Konzentrationen für die Feineinteilung des Patientenkollektivs.....	46
Abbildung 11: Box-Plots: Leukozyten-Konzentrationen für die Feineinteilung des Patientenkollektivs.....	47
Abbildung 12: Box-Plots: AZU1-Konzentrationen für die Feineinteilung des Patientenkollektivs.....	48
Abbildung 13: Box-Plots: α -Defensin-Konzentrationen für die Feineinteilung des Patientenkollektivs.....	49

Abbildung 14: Box-Plots: PCT-Konzentrationen für die Feineinteilung des Patientenkollektivs.....	50
Abbildung 15: Kuchendiagramm zur neuen Einteilung des gesamten Patientenkollektivs.....	51
Abbildung 16: Box-Plots: CRP-Konzentrationen für die neue Einteilung des Patientenkollektivs.....	52
Abbildung 17: Box-Plots: Leukozyten-Konzentrationen für die neue Einteilung des Patientenkollektivs.....	53
Abbildung 18: Box-Plots: AZU1-Konzentrationen für die neue Einteilung des Patientenkollektivs.....	54
Abbildung 19: Box-Plots: α -Defensin-Konzentrationen für die neue Einteilung des Patientenkollektivs.....	55
Abbildung 20: Box-Plots: PCT-Konzentrationen für die neue Einteilung des Patientenkollektivs.....	56
Abbildung 21: ROC-Kurve: „Trauma Ktrl.“ vs. Infektionskohorte	58
Abbildung 22: ROC-Kurve: „Endo Ktrl.“ vs. Infektionskohorte	59
Abbildung 23: ROC-Kurve: „Endo Ktrl.“ vs. „Implantat-/Endoprotheseninfekt“ .	61
Abbildung 24: Kuchendiagramm zum Keimnachweis der Infektionspatienten .	62
Abbildung 25: Box-Plots: Analyse nach Keimnachweis für CRP und Leukozyten	63
Abbildung 26: Box-Plots: Analyse nach Keimnachweis für AZU1 und α -Defensin	64
Abbildung 27: Box-Plots: Analyse nach Keimnachweis für PCT	65
Abbildung 28: Box-Plots: Analyse nach OP-Zeitpunkt für AZU1	66

Abbildung 29: Box-Plots: Analyse nach OP-Zeitpunkt für α -Defensin	67
Abbildung 30: Box-Plots: Analyse nach OP-Zeitpunkt für PCT	67
Abbildung 31: ROC-Kurve: „Endo Ktrl.“ vs. „Implantat-/Endoprotheseninfekt“ präoperativ	69
Abbildung 32: Schematische Darstellung von Neutrophilen bei Infektion und Entzündung (127).....	80
Abbildung 33: Zeitdiagramm: Beteiligte Immunzellen nach Gewebeschädigung (149).....	86
Abbildung 34: Verteilungshistogramme für die Konzentrationen von CRP, Leukozyten, AZU1, α -Defensin und PCT (erstellt mit JMP).....	95
Abbildung 35: Bivariate Korrelationsanalyse nach Spearman für die Gruppe „Weichteildefekt/-infekt“	96
Abbildung 36: Bivariate Korrelationsanalyse nach Spearman für die Gruppe „Implantat-/Endoprotheseninfekt“	97
Abbildung 37: Bivariate Korrelationsanalyse nach Spearman für die Gruppe „Restliche“	98
Abbildung 38: Bivariate Korrelationsanalyse nach Spearman für die Gruppe „Trauma Kontrolle“	99
Abbildung 39: Bivariate Korrelationsanalyse nach Spearman für die Gruppe „Endo Kontrolle“	100

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Liste verwendeter ELISA-Kits	30
Tabelle 2: Verwendete Chemikalien R&D Systems®	30
Tabelle 3: Verwendete Chemikalien von RayBio®	31
Tabelle 4: Liste verwendeter Geräte	31
Tabelle 5: Liste verwendeter Softwares	32
Tabelle 6: Clavien-Dindo Klassifikation (89, 90)	36
Tabelle 7: p-Werte mit entsprechenden Signifikanzen (GraphPad Prism) (91)	41
Tabelle 8: ROC-Analyse: „Trauma Ktrl.“ vs. Infektionskohorte	57
Tabelle 9: ROC-Analyse: „Endo Ktrl.“ vs. Infektionskohorte	59
Tabelle 10: ROC-Analyse: „Endo Ktrl.“ vs. „Implantat-/Endoprotheseninfekt“ ..	60
Tabelle 11: ROC-Analyse: Präoperative „Endo Ktrl.“ vs. „Implantat- /Endoprotheseninfekte“ (nur präoperative Werte)	68
Tabelle 12: Tabellarische Zusammenfassung des gesamten Patientenkollektivs (nach neuer Einteilung, erstellt mit JMP)	94

Abkürzungsverzeichnis

AUC.....	Area Under the Curve
AUDIT-C.....	Alcohol Use Disorders Identification Test
AZU1	Azurocidin 1
BGU	Berufsgenossenschaftliche Unfallklinik
BSG.....	Blutsenkungsgeschwindigkeit
CAP37.....	kationisches antimikrobielles Protein mit 37 kDa
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CGM.....	CompuGroup Medical
CI.....	Confidence Interval
COM.....	chronische Osteomyelitis
CRP.....	C-reaktivem Protein
DNA.....	Desoxyribonukleinsäure
DRG	Diagnosis Related Groups
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
EPI	Endoprotheseninfekt
EQ-5D-5L	European Quality of Life 5 Dimensions 3 Level Version
FINDRISK.....	Finnish Diabetes Risk Score
HBP	heparin-binding protein
HRP.....	Horseradish Peroxidase
ID.....	Identifikationsnummer
II	Implantatinfekt
I-PSA.....	Infekt-Pseudarthrose
IT	Informationstechnik
KIKS.....	Künstliche Intelligenz für klinische Studien

KIS Krankenhausinformationssystem
 KISS Krankenhaus-Infektions-Surveillance-System
 KliDo Klinische Dokumentation
 Ktrl. Kontrolle
 mNGS metagenomische Next-Generation-Sequencing
 MSIS Musculoskeletal Infection Society
 NETs Neutrophil Extracellular Traps
 NRZ
 ... Nationales Referenzzentrum für Surveillance von nosokomialen Infektionen
 ns nicht signifikant
 OP Operation
 PCR polymerase chain reaction
 PCT Procalcitonin
 PJI Prosthetic Joint Infection
 qSOFA quick Sequential Organ Failure Assessment
 Rest Restliche
 RKI Robert Koch-Institut
 ROC Receiver Operating Characteristic
 ROS reaktive Sauerstoffradikalen
 SA septische Arthrodese
 SF Short Form
 SOFA Sequential Organ Failure Assessment
 SSI Surgical Site Infection
 SSIRS Surgical Site Infection Risk Score
 SWI Siegfried-Weller-Institut
 TMB Tetramethylbenzidin

W.A.R.-Score Wounds-at-risk-Scrore
WTI..... Weichteildefekt/-infekt

Gender-Disclaimer

Um die Lesbarkeit dieser Arbeit zu verbessern, wird das generische Maskulinum verwendet. Alle männlichen Formulierungen sprechen gleichermaßen alle Geschlechter an.

1 Einleitung

1.1 Hintergrund

Im Jahr 2021 wurden basierend auf der fallpauschalenbezogenen Krankenhausstatistik (DRG(Diagnosis Related Groups)-Statistik) knapp 16,2 Millionen Patienten vollstationär behandelt (1). Dabei wurden knapp 60,7 Millionen Operationen und medizinische Verfahren, wie z.B. Endoskopien oder Biopsien, durchgeführt (1). Postoperative Wundinfektionen stellen in diesem Kontext nach Infekten der Harnwege die zweithäufigste Ursache nosokomialer Infektionen dar (2). Je nach Jahr und Klinikschwerpunkt wechseln sich die erstplatzierten Positionen jedoch ab. In der Beobachtungsstudie von Ott *et al.* (2013) wiesen von 1047 untersuchten Patienten 29 % eine postoperative Wundinfektion und 16 % Harnwegsinfekte als nosokomiale Infektionen auf (3). Gemäß OP-Krankenhaus-Infektions-Surveillance-Systems (KISS) (Surveillance von operierten Patienten) lag die durchschnittliche Wundinfektionsrate 2006 bei 1,8 % (4). Ungefähr zwei bis fünf Prozent der 2021 operierten Patienten zeigten Anzeichen einer postoperativen Wundinfektion, wobei dieses Risiko von individuellen Faktoren, wie Eingriffsart und -umgebung, beeinflusst wird (2). Weiterhin stellen Infektionen nach Endoprothesen-Implantation oder erfolgter Osteosynthese schwerwiegende Komplikationen nach einem orthopädischen Eingriff dar, insbesondere beim Vorliegen offener Frakturen oder zusätzlichen Weichteilsdefekten (5). Bei geschlossenen Frakturen liegt die Infektionsrate bei ein bis fünf Prozent, mit zunehmendem Ausmaß der Verletzung mit komplexem Weichteilschaden kann sie jedoch deutlich ansteigen (6-8). Für Kliniken, die eine große Anzahl an Patienten behandeln, kann neben den persönlichen Folgen für die Betroffenen zusätzlich ein großer wirtschaftlicher Schaden entstehen. Das Auftreten einer Infektion erfordert eine sofortige Behandlung mit zusätzlichen Maßnahmen und verlängert so den stationären Aufenthalt, was zusätzlicher personeller Ressourcen und finanzieller Mittel bedarf (9-12). Folglich ist eine Vermeidung einer Infektion bzw. deren schnelle Behandlung im Interesse aller.

1.2 Infektionen

1.2.1 Postoperative Wundinfektion

Postoperative Wundinfektionen bezeichnen alle Infektionen, die nach einer Operation auftreten, unabhängig von der Lokalisation, der Eingriffsart und der Ursache (2). Epidemiologisch liegen die postoperativen Infektionen in den letzten Jahren immer unter den führenden drei Platzierungen nosokomialer Infektionen (12, 13), folglich handelt es sich um eine klinisch hoch relevante Thematik. Die in der englischsprachigen Literatur als „Surgical Site Infection“ (SSI) bezeichnete Entität entsteht durch einen Gewebekontakt mit pathogenen Keimen und hat negativen Einfluss auf den Krankheitsverlauf und das Outcome der Patienten (2, 12). Im Verlauf können chronische Komplikationen wie Osteomyelitiden oder postinfektiöse Arthrosen entstehen, im Ernstfall sogar eine lebensbedrohliche Sepsis (2). Das wiederum bedeutet prolongierte Krankenhausaufenthalte verbunden mit weiteren Kosten, eine erhöhte Morbidität und Mortalität sowie eine verminderte Lebensqualität für die Betroffenen (10, 12, 14, 15). Um effektiv vorbeugende Maßnahmen gegen eine Infektion zu treffen und angemessen zu handeln, ist eine Einstufung der Patienten anhand ihres individuellen Risikos, eine postoperative Wundinfektion zu erleiden, wichtig (12, 16, 17). Im Jahr 1992 hat sich die durch die amerikanischen „Centers for Disease Control and Prevention“ (CDC) veröffentlichte Klassifikation international durchgesetzt (18). Darauf basierend hat das deutsche KISS des nationalen Referenzzentrums für Surveillance von nosokomialen Infektionen (NRZ) 2018 eine modifizierte Klassifikation für postoperative Wundinfektionen veröffentlicht (Abbildung 1), welche die Diagnose einer Infektion erleichtern soll (12, 19). Je nach zutreffenden Kriterien bzw. vorliegenden Symptomen wird zwischen oberflächlicher und tiefer postoperativer Wundinfektion und postoperativer Körperhöhlen-/Organinfektion unterschieden (19).

EINLEITUNG

Infektion nach einer OP (entsprechend der unten aufgeführten Kriterien)					
an der Inzisionsstelle, die nur Haut oder subkutanes Gewebe mit einbezieht <input type="checkbox"/>	an der Inzisionsstelle, die Faszienschicht und Muskelgewebe mit einbezieht <input type="checkbox"/>	die Organe oder Körperhöhlen erfasst, die während der Operation geöffnet wurden oder an denen manipuliert wurde <input type="checkbox"/>	und		
erste Symptome der Infektion innerhalb von 30 Tagen nach OP <input type="checkbox"/>	erste Symptome der Infektion innerhalb von 30 Tagen bzw. 90 Tagen nach OP in Abhängigkeit von der OP-Art <input type="checkbox"/>		und		
und mind. ein Kriterium		und mind. ein Kriterium	und mind. ein Kriterium		
• Eitrige Sekretion aus der oberflächlichen Inzision <input type="checkbox"/>	• Eitrige Sekretion aus der Tiefe <input type="checkbox"/>	• Eitrige Sekretion aus Drainage mit Zugang zum OP-Gebiet <input type="checkbox"/>			
• Erregernachweis aus aseptisch entnommenem Material von Inzision/ subkutanem Gewebe <input type="checkbox"/>	• Alle 3 folgenden: <input type="checkbox"/> 1. Ein Anzeichen: Fieber (>38°C) oder Schmerz oder Berührungsempfindlichkeit und 2. spontane Dehissenz/ bewusste Eröffnung und 3. Erregernachweis	• Erregernachweis aus aseptisch entnommenem Material <input type="checkbox"/>			
• Eines der folgenden (es darf jedoch keine negative mikrobiol. Untersuchung vorliegen): – Schmerz/ Berührungsempfindlichkeit – lokalisierte Schwellung – Rötung/ Überwärmung und – bewusste Eröffnung der Inzision <input type="checkbox"/>	• Abszess oder sonstige Infektionszeichen (festgestellt bei z.B. OP, Untersuchung, Bildgebung) <input type="checkbox"/>	• Abszess oder sonstige Infektionszeichen (festgestellt bei z.B. OP, Untersuchung, Bildgebung) <input type="checkbox"/>			
• Diagnose Wundinfektion durch behandelnden Arzt <input type="checkbox"/>	• Diagnose Wundinfektion durch behandelnden Arzt <input type="checkbox"/>	• Diagnose Wundinfektion durch behandelnden Arzt <input type="checkbox"/>			
A1	A2	A3			
oberflächliche postop. Wundinfektion	tiefe postop. Wundinfektion	postop. Körperhöhlen-/Organinfektion			

Abbildung 1: Flowchart: Klassifikation der postoperativen Wundinfektion gemäß des KISS des NRZ, basierend auf den Definitionen der CDC (19)

Weitere Scoring-Systeme, wie der „Surgical Site Infection Risk Score“ (SSIRS) oder der „Wounds-at-risk-Score“ (W.A.R.-Score), zielten auf Erkennung von Risikofaktoren und -patienten ab, jedoch konnte sich keines im klinischen Alltag etablieren (12, 20, 21).

1.2.2 Periprothetische Infektionen

Eine erfolgreiche Endoprothesenimplantation lindert Schmerzen, stellt die Funktion des betroffenen Gelenkes und die Selbstständigkeit der Patienten wieder her und führt so zu einer enormen Verbesserung der Lebensqualität (22). Neben Hüft- und Kniegelenkersatz sind auch Endoprothesen für Schulter-,

EINLEITUNG

Ellenbogen- und Sprunggelenk verfügbar und die Gesamtzahl an implantierten Prothesen nimmt stetig zu (23). Eine Infektion einer solchen Gelenkendoprothese, im englischsprachigen Raum unter „Prosthetic Joint Infection“ (PJI) bekannt, stellt zwar eine seltene, aber schwerwiegende Komplikation nach Gelenkersatz mit schlechter Prognose dar (22, 24-26). Betroffene Patienten weisen eine bis zu fünffach höhere Mortalitätsrate auf (23). Um eine ausreichende Funktion zu erhalten bzw. wiederherzustellen und eine zunehmende Morbidität der Patienten zu vermeiden, spielen auch hier eine frühzeitige Erkennung und Behandlung eine fundamentale Rolle (22).

Periprothetische Infektionen können Schmerzen, Schwellungen, Erytheme und Entzündungen im betroffenen Gebiet verursachen (22, 27, 28). Zur Vermeidung einer verzögerten oder falschen Diagnose wird geraten, jede schmerzhafteste Gelenkprothese bis zum Beweis des Gegenteils vorläufig als potenzielle Infektion zu betrachten (26). Man unterscheidet die akute von der chronischen periprothetischen Infektion (26, 29). Die akute Infektion tritt entsprechend kurz nach Implantation auf und zeigt sich mit deutlichen Symptomen, in der Folge ist oft die sofortige Entfernung der Prothese notwendig (26). Die chronische Variante entwickelt sich über einen längeren Zeitraum von mindestens vier Wochen, zeigt mildere Symptome und erfordert komplexe und langfristige Behandlungsansätze, welche oft operative Revisionen inkludieren (26, 29, 30). In beiden Fällen bedarf es einer adäquaten medizinischen Behandlung, die eine Antibiotikatherapie und operative Eingriffe mit teilweise mehrzeitigem Vorgehen erforderlich macht, abhängig vom Schweregrad der Infektion und der Temporalität (akut/chronisch) (27, 29, 31, 32).

Die erste Definition einer periprothetischen Infektion wurde 2011 durch die Musculoskeletal Infection Society (MSIS) veröffentlicht, um die Diagnose durch eine standardisierte Definition zu erleichtern (33, 34). Hier wird zwischen Major- und Minor-Kriterien zur Diagnostik unterschieden, anhand derer das Vorliegen einer Infektion definiert wird (33, 35). Diese berücksichtigen Probeentnahmen, Erregernachweise, Serum- und Synovialtests sowie das Vorhandensein von Pus im betroffenen Gelenk (33). Infektionen, die innerhalb

EINLEITUNG

des ersten Jahres nach Implantation auftreten, werden durch die Einschleppung von pathogenen Keimen während der Operation durch direkten Kontakt oder Aerosolkontamination der Prothese ausgelöst (22). Dabei kann bereits ein kleines Inokulum an Keimen auf der Prothesenoberfläche eine Infektion etablieren (22). Es ist weiterhin bekannt, dass auch durch hämatogene Ausbreitung eine Gelenkprotheseninfektion entstehen kann (36).

Zur Diagnose einer periprothetischen Infektion werden derzeit Testungen von Serum und Synovialflüssigkeit herangezogen, um die Konzentrationen von C-reaktivem Protein (CRP), Leukozyten, Procalcitonin (PCT), α -Defensin sowie die Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG) zu ermitteln (37, 38).

1.2.3 Sepsis

Eine Sepsis ist als lebensbedrohlicher Zustand definiert, welcher durch eine Infektion ausgelöst wird und mit Organdysfunktionen und Regulationsstörungen des Wirtes einhergeht (39). Eine systemische Entzündungsreaktion (SIRS: „Systemic Inflammatory Response Syndrome“) kann in Abhängigkeit von Faktoren wie der Virulenz und Menge der Bakterien sowie der immunologischen Abwehrlage und -reaktion des Patienten ihren Verlauf nehmen (40). Folglich stellt es eine schwerwiegende Komplikation einer nicht, zu spät oder falsch behandelten Infektion dar. Eine frühe Diagnose und Therapie spielen auch hier eine fundamentale Rolle, um weitere Komplikationen, wie z.B. septischen Schock oder Multiorganversagen, bestenfalls zu verhindern (39, 40). Nach durchlebter Sepsis kann es durch Folgeschäden zum Post-Sepsis-Syndrom kommen, was die Lebensqualität und auch Lebensdauer weiter massiv einschränken kann (41). Die klassische Sepsis-Diagnostik erfolgt zum einen über eine Ermittlung von Risikofaktoren anhand des „Sequential Organ Failure Assessment (SOFA)-Scores“, anhand dessen sechs Organsysteme nach ihrer Funktionsfähigkeit beurteilt werden (39, 42, 43). Für eine schnelle Verdachtsdiagnose findet zudem der „quick Sequential Organ Failure Assessment (qSOFA)-Score“ Anwendung, welcher ohne Laborwerte mit Messungen am Patientenbett (Atemfrequenz, mentaler Status, systolischer Blutdruck) eine erste Aussage treffen kann (39, 44). Weiterhin sollte bei Verdacht auf Infektion auch eine mikrobiologische Untersuchung mit Abnahme einer oder mehrerer Blutkulturen erfolgen (39, 40). Eine Kontrolle und Überwachung der CRP- und PCT-Serumkonzentrationen wird ebenfalls zur Diagnose und im Verlauf auch zur Steuerung bzw. Überwachung der anti-mikrobiellen Therapie genutzt (39, 45-47).

1.3 Infektionspatienten der Berufsgenossenschaftlichen Unfallklinik Tübingen

In der Berufsgenossenschaftlichen Unfallklinik (BGU) Tübingen finden sich auf der Station E2 Patienten der Abteilung der septischen Unfallchirurgie, die an einer Infektion leiden, welche im Rahmen einer Verletzung oder durch eine Operation auftrat. Hier findet sich ein sehr heterogenes Bild an Erkrankungen. Grob gesprochen handelt es sich um (Wund-)Infektionen mit in der Regel prolongiertem Heilungsverlauf. Die genauen Krankheitsbilder werden im Verlauf in den Ergebnissen genannt. Weiterhin finden sich Patienten, die nach erfolgter Knie- oder Hüft-Totalendoprothesen-Implantation eine periprothetische Infektion entwickeln. Eine Sepsis liegt in der Regel nicht vor.

1.4 AIQNET/KIKS

Es handelt sich bei AIQNET (ehemals KIKS – Künstliche Intelligenz für klinische Studien) um ein bundesweites Projekt, das vom Ministerium für Wirtschaft und Klimaschutz gefördert wurde und auf die Erschaffung eines „Medical Data Ecosystem“ abzielte (48). Sektorübergreifend sollen medizinische Informationen strukturiert und datenschutzkonform mittels einheitlicher Datenmodelle genutzt werden können, unabhängig von verwendeten medizinischen Krankenhausinformations-systemen, Dateiformaten, Technologien oder Organisationen (48, 49). Mittels künstlicher Intelligenz sollen die Daten strukturiert und analysiert werden (48). Die Hauptziele bezeichnen Interoperabilität, eine erfolgreiche Digitalisierung im Gesundheitswesen sowie eine Reduktion von Aufwand und Kosten (48). Die Koordination läuft über die BioRegio STERN Management GmbH aus Stuttgart, Initiator ist die RAYLYTIC GmbH aus Leipzig (49).

In der BGU Tübingen wurden für dieses Projekt Patienten aus den Abteilungen der Traumatologie, Alterstraumatologie, Endoprothetik und der septischen Chirurgie (Patienten mit Infektionen des Bewegungsapparates) eingeschlossen. Aktuell (Stand 29. August 2023) befinden sich knapp 1360 Patienten in der Datenbank.

1.5 Klassische Laborparameter für Infektionen

Zur Diagnostik von Infektionen im klinischen Alltag findet neben dem Beobachten der klassischen Entzündungszeichen (Rubor, Calor, Dolor, Tumor, Functio laesa) vor allem die Bestimmung von laborchemischen Parametern wie Akute-Phase-Proteinen, beispielsweise dem CRP und Leukozyten Anwendung (40, 50). Weiterhin ist die Bestimmung von PCT ein gängiges Verfahren, beispielsweise zur Differenzierung zwischen bakteriellen und viralen Infektionen oder zur Verlaufskontrolle bakterieller Infektionen (47, 51, 52). Im Folgenden werden die wichtigsten Parameter erläutert.

1.5.1 C-reaktives Protein (CRP)

CRP ist Teil der unspezifischen humoralen Immunabwehr und entsprechend an der systemischen Reaktion auf Entzündungen und Gewebeverletzungen beteiligt. Im gesunden Menschen kommt es nur in geringen Mengen im Blutplasma vor, kann nach einem akuten Entzündungsreiz jedoch bis auf das 1.000-fache ansteigen (53). Durch Interleukin-6-Stimulation kommt es innerhalb weniger Stunden zur gesteigerten CRP-Synthese durch Hepatozyten und folgend zu einer gesteigerten Plasmakonzentration (53). Weiterhin zählt das Protein zu den Akute-Phase-Proteinen und ist beispielsweise bei akuten, v.a. bakteriellen Entzündungen, Nekrosen, chronisch-entzündlichen Prozessen, postoperativ, bei Herzinfarkt oder auch Tumorerkrankungen erhöht (54). Ein wichtiger Anwendungsbereich ist die Unterscheidung zwischen bakteriellen und viralen Infektionen, um die Entscheidung über eine antiinfektive Therapie zu beeinflussen (55).

1.5.2 Leukozyten

Leukozyten umfassen alle weißen Blutzellen, die sich in drei Hauptgruppen, bestehend aus Lymphozyten, Granulozyten und Monozyten, aufteilen, welche in weitere Subtypen unterteilt werden können (56-58). Als Teil der Immunantwort können zirkulierende Leukozyten über Adhäsion aus dem Blutkreislauf durch Venenwände hindurch in das Zielgewebe einwandern (transendotheliale Migration) (57). Hier ist das Ziel, den Entzündungsauslöser zu beseitigen und die Gewebereparatur zu unterstützen (57). Zu einer Leukozytose, sprich einer Erhöhung der Leukozytenzahl auf über 10.000/ μl im Blut, kann es beispielsweise bei einer Infektion, einer Sepsis, Tumorerkrankungen oder auch autoimmunen Reaktionen kommen (56).

1.5.3 α -Defensin

α -Defensin ist ein Peptid, das von aktivierten Neutrophilen freigesetzt wird und eine Vielzahl an antimikrobiellen Eigenschaften besitzt (59, 60). Beispielsweise ist es fähig, die Zellmembran von Pathogenen zu zerstören, einige gram-positive und gram-negative Bakterien sowie Pilze und Viren zu hemmen und es kann Neutrophile anlocken sowie die Phagozytose steigern (59, 61). Folglich handelt es sich um aktive Akteure, die sowohl die angeborene als auch erworbene Immunität gegen verschiedene Infektionen modulieren können (59).

Eine besondere Relevanz hat die Bestimmung von α -Defensin bei der Diagnostik von periprothetischen Gelenkinfektionen (24, 62, 63), die vornehmlich durch die Konzentrationsermittlung in Synovialpunktaten aus den betroffenen Gelenken erfolgt.

Liegt in der BGU Tübingen ein Infektionsverdacht vor, wird das betroffene Gelenk punktiert und die Probe nach Hamburg in das Labor Dr. Fenner und Kollegen geschickt, um die α -Defensin-Konzentration im Punktat mittels standardmäßiger Enzymimmunoassays (Enzyme-linked immunosorbent Assay, kurz ELISA) zu bestimmen. Das Labor ist derzeit bundesweit das einzige, das eine α -Defensin Testung anbietet (64).

1.5.4 Procalcitonin (PCT)

PCT ist ebenfalls ein bereits bekannter, wirksamer Marker zur Identifikation bakterieller Infektionen (65). Es handelt sich um die Peptidvorstufe von Calcitonin, welche unter physiologischen Bedingungen in der Schilddrüse produziert wird (66). Entsprechend liegen zirkulierende PCT-Konzentrationen bei gesunden Probanden unter der Nachweisgrenze (66, 67). Eine Infektion oder systemische Entzündung löst die PCT-Produktion jedoch auch in nicht-thyroidalem Gewebe aus, woraufhin es bereits nach zwei Stunden zu einem Anstieg des Serumspiegels kommt (46, 66, 67). Anhand der Serumkonzentrationen von PCT kann eine Unterscheidung zwischen bakteriellen, viralen und nicht-infektiösen Entzündungszuständen erfolgen (46, 47).

1.5.5 Azurocidin 1 (AZU1) als neuer Marker

Azurocidin 1 (AZU1), in der englisch-sprachigen Literatur auch oft heparin-binding protein (HBP) oder kationisches antimikrobielles Protein mit 37 kDa (CAP37) genannt, liegt vorproduziert in azuphilinen Granula und sekretorischen Vesikeln von Neutrophilen (Untergruppe der Leukozyten) vor, grün dargestellt in

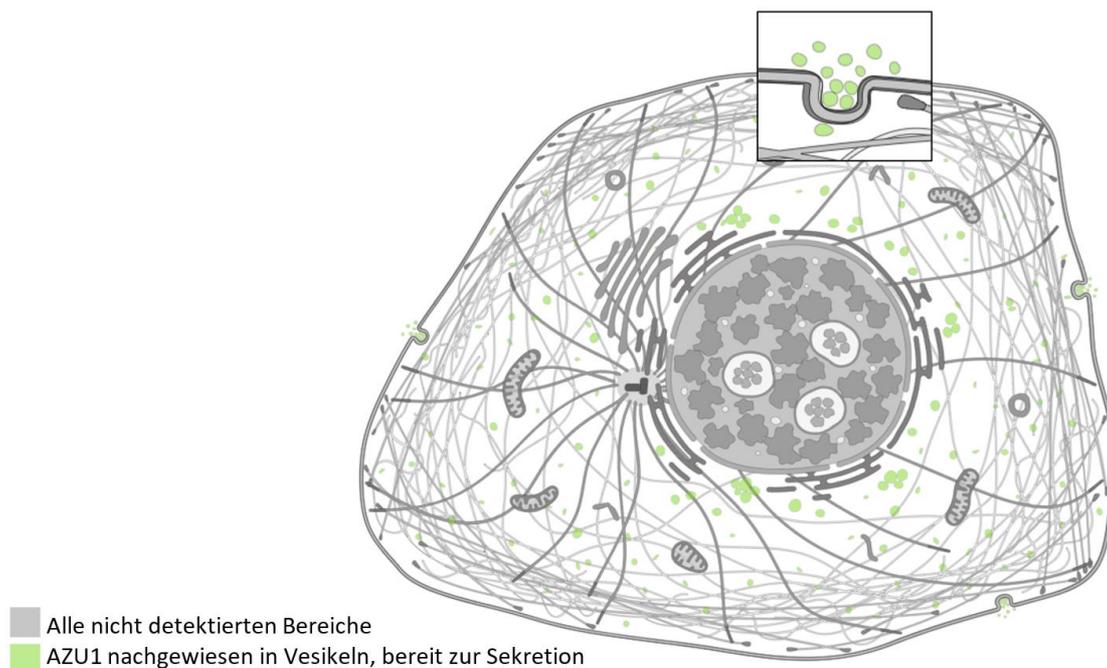


Abbildung 2: Darstellung der Lokalisation von AZU1 (grün) in einem neutrophilen Granulozyten (70-72)

EINLEITUNG

Abbildung 2 (68-72). Bei Stimulation ist es entsprechend bereit zur Sekretion und wird nicht erst produziert (68). Eine Ausschüttung durch Exozytose wird durch bakterielle Infektionen induziert (69) und hat wichtige Funktionen im frühen Entzündungsprozess (68). So führt AZU1 zu einer erhöhten Gefäßpermeabilität und hat entzündungsfördernde Wirkungen auf eine Vielzahl von Leukozyten und Epithelzellen (69). Beispielsweise wird die Phagozytose von Makrophagen verbessert und Monozyten werden aktiviert und rekrutiert (73, 74).

In Abbildung 3 ist durch indirekte Immunfluoreszenz und entsprechende Fluoreszenzmikroskopie durch ein Konfokalmikroskop der Antikörper vom AZU1-Gen (HPA055851) in U2OS-Zellen leuchtend grün dargestellt (70-72). Diese Zelllinie wurde aus Osteosarkomen isoliert und wird aufgrund ihrer Eigenschaften, wie beispielsweise schnellem Wachstum und Stabilität, vielseitig in der biomedizinischen Forschung verwendet (75-77). In Grün erkennt man auch hier wieder die Lokalisation des Plasmaproteins AZU1 in sekretorischen Vesikeln.

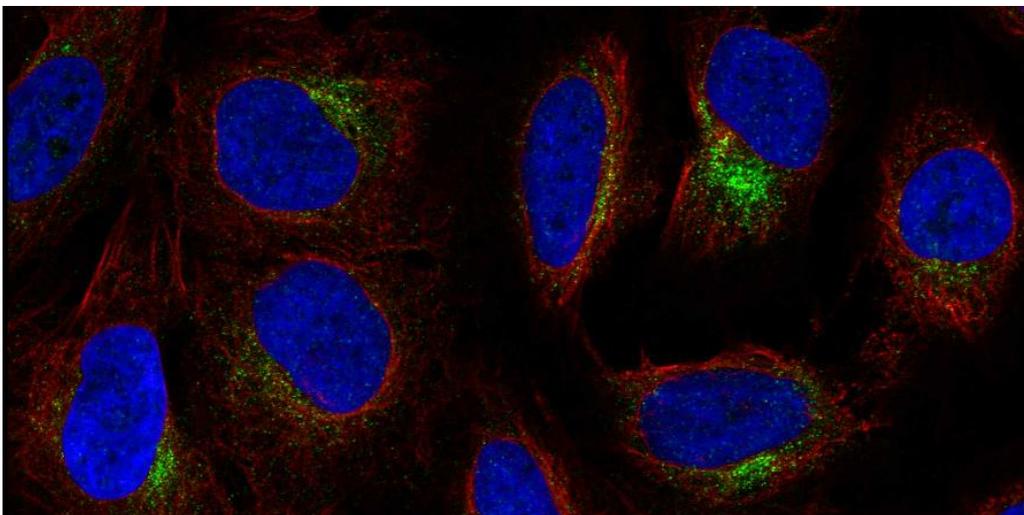


Abbildung 3: Darstellung der Lokalisation von AZU1 (grün) in U2OS-Zellen durch indirekte Immunfluoreszenz und konfokale Mikroskopie (70-72)

1.6 Fragestellung

Die Idee der Fragestellung nach der Kompetenz des Markers AZU1 (HBP) stammt aus einer chinesischen Studie von Zhou *et al.* (2019), welche Marker zur Diagnose einer Sepsis respektive eines septischen Schocks untersuchte. Septische Patienten zeigten im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe signifikant höhere AZU1-Konzentrationen im Blut (68). Die Receiver Operating Characteristic (ROC)-Kurve zur Sepsisdiagnostik (Abbildung 4) zeigte für AZU1 die besten Werte (Area under the curve (AUC): 0,893) verglichen mit PCT (AUC: 0,856) und dem CRP (AUC: 0,699) (68). Mit einem Cut-off von $\geq 28,1$ ng/ml für AZU1 liegt die Sensitivität bei 84,9 % und die Spezifität bei 78,3 % (68).

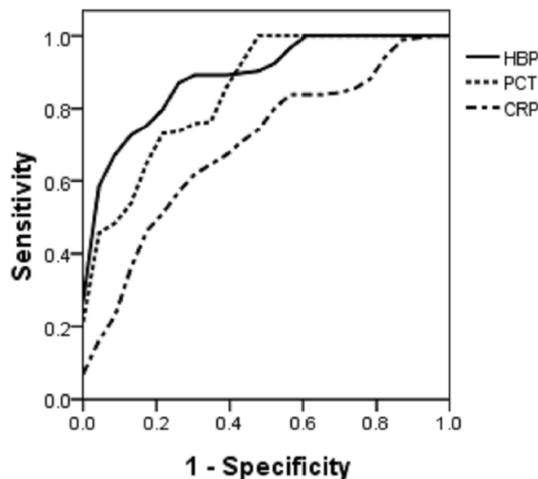


Abbildung 4: ROC-Kurven von AZU1 (HBP)-, PCT- und CRP-Plasma-Konzentrationen zur Diagnose einer Sepsis/septischem Schock (68)

Auf diesen Ergebnissen keimte die Frage nach der Kompetenz des Markers in früheren Infektionsphasen.

1.7 Ziele

Eine schnelle Erkennung sowie eine optimierte Behandlung einer Infektion sind die Schlüssel für eine erfolgreiche Therapie und Reduktion der Mortalität (39, 78, 79). Die bereits bekannten Infektions-Marker CRP, Leukozyten, α -Defensin und PCT sollen reevaluiert sowie die Kompetenz des neuen Markers AZU1 beurteilt werden. Das langfristige Ziel dieser Arbeit ist es, durch Anpassung oder Hinzunahme von Tests die Dauer bis zur Diagnose einer Infektion zu verkürzen und so den Therapieerfolg durch früheren Therapiebeginn zu erhöhen. Bis ein Keimnachweis vorliegt und der Patient klassische Entzündungszeichen entwickelt, kann oft unnötig Zeit vergehen, während die Infektion anhand bestimmter Marker im Blut womöglich schon erkennbar ist. Je nach Anzuchtdauer und Virulenz der Keime vergehen in der BGU Tübingen zwischen fünf und 14 Werktagen bis zur Identifikation (24). Die Mortalität steigt bei septischen Patienten mit jeder Stunde einer verzögerten angemessenen antiinfektiven Therapie um ca. sieben Prozent bei Vorliegen eines Kreislaufkollapses (80), was die Signifikanz einer frühen Diagnose unterstreicht.

2 Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Ethikantrag

Die Förderung des Projektes AIQNET/KIKS erfolgte durch das Bundesministerium für Wirtschaft und Klimaschutz der Bundesrepublik Deutschland (Förderungsnummer: FKZ 01MK20003G).

Der Ethikantrag wurde für das Gesamtprojekt und somit auch für diese Arbeit unter folgender Nummer gestellt: 346 / 2015BO2 (genehmigt am 08.07.2020).

2.1.2 Fragebögen

Die Befragung der Probanden setzt sich insgesamt aus zehn, teils validierten und teils nicht-validierten Fragebögen zusammen. Letztere wurden durch das AIQNET/KIKS-Team erstellt und umfassen vier Fragebögen mit insgesamt 19 bis 22 Fragen:

- „Fragenkomplex medizinische Vorgeschichte“ (drei Fragen)
- „Fragenkomplex Mobilität und Umfeld“ (fünf Fragen)
- „Fragenkomplex Beruf und Bildung“ (vier bis sieben Fragen)
- „Fragenkomplex Ernährungshindernisse“ (sieben Fragen)

Weitere 33 bis 38 Fragen finden sich in sieben validierten Fragebögen:

- „FINDRISK (Finnish Diabetes Risk Score) Diabetesrisiko“ (81) (acht Fragen)
- „Nutrition Risk Screening (NRS 2002)“ (82) (vier bis sechs Fragen)
- „AUDIT-C (Alcohol Use Disorders Identification Test) Alkoholkonsum“ (83) (drei Fragen)
- „Ultrakurzfragebogen Aktivrauchen des RKI (Robert Koch-Institut)“ (84) (eine bis vier Fragen)

MATERIAL UND METHODEN

- „EQ-5D-5L (European Quality of Life 5 Dimensions 3 Level Version)“: Fragen zum Gesundheitszustand: Beweglichkeit, alltäglichen Tätigkeiten, Schmerzen, Niedergeschlagenheit (85, 86) (fünf Fragen)
- „SF (Short Form)-12“: Allgemeiner Gesundheitsfragebogen (87, 88) (zwölf Fragen)

2.1.3 ELISA-Kits

Tabelle 1: Liste verwendeter ELISA-Kits

ELISA-Kits	Hersteller	Katalognummer
Human Azurocidin/CAP37/HBP	RayBio®	ELH-AZU1
Human α -Defensin 1	R&D Systems®	DY8198-05
Human Procalcitonin	R&D Systems®	DY8350-05

2.1.4 Chemikalien

Tabelle 2: Verwendete Chemikalien R&D Systems®

R&D Systems®	Bestandteile	Katalognummer
PBS	137 mM NaCl, 2,7 mM KCl, 8,1 mM Na ₂ HPO ₄ , 1,5 mM KH ₂ PO ₄ , pH 7,2-7,4, 0,2 μ m filtered	DY006
Wash Buffer	0,05% Tween® 20 in PBS, pH 7,2-7,4	WA126
Reagent Diluent	1% BSA in PBS, pH 7,2-7,4, 0,2 μ m filtered	DY995
Substrate Solution	1:1 mixture of Color Reagent A (H ₂ O ₂) and Color Reagent B (Tetramethylbenzidine)	DY999
Stop Solution	2 N H ₂ SO ₄	DY994

MATERIAL UND METHODEN

Tabelle 3: Verwendete Chemikalien von RayBio®

RayBio®	Bestandteile
Wash Buffer Concentrate (20X)	20X concentrated solution.
Standard Protein	Human Azurocidin
Detection Antibody Azurocidin	2 vials of biotinylated anti-Human Azurocidin.
HRP-Streptavidin Concentrate	200 µl 1000X concentrated HRP-conjugated streptavidin.
TMB One-Step Substrate Reagent	12 ml of 3,3,5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) in buffer solution.
Stop Solution	8 ml of 0,2 M sulfuric acid.
Assay Diluent	15 ml of 5X concentrated buffer.

2.1.5 Geräte

Tabelle 4: Liste verwendeter Geräte

Gerät	Typ/Modell	Seriennummer	Hersteller
Kühlschrank	Power Cooling	3523-21 F	Liebherr
Kühlschrank (-80°C)	905	827860-2521	Thermo Fisher Scientific
Spektralphotometer, UV/sichtbares Licht	Fluostar Omega	415-1264	BMG LABTECH GmbH
Dosiergerät - Pipettier Controller	Pipetboy acu	629619	Integra GmbH
Dosiergerät - Pipettier Controller	Rota-Filter 3000	-	Integra GmbH
Schüttler, Labor	DRS 12	11 DE 090	LTF Labortechnik GmbH
Mischer, Klinisches Labor (Vortexer)	LSE Vortex Mixer	1101243	Corning Incorporated
Zentrifuge	SI DD 58	DD 58-1001	Scientific Industries Inc.

2.1.6 Softwares

Tabelle 5: Liste verwendeter Softwares

Programm	Hersteller	Version
Microsoft Excel	Microsoft Corporation	16.0.16626.20170
Microsoft Word	Microsoft Corporation	16.0.16626.20170
Omega Software	BMG Labtech	5.70
JMP®	SAS Institute Inc.	16.2.0 (570548)
GraphPad Prism	GraphPad Software, Inc.	8.0.1.244
Endnote 20	Clarivate Analytics	20.6

2.2 Methoden

2.2.1 Studienpopulation

Im Rahmen der AIQNET/KIKS-Studie wurden prospektiv Patienten aus den Abteilungen der Endoprothetik, Traumatologie, Alterstraumatologie und septischen Unfallchirurgie aufgenommen. Diese klinisch-experimentelle Arbeit konzentrierte sich auf die Station der septischen Unfallchirurgie E2 der BGU Tübingen, wo sich vor allem Patienten mit (Wund-)Infektionen fanden. Eine akute Sepsis lag in der Regel nicht vor.

Die Patientenakquirierung für diese Arbeit fand in Zusammenarbeit mit dem Klinischen Studienzentrum der BGU Tübingen vom 22. Juli 2020 bis zum 09. August 2022 statt. Um für den Pool der Infektionspatienten Kontrollgruppen zu generieren, wurden zudem Patienten aus der Traumatologie und Endoprothetik mit in diese Studie einbezogen, da sich sowohl infiziertes Osteosynthesematerial als auch infizierte Endoprothesen in der Infektionskohorte vorfanden.

2.2.2 Patienteneinschluss

Nach Einwilligung der Patienten (Broad Consent) umfasste die Aufnahme in die Studie das Abnehmen zusätzlicher Monovetten im Rahmen der Routine-Blutentnahme, eine Befragung, die Erfassung klinischer Daten aus dem CGM (CompuGroup Medical) Medico KIS (Krankenhausinformationssystem) (wie z.B. Nebenerkrankungen, Medikamente, Keimnachweis) und ein Follow-Up nach drei und zwölf Monaten. Letzteres erfolgte telefonisch oder über E-Mail-Kontakt und diente der Erfassung des Heilungsverlaufes. Die Patienten wurden zudem informiert, dass bei gewünschtem Studienausstieg keine persönlichen Folgen resultieren und ein Ausstieg jederzeit möglich ist. Anhand von Identifikationsnummern (ID) wurden die Patientendaten für Dritte unkenntlich gemacht. Die unverschlüsselten Daten konnten nur vom habilitierten Betreuer und der Doktorandin eingesehen werden.

2.2.2.1 Einschlusskriterien

Um an der Studie teilnehmen zu können, lag das Mindestalter bei 18 Jahren. Das Einverständnis (Datenschutz, Blut) war Voraussetzung, ebenso wie ein geplanter operativer Eingriff. Es mussten ausreichende Deutschkenntnisse vorhanden sein und es durften keine kognitiven Einschränkungen vorliegen.

2.2.2.2 Ausschlusskriterien

Ein Alter unter 18 Jahren, die Ablehnung der Befragung oder des Follow-Ups, eine konservative Therapie sowie keine mögliche Kommunikation führten zum Ausschluss aus der Studie. Weiterhin verhinderten kognitive Defizite, wie z.B. eine Behinderung oder Demenz, die Teilnahme.

2.2.2.3 Befragung

Start der Befragungen war am 22. Juli 2020. Nach erfolgter Aufklärung und Einwilligung der Patienten erfolgte die Befragung auf den Patientenzimmern in der BGU Tübingen. Zudem wurde jedem Teilnehmer ein Informationsblatt zur Studie sowie eine Kopie der Einwilligungserklärung ausgehändigt.

Die Patienten wurden anfangs mündlich von einer Gruppe Doktoranden befragt, welche die Fragebögen auf Laptops entsprechend ausfüllte. Hier wurde das CGM Medico KIS verwendet, wo die Befragung in der Klinischen Dokumentation (KliDo) digital hinterlegt war.

Im späteren Verlauf der Studie standen auch iPads mit der Heartbeat Medical Software (HRTBT Medical Solutions GmbH) zur Verfügung, mit denen die Patienten die Befragung selbst durchführen konnten. Auf Wunsch oder bei gesundheitlichen oder altersbedingten Einschränkungen (z.B. eingegipster Arm, verminderter Visus) wurde die Befragung in Ausnahmen durch die Doktoranden mündlich durchgeführt und am iPad dokumentiert.

2.2.2.4 Probengewinnung und Prozessierung

Im Rahmen der standardmäßigen Blutentnahme wurden jedem Patienten zusätzlich 7 ml peripher venöses Blut entnommen. Hiervon 2,7 ml in eine EDTA K3E- und 4 ml in eine Serum CAT-Monovette. Nach Entnahme erfolgt die Lagerung im Stations-Medikamentenkühlschrank der Station D2 bei 4°C in dafür vorgesehenen Boxen der AIQNET/KIKS-Studie.

Die Weiterverarbeitung der Monovetten erfolgte 30 bis 60 Minuten nach Abnahme im Siegfried-Weller-Institut (SWI). Hier wurden die Proben zunächst zehn Minuten bei 1000g und 4°C zentrifugiert (Thermo Scientific™ Heraeus Megafuge 40 Universalzentrifuge). Während der Laufzeit der Zentrifuge wurden die Eppendorf-Tubes® mit Studien-ID, Datum, Mitarbeiter-Kürzel und „E“ (EDTA-Plasma), „D“ (Desoxyribonukleinsäure (DNA), Vollblut) oder „S“ (Serum) beschriftet.

Abpipettiert wurden, wenn möglich:

- 3x 450 µl EDTA-Plasma
- 3x 450 µl Serum
- 1x 450 µl Vollblut für DNA (aus dem EDTA-Röhrchen, nachdem das Plasma abpipettiert und nochmal mit der Pipette gemischt wurde)

Im Anschluss erfolgte die Lagerung in dafür vorgesehenen Boxen bei -80°C (Thermo Scientific™ Forma™ 900 Series).

Jede Probenprozessierung wurde handschriftlich im Laborbuch sowie digital in einer Excel-Tabelle dokumentiert.

2.2.2.5 Datenerhebung aus dem CGM Medico KIS

Mithilfe der Informationstechnik (IT)-Abteilung der BGU Tübingen wurden benötigte Patientendaten aus dem CGM Medico KIS exportiert und anonymisiert in einer Excel-Datenbank zusammengefasst. Die gewonnenen Informationen umfassen Aufenthaltsdauer, Komorbiditäten, Medikamente und Blutbilder. Weitere Informationen, wie beispielsweise genaue Diagnosen, der Zeitpunkt der Operation, Keimnachweise und postoperative Komplikationen wurden aufgrund nicht exportierbarer Dateiformate von den Doktoranden für jeden Patienten einzeln recherchiert und dokumentiert. Die Keimnachweise wurden nur nach positivem oder negativem bzw. nicht vorhandenem Nachweis eines Erregers unterteilt, wobei intraoperative und (tiefe) Wund-Abstriche berücksichtigt wurden.

2.2.2.6 Follow-Ups

Nach jeweils drei und zwölf Monaten erfolgten weitere Befragungen per Telefon oder E-Mail. Die Fragebögen „Fragenkomplex Ernährungshindernisse“, „EQ-5D-5L“ und „SF-12“ wurden erneut abgefragt. Weiterhin wurden Komplikationen, Veränderungen in der Lebensweise und eine Gewichtsveränderung erfragt. Die Dokumentation erfolgte anfangs im CGM Medico KIS im Bereich der KliDo, später in der Heartbeat Medical Software. Parallel erfolgte eine zusätzliche Protokollierung des erfolgten Follow-Ups mit entsprechender Komplikationseinteilung in der generierten Datenbank. So wurde der teils interindividuell sehr unterschiedliche postoperative Heilungsverlauf dokumentiert.

2.2.2.7 Komplikationserfassung anhand der Clavien-Dindo Klassifikation

Zur Klassifizierung postoperativer Komplikationen wurde die Clavien-Dindo Klassifikation (Tabelle 6 (89)) von Daniel Dindo und Pierre-Alain Clavien angewandt (90), welche sein Hauptaugenmerk auf die Therapie der entstandenen Komplikation richtet. Die Art der Komplikation wird bei dieser Einteilung nicht abgebildet. Je nach Ausmaß der zusätzlich benötigten Therapie (Medikamente, chirurgische Eingriffe, intensivmedizinische Betreuung) werden fünf Grade mit der Maximalform des Todes unterschieden (89, 90). Grad III und IV beinhalten jeweils die Unterformen a und b, welche für Grad III zwischen chirurgischer Intervention ohne (a) bzw. mit (b) Vollnarkose und für Grad IV zwischen Dysfunktion eines (a) oder mehrerer (b) Organe unterscheidet (89, 90).

Tabelle 6: Clavien-Dindo Klassifikation (89, 90)

Grad	Untergrad	Definition
I		Jede Abweichung vom normalen postoperativen Verlauf ohne Notwendigkeit einer pharmakologischen, operativen, endoskopischen oder radiologischen Intervention. Erlaubtes therapeutisches Regime: Medikamente wie Antiemetika, Antipyretika, Diuretika, Elektrolyte und Physiotherapie
II		Bedarf an medikamentöser Behandlung mit nicht unter Grad I aufgeführten Medikamenten, inklusive parenterale Ernährung und Bluttransfusionen.
III		Komplikationen mit chirurgischem, endoskopischen oder radiologischem Interventionsbedarf .
	IIIa	Ohne Vollnarkose
	IIIb	Mit Vollnarkose
IV		Lebensbedrohliche Komplikation (einschließlich zentralnervöser Komplikation wie Hirnblutung, ischämischer Insult, Subarachnoidalblutung, jedoch exklusive transitorischer ischämischer Attacken), die eine intensivmedizinische Betreuung verlangen.
	IVa	Dysfunktion eines Organs (inklusive Dialyse)
	IVb	Dysfunktionen multipler Organe
V		Tod des Patienten

2.2.1 Ablauf der Studie

Für die vorliegende Arbeit wurden zur Analyse des Patientenpools aus der Datenbank die Mikrobiologie bzw. der Keimnachweis und die CRP- und Leukozyten-Werte herangezogen. Für das CRP und die Leukozyten wurde jeweils das erste Blutbild, das bei initialer Aufnahme auf die Station erstellt wurde, verwendet, um einen realistischen und möglichst unverfälschten Wert zu haben. Auch das Follow-Up nach drei und zwölf Monaten zur Dokumentation der Komplikationen bzw. des Heilungsverlaufes wurde bei der Analyse berücksichtigt. Weiterhin wurden zur Untersuchung von den genannten potenziellen Markern mit den gesammelten Blutproben ELISAs durchgeführt und entsprechend ausgewertet. Da der Fokus dieser Arbeit auf der Fragestellung nach der Kompetenz der Marker liegt, wurden die Fragebögen, die im Rahmen der AIQNET/KIKS-Studie mit erhoben wurden, nicht ausgewertet. Ebenso haben für dieses Thema die Komorbiditäten und Medikamente keine Relevanz.

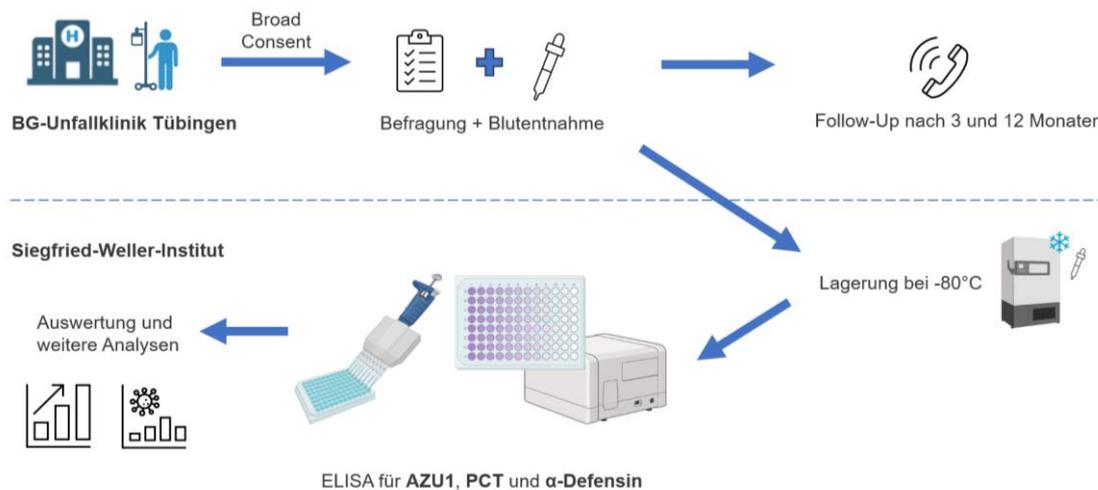


Abbildung 5: Flussdiagramm zum Ablauf der Studie (erstellt mit BioRender.com)

2.2.2 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Zur quantitativen Analyse von AZU1, α -Defensin und PCT wurde ein Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) durchgeführt. Hierbei handelt es sich um ein schnelles und sensitives Nachweisverfahren, um ein gesuchtes Protein (Antigen) mittels Enzym-gebundenen Detection-Antikörper zu detektieren. In Abbildung 6 ist der Ablauf schematisch dargestellt.

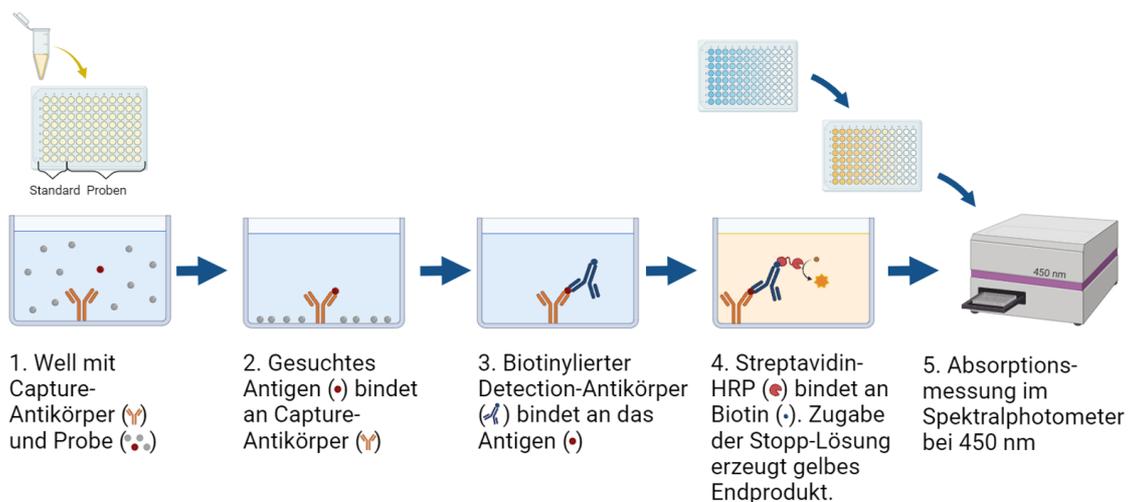


Abbildung 6: Schematische Darstellung zum Ablauf des Sandwich-ELISA (erstellt mit BioRender.com)

Die Proben, in denen das gesuchte Protein nachgewiesen werden sollte, wurden auf eine Mikrotiterplatte mit 96 Wells gegeben, von denen jedes Well mit dem spezifischen Capture-Antikörper des gesuchten Antigens beschichtet war (91). Die nachzuweisenden Antigene konnten während einer Inkubationszeit (nach Herstellerangaben) an die fixierten Antikörper binden (Schritt 2 in Abbildung 6) (91). Im Anschluss wurde die Platte mit Waschpuffer ausgewaschen, um alle ungebundenen Substanzen zu entfernen (91). Nach Zugabe des biotinylierten Detection-Antikörpers (Schritt 3 in Abbildung 6) und weiterer Inkubation folgte ein weiterer Waschvorgang. Nun wurde eine Streptavidin-Horseradish Peroxidase (HRP) zugegeben (Schritt 4 in Abbildung 6). Es handelt sich um ein Enzym, das an den in den Wells gebundenen Antikörper-Antigen-Antikörper-Komplex („Sandwich“-Verfahren) bindet und diesen durch die Katalyse einer Farbreaktion nachweisen kann. Diese Farbreaktion wurde nach einem weiteren Waschvorgang durch die Zugabe einer Substrat-Lösung initiiert. Es wurde

MATERIAL UND METHODEN

Tetramethylbenzidin (TMB) als Substrat verwendet, welches durch die Streptavidin-HRP ein blau gefärbtes Produkt erzeugt und durch die Zugabe von Schwefelsäure (Stopp-Lösung, 2 N H₂SO₄) in ein gelbes Endprodukt umgewandelt wird. Die durch Substratzugabe verursachte Farbänderung korreliert mit der Menge des gesuchten Antigens der Originalprobe (91, 92). Die Absorption des farbigen Endproduktes wurde bei 450 nm im Spektralphotometer (Fluostar Omega, BMG LABTECH GmbH) gemessen (Schritt 5 in Abbildung 6).

Zur Analyse von AZU1 wurde ein Kit von RayBio® verwendet. α-Defensin und PCT wurden mit Kits der Firma R&D Systems® bestimmt.

2.2.3 Statistik

Zur statistischen Auswertung wurden folgende Programme genutzt:

- Microsoft Excel (Version: 16.0.16626.20170, Washington (USA))
- GraphPad Prism (Version: 8.0.1.244, GraphPad Software, Boston (USA))
- JMP (Version: 16.2.0, SAS Institute Inc., Cary, North Carolina (USA))

Um Ausreißer zu detektieren, wurden alle Messwerte der Column analysis – Identify Outliers (GraphPad Prism, ROUT 0,1 %) unterzogen. Entsprechend ist mit N immer die Anzahl der verbleibenden Messwerte ohne Outlier angegeben.

Die mit GraphPad Prism erstellten Box-Plots (Mean und SD) zur Beurteilung der Wertverteilung bilden jeweils Whisker bis zum 5. und 95. Perzentil ab (Punkte unter bzw. oberhalb der Whisker werden als einzelne Punkte abgebildet).

Zur Beurteilung der Verteilungen der Messwerte wurden Verteilungshistogramme mit JMP erstellt. Der nicht-parametrische Mann-Whitney U Test (GraphPad Prism) fand Anwendung zum Vergleich zwischen zwei nicht normalverteilten Gruppen. Das Signifikanzniveau wurde auf $p \leq 0,05$ festgelegt (vgl. Tabelle 7).

Zum Vergleich innerhalb eines normalverteilten Markers wurde zusätzlich der parametrische One-Way ANOVA F-Test (GraphPad Prism) durchgeführt.

Um mehrere Gruppen mit einer Kontrollgruppe zu vergleichen, wurde der ebenfalls nicht-parametrische Kruskal-Wallis Test (GraphPad Prism) verwendet.

Im Falle einer vorliegenden Nicht-Signifikanz (ns) wurde teilweise, sofern angegeben, aus Gründen der Übersichtlichkeit auf die Darstellung in entsprechenden Box-Plots verzichtet.

MATERIAL UND METHODEN

Um den Vorhersagewert der Biomarker zu ermitteln, wurden Receiver Operating Characteristic (ROC) Kurven mit zugehöriger Analyse angefertigt (GraphPad Prism). Diese Analysemethode zielte darauf ab, die Unterscheidungsfähigkeit eines diagnostischen Tests zu bewerten, indem Sensitivität und Spezifität in Beziehung gesetzt wurden. Die Area Under the Curve (AUC) und das 95 % Confidence Interval (CI) wurden berechnet. Anhand der Berechnung des Youden-Index (Microsoft Excel) wurde der ideale Cut-off Wert festgelegt.

Zur Ermittlung der Zusammenhänge zwischen den Markerkonzentrationen innerhalb der verschiedenen Gruppen wurde weiterhin eine bivariate Korrelationsanalyse (JMP) mit Ermittlung der jeweiligen nicht-parametrischen Spearman-Korrelation ρ durchgeführt.

Alle Ergebnisse/Tests wurden im Rahmen einer statistischen Beratung mit Herrn Prof. Dr. Blumenstock, dem stellvertretenden Leiter des Instituts für Klinische Epidemiologie und angewandte Biometrie in Tübingen, besprochen und optimiert.

Tabelle 7: p-Werte mit entsprechenden Signifikanzen (GraphPad Prism) (91)

p-Wert	Bedeutung	Zusammenfassung
< 0,0001	Extrem signifikant	****
0,0001-0,001	Extrem signifikant	***
0,001-0,01	Sehr signifikant	**
0,01-0,05	Signifikant	*
$\geq 0,05$	Nicht signifikant	ns

3 Ergebnisse

3.1 Patientenkollektiv

3.1.1 Infektionskohorte

Von 198 Patienten mit Infektion, die im Rahmen der AIQNET/KIKS-Studie bis zum 09. August 2022 aufgenommen wurden, mussten 41 ausgeschlossen werden. Grund dafür war entweder eine konservative Therapie, kein Vorliegen verwendbarer Blutproben oder die Ablehnung des Follow-Ups. Insgesamt verblieben 157 Infektionspatienten für diese Arbeit.

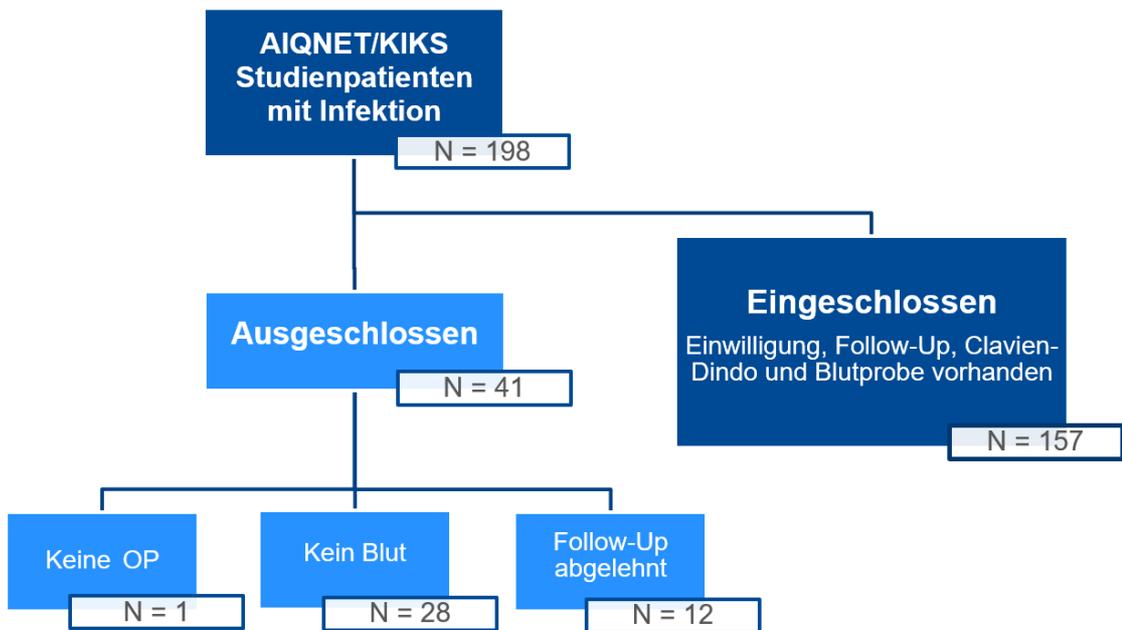


Abbildung 7: Flussdiagramm der Infektionskohorte

Betrachtet man den Pool hinsichtlich der vorliegenden Grunderkrankungen, zeigt sich ein sehr heterogenes Bild (vgl. Abbildung 8). Zur Kategorisierung wurden folgende Einteilungen gewählt:

- „**Weichteildefekt/-infekt**“: Nekrosen, Ulzera, Wundheilungsstörungen
- „**Implantatinfekt**“: Infektion nach erfolgter Osteosynthese-Operation
- „**Endoprotheseninfekt**“: Infektion einer Knie- oder Hüft-Endoprothese

ERGEBNISSE

- **„Chronische Osteomyelitis“:** Chronische Infektion des Knochens
- **„Infekt-Pseudarthrosen“:** Ausbleibende knöchernerne Ausheilung einer Fraktur aufgrund einer Infektion
- **„Septische Arthrodesen“:** Chirurgische Gelenkversteifung bei Infektion
- **„Aseptisch“:** In diesem Fall Patienten, bei denen ein initialer Infektionsverdacht bestand, der sich im Verlauf jedoch nicht bestätigt hat. Hier finden sich Patienten mit Frakturen und (Pseud-)Arthrosen.

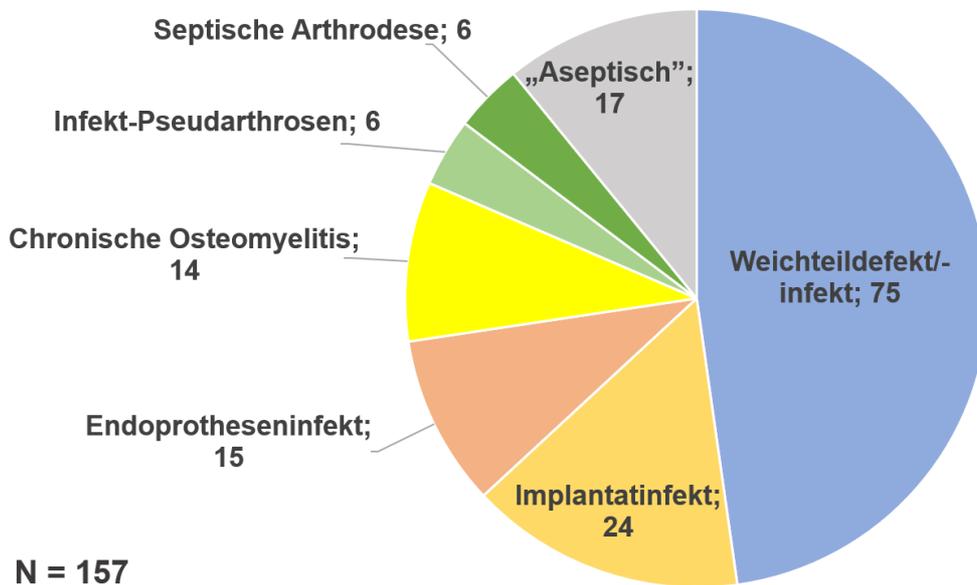


Abbildung 8: Kuchendiagramm zur Feineinteilung der Infektionskohorte

Da diese Gruppen mit teilweise nur sechs Probanden für statistische Analysen zu klein waren, wurde zu folgenden Kategorien zusammengefasst:

- **„Weichteildefekt/-infekt“**
- **„Implantat-/Endoprotheseninfekt“**
- **„Restliche“:** „Chronische Osteomyelitis“, „Infekt-Pseudarthrosen“, „septische Arthrodesen“, „Aseptisch“

Die folgende Abbildung 9 zeigt die nun größeren Gruppen.

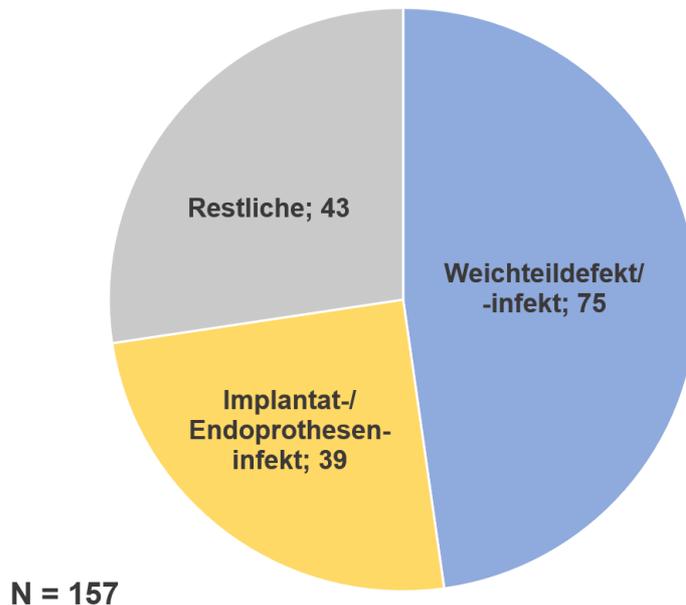


Abbildung 9: Kuchendiagramm zur Grobeinteilung der Infektionskohorte

3.1.2 Kontrollgruppen

Da die Gruppe der „Implantat-/Endoprotheseninfekt“ mit 39 Probanden die zweitgrößte und homogenste Gruppe ist, wurde versucht, hierzu geeignete Kontrollgruppen zu finden. Folgende Kriterien wurden bei der Auswahl der Kontrollpatienten beachtet:

- Follow-Up stattgefunden (nach drei und zwölf Monaten)
- Ausreichend vorhandenes Serum
- Stattgehabter operativer Eingriff
- Komplikationslose Heilung (Kein Grad der Clavien-Dindo Klassifikation für Komplikationen nach drei und zwölf Monaten)

Aus dem Pool der Endoprothetik wurden insgesamt 33 Proben verwendet, wobei zusätzlich darauf geachtet wurde, dass nur primäre Hüft- oder Knieprothesen-Patienten eingeschlossen wurden ohne zweizeitige Einbauten, Spacer- oder Prothesen-Wechsel.

Als Gegenstück zu den Patienten mit infizierten Osteosynthesematerialien wurde sich am Pool der Trauma-Patienten bedient, hier waren 32 Proben verfügbar, die die oben genannten Kriterien erfüllten.

Zusammen entsprachen die 65 Kontrollpatienten ca. 30 % des Gesamtpools (222 Proben).

3.2 Ergebnisse der Analysen

3.2.1 Darstellung nach Feineinteilung des Patientenkollektivs

Da sich innerhalb der neun Gruppen „Trauma Kontrolle“ (Ktrl.), „Endo Kontrolle“, „Weichteildefekt/-infekt“ (WTI), „Implantatinfekt“ (II), „Endoprotheseninfekt“ (EPI), „chronische Osteomyelitis“ (COM), „Infekt-Pseudarthrose“ (I-PSA), „septische Arthrodese“ (SA) und „Aseptisch“ deutliche Konzentrationsunterschiede zeigten, wurde sich auch für die Darstellung dieser kleinen Gruppen entschieden. Die roten gestrichelten Linien in den Box-Plot-Diagrammen markieren jeweils die Grenzwerte der Marker.

Die nachfolgende Abbildung (Abbildung 10) zeigt die aus der Patientenakte entnommenen CRP-Konzentrationen innerhalb dieser Gruppen. In den Angaben des Labors der BGU Tübingen ist ein Wert von > 5 mg/l als erhöht definiert. Für die „Trauma Kontrolle“ ergab der Kruskal-Wallis Test keinen signifikanten Unterschied, weshalb auf dessen Darstellung (nicht signifikant = ns) verzichtet wurde.

ERGEBNISSE

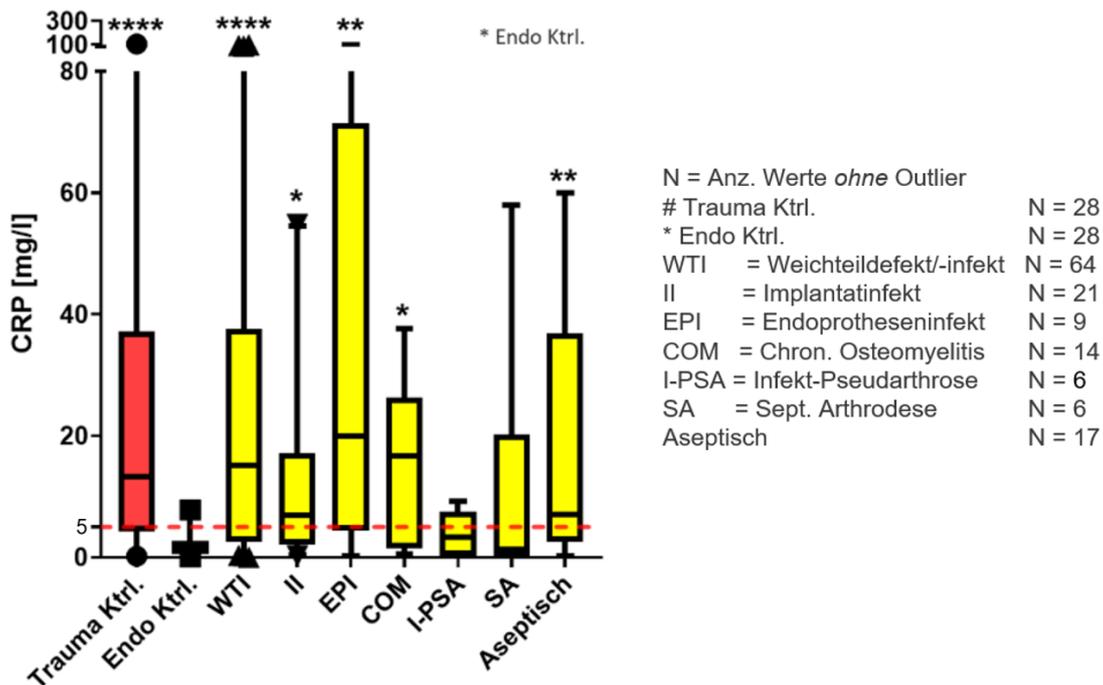


Abbildung 10: Box-Plots: CRP-Konzentrationen für die Feineinteilung des Patientenkollektivs

Es ist zu erkennen, dass die „Trauma Kontrolle“ insgesamt über dem Grenzwert von 5 mg/l liegt. Hingegen zeigt die Kontrolle aus der Abteilung der Endoprothetik die geringsten Konzentrationen. Die Gruppe „Weichteildefekt/-infekt“ zeigt einen hoch signifikanten Unterschied ($p \leq 0,0001$) verglichen mit der „Endo Kontrolle“, gefolgt von der Gruppe der „Endoprotheseninfekte“ ($p \leq 0,01$). Da Letztere mit neun Probanden die kleinste Gruppe ist, fällt die Signifikanz entsprechend geringer aus. Auch die Gruppen „Aseptisch“ ($p \leq 0,01$), „Implantatinfekt“ ($p \leq 0,05$) und „chronische Osteomyelitis“ ($p \leq 0,05$) haben signifikant höhere Konzentrationen als die „Endo Kontrolle“. Außer den Patienten mit „Infekt-Pseudarthrose“ und „septischer Arthrodese“ sind alle weiteren Infektionspatienten im Mittel oberhalb des CRP-Grenzwertes lokalisiert. Auffällig ist noch, dass die „Trauma Kontrolle“ signifikant höhere Werte als die „Endo Kontrolle“ aufweist ($p \leq 0,0001$) und sich auf dem Niveau der Infektionspatienten wiederfindet.

ERGEBNISSE

Die Leukozyten-Konzentrationen (Abbildung 11) des jeweils ersten Blutbildes liegen im Gegensatz zu den CRP-Werten in allen Gruppen im Mittel unterhalb des vom Labor der BGU Tübingen angegebenen Grenzwertes von 10.000/ μ l. Da die Leukozyten als einzige Messwerte normalverteilt sind (s. Anhang: Abbildung 34: Verteilungshistogramme für die Konzentrationen von CRP, Leukozyten, AZU1, α -Defensin und PCT (erstellt mit JMP)), fand nur hier der parametrische One-Way ANOVA F-Test Anwendung. Nur die „Endo Kontrolle“ liegt im Gruppenvergleich insgesamt niedriger und zeigt eine Signifikanz ($p \leq 0,05$) zur Gruppe der „Weichteildefekte/-infekte“. Auch hier zeigt die „Trauma Kontrolle“ zu keiner Gruppe eine Signifikanz, weshalb auf die Darstellung (ns) verzichtet wurde.

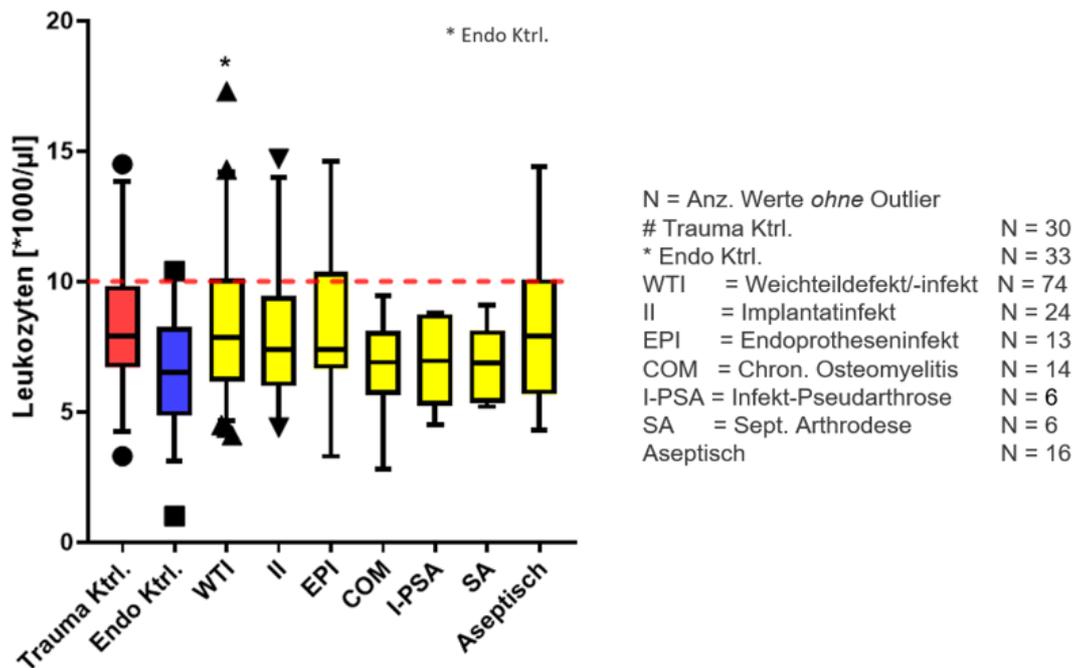


Abbildung 11: Box-Plots: Leukozyten-Konzentrationen für die Feineinteilung des Patientenkollektivs

Im nachfolgenden werden die Ergebnisse der durchgeführten ELISAs mittels Box-Plots dargestellt. Abbildung 12 zeigt für AZU1 ein ähnliches Bild wie das der CRP-Konzentrationen. Linder *et al.* Beschreibt einen Grenzwert von 15 ng/ml im Plasma für septische Patienten (93). Erneut zeigt die „Trauma Kontrolle“ keinen signifikanten Unterschied (ns; nicht dargestellt) zu den Infektionspatienten, ist jedoch im Vergleich zur „Endo Kontrolle“ signifikant ($p \leq 0,0001$) erhöht.

ERGEBNISSE

Hingegen ist die „Endo Kontrolle“ außer zur Gruppe der „chronischen Osteomyelitis“ (COM) zu allen anderen Gruppen signifikant niedriger konzentriert. Die größte Signifikanz liegt für AZU1 zu den Gruppen der „Endoprotheseninfekte“ ($p \leq 0,0001$) und „Trauma Kontrolle“ ($p \leq 0,0001$), gefolgt von den „Weichteildefekten/-infekten“ ($p \leq 0,001$) vor.

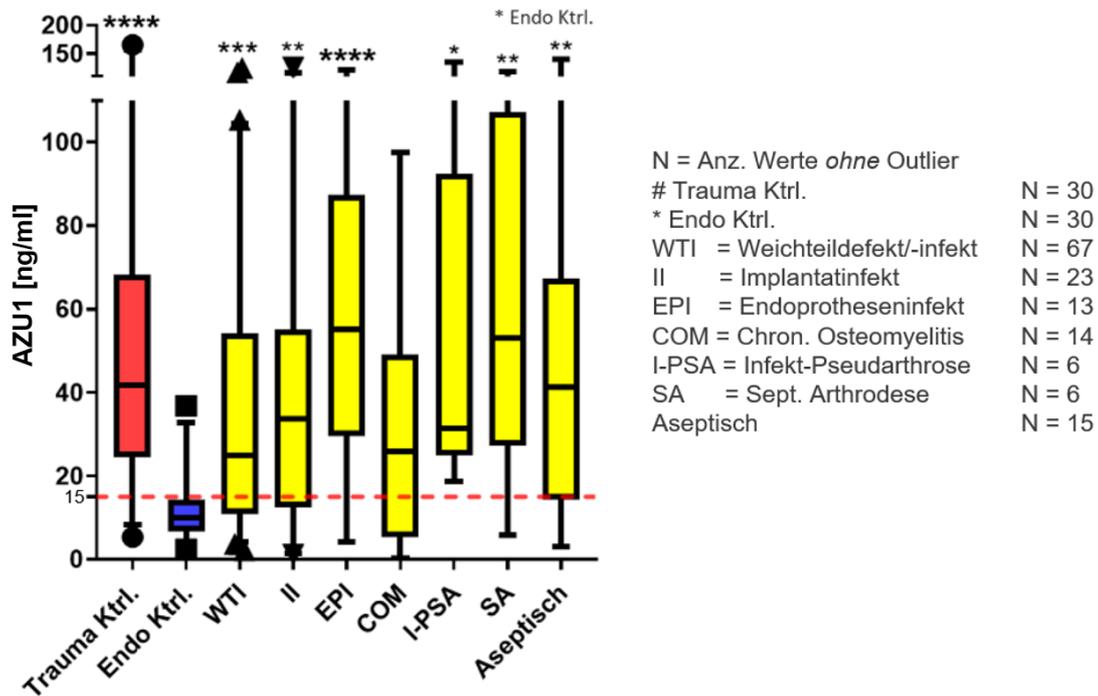


Abbildung 12: Box-Plots: AZU1-Konzentrationen für die Feineinteilung des Patientenkollektivs

Abbildung 13 zeigt die serologischen α -Defensin-Konzentrationen. Für α -Defensin liegt der synoviale Grenzwert der BGU Tübingen bzw. des testenden Labors Dr. Fenner und Kollegen bei über 1 (durch Enzymimmunoassay ermittelter Quotient). Pupaibool *et al.* gibt einen synovialen Grenzwert von 5,2 mg/l an (63). Es lässt sich nur wenig Literatur zur Bestimmung der α -Defensin-Konzentrationen im Blut finden, da es keinen allgemein festgelegten oder standardisierten Grenzwert zur Diagnose von Infektionen gibt. Shrivastave *et al.* beschreibt beispielsweise einen Serum-Grenzwert von 250 ng/ml bezogen auf Covid-19 Patienten (94), welcher in dieser Studie als Limit verwendet wurde.

ERGEBNISSE

Außer der „Trauma Kontrolle“ zeigt keine Gruppe im Mittel erhöhte α -Defensin Werte. Hier ist auch die „Endo Kontrolle“ über den Infektions-Gruppen gelegen und die Signifikanzen beziehen sich auf die höher gelegenen Kontrollen. Die Gruppen „Endoprotheseninfekt“ und „Aseptisch“ zeigen mit den Kontrollgruppen die höchsten Konzentrationen.

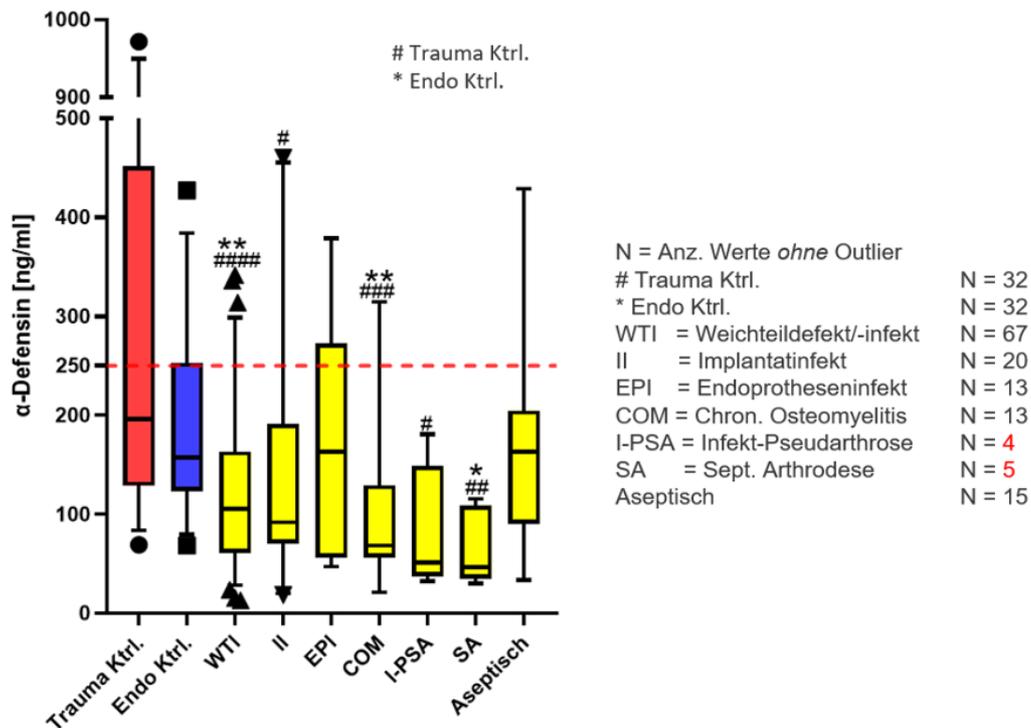


Abbildung 13: Box-Plots: α -Defensin-Konzentrationen für die Feineinteilung des Patientenkollektivs

Für PCT liegt laut internem Labor der BGU Tübingen ab einer Konzentration von 100 pg/ml eine Infektion vor. In der Literatur findet man jedoch auch weitaus höhere Grenzwerte von beispielsweise Oussalah *et al.* über 0,75 ng/ml = 750 pg/ml (95).

ERGEBNISSE

Betrachtet man die PCT-Konzentrationen (Abbildung 14), fällt auf, dass nur Teile einiger Gruppen den Grenzwert von 100 pg/ml überschreiten und vor allem die „Weichteildefekte/-infekte“, „chronischen Osteomyelitiden“ und „septische Arthrodesen“ im Vergleich mit den anderen Gruppen geringere Konzentrationen aufweisen. Die „Trauma Kontrolle“ zeigt hier wieder keinen signifikanten Unterschied (ns; nicht dargestellt) und die „Endo Kontrolle“ liegt im Schnitt oberhalb der Konzentrationen der Infektionspatienten. Nur die Gruppen „Weichteildefekt/-infekt“ und „septische Arthrothese“ sind signifikant, jedoch unter der „Endo Kontrolle“ gelegen.

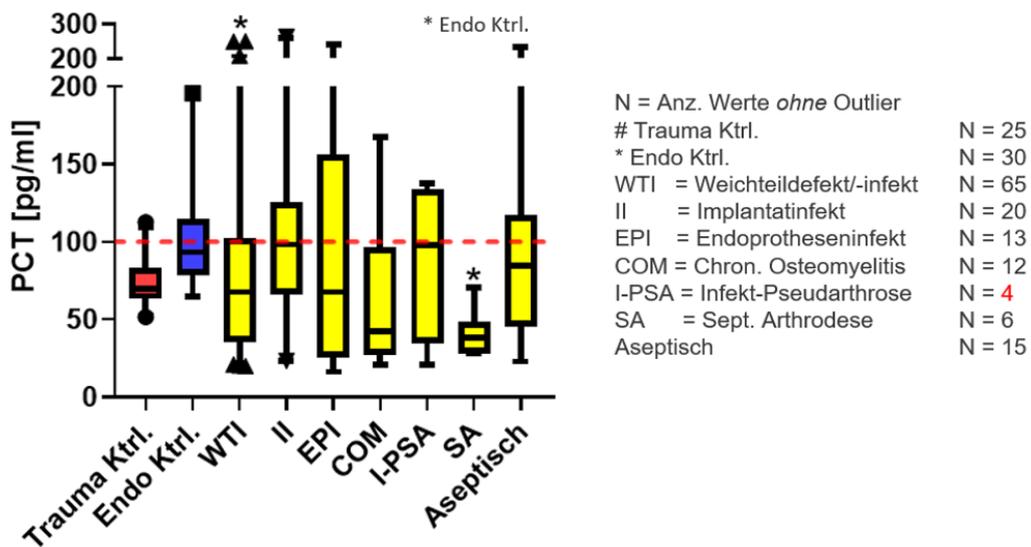


Abbildung 14: Box-Plots: PCT-Konzentrationen für die Feineinteilung des Patientenkollektivs

3.2.2 Zwischenfazit und neue Einteilung

Da die Gruppen teilweise sehr klein sind, wurde sich für eine neue Einteilung entschieden, um aussagekräftigere statistische Analysen durchführen zu können. Die Gruppe „Weichteildefekte/-infekte“ wurde nicht verändert, „Implantat-“ und „Endoprotheseninfekte“ wurden zu einer Gruppe zusammengefasst. Die Gruppen „chronische Osteomyelitis“, „Infekt-Pseudarthrose“ und „septische Arthrorese“ wurden zusammengefasst zur Gruppe „Restliche“ (Rest).

Weiterhin wurde die Gruppe „Aseptisch“ aufgeteilt. Diese bestand aus sechs Trauma-Patienten, bei denen trotz initialem Verdacht kein Keim nachgewiesen werden konnte, sowie elf Patienten mit (Pseud-)Arthrosen, ebenfalls ohne bestätigte Infektion. Letztere wurden auch in die Gruppe „Restliche“ eingefügt. Die sechs Trauma-Patienten wiesen alle nach drei Monaten keine Komplikation auf (kein Grad der Clavien-Dindo Klassifikation), weshalb sie zur „Trauma Kontrolle“ hinzugenommen wurden. Die neue Einteilung ist in Abbildung 15 dargestellt.

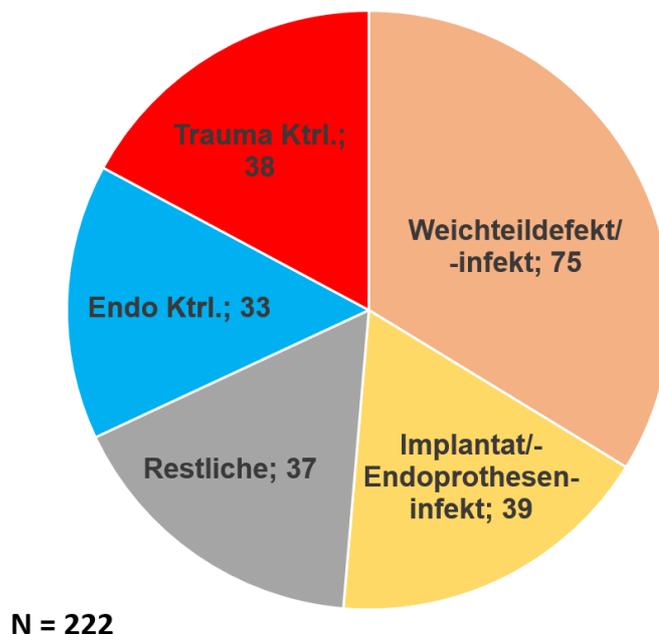


Abbildung 15: Kuchendiagramm zur neuen Einteilung des gesamten Patientenkollektivs

3.2.3 Ergebnisse nach neuer Einteilung

Im Folgenden sind die Box-Plots der jeweiligen Marker entsprechend den neuen Gruppen dargestellt. Abbildung 16 zeigt für die CRP-Werte keine Signifikanzen für die „Trauma Kontrolle“ verglichen mit Infektionspatienten (ns; nicht dargestellt), wohingegen die „Endo Kontrolle“ mit vier Sternen ($p \leq 0,0001$) immer noch die größte Signifikanz verglichen mit der Gruppe „Weichteildefekt/-infekt“ zeigt. Auch die Gruppen „Implantat-/Endoprotheseninfekt“ und „Restliche“ haben signifikant höhere Konzentrationen als die „Endo Kontrolle“. Außer Letzterer sind alle Gruppen im Mittel über dem Grenzwert von 5 mg/l gelegen. Es fällt zudem auf, dass die „Endo Kontrolle“ auch signifikant niedriger konzentriert ist als die „Trauma Kontrolle“ ($p \leq 0,0001$).

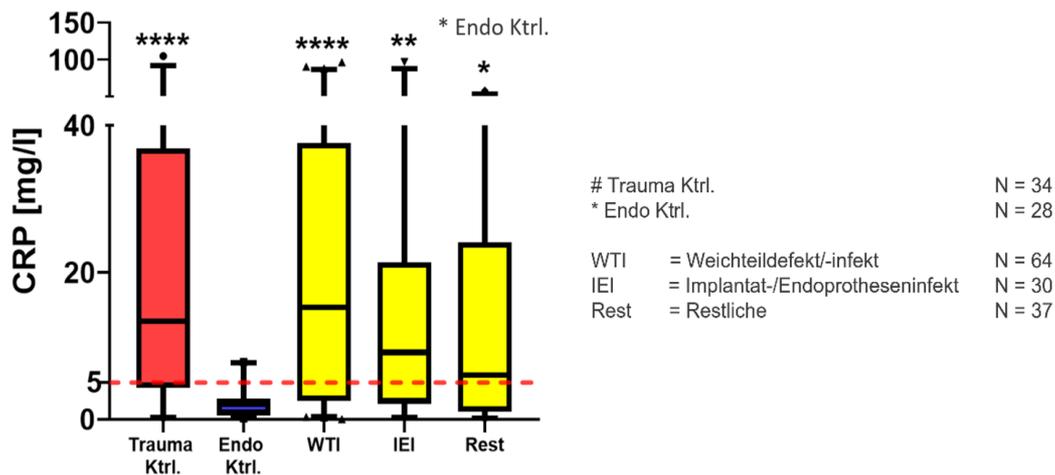


Abbildung 16: Box-Plots: CRP-Konzentrationen für die neue Einteilung des Patientenkollektivs

ERGEBNISSE

Für die normalverteilten Leukozyten fand erneut der parametrische One-Way ANOVA F-Test Anwendung. Wie in der vorherigen Einteilung schon ersichtlich, liegen auch nach neuer Einteilung (Abbildung 17) alle Werte im Mittel unter dem Grenzwert von 10.000/ μl . Es liegt nun ein signifikanter Unterschied von zwei Sternen ($p \leq 0,01$) zwischen der „Endo Kontrolle“ und der Gruppe „Weichteildefekt/-infekt“ vor. Die „Trauma Kontrolle“ zeigt keine signifikanten Konzentrationsunterschiede verglichen mit den Infektions-Gruppen (ns; nicht dargestellt), jedoch signifikant höhere Konzentrationen ($p \leq 0,05$) verglichen mit der „Endo Kontrolle“.

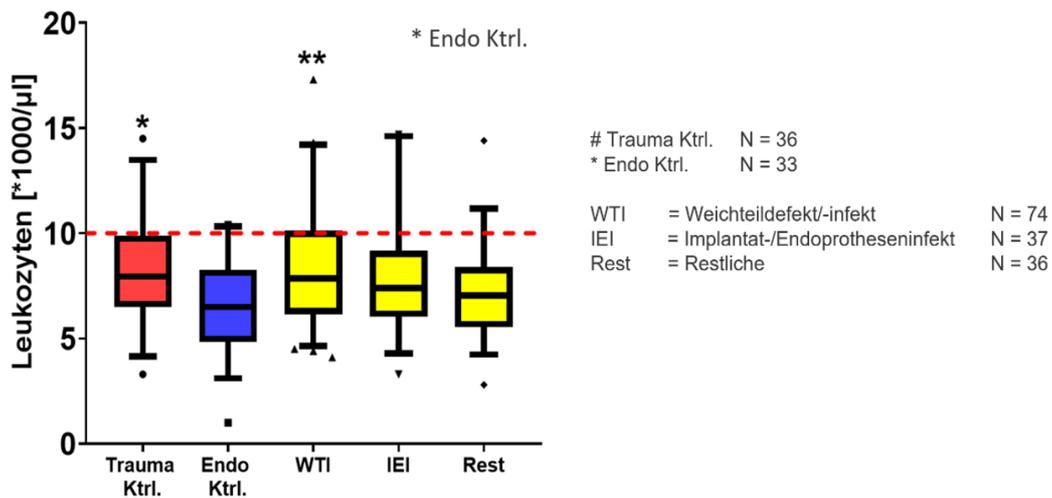


Abbildung 17: Box-Plots: Leukozyten-Konzentrationen für die neue Einteilung des Patientenkollektivs

ERGEBNISSE

Abbildung 19 zeigt die Messwertverteilung von α -Defensin. Es fällt auf, dass nur die „Trauma Kontrolle“ im oberen Quartil den Grenzwert von 250 ng/ml überschreitet und diese nun auch signifikante Konzentrationsunterschiede (#-Symbol) zu allen drei Infektions-Gruppen aufweist. Letztere zeigen jedoch signifikant niedrigere Konzentrationen. Ähnlich stellt es sich für die „Endo Kontrolle“ dar, welche zwar größtenteils unter dem Grenzwert, aber dennoch signifikant höher liegt, verglichen mit der Gruppe „Weichteildefekt/-infekt“ ($p \leq 0,01$) und der Gruppe „Restliche“ ($p \leq 0,001$).

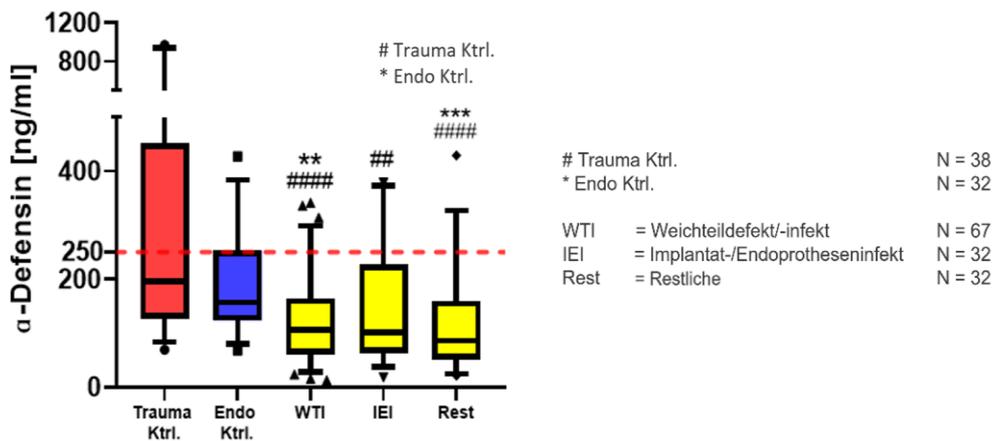


Abbildung 19: Box-Plots: α -Defensin-Konzentrationen für die neue Einteilung des Patientenkollektivs

ERGEBNISSE

PCT (Abbildung 20) überschreitet nur mit Teilen der Gruppen der „Endo Kontrolle“, „Implantat-/Endoprotheseninfekt“ und „Restliche“ den Grenzwert von 100 pg/ml. Die „Trauma Kontrolle“ liegt in etwa auf Höhe der Gruppe „Weichteildefekt/-infekt“ und zeigt keine Signifikanzen (ns; nicht dargestellt). Die „Endo Kontrolle“ ist signifikant höher konzentriert als die Gruppen „Weichteildefekt/-infekt“ ($p \leq 0,05$) und „Restliche“ ($p \leq 0,01$).

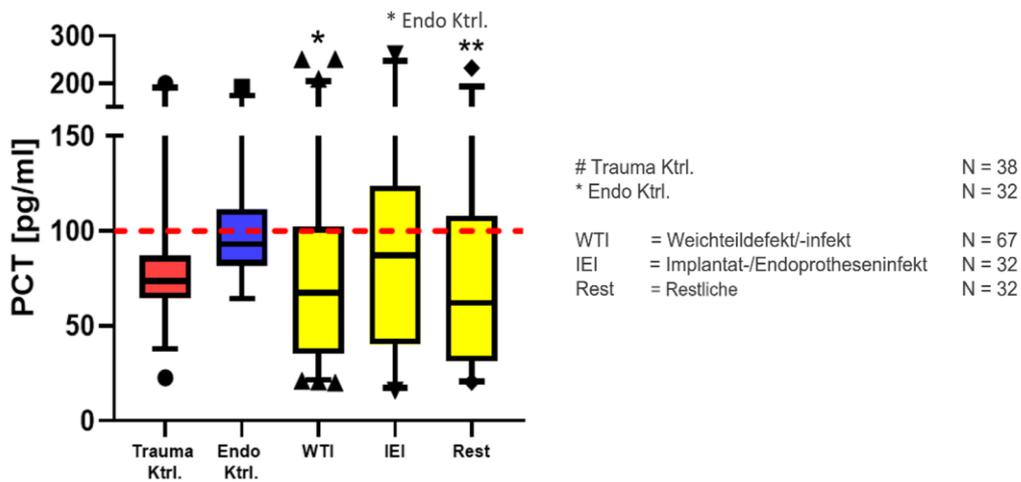


Abbildung 20: Box-Plots: PCT-Konzentrationen für die neue Einteilung des Patientenkollektivs

3.2.3.1 ROC-Analysen

Eine ROC-Analyse mit Darstellung der zugehörigen ROC-Kurve wurde für die beiden Kontrollen aufgrund der unterschiedlichen Verhaltensweisen getrennt durchgeführt. In Tabelle 8 und Abbildung 21 sind die Messwerte aller Marker der „Trauma Kontrolle“ denen der gesamten Infektionskohorte (ohne Unterteilungen) gegenübergestellt.

Tabelle 8: ROC-Analyse: „Trauma Ktrl.“ vs. Infektionskohorte

Marker	AUC (95 % CI)	Youden- Index	Cut-off	Sensiti- vität %	Spezi- fität %	p-Wert
CRP	0,5685 (0,4664-0,6706)	24,77	< 2,75 mg/l	33,59	91,18	0,2192
Leukozyten	0,5519 (0,4503-0,6535)	16,95	< 7,55 *1000/µl	53,06	63,89	0,3352
AZU1	0,5971 (0,5000-0,6942)	23,08	< 18,43 ng/ml	31,65	91,43	0,0761
α-Defensin	0,7711 (0,6918-0,8504)	42,23	< 118,0 ng/ml	58,02	84,21	0,0001
PCT	0,5471 (0,4548-0,6395)	33,80	< 45,84 pg/ml	36,92	96,88	0,4096

Die Cut-offs für diesen Gruppenvergleich zeigen, dass Werte, die unter (<) der „Trauma Kontrolle“ und dem Cut-off liegen, eine Infektion anzeigen. Das spiegelt die hohen Konzentrationen der Box-Plots für die „Trauma Kontrolle“ bei allen Markern außer PCT wider. α-Defensin zeigt mit 58,02 % (84,21 %) die größte Sensitivität (Spezifität) und größte AUC von 0,7711 bei einem Cut-off von < 118 ng/ml.

AZU1 liefert die zweitbeste AUC von 0,5971 bei einer Sensitivität (Spezifität) von 31,65 % (91,43 %) und einem Cut-off von < 18,43 ng/ml.

CRP, Leukozyten und PCT haben ähnliche AUCs, wobei die Leukozyten nach α-Defensin die zweithöchste Sensitivität (53,06 %) aufweisen. Die größte Spezifität hingegen zeigt PCT mit 96,88 %.

Die dazugehörige ROC-Kurve (Abbildung 21) zeigt für α -Defensin (blau) die entsprechend höchste Kurve mit größtem Bereich unterhalb der Kurve. CRP (rot), Leukozyten (gelb) und AZU1 (schwarz) zeigen entsprechend der Analyse ähnliche Kurvenverläufe.

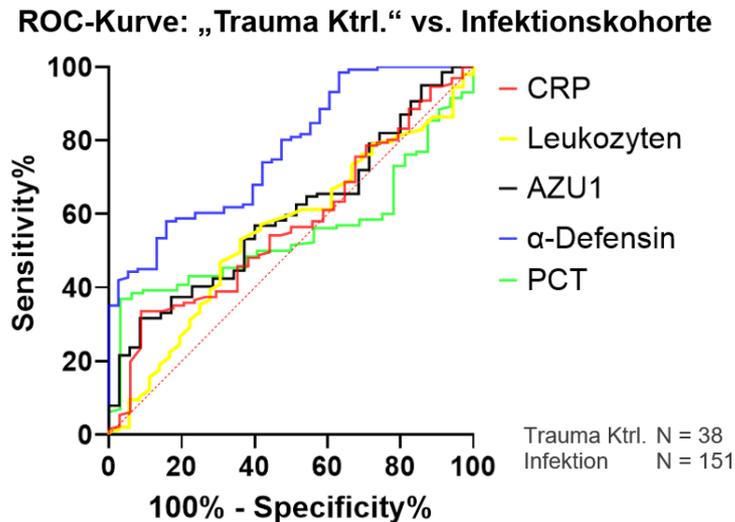


Abbildung 21: ROC-Kurve: „Trauma Ktrl.“ vs. Infektionskohorte

Tabelle 9 zeigt die ROC-Analyse, in der die „Endo Kontrolle“ der gesamten Infektionskohorte gegenübergestellt wurde. Für CRP, Leukozyten und AZU1 zeigen Werte über (>) dem Cut-off eine Infektion an. Für α -Defensin und PCT weisen, wie im Vergleich zur „Trauma Kontrolle“, weiterhin niedrigere Werte auf eine Infektion hin.

Im Vergleich zur vorherigen Gegenüberstellung zur „Trauma Kontrolle“ zeigen sich insbesondere für CRP und AZU1 bessere Werte. Für CRP liegt die AUC bei 0,7758 bei einer Sensitivität von 54,2 % und einer Spezifität von 100 %. AZU1 weist eine ähnliche AUC von 0,7897 bei einer Sensitivität von 73,38 % und einer Spezifität von 83,33 % auf.

ERGEBNISSE

Tabelle 9: ROC-Analyse: „Endo Ktrl.“ vs. Infektionskohorte

Marker	AUC (95 % CI)	Youden- Index	Cut-off	Sensiti- vität %	Spezi- fität %	p-Wert
CRP	0,7758 (0,7020-0,8495)	54,20	> 8,05 mg/l	54,2	100	<0,0001
Leukozyten	0,6409 (0,5326-0,7492)	27,08	> 5,65 *1000/ μ l	81,63	45,45	0,0115
AZU1	0,7897 (0,7209-0,8585)	56,71	> 16,00 ng/ml	73,38	83,33	<0,0001
α -Defensin	0,7123 (0,6297-0,7949)	56,71	< 111,9 ng/ml	54,96	87,5	0,0002
PCT	0,6559 (0,5735-0,7383)	43,08	< 63,38 pg/ml	43,08	100	0,0079

Der zugehörige Graph (Abbildung 22) zeigt entsprechend für AZU1 (schwarz) und CRP (rot) die am höchsten gelegenen Kurven. Für die Leukozyten (gelb), α -Defensin (blau) und PCT (grün) sind die Kurven deutlich niedriger gelegen.

ROC-Kurve: „Endo Ktrl.“ vs. Infektionskohorte

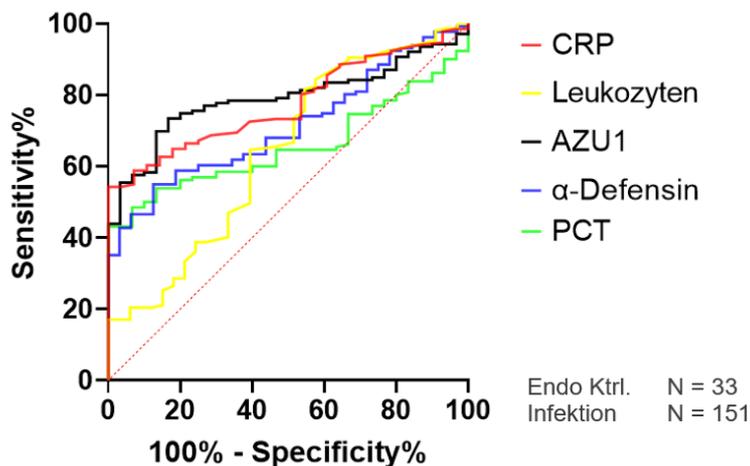


Abbildung 22: ROC-Kurve: „Endo Ktrl.“ vs. Infektionskohorte

ERGEBNISSE

Da sowohl für CRP und AZU1 der signifikanteste Konzentrationsunterschied zwischen der „Endo Kontrolle“ und der Gruppe „Implantat-/Endoprotheseninfekt“ beobachtet wurde, wurde eine weitere ROC-Analyse für diese beiden Gruppen durchgeführt (Tabelle 10).

Tabelle 10: ROC-Analyse: „Endo Ktrl.“ vs. „Implantat-/Endoprotheseninfekt“

Marker	AUC (95 % CI)	Youden- Index	Cut-off	Sensiti- vität %	Spezi- fität %	p-Wert
CRP	0,7851 (0,6658-0,9044)	56,67	> 8,05 mg/l	56,67	100	0,0002
Leukozyten	0,6454 (0,5132-0,7775)	34,64	> 5,70 *1000/μl	89,19	45,45	0,0368
AZU1	0,8000 (0,6842-0,9158)	63,34	> 30,55 ng/ml	66,67	96,67	<0,0001
α-Defensin	0,6602 (0,5218-0,7985)	40,63	< 108,3 ng/ml	53,13	87,5	0,0277
PCT	0,5520 (0,4027-0,7013)	30,30	< 63,38 pg/ml	30,3	100	0,4785

Vergleicht man die Werte mit der Gegenüberstellung der „Endo Kontrolle“ mit dem gesamten Infektionspool (Tabelle 9, Abbildung 22) hat CRP nun eine AUC von 0,7851 (vorher 0,7758) bei einer Sensitivität von 56,67 % und einer Spezifität von 100 % welche zuvor bei 54,2 % und 100 % lagen. Der mittels Youden-Index berechnete ideale Cut-off von > 8,05 mg/l bleibt unverändert.

Für die Leukozyten ist nur eine minimale Verbesserung der AUC zu verzeichnen (von 0,6409 auf 0,6454). Die Hauptverbesserung erfuhr die Sensitivität, die von 81,63 % auf 89,19 % anstieg. Die Spezifität blieb bei 45,45 %.

AZU1 hingegen zeigt für die AUC und Spezifität eine deutliche Verbesserung. Die AUC stieg von 0,7897 auf 0,8, die Spezifität von 83,33 % auf 96,67 %. Lediglich die Sensitivität fiel von 73,38 % auf 66,67 %. Der Cut-off ist von > 16 ng/ml auf > 30,55 ng/ml gestiegen.

ERGEBNISSE

Die AUCs von α -Defensin und PCT sind hingegen gefallen, bei α -Defensin von 0,7123 auf 0,6602 und bei PCT von 0,6559 auf 0,5520. Ebenso verringerte sich die Sensitivität für beide Marker (vor/nach: α -Defensin 54,96 %/53,13 %; PCT 43,08 %/30,3 %), die Spezifität blieb gleich. Nachfolgend sind die zugehörigen ROC-Kurven abgebildet.

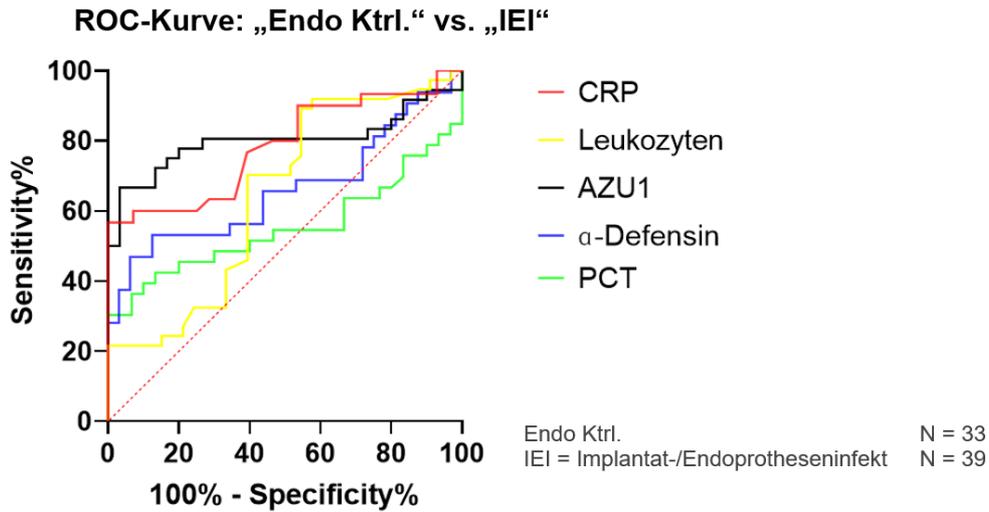


Abbildung 23: ROC-Kurve: „Endo Ktrl.“ vs. „Implantat-/Endoprotheseninfekt“

3.2.4 Analyse nach Keimnachweis

Innerhalb der Infektionskohorte zeigten nicht alle Patienten einen positiven Keimnachweis, vor allem die Gruppe „Restliche“ hatte über die Hälfte keinen oder einen negativen Abstrich (vgl. Abbildung 24). Deshalb wurde sich dazu entschieden, basierend auf dem Abstrichergebnis eine weitere Analyse durchzuführen. Das folgende Kuchendiagramm zeigt die Verteilung der Abstrichergebnisse für die jeweiligen Gruppen (Abbildung 24). Aufgrund zu kleiner Fallzahlen wurden nicht vorhandene und negative Abstriche zusammengefasst (neg/kein) und den positiven (pos) gegenübergestellt.

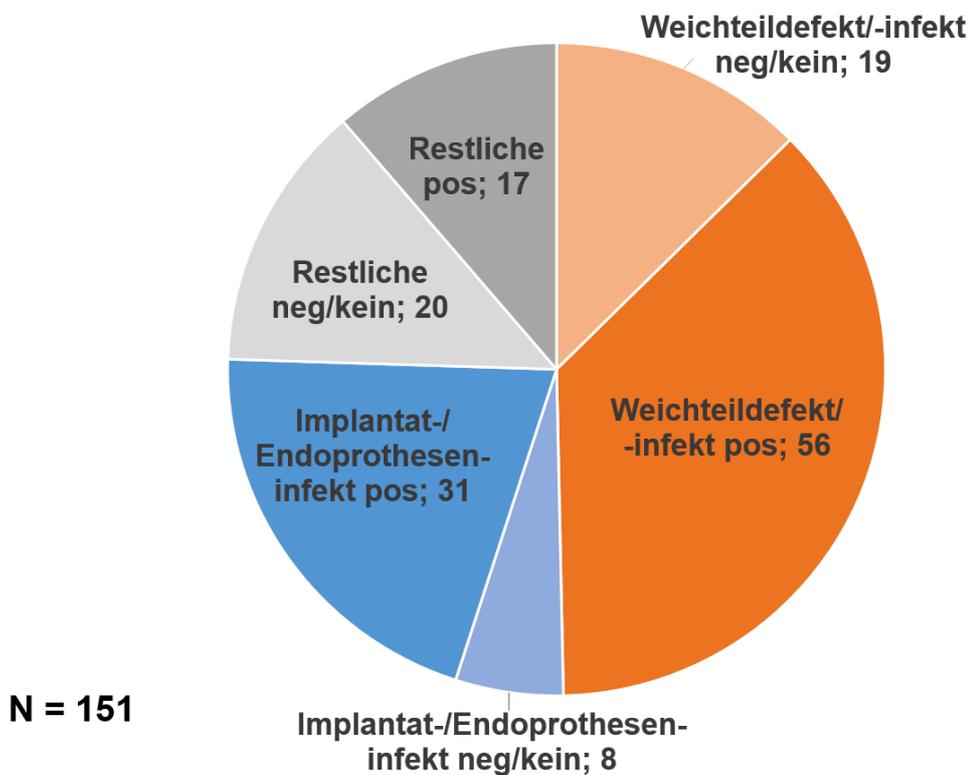


Abbildung 24: Kuchendiagramm zum Keimnachweis der Infektionspatienten

ERGEBNISSE

Abbildung 25 zeigt die entsprechenden Box-Plots für die Konzentrationen von CRP und Leukozyten. Für beide Marker zeigen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten ohne bzw. nicht vorhandenem und Patienten mit positivem Keimnachweis. CRP zeigt im Trend jedoch bei allen Infektions-Gruppen eine höhere Konzentration bei positivem Keimnachweis. Betrachtet man die „Endo Kontrolle“ in Relation zu den Infektionspatienten, zeigen sich vor allem zu den Gruppen mit positivem Keimnachweis verstärkte Signifikanzen. Hier fällt zudem wieder die signifikant höhere CRP-Konzentration der „Trauma Kontrolle“ auf.

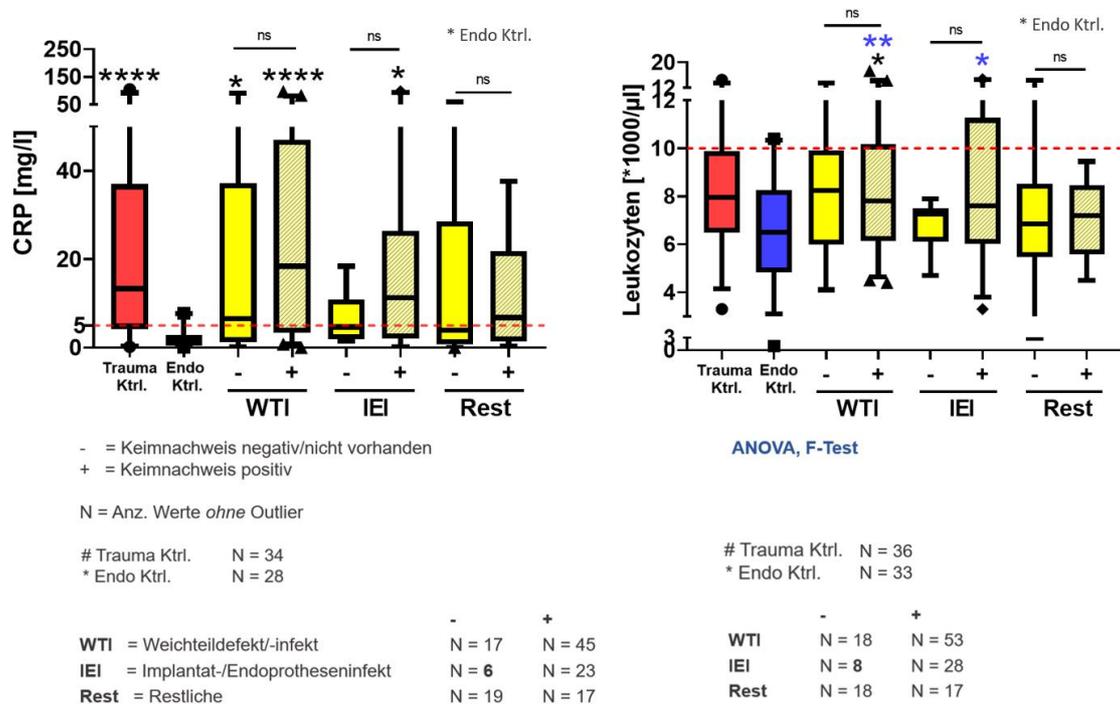


Abbildung 25: Box-Plots: Analyse nach Keimnachweis für CRP und Leukozyten

Bei den Leukozyten ist kaum ein Unterschied erkennbar. Bei der Anwendung des parametrischen F-Tests konnten die Signifikanzen der keimpositiven „Weichteildefekte/-infekte“ und „Implantat-/Endoprotheseninfekte“ zur „Endo Kontrolle“ für die normalverteilten Leukozyten erhöht werden (blaue Sterne).

ERGEBNISSE

In Abbildung 26 finden sich die entsprechenden Graphen für AZU1 und α -Defensin. Für AZU1 lässt sich ähnlich wie bei CRP ein deutlicher Trend eines Anstiegs bei Keimbesiedlung erkennen. Lediglich die Gruppe „Restliche“ hat mit positivem Abstrich im Mittel leicht niedrigere AZU1-Konzentrationen. In Relation zur „Endo Kontrolle“ zeigen ähnlich wie für CRP vor allem keimpositive Gruppen signifikant höhere Konzentrationen.

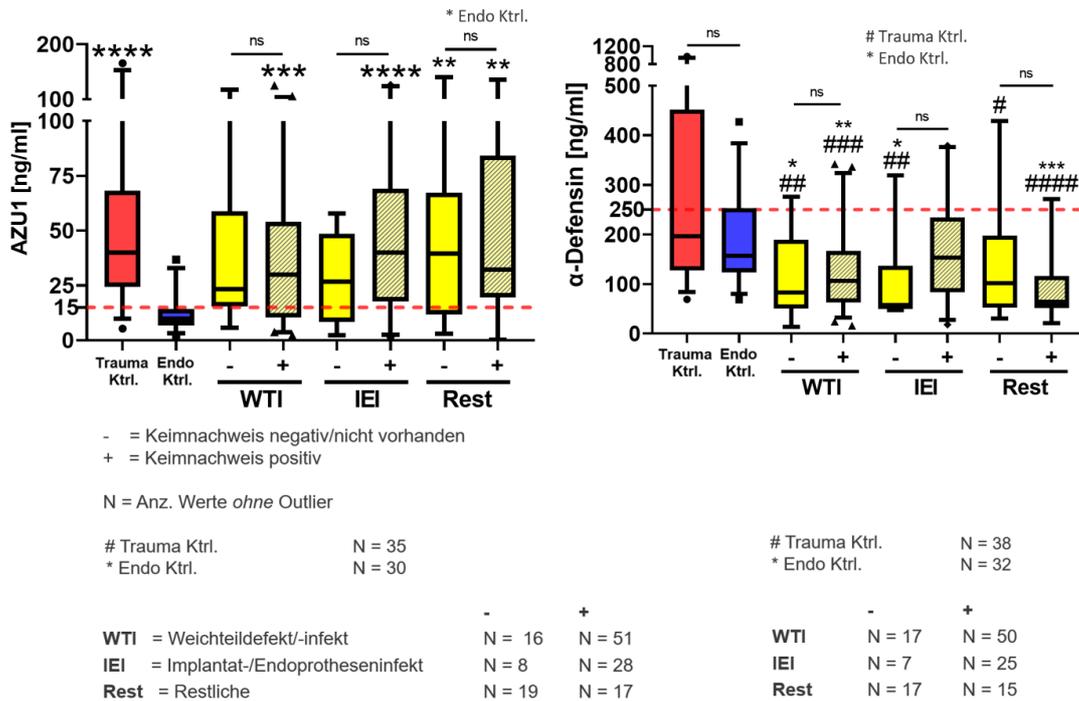


Abbildung 26: Box-Plots: Analyse nach Keimnachweis für AZU1 und α -Defensin

Die Konzentrationen von α -Defensin zeigen bei positivem Abstrich keine signifikanten Erhöhungen innerhalb der Gruppen und nur die „Trauma Kontrolle“ überschreitet im oberen Quartil den Grenzwert von 250 ng/ml. Innerhalb der „Weichteildefekte/-infekte“ und „Implantat-/Endoprotheseninfekte“ ist jedoch ein Trend zum Anstieg von α -Defensin bei Keimvorliegen erkennbar. Auffallend sind erneut die Signifikanzen zur „Trauma Kontrolle“ (#-Symbol), da diese höher konzentriert ist.

ERGEBNISSE

In Abbildung 27 ist das Ergebnis für PCT dargestellt, wo sich zu keiner Kontrollgruppe signifikante Unterschiede zeigen. Die „Endo Kontrolle“ zeigt ohne signifikantes Ausmaß, anders als für CRP und AZU1, höhere Konzentrationen als die „Trauma Kontrolle“.

Innerhalb der Gruppe der „Weichteildefekte/-infekte“ steigt die PCT-Konzentration bei positivem Keimnachweis insignifikant an, in den anderen Gruppen ist ein nicht signifikanter Trend eines Konzentrationsabfalls zu erkennen. Auffällig ist, dass nur die Patienten mit „Implantat-/Endoprotheseninfekt“ ohne bzw. mit negativem Keimnachweis im Mittelwert den Grenzwert von 100 pg/ml überschreiten, gefolgt von der „Endo Kontrolle“, die der Grenze danach am nächsten ist.

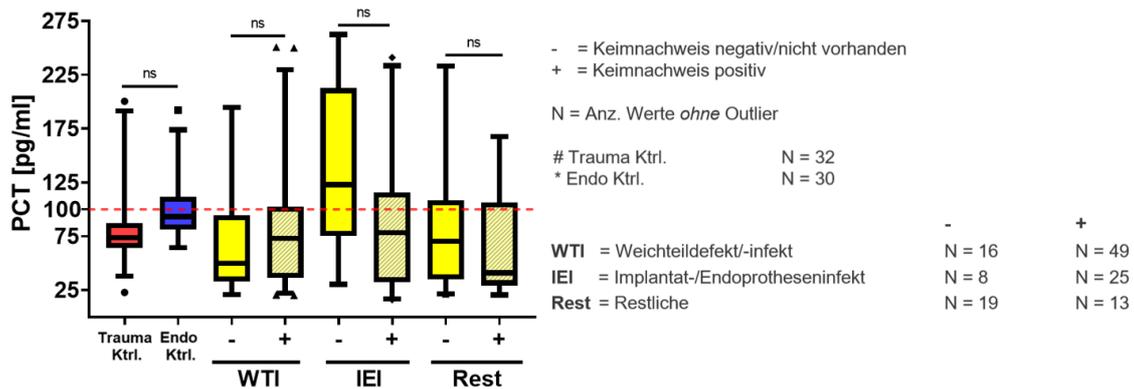


Abbildung 27: Box-Plots: Analyse nach Keimnachweis für PCT

3.2.5 Analyse nach OP-Zeitpunkt

Da es abhängig vom Zeitpunkt der Einwilligung in die Studie Unterschiede in den Zeitpunkten der Probengewinnung gibt, wurde ferner eine Analyse nach dem Einfluss des Operationszeitpunktes (Blutentnahme prä- oder postoperativ) auf die verschiedenen Marker durchgeführt. Da die CRP- und Leukozyten-Werte jeweils vom Tag der stationären Aufnahme (= präoperativ) stammen und unabhängig von der Studie im Rahmen der Routine-Blutentnahme generiert wurden, ist die Analyse nur für die ELISA-Ergebnisse von AZU1, α-Defensin und PCT sinnvoll. Laut Auswertung der Datenbank variiert der Zeitpunkt der Blutentnahme nach Operation (OP) zwischen null und 17 Tagen. Im Schnitt fand die Blutentnahme für den Großteil jedoch ein bis drei Tage nach Eingriff statt (Mittelwert 3, Standardabweichung 3). Lediglich für die „Endo Kontrolle“ ist es gelungen, immer präoperativ für die Studie aufzuklären und entsprechende Proben zu gewinnen. Der Großteil der Infektionspatienten konnte hingegen erst postoperativ eingebunden werden (vgl. Anzahl (N) „nach“ in Abbildung 28).

Für AZU1 ist in den Gruppen „Trauma Kontrolle“, „Weichteildefekt/-infekt“ und „Implantat-/Endoprotheseninfekt“ ein Trend eines postoperativen Konzentrationsabfalles zu verzeichnen, welcher nach statistischer Analyse jedoch nicht signifikant ist. Man beachte in dem Zusammenhang die jeweils kleineren, präoperativen Gruppen. Nur die Gruppe „Restliche“ zeigt keine große Veränderung abhängig vom Zeitpunkt der Operation.

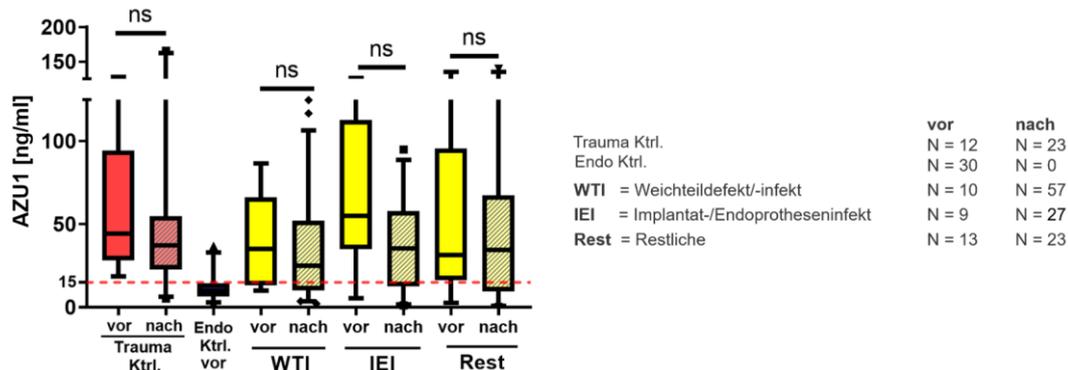


Abbildung 28: Box-Plots: Analyse nach OP-Zeitpunkt für AZU1

ERGEBNISSE

Die α -Defensin-Konzentrationen (Abbildung 29) hingegen scheinen in allen Gruppen postoperativ anzusteigen, jedoch auch hier wieder ohne statistische Signifikanz. Weiterhin liegen bis auf die „Trauma Kontrolle“ alle Gruppen insgesamt unter dem Grenzwert von 250 ng/ml.

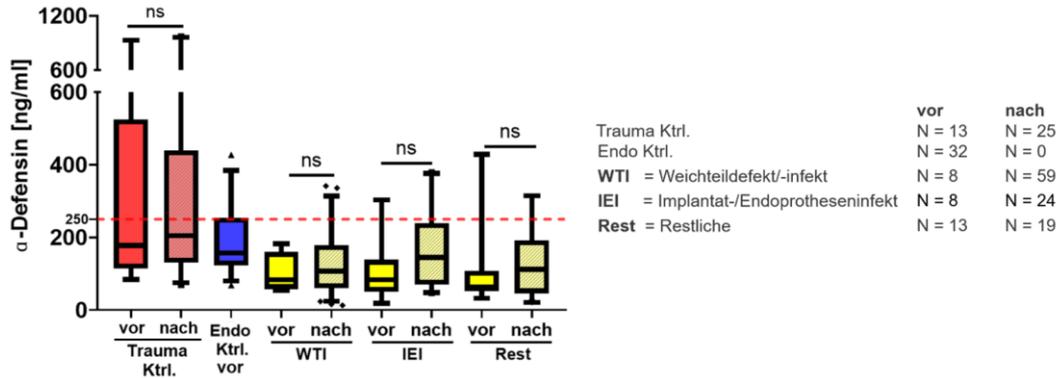


Abbildung 29: Box-Plots: Analyse nach OP-Zeitpunkt für α -Defensin

Abbildung 30 zeigt den entsprechenden Graphen für PCT, wo sich wieder für alle Gruppen der Trend eines nicht signifikanten, postoperativen Konzentrationsanstiegs zeigt.

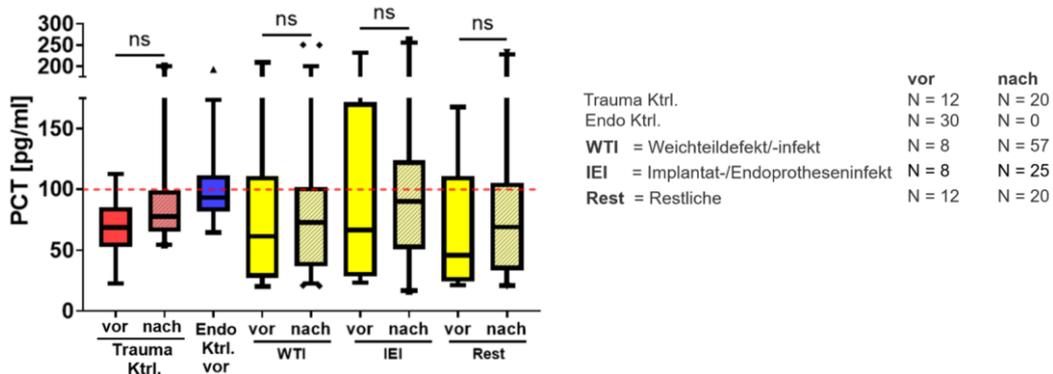


Abbildung 30: Box-Plots: Analyse nach OP-Zeitpunkt für PCT

3.2.5.1 ROC-Analyse „Endo Kontrolle“ vs. „Implantat-/Endoprotheseninfekte“ (präoperativ)

Da AZU1 als einziger Marker nach Operation einen Abfall in der interessantesten Gruppe der „Implantat-/Endoprotheseninfekte“ zeigt, wurde ferner eine ROC-Analyse durchgeführt, die die „Endo Kontrolle“ (= präoperative Werte) dieser Gruppe gegenüberstellt. Hier wurden jedoch für Letztere ebenfalls nur die präoperativen Werte verwendet, um zwei möglichst passende und homogenere Gruppen zu vergleichen. Die nachfolgende Tabelle zeigt die entsprechenden Ergebnisse der ROC-Analyse.

Tabelle 11: ROC-Analyse: Präoperative „Endo Ktrl.“ vs. „Implantat-/Endoprotheseninfekte“ (nur präoperative Werte)

Marker	AUC (95 % CI)	Youden- Index	Cut-off	Sensiti- vität %	Spezi- fität %	p-Wert
CRP	0,8482 (0,6602-1,000)	66,67	> 8,3 mg/l	66,67	100	0,0082
Leukozyten	0,6231 (0,4017-0,8445)	29,92	> 5,45 *1000/µl	87,50	42,42	0,2850
AZU1	0,9000 (0,7282-1,000)	85,56	> 31,63 ng/ml	88,89	96,67	0,0003
α-Defensin	0,8185 (0,6131-1,000)	68,55	< 92,20 ng/ml	75,00	93,55	0,0060
PCT	0,6466 (0,3423-0,9508)	52,16	< 69,34 pg/ml	50,00	89,66	0,2097

Vergleicht man die Werte nun mit der vorherigen ROC-Analyse, wo alle Patienten mit „Implantat-/Endoprotheseninfekt“ unabhängig vom Zeitpunkt der Blutentnahme (prä- oder postoperativ) der „Endo Kontrolle“ gegenübergestellt wurden (Tabelle 10), zeigt sich eine Verbesserung für fast alle Marker. Die AUC von CRP steigt von 0,7851 auf 0,8482, die Sensitivität klettert von 56,67 % auf 66,67 %, die Spezifität bleibt bei 100 %. Die AUC der Leukozyten sinkt von 0,6454 auf 0,6231. Auch die Sensitivität (Spezifität) fällt leicht ab, von 89,19 % (45,45 %) auf 87,5 % (42,42 %).

Für AZU1 sieht die Verbesserung wie folgt aus: Die AUC beträgt nun 0,9 (vorher 0,8) bei einem Anstieg der Sensitivität (Spezifität) auf 88,89 % (96,67 %) von vorherigen 66,67 % (96,34 %).

α -Defensin hat eine AUC von 0,8185, die zuvor noch bei 0,6602 lag. Die Sensitivität und Spezifität betragen vorher 53,13 % und 87,5 % und stiegen in der neuen Analyse auf 75 % und 93,55 %.

Auf 0,6466 stieg die AUC von PCT von vorherigen 0,5520. Die Sensitivität stieg von 30,3 % auf 50 %, wobei die Spezifität von 100 % auf 89,66 % sank.

Entsprechend zeigt Abbildung 31 die zugehörigen ROC-Kurven. Man erkennt deutlich die beste Kurve für AZU1 (schwarz), gefolgt von CRP (rot) und α -Defensin (blau). Die Kurven der Leukozyten (gelb) und PCT (grün) zeigen entsprechend der ROC-Analyse die kleinsten Flächen unter den Kurven. Man beachte für α -Defensin jedoch, dass die Analyse einen Cut-off von $< 92,20$ ng/ml vorschlägt und somit erniedrigte Werte eine Infektion anzeigen würden. Bei der vorherigen Analyse (Tabelle 10: ROC-Analyse: „Endo Ktrl.“ vs. „Implantat-/Endoprotheseninfekt“) lag der Cut-off für diesen Marker noch bei $< 108,3$ ng/ml. Weiterhin darf die Anzahl der präoperativen Probanden (N = 9) nicht ungeachtet bleiben.

ROC-Kurve: „Endo Ktrl.“ vs. „IEI“ präoperativ

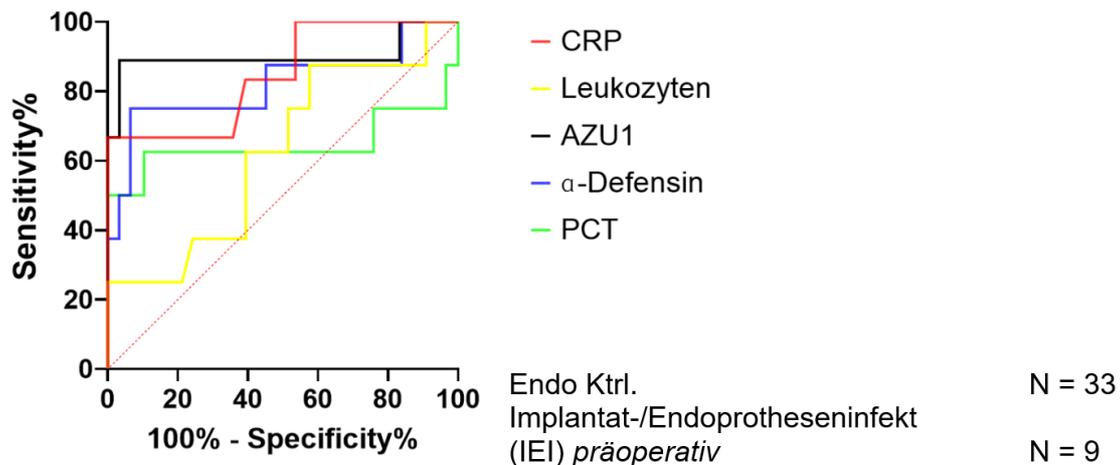


Abbildung 31: ROC-Kurve: „Endo Ktrl.“ vs. „Implantat-/Endoprotheseninfekt“ präoperativ

3.2.6 Bivariate Korrelationsanalyse (JMP)

Zur Betrachtung der Korrelationen der einzelnen Marker innerhalb der Gruppen (nach neuer Einteilung), wurde die nicht-parametrische Korrelationsanalyse nach Spearman (JMP) angewandt. Innerhalb der Gruppe „Weichteildefekt/-infekt“ (s. Anhang, Abbildung 35: Bivariate Korrelationsanalyse nach Spearman für die Gruppe „Weichteildefekt/-infekt“) wurde eine signifikant positive Korrelation zwischen den Werten für α -Defensin und den Werten für Leukozyten, AZU1 und PCT beobachtet. CRP und Leukozyten sind ebenfalls signifikant positiv korreliert, ebenso in der Gruppe „Implantat-/Endoprotheseninfekt“ (s. Anhang, Abbildung 36: Bivariate Korrelationsanalyse nach Spearman für die Gruppe „Implantat-/Endoprotheseninfekt“). In Letzterer fällt zudem eine signifikant negative Korrelation von PCT zu den Werten von CRP, den Leukozyten und AZU1 auf.

Die Gruppe „Restliche“ zeigt ein signifikant positiv korrelierendes Verhalten zwischen α -Defensin zu AZU1 und PCT (s. Anhang, Abbildung 37: Bivariate Korrelationsanalyse nach Spearman für die Gruppe „Restliche“).

Innerhalb der „Trauma Kontrolle“ (s. Anhang, Abbildung 38: Bivariate Korrelationsanalyse nach Spearman für die Gruppe „Trauma Kontrolle“) ist AZU1 zu CRP, Leukozyten und α -Defensin signifikant positiv korreliert, PCT korreliert hingegen zu Leukozyten und AZU1 signifikant negativ.

Die Werte der α -Defensin-Konzentrationen zeigen in der „Endo Kontrolle“ (s. Anhang, Abbildung 39: Bivariate Korrelationsanalyse nach Spearman für die Gruppe „Endo Kontrolle“) eine signifikant positive Korrelation zu AZU1.

4 Diskussion

Die vorliegende Arbeit hat einige Erkenntnisse über die in der Infektionsdiagnostik verwendeten Marker sowie generell die Methodik der zugrundeliegenden Studie hervorgebracht. In dem nachfolgenden Abschnitt werden die Ergebnisse bezogen auf den aktuellen wissenschaftlichen Kenntnisstand diskutiert.

4.1 Studienpopulation

Im Rahmen der AIQNET/KIKS-Studie wurden Patienten aus einem breiten orthopädisch-unfallchirurgischen Spektrum rekrutiert. Aufgrund der präzisen Fragestellung nach der Wertigkeit verschiedener Infektionsmarker, wurden durch die AIQNET/KIKS-Studie miterhobenen Variablen, wie beispielsweise die Medikation und Komorbiditäten, durch die vorliegende Arbeit nicht analysiert. Dies bildet jedoch eine Basis für zukünftige Arbeiten und weiterführende Untersuchungen.

Der Pool der Infektionspatienten stellte die heterogenste Gruppe dar (vgl. Abschnitt 3.1.1 Infektionskohorte). Da es sich speziell bei AZU1 jedoch um einen vergleichsweise neuen und unerforschten Biomarker handelt, lieferte diese Heterogenität gute Erkenntnisse darüber, in welchen Gruppen bzw. bei welchen Grunderkrankungen das Protein diagnostisches Potenzial aufweist. Aufgrund der Größe der gesamten Studienpopulation von 222 Probanden, die über einen Zeitraum von zwei Jahren rekrutiert wurden, und der Existenz von teils sehr kleinen Untergruppen, gestaltete sich die umfassende Berücksichtigung aller Faktoren im Rahmen dieser Arbeit als herausfordernd. Verglichen mit anderen Studien werden Überbegriffe wie „Surgical Site Infection“ und „Prosthetic Joint Infection“ ebenso verwendet, um heterogene Gruppen unter einem Gesichtspunkt zusammenzufassen, wobei oft ebenfalls zahlreiche Subtypen (beispielsweise chronisch/akut) unberücksichtigt bleiben (96, 97). In Anbetracht der Heterogenität des vorliegenden Pools wurden verschiedene Analysen durchgeführt. Bereits die erste Darstellung der Kleingruppen, welche nach

zugrundeliegendem Krankheitsbild eingeteilt wurden, zeigte für alle Marker teils große Konzentrationsunterschiede (vgl. Abschnitt 3.2.1 Darstellung nach Feineinteilung des Patientenkollektivs), was einen weiteren Ansatz für konkretere Studien bietet.

4.2 Zeitpunkt der Studienaufnahme

Da die Patienten zu unterschiedlichen Zeitpunkten (Abweichungen in Krankheitsprogression, Therapiezeitpunkt, Operationszeitpunkt) in die Studie eingeschlossen wurden, wurde auch eine Analyse nach dem Zeitpunkt der Operation durchgeführt (vgl. 3.2.5 Analyse nach OP-Zeitpunkt). Es zeigten sich zwar keine signifikanten Unterschiede zwischen prä- und postoperativen Blutproben, jedoch war bei α -Defensin und PCT ein Trend eines postoperativen Konzentrationsanstiegs zu verzeichnen. AZU1 hingegen zeigte postoperativ niedrigere Werte, sowohl für die „Trauma Kontrolle“ als auch für den Pool der Infektionspatienten. Da vor allem die Patienten mit Wund-, Implantat- und Endoprotheseninfektionen chirurgischen Revisionen (2, 32, 34, 98) unterzogen werden, ist ein Rückgang infektionsauslösender Faktoren und somit eine Reduktion der Immunantwort zu erwarten. Da sowohl α -Defensin als auch AZU1 von Neutrophilen ausgeschüttet werden, bedarf die Klärung dieser Umstände weiterer Nachforschung und Testung. Für beide Marker finden sich keine Studien (Stand 10/2023), die diese Fragestellung untersuchen. In den Analysen nach dem Zeitpunkt der Operation sowie nach Keimnachweis zeigten sich nicht signifikante Trends. Die Nicht-Signifikanz ist vermutlich größtenteils auf die begrenzte Größe der Untergruppen zurückzuführen, da die ohnehin nicht großen Gruppen weiter unterteilt wurden (präoperativ vs. postoperativ; Keimnachweis negativ/nicht vorhanden vs. positiv). Mit größeren Kohorten kann möglicherweise ein signifikanterer postoperativer Abfall der AZU1-Konzentration nachgewiesen werden, um nur ein Beispiel zu nennen.

4.3 Einfluss der pathogenen Keime

Die Analyse nach dem Vorliegen eines positiven Keimabstriches (vgl. Abschnitt 3.2.4 Analyse nach Keimnachweis) ergab zwar keine signifikanten Unterschiede innerhalb der Gruppen, dennoch waren für CRP, Leukozyten, AZU1 und α -Defensin vor allem in den relevanteren Gruppen „Weichteildefekt/-infekt“ und „Implantat-/Endoprotheseninfekt“ höhere Konzentrationen bei Keimnachweis zu beobachten. Für PCT traf dieser Trend nur auf die Gruppe „Weichteildefekt/-infekt“ zu. Da ein Abstrich auch falsch negativ ausfallen kann und vor allem oberflächliche Abstriche eine geringe Sensitivität und Spezifität aufweisen (99), ist es wichtig, bei Infektionsverdacht weitere diagnostische Maßnahmen zu ergreifen, um eine zuverlässige Diagnose zu stellen.

Zahlreiche Studien belegen, dass es durch bakterielle Reize zur vermehrten Ausschüttung von CRP (100, 101), Leukozyten (58), AZU1 (102), α -Defensin (59) und PCT (52) kommt. Je nach Art eines bakteriellen Reizes und Erregertypes kommt es zu einer unterschiedlich starken Ausschüttung von AZU1 aus Neutrophilen (103). Gleichfalls zeigen CRP und PCT abhängig vom Erreger unterschiedliche Konzentrationsanstiege (2, 52). Aufgrund des Umfangs weiterer notwendiger Analysen konnte die differenzierte Untersuchung der Pathogene in dieser Arbeit nicht umgesetzt werden, stellt jedoch einen weiteren möglichen Ansatz für zukünftige Studien dar.

Eine ROC-Analyse der vorliegenden Daten, in der nur die keimnegative „Endo Kontrolle“ allen Patienten mit nachgewiesener Infektion, sprich positivem Abstrich, gegenübergestellt wurde, wurde im Rahmen eines wissenschaftlichen Papers in Kooperation mit Hemmann *et al.* durchgeführt (104). Auch hier konnte für alle Marker eine deutliche Verbesserung der AUCs und somit der diagnostischen Wertigkeit erreicht werden, was eine Korrelation der Serummarker mit einer Bakteriämie unterstreicht. Den größten Anstieg verzeichnete die AUC (Sensitivität/Spezifität) von AZU1, welche von 0,79 (73,4 %/83,3 %) auf 0,81 (76,1 %/83,3 %) stieg (104). Dies impliziert eine hohe Potenz des Proteins in Bezug auf die Diagnostik von Infektionen.

Das Verhalten der beschriebenen Biomarker in Reaktion auf bakterielle Stimulation zeigt die Komplexität der Immunantwort auf Infektionen und verdeutlicht die Bedeutung der sorgfältigen Auswertung dieser Parameter bei der Diagnose und Überwachung von bakteriellen Infektionen. Sie gewähren Einblicke in den individuellen Gesundheitszustand des Patienten und fungieren als maßgebliches Hilfsmittel für den behandelnden Arzt, wenn es darum geht, eine maßgeschneiderte Therapieentscheidung zu treffen.

4.4 Vergleich von Testverfahren und deren Praktikabilität

Im Folgenden werden bekannte diagnostische Verfahren bei Verdacht auf eine Infektion sowie bisherige Erkenntnisse über die untersuchten Infektionsmarker und deren Eignung als Diagnosetool diskutiert. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie werden basierend auf diesem Kenntnisstand ausführlich erörtert.

4.4.1 Infektionsdiagnostik bei Verdacht auf postoperative Wundinfektion

In Analogie zur allgemeinen Diagnostik konzentriert sich die postoperative Infektionsdiagnostik primär auf klinische Befunde und Laboranalysen sowie gegebenenfalls auf bildgebenden Verfahren (2). Infolge einer Infektion manifestieren sich die konventionellen Entzündungszeichen, wobei eine präzise klinische Untersuchung und Analyse der Symptome nach wie vor von höchster Relevanz in der frühpostoperativen Infektionsdiagnostik sind (2, 12).

Zur Diagnosesicherung werden die Infektionsparameter CRP und die Leukozytenzahl herangezogen, obwohl beide Marker keine Spezifität für eine frühpostoperative Wundinfektion aufzeigen, da erhöhte Werte auch bei nichtentzündlichen Komplikationen auftreten können (2). Im Fall des CRPs wird sogar direkt postoperativ darüber diskutiert, inwiefern es als Indikator für das Ausmaß des intraoperativen Gewebeschadens dienen kann (2, 105).

Bei klinischen oder laborchemischen Infektionsanzeichen wird sich zusätzlich invasiver Diagnostik und bildgebender Verfahren, wie beispielsweise Sonografie, Kernspintomografie, sowie ergänzend einer mikrobiologischen Diagnostik bedient (2, 106).

Für eine mikrobiologische Diagnose werden Gewebeproben des betroffenen Gebietes mikroskopiert und standardmäßig 10 bis 14 Tage inkubiert (2). Bei Verdacht auf ungewöhnliche Keime können zudem spezielle Kulturmedien mit verlängerter Inkubation eingesetzt werden (2, 107). Die Probengewinnung ist jedoch oft fehlerbehaftet, beispielsweise haben oberflächliche Abstriche von chronischen Wunden oft keinen diagnostischen Nutzen (67, 99). Der Nachweis von Nukleinsäuren (Polymerase-Kettenreaktion, kurz PCR (polymerase chain reaction)) ist bislang lediglich für eine begrenzte Anzahl seltener Pathogene von Knochen- und Gelenksinfektionen etabliert (2, 67).

4.4.2 Infektionsdiagnostik bei Verdacht auf eine periprothetische Infektion

Verfahren der Wahl bei einem Verdacht auf eine Infektion einer Totalendoprothese stellt Stand jetzt (10/2023) immer noch die Anamnese, klinische Untersuchung, Bildgebung, Blutentnahme und bei erhöhten serologischen Markern in der Folge die Punktion des betroffenen Gelenkes dar (28). Da die Bestimmung serologischer Marker eine breite Verfügbarkeit, hohe Sensitivität und geringe Kosten mit sich bringt, stellt dies ein wichtiges und geeignetes Tool in der Diagnostik dar (28). Es ist von Bedeutung, darauf hinzuweisen, dass Marker für Entzündungen bei manchen Patienten mit Begleiterkrankungen oft unspezifisch höher konzentriert sind (28, 108). Daraus ergibt sich die Notwendigkeit, präzisere Marker zu finden, die auch bei beispielsweise multimorbiden Patienten zuverlässige Informationen liefern.

Da man bei Patienten mit periprothetischen Infektionen Antirheumatika perioperativ absetzt, kommt es zu einem erhöhten Infektionsrisiko sowie erschwerter Interpretation herkömmlicher Biomarker (31). Möglicherweise erklärt dieser Hintergrund, warum die „Endo Kontrolle“ dieser Arbeit teils höhere α -

DISKUSSION

Defensin- und PCT-Konzentrationen als die Infektionspatienten aufwies. Eine umfassende Evaluierung der Medikation sämtlicher Studienteilnehmer ist aufgrund des Umfangs der entsprechenden Analyse und der davon abweichenden Fragestellung nicht erfolgt, jedoch könnten künftige Arbeiten gezielt eine detaillierte Bewertung der Arzneimitteltherapie aller Probanden als integralen Bestandteil ihrer Analyse berücksichtigen.

Mittels Gelenkpunktion ist die Untersuchung synovialer Biomarker und auch eine genaue Bestimmung des Keimes möglich (28, 109). Die Hinzunahme der Serum- und Synovialanalysen zu den klinischen Befunden kann bei der Diagnose einer periprothetischen Infektion helfen (28). Punktate sind jedoch aufwändig und liefern frühestens nach acht Stunden ein Ergebnis (109).

Eine Alternative stellt der Synovasure Schnelltest dar, welcher hingegen weniger zuverlässig als laborbasierte Immunoassays und zudem sehr teuer ist (109). Es handelt sich hierbei um ein Lateral-Flow-Testkit für Endoprotheseninfektionen, welches α -Defensin intraoperativ in Synovialflüssigkeit nachweist (24, 110).

Ein weiteres Verfahren zum Nachweis einer Entzündung oder Infektion ist der Leukozytenesterase-Test (24). Dieser Urineststreifen zeigt durch Wechselwirkung eines Farbstoffes mit der Leukozytenesterase die vorhandenen Leukozyten an (111). Die wesentlichen Vorzüge dieses Testverfahrens umfassen die leichte Beschaffung, wirtschaftliche Zugänglichkeit, rasche Ergebnismitteilung und hohe diagnostische Genauigkeit (24, 112).

Das metagenomische Next-Generation-Sequencing (mNGS) rückte jüngst ebenfalls in das Interesse bei der Diagnose einer periprothetischen Gelenkinfektion (25, 113). Es handelt sich um ein neuartiges Diagnosetool, das es ermöglicht, kostengünstig mikrobielle DNA aus einer Synovialprobe, welche zuvor durch Punktion gewonnen wurde, zu sequenzieren (113, 114). In einem Zeitraum von 24 bis 48 Stunden ist so ein Erregernachweis möglich, was im Vergleich mit klassischen Mikrobekulturen einen zeitlichen Vorteil darstellt (113). Die 2022 von Tan *et al.* durchgeführte Metaanalyse lieferte eine hohe Genauigkeit (Sensitivität 93 %, Spezifität 95 %) für die mNGS bei der Diagnose

einer periprothetischen Infektion, besonders bei kulturnegativen Fällen (25). Gerade Letztere stellen eine diagnostische Herausforderung dar (114). Dennoch darf nicht außer Acht gelassen werden, dass eine Punktion weiteren Behandlungsaufwand und eine gewisse Invasivität mit sich bringt, weshalb man idealerweise in der Zukunft darauf verzichten können sollte.

Zur Infektionsdiagnostik bei Totalendoprothesen können weiterhin bildgebende Verfahren wie Röntgenaufnahmen, Computertomographie, Magnetresonanztomographie oder Ultraschall hinzugezogen werden (28, 115). Diese liefern zwar keine direkte Nachweise einer Infektion, können Chirurgen jedoch als Orientierungshilfe dienen (115).

4.4.1 CRP als diagnostischer Infektionsmarker

Das hochkonservierte Plasmaprotein CRP ist an systemischen Entzündungsreaktionen beteiligt, weshalb es innerhalb von sechs Stunden nach Verletzung oder Infektion zu einer gesteigerten Synthese kommt (2, 53). Nach chirurgischer Intervention werden die Höchstwerte in der Regel innerhalb von 48 bis 72 Stunden erreicht und nehmen dann mit einer Halbwertszeit von 24 bis 48 Stunden ab (2, 116). Bei Vorliegen von Infektionen können die Konzentrationen ohne angemessene Therapie für mehrere Tage bis Wochen erhöht bleiben (2, 53). Da das Protein Teil eines dynamischen und kontinuierlichen inflammatorischen Prozesses ist, kann eine einzelne CRP-Messung besonders bei niedrigen Konzentrationen zu falschen Ergebnissen führen (55). So kann eine adäquate Behandlung verzögert werden (55). Durch eine zweite CRP-Bestimmung kann eine Fehlinterpretation hinsichtlich der Schwere der Infektion jedoch unwahrscheinlicher gemacht werden (101). Weiterhin ist bekannt, dass CRP-Anstiege abhängig von der Erregerart und dem Krankheitsverlauf variieren (2). Laut den hier durchgeführten ROC-Analysen handelt es sich bei CRP zwar um einen geeigneten Marker für Infektionen, jedoch zweitplatziert nach AZU1. Auch die Analyse nach Keimnachweis (Abbildung 25: Box-Plots: Analyse nach Keimnachweis für CRP und Leukozyten) ergab konsistent erhöhte CRP-Konzentrationen bei den Infektions-Gruppen, die einen positiven Abstrich aufwiesen.

DISKUSSION

Bei der Erstuntersuchung von Patienten mit Infektionsverdacht können die kostengünstigen Serummarker einen wertvollen Beitrag leisten und sollten im Kontext anderer diagnostischer Verfahren und klinischer Befunde interpretiert werden (108). CRP-Messungen können zudem zur Überwachung und Steuerung des Krankheitsverlaufes und der Therapie genutzt werden (53, 117). Weiterhin ist eine Korrelation zwischen der Serumkonzentration und der synovialen CRP-Konzentration bekannt (118), was bei Verdacht auf eine periprothetische Infektion eine wichtige Erkenntnis darstellt. Dennoch sind erhöhte Werte meist unspezifisch, weil das CRP einen systemischen Marker darstellt (108, 119). Insbesondere chronische periprothetische Infektionen, welche durch Pathogene mit geringer Virulenz verursacht werden, stellen somit eine diagnostische Herausforderung dar, da CRP-Anstiege oft erst auftreten, wenn sich bereits Biofilme auf der Prothesen- oder Implantatoberfläche gebildet haben (108, 120, 121).

Auch kann es bis zu 60 Tage nach Ersteingriff zu falsch positiven Ergebnissen kommen, da die CRP-Werte durch den operationsbedingten Weichteilschaden erhöht bleiben können (108). Aufgrund dessen ist umgekehrt folglich auch der diagnostische Wert bei beispielsweise akuten Infektionen eingeschränkt (108). Vor dem Hintergrund wird der Nutzen von CRP in diesem Kontext wiederholt diskutiert (119-121), woraus sich der Bedarf an spezifischeren Markern ableiten lässt.

Neue Ansätze bestehen darin, die Dynamik des CRPs im Verlauf einer Infektion zu nutzen, um die Geschwindigkeit der Konzentrationserhöhung zu messen und so spezifischere Aussagen über das Infektionsgeschehen treffen zu können (55, 100, 122, 123).

4.4.1 Leukozyten als diagnostischer Infektionsmarker

Das Verhalten der Leukozyten lieferte in der vorliegenden Arbeit ein mäßiges Ergebnis, da alle Gruppen grundsätzlich unterhalb des Grenzwertes von 10.000/ μ l lagen (vgl. Abbildung 11). Da die Leukozyten in verschiedene Subtypen unterteilt sind (58), stellen sie einen deutlich unspezifischeren Marker dar. Die hier durchgeführten ROC-Analysen zur diagnostischen Wertigkeit bestätigen diese Aussage. Die Gesamtzahl der Leukozyten liefert nur begrenzte Informationen zum Gesundheitszustand des Patienten (124). Um ein umfassendes Bild zu erhalten, ist ein Differentialblutbild mit Betrachtung der Leukozyten-Unterformen entscheidend, welches sich im Verlauf von Infektionen verändern kann (124). Eine Differenzierung der Leukozyten geht zwar mit erhöhten Laborkosten einher, ist für eine qualitative Bewertung und Unterscheidung zwischen gut- und bösartiger Leukozytose jedoch oft unerlässlich (125, 126).

4.4.1.1 Die Rolle der Neutrophilen

Da die Leukozyten als Gesamtgruppe für die vorliegende Arbeit einen weniger spezifischen Marker darstellte, wird im Folgenden die Rolle der neutrophilen Granulozyten besprochen, die unter anderem AZU1 (69) und α -Defensin (59) ausschütten. Diese Subgruppe der Neutrophilen fungiert als initiale Abwehrkraft gegen Bakterien und Pilze und hilft simultan bei der Abwehr von Parasiten und Viren (127). Neutrophile werden als hochkomplexe Zellen betrachtet, die eine Fülle spezialisierter Funktionen aufweisen und als Schlüsselakteure der angeborenen Immunantwort eine Vielzahl von Prozessen beeinflussen können (127, 128). Dazu zählen akute Verletzungen und Regenerationsprozesse, die Kontrolle von Krebserkrankungen, das Management von Autoimmunität sowie die Regulierung chronischer Entzündungsvorgänge (127, 129-131).

Die nachfolgende Abbildung 32 (127) zeigt das Verhalten von Neutrophilen bei Infektion und Entzündung.

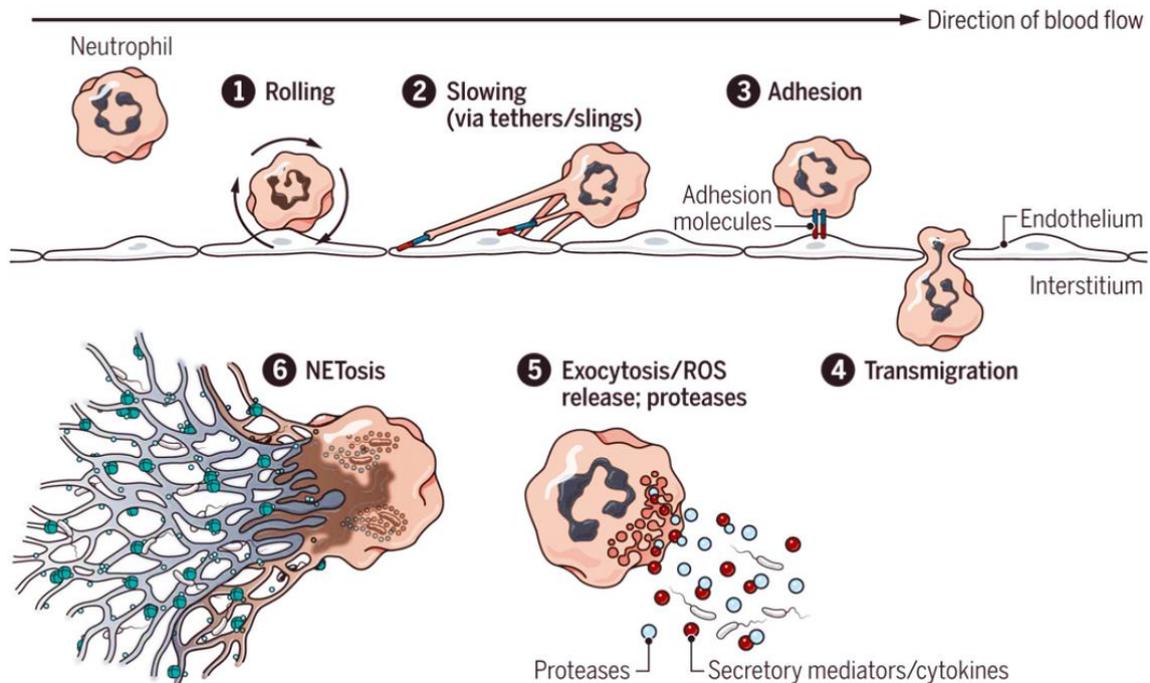


Abbildung 32: Schematische Darstellung von Neutrophilen bei Infektion und Entzündung (127)

Als Reaktion auf einen inflammatorischen oder infektiösen Zustand präsentieren im Blut zirkulierende Neutrophile Oberflächenmoleküle, die ihre Interaktion mit dem Endothel erleichtern (Schritt 1 in Abbildung 32). Nach der Anheftung an Endothelzellen wird in Schritt 2 der Rollprozess durch Verlängerung eines Integrins und die Ausbildung von Schlingen verlangsamt (127). Vermittelt durch Adhäsionsmoleküle, inklusive $\beta 2$ -Integrine, kommt es dann zur festen Adhäsion (Schritt 3) des Neutrophilen an das aktivierte Endothel (127). Die in Schritt 4 dargestellte Transmigration durch das Endothel und die Basalmembran erfordert die Mobilisierung intrazellulärer Vesikel (127). Im interstitiellen Raum bewegen sich die Neutrophilen anschließend entlang chemotaktischer Gradienten, welche durch Moleküle von Pathogenen oder Entzündungsmediatoren erzeugt werden (127). Die Zellen besitzen diverse Abwehrmechanismen, darunter die Internalisation von Erregern zur intrazellulären Abtötung und die Freisetzung von Proteasen und reaktiven Sauerstoffradikalen (ROS), welche die mikrobizide Funktion der Neutrophilen verstärken (Schritt 5) (127). Auch werden Neutrophil

Extracellular Traps (NETs) ausgebildet (Schritt 6), die aus Chromatin und sekretorischen Mediatoren bestehen und dazu dienen, Bakterien einzufangen (127, 130). Während einer Infektion setzen die Neutrophile dann Mediatoren, wie beispielsweise AZU1 und α -Defensin, frei (Schritt 5), die die nachfolgende Immunantwort beeinflussen, indem sie die Funktion adaptiver Immunzellen modulieren (57, 58, 127). Diese Mediatoren stellen folglich deutlich spezifischere Marker als Leukozyten im Allgemeinen dar.

4.4.1 AZU1 als diagnostischer Infektionsmarker

Die Annahme, dass AZU1 ein früh-prädiktiver und spezifischer Infektionsmarker ist, beruht darauf, dass es von wandernden Neutrophilen als Reaktion auf bakterielle Reize schnell ausgeschüttet wird, da es bereits vorproduziert in sekretorischen Vesikeln vorliegt (69). Eine Korrelation zwischen septischen Infektionszuständen und der Serumkonzentration von AZU1 wurde bereits unter anderem durch Zhou *et al.* (2019) nachgewiesen, da septische Patienten im Vergleich mit einer gesunden Kontrollgruppe signifikant höhere Konzentrationen aufwiesen (68).

Auch die vorliegenden Ergebnisse stützen die These, dass AZU1 mit Infektionen zu korrelieren scheint. Verglichen mit der „Endo Kontrolle“ zeigte die gesamte Infektionskohorte signifikant höhere Konzentrationen (vgl. Abbildung 18: Box-Plots: AZU1-Konzentrationen für die neue Einteilung des Patientenkollektivs). Zudem zeigten die Box-Plots von AZU1 ein ähnliches Erscheinungsbild zu denen der CRP-Konzentrationen (vgl. Abbildung 16: Box-Plots: CRP-Konzentrationen für die neue Einteilung des Patientenkollektivs), jedoch lagen für AZU1 noch signifikantere Konzentrationsunterschiede vor. Betrachtet man die Feineinteilung der Patienten, zeigte sich zudem die Gruppe mit „Endoprotheseninfekt“ neben der „Trauma Kontrolle“ für AZU1 als signifikanteste Gruppe (vgl. Abbildung 12: Box-Plots: AZU1-Konzentrationen für die Feineinteilung des Patientenkollektivs).

Die Analyse nach Keimvorliegen (vgl. Abbildung 26: Box-Plots: Analyse nach Keimnachweis für AZU1 und α -Defensin) ergab zudem, dass die Konzentrationen von AZU1 zwischen der „Endo Kontrolle“ und allen

DISKUSSION

keimpositiven Gruppen deutlich höhere Signifikanzen aufwiesen, als es bei CRP der Fall war. Vor allem in den relevanten Gruppen „Weichteildefekte/-infekte“ ($p \leq 0,001$) und „Implantat-/Endoprotheseninfekte“ ($p \leq 0,0001$) mit je positivem Abstrich waren die Unterschiede am signifikantesten, trotz der teils geringen Gruppengrößen. Laut durchgeführten ROC-Analysen (vgl. Abschnitt 3.2.3.1 ROC-Analysen) stellte AZU1 ferner einen spezifischeren Marker als das bekannte CRP dar.

Angesichts der erheblich kostengünstigeren und zeitsparenden Möglichkeit zur Bestimmung der AZU1-Konzentrationen in Routine-Blutproben im Vergleich zu der aufwendigeren Analyse der beispielsweise α -Defensin-Konzentrationen in Synovialpunktionen durch externe Labore, könnte die Integration der AZU1-Bestimmung bei Verdacht auf eine periprothetische Infektion möglicherweise zukünftige Punktationen ersetzen und somit signifikante Kosteneinsparungen ermöglichen. Auch kann die Kombination der Bestimmung von AZU1 mit herkömmlichen Markern unter Umständen spezifischere Aussagen zum Infektionsgeschehen zulassen als beispielsweise die alleinige Betrachtung der CRP- und Leukozyten-Konzentrationen.

Ergänzend zu der Analyse der Konzentrationen im Serum kann AZU1 auch im Urin untersucht werden, hier zeigten sich beispielsweise bei Vorliegen von Harnwegsinfektionen bei Kindern erhöhte Werte (132). Neben der Sepsisthematik finden sich weiterhin erste Studien, die erhöhte AZU1-Serumkonzentrationen beispielsweise bei Patienten mit Pneumonie (133), Atemversagen nach Trauma (134), Influenza-Infektion (135), Covid-19-Infektion (136), akuter Leptospirose (137), nosokomialer Meningitis (138), akuter Pankreatitis (139) oder Verbrennungen (140) nachgewiesen haben. Alle Krankheitsformen basieren auf entzündlichen bzw. infektiösen Vorgängen, was das Potential des Markers hinsichtlich der allgemeinen Infektionsdiagnostik weiter betont. Dennoch ist die Forschung zu AZU1 in Bezug auf verschiedene Krankheitsformen verglichen mit anderen Biomarkern noch vergleichsweise begrenzt. In Zusammenhang mit frühen Infektionsstadien finden sich Stand jetzt (11/2023) keine konkreten Studien. Auch in dem Bereich der Orthopädie und

Unfallchirurgie stellt unsere vorliegende Arbeit am Siegfried-Weller-Institut (Hemmann, Kloppenburg *et al.* (2024) eine wegweisende Pionierleistung dar.

4.4.2 α -Defensin als diagnostischer Infektionsmarker

Die Infektionskohorte wies verglichen mit den Kontrollgruppen niedrigere α -Defensin-Konzentrationen auf (vgl. Abschnitt 3.2.1 Darstellung nach Feineinteilung des Patientenkollektivs). Laut ROC-Analyse wurden somit erniedrigte Werte (vgl. z.B. Cut-off < 111,9 ng/ml (Tabelle 9: ROC-Analyse: „Endo Ktrl.“ vs. Infektionskohorte)) als Indikator für eine Infektion interpretiert. Daraus lässt sich schließen, dass die im Serum zirkulierende Menge des Peptids nicht der in der Synovialflüssigkeit und somit dem Ort der Infektion entspricht. Folglich hat sich gezeigt, dass α -Defensin als Serummarker für Infektionen in der vorliegenden Arbeit weniger geeignet ist, obwohl es in Synovialpunktaten deutlich bessere Resultate liefert (62). Laut Tajima *et al.* ist die Bestimmung der Serum- α -Defensin-Konzentrationen auch bei Verdacht auf Arthritis ohne Aussagekraft, wohingegen die synovialen Konzentrationen der Patienten mit bestätigter infektiöser Arthritis deutlich erhöht waren (141).

Alternativ zum ELISA findet zum α -Defensin-Nachweis in Synovialflüssigkeit der in Abschnitt 4.4.2 bereits erwähnte Synovasure Schnelltest Anwendung. Die durch Suen *et al.* 2018 durchgeführte Metaanalyse legte jedoch dar, dass dieser Test dem laborbasierten Immunoassay für α -Defensin in Sensitivität und Spezifität unterlegen ist und man sich nicht allein auf den intraoperativ durchgeführten Schnelltest verlassen sollte (142). Aufgrund des bestehenden Risikos von falsch negativen Ergebnissen sollen Patienten mit Verdacht auf eine periprothetische Infektion deshalb gemäß MSIS-Kriterien auch bei negativem Synovasure Test wie Patienten mit nachgewiesener Infektion behandelt werden (142).

Laut Literaturrecherche (Stand 11/2023) ist weiterhin kein standardisierter serologischer Grenzwert bei Infektionsverdacht für α -Defensin festgelegt, da die Konzentrationsbestimmung vornehmlich bei Verdacht auf eine periprothetische Infektion in Synovialflüssigkeit bestimmt wird (109, 115).

4.4.3 PCT als diagnostischer Infektionsmarker

PCT zeigte in dieser Arbeit ein teils gegensätzliches Verhalten zu CRP, Leukozyten und AZU1. Vor allem die „Endo Kontrolle“ war erhöht und die „Trauma Kontrolle“ befand sich auf dem Niveau der Infektionskohorte. Laut Weißgerber (2017) steigt der serologische PCT-Wert zwei Stunden nach Infektion zwar deutlich an, normalisiert sich aber unter adäquater Behandlung innerhalb von drei Tagen (67). Verglichen mit CRP, welches innerhalb von sechs Stunden ansteigt, handelt es sich um einen deutlich früher nachweisbaren Marker, der unter Therapie auch schneller wieder abfällt (2, 53, 67). Da PCT folglich einen sehr sensiblen Marker darstellt und starken interindividuellen Schwankungen unterliegt (51), ist er für die vorliegende Kohorte als ungeeignet zu bewerten. Die Heterogenität und die teils großen Unterschiede im Zeitpunkt der Blutentnahme sowie die Nichtbeachtung der Medikation und Komorbiditäten lassen keine Aussagen über die PCT-Konzentrationen zu. Laut Zulauf *et al.* kann von der absoluten PCT-Konzentration nicht auf die Schwere einer Infektion geschlossen werden (51). Dem genannten Paper zufolge hat PCT bei lokal begrenzten Infektionen zudem nur eine geringe Aussagekraft (51). Aktuelle Studien belegen weiterhin, dass der Entzündungsparameter PCT je nach Erregertyp unterschiedlich reagieren kann (52, 95). Da die genaue Betrachtung der Art der Erreger nicht der Fragestellung dieser Arbeit entspricht (s. Abschnitt 5 Limitationen), lässt sich basierend auf den vorliegenden Ergebnissen auch hierzu keine Aussage treffen. Dennoch bestätigen die Ergebnisse der hier durchgeführten Analysen die Sensibilität des Markers.

4.5 Einfluss des akuten Frakturereignisses in der „Trauma Kontrolle“

Die Ergebnisse zeigten, dass die „Trauma Kontrolle“ für alle Marker, mit Ausnahme von PCT, höhere Konzentrationen verglichen mit der „Endo Kontrolle“ aufwies. Dabei war das Konzentrationsniveau eher mit dem der Infektionspatienten vergleichbar. Da die Patienten in der Regel mit einem akuten Frakturereignis die Klinik aufsuchen und zeitnah operiert werden, liegt offenbar ein Zusammenhang zwischen den erhöhten Werten und dem Frakturereignis vor, der im Folgenden diskutiert wird.

Für CRP ist bereits bekannt, dass es innerhalb von 24 Stunden nach traumatischer Fraktur deutlich ansteigt (143). Im Verlauf der Wundheilung fällt der Spiegel dann allmählich wieder ab (143). Weitere Studien zeigen, dass erhöhte CRP-Werte mit einem höheren Risiko, eine Fraktur zu erleiden, einhergehen (144, 145).

Bei der Heilung von Knochenbrüchen wird davon ausgegangen, dass entzündliche Vorgänge, die der Knochenbildung und dem Knochenumbau vorausgehen, eine wesentliche Rolle spielen (146). Hier findet sich die Erklärung, dass die Leukozyten der „Trauma Kontrolle“ als Immunzellen ebenfalls erhöht waren.

Eine Fraktur geht je nach Schweregrad und ursächlicher Gewalteinwirkung mit Weichteilschäden und Hämatombildung durch Ruptur umgebender Gefäße einher (146-148). Neutrophile werden bei Gewebsverletzung als erste Zellen des Immunsystems freigesetzt (149, 150), wodurch die hohen AZU1- und α -Defensin-Konzentrationen der „Trauma Kontrolle“ erklärt werden können. Auch entspricht die laut Korrelationsanalyse (vgl. Abschnitt 3.2.6 Bivariate Korrelationsanalyse) signifikant positive Korrelation von AZU1 zu CRP und Leukozyten innerhalb dieser Gruppe den genannten Erkenntnissen. Abbildung 33 (149) veranschaulicht, dass es bereits innerhalb der ersten Stunde nach Gewebsverletzung zur Mobilisierung von Neutrophilen kommt.

DISKUSSION

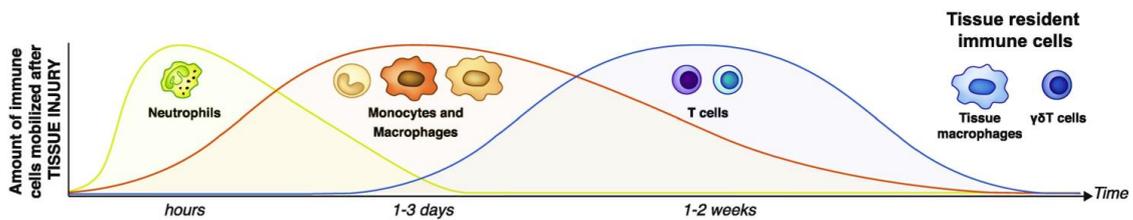


Abbildung 33: Zeitdiagramm: Beteiligte Immunzellen nach Gewebeschädigung (149)

Zu α -Defensin-Konzentrationen im Zusammenhang mit reinen Frakturen gibt es aktuell (10/2023) keine Literatur, jedoch konnten Kumar *et al.* erhöhte Werte bei Patienten mit frakturbedingter Infektion nachweisen (151). Da es wie AZU1 von aktivierten Neutrophilen ausgeschüttet wird (59), ist ebenfalls ein kausaler Zusammenhang mit der Fraktur und einhergehendem Weichteilschaden denkbar. Entsprechend zeigte α -Defensin in der vorliegenden Arbeit innerhalb der „Trauma Kontrolle“ erhöhte Werte und eine signifikant positive Korrelation zu AZU1 (vgl. Abschnitt 3.2.6 Bivariate Korrelationsanalyse).

Studien zur PCT-Bestimmung im Kontext mit traumatischen Frakturen beziehen sich ebenfalls auf die Diagnostik dadurch bedingter Infektionen und nicht auf das Ereignis an sich (152-155). Die PCT-Produktion wird bei Infektion in nicht-thyroidalem Gewebe ausgelöst, woraufhin es zum Anstieg des Serumspiegels kommt (46, 66). Folglich fehlt ein direkter Zusammenhang mit Frakturen.

5 Limitationen

Die Rekrutierung einer Vielzahl von Patienten während der Covid-19-Pandemie gestaltete sich erschwert und zeitaufwändig. Zusätzlich wiesen die Infektionspatienten oft lange Liegedauern auf (die längste Aufenthaltsdauer eines Probanden dieser Studie betrug 110 Tage). Diese Umstände schränkten den Zufluss neuer Patienten stark ein.

Die insgesamt sehr heterogene Infektionskohorte erschwerte es, allgemeine Aussagen zu treffen. Aufgrund der manchmal sehr unterschiedlichen Grunderkrankungen ergaben sich zu kleine Untergruppen mit teils unter zehn Probanden, was für statistische Analysen zu klein ist. Die Zusammenlegung der Gruppen ging mit dem Kompromiss einher, nur grobe Krankheitsrichtungen abbilden zu können.

Eine weitere Limitation stellt der Zeitpunkt der Studienaufnahme der Probanden dar. Die vorliegende Infektionskohorte kommt oft bereits mit einer Komplikation und ist nicht das erste Mal in stationärer Behandlung. Folglich fehlt die Information zum Therapiezeitpunkt: Liegt eine initiale Erkrankung vor oder finden Revisionseingriffe statt? Die vorliegende Arbeit bildet somit nur einen Zeitpunkt im Krankheitsverlauf der Patienten ab, der je nach Proband aufgrund der Heterogenität des Pools sehr unterschiedlich ausfallen wird.

Weiterhin gibt es Differenzen im Zeitpunkt der Blutentnahme. Für die CRP- und Leukozyten-Werte wurde jeweils das erste Blutbild herangezogen, das bei der stationären Aufnahme erstellt wurde. Hingegen stammen die Proben für die ELISAs von einem späteren Zeitpunkt, da zunächst über die Studie aufgeklärt und eine Einwilligung eingeholt werden musste. Bedauerlicherweise konnte dies teilweise erst postoperativ erfolgen.

LIMITATIONEN

Die Erfassung der Komplikationen anhand der Clavien-Dindo Klassifikation ist ebenfalls als Limitation anzusehen, da diese die Komplikationen nur nach benötigter Therapie einteilt und die Art der Komplikation nicht mit abgebildet wird. Auch wurde nur der Verlauf ab Studienaufnahme berücksichtigt, nicht ab Krankheitsbeginn. Insbesondere für Patienten mit wiederkehrenden Komplikationen bei Infektionen scheint diese Einteilung nur bedingt Sinn zu ergeben. In dieser Studie wurde bei der Auswahl der Kontrollpatienten darauf geachtet, dass keine Klassifikation nach Clavien-Dindo vorlag.

Bei der Durchsicht der mikrobiologischen Befunde der Infektionspatienten, wurde sich entschieden, nur zwischen positivem und negativem oder nicht vorhandenem Befund zu unterscheiden. Eine Differenzierung nach Keim oder Zeitpunkt des Abstrichs war aufgrund der Patientenzahl (zu kleine Untergruppen) nicht möglich und hätte den Rahmen dieser Arbeit überschritten.

Weiterhin findet sich nur wenig Literatur zur Bestimmung der α -Defensin-Konzentrationen im Blut (Stand 11/2023), da der Biomarker vornehmlich in Synovialflüssigkeit bestimmt wird. Daher gibt es auch keinen allgemein festgelegten oder standardisierten serologischen Grenzwert zur Diagnose von Infektionen, was die Interpretation dieses Markers zusätzlich eingeschränkt. Es wurde sich in dieser Arbeit lediglich auf einen von Shrivastave *et al.* beschriebenen Serum-Grenzwert von 250 ng/ml im Kontext mit Covid-19 Patienten (94) bezogen.

Aufgrund der Summe der Limitationen sind keine Aussagen zur Validierung von AZU1 als neuen Marker möglich. Es sind konkrete Studien mit homogeneren und größeren Kohorten nötig.

6 Ausblick

Da der chirurgische Eingriff in der Abteilung der septischen Unfallchirurgie für eine adäquate Therapie meistens essenziell ist, ist eine umfangreiche Kenntnis über mögliche postoperative Komplikationen im Sinne von Infektionen von großer Bedeutung, um diese bestenfalls zu vermeiden. Dennoch kommt es immer wieder zu Komplikationen, wie beispielsweise postoperativen Wundinfektionen oder Infektionen von Implantaten oder Prothesen. Um eine frühere Diagnose stellen zu können und im gleichen Zuge die diagnostische Sicherheit zu erhöhen, sollten neue Testverfahren weiter untersucht und nach erfolgreicher Qualifizierung zu den Routine-Untersuchungen hinzugefügt werden. Durch frühere Diagnose und frühen Therapiebeginn kann das Behandlungsziel so schneller und erfolgreicher erreicht werden.

Weiterhin sollten Risikofaktoren berücksichtigt werden, welche die Gefahr einer Komplikationsentstehung erhöhen. Dazu zählen beispielsweise eine Mangelernährung (156-159), Diabetes (157, 160-162), Rauchen (163-165) oder das Alter mit einhergehender Zunahme von Komorbiditäten (159, 166).

6.1 Einbeziehung von AZU1 in Folgestudien

Um den zeitlichen Verlauf von AZU1-Konzentrationen umfassend zu erfassen, ist eine Langzeitstudie erforderlich. Mit einer solchen Studie könnten Erkenntnisse über den genauen Zeitpunkt der Ausschüttung, den Abbau sowie den Einfluss verschiedener Faktoren, wie beispielsweise der Medikation oder einer Operation, gewonnen werden. Es erfordert eine weitere Datenerfassung mit weiteren Follow-Ups, die gegebenenfalls in Nachuntersuchungen integriert und mit weiteren Blutuntersuchungen kombiniert werden können. So könnte auch der Verlauf der Erkrankung und die Therapie mit abgebildet werden.

Weiterhin hat sich AZU1 vor allem in der Gruppe der Implantat- und Endoprotheseninfektionen als möglicher diagnostischer Infektionsmarker bewiesen, da sich im Vergleich mit der nicht-infektiösen „Endo Kontrolle“

signifikant höhere Werte fanden. Auch die Patienten aus der Abteilung der Traumatologie zeigten erhöhte Konzentrationen von AZU1, was nicht nur eine weitere Erkenntnis ist, sondern auch einen zusätzlichen Ansatz für zukünftige Studien bietet.

6.2 Schlussfolgerungen für den klinischen-Alltag

Unter Hinzunahme der Bestimmung von AZU1 im Rahmen der Routine-Blutentnahme kann die diagnostische Sicherheit womöglich erhöht werden. Weiterhin könnten auf diese Weise Kosten und personelle Ressourcen eingespart werden, die durch beispielsweise eine Gelenkpunktion bei Verdacht auf eine periprothetische Infektion anfallen. Da eine initiale Blutentnahme in der Regel bei Aufnahme auf Station erfolgt, könnte zudem die Zeit von der Diagnose bis zur Behandlung verkürzt werden. Bei elektiven stationären Aufnahmen könnte weiterhin über die präoperative Aufklärung und der damit verbundenen Blutentnahme bereits die passende Behandlung vor dem stationären Aufenthalt evaluiert werden.

7 Zusammenfassung

Postoperative (Wund-)Infektionen gehen mit negativen Folgen für die Patienten (2, 10, 12), den Behandler (10, 12) und die Wirtschaft (9, 10) einher. Eine frühe Diagnose und Behandlung sind folglich von hoher Relevanz.

Über einen Zeitraum von zwei Jahren wurden für die gegenwärtige Arbeit insgesamt 222 Probanden aus verschiedenen Abteilungen im Rahmen der AIQNET/KIKS-Studie rekrutiert. Aufgrund der konkreten Fragestellung wurden Variablen, wie beispielweise die Medikation der Probanden, bei der Analyse und Auswertung nicht miteingeschlossen. In dieser klinisch-experimentellen Arbeit wurden die bekannten Marker, CRP, Leukozyten, α -Defensin und PCT, sowie ein neuer Marker, AZU1, in Bezug auf die Diagnostik von Infektionen mittels ELISA untersucht. Die Laboranalysen ergaben Unterschiede zwischen den verschiedenen Patientengruppen sowie den untersuchten Markern.

Der Zeitpunkt der Studienaufnahme in Bezug auf die Operation sowie das Vorhandensein von Keimen wurde analysiert. Es zeigten sich jedoch keine signifikanten Unterschiede, sondern nur Trends innerhalb der Gruppen.

Die einzelnen Marker wurden reevaluiert sowie verschiedene diagnostische Verfahren und deren Praktikabilität diskutiert. Die Bestimmung serologischer Marker bleibt ein wichtiges Tool in der Diagnostik, auch wenn sie bei Patienten mit Komorbiditäten unspezifisch sein können (28). Dennoch kann durch Hinzunahme anderer Testungen oder Marker die diagnostische Sicherheit möglicherweise erhöht werden.

Die Fragestellung nach der diagnostischen Genauigkeit von AZU1 konnte dahingehend beantwortet werden, dass vor allem bei Patienten mit Implantat- oder Endoprotheseninfektionen sowie bei Patienten mit Fraktur ein signifikanter Konzentrationsanstieg nachgewiesen werden konnte und somit die Grundvoraussetzung eines Biomarkers gegeben ist. Die Signifikanzen übertrafen die der CRP-Konzentrationen. AZU1 zeigte insbesondere bei keimpositiven

ZUSAMMENFASSUNG

Patienten erhöhte Werte und stellte laut ROC-Analysen zudem den geeignetsten Infektionsmarker dar.

Die Kontrollgruppe aus der Abteilung der Traumatologie sollte eigentlich den Infektionspatienten gegenübergestellt werden. Dieser Vergleich zeigte sich jedoch als ungeeignet, da eine Fraktur ebenfalls einen Konzentrationsanstieg zu bewirken scheint. Auch dies sind neu gewonnene Erkenntnisse für weiterführende Studien und vertiefende Analysen. Weiterhin zeigte AZU1 eine statistisch signifikante Korrelation zu CRP im Pool der „Trauma Kontrolle“, was die Relevanz als potenziellen neuen Marker betont. Dennoch sind weitere Untersuchungen notwendig, um das Verhalten von AZU1 im Krankheitsverlauf und in größeren Kohorten weiter zu analysieren und den Biomarker so zu validieren.

Betrachtet man die durchgeführten ROC-Analysen zur diagnostischen Aussagekraft bezogen auf Infektionen, haben sich die Leukozyten als unspezifischen Marker erwiesen, da sie eine Gruppe von verschiedenen Zelltypen abbilden. CRP lieferte nach AZU1 die zweitbesten Ergebnisse und bestätigte die Korrelation mit inflammatorischen Vorgängen sowie die diagnostische Potenz, obgleich sein Nutzen in Bezug auf periprothetische Infektionen fortgehend diskutiert wird (108).

α -Defensin zeigte verglichen mit der Infektionskohorte erhöhte Werte in den Kontrollgruppen, weshalb laut ROC-Analyse erniedrigte Werte eine Infektion anzeigen würden. Somit erwies sich α -Defensin als ungeeigneter Serummarker für Infektionen, auch wenn er in Synovialpunktaten deutlich bessere Ergebnisse liefert (62).

PCT zeigte für die Kontrollpatienten ebenfalls erhöhte Werte. Da dieser Marker starken Schwankungen unterliegt (51) und der vorliegende Pool sich durch Heterogenität und teils große Unterschiede im Zeitpunkt der Blutprobengewinnung auszeichnet, stellte sich PCT ebenfalls als nicht geeigneten Infektionsmarker für die vorliegende Kohorte dar.

ZUSAMMENFASSUNG

Insgesamt eröffnete die anfänglich kritisch betrachtete Heterogenität der Infektionskohorte dieser Studie die Möglichkeit, allgemeine Erkenntnisse darüber zu gewinnen, in welchen Patientenkollektiven AZU1 tatsächlich eine bedeutsame Rolle spielt. Weiterhin zeigt die vorliegende Arbeit die Komplexität der Infektionsdiagnostik und betont die Bedeutung der sorgfältigen Interpretation von Serummarkern bei der Diagnose und Überwachung von Infektionen. AZU1 präsentierte sich als vielversprechender Marker mit großem diagnostischem Potenzial. Dennoch ist weitere Forschung mit größeren Kohorten zur Validierung der Ergebnisse erforderlich, um so in Zukunft verlässliche Möglichkeiten der Diagnostik und Prävention bieten zu können.

8 Anhang

8.1 Tabellarische Zusammenfassung des gesamten Patientenkollektivs nach neuer Einteilung (JMP)

Tabelle 12: Tabellarische Zusammenfassung des gesamten Patientenkollektivs (nach neuer Einteilung, erstellt mit JMP)

		Gruppe:					
		Endo Ktrl.	Trauma Ktrl.	Weichteil-defekt /-infekt	Implantat-/ Endoprothesen-infekte	Rest	Alle
N		33	38	75	39	37	222
Geschlecht							
N	M	14	24	51	18	25	132
	W	19	14	24	21	12	90
	Alle	33	38	75	39	37	222
Alter bei Studienaufnahme							
	Mittelwert	64,2	43,2	58,5	56,7	50,5	55,1
	Min.	51	22	18	20	20	18
	Max.	77	66	80	79	85	85
Verweildauer							
	Mittelwert	7,5	8,4	17,3	17,8	11,0	13,4
	Min.	3	1	1	4	3	1
	Max.	10	22	110	61	45	110
Keimnachweis							
	Kein	0	5	10	3	13	31
	Negativ	0	1	9	5	6	21
	Positiv	0	0	53	30	17	100
	Alle	0	6	72	38	36	152
CRP [mg/l]							
	Mittelwert	2,28	24,62	25,00	18,60	13,46	18,43
	Std.-Abw.	2,21	27,86	26,53	25,24	16,28	23,98
	Min.	0,10	0,20	0,00	0,25	0,00	0,00
	Max.	7,80	104,80	96,50	96,80	58,00	104,80
Leukozyten [*1000/μl]							
	Mittelwert	6,61	8,18	8,30	8,05	7,19	7,79
	Std.-Abw.	2,24	2,37	2,81	2,71	2,08	2,59
	Min.	1,00	3,30	4,10	3,30	2,80	1,00
	Max.	10,40	14,50	17,30	14,70	14,40	17,30
AZU1 [ng/ml]							
	Mittelwert	11,87	52,14	36,79	43,75	45,34	38,50
	Std.-Abw.	8,01	39,91	30,79	33,25	38,66	34,40
	Min.	2,37	5,31	2,15	1,14	0,25	0,25
	Max.	36,80	165,56	124,74	125,75	139,64	165,56
α-Defensin [ng/ml]							
	Mittelwert	188,31	309,01	124,05	148,72	116,30	171,94
	Std.-Abw.	90,68	249,71	80,16	102,19	94,36	151,30
	Min.	68,36	69,18	13,06	18,18	21,27	13,06
	Max.	427,12	971,69	341,54	378,81	428,82	971,69
PCT [pg/ml]							
	Mittelwert	98,55	84,06	78,18	100,52	72,96	85,31
	Std.-Abw.	27,96	37,74	54,11	69,61	50,62	51,66
	Min.	64,48	22,75	20,04	16,08	20,50	16,08
	Max.	192,29	200,44	250,68	262,57	233,01	262,57

8.2 Verteilungshistogramme der CRP-, Leukozyten-, AZU1-, α -Defensin- und PCT-Konzentrationen (JMP)

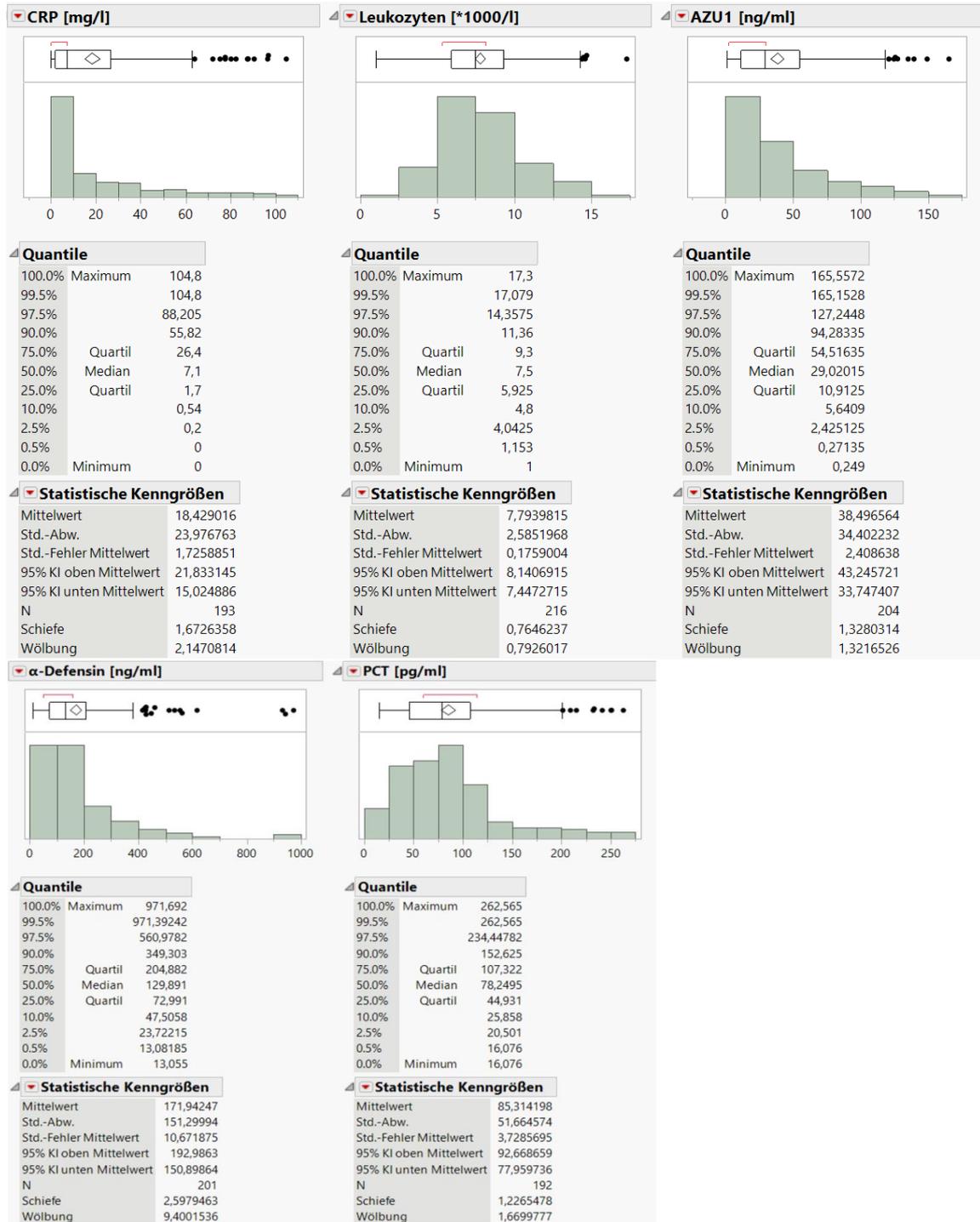


Abbildung 34: Verteilungshistogramme für die Konzentrationen von CRP, Leukozyten, AZU1, α -Defensin und PCT (erstellt mit JMP)

8.3 Bivariate Korrelationsanalyse nach Spearman (JMP)

8.3.1 Gruppe „Weichteildefekt/-infekt“

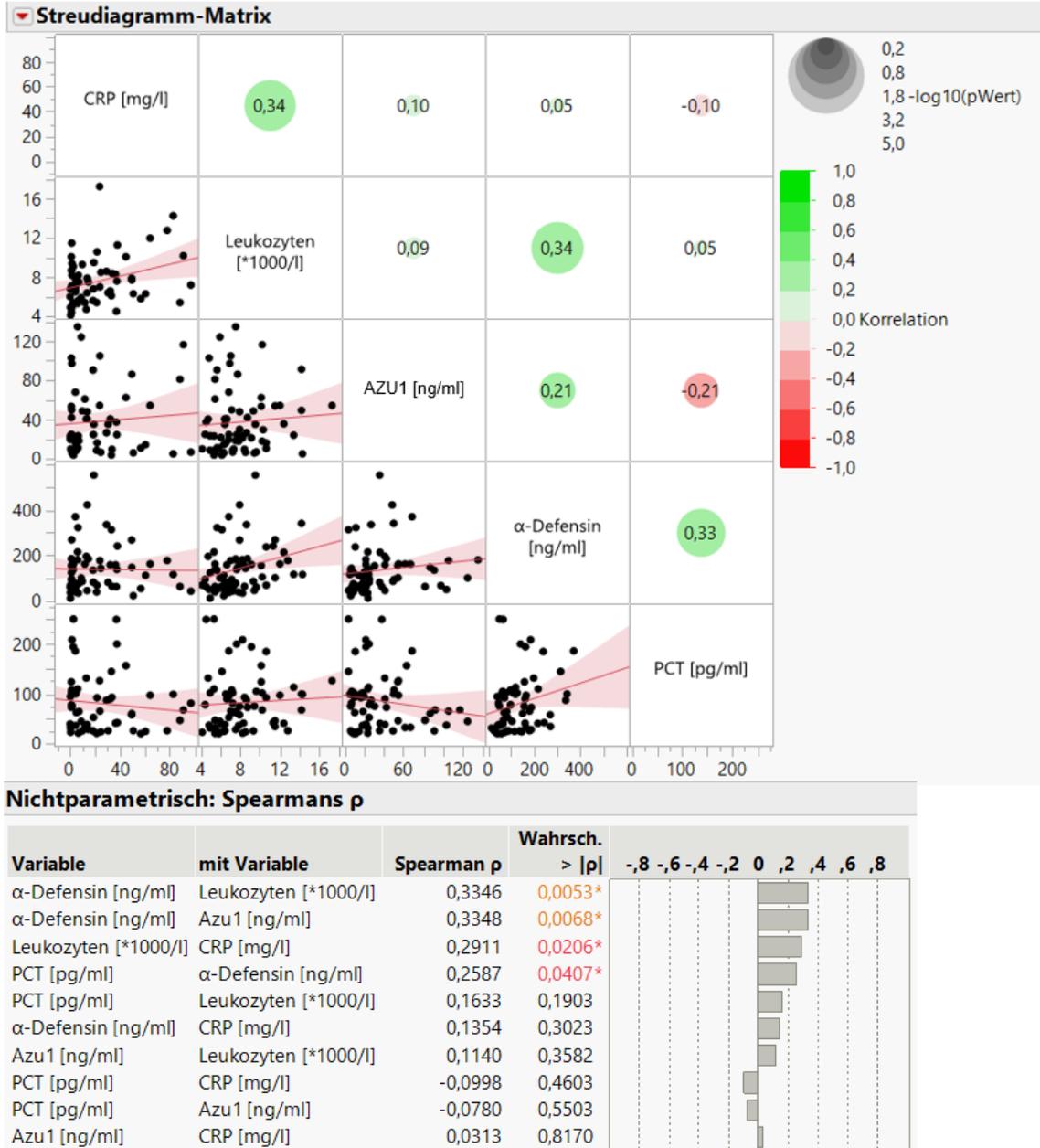


Abbildung 35: Bivariate Korrelationsanalyse nach Spearman für die Gruppe „Weichteildefekt/-infekt“

8.3.2 Gruppe „Implantat-/Endoprotheseninfekt“



Abbildung 36: Bivariate Korrelationsanalyse nach Spearman für die Gruppe „Implantat-/Endoprotheseninfekt“

8.3.3 Gruppe „Restliche“

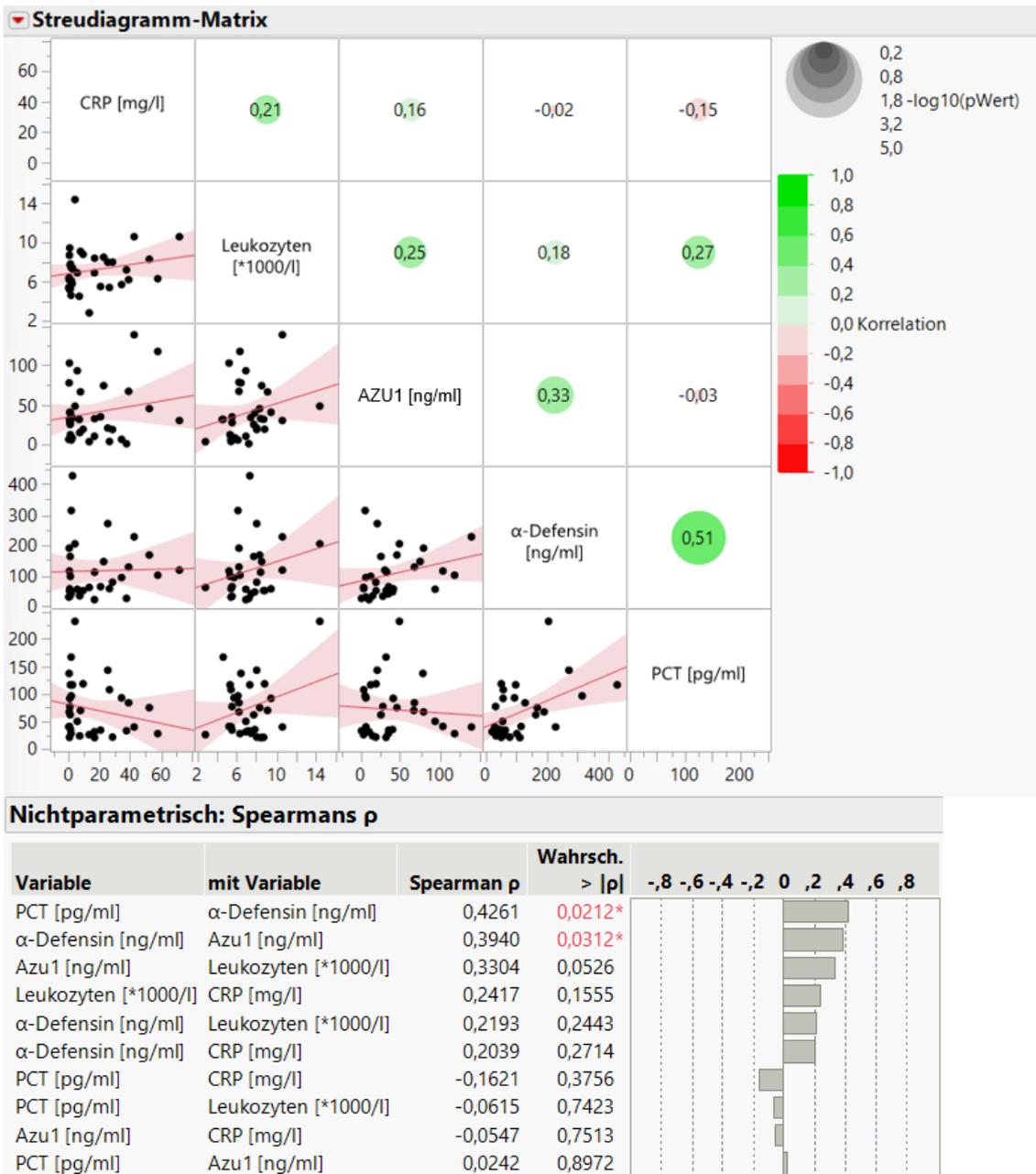


Abbildung 37: Bivariate Korrelationsanalyse nach Spearman für die Gruppe „Restliche“

8.3.4 Gruppe „Trauma Kontrolle“

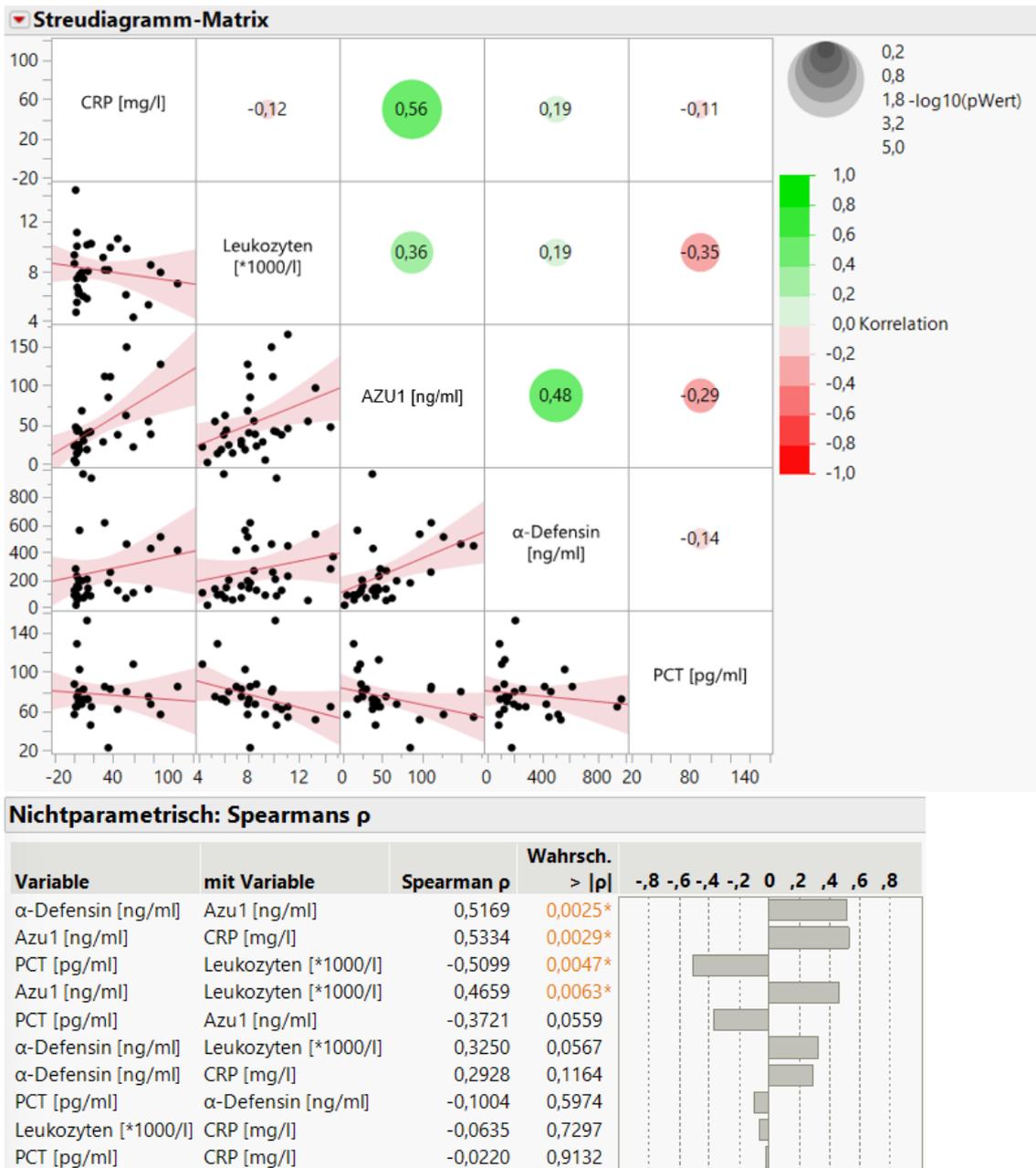


Abbildung 38: Bivariate Korrelationsanalyse nach Spearman für die Gruppe „Trauma Kontrolle“

8.3.5 Gruppe „Endo Kontrolle“

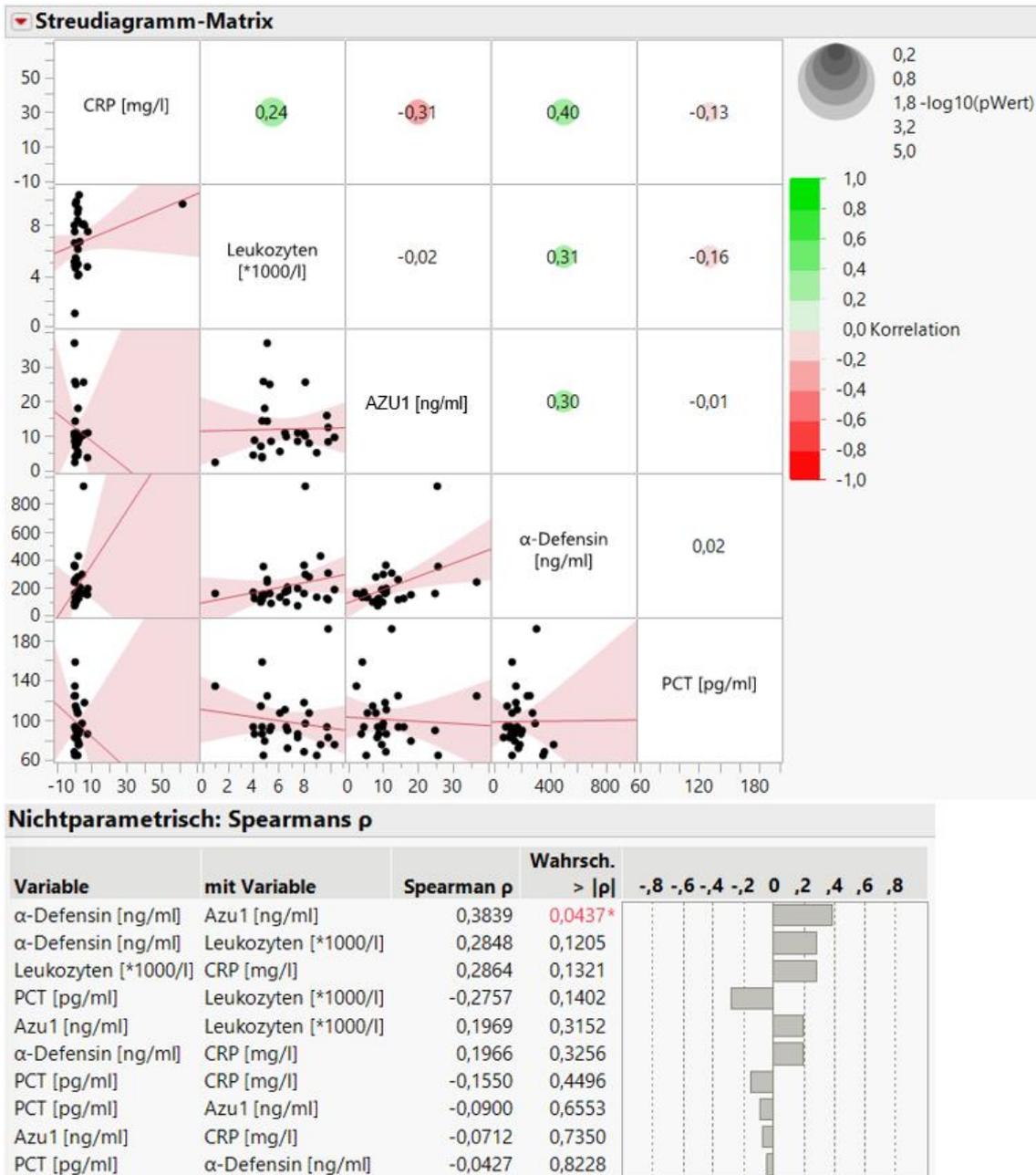


Abbildung 39: Bivariate Korrelationsanalyse nach Spearman für die Gruppe „Endo Kontrolle“

9 Literaturverzeichnis

1. Statistisches Bundesamt (Destatis). Fallpauschalenbezogene Krankenhausstatistik (DRG-Statistik) Operationen und Prozeduren der vollstationären Patientinnen und Patienten in Krankenhäusern (4-Steller) www.destatis.de: Statistisches Bundesamt (Destatis); 2022 [updated 22.09.2022. Access Date: 01.09.2023, 11:38. Available from: [https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft-Umwelt/Gesundheit/Krankenhaeuser/Publikationen/Downloads-Krankenhaeuser/operationen-prozeduren-5231401217014.pdf? blob=publicationFile](https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft-Umwelt/Gesundheit/Krankenhaeuser/Publikationen/Downloads-Krankenhaeuser/operationen-prozeduren-5231401217014.pdf?blob=publicationFile)
2. M. Kalbitz HvB. Frühe postoperative Wundinfektionen. Orthopädie und Unfallchirurgie up2date 4. 2009:49-62.
3. Ott E, Saathoff S, Graf K, Schwab F, Chaberny IF. Prävalenz von nosokomialen und mitgebrachten Infektionen in einer Universitätsklinik - Eine Beobachtungsstudie. Deutsches Ärzteblatt. 2013:533-40.
4. Gastmeier P, Geffers C. [Nosocomial infections in Germany. What are the numbers, based on the estimates for 2006?]. Dtsch Med Wochenschr. 2008;133(21):1111-5.
5. Wagner C, Hänsch GM, Wentzensen A, Heppert V. [Implant-associated post-traumatic osteomyelitis. Bacterial biofilms and the immune defence as protagonists of the local inflammatory process]. Unfallchirurg. 2006;109(9):761-9.
6. Arens SH, Martin. Implantate in der Unfallchirurgie: Osteosynthese mit Titan. Deutsches Ärzteblatt. 1998.
7. PD Dr. R. Haaker AS, J. Krämer, F. Rubenthaler. Osteomyelitis nach Endoprothesen. Die Orthopädie. 2004.
8. Tsukayama DT. Pathophysiology of posttraumatic osteomyelitis. Clin Orthop Relat Res. 1999(360):22-9.
9. Sculco TP. The economic impact of infected total joint arthroplasty. Instr Course Lect. 1993;42:349-51.
10. Badia JM, Casey AL, Petrosillo N, Hudson PM, Mitchell SA, Crosby C. Impact of surgical site infection on healthcare costs and patient outcomes: a systematic review in six European countries. J Hosp Infect. 2017;96(1):1-15.
11. Nanwa N, Kendzerska T, Krahn M, Kwong JC, Daneman N, Witteman W, et al. The economic impact of Clostridium difficile infection: a systematic review. Am J Gastroenterol. 2015;110(4):511-9.
12. Garabet W, Wolters K, Schelzig H, Rembe J-D. Postoperative Wundinfektionen - Aktuelles zu Epidemiologie, Risikostratifizierung und Präventionsansätzen. Gefässchirurgie 2022, Springer Medizin. 2022;6:452-62.

13. Behnke M, Hansen S, Leistner R, Diaz LAP, Gropmann A, Sohr D, et al. Nosokomiale Infektionen und Antibiotika-Anwendung - Zweite nationale Prävalenzstudie in Deutschland. *Deutsches Ärzteblatt*. 2013;38:627-33.
14. Tucci G, Romanini E, Zanolli G, Pavan L, Fantoni M, Venditti M. Prevention of surgical site infections in orthopaedic surgery: a synthesis of current recommendations. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2019;23(2 Suppl):224-39.
15. Liu Z, Dumville JC, Norman G, Westby MJ, Blazeby J, McFarlane E, et al. Intraoperative interventions for preventing surgical site infection: an overview of Cochrane Reviews. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018;2(2):Cd012653.
16. Lipsky BA, Dryden M, Gottrup F, Nathwani D, Seaton RA, Stryja J. Antimicrobial stewardship in wound care: a Position Paper from the British Society for Antimicrobial Chemotherapy and European Wound Management Association. *J Antimicrob Chemother*. 2016;71(11):3026-35.
17. Stryja J, Sandy-Hodgetts K, Collier M, Moser C, Ousey K, Probst S, et al. SURGICAL SITE INFECTION: PREVENTION AND MANAGEMENT ACROSS HEALTH-CARE SECTORS. *J Wound Care*. 2020;29(Sup2b):S1-s72.
18. Horan TC, Gaynes RP, Martone WJ, Jarvis WR, Emori TG. CDC definitions of nosocomial surgical site infections, 1992: a modification of CDC definitions of surgical wound infections. *Am J Infect Control*. 1992;20(5):271-4.
19. KISS Flowcharts postoperative Wundinfektionen nrz-hygiene.de: Nationales Referenzzentrum für Surveillance von nosokomialen Infektionen (NRZ) 2018 [Access Date: 09.10.2023, 14:19. Available from: https://www.nrz-hygiene.de/files/KISS-Definitionen/KISS_Flowcharts_A1-A3_post_op_WI_2018.pdf
20. van Walraven C, Musselman R. The Surgical Site Infection Risk Score (SSIRS): A Model to Predict the Risk of Surgical Site Infections. *PLoS One*. 2013;8(6):e67167.
21. Dissemmond J, Assadian O, Gerber V, Kingsley A, Kramer A, Leaper DJ, et al. Classification of wounds at risk and their antimicrobial treatment with polihexanide: a practice-oriented expert recommendation. *Skin Pharmacol Physiol*. 2011;24(5):245-55.
22. Tande AJ, Patel R. Prosthetic joint infection. *Clin Microbiol Rev*. 2014;27(2):302-45.
23. Xu Y, Huang TB, Schuetz MA, Choong PFM. Mortality, patient-reported outcome measures, and the health economic burden of prosthetic joint infection. *EFORT Open Rev*. 2023;8(9):690-7.
24. Grünwald L, Schmidutz F, Döttger P, Erne F, Schreiner AJ, Hemmann P. Leukocyte esterase and alpha-defensin in periprosthetic joint infection: predictive quality and correlation in a prospective study. *Int Orthop*. 2023.
25. Tan J, Liu Y, Ehnert S, Nüssler AK, Yu Y, Xu J, et al. The Effectiveness of Metagenomic Next-Generation Sequencing in the Diagnosis of Prosthetic Joint Infection: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Cell Infect Microbiol*. 2022;12:875822.

26. Goswami K, Parvizi J, Maxwell Courtney P. Current Recommendations for the Diagnosis of Acute and Chronic PJI for Hip and Knee-Cell Counts, Alpha-Defensin, Leukocyte Esterase, Next-generation Sequencing. *Curr Rev Musculoskelet Med*. 2018;11(3):428-38.
27. Goh GS, Parvizi J. Think Twice before Prescribing Antibiotics for That Swollen Knee: The Influence of Antibiotics on the Diagnosis of Periprosthetic Joint Infection. *Antibiotics (Basel)*. 2021;10(2).
28. Yilmaz MK, Abbaszadeh A, Tarabichi S, Azboy I, Parvizi J. Diagnosis of Periprosthetic Joint Infection: The Utility of Biomarkers in 2023. *Antibiotics (Basel)*. 2023;12(6).
29. Sendi P, Löttscher PO, Kessler B, Graber P, Zimmerli W, Clauss M. Debridement and implant retention in the management of hip periprosthetic joint infection: outcomes following guided and rapid treatment at a single centre. *Bone Joint J*. 2017;99-b(3):330-6.
30. Christopher ZK, McQuivey KS, Deckey DG, Haglin J, Spangehl MJ, Bingham JS. Acute or chronic periprosthetic joint infection? Using the ESR/CRP ratio to aid in determining the acuity of periprosthetic joint infections. *J Bone Jt Infect*. 2021;6(6):229-34.
31. Morrison TA, Figgie M, Miller AO, Goodman SM. Periprosthetic joint infection in patients with inflammatory joint disease: a review of risk factors and current approaches to diagnosis and management. *Hss j*. 2013;9(2):183-94.
32. Gehrke T, Alijanipour P, Parvizi J. The management of an infected total knee arthroplasty. *Bone Joint J*. 2015;97-b(10 Suppl A):20-9.
33. Parvizi J, Zmistowski B, Berbari EF, Bauer TW, Springer BD, Della Valle CJ, et al. New definition for periprosthetic joint infection: from the Workgroup of the Musculoskeletal Infection Society. *Clin Orthop Relat Res*. 2011;469(11):2992-4.
34. Boelch SP, Rüeckl K, Streck LE, Szewczykowski V, Weißenberger M, Jakuscheit A, et al. Diagnosis of Chronic Infection at Total Hip Arthroplasty Revision Is a Question of Definition. *Biomed Res Int*. 2021;2021:8442435.
35. Kim SJ, Cho YJ. Current Guideline for Diagnosis of Periprosthetic Joint Infection: A Review Article. *Hip Pelvis*. 2021;33(1):11-7.
36. Rodríguez D, Pigrau C, Euba G, Cobo J, García-Lechuz J, Palomino J, et al. Acute haematogenous prosthetic joint infection: prospective evaluation of medical and surgical management. *Clin Microbiol Infect*. 2010;16(12):1789-95.
37. Dombrowski ME, Klatt BA, Deirmengian CA, Brause BD, Chen AF. Musculoskeletal Infection Society (MSIS) Update on Infection in Arthroplasty. *Instr Course Lect*. 2020;69:85-102.
38. Akcaalan S, Ozaslan HI, Caglar C, Şimşek ME, Citak M, Akkaya M. Role of Biomarkers in Periprosthetic Joint Infections. *Diagnostics (Basel)*. 2022;12(12).
39. Deutsche Sepsis Gesellschaft e. V. S3-Leitlinie Sepsis – Prävention, Diagnose, Therapie und Nachsorge: AWMF online; 2018 [updated 12/2018. Access Date: 24.08.23, 08:56. Available from:

https://register.awmf.org/assets/guidelines/079-001I_S3_Sepsis-Prävention-Diagnose-Therapie-Nachsorge_2020-03_01.pdf

40. Nadal D, Berger C. Bakterielle Infektionen. Pädiatrie. 2019;Springer-Verlag:327-69.
41. Strehl E. Post-Sepsis-Syndrom - Mühsames Leben nach einer Sepsis. Pharmazeutische Zeitung. 2023.
42. Lambden S, Laterre PF, Levy MM, Francois B. The SOFA score-development, utility and challenges of accurate assessment in clinical trials. Crit Care. 2019;23(1):374.
43. Vincent JL, de Mendonça A, Cantraine F, Moreno R, Takala J, Suter PM, et al. Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: results of a multicenter, prospective study. Working group on "sepsis-related problems" of the European Society of Intensive Care Medicine. Crit Care Med. 1998;26(11):1793-800.
44. DocCheckFlexikon. qSOFA-Score: DocCheckFlexikon; 2017 [updated 03.07.2023, 19:04. Access Date: 24.08.2023, 10:53. Available from: <https://flexikon.doccheck.com/de/QSOFA-Score>
45. Mierzchała-Pasierb M, Lipińska-Gediga M. Sepsis diagnosis and monitoring - procalcitonin as standard, but what next? Anaesthesiol Intensive Ther. 2019;51(4):299-305.
46. Downes KJ, Fitzgerald JC, Weiss SL. Utility of Procalcitonin as a Biomarker for Sepsis in Children. J Clin Microbiol. 2020;58(7).
47. Covington EW, Roberts MZ, Dong J. Procalcitonin Monitoring as a Guide for Antimicrobial Therapy: A Review of Current Literature. Pharmacotherapy. 2018;38(5):569-81.
48. RAYLYTIC GmbH. AIQNET [Access Date: 29.08.2023, 13:21. Available from: <https://aiqnet.eu/>
49. BioRegio STERN: AIQNET - Pioniere im modernen Gesundheitswesen - BG Klinik Tübingen nutzt KI zur Identifikation von Risikopatienten: E-HEALTH-COM; 2020 [updated 03.12.2020. Access Date: 29.08.2023, 14:33. Available from: <https://e-health-com.de/details-unternehmensnews/bioregio-stern-aiqnet-pioniere-im-modernen-gesundheitswesen/>
50. Germolec DR, Shipkowski KA, Frawley RP, Evans E. Markers of Inflammation. Methods Mol Biol. 2018;1803:57-79.
51. Zulauf N, Passek K, Wanke E, Oremek GM. Procalcitonin (PCT) – ein Biomarker in der Sepsisdiagnostik. Zentralblatt für Arbeitsmedizin, Arbeitsschutz und Ergonomie. 2021;71(1):29-31.
52. Leli C, Ferranti M, Moretti A, Al Dhahab ZS, Cenci E, Mencacci A. Procalcitonin levels in gram-positive, gram-negative, and fungal bloodstream infections. Dis Markers. 2015;2015:701480.
53. Black S, Kushner I, Samols D. C-reactive Protein. J Biol Chem. 2004;279(47):48487-90.

54. Arastéh K, Baenkler H, Bieber C, Brandt R, Chatterjee T, Dill T, et al. *Duale Reihe Innere Medizin*: Thieme; 2018.
55. Levinson T, Wasserman A. C-Reactive Protein Velocity (CRPv) as a New Biomarker for the Early Detection of Acute Infection/Inflammation. *Int J Mol Sci*. 2022;23(15).
56. Karow T, Lang-Roth R. *Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie 2023/2024*. 31. ed: Thomas Karow.
57. Nourshargh S, Alon R. Leukocyte migration into inflamed tissues. *Immunity*. 2014;41(5):694-707.
58. Nussler AK, Wittel UA, Nussler NC, Beger HG. Leukocytes, the Janus cells in inflammatory disease. *Langenbecks Arch Surg*. 1999;384(2):222-32.
59. Xie GH, Chen QX, Cheng BL, Fang XM. Defensins and sepsis. *Biomed Res Int*. 2014;2014:180109.
60. López-Bermejo A, Chico-Julià B, Castro A, Recasens M, Esteve E, Biarnés J, et al. Alpha defensins 1, 2, and 3: potential roles in dyslipidemia and vascular dysfunction in humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007;27(5):1166-71.
61. Wilson SS, Wiens ME, Smith JG. Antiviral mechanisms of human defensins. *J Mol Biol*. 2013;425(24):4965-80.
62. Wyatt MC, Beswick AD, Kunutsor SK, Wilson MJ, Whitehouse MR, Blom AW. The Alpha-Defensin Immunoassay and Leukocyte Esterase Colorimetric Strip Test for the Diagnosis of Periprosthetic Infection: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Bone Joint Surg Am*. 2016;98(12):992-1000.
63. Pupaibool J, Fulnecky EJ, Swords RL, Jr., Sistrunk WW, Haddow AD. Alpha-defensin-novel synovial fluid biomarker for the diagnosis of periprosthetic joint infection. *Int Orthop*. 2016;40(12):2447-52.
64. Labor Dr. Fenner und Kollegen. *Imagebroschüre Labor Dr. Fenner und Kollegen 2022* [Access Date: 05.10.2023, 12:46. Available from: https://www.fennerlabor.de/wp-content/uploads/2022/04/Imagebroschuere2022_03-31.pdf]
65. Hamade B, Huang DT. Procalcitonin: Where Are We Now? *Crit Care Clin*. 2020;36(1):23-40.
66. Maruna P, Nedelníková K, Gürlich R. Physiology and genetics of procalcitonin. *Physiol Res*. 2000;49 Suppl 1:S57-61.
67. Weißgerber P. *Mikrobiologische Diagnostik und Infektiologie. Repetitorium Krankenhaushygiene, hygienebeauftragter Arzt und ABS-beauftragter Arzt*. 2017:159-95.
68. Zhou Y, Liu Z, Huang J, Li G, Li F, Cheng Y, et al. Usefulness of the heparin-binding protein level to diagnose sepsis and septic shock according to Sepsis-3 compared with procalcitonin and C reactive protein: a prospective cohort study in China. *BMJ Open*. 2019;9(4):e026527.

69. Fisher J, Linder A. Heparin-binding protein: a key player in the pathophysiology of organ dysfunction in sepsis. *J Intern Med.* 2017;281(6):562-74.
70. Karlsson M, Zhang C, Méar L, Zhong W, Digre A, Katona B, et al. A single-cell type transcriptomics map of human tissues. *Sci Adv.* 2021;7(31).
71. Karlsson M, Zhang C, Méar L, Zhong W, Digre A, Katona B, et al. A single-cell type transcriptomics map of human tissues [image]. Human Protein Atlas proteinatlas.org: THE HUMAN PROTEIN ATLAS; 2021 [Access Date: 10.10.2023, 16:36. Available from: <https://v23.proteinatlas.org/ENSG00000172232-AZU1/subcellular>
72. Thul PJ, Åkesson L, Wiking M, Mahdessian D, Geladaki A, Ait Blal H, et al. A subcellular map of the human proteome. *Science.* 2017;356(6340).
73. Soehnlein O, Lindbom L. Neutrophil-derived azurocidin alarms the immune system. *J Leukoc Biol.* 2009;85(3):344-51.
74. Holub M, Beran O. Should heparin-binding protein levels be routinely monitored in patients with severe sepsis and septic shock? *Crit Care.* 2012;16(3):133.
75. Falck J, Mailand N, Syljuåsen RG, Bartek J, Lukas J. The ATM-Chk2-Cdc25A checkpoint pathway guards against radioresistant DNA synthesis. *Nature.* 2001;410(6830):842-7.
76. Falck J, Petrini JH, Williams BR, Lukas J, Bartek J. The DNA damage-dependent intra-S phase checkpoint is regulated by parallel pathways. *Nat Genet.* 2002;30(3):290-4.
77. Lukas C, Falck J, Bartkova J, Bartek J, Lukas J. Distinct spatiotemporal dynamics of mammalian checkpoint regulators induced by DNA damage. *Nat Cell Biol.* 2003;5(3):255-60.
78. Prävention postoperativer Wundinfektionen - Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut. *Bundesgesundheitsblatt.* 2018:448-73.
79. Li ZQ, Xi XM, Luo X, Li J, Jiang L. Implementing surviving sepsis campaign bundles in China: a prospective cohort study. *Chin Med J (Engl).* 2013;126(10):1819-25.
80. Angstwurm MWA. [Early detection of sepsis in the home setting]. *MMW Fortschr Med.* 2023;165(11):56-60.
81. Gabriel R, Acosta T, Florez K, Anillo L, Navarro E, Boukichou N, et al. Validation of the Finnish Type 2 Diabetes Risk Score (FINDRISC) with the OGTT in Health Care Practices in Europe. *Diabetes Res Clin Pract.* 2021;178:108976.
82. Kondrup J, Rasmussen HH, Hamberg O, Stanga Z. Nutritional risk screening (NRS 2002): a new method based on an analysis of controlled clinical trials. *Clin Nutr.* 2003;22(3):321-36.

83. Liskola J, Haravuori H, Lindberg N, Niemelä S, Karlsson L, Kiviruusu O, et al. AUDIT and AUDIT-C as screening instruments for alcohol problem use in adolescents. *Drug Alcohol Depend.* 2018;188:266-73.
84. Latza U, Hoffmann W, Terschüren C, Chang-Claude J, Kreuzer M, Schaffrath Rosario A, et al. Erhebung, Quantifizierung und Analyse der Rauchexposition in epidemiologischen Studien: Robert Koch-Institut; [Access Date: 24.10.2023, 13:40. Available from: https://www.rki.de/DE/Content/Gesundheitsmonitoring/Themen/Rauchen/Rauchexposition_epidstudien.pdf%3F_blob%3DpublicationFile
85. Devlin NJ, Shah KK, Feng Y, Mulhern B, van Hout B. Valuing health-related quality of life: An EQ-5D-5L value set for England. *Health Econ.* 2018;27(1):7-22.
86. Schreckenberger Y, Kirchberger V. EQ-5D-5L Fragebogen: Heartbeat Medical; 2021 [Access Date: 24.10.2023, 14:01. Available from: <https://heartbeat-med.com/de/resources/eq-5d-5l/>
87. Gandek B, Ware JE, Aaronson NK, Apolone G, Björner JB, Brazier JE, et al. Cross-validation of item selection and scoring for the SF-12 Health Survey in nine countries: results from the IQOLA Project. *International Quality of Life Assessment. J Clin Epidemiol.* 1998;51(11):1171-8.
88. Schreckenberger Y, Kirchberger V. Short Form 12 (SF-12): Heartbeat Medical; 2021 [Access Date: 24.10.2023, 13:53. Available from: <https://heartbeat-med.com/de/resources/short-form-12-sf-12/>
89. Bumm R. Komplikationsklassifikation: Klinikmanual Chirurgie; 2016 [updated 04.08.2016 09:09:05. Access Date: 24.08.2023, 13:02. Available from: <http://www.klinikmanual.de/page.php?id=164&category=memo>
90. Dindo D, Demartines N, Clavien PA. Classification of surgical complications: a new proposal with evaluation in a cohort of 6336 patients and results of a survey. *Ann Surg.* 2004;240(2):205-13.
91. Itoh K, Suzuki T. Antibody-guided selection using capture-sandwich ELISA. *Methods Mol Biol.* 2002;178:195-9.
92. Lin AV. Indirect ELISA. *Methods Mol Biol.* 2015;1318:51-9.
93. Linder A, Christensson B, Herwald H, Björck L, Åkesson P. Heparin-Binding Protein: An Early Marker of Circulatory Failure in Sepsis. *Clinical Infectious Diseases.* 2009;49(7):1044-50.
94. Shrivastava S, Chelluboina S, Jedge P, Doke P, Palkar S, Mishra AC, et al. Elevated Levels of Neutrophil Activated Proteins, Alpha-Defensins (DEFA1), Calprotectin (S100A8/A9) and Myeloperoxidase (MPO) Are Associated With Disease Severity in COVID-19 Patients. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021;11:751232.
95. Oussalah A, Ferrand J, Filhine-Tresarrieu P, Aissa N, Aimone-Gastin I, Namour F, et al. Diagnostic Accuracy of Procalcitonin for Predicting Blood Culture Results in Patients With Suspected Bloodstream Infection: An Observational

- Study of 35,343 Consecutive Patients (A STROBE-Compliant Article). *Medicine (Baltimore)*. 2015;94(44):e1774.
96. Owens CD, Stoessel K. Surgical site infections: epidemiology, microbiology and prevention. *J Hosp Infect*. 2008;70 Suppl 2:3-10.
97. Bernard L, Arvieux C, Brunschweiler B, Touchais S, Ansart S, Bru JP, et al. Antibiotic Therapy for 6 or 12 Weeks for Prosthetic Joint Infection. *N Engl J Med*. 2021;384(21):1991-2001.
98. Fang C, Wong TM, Lau TW, To KK, Wong SS, Leung F. Infection after fracture osteosynthesis - Part I. *J Orthop Surg (Hong Kong)*. 2017;25(1):2309499017692712.
99. Clark ST, Forbes JD, Matukas LM. Wound swab quality grading is dependent on Gram smear screening approach. *Sci Rep*. 2023;13(1):3160.
100. Fajgenbaum DC, June CH. Cytokine Storm. *N Engl J Med*. 2020;383(23):2255-73.
101. Levinson T, Tamir N, Shenhar-Tsarfaty S, Paran Y, Zeltzer D, Shapira I, et al. The potential benefit of a second C-reactive protein measurement in patients with gram-negative bacteraemia presenting to the emergency medicine department. *Biomarkers*. 2020;25(7):533-8.
102. Deng JC, Zhao FL, Qiao LN. Value of heparin-binding protein in the diagnosis of severe infection in children: a prospective study. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi*. 2022;24(1):85-9.
103. Snäll J, Linnér A, Uhlmann J, Siemens N, Ibold H, Janos M, et al. Differential neutrophil responses to bacterial stimuli: Streptococcal strains are potent inducers of heparin-binding protein and resistin-release. *Sci Rep*. 2016;6:21288.
104. Hemmann P, Kloppenburg L, Breinbauer R, Ehnert S, Blumenstock G, Reumann MK, et al. AZU1: a new promising marker for infection in orthopedic and trauma patients? *EXCLI Journal*. 2024;23:53-61.
105. Bürger W, Schade R, Hirschelmann R. The rat C-reactive protein--isolation and response to experimental inflammation and tissue damage. *Agents Actions*. 1987;21(1-2):93-7.
106. Glaudemans AW, Uçkay I, Lipsky BA. Challenges in diagnosing infection in the diabetic foot. *Diabet Med*. 2015;32(6):748-59.
107. Hackl S, Trenkwalder K, Militz M, Augat P, Stuby FM, von Rüden C. [Infected nonunion: diagnostic and therapeutic work-up]. *Unfallchirurgie (Heidelb)*. 2022;125(8):602-10.
108. Sigmund IK, Puchner SE, Windhager R. Serum Inflammatory Biomarkers in the Diagnosis of Periprosthetic Joint Infections. *Biomedicines*. 2021;9(9).
109. Citak M, Zahar A, Kendoff D. Frühinfekt in der Endoprothetik. *OP-Journal*. 2017;33(02):136-40.

110. Senneville E, Robineau O, Loiez C, de Saint Vincent B, Dartus J, Migaud H. A profile on the Synovasure alpha defensin test for the detection of periprosthetic infections. *Expert Rev Mol Diagn.* 2020;20(9):895-904.
111. Parvizi J, Jacovides C, Antoci V, Ghanem E. Diagnosis of periprosthetic joint infection: the utility of a simple yet unappreciated enzyme. *J Bone Joint Surg Am.* 2011;93(24):2242-8.
112. Li Z, Zhang Q, Shi L, Gao F, Sun W, Li Z. Alpha-Defensin versus Leukocyte Esterase in Periprosthetic Joint Infection: An Updated Meta-Analysis. *Biomed Res Int.* 2020;2020:3704285.
113. Indelli PF, Ghirardelli S, Violante B, Amanatullah DF. Next generation sequencing for pathogen detection in periprosthetic joint infections. *EFORT Open Rev.* 2021;6(4):236-44.
114. Huang Z, Li W, Lee GC, Fang X, Xing L, Yang B, et al. Metagenomic next-generation sequencing of synovial fluid demonstrates high accuracy in prosthetic joint infection diagnostics: mNGS for diagnosing PJI. *Bone Joint Res.* 2020;9(7):440-9.
115. Arvieux C, Common H. New diagnostic tools for prosthetic joint infection. *Orthop Traumatol Surg Res.* 2019;105(1s):S23-s30.
116. Sandberg AA, Borgström A. Early prediction of severity in acute pancreatitis. Is this possible? *Jop.* 2002;3(5):116-25.
117. Ticinesi A, Lauretani F, Nouvenne A, Porro E, Fanelli G, Maggio M, et al. C-reactive protein (CRP) measurement in geriatric patients hospitalized for acute infection. *Eur J Intern Med.* 2017;37:7-12.
118. Baker CM, Goh GS, Tarabichi S, Shohat N, Parvizi J. Synovial C-Reactive Protein is a Useful Adjunct for Diagnosis of Periprosthetic Joint Infection. *J Arthroplasty.* 2022;37(12):2437-43.e1.
119. Di Benedetto P, Buttironi MM, Causero A. Biomarkers and infections in orthopedics: our experience and literature review. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2018;32(6 Suppl. 1):51-6.
120. Zimmerli W, Moser C. Pathogenesis and treatment concepts of orthopaedic biofilm infections. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2012;65(2):158-68.
121. Høiby N, Ciofu O, Johansen HK, Song ZJ, Moser C, Jensen P, et al. The clinical impact of bacterial biofilms. *Int J Oral Sci.* 2011;3(2):55-65.
122. Largman-Chalamish M, Wasserman A, Silberman A, Levinson T, Ritter O, Berliner S, et al. Differentiating between bacterial and viral infections by estimated CRP velocity. *PLoS One.* 2022;17(12):e0277401.
123. Bernstein D, Coster D, Berliner S, Shapira I, Zeltser D, Rogowski O, et al. C-reactive protein velocity discriminates between acute viral and bacterial infections in patients who present with relatively low CRP concentrations. *BMC Infect Dis.* 2021;21(1):1210.

124. George EL, Panos A. Does a high WBC count signal infection? *Nursing*. 2005;35(1):20-1.
125. Tran A, Hudoba M, Markin T, Roland K. Sustainable Laboratory-Driven Method to Decrease Repeat, Same-Day WBC Differentials at a Tertiary Care Center. *Am J Clin Pathol*. 2022;157(4):561-5.
126. George TI. Malignant or benign leukocytosis. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2012;2012:475-84.
127. Ley K, Hoffman HM, Kubes P, Cassatella MA, Zychlinsky A, Hedrick CC, et al. Neutrophils: New insights and open questions. *Sci Immunol*. 2018;3(30).
128. Liew PX, Kubes P. The Neutrophil's Role During Health and Disease. *Physiol Rev*. 2019;99(2):1223-48.
129. Quail DF, Amulic B, Aziz M, Barnes BJ, Eruslanov E, Fridlender ZG, et al. Neutrophil phenotypes and functions in cancer: A consensus statement. *J Exp Med*. 2022;219(6).
130. Linnemann C, Venturelli S, Konrad F, Nussler AK, Ehnert S. Bio-impedance measurement allows displaying the early stages of neutrophil extracellular traps. *Excli j*. 2020;19:1481-95.
131. Lee KH, Kronbichler A, Park DD, Park Y, Moon H, Kim H, et al. Neutrophil extracellular traps (NETs) in autoimmune diseases: A comprehensive review. *Autoimmun Rev*. 2017;16(11):1160-73.
132. Kjölvmark C, Akesson P, Linder A. Elevated urine levels of heparin-binding protein in children with urinary tract infection. *Pediatr Nephrol*. 2012;27(8):1301-8.
133. Xiao X, Hong Y, Wang S, Ma M, Xu Z. Diagnostic value of plasma heparin-binding protein and the heparin-binding protein-to-albumin ratio in patients with community-acquired Pneumonia: a retrospective study. *BMC Infect Dis*. 2023;23(1):777.
134. Johansson J, Brattström O, Sjöberg F, Lindbom L, Herwald H, Weitzberg E, et al. Heparin-binding protein (HBP): an early marker of respiratory failure after trauma? *Acta Anaesthesiol Scand*. 2013;57(5):580-6.
135. Kaukonen KM, Linko R, Herwald H, Lindbom L, Ruokonen E, Ala-Kokko T, et al. Heparin-binding protein (HBP) in critically ill patients with influenza A(H1N1) infection. *Clin Microbiol Infect*. 2013;19(12):1122-8.
136. Mellhammar L, Thelaus L, Elén S, Fisher J, Linder A. Heparin binding protein in severe COVID-19-A prospective observational cohort study. *PLoS One*. 2021;16(4):e0249570.
137. Vieira ML, Persson S, Lopes-Ferreira M, Romero EC, Kirchgatter K, Nascimento A, et al. Heparin-Binding Protein Release Is Strongly Induced by *Leptospira* Species and Is a Candidate for an Early Diagnostic Marker of Human Leptospirosis. *J Infect Dis*. 2019;219(6):996-1006.
138. Kong Y, Ye Y, Ma J, Shi G. Accuracy of heparin-binding protein for the diagnosis of nosocomial meningitis and ventriculitis. *Crit Care*. 2022;26(1):56.

139. Sjöbeck M, Sternby H, Herwald H, Thorlacius H, Regnér S. Heparin-binding protein is significantly increased in acute pancreatitis. *BMC Gastroenterol.* 2021;21(1):337.
140. Song M, Liu L, Qi X, Yang Y, Huang J, Sun R, et al. [Mechanism of heparin-binding protein increasing vascular permeability in early burn]. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue.* 2020;32(3):330-5.
141. Tajima T, Mori T, Hirano F, Sabanai K, Kawasaki M, Yamanaka Y, et al. Alpha-Defensin-1 in Synovial Fluid is Useful for Diagnosis of Joint Infection. *J uoeh.* 2020;42(2):167-73.
142. Suen K, Keeka M, Ailabouni R, Tran P. Synovasure 'quick test' is not as accurate as the laboratory-based α -defensin immunoassay: a systematic review and meta-analysis. *Bone Joint J.* 2018;100-b(1):66-72.
143. Jiao J, Wang JW, Xiao F, Huang YC. The association between the levels of CRP, IL-10, PLA2, Fbg and prognosis in traumatic fracture of lower limb. *Exp Ther Med.* 2016;12(5):3209-12.
144. Mun H, Liu B, Pham THA, Wu Q. C-reactive protein and fracture risk: an updated systematic review and meta-analysis of cohort studies through the use of both frequentist and Bayesian approaches. *Osteoporos Int.* 2021;32(3):425-35.
145. Eriksson AL, Movérare-Skrtic S, Ljunggren Ö, Karlsson M, Mellström D, Ohlsson C. High-sensitivity CRP is an independent risk factor for all fractures and vertebral fractures in elderly men: the MrOS Sweden study. *J Bone Miner Res.* 2014;29(2):418-23.
146. Ono T, Takayanagi H. Osteoimmunology in Bone Fracture Healing. *Curr Osteoporos Rep.* 2017;15(4):367-75.
147. Gardner MJ, Higgins TA, Harvin WH, Stannard JP, Lee MA, Crist BD. What Is Important Besides Getting the Bone to Heal? Impact on Tissue Injury Other Than the Fracture. *J Orthop Trauma.* 2018;32 Suppl 1:S21-s4.
148. Collinge C, Tornetta P, 3rd. Soft tissue injuries associated with pelvic fractures. *Orthop Clin North Am.* 2004;35(4):451-6, v.
149. Julier Z, Park AJ, Briquez PS, Martino MM. Promoting tissue regeneration by modulating the immune system. *Acta Biomater.* 2017;53:13-28.
150. Kolaczowska E, Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat Rev Immunol.* 2013;13(3):159-75.
151. Kumar P, Mittal A, Bansal P, Aggarwal S, Rajnish RK, Dadra A, et al. Wound alpha defensin levels are significantly higher in patients with fracture related infection: A pilot, prospective cohort study. *Injury.* 2023;54(2):416-21.
152. Liu J, Xu X, Lv X, Shen G. Correlation between surgical site infection and time-dependent blood platelet count in immunocompromised patients after femoral neck fracture. *J Int Med Res.* 2022;50(1):3000605211068689.

153. Yasmin D, Bulut G, Yildiz M. [Can procalcitonin be used for the diagnosis and follow-up of postoperative complications after fracture surgery?]. *Acta Orthop Traumatol Turc.* 2006;40(1):15-21.
154. Zhao QM, Zhu HM, Hong SC, Cheng L. Diagnostic Value of Serum Procalcitonin in Early Infection after Internal Fixation for Traumatic Fracture. *Clin Lab.* 2017;63(11):1827-30.
155. Villain C, Chenevier-Gobeaux C, Cohen-Bittan J, Ray P, Epelboin L, Verny M, et al. Procalcitonin and C-Reactive Protein for Bacterial Infection Diagnosis in Elderly Patients After Traumatic Orthopedic Surgery. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2020;75(10):2008-14.
156. Bellanti F, Lo Buglio A, Quiete S, Pellegrino G, Dobrakowski M, Kasperczyk A, et al. Comparison of Three Nutritional Screening Tools with the New Glim Criteria for Malnutrition and Association with Sarcopenia in Hospitalized Older Patients. *J Clin Med.* 2020;9(6).
157. Wintermeyer E, Ihle C, Ehnert S, Schreiner AJ, Stollhof L, Stöckle U, et al. Assessment of the Influence of Diabetes mellitus and Malnutrition on the Postoperative Complication Rate and Quality of Life of Patients in a Clinic Focused on Trauma Surgery. *Z Orthop Unfall.* 2019;157(2):173-82.
158. Jacobs DG, Jacobs DO, Kudsk KA, Moore FA, Oswanski MF, Poole GV, et al. Practice management guidelines for nutritional support of the trauma patient. *J Trauma.* 2004;57(3):660-78; discussion 79.
159. Lambert C, Nüssler A, Biesalski HK, Freude T, Bahrs C, Ochs G, et al. Age-dependent risk factors for malnutrition in traumatology and orthopedic patients. *Nutrition.* 2017;37:60-7.
160. Grant B, Chowdhury TA. New guidance on the perioperative management of diabetes. *Clin Med (Lond).* 2022;22(1):41-4.
161. Hoogwerf BJ. Postoperative management of the diabetic patient. *Med Clin North Am.* 2001;85(5):1213-28.
162. Kang ZQ, Huo JL, Zhai XJ. Effects of perioperative tight glycemic control on postoperative outcomes: a meta-analysis. *Endocr Connect.* 2018;7(12):R316-r27.
163. Rinderknecht H, Nussler AK, Steinestel K, Histing T, Ehnert S. Smoking Impairs Hematoma Formation and Dysregulates Angiogenesis as the First Steps of Fracture Healing. *Bioengineering (Basel).* 2022;9(5).
164. Aspera-Werz RH, Mück J, Linnemann C, Herbst M, Ihle C, Histing T, et al. Nicotine and Cotinine Induce Neutrophil Extracellular Trap Formation-Potential Risk for Impaired Wound Healing in Smokers. *Antioxidants (Basel).* 2022;11(12).
165. Ehnert S, Aspera-Werz RH, Ihle C, Trost M, Zirn B, Flesch I, et al. Smoking Dependent Alterations in Bone Formation and Inflammation Represent Major Risk Factors for Complications Following Total Joint Arthroplasty. *J Clin Med.* 2019;8(3).
166. Maurer E, Wallmeier V, Reumann M, Ehnert S, Ihle C, Schreiner AJ, et al. Increased Age, Cardiovascular Comorbidities, COPD, and Diabetes mellitus

LITERATURVERZEICHNIS

Determine Excess Mortality in Trauma Patients with SSI or Chronic Wounds. *Z Orthop Unfall.* 2023;161(4):412-21.

10 Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift

Die Arbeit wurde in der Berufsgenossenschaftlichen Unfallklinik Tübingen und im Siegfried-Weller-Institut für Unfallmedizinische Forschung Tübingen unter Betreuung von Herrn Prof. Dr. Andreas Nüssler durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte durch Prof. Dr. Andreas Nüssler.

Das Sammeln der Blutproben und die Befragung der Patienten erfolgte durch mich in Zusammenarbeit mit dem Klinischen Studienzentrum der BGU Tübingen (Isabell Grow) und weiteren Doktoranden, die an der AIQNET/KIKS-Studie beteiligt waren. Die Prozessierung der mit Patienteneinwilligung selbst gesammelten Proben erfolgte nach Einweisung (Regina Breinbauer, SWI) selbstständig.

Sämtliche ELISA wurden nach Einarbeitung durch Labormitglieder des SWI (Regina Breinbauer) mit Betreuung von Regina Breinbauer und Bianca Braun (SWI) von mir eigenständig durchgeführt.

Die statistische Auswertung erfolgte eigenständig und wurde nach Beratung von Herrn Prof. Dr. Blumenstock, dem stellvertretenden Leiter des Instituts für Klinische Epidemiologie und angewandte Biometrie in Tübingen, durch mich optimiert.

Die Nutzung der externen Abbildung 1 vom NRZ, Abbildung 2 und 3 vom Human Protein Atlas, Abbildung 4 von Zhou *et al.*, Abbildung 32 von Ley *et al.* und Abbildung 33 von Julier *et al.* wurden von jeweiligen Mitautoren oder den veröffentlichenden Journals der Publikationen genehmigt und in der Schrift entsprechend als Quelle angegeben. Die Nutzungserlaubnisse wurden per E-Mail erteilt und entsprechend an das Promotionsbüro Tübingen weitergeleitet.

ERKLÄRUNG ZUM EIGENANTEIL DER DISSERTATIONSSCHRIFT

Ich versichere, das Manuskript selbständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben. Die Richtlinien zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis und zum Umgang mit wissenschaftlichem Fehlverhalten an der Eberhard Karls Universität Tübingen wurden beachtet.

Ich erkläre zudem, dass die vorliegende Doktorarbeit ausschließlich im Rahmen dieses Promotionsverfahrens eingereicht wurde und diesem keine anderen abgeschlossenen Promotionsverfahren vorausgegangen sind.

Ich bestätige, dass gegen mich derzeit keine strafrechtlichen Verfahren laufen und ich mir der Konsequenzen von Falschangaben bewusst bin.

Abschließend versichere ich, dass diese Arbeit ohne finanzielle oder kommerzielle Interessen erstellt wurde.

Steinhagen, den 5. Januar 2024

Lisa Marie Kloppenburg

11 Veröffentlichungen

Teile der vorliegenden Dissertationsschrift wurden bereits in der folgenden Publikation veröffentlicht:

Philipp Hemmann, Lisa Kloppenburg, Regina Breinbauer, Sabrina Ehnert, Gunnar Blumenstock, Marie K. Reumann, Felix Erne, Johann Jazewitsch, Tobias Schwarz, Heiko Baumgartner, Tina Histing, Mika Rollmann, Andreas K. Nüssler

AZU1: a new promising marker for infection in orthopedic and trauma patients?

EXCLI Journal, 2024;23:53-61, veröffentlicht am 03. Januar 2024.

12 Danksagung

Zunächst möchte ich mich herzlich bei meinem Doktorvater Prof. Dr. Andreas Nüssler für die Überlassung des Themas und das entgegengebrachte Vertrauen bedanken. Trotz des zeitraubenden Studiums hatten Sie stets Verständnis und führten mich durch Ihre effizient hilfsbereite und freundliche Art sowie die immer offene Tür dennoch schnell zum Ziel.

Für die Zeit im Siegfried-Weller-Institut sowie die ausdauernde Unterstützung bei der Durchführung der ELISAs möchte ich mich herzlich bei Regina Breinbauer und Bianca Braun bedanken. Auch Prof. Dr. Sabrina Ehnert war stets im Hintergrund und unterstützte, wo sie konnte.

Weiterhin danke ich Dr. Philipp Hemmann, der mich vor allem in der finalen Phase der Dissertationsschrift tatkräftig unterstützt hat.

Weiterer Dank gilt der IT-Abteilung der BGU Tübingen, speziell Johann Jazewitsch und Tobias Schwarz, die die Erstellung der Datentabelle erst möglich machten.

Die Rekrutierung der Patienten erfolgte in enger Zusammenarbeit mit dem Klinischen Studienzentrum der BGU Tübingen unter der Leitung von Dr. Marie Reumann. Dies war eine sehr schöne Phase der Promotion, für die ich mich herzlich bei Isabell Grow und Franziska Riedmann bedanken möchte. Bei euch fand man immer ein offenes Ohr. Eure Fröhlichkeit und Isi's guter Musikgeschmack haben uns immer viel Freude bereitet.

Bei der Auswertung der Tests und Ergebnisse wurde die methodische Beratung des Instituts für Klinische Epidemiologie und angewandte Biometrie der Universität Tübingen in Anspruch genommen. An dieser Stelle möchte ich meinen herzlichen Dank an Herrn Prof. Dr. Blumenstock für seine wertvolle Unterstützung aussprechen.

DANKSAGUNG

Für die zügige und sorgfältige Begutachtung meiner Dissertationsschrift möchte ich mich weiterhin bei der zweiten Berichterstatteerin PD Dr. Dr. Susanne Kluba bedanken.

Der größte Dank gilt meinen Eltern, denen ich diese Arbeit widme. Eure bedingungslose und unerschütterliche Unterstützung sowie euer Vertrauen haben mich stets begleitet und waren meine größte Motivation. Möge diese Arbeit ein Zeichen meiner Wertschätzung für all das sein, was ihr für mich getan habt.

Auch meinen beiden Brüdern möchte ich von Herzen danken. Trotz der großen Entfernung wart ihr immer für mich da und habt mich in jeder erdenklichen Weise unterstützt. Ihr seid ein wahres Geschenk, für das ich unendlich dankbar bin.

Zuletzt danke ich meiner guten Freundin Lena Pollmann-Schweckhost, ebenfalls Doktorandin am Siegfried-Weller-Institut, mit der ich eine sehr schöne und produktive Zeit erleben durfte. Unvergessen sind die Helikopter, LKWs und Alltagsdramen. Die nächste Frau Doktor bist du!