

fhg – Zentrum für Gesundheitsberufe Tirol GmbH
FH-Bachelor-Studiengang-Biomedizinische Analytik

Vergleich der mikrobiologischen Diagnostik von Gewebeproben mittels Festkulturen und Blutkulturen bei periprothetischen- und Implantatinfektionen

Bachelorarbeit

Verfasserin: Rana Ebru Özgün

Betreuer: OA Dr. Harald Dirschmid

Institut: Institut für Pathologie am Landeskrankenhaus Feldkirch

Innsbruck, im Juni 2024

Abstract

This study compares the effectiveness of microbiological diagnostics of tissue samples using agar plates and blood culture methods in the context of periprosthetic and implant infections. A total of 64 tissue samples from 24 patients were processed. Of the 24 patients, 13 samples without infection and 11 samples with infection were identified using both the solid culture method and the liquid culture method. However, four additional contaminated samples were identified in the solid culture method. The results show that the incubation period for blood cultures can be reduced from 14 to seven days based on the average time to positivity (TTP). The most frequently identified pathogens were *S. aureus*, followed by *S. epidermidis* and *E. faecium*. In addition, 74% of all blood culture bottles were positive after 24 hours of incubation. The study emphasises the advantages of the blood culture method, including high sensitivity and specificity as well as its potential for routine use with a shorter incubation period. Further research is needed to optimise diagnostic techniques and reduce contamination rates in general.

Keywords (PubMed): periprosthetic infections, microbiological diagnostics, blood culture, agar plates, time to positivity, *C. acnes*, *S. aureus*

Zusammenfassung

Diese Studie vergleicht die Effektivität der mikrobiologischen Diagnostik von Gewebeprobe n mittels Agarplatten und Blutkulturmethoden im Kontext periprothetischer- und Implantatinfektionen. Insgesamt wurden 64 Gewebeprobe n von 24 Patient:innen bearbeitet. Von den 24 Patient:innen wurden sowohl bei der Festkulturmethode als auch bei der Flüssigkulturmethode 13 Proben ohne Infektion und 11 Proben mit Infektion identifiziert. Bei der Festkulturmethode kam es jedoch zusätzlich zu vier kontaminierten Proben. Die Ergebnisse zeigen, dass die Inkubationszeit für Blutkulturen basierend auf der durchschnittlichen *Time to Positivity* (TTP) von 14 auf sieben Tage reduziert werden kann. Die am häufigsten identifizierten Erreger waren *S. aureus*, gefolgt von *S. epidermidis* und *E. faecium*. Zudem waren 74% aller Blutkulturflaschen nach 24 Stunden Inkubation positiv. Die Studie hebt die Vorteile der Blutkulturmethode hervor, darunter hohe Sensitivität und Spezifität sowie deren Potenzial für den Routineeinsatz mit verkürzter Inkubationszeit. Weiterer Forschungsbedarf besteht darin, diagnostische Techniken zu optimieren und die Kontaminationsraten im Allgemeinen zu reduzieren.

Schlüsselwörter: periprothetische Infektionen, mikrobiologische Diagnostik, Blutkultur, Agarplatten, *time to positivity*, *C. acnes*, *S. aureus*

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	6
1.1	Arten von Prothesen	7
1.2	Symptome	7
1.3	Häufige Mikroorganismen von Implantatinfektionen.....	8
1.4	Risikofaktoren.....	9
1.5	Präventionen	10
1.6	Diagnostik	11
1.6.1	Blutbiomarker	11
1.6.2	Zytologie der Synovialflüssigkeit	12
1.6.3	Biomarker der Synovialflüssigkeit	12
1.6.4	Mikrobiologie	13
1.6.5	Fehler in der Diagnostik	14
1.7	Therapie	14
1.8	Überblick über weiteres Vorgehen in Zukunft	15
1.9	Forschungsfrage und Hypothesen	16
2	Material und Methoden	17
2.1	Geräte	17
2.1.1	SpinAX	19
2.1.2	Bactec-FX	21
2.1.3	Brutschrank und -raum.....	22
2.1.4	MALDI-TOF Massenspektrometrie	22
2.1.5	Previ Color Gram	25
2.1.6	BactoSonic	27
2.2	Vorbereitung der Gewebestücke.....	27

2.3	Inkubation der Flüssigkultur	29
2.4	Übergang der Flüssigkultur zur Festkultur.....	30
2.5	Identifikation	32
2.6	Sonifikation mit BactoSonic.....	34
2.7	Auswertung	35
3	Ergebnisse	36
4	Fazit.....	45
5	Literaturverzeichnis	47
6	Abkürzungsverzeichnis	48
7	Abbildungsverzeichnis	49
8	Tabellenverzeichnis	51
9	Eidesstattliche Erklärung.....	52

1. Einleitung

Arthroplastie-assoziierte Infektion oder periprotehetische Gelenkinfektionen (PJI) sind eine seltene Erkrankung, bei der es zu Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Mikroorganismen, dem Implantat und dem Immunsystem kommt. Zu den Mikroorganismen, die eine solche Infektion auslösen können, zählen neben den klassischen pathogenen Bakterien wie Enterobacterales oder *S. aureus* auch in der Regel apathogene Bakterien der Hautflora, wie zum Beispiel koagulasenegative Staphylokokken, Corynebakterien oder Cutibacterium acnes sowie in seltenen Fällen Pilze. Für die Manifestation einer PJI sind nur eine geringe Anzahl an Mikroorganismen notwendig. Die Bakterien und Pilze, siehe *Kapitel 1.3* für Beispiele, haften sich an der Oberfläche der Prothese an und bilden dort Biofilme, die sie vor Antibiotika und -mykotika sowie dem Immunsystem schützen. (Patel, 2023, S. 251)

Die Idee für diese Arbeit entstammt aus der Problematik, dass bei Verdacht auf Implantatinfektionen aufgrund des breiten möglichen Keimspektrums in der mikrobiologischen Diagnostik die mit den Gewebeproben beimpften Festkulturen in der Routine mindestens sieben Tage bebrütet und gleichzeitig täglich durch das Laborpersonal manuell inspiziert werden müssen. Dabei besteht die Gefahr einer Laborkontamination durch Hautkeime wie koagulasenegative Staphylokokken oder Cutibakterien, die zu falsch positiven Ergebnissen führen können beziehungsweise im Zweifel eine unnötige Therapie nach sich ziehen. Durch das Beimpfen der Blutkulturflaschen mit den Gewebeproben der Patient:innen findet die Bebrütung in einem geschlossenen System statt und eine weitere Bearbeitung kommt nur zustande, falls der Blutkulturinkubator ein Wachstum in der Flasche detektiert. Ziel dieser Arbeit ist also einerseits zu beweisen, dass mit Gewebeproben beimpfte Blutkulturflaschen dieselben Erreger detektieren wie die konventionelle Festkulturmethode, als auch aufzuzeigen,

dass die Kontaminationsgefahr durch Laborpersonal minimiert oder gänzlich verhindert wird.

In den folgenden Kapiteln werden sowohl die häufigsten Gelenksprothesen, die Symptome bei PJI, die ursächlichen Mikroorganismen, die Diagnostik als auch die Therapie einer PJI näher erläutern.

1.1 Arten von Prothesen

Zu den häufigsten Gelenkprothesen gehören unter anderem Knie- und Hüftgelenkprothesen, Schulter- und Ellenbogengelenkprothesen sowie Knöchel-, Hand-, Mittelhand- und Interphalangealgelenkprothesen. (Patel, 2023, S. 252)

In den USA werden am häufigsten Kniegelenkprothesen, gefolgt von Hüftgelenkprothesen eingesetzt. Die restlichen oben angeführten Gelenke werden eher seltener ersetzt. (Patel, 2023, S. 251-253)

1.2 Symptome

Wie bei jeder Infektion können zwischen einer akuten und einer chronischen Infektion unterschieden werden. Chronische Infektionen sind die, die über einen längeren Zeitraum bestehen und typischerweise eine langsamere und weniger intensive Symptomatik aufweisen. Im Gegensatz dazu sind akute Infektionen durch ein plötzliches Auftreten und eine rasche Verschlechterung der klinischen Anzeichen gekennzeichnet. Beide Infektionsarten erfordern unterschiedliche diagnostische und therapeutische Ansätze. Akute PJIs sind häufig durch intensive Entzündungszeichen wie Rötung, Schwellung, Erwärmung des Gelenk, Fistelbildung und Schmerz gekennzeichnet, während chronische PJIs eine subtilere Klinik wie anhaltende Schmerzen oder Funktionsverlust hervorrufen können. Darüber hinaus ist die Behandlung chronischer PJIs komplexer und langwieriger, häufig aufgrund der Bildung von Biofilmen, die die Wirksamkeit von Antibiotika beeinträchtigen können. (Patel, 2023, S. 251) (McNally, et al., 2021, S. 21)

1.3 Häufige Mikroorganismen von Implantatinfektionen

Table 1. Microorganisms Identified in Hip and Knee Periprosthetic Joint Infection (PJI).*	
Microorganism	Frequency (%)
Aerobic gram-positive bacteria	82
Coagulase-negative staphylococcus species (other than <i>S. lugdunensis</i>)	37
<i>S. aureus</i>	24
<i>S. lugdunensis</i>	4
Streptococcus species	14
Enterococcus species	8
Corynebacterium species	5
Aerobic gram-negative bacteria	11
Enterobacterales	7
Pseudomonas species	3
Anaerobic bacteria	13
Cutibacterium species	8
Other species	5
Fungi	3
Mycobacteria	0.5

* Data are from a single tertiary referral center; 70% of the PJIs were monomicrobial, and 25% were polymicrobial.[†] Pathogen distributions may vary from institution to institution.

(Patel, 2023, S. 253)

Abbildung 1: Häufig nachgewiesene Mikroorganismen bei Implantatinfektionen. Diese Erreger wurden am häufigsten bei Knie- und Hüftgelenkprothesen nachgewiesen. (Patel, 2023, S. 253)

Die *Abbildung 1* zeigt eine Tabelle mit den häufigsten Bakterien bei Hüft- und Kniegelenkinfektionen. Diese zeigt, dass aerobe grampositive Bakterien am häufigsten vorkommen (82 %), gefolgt von koagulase-negativen Staphylokokkenarten (37 %) und *S. aureus* (24 %). Weitere häufige Erreger sind Streptokokkenarten (14 %), Enterokokken (8 %) und Corynebacterium-Arten (5 %). 11 % der Fälle werden durch aerobe gramnegative Bakterien verursacht. Am häufigsten sind dabei Enterobakterien und Pseudomonas-Arten. Anaerobe Bakterien sind in 13 % der Fälle beteiligt. Cutibacterium kommt bei 8 % der Infektionen vor. Andere Erreger sind seltener. Die Verteilung der Erreger kann je nach Einrichtung unterschiedlich sein. (Patel, 2023, S. 253)

1.4 Risikofaktoren

Table 2. Risk Factors for PJI.
Potentially modifiable presurgical risk factors
Anemia
Injection-drug use
Malnutrition
Obesity
Receipt of intraarticular injection in prior 3 mo
Tobacco use
Nonmodifiable presurgical risk factors
Cardiovascular disease (arrhythmia, coronary artery disease, pulmonary hypertension, congestive heart failure, or peripheral vascular disease)
Diabetes (especially with poor glycemic control)*
Immunocompromised status (owing to cancer or receipt of a transplant)
Inflammatory arthritis
Kidney or liver disease (hepatitis or cirrhosis)
Male sex
Medicaid as primary payer
Mental health disorder (depression or alcohol use)
Relative with PJI
Patellar resurfacing and post-traumatic arthritis (knees)
Prior native joint infection
Prior PJI of same or different joint
Prior revision arthroplasty
Younger age
Operative risk factors
Allogeneic blood transfusion
Prolonged operative time
Simultaneous bilateral arthroplasty
Postoperative risk factors
Discharge to rehabilitation or convalescent care
Prolonged hospitalization
<i>S. aureus</i> bacteremia
Wound-healing complications (including superficial skin infection)

* Improved glycemic control can be achieved presurgically.

(Patel, 2023, S. 254)

Abbildung 2: Risikofaktoren für eine PJI. Diese teils vermeidbaren Faktoren erhöhen das Risiko einer PJI. (Patel, 2023, S. 254)

Die *Abbildung 2* zeigt eine Tabelle mit Risikofaktoren für eine PJI. Diese Risikofaktoren sind in verschiedene Kategorien unterteilt: potenziell

modifizierbare präoperative Risikofaktoren, nicht modifizierbare präoperative Risikofaktoren, operative Risikofaktoren und postoperative Risikofaktoren. Zu den potenziell modifizierbaren präoperativen Risikofaktoren zählen Anämie, intravenöser Drogenkonsum, Mangelernährung, Adipositas, intraartikuläre Injektionen in den letzten drei Monaten und Tabakkonsum. Zu den nicht beeinflussbaren präoperativen Risikofaktoren gehören Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Diabetes, Immunschwäche, entzündliche Arthritis, Nieren- oder Lebererkrankungen, männliches Geschlecht, psychische Erkrankungen, frühere Gelenkinfektionen und frühere Revisionsarthroplastiken. Operative Risikofaktoren umfassen allogene Bluttransfusionen, verlängerte Operationszeiten und gleichzeitige bilaterale Arthroplastiken. Postoperative Risikofaktoren umfassen die Entlassung in eine Rehabilitations- oder Pflegeeinrichtung, verlängerte Krankenhausaufenthalte, *S. aureus*-Bakteriämie und Wundheilungskomplikationen. (Patel, 2023, S. 253-254)

1.5 Präventionen

Es gibt nicht nur Risikofaktoren, die vermindert werden können, sondern auch andere Möglichkeiten, um eine PJI zu vermeiden. Im Allgemeinen ist es empfehlenswert die Behandlung in spezialisierten Zentren durchführen zu lassen. Ein präoperatives Screening von *S. aureus*-Träger mit entsprechender Dekolonisierung oder eine universelle Dekolonisierung ist von Vorteil. Patient:innen mit Knie- oder Hüftgelenkprothesen haben ebenso ein erhöhtes Risiko für andere allgemeine Infektionen. Dabei spielt die Art der Dekolonisierung keine Rolle. Es gibt mehrere unterschiedliche Antibiotika, die als Prophylaxe dienen. Cefazolin beispielsweise sollte innerhalb von 60 Minuten vor der Operation verabreicht werden. Im Vergleich zu Vancomycin und Clindamycin ist Cefazolin ein Antibiotikum mit einer eher geringeren Wirkung. Bei Patient:innen mit MRSA wird das Cefazolin durch den Wirkstoff Vancomycin ersetzt. Die Dauer der antibiotischen Prophylaxe weicht immer wieder ab. Nichtsdestotrotz wird empfohlen, dass die Antibiotika-Prophylaxe nach dem Schließen der Inzision beendet werden

sollte. Die primäre Quelle und die daraus einhergehende Gefahr einer Kontamination ist der Operationssaal. Um das Risiko einer solchen Kontamination zu minimieren, ist es erforderlich, den Verkehr im Operationssaal auf ein Minimum zu beschränken. Dies bedeutet, dass nur das notwendige Personal anwesend sein sollte und unnötige Bewegungen oder Aktivitäten vermieden werden sollten. Die Reduzierung der Anzahl der im Operationssaal anwesenden Personen sowie der dort stattfindenden Bewegungen führt zu einer signifikanten Verringerung des Kontaminationsrisikos. Dies resultiert in einer Verbesserung der Ergebnisse sowie einer Verringerung der Infektionsrate. Auch aggressive Antikoagulation sollte vermieden werden. Tranexamsäure, ein Arzneistoff zur Hemmung des Fibrinolyse-Systems, senkt die PJI-Rate an Hüfte und Knie. (Patel, 2023, S. 254-255)

1.6 Diagnostik

Die Diagnose einer Gelenkprotheseninfektion ist sehr wichtig, da sich die Therapie einer PJI von der eines nicht-infizierten, zum Beispiel gelockerten Implantats unterscheidet. Dabei spielt die mikrobiologische Diagnose eine große Rolle. Der mikrobiologische Befund ist ein Baustein und liefert den Chirurg:innen die Ergebnisse, die notwendig für die Entscheidung des weiteren Prozederes sind und falls notwendig die Auswahl der antimikrobiellen Wirkstoffe liefert. (McNally, et al., 2021, S. 19-21)

1.6.1 Blutbiomarker

Die wichtigsten und am weitesten verbreiteten Blutmarker sind einerseits die Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG), die Leukozytenzahl, der Prozentsatz der polymorphkernigen Neutrophilen (PMN) und andererseits das CRP. Der Prozentsatz des PMN bezieht sich auf den Anteil dieser speziellen Leukozyten im Verhältnis zur Gesamtzahl der Leukozyten in einem Bluttest. All diese Untersuchungen weisen auf eine allgemeine Entzündung hin und sind nicht spezifisch für eine bakterielle PJI. Das CRP kann bei der Bestimmung des Schweregrads einer Infektion hilfreich sein. Wenn das CRP

einen Wert von über 10mg/ml aufweist, kann eine PJI nicht ausgeschlossen werden. Trotzdem reicht der CRP-Wert für die endgültige Diagnose nicht aus. Wichtig ist, dass ein normaler CRP keine Infektion ausschließt. (McNally, et al., 2021, S. 21)

1.6.2 Zytologie der Synovialflüssigkeit

Eine Aspiration einer Synovialflüssigkeit ist eine visköse Flüssigkeit in den Hohlräumen beweglicher Gelenke. Diese Aspiration stellt einen wichtigen Teil der Diagnose einer PJI dar. Sie ist wichtig für die Einschätzung des Ausmaßes der Entzündung. Bei der Durchführung der Analysen einer Aspiration liegen sowohl die Sensitivität als auch die Spezifität bei nahezu 90%. Wenn die Leukozytenzahl und der PMN-Prozentsatz aus der Synovialflüssigkeit unter der Nachweisgrenze liegen, dann ist eine Infektion eher unwahrscheinlich. Hingegen Werte, die diese Grenze überschreiten, weisen auf eine Infektion, insbesondere bei PJI des Knies, hin. Die Nachweisgrenzen der Leukozyten liegt zwischen 1.500 und 4.000 Zellen/ μ l. Die des PMN-Prozentsatzes ist zwischen 65% und 80%. Der Cut-off-Wert von 3.000 Zellen/ μ l und ein PMN über 80%, deutet auf eine periprotektische Infektion von Hüfte und Knie hin. Die genannten Grenzen können durch andere Erkrankungen beeinflusst werden und sind ausschließlich für Knie- und Hüftprothesen von Bedeutung. (McNally, et al., 2021, S. 21) (Patel, 2023, S. 256-257)

1.6.3 Biomarker der Synovialflüssigkeit

Alpha-Defensin-Tests sind sehr genau und können beispielsweise nach vorheriger Antibiotikagabe oder bei Mikroorganismen mit niedriger Virulenz von Vorteil sein. Das Ergebnis des alpha-Defensins wird durch andere Erreger nicht verändert beziehungsweise beeinflusst. Durch seine hohe Spezifität können Infektionen mit diesem Biomarker suspektiert werden. Nichtsdestotrotz ist es nicht möglich nicht-infizierte Prothesen auszuschließen. (McNally, et al., 2021, S. 21-22)

1.6.4 Mikrobiologie

Die Untersuchung der Gelenkflüssigkeit vor einer Operation ist nicht geeignet, um eine Infektion des Gelenks auszuschließen. Ein positives Ergebnis zeigt jedoch, dass das Gelenk infiziert ist. Bei einem intraoperativen Eingriff sollten mindestens fünf verlässliche Gewebeproben entnommen und sofort ins Labor geschickt werden. Besonders wichtig ist es, Gewebeproben von der Membran an der Schnittstelle zwischen Knochen und Implantat zu nehmen. Der/Die Patient:in sollte mindestens zwei Wochen vor der Operation keine Antibiotika einnehmen. Eine antibiotische Prophylaxe vor dem Eingriff ist nicht nötig. Die Blutkulturen sollten mindestens 14 Tage lang inkubiert werden. Wenn in allen positiven Proben oder mindestens in zwei verschiedenen Proben die gleichen Bakterien mit dem gleichen Antibiotikaresistenzmuster gefunden werden, ist das ein Hinweis auf eine Infektion. Ein einzelnes positives Kulturergebnis muss zusammen mit anderen Befunden betrachtet werden. Wenn seltene Bakterien oder Viren wie *S. aureus* oder gramnegative Stäbchen nachgewiesen werden, ist das ein Hinweis auf eine Infektion. Ein einzelnes positives Kulturergebnis bedeutet nicht unbedingt, dass Patient:innen sich mit einem Erreger angesteckt haben. Weitere Untersuchungen müssen stattfinden. Am besten wird das Implantat ebenso untersucht, mittels Sonifikation (siehe *Kapitel 2.6*). So kann herausgefunden werden, ob sich dort ein Biofilm gebildet hat. Jede positive Kultur aus der Sonifikationsflüssigkeit muss als potenzielle Infektion betrachtet werden. Mehr als 50 koloniebildende Einheiten pro Milliliter (KBE/ml) bestätigen eine Infektion. Wird eine Konzentrationstechnik angewendet, liegt der Schwellenwert zur Bestätigung einer Infektion bei 200 KBE/ml. Histologisch sind Entzündungszellen im Gewebe zu sehen, wenn es sich um PJI handelt. Das kann aus Biopsien oder Gewebeproben bestimmt werden. Mindestens drei tiefe Proben müssen dafür entnommen werden. Mit bestimmten Färbungen im Gewebe können auch Mikroorganismen nachgewiesen werden, die sonst nicht zu sehen sind. Das ist besonders wichtig für Bakterien, die sonst nicht erkannt werden können. (McNally, et al., 2021, S. 22) (Patel, 2023, S. 255-257)

1.6.5 Fehler in der Diagnostik

Eine schnelle Behandlung einer Infektion ist sehr wichtig. Es sollte keine Zeit verschwendet werden, indem man abwartet und hofft, dass die klinischen Symptome sich selbstständig bessern oder gar verschwinden. Die DAIR-Methode, siehe *Kapitel 1.7*, sollte so schnell wie möglich operativ durchgeführt werden, da mit zunehmender Wartezeit die Wirksamkeit dieser Therapieform abnimmt. Mikroorganismen heften sich innerhalb von Sekunden an die Implantate an und beginnen sich mit einer Polysaccharidmatrix zu umgeben. Nach etwa drei Wochen ist dieser Biofilm mittels antimikrobieller Stoffe schwer zu durchbrechen. (Li, Renz, Trampuz, & Ojeda-Thies, 2019, S. 3-4)

Intraoperative Abstriche vom periprotetischen Gewebe sollten vermieden werden. Frühere Berichte haben bewiesen, dass Kulturen von Abstrichen eine niedrige Sensitivität von 53-76% haben. (Li, Renz, Trampuz, & Ojeda-Thies, 2019, S. 4)

Da das CRP und die BSG schnell analysiert werden können, bevorzugen einige Chirurg:innen diese Parameter bei Verdacht einer PJI. Diese beiden Analyten werden in den Leitlinien der *American Association of Orthopaedic Surgeons* (AAOS) aus dem Jahr 2010 sehr empfohlen. Nichtsdestotrotz, wie im *Kapitel 1.6.1* schon erläutert, haben diese Entzündungsmarker eine geringe Sensitivität, denn Werte im normalen Referenzbereich schließen eine Infektion nicht aus. Vor allem Infektionen nach niedrigvirulenten Erregern (vorwiegend Hautbakterien) müssen nicht unbedingt mit einem erhöhten CRP einhergehen. (Li, Renz, Trampuz, & Ojeda-Thies, 2019, S. 4)

1.7 Therapie

Die Behandlung einer PJI ist sowohl kompliziert als auch teuer. Wenn möglich sollte eine solche Behandlung in speziellen Zentren durchgeführt werden. Zu den Zielen einer Therapie von PJI gehören das Beibehalten der Funktion der Gelenkprothesen, das Lindern der Schmerzen und im besten

Fall das Heilen der Infektion. Antibiotikatherapien sind ohne operative Interventionen meist erfolglos. Eine bekannte Therapieform ist die DAIR-Methode. DAIR steht für *débridement, antibiotics and implant retention*. Damit ist die Entfernung von abgestorbenem Material und verschmutztem Gewebe aus einer Wunde, eine Antibiotikatherapie und eine Implantat-Erhaltung gemeint. Das Durchführen eines DAIRs bei akuten PJIs von Hüft- und Knieprothesen ist von Bedeutung. Bei chronischer PJI wird das betroffene Implantat entfernt. Hierbei kann eine einzeitige, also das Entfernen der infizierten Prothese und die Reimplantation einer neuen Prothese in derselben Sitzung, oder eine zweizeitige Revision durchgeführt werden. Bei einer zweizeitigen Revision werden Antibiotika-freisetzende Gelenkspacers eingesetzt, die die Funktion während des prothesefreien Intervalls aufrechterhalten. Wenn keine operativen Interventionen von Patient:innen erwünscht sind, kann eine antimikrobielle Suppression durchgeführt werden. Jedoch wird die Infektion mit dieser Methode meist nicht geheilt. Deswegen werden die verschriebenen Antibiotika von Patient:innen oft ein Leben lang eingenommen. Wenn all diese verschiedenen Methoden keine positiven Auswirkungen haben, dann kann eine Resektionsarthroplastik mit Anlage einer Pseudoarthrose bei Hüftinfektionen oder eine Arthrodesen oder Amputation (letzter Ausweg) bei Kniegelenksinfektionen durchgeführt werden. Die Therapiedauer ist langwierig und dauert in der Regel mindestens 12 Wochen an. (Patel, 2023, S. 257-258)

1.8 Überblick über weiteres Vorgehen in Zukunft

In den letzten zwei Jahrzehnten konnten viele Fortschritte zur Diagnose einer PJI erfolgen, jedoch liegen die meisten Daten nur von Hüft- und Knieprothesen vor. Für andere Gelenke werden mehr Daten benötigt. Ob eine genetische Prädisposition bei Infektionen von Gelenken eine Rolle spielt, muss weiter untersucht werden. Wichtig ist es, Erreger, die einen Biofilm an Prothesen bilden, zu entlarven. Ebenso wird öfters erwähnt, dass Operationen für Gelenkprothesen beziehungsweise die Behandlung einer

PJI an speziellen Fachzentren bevorzugt werden sollte. Außerdem ist die Festlegung der besten chirurgischen Ansätze und eine medizinische Beurteilung wichtig. Sowohl Antibiotika- und nicht Antibiotikatherapien als auch die Dauer und Art der Verabreichung müssen noch weiterhin genauer untersucht werden. Nichtsdestotrotz werden Antibiotika bei diagnostizierten Infektionen immer verabreicht. (Patel, 2023, S. 259)

1.9 Forschungsfrage und Hypothesen

Die Leitidee dieser Arbeit ist die Frage, ob es einen Unterschied in der Diagnostik von periprothetischen Infektionen mittels Blutkultur oder konventioneller Festkulturbefruchtung gibt und ob mithilfe von Blutkulturflaschen besser zwischen Kontamination oder Infektionen differenziert werden kann.

Meine Forschungsfragen lauten wie folgt: Welche der beiden Methoden, Blutkultur- oder Festkulturbefruchtung, eignet sich besser zur Differenzierung zwischen Kontamination und tatsächlicher Infektion bei Patient:innen mit Verdacht auf periprothetische- und Implantatinfektionen? Und kann die Inkubationszeit der Blutkulturflaschen von maximal 14 Tagen auf sieben Tage verkürzt werden?

Zu den erwarteten Ergebnissen zählen einerseits, die Erkenntnis, dass beide Kulturen, sowohl aerobe als auch anaerobe Flaschen, circa eine gleich lange TTP (siehe *Kapitel 2.3*) haben werden. In den meisten Fällen werden beide Flaschen positiv. Mit Ausnahme von Anaerobiern, denn diese sind nur in anaeroben Blutkulturflaschen kultivierbar. Das Gleiche gilt für aerobe Erreger, die ausschließlich in aeroben Flaschen. Ebenso ist zu erwarten, dass die Ergebnisse der Blutkulturmethode denen der konventionellen Methode ähneln, beziehungsweise ident sein werden.

2 Material und Methoden

In diesem Kapitel erfolgt eine Erläuterung der verwendeten Geräte sowie eine Darstellung der technischen Hintergründe. Zudem wird der Weg von der Probennahme bis zu den erzielten Ergebnissen mittels der verwendeten Methoden dargelegt. Darüber hinaus erfolgt eine Auflistung der verwendeten Materialien, die für diese Arbeit von Bedeutung sind. Schließlich wird die konventionelle Methode, die das Mikrobiologie-Labor Feldkirch zurzeit durchführt, erläutert.

2.1 Geräte

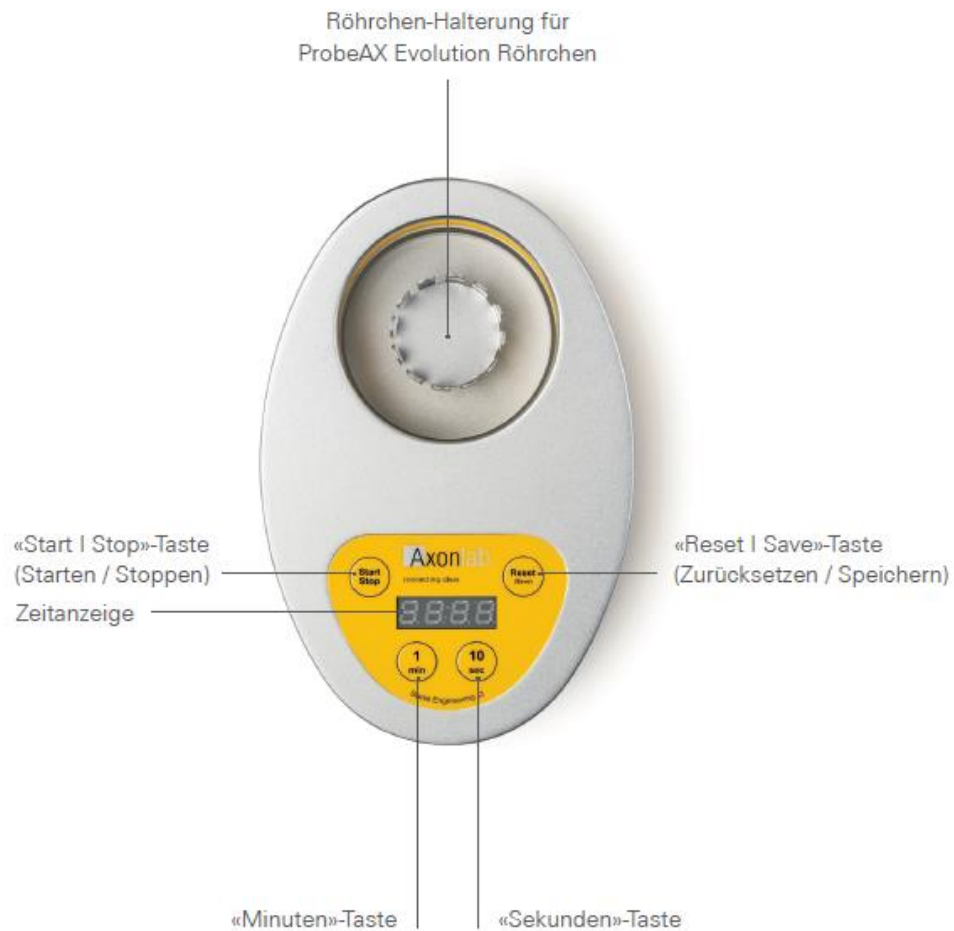
Die *Tabelle 1* gibt Auskunft über die Gerätenamen und die jeweiligen Hersteller, die in der vorliegenden Arbeit zum Einsatz kamen. Eine technische Erläuterung der genannten Geräte erfolgt in den folgenden Kapiteln. Zu erwähnen ist, dass die BMAs des Labors der Pathologie für die ursprüngliche Methode keinen SpinAX und ebenso nicht den BACTEC-FX benötigen.

Tabelle 1: Liste der verwendeten Geräte

Gerät	Hersteller	Referenznummer
SpinAX	AxonLab, Baden-Dättwil, Schweiz	22553

Bactec-FX	Becton, Dickinson and Company, Sparks, USA	Top FT4952 Top + Bottom FT4939
Brutschrank INC-246	MEMMERT, Schwabach, Deutschland	O3070015
Brutraum XR110C	Smeva B.V., Valkenswaard, Niederlande	411812
MALDI Biotyper	Becton, Dickinson and Company, Sparks, USA; Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Deutschland	860467404819
Previ Color V2 Gram	Biomérieux, Maryy-L'Etoile, Frankreich	414292212875
Bactosonic BS14	Bandelin Electronic GmbH & Co. KG, Berlin, Deutschland	277003.000062174.009

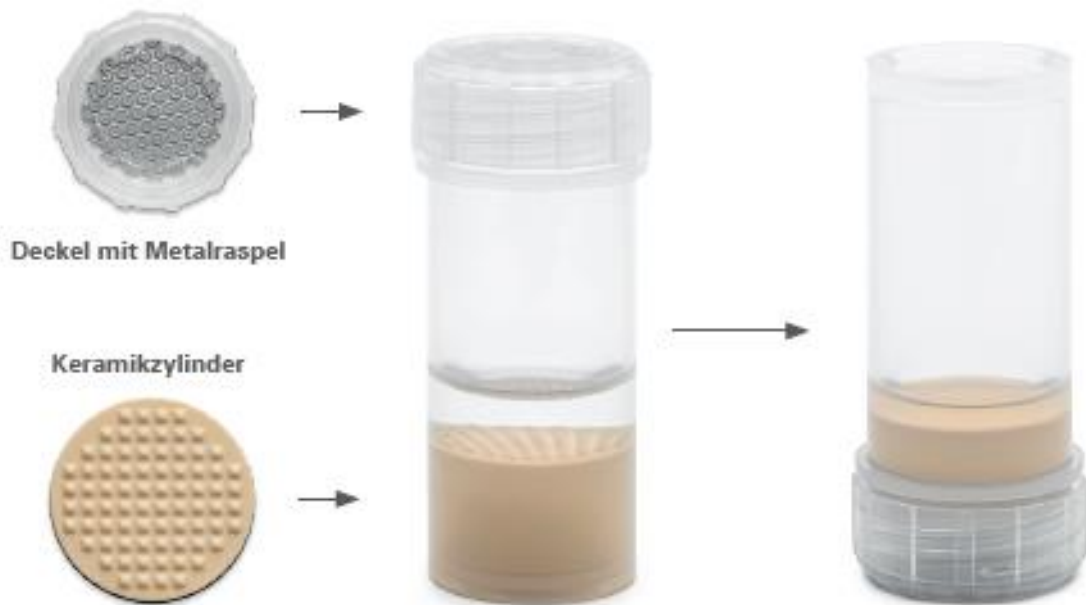
2.1.1 SpinAX



(AxonLab AG, o. D., S. 7)

Abbildung 3: SpinAX. Der Aufbau und die Funktionstasten des SpinAX sind hier bildlich dargestellt. (AxonLab AG, o. D., S. 7)

Der SpinAX (siehe *Abbildung 3*) besteht aus einer Röhrchen-Halterung für ProbeAX Evolution Röhrchen (siehe *Abbildung 4*), einer Start-/Stop-Taste, einer Reset-/Save-Taste, einer Zeitanzeige und jeweils einer Minuten- und Sekunden-Taste. (AxonLab AG, o. D., S. 9)



(AxonLab AG, o. D., S. 9)

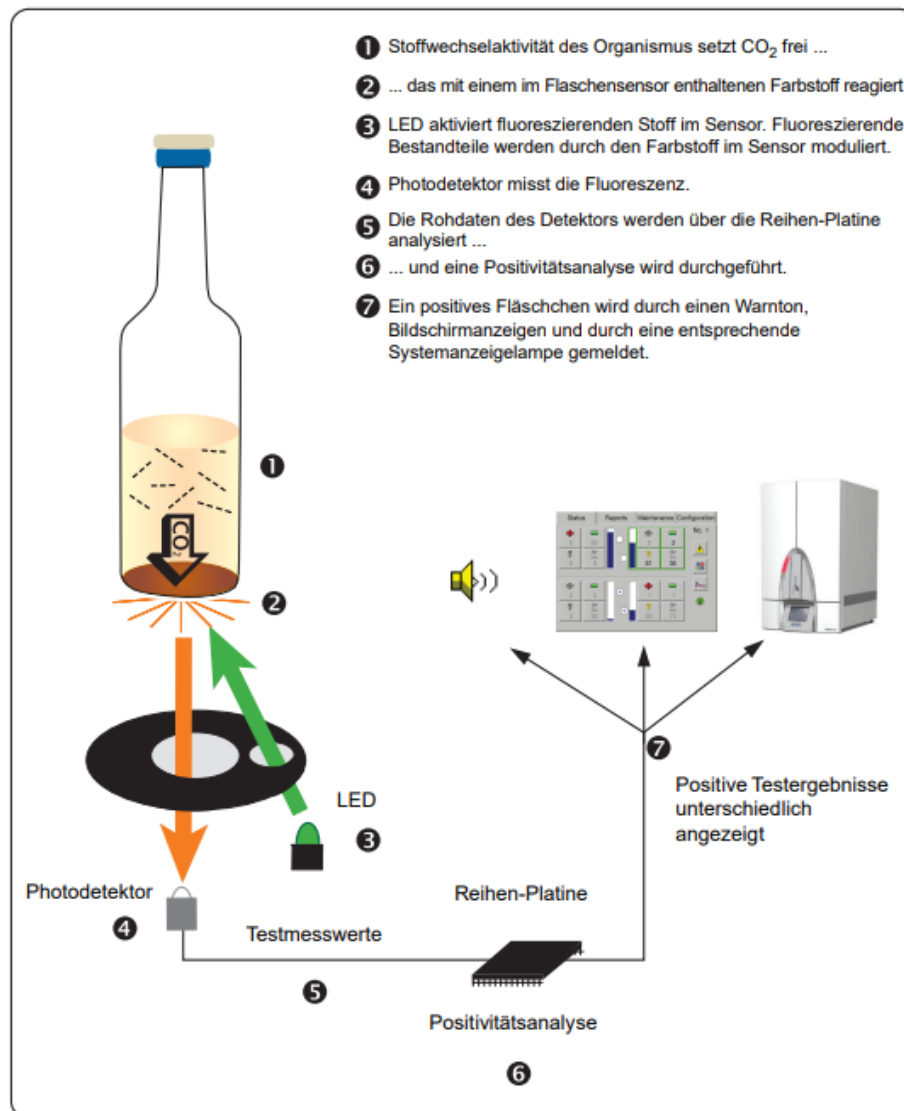
Abbildung 4: ProbeAX Evolution Tubes. Das ProbeAX Evolution Röhrchen besteht aus einer Raspel und einem Zylinder. (AxonLab AG, o. D., S. 9)

Die ProbeAX Evolution Tubes (siehe *Abbildung 4*) sind mit einem Deckel, in dem eine Metallraspel eingebaut ist, und einem freiliegenden Keramikzylinder bestückt. (AxonLab AG, o. D., S. 9)

Diese Röhrchen sind mit 5ml 0,85% Natriumchlorid (NaCl) gefüllt. Verschiedene Gewebetypen können mithilfe dieser Röhrchen im SpinAX bei dispergiert und homogenisiert werden. Dabei wird die Probe in das Röhrchen gegeben und nach sorgfältigem Verschluss des Röhrchens mit dem Deckel nach unten in die Röhrchenhalterung des SpinAX gestellt. Innerhalb einer Minute werden durch eine Mahlbewegung zwischen dem Keramikblock und der Metallraspel die Gewebestücke dispergiert und homogenisiert. (AxonLab AG, o. D., S. 9)

2.1.2 Bactec-FX

Der BACTEC-FX von BD dient zum schnellen Nachweis von Bakterien und Pilzen aus sogenannten Blutkulturflaschen und ist für die Inkubation und Detektion von Mikroorganismen geeignet. (Becton, Dickinson and Company, 2021, S. 9)



(Becton, Dickinson and Company, 2021, S. 10)

Abbildung 5: Verfahrensprinzipien des BACTEC-FX. Hier ist zu sehen, wie der BACTEC-FX Kulturen auf Mikroorganismen kontrolliert. (Becton, Dickinson and Company, 2021, S. 9-10)

In *Abbildung 5* ist bildlich dargestellt, wie der BACTEC-FX funktioniert. Nachdem die Blutkulturflaschen mit einer Probe beimpft wurden, werden sie waagrecht in die Geräte geladen. Dadurch docken die Blutkulturflaschen mit dem Boden am Gerät an. Sind Mikroorganismen in den Flaschen vorhanden, werden die Nährstoffe im Kulturmedium der Flasche verstoffwechselt und Kohlendioxid (CO₂) wird freigesetzt. Beim Freisetzen von CO₂ reagieren die Farbstoffe am Boden der Flaschen mit dem CO₂. Im Gerät befinden sich lichtemittierende Dioden (LEDs). Diese aktivieren die Leuchtsensoren, die sich am Boden der Flaschen befinden, damit die Photodetektoren die Fluoreszenz messen können. Der Leuchtwert entspricht dabei der Menge der freigesetzten CO₂-Menge. Alle zehn Minuten werden diese Textanalysen durchgeführt. Positive Blutkulturflaschen erscheinen auf der Anzeigelampe in Rot, ein Warnton wird ausgewiesen und ebenso erscheinen diese auf der LCD-Anzeige. (Becton, Dickinson and Company, 2021, S. 9-10)

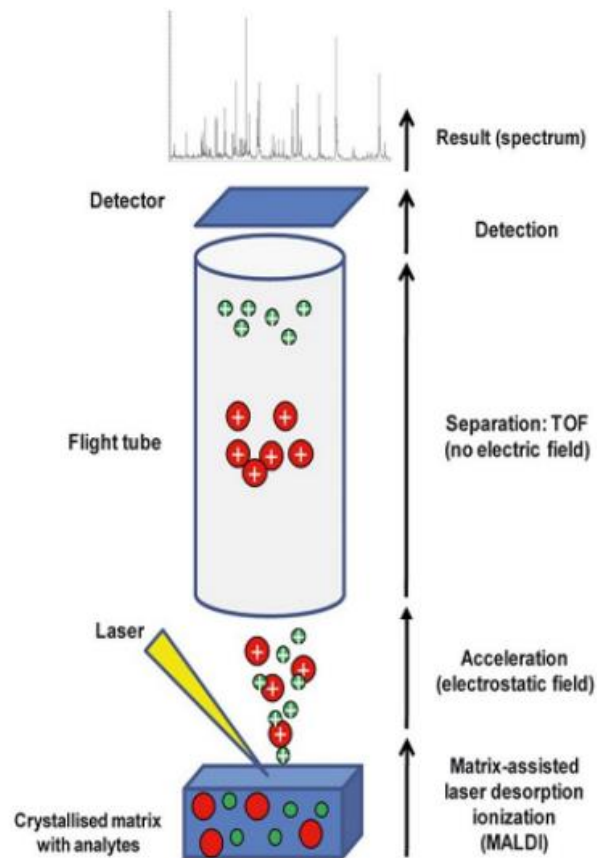
2.1.3 Brutschrank und -raum

Der Brutschrank und -raum wird am Institut für Pathologie in Feldkirch täglich verwendet und ist ein wichtiges Inventar des Labors. Diese werden durch eine Rundumbeheizung erwärmt und CO₂- beziehungsweise Stickstoff (N₂) werden über Sterilfilter eingeleitet. Diese werden dabei von oben in den Innenraum eingeschleust. Für die gleichmäßige Verteilung der Gase sorgt eine turbulenzfreie Innenraumventilation. (Memmert GmbH + Co KG., 2014, S. 11)

2.1.4 MALDI-TOF Massenspektrometrie

Das Prinzip des *matrix-assisted laser desorption/ ionization time-of-flight* (MALDI-TOF) beruht auf dem Verhältnis von Masse zu Ladung (m/z) der Moleküle von Mikroorganismen. Mithilfe dieses Verhältnisses können alle ionisierten biologischen Moleküle identifiziert werden. Das Massenspektrum wird im Spektrometer interpretiert und Moleküle werden identifiziert. (Calderaro & Chezzi, 2024, S. 3)

Für den MALDI werden einerseits Proben, die auf Agarplatten bebrütet worden sind, eine lyophilisierte Matrix, eine verdünnte Ameisensäure und andererseits ein Biotarget benötigt. Alle Materialien, die für den MALDI benötigt werden, sind aus der *Tabelle 6* entnehmbar. Zudem sind die Vorbereitungsschritte dieser Materialien aus dem *Kapitel 2.5* zu entnehmen. Zuerst wird ein Teil einer Kolonie mit der Spitze eines Zahnstochers auf eine freie Position auf dem Biotarget aufgebracht, bei Raumtemperatur getrocknet und mit 1µl 70% Ameisensäure bedeckt. Nach dem Trocknen kommt jeweils 1µl Matrix auf die Positionen. Die Proben kristallisieren mit der Matrix zusammen. Nach dem Trocknen kommt das Biotarget in den MALDI und ein Vakuum wird im Gerät erzeugt, wie in *Abbildung 6* ersichtlich ist. Anschließend ionisieren die Moleküle mithilfe kurzer Laserimpulse. Die Matrix schützt dabei die Proben. Durch diesen Vorgang entstehen Ionen, die durch ein Flugrohr fliegen. Die Ionen werden hierbei durch elektromagnetische Felder beschleunigt. In diesem Rohr wird die *time-of-flight* gemessen. Anschließend entsteht durch diese Flugzeit ein Spektrum, das mit anderen Spektren aus verschiedenen Datenbanken verglichen wird. Die im Mikrobiologie-Labor verwendete Datenbank ist der MBT Compass HT IVD mit der Version 5.2.300. Die Software mit der Referenznummer 1877017 beinhaltet die Library V12. Das zusätzliche MBT HT Subtyping IVD Modul mit der Referenznummer 1877010 ist Teil dieser Datenbank. Der daraus ermittelte Score, eine Punktezahl, die der Anzahl der gefundenen ähnlichen Spektren entspricht, ermöglicht die Identifikation der Spezies. (Calderaro & Chezzi, 2024, S. 3-4)

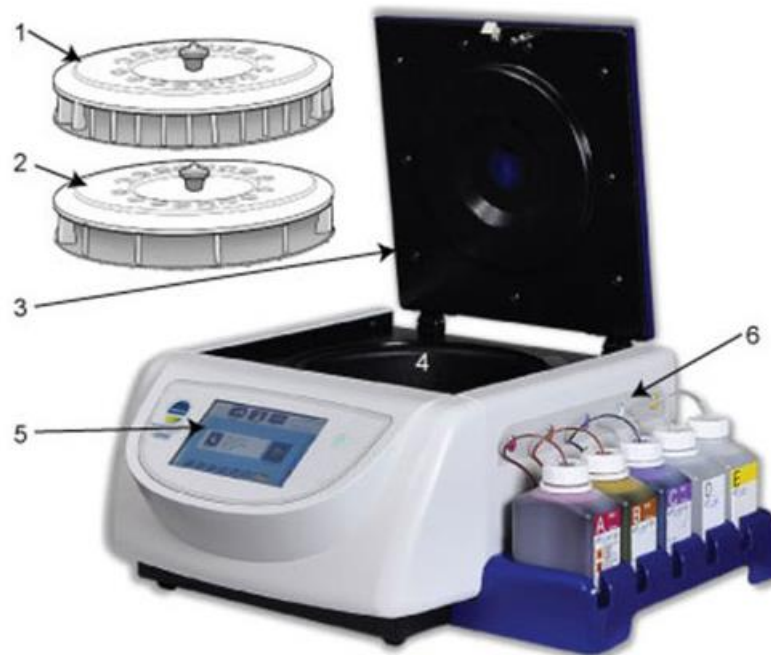


(Calderaro & Chezzi, 2024, S. 5)

Abbildung 6: Prinzip des MALDI-TOF. Durch Laserimpulse ionisieren die Moleküle. Diese Ionen werden im Flugrohr beschleunigt und es entstehen Spektren, die zur Identifikation von Mikroorganismen notwendig sind.

(Calderaro & Chezzi, 2024, S. 3-4)

2.1.5 Previ Color Gram



1. Karussell für 30 Objektträger
2. Karussell für 12 Objektträger
3. Deckel mit Sicherheitsverschluss
4. Schale
5. Vorderseite
6. Rechte Seite mit Etiketten für das korrekte Einsetzen der Reagenzien

(bioMérieux SA, 2021, S. 3-6)

Abbildung 7: Aufbau und Bestandteile des Previ Color Grams. Der Previ Color Gram besteht aus mehreren Komponenten und dient zum effizienten und umweltfreundlichen Färben von Probenausstrichen.
(bioMérieux SA, 2021, S. 1-1, 1-2, 3-1, 3-6)

Der Previ Color Gram ist ein automatisiertes Gramfärbegerät für die Färbung und Analyse von Proben. Aus der *Abbildung 7* ist zu entnehmen, dass der Previ verschiedene Reagenzien (**6**) nutzt und einen Sprühmechanismus hat, der die Färbelösung gleichmäßig auf den Objektträgern verteilt. So werden die Proben einheitlich und reproduzierbar gefärbt. Ebenso hat die Zentrifuge eine hohe Volumenfärbeleistung (**1 + 2**). Damit kann man viele Proben (12 bis 30 Proben) schnell färben. Das Gerät besitzt eine Zytozentrifuge (**4**), die die Proben vorbereitet, und einen Bildschirm (**5**), mit dem das Gerät

gesteuert werden kann. Zudem können am Previ unterschiedliche Färbeprogramme erstellt, bearbeitet und gespeichert werden. Das System arbeitet nach diesen vorprogrammierten Protokollen. So sind die Färbe- und Entfärbezeiten immer ident. Das führt zu klar differenzierten Bakterienbildern und sicheren Diagnosen. Spezielle Düsen und Pumpen verteilen die Reagenzien gleichmäßig. Ein Barcodeleser hilft, die Reagenzien, die in *Tabelle 2* aufgelistet sind, zu verwalten und diese optimal zu nutzen, damit der Abfall minimiert werden kann. Das System ist nicht nur effizienter, sondern auch umweltfreundlicher als manuelle Färbemethoden. (bioMérieux SA, 2021, S. 1-1, 1-2, 3-1, 3-6)

Tabelle 2: Reagenzienliste des Previ Color Grams

Material	Hersteller	Referenznummer
Reagenz A – Fuchsin oder Safranin (mit oder ohne Aceton)	Biomérieux, Maryy-L'Etoile, Frankreich	Aceton Fuchsin/Safranin: 295521/29582 Fuchsin/Safranin: 29585/29583
Reagenz B - Iod	Biomérieux, Maryy-L'Etoile, Frankreich	29586
Reagenz C - Kristallviolett	Biomérieux, Maryy-L'Etoile, Frankreich	29587
Reagenz D – destilliertes Wasser		
Reagenz E – zugelassener Alkohol	SAV Liquid Production GmbH, Flinnsbach am Inn, Deutschland	ETO-10000-99-1

2.1.6 BactoSonic

BactoSonic Ultraschallbäder nutzen den Effekt der Kavitation. Unter dem Boden des Schwingbeckens sind piezoelektrische Schwingssysteme angebracht, deren Energie in Form von mechanischen Schwingungen mit Ultraschallfrequenz in die Badflüssigkeit übertragen wird. Dadurch werden in der Badflüssigkeit ständig mikroskopisch kleine Bläschen erzeugt, die bei ihrer Implosion Energie freisetzen und lokale Mikroströmungen erzeugen. Diesen Vorgang bezeichnet man als Kavitation. Verglichen mit anderen Ultraschallbädern basiert die Beschallung im BactoSonic auf niederfrequentem Ultraschall, dessen geringe Intensität an der Kavitationsschwelle liegt. Dabei wird die Adhäsion des Biofilms an der Implantatoberfläche durch die einwirkenden Mikroströmungen, Scherkräfte und oszillierenden Kavitationsblasen so weit reduziert, dass er sich ablöst. Die auftretenden Kavitationsereignisse sind jedoch noch so energiearm, dass es zu keiner nennenswerten Zerstörung von Zellstrukturen kommt und die abgelösten Mikroorganismen für die nachfolgende Analytik als Probenmaterial zur Verfügung stehen. (Bandelin electronic GmbH & Co. KG, 2020, S. 6)

2.2 Vorbereitung der Gewebestücke

Bei Verdacht auf Protheseninfektionen werden von den betroffenen Patient:innen Gewebestücke intraoperativ entnommen. Diese werden aus ganz Vorarlberg in das Mikrobiologie-Labor der Pathologie Feldkirch geliefert. Die für diese Arbeit relevanten Gewebestücke stammen ausschließlich aus der Orthopädie und Unfallchirurgie. Pro Patient:in und Abnahme werden stets drei Gewebestücke entnommen, die von Montag bis Freitag im Labor eintreffen. Proben, die am Wochenende eingetroffen sind, wurden nicht für diese Arbeit verwendet. Wenn mehr als drei Gewebestücke vorlagen, wurden stichprobenartig drei ausgewählt und anschließend für diese Arbeit verwendet. Dabei wurde beachtet, dass die Stücke einen Durchmesser von maximal einem Zentimeter haben. Es wurden nicht nur Proben von Patient:innen verwendet, bei denen ein Verdacht auf eine

Infektion besteht, sondern auch von Patient:innen, die beispielsweise eine gelockerte Prothese haben. Die Analyse dieser Gewebestücke dient zugleich als Verlaufskontrolle während oder nach einer Therapie.

Das Gewebe wurde von den BMAs des Mikrobiologie-Labors unter dem Abzug mit einer sterilen Schere, einer sterilen Pinzette oder einem Einweg-Skalpell in einem sterilen Mörser verarbeitet. Nachdem das Gewebe zurechtgeschnitten wurde, kam jeweils eines in ein ProbeAX Evolution Röhrchen. Es wurden pro Patient:in im besten Fall jeweils drei ProbeAX Röhrchen befüllt. Diese Röhrchen wurden, wie im nachfolgenden *Kapitel 2.3* beschrieben, weiterverarbeitet. Der Rest der Probe wurde für die Routine gemörsert. Mit dem Mörser selbst werden zwei verschiedene Platten in einer Kreisbewegung ausgestrichen und über Nacht bebrütet. Der Rest wurde mit der Flüssigkeit der Bouillon im Mörser vermischt und als Gesamtes in die Bouillon-Röhrchen gegeben. Die zur Verarbeitung benötigten Materialien sind in der *Tabelle 3* aufgelistet.

Tabelle 3: Liste der verwendeten Materialien für die Vorbereitung der Gewebestücke

Material	Hersteller	Referenznummer
ProbeAX Evolution Tubes	AxonLab, Baden-Dättwil, Schweiz	AL0510
<i>disposable scalpels</i>	Troge Medical GmbH, Hamburg, Deutschland	146210
Steriler Mörser		
Sterile Schere		
Sterile Pinzette		

2.3 Inkubation der Flüssigkultur

Die Weiterverarbeitung erfolgte eigenständig. Nachdem die ProbeAX Evolution Röhrchen von den BMAs befüllt worden waren, wurden sie anschließend im SpinAX für eine Minute bei 2200rpm homogenisiert und dispergiert. Währenddessen wurde die Membran der aeroben und anaeroben Blutkulturflaschen mit einem Zellstofftupfer und Sterillium desinfiziert. Mittels einer Spritze wurden aus jedem ProbeAX-Gefäß jeweils ein Milliliter in eine aerobe und eine anaerobe Flasche injiziert. Schlussendlich waren pro Patient:in jeweils drei Sets, bestehend aus drei aeroben und drei anaeroben Blutkulturflaschen, vorhanden. Diese wurden für maximal 14 Tage im BACTEC-FX inkubiert. Bei positiven Blutkulturen ist die *time-to-positivity* (TTP) von Bedeutung. Die TTP bezeichnet die Zeitspanne, in der die Flaschen positiv werden, nämlich den Zeitraum zwischen dem Einstecken der Flasche in den BACTEC-FX und dem Zeitpunkt, zu dem das Gerät Mikroorganismen nachweisen konnte. Die positiven Blutkulturflaschen werden herausgenommen und wie im folgenden *Kapitel 2.4* beschrieben, weiterverarbeitet. Die verwendeten Materialien für diese Schritte sind aus der *Tabelle 4* zu entnehmen.

Tabelle 4: Liste der verwendeten Materialien für den BACTEC-FX

Material	Hersteller	Referenznummer
BACTEC Plus Aerobic/F Culture Vials	Becton, Dickinson and Company, Sparks, USA	442023
BACTEC Lytic/10 Anaerobic/F Culture Vials	Becton, Dickinson and Company, Sparks, USA	442021

Injekt Luer Solo (10ml)	B Braun, Melsungen, Deutschland	4606108N
Blunt Fill Needle	Becton, Dickinson and Company, Sparks, USA	303129
Sterillium pure	BODE Chemie GmbH, Hamburg, Deutschland	981534
Zelletten	Lohmann & Rauscher International GmbH, Rengsdorf, Deutschland	13 356

2.4 Übergang der Flüssigkultur zur Festkultur

Da der BACTEC-FX keine genaue Identifikation von Mikroorganismen durchführen kann, müssen positive Blutkulturflaschen händisch weiterverarbeitet werden. Die dafür benötigten Materialien sind in der *Tabelle 5* aufgelistet. Ein Mueller-Hinton-Schokoladenagar (PVX) und ein Schaedler-Agar mit Vitamin K1 (SK1) werden für die weitere Analysen benötigt.

Mueller-Hinton-Schokoladenagar (PVX)

PVX-Platten sind angereicherte, nicht selektive Medien, die zur Isolierung und Kultivierung von sowohl anspruchsvollen als auch nicht anspruchsvollen Bakterien und ebenso Bakterien der normalen Flora dienen. Anspruchsvolle Bakterien sind solche, die nicht oder nur schlecht auf Schafblut-basierten Erstisolierungsmedien wachsen. Diese Platten werden bei 35-37°C bebrütet. Laut Hersteller können die Kulturplatten erstmals nach 18-24h abgelesen werden. Danach werden diese weiterbebrütet und nach 42-48h nochmals abgelesen. PVX-Platten sind ebenfalls für Empfindlichkeitsprüfungen von *N. gonorrhoeae* geeignet. Sowohl *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae* als auch *N.*

meningitidis wachsen auf diesem Medium. (Becton, Dickinson and Company, 2011, S. 1-5)

Schaedler Agar mit Vitamin K1 und 5% Schafblut (SK1)

Das SK1-Medium ist nährstoffreich und dient zur nicht-selektiven Isolierung von Anaerobiern und selektiven Isolierung von sowohl gramnegativen als auch grampositiven anaeroben Stäbchen. Die Zugabe von Vitamin K1 und Hämin stellt die Basis für mehrere selektive Medien dar. Diese Platten werden anaerob für 48h-72h bei 35-37°C inkubiert. Auf SK1-Platten wachsen beispielsweise *B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron*, *C. perfringens*, *F. nucleatum*, *P. anaerobius*, *P. levii*, aber auch fakultative Anaerobier wie *E. coli*, *S. aureus* und *P. mirabilis*. (Becton, Dickinson and Company, 2016, S. 1-5)

Aus den positiven Blutkulturflasche wurde je ein Tropfen auf eine PVX- und SK1-Platte aufgetragen. Bevor der Applikator mit dem Adapter auf die Membran der Flasche gesteckt wurde, musste diese mit einem Zellstofftupfer und Sterillium desinfiziert werden, um eine Kontamination zu vermeiden. All diese benötigten Materialien sind aus der *Tabelle 4* entnehmbar. Mit einem Tupfer wurden die positiven Kulturflaschen anhand der Drei-Ösen-Methode ausgestrichen. Wie schon erwähnt muss die SK1-Platte anaerob bebrütet werden. Dafür wurde die Platte in einen Plastiksack mit einem Gaserzeugungssäckchen gegeben. Während die PVX-Platte im Brutschrank bebrütet wurde, wurde das SK1-Medium im Brutraum inkubiert.

Tabelle 5: Liste der verwendeten Materialien für die Festkulturbebrütung

Material	Hersteller	Referenznummer
Mueller-Hinton-Schokoladenagar (PVX)	Biomérieux, Maryy-L'Etoile, Frankreich	43109
Schaedler-Agar mit Vitamin K1 (SK1)	Becton, Dickinson and Company, Sparks, USA	254084
AnaeroGen Compact	Thermo Fischer Scientific, Massachusetts, USA	AN0020D
Applicator plastic, viscose tip, 2.5x150mm	Becton, Dickinson and Company, Sparks, USA	09-812-8052
Vacutainer Multiple Sample Luer Adapter	Becton, Dickinson and Company, Sparks, USA	367300
Inoculation loop (Impföse)	Nerbe Plus, Winsen/Luhe, Deutschland	09-401-5002
PS stick with small viscose tip	Nerbe Plus, Winsen/Luhe, Deutschland	09-812-8052

2.5 Identifikation

Am nächsten Tag waren im Idealfall Kolonien auf den Kulturplatten zu sehen. Wenn dies nicht der Fall war, mussten diese so lange inkubiert werden, bis Kolonien vorhanden waren. Sowohl bei der konventionellen Methode als auch bei der Flüssigkulturmethode ist ein MALDI für die Erregeridentifikation

notwendig. Es ist zu erwähnen, dass die BMAs des Labors bei der konventionellen Methode der Routine keine Flüssigkulturen angelegt haben. Deswegen haben sie nach dem Ausstreichen und nach der Inkubation der Agarplatten direkt einen MALDI durchgeführt.

Wie schon erwähnt, werden für den MALDI verschiedene Lösungen benötigt. Das *Organic Solvent* (OS) ist so angereichert, dass dies sofort verwendbar ist. Die Matrix ist lyophilisiert und wurde mit 250µl OS aufgelöst. Die 100% Ameisensäure wurde mit ultrareinem Wasser auf 70% verdünnt. Nach der Vorbereitung der Lösungen, wurden die Kolonien mit einem Zahnstocher entnommen und auf ein Biotarget geschmiert. Nach weiteren Bearbeitungsschritten, die im *Kapitel 2.1.4* näher erläutert werden, können mittels Massenspektrometrie verschiedenste Mikroorganismen, die auf den Platten gewachsen sind, identifiziert werden. Zur persönlichen Kontrolle wurden Gramfärbungen (siehe *Kapitel 2.1.5*) hergestellt und unter dem Mikroskop angesehen. Die benötigten Materialien für die Identifizierung der Mikroorganismen sind in *Tabelle 6* aufgelistet.

Tabelle 6: Liste der verwendeten Materialien für die Erregeridentifikation

Material	Hersteller	Referenznummer
Menzel-Gläser Superfrost Plus <i>microscope slides</i>	Gerhard Menzel, Braunschweig, Deutschland	J1800AMNZ
<i>Solution Organic Solvent</i> (OS)	VWR International Chemicals, Pennsylvania, USA	89449.180
Ameisensäure 98/ 100% zur Analyse ACS	Bernd Kraft, Duisburg, Deutschland	05314.2010

IVD Matrix HCCA lyophilisiert portioniert	Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Deutschland	8290200
Wasser, chromasolv LC- MS	Honeywell Riedel-de Haen, Seelze, Deutschland	39253-1L
MBT Biotarget 96	Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Deutschland	8267615
10µl filter tips sterile	Greiner Bio-One, Kremsmünster, Österreich	771261

2.6 Sonifikation mit BactoSonic

Die Sonifikation ist eine Ultraschallbehandlung, bei der der Biofilm auf der Oberfläche des Implantats durch hochfrequente Schallwellen abgelöst wird. Dieses Verfahren wurde von den BMAs des Labors durchgeführt. Bei der Vorbereitung einer Sonifikation gibt es einige Dinge zu beachten. Eine Schwingwanne wurde zu 1/3 mit Wasser bedeckt. Ein tensidhaltiges Präparat wurde hinzugefügt und die Wanne wurde erneut bis zur Markierung mit Wasser aufgefüllt. Im nächsten Schritt musste die Flüssigkeit entgast werden, indem der Ultraschall für 10 Minuten eingeschaltet wurde. Nachdem alle Materialien, die in *Tabelle 7* aufgelistet sind, bereitgelegt wurden und die Sterilwerkbank verwendbar war, mussten Ohrenschutz und sterile Handschuhe angezogen werden. Der Beutel, der mit einer physiologischen Kochsalzlösung befüllt ist, wurde geöffnet und ein Transfer-Device wurde bis zum Anschlag in den Beutel gestochen. Die Probe, die in einer Box liegt, musste mindestens bis zu 90% mit einer sterilen Kochsalzlösung bedeckt sein. Anschließend wurde die Box verschlossen und für mindestens 30 Sekunden kräftig geschüttelt. Die Sonifikation selbst läuft bei 100% Leistung im BactoSonic für eine Minute ab. Dabei ist zu beachten, dass die Box den Boden und die Wände des Bades nicht berühren dürfen. Nach der

Sonifikation wird die Box nochmals geschüttelt. Danach mussten 50ml des Sonifikats in ein Röhrchen überführt werden. Von dieser Flüssigkeit kam je 1ml auf eine Kochblut-, Columbia- und Schädler-Platte. Ebenso wurde jeweils 6ml in eine aerobe und anaerobe Blutkulturflasche injiziert. Anschließend wurde der Rest des Sonifikats aus der Box entleert und die Probe wurde erneut für mindestens 30 Sekunden kräftig im BactoSonic geschüttelt. Letztendlich wurde die Box verschlossen und in die zentrale Annahme verschickt. Nach 24h Bebrütung wurden die Kulturplatten begutachtet. Die Ergebnisse wurden als Kolonie-bildenden-Kolonien (KBE) ausgewertet. Die Anzahl der KBE pro Platte wurden in KBE/ml Sonifikationsflüssigkeit angegeben. Ein signifikantes Ergebnis besteht dann, wenn die Anzahl größer gleich 50 KBE/ml beträgt. Das Ergebnis der Sonifikation ist ausschlaggebend und bestätigt eine vorhandene Infektion. (Bandelin electronic GmbH & Co. KG, 2020, S. 16-18)

Tabelle 7: Liste der verwendeten Materialien für den BactoSonic

Material	Hersteller	Referenznummer
free flex, 0,9% physiologische Kochsalzlösung, 500ml (Infusionslösung) + Beutel 250ml	Fresenius Kabi, Österreich	Z.Nr.: 1-16417
Transfer-Device	Fresenius Kabi, Österreich	8500432

2.7 Auswertung

Sowohl die Ergebnisse der Methode mit den Agarplatten und der mit den Blutkulturen als auch die Namen und Geburtsdaten der Patient:innen wurden in einer Excel-Datei gesammelt. Der Tag des Einsendens sowie der Tag der Verarbeitung wurden dokumentiert. Die Ergebnisse der konventionellen Methode der Pathologie Feldkirch wurden aufgeschrieben und mit der Methode dieser Arbeit verglichen. Im nachfolgenden *Kapitel 3* werden alle Ergebnisse grafisch dargestellt und diskutiert.

3 Ergebnisse

In diesem Kapitel werden alle Ergebnisse grafisch und tabellarisch dargestellt. Hierbei werden beide Methoden im Vergleich stehen. Sowohl die Gewebearten, die für diese Arbeit verwendet wurden, als auch die Ergebnisse beider Methoden und dessen Unterschiede werden erläutert. Zusätzlich werden die positiven Proben genauer aufgeführt. Weiters werden ebenso aussagekräftige Daten zu den TTPs nähergebracht und auffällige Proben werden diskutiert.

Im Zeitraum vom 19.02.2024 bis 12.04.2024 wurden für diese Arbeit insgesamt 64 Gewebestücke aus der näheren Umgebung von Implantaten von 21 verschiedenen Patient:innen bearbeitet und analysiert. Von drei dieser Patient:innen wurden zu unterschiedlichen Zeiten jeweils zweimal Gewebestücke entnommen. Dennoch werden diese Proben als Einzelproben betrachtet. Bei den Ergebnissen dieser Arbeit ist also von 24 Patient:innen beziehungsweise 24 Proben die Rede. Von jedem/jeder Patient:in wurden meistens drei Gewebestücke für die Blutkulturmethode verwendet. Mit Ausnahme von sechs Patient:innen, von denen teilweise nur zwei oder ein Gewebestück eingelangt ist.

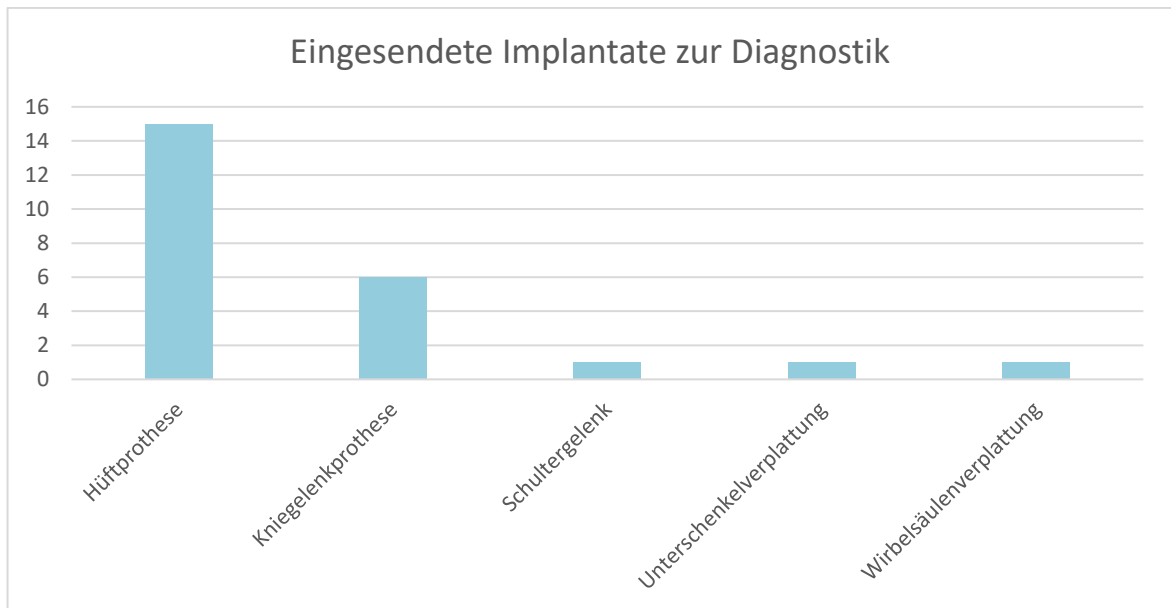


Abbildung 8: Eingesendete Implantate zur Diagnostik. In diesem Diagramm sind die Gelenksgewebearten grafisch dargestellt, die für diese Arbeit verwendet wurden.

In den Landeskrankenhäusern Vorarlbergs wurden am meisten Gewebeprobe von Hüftgelenken, gefolgt von Kniegelenken, eingesandt. Die genauen Daten können aus der *Abbildung 8* entnommen werden. Ebenso wurde jeweils eine Probe von einer Schulter, einem Unterschenkel und einer Lendenwirbelsäule bearbeitet.

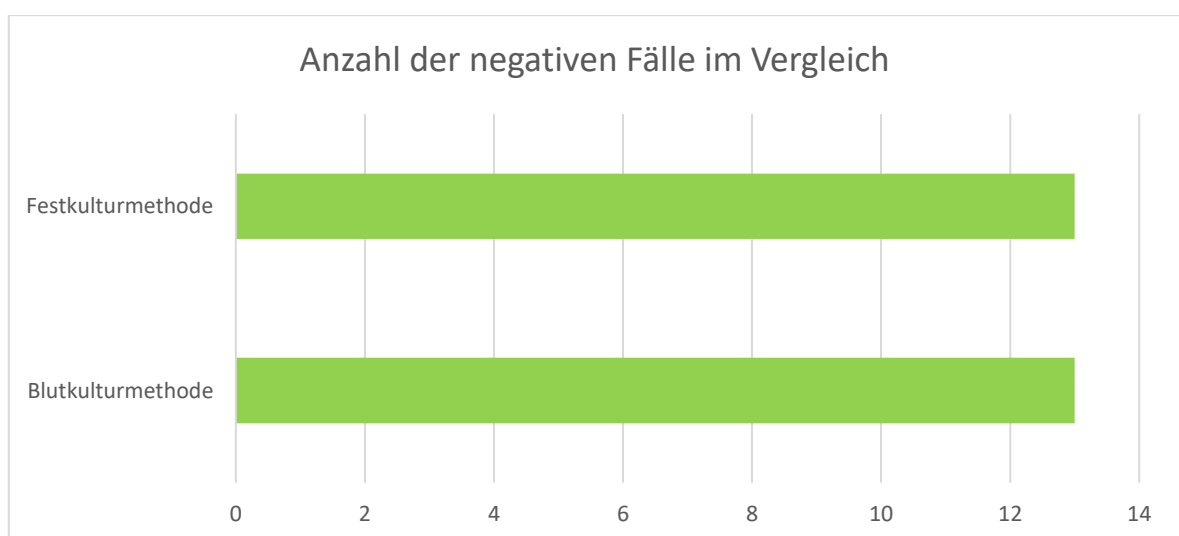


Abbildung 9: Anzahl der negativen Fälle im Vergleich. In diesem Balkendiagramm ist die Anzahl der negativen Proben der Festkulturmethode als auch die der Blutkulturmethode zu sehen.

Wie in *Abbildung 9* zu sehen ist, gibt es keinen Unterschied in der Anzahl der negativen Proben. Die Ergebnisse stimmen zu 100% überein. Sowohl in der Routine als auch in der Blutkulturmethode stimmen die negativen Ergebnisse stets überein. Daraus folgt, dass beide Methoden eine idente Spezifität aufweisen.

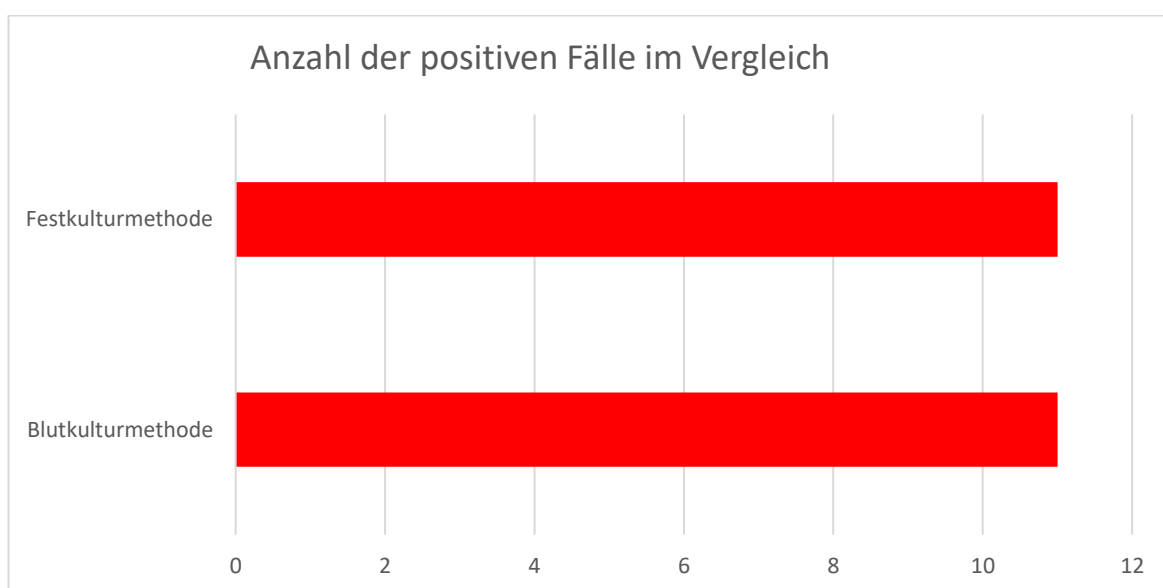


Abbildung 10: Anzahl der positiven Fälle im Vergleich. Diese beiden Balken geben Auskunft über die Anzahl der positiven Proben der konventionellen Methode und die der Blutkulturflaschenmethode.

Ebenso stimmen die positiven Ergebnisse beider Methoden in der *Abbildung 10* zu 100% überein und es gab keine falsch positiven Ergebnisse. Somit ist bei beiden Methoden die Sensitivität ident.

Um die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zu erläutern, ist die wohl aussagekräftigste *Tabelle 8* heranzuziehen. Zu sehen sind alle Proben in aufsteigender Nummerierung. Die Reihenfolge wurde nach dem Einsenddatum der Proben bestimmt und in den folgenden Tabellen

weiterhin so handgehabt. Dabei hat jeder/jede Patient:in seine/ihre eigene Nummer. Die drei Spalten neben der Probennummer sind jeweils für das Ergebnis der konventionellen Methode und der Blutkulturmethode. Zusätzlich dient die letzte Spalte für Bemerkungen.

Tabelle 8: Die Ergebnisse beider Methoden und dessen Bemerkungen

Probennummer	Festkultur- methode	Flüssigkultur- methode	Bemerkungen
Probe 1	Negativ	Negativ	-
Probe 2	Negativ	Negativ	-
Probe 3	Positiv	Positiv	Patientin zweifach (siehe Probe 13)
Probe 4	Negativ	Negativ	-
Probe 5	Negativ	Negativ	-
Probe 6	Positiv	Positiv	-
Probe 7	Negativ	Negativ	-
Probe 8	Negativ	Negativ	Kontaminante auf Festkulturmethode
Probe 9	Negativ	Negativ	-
Probe 10	Negativ	Negativ	Kontaminante auf Festkulturmethode
Probe 11	Negativ	Negativ	-
Probe 12	Negativ	Negativ	-
Probe 13	Positiv	Positiv	-
Probe 14	Positiv	Positiv	-
Probe 15	Positiv	Positiv	-
Probe 16	Positiv	Positiv	Kontaminante auf Festkulturmethode
Probe 17	Positiv	Positiv	Patientin zweifach (siehe Probe 21)

Probe 18	Negativ	Negativ	Kontaminante auf Festkulturmethode und Patient zweifach (siehe Probe 20)
Probe 19	Negativ	Negativ	-
Probe 20	Positiv	Positiv	-
Probe 21	Negativ	Negativ	-
Probe 22	Positiv	Positiv	-
Probe 23	Positiv	Positiv	-
Probe 24	Positiv	Positiv	-

Die Proben mit den Nummern drei, 17 und 18 sind die Patient:innen, von denen zweifach zu unterschiedlichen Zeitpunkten Gewebestücke abgenommen wurden. Während mit der konventionellen Festkulturmethode mehrere Kontaminationen, um genau zu sein, vier, stattgefunden haben, gab es in der Blutkulturmethode keine falsch positiven Fälle. Eine Kontamination liegt vor, wenn neben dem Haupterreger mit hoher Keimzahl auch zusätzliche Mikroorganismen mit geringer Keimzahl festgestellt werden. Daraus ist zu schließen, dass die Blutkulturmethode keine falsch positiven Ergebnisse geliefert hat. Proben, die eine weitere Diskrepanz der Methoden aufweisen, sind die Fälle 14 und 16. Die beiden Proben ergaben in beiden Methoden unterschiedliche Ergebnisse. In der *Tabelle 9* sieht man, dass zwei von vier Gewebestücken der Probe 14 und zwei von drei Gewebeprobe der Probe 16 positiv waren. In beiden Fällen ergab die Sonifikation ein positives Ergebnis. Die Flüssigkulturmethode hat nur bei einem von drei Probensätzen ein positives Ergebnis gezeigt. Dabei muss man aber die Sonifikation berücksichtigen. Daraus kann man schließen, dass beide Proben in beiden Methoden eine Infektion bestätigen.

In der *Tabelle 9* sind sowohl alle positiven Proben der konventionellen Methode, die Anzahl der eingelieferten Gewebeprobe, als auch die Anzahl der positiven Gewebestücke aufgelistet. Damit ein Fall als positiv bewertet

werden konnte, müssen mindestens bei zwei Proben derselbe Erreger nachweisbar sein. Bei der Flüssigkulturmethode mussten ebenso in zwei von drei Sets derselbe Erreger enthalten sein, um als positiv bewertet werden zu können. Allerdings ist in beiden Methoden das Ergebnis der Sonifikation entscheidend. Wenn beispielsweise weniger als zwei von drei der Gewebestücke beziehungsweise Sets positiv war, entschied das Ergebnis der Sonifikation, ob der Fall als positiv oder negativ bewertet werden musste. Bei den meisten Proben wurde keine Sonifikation durchgeführt. Vier Sonifikationen (Proben 14, 16, 22 und 23) ergaben ein positives Ergebnis.

Tabelle 9: Anzahl der positiven Gewebe und Ergebnisse der Sonifikation der Festkulturmethode

Probennummer	Gewebeanzahl	davon positiv	Sonifikation
Probe 3	4	4	-
Probe 6	1	1	-
Probe 13	4	4	-
Probe 14	4	2	Positiv
Probe 15	2	2	-
Probe 16	3	2	Positiv
Probe 17	5	5	-
Probe 20	3	3	-
Probe 22	2	2	Positiv
Probe 23	3	2	Positiv
Probe 24	5	4	-

In der folgenden *Tabelle 10* ist sowohl die Anzahl der verwendeten Blutkulturflaschen-Sets als auch die Anzahl der positiven Sets aufgelistet. Ein Set entspricht hier einer aeroben und einer anaeroben Flasche. In derselben Tabelle sind die kürzesten Zeiten bis zum positiven Ergebnis aufgeführt. Die minimale Zeit beträgt lediglich zwei Stunden 59 Minuten und zehn Sekunden, während die maximale Zeit vier Tage 22 Stunden und 20 Minuten beträgt. Dies verdeutlicht, dass die Zeitspanne bis zur positiven

Flasche sehr variabel ist. Es ist jedoch bemerkenswert, dass keiner der Fälle die 14-Tage-Marke erreicht hat. Zudem ist auffällig, dass alle Proben innerhalb von weniger als sieben Tagen positiv wurden, unabhängig davon, ob es sich um anaerobe oder aerobe Flaschen handelte. Selbst bei Anaerobier, wie beispielsweise Probe 23, wurden positive Ergebnisse innerhalb von vier Tagen 22 Stunden und 20 Minuten erzielt. Daten aus der *Tabelle 10* zeigen, dass aerobe Flaschen tendenziell schneller positiv wurden als anaerobe. Der BACTEC-FX hat nach 24 Stunden Inkubation, 60,87% der anaeroben Flaschen und 90% der aeroben Flaschen als positiv bewertet. Alle Sets zusammen wurden nach 24 Stunden Inkubation zu 74% als ein positives Ergebnis ausgewertet.

Tabelle 10: Anzahl positiver Sets der Blutkulturflaschenmethode dargestellt mit der kürzesten TTP

Proben-nummer	Sets	davon positiv	Positive Flaschen	TTP anaerob	TTP aerob
Probe 3	3	3	6/6	00d 06h 14min 16sek	-
Probe 6	1	1	1/1	00d 10h 06min 00sek	-
Probe 13	3	3	5/6	-	00d 15h 15min 44sek
Probe 14	3	1	2/6, Sonifikation positiv	-	00d 16h 38min 27sek
Probe 15	2	2	4/4	00d 12h 13min 42sek	-
Probe 16	3	1	2/6, Sonifikation positiv	-	01d 03h 44min 58sek

Probe 17	3	3	6/6	-	00d 07h 38min 39sek
Probe 20	3	3	6/6	-	00d 02h 59min 10sek
Probe 22	1	1	1/1	-	00d 17h 03min 11sek
Probe 23	3	3	3/6	04d 22h 20min 00sek	Negativ
Probe 24	3	3	5/6	00d 19h 07min 34sek	-

Aus der letzten *Tabelle 11* sind die Ergebnisse des MALDI zu sehen. Die Ergebnisse beider Methoden stimmen überein.

Tabelle 11: Die identifizierten Mikroorganismen der positiven Proben beider Methoden

Probennummer	Festkulturmethode	Blutkulturmethode
Probe 3	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i>
Probe 6	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
Probe 13	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i>
Probe 14	<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. haemolyticus</i>
Probe 15	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>
Probe 16	<i>S. lugdunensis</i>	<i>S. lugdunensis</i>
Probe 17	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
Probe 20	<i>E. cloacae</i> -Complex	<i>E. cloacae</i> -Complex
Probe 22	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>
Probe 23	<i>C. acnes</i>	<i>C. acnes</i>

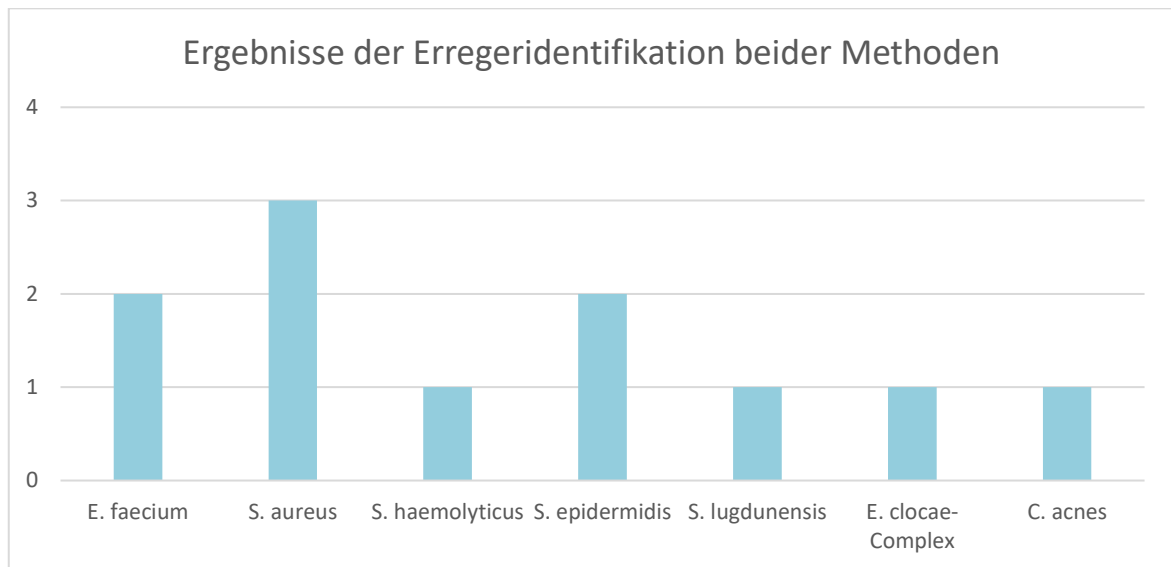


Abbildung 11: Häufigkeit der identifizierten Erreger beider Methoden.
 In diesem Balkendiagramm sind alle Erreger grafisch veranschaulicht, die mit dem MALDI identifiziert wurden.

Das am meisten nachgewiesene Bakterium ist *S. aureus*. Die *S. epidermidis*- und *E. faecium*-Bakterien kommen gleich häufig vor. Alle anderen Bakterien wurden jeweils nur einmal in Proben entdeckt. Diese Ergebnisse werden in der *Abbildung 11* nähergebracht.

Die Resultate der Probe 23 lassen die Schlussfolgerung zu, dass die anfänglich empfohlene Inkubationsdauer von 14 Tagen auf eine maximale Dauer von sieben Tagen verkürzt werden kann.

4 Fazit

In dieser Studie wurden 24 Patient:innen untersucht, bei denen insgesamt 64 Gewebeproben analysiert wurden. Bei der Blutkulturmethode waren von den 24 untersuchten Proben 13 negativ und 11 nachgewiesene Infektionen, dies konnte auch durch die konventionelle Festkulturmethode ebenso bestätigt werden. Allerdings traten bei der Festkulturmethode vier Kontaminationen auf.

Die erzielten TTPs deuten darauf hin, dass die Inkubationszeit von ursprünglich maximal 14 Tagen auf maximal 7 Tage verkürzt werden kann. Der am häufigsten identifizierte Erreger war *S. aureus*, gefolgt von *E. faecium* und *S. epidermidis*.

Grundsätzlich ist zu erwähnen, dass die Blutkulturmethode mehrere positive Aspekte mit sich bringt. Einerseits wurden keine Proben kontaminiert, was die Zuverlässigkeit der Ergebnisse erhöht. Die Flüssigkulturmethode ermöglichte eine schnelle Diagnose, da etwa 74% der Proben bereits nach 24 Stunden positiv waren. Die Blutkulturmethode ist sehr sensitiv, sodass Infektionen nicht übersehen werden. In der vorliegenden Studie sind keine falsch-negativen oder falsch-positiven Ergebnisse aufgetreten. Die Ergebnisse der Blutkulturmethode stimmen mit den Ergebnissen der routinemäßigen Untersuchungen überein, was ihre Zuverlässigkeit bestätigt. Der Diagnoseprozess kann mit der Blutkulturmethode beschleunigt werden, da es grundsätzlich ausreichen würde, die BK-Flaschen für maximal sieben Tage zu bebrüten, anstatt für 14 Tage.

Die Ergebnisse dieser Arbeit liefern wertvolle Erkenntnisse zur Optimierung der Inkubationszeiten und zur Verbesserung der Identifikationsmethoden von Pathogenen in klinischen Proben.

Die Untersuchung von Blutkulturen wird für die weitere Entwicklung von Bedeutung sein. Sie erfordert weitere Forschungsarbeiten. Ein zentraler

Fokus sollte auf der Verkürzung der Inkubationszeiten, insbesondere für anaerobe Bakterien, liegen. Ebenso sollten neue Technologien entwickelt werden, um die Probenentnahme zu verbessern und somit Kontaminationen zu vermeiden. Insgesamt bieten unterschiedliche Forschungsbereiche die Möglichkeit, die Diagnose und Behandlung von Infektionen zu verbessern.

5 Literaturverzeichnis

- AxonLab AG. (o. D.). *SpinAX Dispergier- und Homogenisiergerät*. Polling, Schweiz: AxonLab AG. Abgerufen am 07. Juni 2024
- Bandelin electronic GmbH & Co. KG. (2020). *bandelin.com*. Abgerufen am 28. Mai 2024 von bandelin.com: https://bandelin.com/wp-content/manuals/BS__6366-006_DE_BANDELIN.pdf
- Becton, Dickinson and Company. (2011). *www.bd.com*. Abgerufen am 27. Februar 2024 von www.bd.com: <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8624>
- Becton, Dickinson and Company. (2016). *www.bd.com*. Abgerufen am 27. Februar 2024 von www.bd.com: <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=25602>
- Becton, Dickinson and Company. (Februar 2021). *www.static.bd.com*. Abgerufen am 28. Februar 2024 von www.static.bd.com: https://static.bd.com/documents/eifu/8005110_ZLU_D_SD_8005110_DE.pdf
- bioMérieux SA. (Mai 2021). *PREVI® COLOR GRAM und Zytozentrifugen-Rotor*. Lyon, Frankreich: bioMérieux SA. Abgerufen am 07. Juni 2024
- Calderaro, A., & Chezzi, C. (03. Februar 2024). *pubmed.ncbi.nlm.nih.gov*. doi:10.3390/microorganisms12020322
- Li, C., Renz, N., Trampuz, A., & Ojeda-Thies, C. (22. Oktober 2019). *pubmed.ncbi.nlm.nih.gov*. doi:10.1007/s00264-019-04426-7
- McNally, M., Sousa, R., Wouthuyzen-Bakker, M., Chen, A., Soriano, A., Vogely, H., . . . Trebše, R. (Januar 2021). *pubmed.ncbi.nlm.nih.gov*. doi:10.1302/0301-620X.103B1.BJJ-2020-1381.R1
- Memmert GmbH + Co KG. (November 2014). *www.memmert.com*. Abgerufen am 28. Februar 2024 von www.memmert.com: <https://www.memmert.com/index.php?eID=dumpFile&t=f&f=2771&token=420bb30982313abf3a3b5d10e5f2f04ff48f8287>
- Patel, R. (19. Januar 2023). *pubmed.ncbi.nlm.nih.gov*. doi:10.1056/NEJMra2203477

6 Abkürzungsverzeichnis

AAOS	<i>Association of Orthopaedic Surgeons</i>
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
CFU	<i>colony forming units</i>
CNA	Columbia-Naladixinsäure-Agar
CO ₂	Kohlendioxid
CRP	C-reaktives Protein
DAIR	<i>débridement, antibiotics and implant retention</i>
LED	lichtemittierende Dioden
MALDI-TOF	<i>matrix-assisted laser desorption/ ionization time-of-flight</i>
MRSA	Methicillin-resistenter Staphylococcus aureus
NaCl	Natrium-Chlorid
OS	<i>Solution Organic Solvent</i>
PJI	<i>periprosthetic joint infection</i>
PMN	<i>polymorphonuclear cell</i>
PVX	Mueller-Hinton-Schokoladenagar
SK1	Schaedler-Agar mit Vitamin K1
TTP	<i>time-to-positivity</i>

7 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Häufig nachgewiesene Mikroorganismen bei Implantatinfektionen. Diese Erreger wurden am häufigsten bei Knie- und Hüftgelenkprothesen nachgewiesen. (Patel, 2023, S. 253)	8
Abbildung 2: Risikofaktoren für eine PJI. Diese teils vermeidbaren Faktoren erhöhen das Risiko einer PJI. (Patel, 2023, S. 254)	9
Abbildung 3: SpinAX. Der Aufbau und die Funktionstasten des SpinAX sind hier bildlich dargestellt. (AxonLab AG, o. D., S. 7)	19
Abbildung 4: ProbeAX Evolution Tubes. Das ProbeAX Evolution Röhrchen besteht aus einer Raspel und einem Zylinder. (AxonLab AG, o. D., S. 9) .	20
Abbildung 5: Verfahrensgrundlagen des BACTEC-FX. Hier ist zu sehen, wie der BACTEC-FX Kulturen auf Mikroorganismen kontrolliert. (Becton, Dickinson and Company, 2021, S. 9-10)	21
Abbildung 6: Prinzip des MALDI-TOF. Durch Laserimpulse ionisieren die Moleküle. Diese Ionen werden im Flugrohr beschleunigt und es entstehen Spektren, die zur Identifikation von Mikroorganismen notwendig sind. (Calderaro & Chezzi, 2024, S. 3-4)	24
Abbildung 7: Aufbau und Bestandteile des Previ Color Grams. Der Previ Color Gram besteht aus mehreren Komponenten und dient zum effizienten und umweltfreundlichen Färben von Probenausstrichen. (bioMérieux SA, 2021, S. 1-1, 1-2, 3-1, 3-6)	25
Abbildung 8: Eingesendete Implantate zur Diagnostik. In diesem Diagramm sind die Gelenksgewebearten grafisch dargestellt, die für diese Arbeit verwendet wurden.	37
Abbildung 9: Anzahl der negativen Fälle im Vergleich. In diesem Balkendiagramm ist die Anzahl der negativen Proben der Festkulturmethode als auch die der Blutkulturmethode zu sehen.	38
Abbildung 10: Anzahl der positiven Fälle im Vergleich. Diese beiden Balken geben Auskunft über die Anzahl der positiven Proben der konventionellen Methode und die der Blutkulturflaschenmethode.	38

Abbildung 11: Häufigkeit der identifizierten Erreger beider Methoden. In diesem Balkendiagramm sind alle Erreger grafisch veranschaulicht, die mit dem MALDI identifiziert wurden. 44

8 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Liste der verwendeten Geräte.....	17
Tabelle 2: Reagenzienliste des Previ Color Grams	26
Tabelle 3: Liste der verwendeten Materialien für die Vorbereitung der Gewebestücke	28
Tabelle 4: Liste der verwendeten Materialien für den BACTEC-FX.....	29
Tabelle 5: Liste der verwendeten Materialien für die Festkulturbefruchtung.....	32
Tabelle 6: Liste der verwendeten Materialien für die Erregeridentifikation	33
Tabelle 7: Liste der verwendeten Materialien für den BactoSonic	35
Tabelle 8: Die Ergebnisse beider Methoden und dessen Bemerkungen	39
Tabelle 9: Anzahl der positiven Gewebe und Ergebnisse der Sonifikation der Festkulturmethode	41
Tabelle 10: Anzahl positiver Sets der Blutkulturflaschenmethode dargestellt mit der kürzesten TTP	42
Tabelle 11: Die identifizierten Mikroorganismen der positiven Proben beider Methoden.....	43

9 Eidesstattliche Erklärung

Daten Studierende

Nachname Vorname Titel	Özgün, Rana Ebru
Personenkennzeichen	2110496015
Studiengang/Lehrgang	Biomedizinische Analytik
Jahrgang, Klasse	BMABsc_2021

Ich erkläre hiermit, dass ich die Bachelorarbeit zum Thema

**Vergleich der mikrobiologischen Diagnostik von
Gewebeproben mittels Festkulturen und Blutkulturen bei
periprothetischen- und Implantatinfektionen**

.....

angefertigt im Rahmen der Lehrveranstaltung

FLB6P - Forschendes Lernen im Berufsfeld, Bachelorarbeit

selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, sowie alle wörtlich oder dem Sinn nach aus anderen Texten entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe. Dies gilt für gedruckte Texte ebenso wie für aus dem Internet entnommene Texte, audiovisuelle Medien, Hörbücher und Bildnachweise.

Innsbruck, 07. Juni 2024

Ort, Datum



Unterschrift der Studierenden