

Klinik für Herz- und Gefäßchirurgie
der Technischen Universität München
Deutsches Herzzentrum München des Freistaates Bayern
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. R. Lange)

Etablierung eines experimentellen in-vivo Modells zur Analyse der bakteriellen Adhärenzfähigkeit intrakardialer Prothesenmaterialien

Gertrud Goppel

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Medizin genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. D. Neumeier

Prüfer der Dissertation:

- 1. Univ.-Prof. Dr. R. Lange**
- 2. Univ.-Prof. Dr. H.-H. G. U. Eckstein**
- 3. Univ.-Prof. Dr. P. Tassani-Prell**

Die Dissertation wurde am 06.04.2006 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 13.12.2006 angenommen.

**Meinen Eltern in Dankbarkeit
gewidmet**

INHALTSVERZEICHNIS

Abkürzungen.....	IV
1. Einleitung.....	1
1.1 Einführung.....	1
1.2 Fragestellung der vorliegenden Dissertation.....	4
2. Material und Methodik.....	5
2.1 Versuchstiere.....	5
2.2 Bakterienstamm und Wachstumsbedingungen.....	5
2.3 Verwendete Prothesenmaterialien.....	7
2.4 Operationstechnik.....	11
2.4.1. Anästhesie.....	11
2.4.2 Überwachung der Kreislaufparameter und Hämostasiologie.....	11
2.4.3 Operationsverlauf.....	11
2.4.4 Postoperative Behandlung.....	13
2.5 Induktion der Protheseninfektion.....	13
2.6 Autopsie.....	13
2.7 Postmortale Untersuchungen.....	16
2.7.1 Morphologische Begutachtung.....	16
2.7.1.1 Makroskopische Analyse.....	16
2.7.1.2 Mikroskopische Analyse.....	17
2.7.2 Mikrobiologischer Infektionsnachweis.....	18
2.7.2.1 Blutkulturen.....	18
2.7.2.2 Organproben.....	18
2.8 Statistische Grundlagen.....	19
2.9 Apparaturen und Materialien.....	22
2.9.1 Verwendetes OP-Instrumentarium.....	22
2.9.2 Verwendete Apparaturen.....	22
2.9.3 Verwendete Pharmaka.....	23
2.9.4 Verwendete Reagenzien und Materialien.....	23
3. Ergebnisse.....	24
3.1 Ergebnisse zum Tiermodell.....	24
3.1.1 Letalität.....	24
3.1.2 Operationsdauer.....	24
3.1.3 Postoperative Versuchsauswertung.....	25

3.1.3.1 Herzgewebe.....	25
3.1.3.1.1 Erzeugen einer experimentellen Endokarditis - Infektionsrate.....	25
3.1.3.1.2 Makroskopisch sichtbare Veränderungen.....	25
3.1.3.1.3 Korrelation experimentell erzeugte Endokarditis - Vegetationsformation.....	25
3.1.3.2 Folgeorgane und Blut.....	26
3.1.3.2.1 Blutkulturen.....	26
3.1.3.2.2 Milz.....	26
3.1.3.2.3 Nieren.....	27
3.1.4 Zusammenfassung.....	28
3.2 Ergebnisse aus dem Vergleich der Prothesenmaterialien.....	33
3.2.1 Vergleich der Endokarditisinzidenz in Abhängigkeit vom verwendeten Prothesenmaterial.....	33
3.2.2 Vergleich der relativen Keimdichte der Patchmaterialien.....	33
3.2.3 Vergleich der Folgekomplikationen in Abhängigkeit vom verwendeten Prothesenmaterial.....	35
3.2.4 Elektronenmikroskopische Untersuchung der verwendeten Materialien.....	37
4. Diskussion.....	41
4.1 Diskussion des Modells.....	41
4.1.1 Entwicklung des vorliegenden Modells.....	42
4.1.1.1 Pathogenese.....	42
4.1.1.1.1 Gewebeläsion und Ausbildung von sterilen Vegetationen.....	42
4.1.1.1.2 Mitralinsuffizienz.....	43
4.1.1.1.3 Bakterielle Sekundärinfektion der NBTV.....	44
4.1.1.1.3.1 Wahl des Bakterienstammes.....	45
4.1.1.1.3.2 Höhe der verabreichten Bakteriendosis.....	47
4.1.1.1.4 Rolle des Fremdmaterials.....	47
4.1.1.1.5 Zeitpunkt der Autopsie.....	48
4.1.1.2 Wahl der Versuchstiere.....	48
4.1.2 Ergebnisse des Modells.....	49
4.1.2.1 Infektionsrate.....	49
4.1.2.2 Blutkulturen.....	49
4.1.2.3 Folgekomplikationen der experimentell erzeugten IE.....	50
4.1.2.3.1 Splenomegalie.....	50
4.1.2.3.2 Infektion Milz und Nieren.....	51
4.1.3 Vergleich des vorgelegten Modells zu existierenden Modellen der IE.....	52
4.1.3.1 Modell-Konzept der IE nach Freedman und Garrison, 1970.....	52

4.1.3.2 Modell-Konzept der IE nach Imataka, 1993 und Maurin, 1997.....	54
4.1.3.3 Modell-Konzept der PKE nach Jones, 1968.....	54
4.1.3.4 Modelle zur Erforschung von Protheseninfektionen jeglicher Art.....	55
4.1.4 Schlussfolgerung.....	55
4.2 Vergleich der implantierten Fremdmaterialien.....	56
4.2.1 Wahl der untersuchten Materialien.....	56
4.2.2 Vergleich der Materialien hinsichtlich der nachgewiesenen Keimdichte.....	57
4.2.2.1 Unterschiede in der NBTV-Ausbildung der Materialien.....	58
4.2.2.2 Unterschiede in der direkten Oberflächenanhaftung der Bakterien.....	58
4.2.2.3 „Conditioning“ oder Interaktion des Substrates mit der Umgebung.....	59
4.2.2.4 Rolle der Glutaraldehyd-Fixation.....	61
4.2.3 Unterschiede der Folgekomplikationen im Vergleich der Materialien.....	61
4.2.4 Schlussfolgerung.....	62
4.2.5 Materialdiskussion im Vergleich zu klinischen Studien.....	62
4.2.5.1 Vergleich mit Follow-up - Studien nach HKE.....	63
4.2.5.2 Vergleich mit Studien von HKE bei florider Endokarditis.....	64
4.2.6 Schlussfolgerung.....	65
4.3 Unterschied der Endokarditisinzidenz rechts- und links kardial.....	68
5. Zusammenfassung.....	69
Literaturverzeichnis.....	71
Abbildungsverzeichnis.....	79
Lebenslauf.....	80
Vorträge und Veröffentlichungen.....	81
Danksagung.....	82

ABKÜRZUNGEN

Abb.	Abbildung
Å	Angström
AG	(Kryopräserviertes) Allograft
ATCC	American Type Culture Collection
CFU	Colony Forming Units
CFU/mg	Colony Forming Units/Milligramm
CFU/ml	Colony Forming Units/Milliliter
DAC	Dacron®
DMSO	Dimethylsulfoxid
E. coli	Escherichia coli
EKG	Elektrokardiogramm
EOE	Early-onset Endokarditis
Fig.	Figur
G	Gramm
GAP	Glutaraldehyd-fixiertes autologes Perikard
H	Stunde(n)
HKE	Herzklappenersatz
i. m.	Intramuskulär
i. v.	Intravenös
ID	Infektiöse Dosis
IE	Infektiöse Endokarditis
KG	Körpergewicht
kg	Kilogramm
Kv	Kilovolt
LOE	Late-onset Endokarditis
mg	Milligramm
MIBI-	Mikrobiologischer Nachweis negativ

MIBI+	Mikrobiologischer Nachweis positiv
min	Minute
MK	Mittlerer Keimnachweis
ml	Milliliter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
MSCRAMM	Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules
msec	Millisekunde
Mw	Molecular weight
n	Anzahl
NaCl	Natriumchlorid
NBTE	Nichtbakterielle thrombotische Endokarditis
NBTV	Nichtbakterielle thrombotische Vegetationen
NKE	Nativklappen-Endokarditis
nm	Nanometer
OP	Operation
OsmiumO₄	Osmiumtetroxid
PEEP	Positiver endexpiratorischer Druck
PKE	Prothesenklappenendokarditis
S.	Seite
s.	siehe
S. aureus	Staphylococcus aureus
SD	Standardabweichung
SIL	Silzone™
Tab.	Tabelle
vgl.	Vergleiche
°C	Grad Celsius

„After a century of experimental work it must be admitted that the process by which bacteria establish themselves on heart valves is still not clear”.

(D. T. Durack)

1. EINLEITUNG

1.1 Einführung

In den letzten fünf Dekaden haben sich die Möglichkeiten und Perspektiven der medizinischen Therapieformen entscheidend gewandelt. Heutzutage ist es möglich, ein zerstörtes oder pathologisch verändertes Gewebe durch ein Implantat aus Metall, Plastik oder Biomaterial zu ersetzen (**42**, S. 361ff.; **74**, S. 171ff.; **89**, S. 321ff.).

Da aber jegliches Fremdmaterial im Körper einer höheren Infektionsrate unterliegt als das native Gewebe, wuchs im Rahmen der Entwicklung neuer Prothesen zugleich das Interesse an der Erforschung von Protheseninfektionen.

Eine besonders schwere Form der Protheseninfektion stellt heute nach wie vor die Prothesenklappenendokarditis (**PKE**) dar.

Der erste beschriebene Fall einer Prothesenendokarditis trat bei einer 41 Jahre alten Patientin auf, die aufgrund einer schweren Mitralstenose am 26. Januar 1961 einem Klappenersatz unterzogen wurde (**86**, S. 726ff.). Sie entwickelte bereits am dritten postoperativen Tag eine Staphylokokken-Bakteriämie, und obwohl sie initial auf intravenöse Penicillin-Gabe reagierte, verstarb sie zwei Monate später an einer Sepsis. In der nachfolgend durchgeführten Autopsie zeigte sich eine Abszess-Bildung um die implantierte Prothese als Ursache der Sepsis.

Ein Jahr später berichteten Starr und dessen Kollegen über die ersten 16 Patienten mit Mitralklappenprothesen, von denen drei (19%) eine Protheseninfektion mit folgenschwerer Septikämie entwickelten und innerhalb der ersten 60 Tage nach Herzklappenersatz (**HKE**) verstarben (**85**, S. 298ff.).

Diese ersten Fälle einer Prothesenklappeninfektion demonstrierten bereits damals die hohe Letalität, die mit einer Infektion der implantierten Klappen verbunden ist. Doch trotz Verbesserungen in Therapie und Diagnose blieb und bleibt die PKE bis heute noch mit äußerst hohen Letalitätsraten von bis zu 60% assoziiert (**47**, S. 1302; **91**, S. 714; **94**, S. 443; **98**, S. 688) und lässt sich, wenn überhaupt, oft nur durch die mit einem erhöhten Risiko für den Patienten verbundene Entfernung des prothetischen Materials in Kombination mit einer aggressiven antibiotischen Therapie wieder zur Ausheilung bringen (**37**, S. 267ff.; **45**, S. 1106ff.). Da umliegendes, zur Annaht der Prothese benötigtes Gewebe jedoch nicht in unbegrenztem Umfang entfernt werden kann, ist der Operateur oftmals gezwungen, die neue Klappe in einen nicht vollständig keimfreien Situs zu implantieren. So kommt es zum Auftreten rekurrenter Protheseninfektionen mit hohen operativen Letalitäten von bis zu 50% (**68**, S. 84; **94**, S. 455), langen Krankenhausaufenthalten, deutlichen Nebenwirkungen der andauernden, hochdosierten

antimikrobiellen Therapie und mehrfachen herzchirurgischen Eingriffen ohne den für den Patienten zu wünschenden Erfolg. Dazu kommen erhebliche finanzielle Kosten für die Leistungsträger der Krankenversorgung.

Insofern ist es notwendig, dass sich die Wissenschaft derzeit nicht nur mit der Erforschung der Pathogenese und der Verbesserung in Diagnose und Therapie, sondern speziell mit Möglichkeiten der Prävention dieser Erkrankung auseinandersetzt.

Das Hauptaugenmerk der präventiven Prothesenklappenendokarditis-Forschung ist heute auf drei wesentliche Punkte gerichtet (s. Abbildung (**Abb.**) 1): Ein Teil der Arbeiten beschäftigt sich mit dem Aufdecken verschiedener Pathogenitätsfaktoren einzelner PKE-erzeugender Bakterienstämme (**78**, S. 542; **79**, S. 1394ff.), andere Arbeiten suchen die adäquate antibiotische Therapieform der PKE bzw. effektive, antibakteriell wirksame Substanzen (**2**, S. 2123ff.; **10**, S. 639ff.; **25**, S. 122ff.; **39**, S. 316ff.; **56**, S. 1ff.; **65**, S. 1748ff.). Ein dritter Schwerpunkt befasst sich mit der Wahl der Prothese, da Unterschiede zwischen den verschiedenen Materialsorten bezüglich des Infektionsrisikos postuliert werden (**3**, S. 359ff.; **33**, S. 130ff.; **58**, S. 321ff.; **60**, S. 1754 ff.; **63**, S. 511ff.; **88**, S. 676ff.).

Prothesenklappenendokarditis (PKE) – Ziele der Forschung

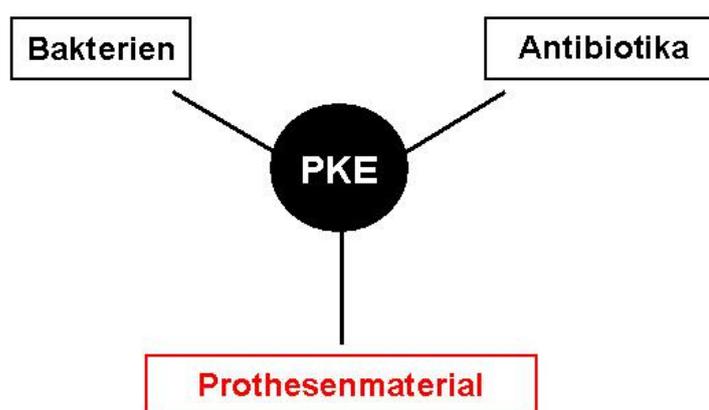


Abb. 1: Schwerpunkte in der Erforschung der Prävention einer PKE.

Die Wertigkeit der klinischen Studien zur Beantwortung der sich im Rahmen der präventiven PKE-Forschung ergebenden Fragen ist jedoch in Frage zu stellen. So ist die Erhebung von klinisch gewonnenen Daten durch die mangelnde Standardisierungsmöglichkeit der Patienten, was Eingangsvoraussetzungen des Krankheitsstatus, betroffenes Prothesenmaterial, krankheitsauslösendes Keimmaterial und auch klinischen Verlauf der PKE angeht, deutlich erschwert. Der Schweregrad der Erkrankung schließlich lässt bei den betroffenen Patienten kaum Spielraum, z. B. in der Wahl der medikamentösen Therapie oder der Art des operativen Eingriffs, zu. Die standardisierte und reproduzierbare Beantwortung von Fragen zum Thema der PKE ist somit alleine durch klinische Datengewinnung nicht möglich.

Um dieser Gesamtproblematik Rechnung zu tragen, ist die Entwicklung standardisierter Experimente zur weiteren Erforschung der PKE unverzichtbar.

Das heutige Standardmodell der infektiösen Endokarditis (**IE**) nach seinen Erstbeschreibern *Garrison* und *Freedman* (1970) (**22**, S. 394ff.) und auch andere Endokarditis-Modelle (vgl. dazu Punkt 4.1.3) sind jedoch auf die Mechanismen einer Prothesenendokarditis nur begrenzt übertragbar: Diese Modelle sind entweder In-vitro – Versuche oder nicht endovaskulär, oder aber sie erlauben nicht die Implantation von unterschiedlichen Fremdmaterialien in das Gefäßsystem, und spiegeln somit die pathophysiologische Situation der PKE ungenügend wieder.

Aus diesem Grund wurde das in vorliegender Dissertation zur Diskussion gestellte Modell zur Erforschung der PKE entwickelt. Die von Sir William Osler 1885 anlässlich seiner „Goulstonian Lectures“ vor dem Royal College of Physicians in London geschilderten Grundmechanismen in der Entstehung der IE (**67**, S. 495ff.) – Vegetationsformation durch Endothelverletzung und sekundäre mikrobielle Besiedelung – markieren dabei die wichtigsten Grundmechanismen des vorgestellten Modell – Konzeptes: Dabei sollte durch die Trias „Endothelläsion, Veränderung der hämodynamischen Eigenschaften, Fremdmaterialimplantation“ mittels einer Operation im Kaninchen, eine der im Menschen nach HKE vergleichbare Situation geschaffen werden. Da das Modell, anders als bisherige Modelle der IE, die Implantation und damit Untersuchung verschiedener Fremdmaterialien erlaubt, erschien es geeignet, einen Vergleich von Biomaterialien versus synthetischen Materialien hinsichtlich der Ausbildung einer Materialinfektion unter standardisierten, experimentellen Bedingungen herzustellen.

1.2 Fragestellung der vorliegenden Dissertation

Im Rahmen der vorliegenden Dissertation ergaben sich basierend auf den dargestellten Überlegungen zur IE/PKE folgende Fragestellungen:

1. Ist das in vorliegender Doktorarbeit entwickelte Tiermodell in der Lage, eine Prothesenendokarditis im Hinblick auf Ätiologie und Pathogenese sowie klinische Auswirkungen zu imitieren?
2. Lassen sich im Rahmen dieses Modells nach Einbringen diverser, zum HKE gebräuchlicher Materialien, Unterschiede in der Inzidenz von intrakardialen Infektionen und weiteren klinischen Zeichen einer PKE (z.B. septische Embolisationen) nachweisen? Worin sind diese Unterschiede begründet?

2. MATERIAL UND METHODIK

Es wurde ein Kaninchenmodell entwickelt, bei welchem zunächst in einem operativen Eingriff am schlagenden Herzen Prothesenmaterial im Bereich der Mitral- bzw. Trikuspidalklappe eingebracht wurde, das sekundär durch eine intravenöse Applikation von *Staphylococcus aureus* (**S. aureus**) infiziert wurde. Die Versuchstiere wurden 48 Stunden postoperativ geopfert. Es folgten morphologische Untersuchungen von Herz, Niere, Milz, Leber und Lunge sowie elektronenmikroskopische und mikrobiologische Analysen des eingebrachten prothetischen Materials. Zusätzlich erfolgte eine mikrobielle Analyse mit quantitativer Keimbestimmung in Nieren, Milz und Blut (vgl. Figur (**Fig.**) 1).

2.1 Versuchstiere

Die Tierversuche wurden von der zuständigen Tierschutzkommission (Genehmigung der Regierung von Oberbayern, Aktenzeichen 211-2531-1/01).

Bei den Versuchstieren handelte es sich um 89 weibliche Chinchilla Bastard Kaninchen (Charles River, Sulzfeld) von 2,5–3 Kilogramm (**kg**) Körpergewicht (**KG**). Die Kaninchen wurden präoperativ auf Infektionszeichen hin untersucht (Husten, gesteigerte Produktion von Bronchialsekret, Temperatur, auskultatorische Phänomene der Lunge und des Herzens), dabei wies keines der Tiere einen auffälligen klinischen Befund auf.

2.2 Bakterienstamm und Wachstumsbedingungen

Es wurde der *S. aureus* - Stamm 29123 der American Type Culture Collection (**ATCC**) verwendet.

Die Organismen wurden auf einem Columbia-Schafsblut-Agar angezüchtet und über Nacht bei einer Temperatur von 37 Grad Celsius (**°C**) bebrütet.

Nach dem Anzüchten der Kulturen wurden diese mittels einer Öse von den Agarplatten abgetragen, um sie in einem mit 0,9%iger Natriumchlorid-Lösung (**NaCl**) versehenen Reagenzglas zu suspendieren. Mittels Spektralphotometrie konnte eine Verdünnung von $2 \cdot 10^8$ colony forming units/Milliliter (**CFU/ml**) Flüssigkeit bei einer Extinktion von 0,2 bei 620 Nanometer (**nm**) hergestellt werden. Von diesem Ausgangswert aus wurde die Kulturlösung weiter mit 0,9%iger NaCl-Lösung verdünnt, um Suspensionen von $2 \cdot 10^6$ CFU/ml Flüssigkeit zu erhalten. Zur Kontrolle wurde eine Probe aus jeder Verdünnungsreihe entnommen und erneut auf Columbia-Schafsblut-Agar angezüchtet mit abschließender Quantifizierung der colony forming units (**CFU**) durch Auszählen.

Eine Lösung von $6,0 \cdot 10^6$ CFU in 5 ml NaCl 0,9% wurde den Tieren sechs Stunden postoperativ über eine Ohrvene injiziert, um eine transiente *S. aureus* – Bakteriämie zu simulieren und das zuvor implantierte Prothesenmaterial zu infizieren.

Studiendesign

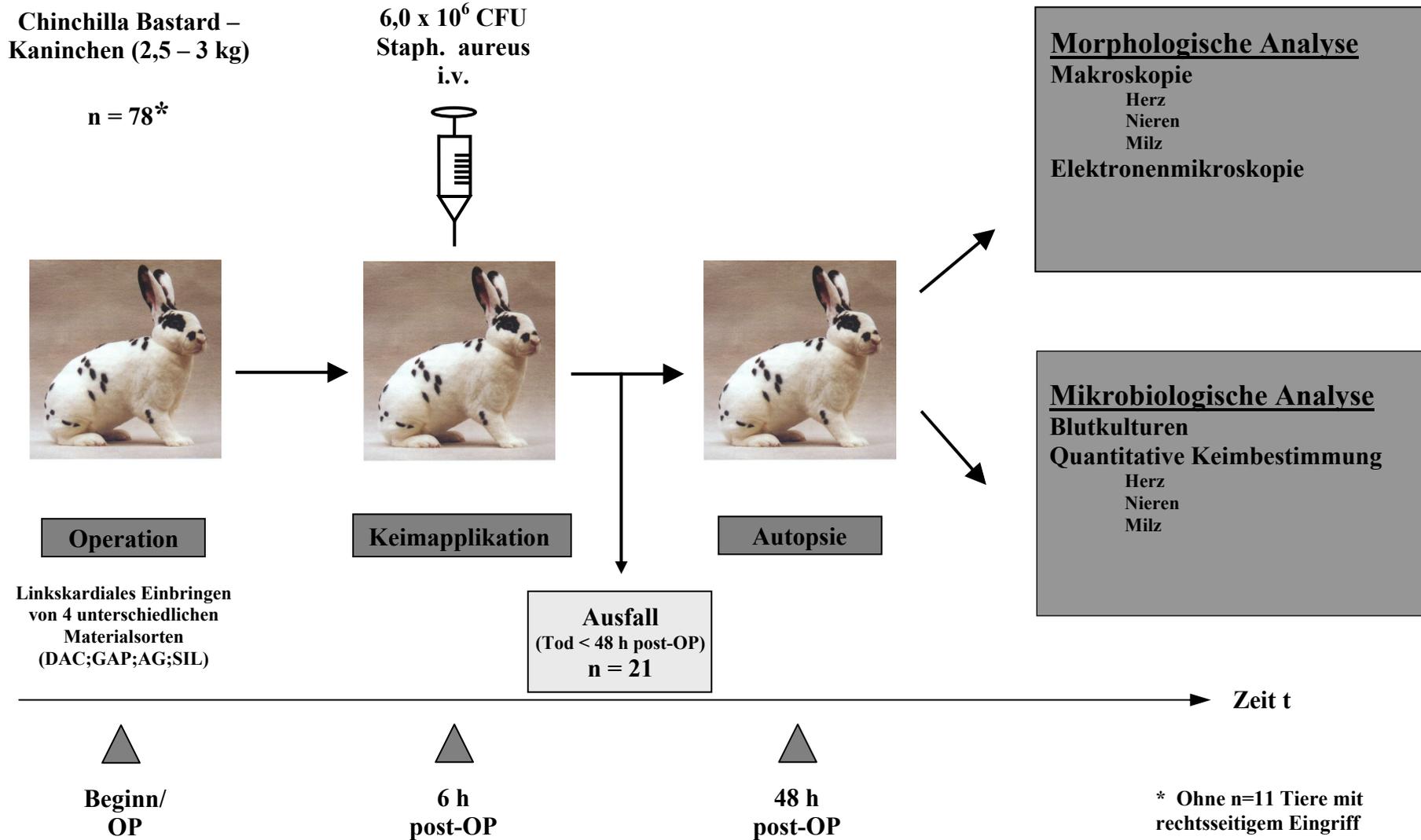


Fig. 1: Studiendesign

2.3 Verwendete Prothesenmaterialien

Es existieren grundsätzlich zwei verschiedene Prothesenkonzepte: (1) Prothesen aus künstlichem Material, sogenannte mechanische Prothesen. (2) Prothesen aus biologischem Material, die sogenannten Bioprothesen.

Die mechanischen Klappenprothesen bestehen aus pyrolytischem Kohlenstoff und unterscheiden sich hinsichtlich ihres Aufbaus in Kippscheibenprothesen mit nur einer Scheibe und Zweiflügel-Prothesen mit zwei beweglichen Halbscheiben. Ein Nahtring ist unlöslich mit diesen Prothesen verbunden (s. Abb. 2 a + b + f).

Die xenogenen, biologischen Klappen werden entweder aus nativen Klappen des Schweins oder aus dem Perikard von Rindern gefertigt. Die letzte Generation dieser Klappen wird dabei speziellen, herstellerabhängigen Konservierungsverfahren unterzogen, die eine Kalzifizierung der Klappen verhindern oder diese zumindest verzögern sollen, z. B. einer Glutaraldehyd-Fixation.

Während die „gestenteten“, biologischen Klappenprothesen aus einem Grundgerüst aus Kunststoff oder Metall bestehen, das dem biologischen Material die entscheidende Form und Festigkeit gibt, fehlt den „Stentless“-Prothesen dieses Gerüst. Sie werden in aller Regel aus Aortenklappen von Schweinen gewonnen (s. Abb. 2 c + d).

Ein weiteres Materialkonzept liefern Homo- bzw. Allografts, welche auch zu den „Bioklappen“ gezählt werden. Diese stammen von Organspendern, bei denen das Herz aufgrund von Ausschlusskriterien nicht zur Transplantation verwendet werden kann oder von Herzempfängern, deren Herz im Rahmen der Transplantation explantiert wurde (s. Abb. 2 e).

Neben der zunehmenden Verbesserung der zum Klappenaufbau verwendeten Materialien wurde in den letzten Jahren intensiv daran gearbeitet, die verwendeten Materialien weniger sensibel gegenüber bakteriellem Befall zu machen. Diese antimikrobielle Prophylaxe wird z.B. durch Silberbeschichtung (**93**, S. 554) (s. Abb. 2 g), oder durch die präoperative Beschichtung mit verschiedenen antibakteriell wirksamen Substanzen (**2**, S. 2123; **7**, S. 1432; **10**, S. 643; **23**, S. 751; **25**, S. 122; **35**, S. 413; **36**, S. 550; **52**, S. 105; **53**, S. 127; **93**, S. 553) erreicht.

Abb. 2 a + b:
Mechanische Prothesen

- a) Zweiflügelprothese
- b) Kippscheibenprothese

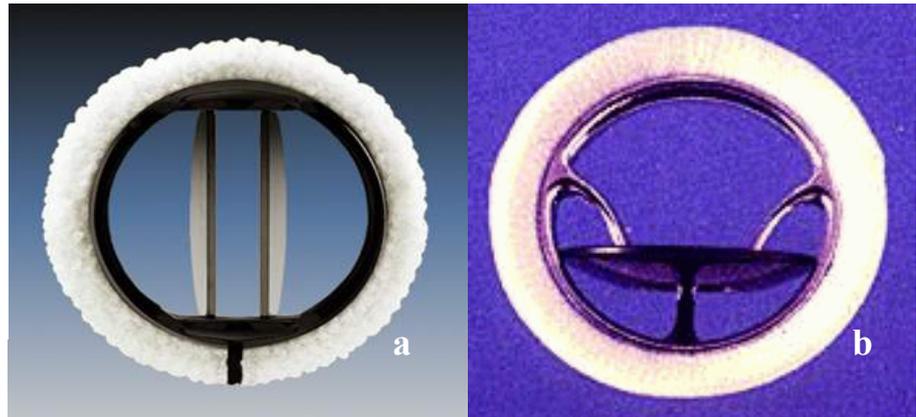


Abb. 2 c + d:
Bioprothesen

- a) gestented
- b) stentless



Abb. 2 e:
Allograft

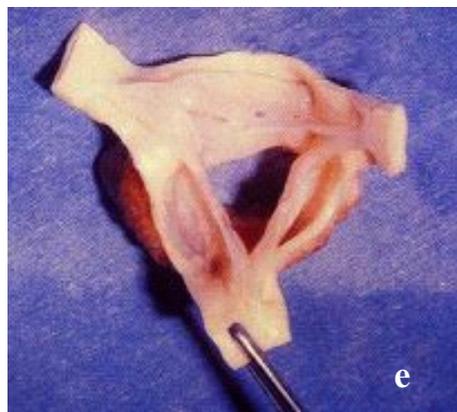
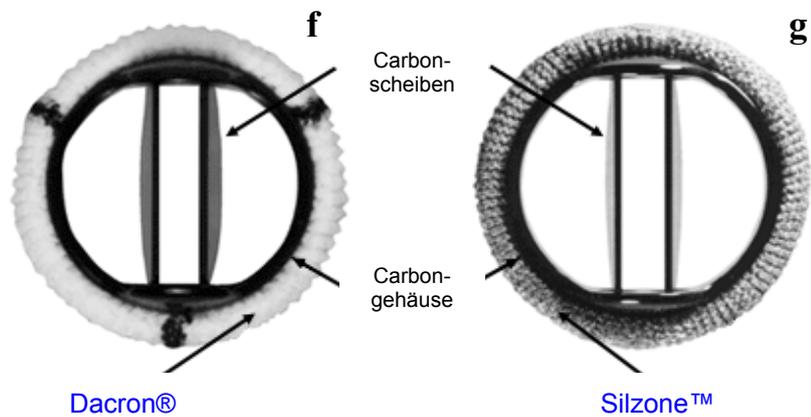


Abb. 2 f + g:
Mechanische Prothesen

- f) Dacron®
- g) SILZONE™



In vorliegendem, experimentellem In-vivo-Modell wurden drei, dem Grundgerüst von prothetischen Klappen üblicherweise zugrunde liegende Prothesenmaterialien sowie ein silberbeschichtetes Material intrakardial eingebracht und sekundär infiziert. Aus Gründen der Praktikabilität wurde nicht eine ganze Klappe sondern jeweils nur ein Flicker der den künstlichen Klappen üblicherweise zugrunde liegenden Materialien verwendet (vgl. dazu Punkt 4.2). Nach Explantation wurden die Materialien auf deren bakterielle Besiedelung und Oberflächenbeschaffenheit hin untersucht.

Zusammenfassend wurden verwendet:

- Dacron® (Polyethylen-Terephthalat) (**DAC**)
Dacron® ist ein Polymer aus Ethylenterephthalat, das durch eine Esterverbindung entsteht. Es gehört somit zur Gruppe der Polyester. Dacron® ist auch bekannt unter dem Namen Trevira oder Diolen. Dieser Kunststoff zeichnet sich durch einen hohen Schmelzpunkt (250-255°C) und eine sehr geringe Wasseraufnahme aus. Dacron® ist in der klinischen Anwendung Standardmaterial für den Klappenring mechanischer und auch gestenteter biologischer Prothesen. Es wird geflochten, geknüpft oder in Veloursform verwendet. Es wurde im vorliegenden Modell als Vertreter eines synthetischen Materials verwendet.
- Glutaraldehydfixiertes autologes Perikard (**GAP**)
Stellvertretend für ein rein biologisches Klappenmaterial wurde glutaraldehydfixiertes autologes Perikard verwendet. Dazu wurde intraoperativ bei den entsprechenden Tieren ein Stück Perikard entnommen und für fünf Minuten in 0,6%iger Glutaraldehyd-Lösung inkubiert. Nach dieser Fixation wurde das autologe Material fünf Minuten lang in isotoner Kochsalzlösung gewaschen, bevor es intrakardial implantiert wurde.
- Kryopräserviertes Allograft (**AG**)
Repräsentativ für allogenes Klappenmaterial diente das Aortengewebe eines Donor-Kaninchens, welches direkt nach seiner Entnahme zunächst entsprechend den geplanten Versuchen aufgeteilt und dann einer Standard-Prozedur der Kryopräservierung unterzogen wurde: Über Nacht wurden die einzelnen Gewebe in einer Sterilisations-Lösung (vgl. Abb. 3) inkubiert, bevor im nächsten Schritt die Fixation in einer Flüssigkeit aus Medium 199 Earle, Dimethylsulfoxid (**DMSO**) (10%) und Humanalbumin (20%) erfolgte. Schließlich wurden die einzelnen Allograft-Flicker kontinuierlich (1°C/min) mit Hilfe eines programmierbaren Kryokonservierungssystems auf -180°C gekühlt und in flüssigem Stickstoff gelagert. Vor Implantation wurde jeweils ein Allografflicker unter Schütteln aufgetaut (vgl. Abb.

8) und das DMSO-haltige Einfriermedium wurde stufenweise durch Medium 199 Earle (4°C) ersetzt.

- Silzone™ (SIL)

Neben diesen „klassischen“ Materialien wurde ein weiteres Material implantiert, das durch Silberbeschichtung potentiell antimikrobiell wirken und somit dem Entstehen einer PKE vorbeugen soll (**93**, S. 553).

Dieses, im Wesentlichen dem Dacron® ähnlichen Material, besteht aus einem Polyester-Fabrikat, welches durch ein spezielles Verfahren mit Silber beschichtet wird (**40**, S. 525; **92**, S. M476, **93**, S. 554).

Allograft-Sterilisationslösung

Cefazolin-Natrium	80 mg
Piperacillin	2 g
Polymyxin-B-Sulfat	100 mg
Sulbactam-Natrium	548 mg
Neomycinsulfat	200 mg
Humanalbumin Kabi 20% Charge: 20341A51	10 ml
Medium 199 Earle's mit HEPES	ad 200 ml

Kühl zu lagern (+2° bis +8°C)

Abb. 3: Sterilisationslösung für Allograft-Material

2.4 Operationstechnik

2.4.1 Anästhesie

Zur Vorbereitung der Narkose wurden die Ohrvenen auf beiden Seiten kanüliert. Nachfolgende Eingriffe wurden in tiefer Allgemeinnarkose vorgenommen. Die Anästhesie wurde intravenös mit einer Kombination aus 5 mg pro kg KG S-Ketaminhydrochlorid (*S-Ketaneft*) und 0,15 mg pro kg KG Medetomidinhydrochlorid (*Domitor*) durchgeführt.

2.4.2 Überwachung der Kreislaufparameter und Hämostasiologie

Kontinuierliche Überwachung von Rhythmus, Herzfrequenz, Temperatur und mittlerem arteriellen Blutdruck erfolgte standardisiert wie bei jeglicher herzchirurgischer Intervention. Dazu wurden vor Beginn des Eingriffs EKG-Elektroden an den Extremitäten sowie eine anale Temperatursonde platziert.

Die Applikation von Pharmaka und Substitution von Elektrolyten erfolgte über die Ohrvenen. Die Messung des mittleren arteriellen Druckes sowie die Entnahme arterieller Blutproben (alle 15 Minuten (**min.**)), aus denen pH, pCO₂, HCO₃⁻, Basenüberschuss, pO₂, O₂-Sättigung, Hämoglobin, Hämatokrit, Kalium, Natrium und Calcium bestimmt werden konnten, um durch Anpassung der Beatmungsparameter und adäquate Elektrolyt-Substitution physiologische Blutgase, einen normalen Säure-Basen-Status und die Elektrolyt-Homöostase gewährleisten zu können, erfolgte über die Ohrarterie, die unmittelbar nach Einleitung der Narkose mit einem Verweilkatheter versehen wurde.

2.4.3 Operationsverlauf

Zunächst erfolgte bei 11 Versuchstieren die rechtskardiale Implantation von Prothesenmaterial. Im Verlauf zeigte sich, dass in dieser Versuchsanordnung das Induzieren einer PKE nicht möglich war. Aus diesem Grund erfolgte die Umstellung des Operationsverfahrens auf die linke Herzseite bei 78 Versuchstieren.

Im Folgenden wird nur der Ablauf des linksseitigen Eingriffs beschrieben, wobei der rechtsseitige Eingriff in analoger Technik erfolgte.

Die Operation wurde unter strikt sterilen Bedingungen durchgeführt. Vor dem Hautschnitt wurden die Tiere intubiert und mechanisch mit einem Sauerstoff-/Druckluftgemisch (FiO₂ 0,6) beatmet. Die Beatmungsfrequenz wurde auf 35 Atemzüge/Minute festgesetzt bei einem Atemminutenvolumen von 1,7 Liter/min.

Das Interventionsareal wurde rasiert und mit Povidon-Iod (Betaisadona) gewaschen. Dann erfolgte die Eröffnung des Situs über eine linkslaterale Thorakotomie im dritten Interkostalraum. Die Lunge wurde vorsichtig aus dem Operationsfeld gedrängt, und auf diese Weise die linke Herzseite exponiert.

Bei der GAP-Gruppe (n=14) wurde das Perikard unter Schonung des *Nervus phrenicus* gespalten und ein Teil mittels einer Prolene 5-0-Naht gesammelt, um einen entsprechenden ca. 2 mm durchmessenden Flicker zu erlangen. In den DAC- (n=14), AG- (n=15) und SilzoneTM-Gruppen (n=14) wurde das Perikard nur eröffnet und ein 2 mm durchmessender Flicker aus dem jeweiligen Material (DAC, AG oder SIL) an einem Prolene 5-0 - Faden befestigt.

Nachdem der linke Vorhof mit einer Tabaksbeutelnaht (Prolene 6-0) versehen, und das Anbringen von zwei sich gegenüberliegenden Allis-Klemmen außerhalb dieser Naht erfolgt war, wurde im Zentrum dieser Naht mit einer Stichinzision der linke Vorhof eröffnet (vgl. Fig. 2 a und Abb. 4 a). Die Öffnung wurde von der chirurgischen Assistenz sofort durch das Zusammenführen der beiden Allis-Klemmen verschlossen, während man die Tabaksbeutelnaht noch offen beließ, um das nun folgende Einbringen der Prothesenmaterialien zu gewährleisten, ohne einen zu großen Blutverlust in Kauf nehmen zu müssen.

Innerhalb dieser Tabaksbeutelnaht wurde nun, unter kurzem Öffnen der Allis-Klemmen, mit einer Nadel, an deren Faden das zuvor präparierte Patchmaterial fixiert war, in den Vorhof eingestochen: Dabei wurde die Nadel in einer einzigen Bewegungsführung durch den Vorhof und (knapp unterhalb der Einstichstelle) aus dem linken Ventrikel wieder herausgeführt (vgl. Fig. 2 d). Mit diesem Manöver wurde das anteriore Mitralklappensegel perforiert (vgl. Fig. 2 b + c und Abb. 4 b). Die durch die Stichinzision geschaffene Öffnung am Vorhof wurde sofort nach Beendigung der Stichführung erneut mit Hilfe der Allis-Klemmen verschlossen. Während des Manövers wurde auf die Lage der Koronargefäße geachtet, um diese nicht zu beschädigen.

Nun wurde das atriale Ende des Fadens gekappt und durch das Anziehen des Fadenendes auf der ventrikulären Seite konnte der an den Faden geknotete Patch durch die von der chirurgischen Assistenz kurzzeitig gewährte Vorhof-Öffnung schlüpfen und sich nach Passage des linken Atriums im Klappengewebe verfangen (vgl. Fig. 2 c).

Der durch Verknotung des ventrikulären Nahtendes an der ventrikulären Mykardoberfläche (vgl. Abb. 4 c) in dieser Position fixierte Flicker sollte eine leichte Mitralinsuffizienz erzeugen. Diese Mitralinsuffizienz wurde mittels eines über die atriale Öffnung eingeführten Katheterspitzen-Manometer quantitativ bestimmt und dokumentiert: Dabei konnte man die Insuffizienz über eine Vergrößerung der *v-Welle* in der Vorhofkurve während der Messung erkennen. Die erste Messung erfolgte vor der Verknotung des Fadens am Ventrikel, die zweite wurde nach dessen Fixation durchgeführt (vgl. Fig. 3). Bei einer Zunahme der *v-Welle* über das Niveau der *a-Welle* wurde von einer Insuffizienz ausgegangen. Die Insuffizienzgrade waren in den verschiedenen Gruppen vergleichbar und sind exemplarisch in Figur 3 dargestellt.

Anschließend wurde die Tabaksbeutelnaht verschlossen, die Allis-Klemmen wurden entfernt und es folgte eine kurze PEEP-Beatmung, um kollabierte Lungenanteile wieder zu belüften. Der Thoraxverschluss mit 4-0 Ethibondnähten, die Muskelnäht, Subkutannähte und die Hautnaht mittels Vicryl beendeten die Operation.

2.4.4 Postoperative Behandlung

Postoperative Analgesie wurde erzielt durch Substitution von 0,0375 mg Piritramid (*Dipidolor*) pro kg KG intramuskulär (**i.m.**) alle fünf Stunden. Die Tiere wurden sorgfältig auf Infektionszeichen und Komplikationen hin überwacht. Die Venenverweilkatheter wurden nach intravenöser Verabreichung des *S. aureus* entfernt, die weitere Medikamentensubstitution erfolgte **i.m.** Die folgende medizinische Überwachung erfolgte anhand klinischer Befunde. Besondere Beachtung fand der auskultatorische Befund von Herz und Respirationstrakt. Allgemeinzustand und neurologisches Erscheinungsbild sowie die Ausscheidungsfunktion wurden ebenfalls regelmäßig überwacht.

2.5 Induktion der Protheseninfektion

Sechs Stunden postoperativ wurden die Tiere mit einem Aliquot von 6×10^6 CFU des *S. aureus* - Stammes ATCC 29213, gelöst in einer 0,9%igen NaCl-Lösung, über die Ohrvene beimpft.

2.6 Autopsie

48 Stunden nach Injektion der Bakterien wurden die Kaninchen durch eine schnelle intravenöse Injektion von 100 mg Disoprivan (*Propofol*) und 40 mval Kaliumchlorid geopfert.

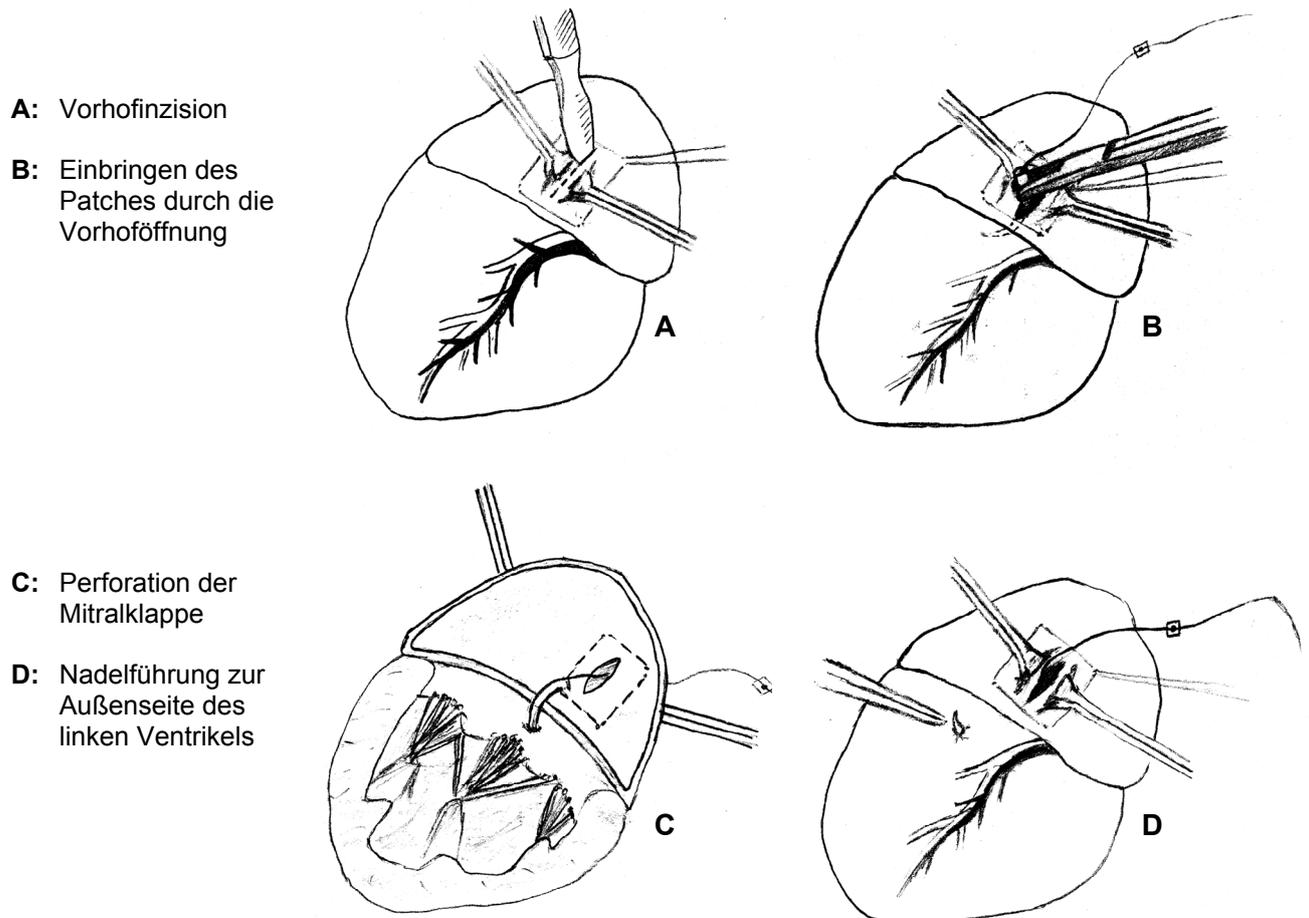


Fig. 2: Schematische Darstellung der Operationstechnik:
A + B + D: Blick auf den Operationssitus linkskardial mit Vorhof und Kammer.
C: Innenansicht mit Perforation der Mitralklappe.

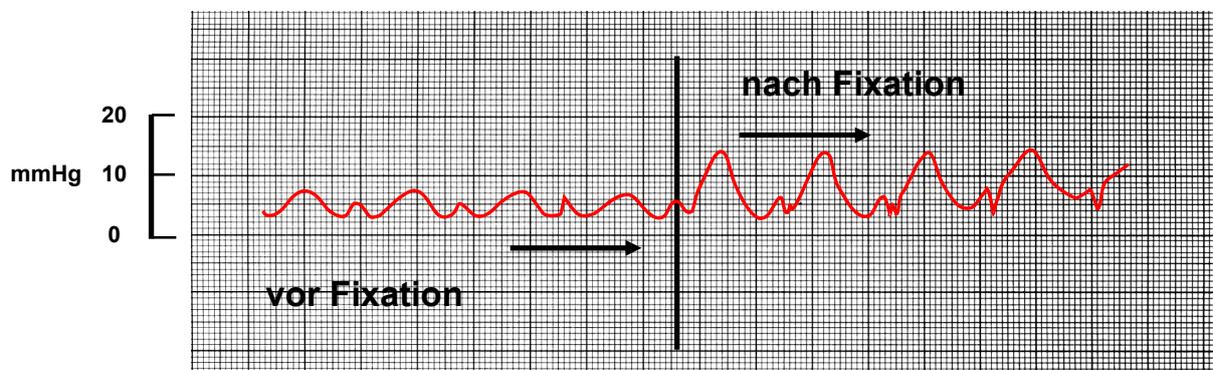


Fig. 3: Messung der Mitralsuffizienz mittels Manometrie. Messung der v- und a-Welle vor und nach Fixation. Nach Fixation deutliche Zunahme der v-Welle.

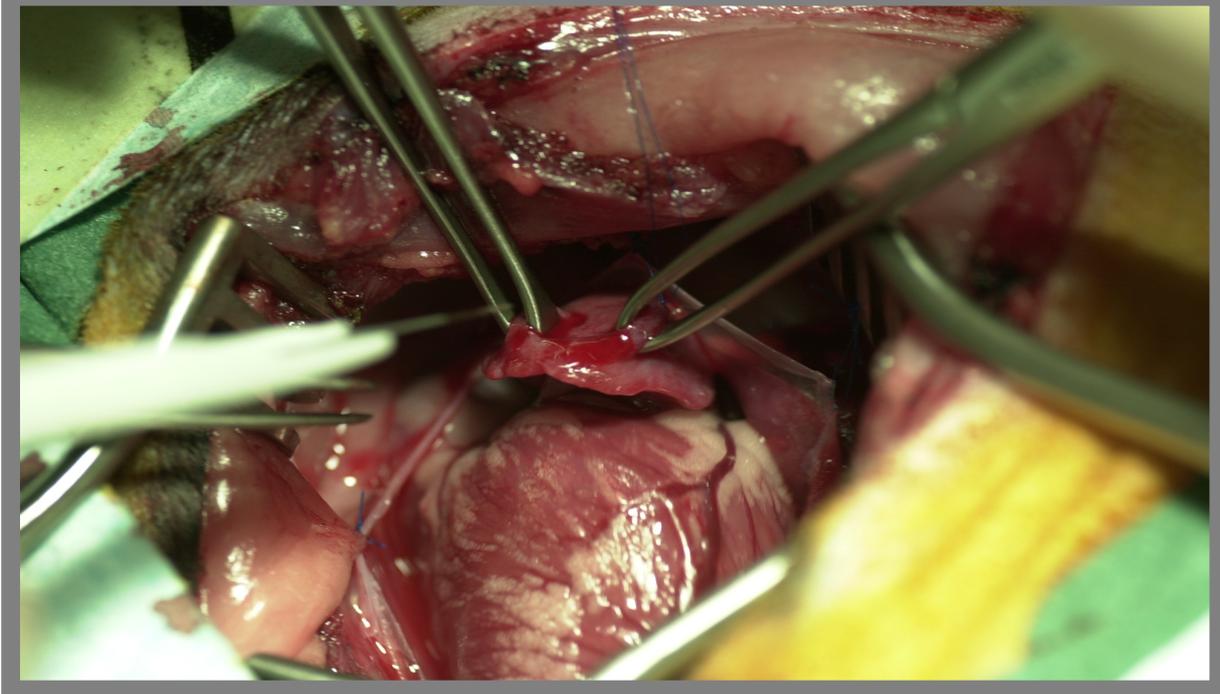


Abb. 4 a: Stichinzision in den linken Vorhof nach dem Setzen einer Tabaksbeutelnaht.

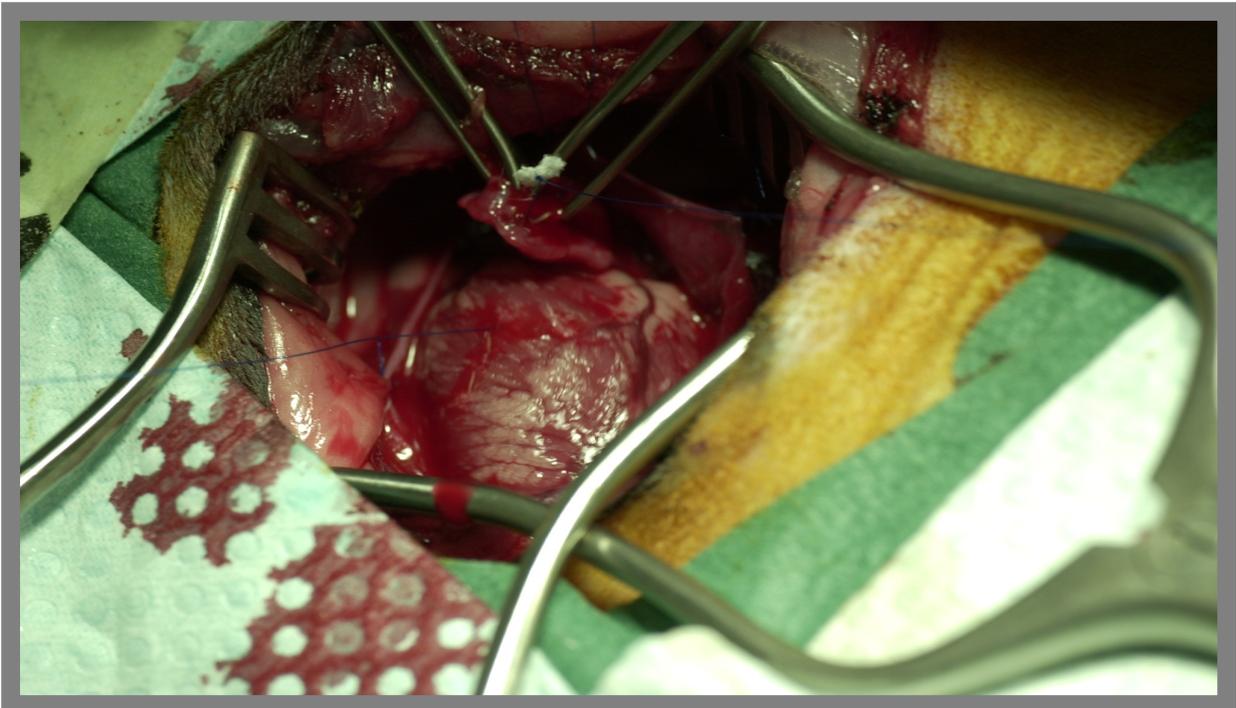


Abb. 4 b: Nach der Durchführung der Stichbewegung durch die inzisierte Öffnung des linken Vorhofs, durch die Klappe (nicht dargestellt) und wieder zur Außenseite des ventrikulären Myokards, folgt das am Faden befestigte Patchmaterial dem Stichverlauf.

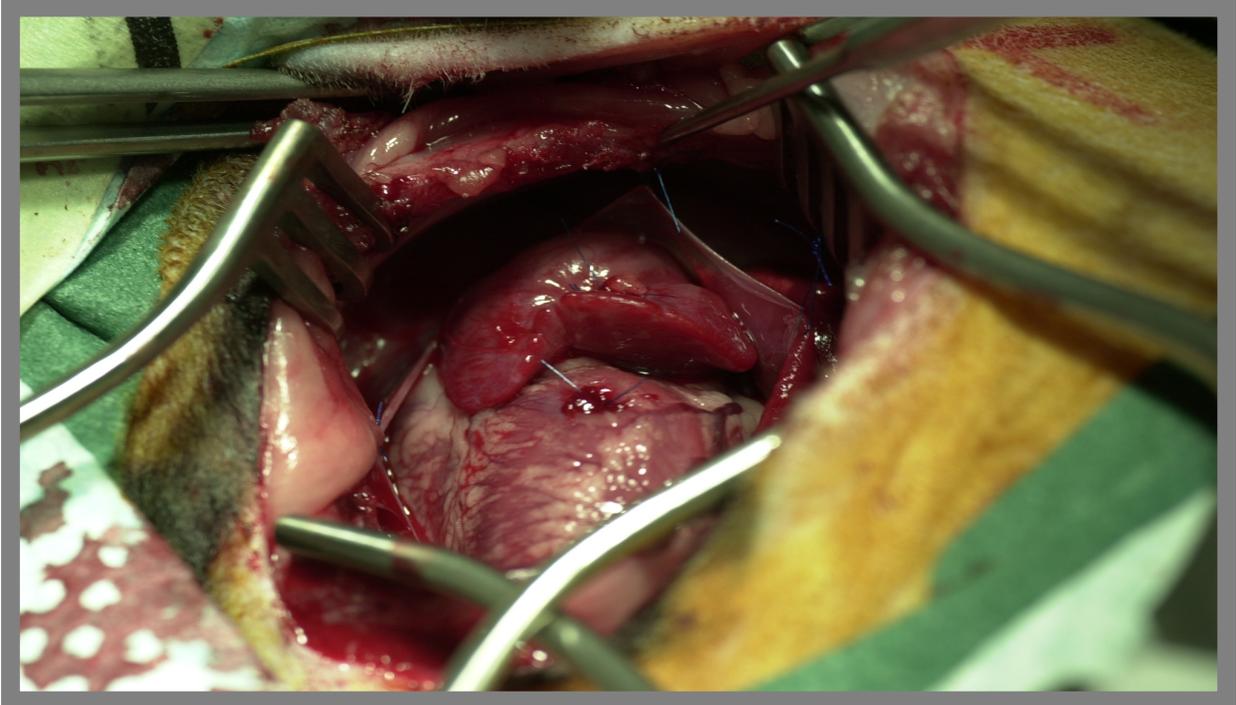


Abb. 4 c: Verschluss der Tabaksbeutelnaht und Fixation des Fadens am ventrikulären Epikard.

2.7 Postmortale Untersuchungen

2.7.1 Morphologische Begutachtung

2.7.1.1 Makroskopische Analyse

Nach der Gewinnung von anaeroben und aeroben Blutkulturen erfolgte die sterile Entnahme des Herzens, der Nieren und der Milz zur makroskopischen Beurteilung und weiteren Analyse.

Herz

Zunächst wurden durch Sektion alle vier Herzkammern eröffnet und beurteilt. Dabei wurde die Schnittführung so gewählt, dass sowohl linke als auch rechte Herzseite eröffnet wurden und somit neben einer Beurteilung des Patchmaterials und der begleitenden Vegetationen linksseitig auch die Bewertung der rechten Herzseite möglich war. Makroskopisch sichtbare Vegetationen im Bereich des Prothesenmaterials wurden dokumentiert. Alle vier Herzklappen und sowohl rechte als auch linke Herzsinnenwand wurde nach deren Eröffnen auf Entzündungszeichen wie z. B. Rötung, Vegetationen und Gefäßeinsprossung hin untersucht.

Milz

Nach Entnahme der Milz und deren Beurteilung auf embolische Ereignisse und Entzündungszeichen hin (makroskopische Vergrößerung der weißen Milzpulpa im Schnittpräparat), wurde die Milz steril gewogen, um eine Splenomegalie zu objektivieren. Danach wurde die Milz der weiteren mikrobiologischen Testung zugeführt.

Niere

Die Nieren wurden entnommen und auf septisch-embolische Infarktzeichen (trapez- oder keilförmige Infarktzone, lehmigelbe Areale mit hämorrhagischer Randzone) hin untersucht. Des Weiteren wurde eine medulläre oder kortikale Abszessbildung beurteilt. Auch die Nieren wurden steril gewogen, um später den Keimnachweis in Relation zum renalen Gesamtgewicht setzen zu können.

2.7.1.2 Mikroskopische Analyse

Zusätzlich zur makroskopischen Beurteilung wurden von jeweils einem Versuchstier repräsentative kardiale Proben der vier Materialgruppen (DAC, GAP, AG, SIL) zur elektronenmikroskopischen Untersuchung entnommen. Die Bildgebung sollte einen möglichen Unterschied der Keimbesiedelung der verschiedenen Materialien aufgrund von Unterschieden in der Oberflächenbeschaffenheit aufdecken. Eine quantitative Aussage zur Keimbesiedelung der Materialien wurde mittels Elektronenmikroskopie nicht angestrebt.

Es wurden die Klappensegel einschließlich des Implantates und möglicher umgebender Vegetationen mit einer sterilen Pinzette möglichst im Ganzen entnommen und für die weitere elektronenmikroskopische Untersuchung vorbereitet. Zum Vergleich dienten native, zuvor nicht implantierte Materialien.

Die Gewebe wurden zunächst über Nacht fixiert in einer 3,5%igen Glutaraldehyd-Lösung. Am nächsten Tag wurden die Präparate in einer Phosphatpufferlösung (Sörensen-Lösung: s. Abb. 6) gewaschen, danach in OsmiumO₄ gebadet und schließlich nochmals in Phosphatpuffer nach Sörensen gespült. Nach dieser Behandlung erfolgte die Dehydratation der Substanzen mittels einer aufsteigenden Alkoholreihe, in einer 70%igen Ethanolösung wurden die Präparate über Nacht belassen.

Am folgenden Tag folgte die weitere Trocknung durch critical point drying mit CO₂ und das Bedampfen und Besputtern mit Goldstaub. Dieser Vorgang bildete den Abschluss der Vorbereitungen für die anschließende elektronenmikroskopische Auswertung bei 10 Kilovolt (**kV**) (s. Abb. 7).

Im Rasterelektronenmikroskop erfolgte die histologische Untersuchung der Materialien. Das Grundprinzip der Rasterelektronenmikroskopie ist in Fig. 4 wiedergegeben.

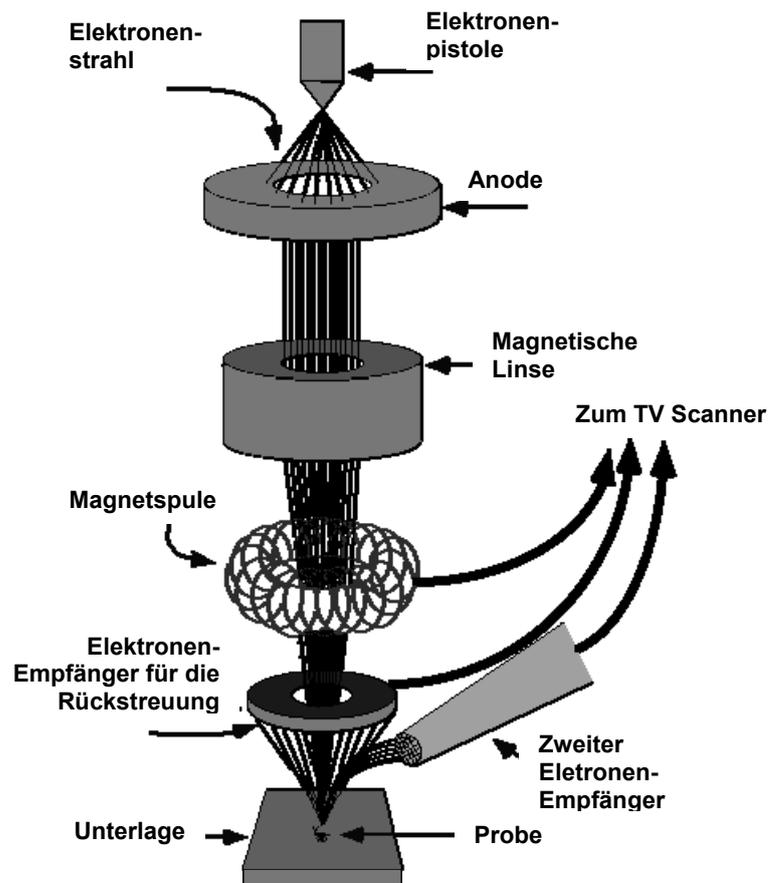


Fig. 4: Schematische Innenansicht eines Elektronenmikroskops (entnommen von Laurencin, C.T., Tissue Engineering).

<http://www.gatewaycoalition.org/files/GGTSPU-hydra3.fw.med.uni-muenchen.de-11923-1150376-DAT/TissueEngineeringcoursewriteup.doc>

2.7.2 Mikrobiologischer Infektionsnachweis

2.7.2.1 Blutkulturen

Nach Opferung und Eröffnung des Thorax über die entsprechenden Hautareale wurden vor Organentnahme bei allen Tieren zunächst sterile Blutkulturen aus dem Apex des linken Ventrikels entnommen. Diese Blutkulturen wurden sofort nach Entnahme für sieben Tage bei 37°C in Fertigmedien inkubiert, um damit anaeroben und aeroben Erregerbefall nachweisen zu können.

2.7.2.2 Organproben

Die Patches (s. Abb. 5), und jeweils gesondert davon, Nieren und Milz wurden entnommen, gewogen und in einem Untersuchungsröhrchen mit 5 ml steriler 0,9%iger Kochsalzlösung mechanisch homogenisiert. Nach entsprechender Verdünnung (1:10¹ bis 1:10⁷) mit steriler 0,9%iger NaCl-Lösung wurde das Homogenisat auf Columbia Schafsblut-Agarplatten (14, S. 502ff.) aufgetragen. Als Kontrollmedium diente das BBL™

Enriched Thioglycollat-Medium, in das jeweils Teile des Homogenisats gegeben und das bei 37°C bebrütet wurde.

Das mikrobielle Wachstum wurde durch Auszählen der Kolonien (CFU) auf den inkubierten Columbia Agarplatten quantifiziert. Um das unterschiedliche Gewicht der untersuchten Proben zu berücksichtigen, erfolgte die Berechnung der CFU pro Milligramm (**mg**) Probengewicht (**CFU/mg**).

Konnte sowohl in den Kulturen als auch in den Kontrollen der homogenisierten Materialien nach 4 Tagen Bebrütung bei 37°C kein Wachstum festgestellt werden, wurde das Gewebe als steril betrachtet.

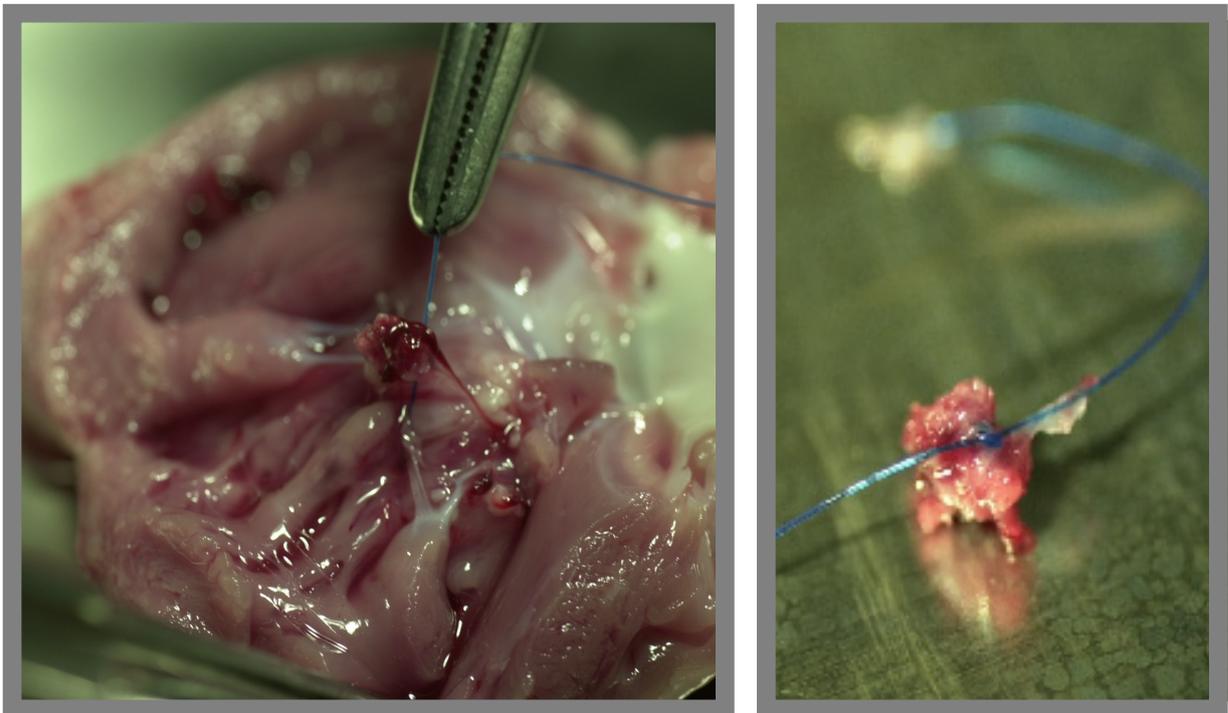


Abb. 5: Nach Eröffnen des linken Ventrikels wird das Patchmaterial im Ganzen entnommen.

2.8 Statistische Grundlagen

Die Auswahl des zu implantierenden Patchmaterials erfolgte vor der Operation per Losverfahren.

Sämtliche Messdaten in dieser Arbeit sind als Mittelwert \pm Standardabweichung/ Standard Deviation (**SD**) sowie stellenweise als Median angegeben. Die statistischen Auswertungen der mikrobiologischen Ergebnisse sind mit dem Mann-Whitney-U-Test für unverbundene Stichproben vorgenommen worden. Alle deskriptiven Parameter wurden mit Hilfe von Kontingenztabellen beschrieben und mit dem Fisher's exact test analysiert. Ein p-Wert $< 0,05$ wurde als signifikant gewertet.

Phosphatpuffer nach Sörensen:

Stammlösung A: 0,1 M Kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4),
13,61 mg in 1000 ml Aqua dest.

Stammlösung B: 0,1 M Natriumhydrogenphosphat (Na_2HPO_4) x 2 H_2O ,
17,79 mg in 1000 ml Aqua dest.

Phosphatpuffer: 160 A + 840 B

50 ml Pufferlösung: 7 ml Glutaraldehyd 25% + 43 ml Phosphatpuffer

Präparation für Mikroskopische Auswertung**Tag 1: Entwässerung**

- I. Spülen in Phosphatpuffer nach Sörensen:
6 x 5 min
- II. Osmium O_4 1%:
120 min
- III. Spülen in Phosphatpuffer nach Sörensen:
6 x 5 min
- IV. Alkoholreihe in Ethanol:
 - A) 30% · Aufschütten 1 min
 - Aufschütten 20 min + Luftkühlung bei 4°C
 - Aufschütten 20 min + Luftkühlung bei 4°C
 - B) 50% · Aufschütten 1 min
 - Aufschütten 20 min + Luftkühlung bei 4°C
 - Aufschütten 20 min + Luftkühlung bei 4°C
 - C) 70% · Aufschütten 1 min
 - Aufschütten über Nacht + Luftkühlung bei 4°C

Tag 2: Präparation für das Mikroskop

Critical Point drying: 10 mal
Bedampfen und Bespatern mit Goldstaub

Abb. 6 und 7: Phosphatpuffer und Präparation für die elektronenmikroskopische Auswertung

Präparation für das Auftauen und Spülen der kryopräservierten Allografts**Zubehör:**

2 Edelstahlschalen
1 Messbecher
1 Spritze 50 ml

Auftaulösung kalt:

Medium 199 mit HANK's Salzen	950 ml
Humanalbumin 20%	10 g
HEPES (Mw 238,3)	6 g

2 x 500 ml in Infusionsflasche

Auftauvorgang:

Inhalt der Flasche mit Auftaulösung in Schale 1

33 ml mit Spritze aus Schale 1 in Schale 2

67 ml aus Schale 1 in Spritze aufziehen

Messbecher mit 200 ml aus Schale 1 füllen

Beutel mit Allograft öffnen und Inhalt in Schale 2

(Verdünnung: 100 ml 10% + 33 ml = 133 ml 7,5%)

Nach 1 min 67 ml aus Spritze zugeben, rühren

(Verdünnung 133 ml 7,5% + 67 ml = 200 ml 5%)

Nach 1 min 200 ml aus Messbecher zugeben, rühren

(Verdünnung 200 ml 5% + 200 ml = 400 ml 2,5%)

Nach 1 min Allograft in Schale 1 geben

Abb. 8: Auftauvorgang des Allograft-Materials

2.9 Apparaturen und Materialien

2.9.1 Verwendetes OP-Instrumentarium

- OP-Instrumentarium von Aesculap AG und Co. KG D-12359 Berlin
- Skalpell „Feather disposable“ Scalpel No. 11, Produkte für die Medizin AG D-50996 Köln
- Tupfer „Raucotupf-Tupimed“, Größe 2 und 3, Rauscher, A-1141 Wien
- Handschuhe, steril „Sempermed“, Semperit technische Produkte GmbH und Co. KG, A-1031 Wien
- Nahtmaterial „Prolene“, „Vicryl“, „Ethibond“, Ethicon, D-22851 Norderstedt
- Endotrachealtubus Typ VYCON, Ref. 520.25 A, Durchmesser 2,5 – 3,0 mm
- Sterile Abdecktücher „Secu-Drape“, Ref. 507592, 75 x 90 cm, Sengewald Klinikprodukte GmbH, D-83101 Rohrdorf-Thansau
- Sterile Lochtücher „Secu-Drape“, Ref. 517590, 75 x 90 cm, Sengewald Klinikprodukte GmbH, D-83101 Rohrdorf-Thansau

2.9.2 Verwendete Apparaturen

- Messtechnik:
 Modifizierte Siemens-Überwachungseinheit, Siemens D-91056 Erlangen mit folgenden Modulen:
 - 4 Kanal Oszilloskop E 2056
 - EKG/Pulsfrequenzmesser E 2031(modifiziert)
 - Ableitungswähler E 2075
 - Elektromanometer E 2044
 - Temperaturmesser E 2032 (modifiziert)
 Verwendetes Zubehör für Messeinheit:
 - EKG-Kabel Siemens
 - Extremitäten-Elektroden, Blue Sensor NF-10-A
 - Druckwandler, Gould-Statham P23 ID, USA
 - Millar-Transducer Controll Unit Modell TC-510, Millar instruments inc., Houston Texas, USA
 - Millar-Mikro-tip Catheter Transducer Modell SPR-524, Millar instruments Inc., Houston Texas, USA
 - Thermisto-Temperaturfühler, Ellab A/S Ref. 9230-20
 Registrierung:
 - Digitaler Achtkanal-Universalschreiber, Fa. Schwarzer, Uniscript, UD2108
- OP-Tisch, Maquet D-76437 Rastatt
- Servoventilator 900, Dräger Medical AG & Co. KGaA. D-01029 Bremen

- Elektronenmikroskop „JSM-35CF“, Tokyo, Japan
- Critical point drying „CPD 020“, Balzers Union, Fürstentum Liechtenstein
- Zweistrahlphotometer, LKB Biochron Ltd., Uppsala, Schweden
- Kryokonservierungssystem „Ice Cuber 1810“, Fa. Sylab, Puschersdorf, Austria
- Kaffeemaschine Philips

2.9.3 Verwendete Pharmaka

- Ketanest S 25 mg/ml (2ml) Injektionslösung, Parke Davis GmbH, D-10562 Berlin
- Domitor (Medetomidinhydrochlorid) Injektionslösung für Tiere, Pfizer GmbH, D-76139 Karlsruhe
- HES 6% 250 ml „Volvulen (130/0.4)“, Fresenius Kabi Deutschland GmbH, D-61346 Bad Homburg
- Dipidolor (Piritramid) 2 ml Injektionslösung, Janssen Cilag GmbH, D-41457 Neuss
- Disoprivan (Propofol) „Propofol®-Lipuro 1%“, B. Braun Melsungen AG, D-34209 Melsungen
- Isotone Kochsalzlosung „NaCl 0,9% Braun“, B. Braun Melsungen AG, D-34209 Melsungen
- Povidon-Iod (Betaisadona), Mundipharma GmbH, D-65533 Limburg (Lahn)
- Kaffee „Dallmayr Prodomo“, Dallmayr, München

2.9.4 Verwendete Reagenzien und Materialien

- Sörensen-Lösung (s. Abb. 9)
Auftaulösung für kryopräservierte Allografts (s. Abb. 6)
- BBL™ Enriched Thioglycollat-Medium, Krackeler Scientific Inc., USA
- Blutkulturflaschen „Bactec plus+“ Aerobic/F und Anaerobic/F, Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD 21152
- Silzone™, Polyethylen Terephthalat Polyester, Meadox™ double-knit Velour, Meadox Medicals™, Inc., Oakland, NJ/PTFE, präpariert mittels IBAD Spire Argent™ Prozess
- Dacron®, Polyethylen Terephthalat Polyester, Meadox™ double-knit Velour, Meadox Medicals™, Inc., Oakland

3. ERGEBNISSE

Insgesamt wurden 89 Kaninchen operiert, davon 11 Tiere rechtskardial, 78 Tiere linkskardial.

Aufgrund der günstigeren hämodynamischen Bedingungen der rechten Herzseite (niedrigere Druckverhältnisse, geringerer zu erwartender Blutverlust) erfolgte die Operation zunächst rechtsseitig (n=11). Drei Tiere verstarben bereits intraoperativ, ein Tier postoperativ. Bei den verwertbaren sieben Versuchen gelang es nicht, eine Infektion der implantierten Materialien hervorzurufen. Aus diesem Grund erfolgte die Umstellung der Versuche auf die linke Herzseite.

Im Folgenden werden nur die Ergebnisse der linksseitig durchgeführten Operation (**OP**) dargestellt.

3.1 Ergebnisse zum Tiermodell

3.1.1 Letalität

Von den 78 linkskardial operierten Kaninchen verstarben acht Tiere (10,3%) perioperativ. Bei einem Tier war die Todesursache nicht exakt nachvollziehbar, es erlitt kurz nach der Narkoseeinleitung eine Dezerebrationsstarre und wurde daraufhin noch vor der geplanten Operation extubiert und eingeschläfert.

Dreizehn der 70 übrigen Kaninchen (16,7%) verstarben innerhalb der ersten 48 Stunden der postoperativen Phase noch vor dem Zeitpunkt der Explantation, dabei waren keine Unterschiede bezüglich der Verteilung hinsichtlich der zuvor implantierten Materialien festzustellen. Bei den meisten Tieren war die exakte Todesursache nicht ermittelbar, da diese Tiere von der weiteren Auswertung ausgeschlossen wurden, wurde auf eine Autopsie verzichtet.

Die Gesamtmortalität betrug also 27,0%, mit zunehmender Operationserfahrung konnte eine Abnahme der OP-Letalität, nicht aber der postoperativen Letalität verzeichnet werden.

Bei 57 Versuchstieren (73,0%) konnte das gesamte Versuchsprotokoll durchgeführt werden.

3.1.2 Operationsdauer

Im Mittel betrug die Operationsdauer von Narkoseeinleitung bis Hautnaht 86,6 Minuten (SD 24,3 min./Median 80,0 min.). Mit zunehmender Erfahrung konnte die OP-Dauer deutlich reduziert werden, die kürzeste Dauer betrug dabei 53 Minuten, die längste OP war mit 140 Minuten zu verzeichnen. Die Explantation des Patchmaterials und der weiteren untersuchten Organe, welche ebenso in steriler Technik durchgeführt wurde, dauerte im Mittel 30 Minuten.

3.1.3 Postoperative Versuchsauswertung

3.1.3.1 Herzgewebe

3.1.3.1.1 Erzeugen einer experimentellen Endokarditis - Infektionsrate

Ein mikrobiologisch positiver Keimnachweis im Patchmaterial und/oder im umliegenden kardialen Gewebe wurde im vorliegenden Modellversuch als positiver Endokarditisnachweis gewertet.

Bei 34 von 56 Tieren konnte nach diesen Kriterien eine intrakardiale Infektion nachgewiesen werden, wobei der jeweils nachgewiesene Keim dem zuvor applizierten *S. aureus* entsprach. Bei keinem der Tiere kam es zu einer Infektion durch einen anderen Keim.

Die mikrobiologisch nachgewiesene Infektionsrate durch den verwendeten *S. aureus* entsprach somit 60,7%.

3.1.3.1.2 Makroskopisch sichtbare Veränderungen

Makroskopisch sichtbare blumenkohlartige Vegetationen auf der Oberfläche der Patchmaterialien und des umliegenden Gewebes (vgl. Abb. 9 a + b) wurden bei 31 von 57 Tieren (54,4%) zum Zeitpunkt der Autopsie vorgefunden.

In vorliegender Arbeit waren die in der Autopsie beobachteten Vegetationen fast ausschließlich um das Patchmaterial herum, in nur einem Tier begrenzt am Faden entlang und ohne Beteiligung des Patches lokalisiert. Dieses Tier wurde von der weiteren Versuchsauswertung ausgeschlossen, da das Patchmaterial nicht infiziert war. Die Vegetationen hafteten zumeist den Patchmaterialien direkt an, teilweise waren Mitralklappe und Chordae tendineae mit einbezogen. Bei keinem der Tiere kam es zu einer Beteiligung des linksventrikulären Ausflusstraktes/der Aortenklappe, ebenso wenig kam es zu einer Mitbeteiligung der rechten Herzseite.

Dass es bereits vor Bakteriengabe zur Ausbildung von makroskopisch sichtbaren Vegetationen kam, wurde in zwei Tieren (GAP n=1; DAC n=1), die nach Operationsende, aber noch vor Bakterienapplikation verstarben und autopsiert wurden, nachgewiesen.

3.1.3.1.3 Korrelation experimentell erzeugte Endokarditis - Vegetationsformation

Bei der Gruppe von 34 Versuchstieren mit mikrobiologischem Nachweis einer intrakardialen Infektion („MIBI+“) zeigte sich bei 27 (80,6%) Tieren zugleich eine makroskopisch sichtbare Vegetation („Vegetation+“). Entsprechend wurde bei 7 Tieren eine intrakardiale Infektion ohne makroskopische Veränderung („Vegetation-“) nachgewiesen, es zeigte sich bei diesen 7 Versuchstieren eine sehr geringe Keimdichte des untersuchten Patchmaterials von im Mittel 315 CFU/mg Gewebe (SD 403 CFU/mg; Median 19 CFU/mg). Bei den insgesamt 22 Tieren ohne mikrobiologischen

Keimnachweis („MIBI-“) war nur bei 4 Tieren eine makroskopisch sichtbare Vegetation nachzuweisen, die 18 verbliebenen Kaninchen entsprechend ohne Vegetationsbildung (s. Fig. 5).

Die statistische Analyse ergab eine signifikante Korrelation eines positiven Keimnachweises mit makroskopisch nachweisbarer, intrakardialer Vegetationsformation ($p < 0,0001$).

3.1.3.2 Folgeorgane und Blut

3.1.3.2.1 Blutkulturen

Die zu Beginn der Explantation entnommenen Blutkulturen zeigten bei 35 der insgesamt 56 (62,5%) bewerteten Versuchstiere einen positiven Keimnachweis des zuvor applizierten *S. aureus* – Stammes ATCC 29213.

28 der 35 (80,0%) Tiere mit positiver Blutkultur hatten zugleich eine mikrobiologisch nachgewiesene intrakardiale Keimbesiedelung, wobei eine positive Blutkultur signifikant mit einer experimentell erzeugten Endokarditis korrelierte ($p = 0,016$).

In zwölf Tieren kam es zu einem positiven Blutkultur-Nachweis ohne einen Endokarditismachweis, jedoch mit Keimnachweis anderer, bei Autopsie entnommener Organe. Bei 9 Tieren waren die entnommenen Blutproben negativ, bei diesen waren entsprechend alle entnommenen Organproben mikrobiologisch negativ getestet worden.

3.1.3.2.2 Milz

Die Untersuchung der Milz erfolgte nur in 43 der insgesamt 56 Fälle, bei den ersten Tieren war diese Untersuchung aus organisatorischen Gründen nicht möglich. Des Weiteren erfolgte die Bestimmung des Gesamt-Gewichtes der Milz zum Nachweis einer Splenomegalie und zur Bestimmung der Keimdichte in Relation zum untersuchten Gewebe in 43 der 56 Versuche (76,8%) (s. Abb. 11). Im vorliegenden Modell wurde eine Splenomegalie in Anlehnung an das Standard-Kaninchenmodell der IE von *Garrison* und *Freedman* ab einem Milzgewicht von 2 g angenommen (**22**, S. 399).

Das mittlere Milzgewicht der 43 untersuchten Tiere betrug 3517 mg (Median 3479 mg; SD 1836 mg), bei 35 der 43 (81,4%) Kaninchen lag eine Splenomegalie vor (Mittelwert 4274 mg, SD 1560 mg, Median 4057 mg), bei acht Tieren lag das Gewicht unter 2 Gramm und wurde definitionsgemäß als normal gewertet.

Der Vergleich dieser Tiere mit jeweils positivem ($n=25$) oder negativem ($n=18$) intrakardialen Keimnachweis zeigte keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen dem gemessenen Milzgewicht beider Gruppen ($p=0,16$). Dabei betrug das mittlere Milzgewicht der Tiere mit Endokarditis 3312 mg (Median 3063 mg, SD 1949 mg), in 89,5% der Tiere mit IE lag gleichzeitig auch eine Splenomegalie vor. Das mittlere

Milzgewicht der Tiere ohne Endokarditis betrug 3567 mg (Median 3828 mg, SD 1798 mg) mit einer Splenomegalie in 85,7% der Tiere ohne IE. Das Vorhandensein einer Splenomegalie war nicht an die Koexistenz einer intrakardialen Infektion gebunden.

Bei 36 der 43 (83,7%) untersuchten Tieren kam es zu einer makroskopisch sichtbaren Vergrößerung der weißen Milzpulpa, eine keilförmige Infarzierung war bei 5 von 43 untersuchten Tieren (11,6%) sichtbar. Der Keimnachweis in diesen Tieren (mittlerer Keimnachweis (**MK**) $5,77 \cdot 10^2$ CFU/mg; SD $5,35 \cdot 10^2$ CFU/mg; Median $6,24 \cdot 10^2$ CFU/mg) war statistisch signifikant höher als in den Tieren mit Milzbefall ohne makroskopisch sichtbare Infarzierung (MK $5,39 \cdot 10^2$ CFU/mg; SD $1,84 \cdot 10^3$ CFU/mg; Median 2,14 CFU/mg) ($p=0,001$).

Insgesamt konnte eine Milzinfektion in 34 von 43 Tieren (79,1%) mikrobiologisch nachgewiesen werden. 21 von 34 (61,8%) auswertbaren Tieren mit positiver infektiöser Endokarditis zeigten auch einen Keimnachweis in der untersuchten Milz. Es besteht eine positive Korrelation zwischen positivem Keimnachweis des Herzens und der Milz ($p=0,023$).

3.1.3.2.3 Nieren

Die Nieren wurden in allen 56 Fällen zur weiteren Begutachtung entnommen. Auch hier erfolgte zunächst unter sterilen Bedingungen die Bestimmung des Gesamtgewichtes, um die relative Keimdichte gewinnen zu können.

Insgesamt wurden 36 von 56 Nierengeweben (64,3%) mikrobiologisch positiv getestet. 27 der 36 Tiere (75,0%) mit positivem Keimnachweis der Nieren zeigten auch einen bakteriellen Befall des implantierten Patchmaterials. Es besteht eine positive Korrelation zwischen positivem Keimnachweis des Herzens und der Nieren ($p=0,021$).

19 der 56 untersuchten Tiere (33,9%) zeigten eine deutliche keilförmige Infarzierung der Nieren (s. Abb. 10 b), der intrakardiale Keimnachweis dieser Tiere (MK $5,20 \cdot 10^4$ CFU/mg; SD $1,09 \cdot 10^5$ CFU/mg; Median $7,76 \cdot 10^2$ CFU/mg) war statistisch signifikant erhöht gegenüber den Tieren mit Nierenbefall ohne makroskopisch sichtbare Infarkte (MK $1,42 \cdot 10^1$ CFU/mg; SD $4,70 \cdot 10^1$ CFU/mg; Median 0,83 CFU/mg) ($p<0,001$).

3.1.4 Zusammenfassung

Die mikrobiologisch nachgewiesenen Infektionsraten der einzelnen Gewebearten sind in ihrer Inzidenz sehr ähnlich (vgl. Fig. 6). Dabei geht in der Regel eine nachgewiesene intrakardiale Infektion mit dem Nachweis einer mikrobiellen Besiedelung nachgeschalteter Organe einher.

Ebenso spricht eine morphologisch sichtbare Organbeteiligung für den gleichzeitigen mikrobiologischen Keimnachweis im selben Gewebe. Die MK der makroskopisch befallenen Organe ist dabei vergleichsweise höher als die der makroskopisch nicht betroffenen Gewebe.

In vorliegendem Versuch konnte eine deutliche Zunahme des Milzgewichtes der Versuchstiere mit nachgewiesener Endokarditis im Vergleich zu Tieren ohne intrakardialen Keimnachweis nicht festgestellt werden.

Korrelation Keimnachweis intrakardial – Vegetationsbildung

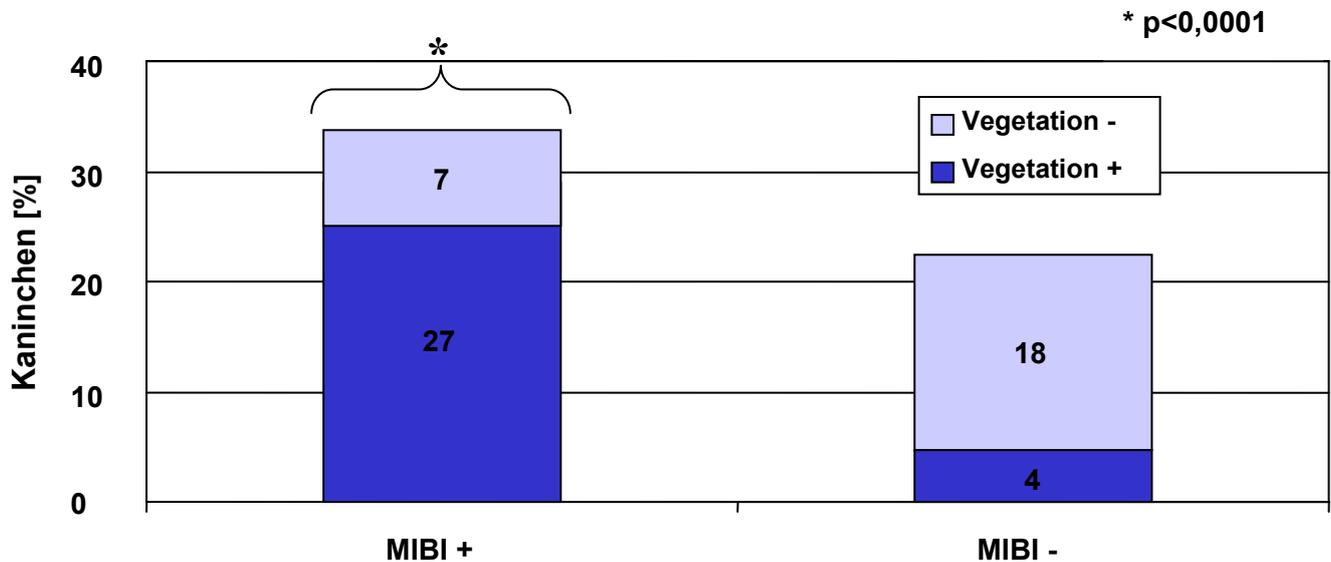


Fig. 5: Das Auftreten einer makroskopisch sichtbaren Vegetation („Vegetation+“) in den untersuchten Kaninchen war signifikant mit dem Vorhandensein einer mikrobiell nachgewiesenen Infektion derselben verbunden („MIBI+“). War keine Vegetation zu sehen („Vegetation-“) war auch der Nachweis einer intrakardialen Infektion unwahrscheinlich („MIBI-“).

Mikrobielle Infektionsrate

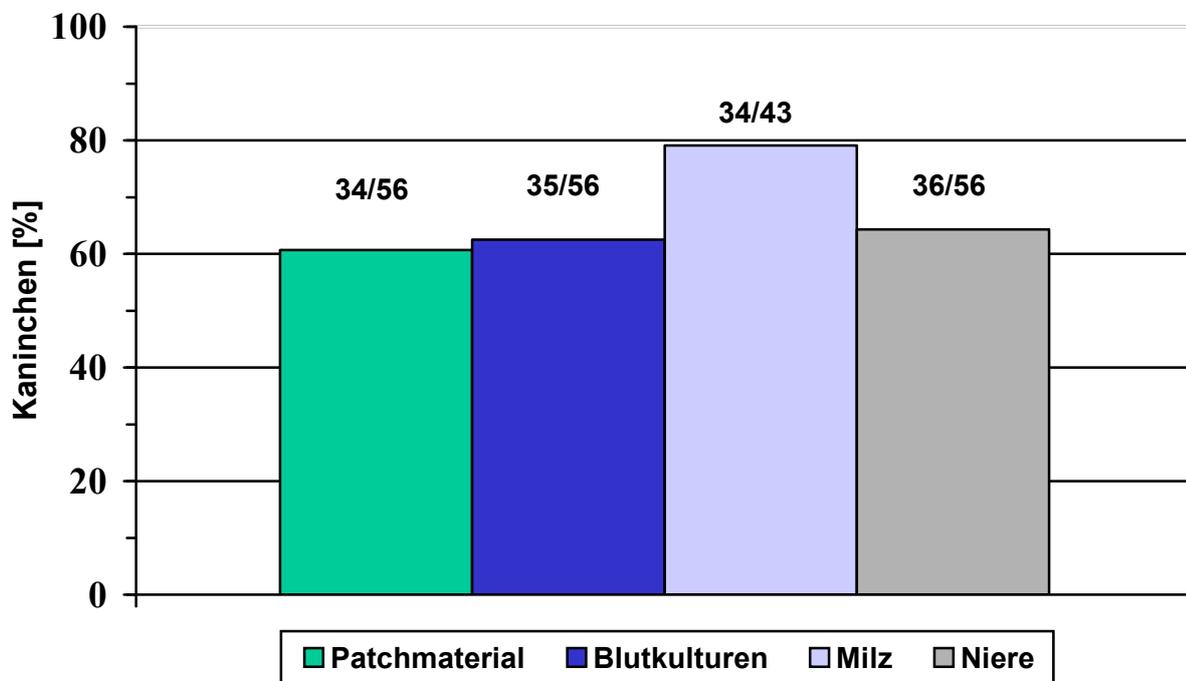


Fig. 6: Das Auftreten einer mikrobiell nachgewiesenen Infektion ist in den untersuchten Gewebearten vergleichbar. Eine mikrobiell nachgewiesene Infektion ist mit den morphologisch sichtbaren Veränderungen in Herz, Niere und Milz eng vergesellschaftet.

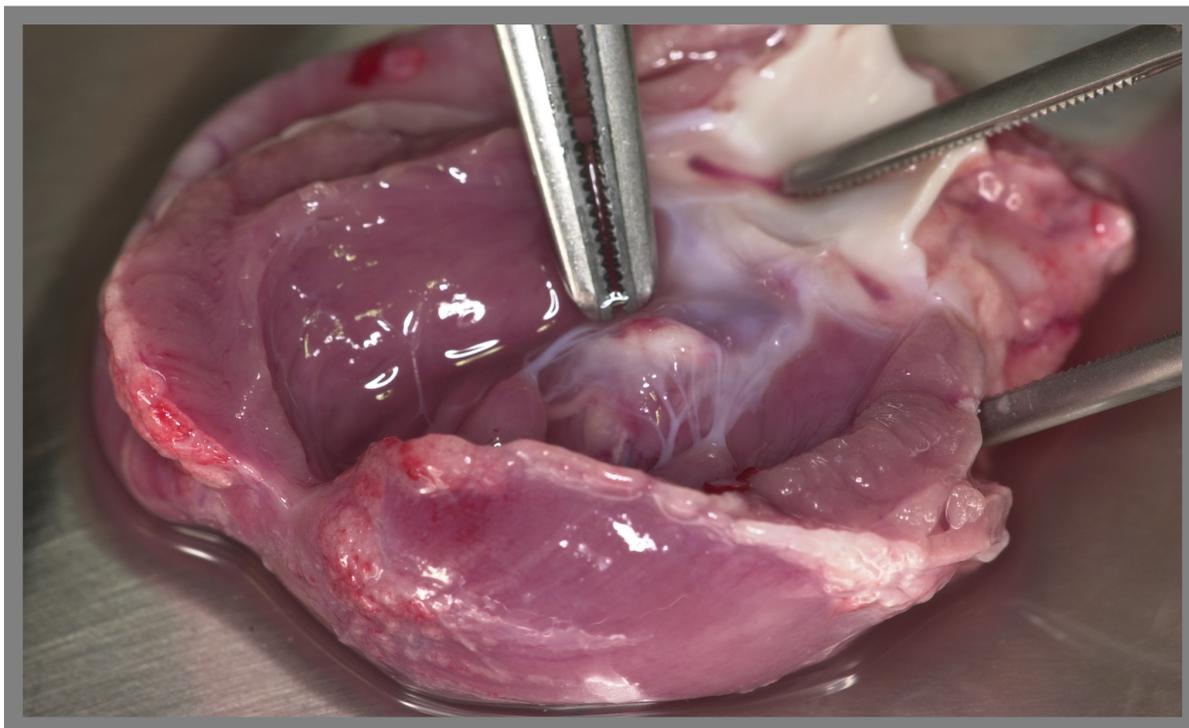


Abb. 9 a: Unterhalb des Mitralklappensegels ist eine gelbliche Vegetation um das Patchmaterial deutlich erkennbar (Pinzettenspitze).



Abb. 9 b: Intrakardiale Vegetationsformation.



Abb. 10 a: Niereninfarkt.

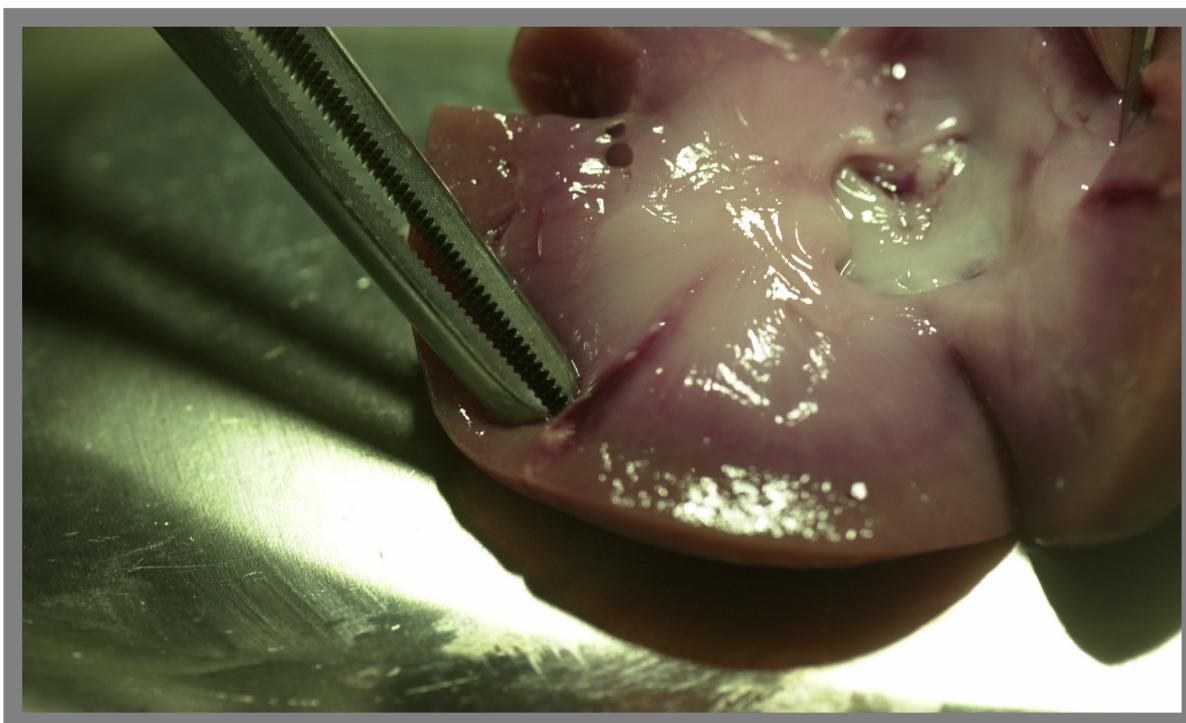


Abb. 10 b: Im Schnittpräparat der Niere: Pinzettenspitze deutet auf eine keilförmige Infarzierung.



Abb. 11: Morphologie der Milz nach Autopsie.

3.2 Ergebnisse aus dem Vergleich der Prothesenmaterialien

3.2.1 Vergleich der Endokarditisinzidenz in Abhängigkeit vom verwendeten Prothesenmaterial

Bei der Analyse der Daten ergab sich nach Aufspaltung in die vier verschiedenen Materialsorten eine vergleichbare Inzidenz einer intrakardialen Infektion (vgl. Fig. 7).

Von in jeder Gruppe insgesamt 14 Versuchstieren kam es bei 9 (DAC/SIL) bzw. 8 (GAP/AG) Tieren zum Auftreten einer infektiösen Besiedelung des Patchmaterials. Dies entspricht einer Infektionsrate von 64,3% bzw. 57,1%.

3.2.2 Vergleich der relativen Keimdichte der Patchmaterialien

Im nächsten Schritt wurde ein Vergleich der verschiedenen infizierten Materialien hinsichtlich ihrer Keimdichte vorgenommen. Diese wurde in der Auswertung in Relation zum zuvor bestimmten Gesamtgewicht der Materialien gesetzt.

Es zeigte sich die höchste Keimdichte im Silzone™-Material gefolgt von der Dacron®-Gruppe und der Allograft-Gruppe (vgl. Tabelle (Tab.) 1). Die niedrigste Keimbesiedelung wies das Perikardmaterial GAP mit einer mittleren Keimdurchsetzung von $5,05 \cdot 10^4$ CFU/mg auf.

Der Vergleich der Gruppen ergab keinen signifikanten Unterschied hinsichtlich der Dichte der Bakterien, allerdings ein Trend zu einer niedrigeren Keimdichte der biologischen gegenüber den synthetischen Materialien (vgl. Fig. 8).

		DAC	SIL	AG	GAP
Herz (CFU/mg)	MK	$4,01 \cdot 10^6$	$1,10 \cdot 10^7$	$1,21 \cdot 10^6$	$5,05 \cdot 10^4$
	SD	$1,00 \cdot 10^7$	$3,19 \cdot 10^7$	$1,38 \cdot 10^6$	$1,12 \cdot 10^5$
	Median	$2,38 \cdot 10^5$	$2,64 \cdot 10^4$	$7,72 \cdot 10^5$	$7,31 \cdot 10^2$
NIEREN (CFU/mg)	MK	$4,52 \cdot 10^4$	$1,25 \cdot 10^4$	$1,55 \cdot 10^3$	$9,89 \cdot 10^1$
	SD	$1,15 \cdot 10^5$	$3,79 \cdot 10^4$	$2,97 \cdot 10^3$	$3,56 \cdot 10^2$
	Median	0,13	1,32	4,43	0,00
MILZ CFU/mg	MK	$1,71 \cdot 10^2$	$7,30 \cdot 10^2$	$5,64 \cdot 10^1$	0,73
	SD	$3,35 \cdot 10^2$	$2,64 \cdot 10^3$	$1,60 \cdot 10^2$	2,08
	Median	0,18	2,19	$2,64 \cdot 10^3$	0,00

Tab. 1: Keimdichten in Herz, Nieren und Milz im Vergleich der verschiedenen Materialien: niedrigste Keimdichte in der GAP-Gruppe mit signifikant niedriger Keimdichte der Nieren als in der SIL-Gruppe (* p = 0,028).

Vergleich der Patchmaterialien hinsichtlich des Auftretens einer intrakardialen Infektion

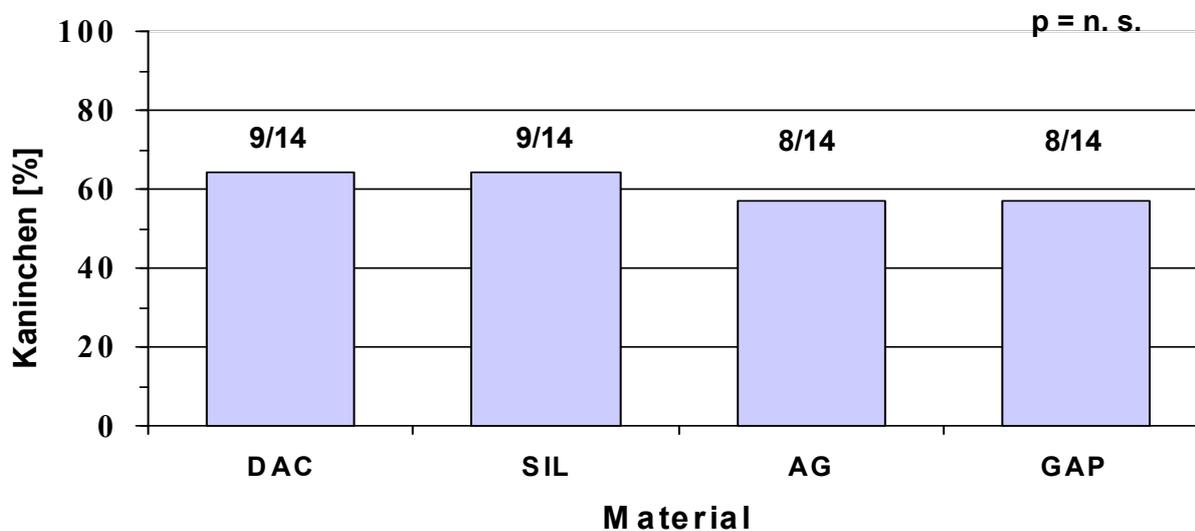


Fig. 7: Die Inzidenz einer intrakardialen Infektion war bei den verwendeten Materialsorten gleich hoch.

Vergleich der Keimdichten der Patchmaterialien

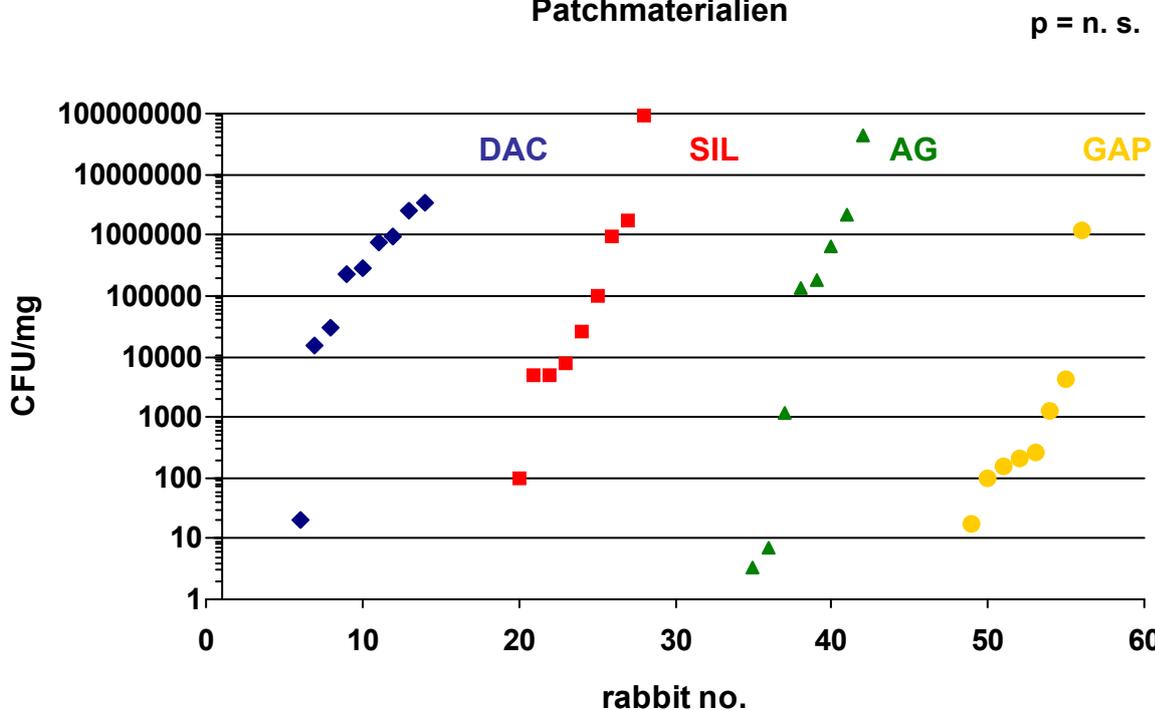


Fig. 8: In der mikrobiologischen Untersuchung hinsichtlich der Keimdichte der unterschiedlichen Patchmaterialien zeigte sich kein signifikanter Unterschied. Allerdings ist ein Trend zu einer niedrigeren mikrobiellen Kolonisation des Biomaterials GAP (gelb) zu bemerken.

3.2.3 Vergleich der Folgekomplikationen in Abhängigkeit vom verwendeten Prothesenmaterial

Im Hinblick auf das Entstehen von Infektionen in den nachgeschalteten Organsystemen ergaben sich folgende Unterschiede zwischen den verwendeten Materialsorten: Eine signifikante Abweichung ergab sich dabei nur aus dem Vergleich der gemessenen Keimdichten der Nieren der GAP-Tiere mit den Kaninchen der SIL-Gruppe ($p=0,028$). Alle weiteren Vergleiche waren nicht signifikant, zeigen aber insgesamt einen deutlichen Trend einer niedrigeren Keimbesiedelung der Tiere mit zuvor implantierten Biomaterialien GAP oder AG (vgl. Tab. 1), mit den niedrigsten Keimzahlen in der GAP-Gruppe. Dabei war jeweils die höchste Keimdichte im Herz zu messen, dann in absteigender Reihenfolge in den Nieren und in der Milz.

Betrachtet man nicht die Keimzahl sondern lediglich den Nachweis einer Infektion (ja oder nein) in den Organen, so ergab sich der größte Unterschied zwischen den Biomaterialien (AG und GAP): Die AG-Gruppe verzeichnete am häufigsten das Auftreten einer Infektion von Nieren, Milz oder Blut (gleichwohl mit den zweitniedrigsten Keimdichten der Organe), gefolgt von der SIL-Gruppe und der DAC-Gruppe (vgl. Fig. 9). Dem vorigen Trend entsprechend verzeichnete auch bei der Frage eines reinen Infektionsnachweises die GAP-Gruppe die geringste Anzahl.

Es zeigte sich im Vergleich der Infektionsinzidenz der Nieren eine signifikant geringere Dokumentation in der GAP- ($p=0,008$), DAC- ($p=0,011$) sowie SIL-Gruppe ($p=0,028$) im Vergleich zur AG-Gruppe. Der positive Keimnachweis der Milz war in der GAP-Gruppe im Vergleich zur AG- ($p=0,002$), SIL- ($p=0,003$) und DAC-Gruppe ($p=0,049$) signifikant erniedrigt. Im Vergleich des Auftretens von positiven Blutkulturen setzte sich der Trend mit einer signifikant niedrigeren Anzahl in der GAP-Gruppe ($p=0,001$) im Vergleich zur AG-Gruppe fort, die DAC-Gruppe ($p=0,013$) hatte ebenfalls im Vergleich zur AG-Gruppe eine signifikant niedrigere Menge an positiven Blutkulturen.

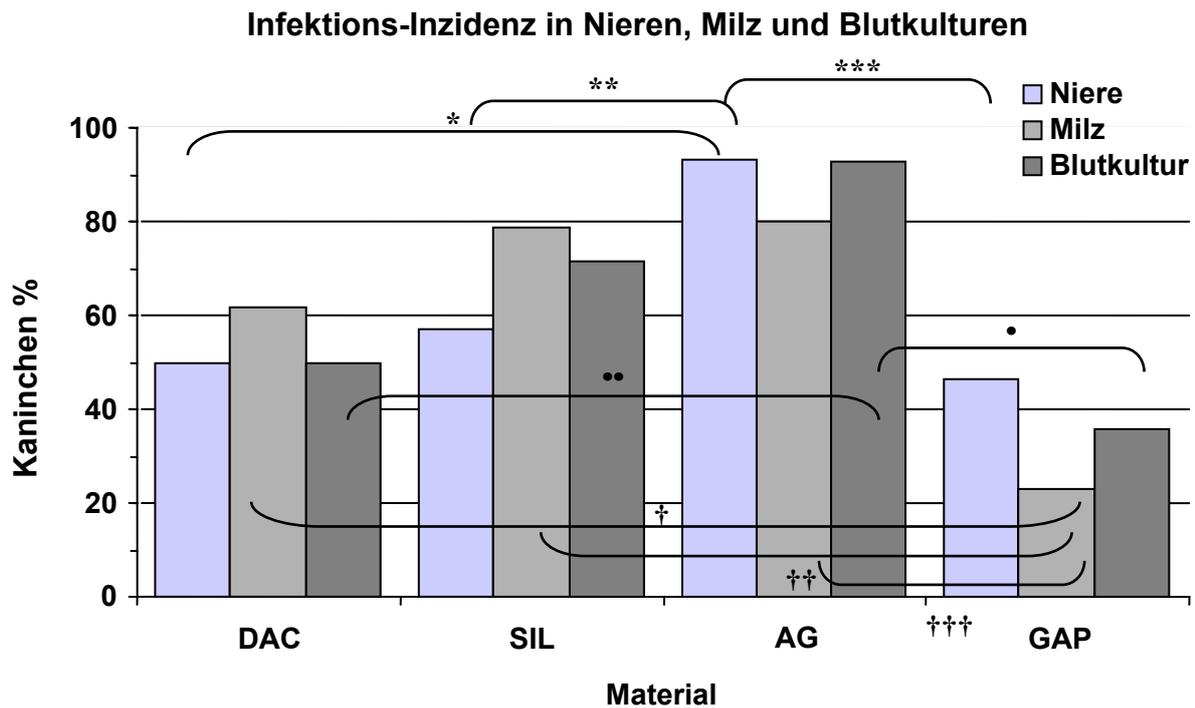


Fig. 9: Vergleich der verschiedenen Materialien und der Inzidenz einer Infektion von Niere, Milz und Blut. Die AG-Gruppe hat erstaunlicherweise die höchste Infektionsinzidenz von Nieren, Milz und Blutkultur. Die GAP-Gruppe wies in der Inzidenz den niedrigsten peripheren Organbefall auf.

* $p = 0,011$

** $p = 0,028$

*** $p = 0,008$

† $p = 0,049$

†† $p = 0,003$

††† $p = 0,002$

• $p = 0,001$

•• $p = 0,013$

3.2.4 Elektronenmikroskopische Untersuchung der verwendeten Materialien

Die Abbildungen 12 – 14 zeigen die unterschiedlichen Oberflächen der verwendeten Materialien in noch nicht implantiertem Zustand. Dabei wiesen das Material DAC und SIL jeweils die gleiche Flächenstruktur auf, welche im Vergleich zum relativ glatten Endothelzellgewebe von GAP und AG eine deutlich vergrößerte Struktur aus geflochtenen Veloursfäden (SIL nicht gezeigt). Die vergleichsweise glatte Oberfläche des Endothels der Biomaterialien GAP und AG zeigten durch die jeweilige chemische Vorbehandlungen bereits deutliche Gewebedestruktionen (siehe Vergrößerungen x 5400). Die Abbildungen 15 und 16 zeigen jeweils ein implantiertes Gewebestück aus der SIL-, respektive DAC- Gruppe (Abb. 15 im Querschnitt): Man erkennt deutlich die Fibrin-Plättchen-Ansammlung zwischen den einzelnen Veloursfäden. Die Bakterien sind in dieser Vergrößerung noch nicht zu erkennen. Bei den infizierten Gewebestücken zeigten sich in den höheren Vergrößerungen, unabhängig vom zugrunde liegenden Gewebetypus, überall Staphylokokken, welche in Lagen aus Fibrin und Plättchen eingebettet waren und manchmal zu Haufenbildung neigten (s. Abb. 17-18). Limitierend zur Elektronenmikroskopie muss erwähnt werden, dass lediglich eine sinnvolle Darstellung der unterschiedlichen Oberflächenbeschaffenheit der Materialien möglich war, die angefertigten Vergrößerungen jedoch keine quantitative Aussage hinsichtlich Unterschieden in der Keimdichte zuließen.

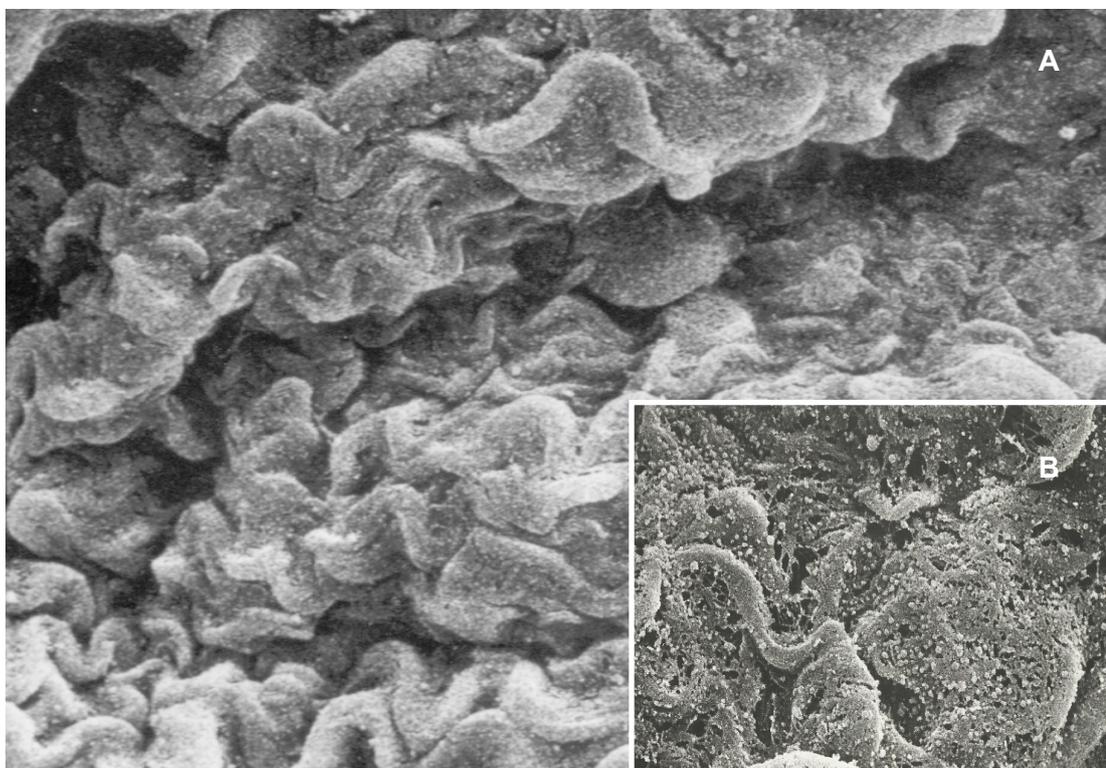


Abb. 12: Kryopräserviertes Allograft-Gewebe, nicht implantiert.

A) Vergrößerung x 540; **B)** Vergrößerung x 5400

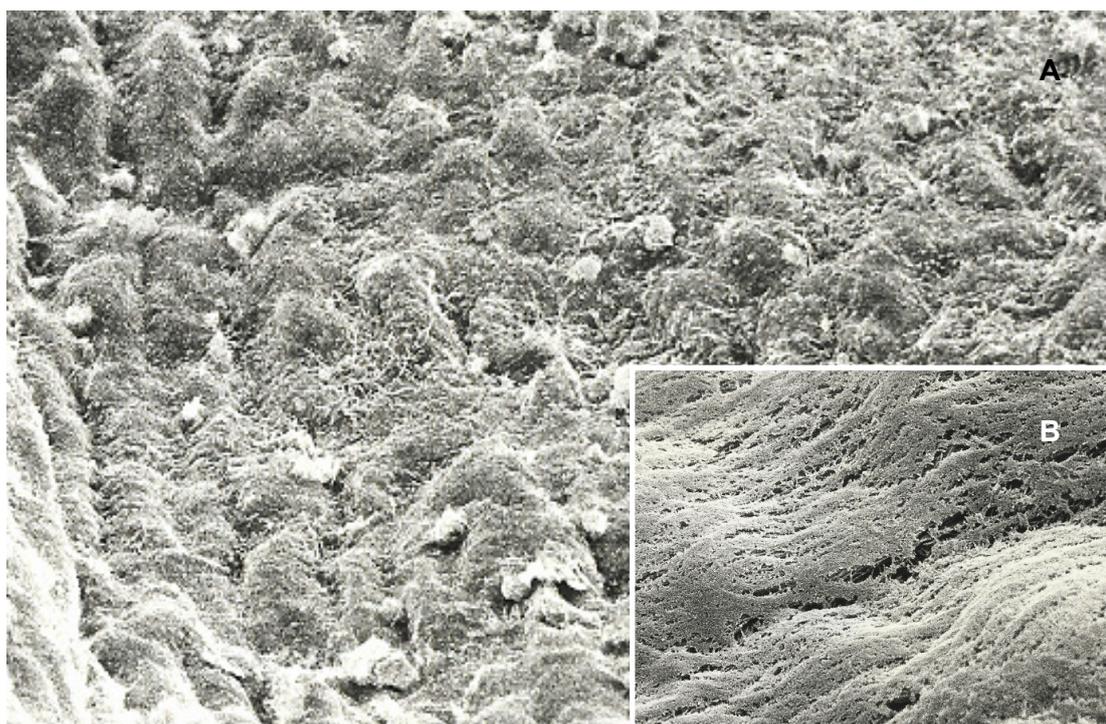


Abb. 13: Glutaraldehydfixiertes Perikard, nicht implantiert.
A) Vergrößerung x 540; **B)** Vergrößerung x 5400

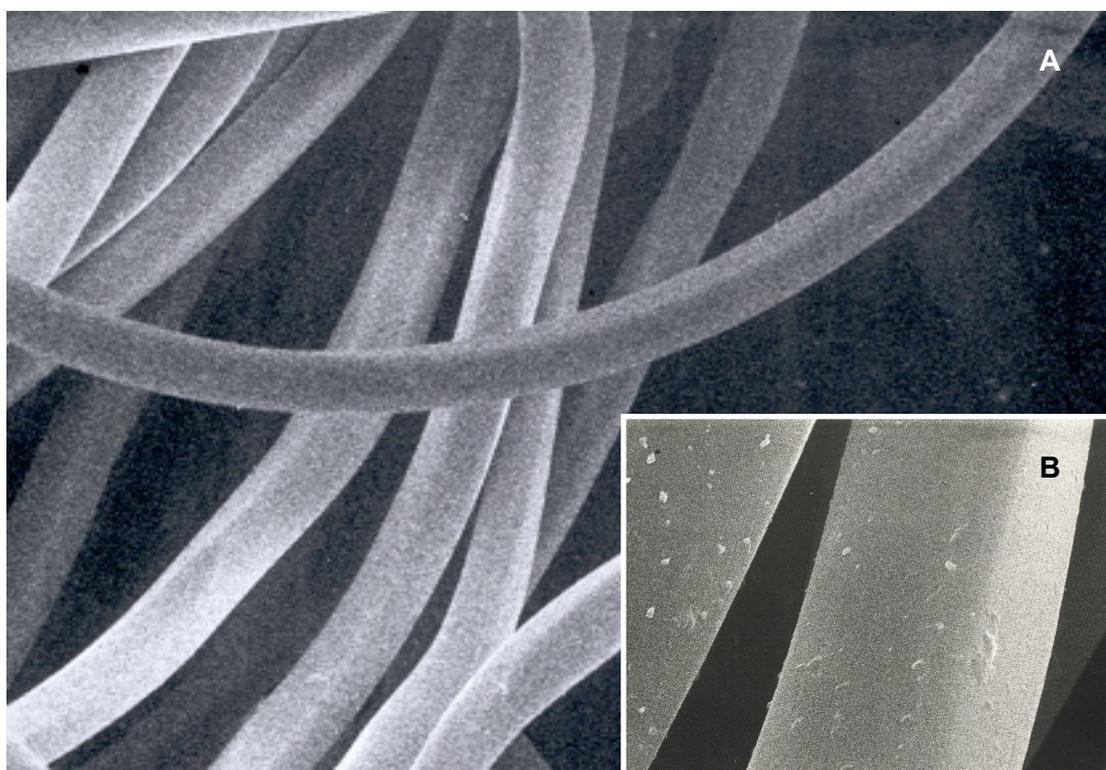


Abb. 14: Dacron, nicht implantiert (entspricht der Beschaffenheit von Silzone™).
A) Vergrößerung x 540; **B)** Vergrößerung x 5400

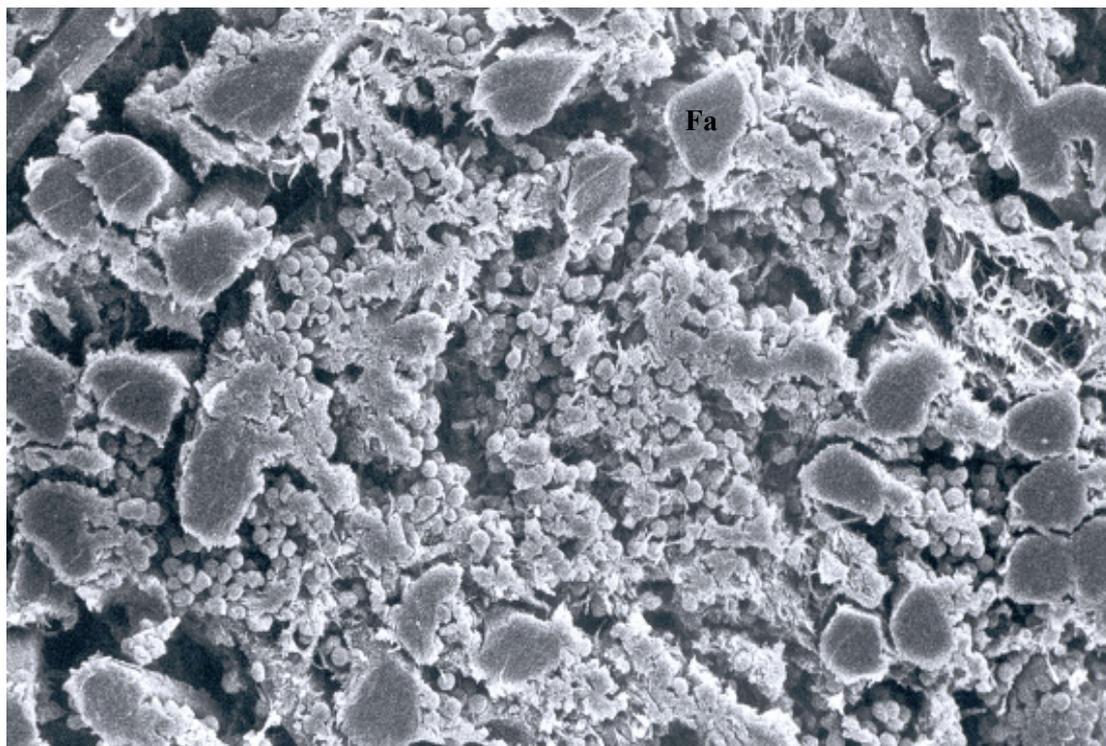


Abb. 15: Silzone™ implantiert, Querschnitt durch das Material. Zwischen den Fäden (hier im Querschnitt mit **Fa** gekennzeichnet) bildet sich ein Plättchen-Fibrin-Netzwerk aus. Die Bakterien sind in dieser Vergrößerung nicht zu erkennen. Vergrößerung x 540.

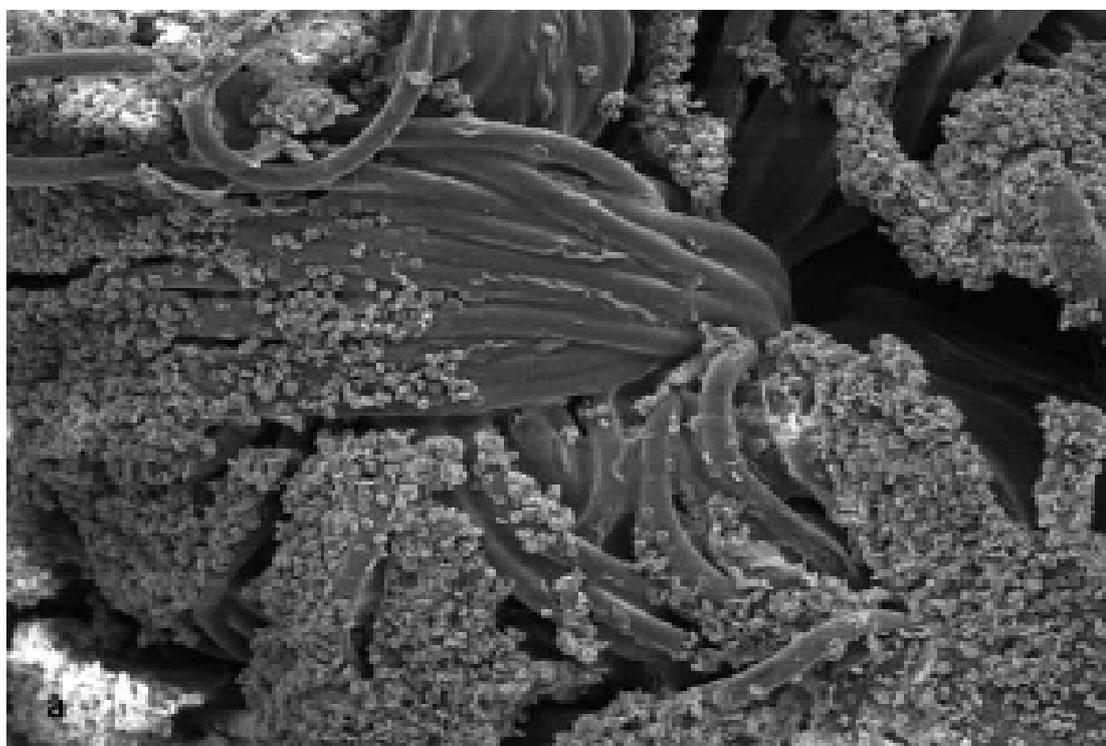


Abb. 16: Dacron® implantiert. Auch hier bildet sich ein Plättchen-Fibrin-Netzwerk aus. Vergrößerung x 240.

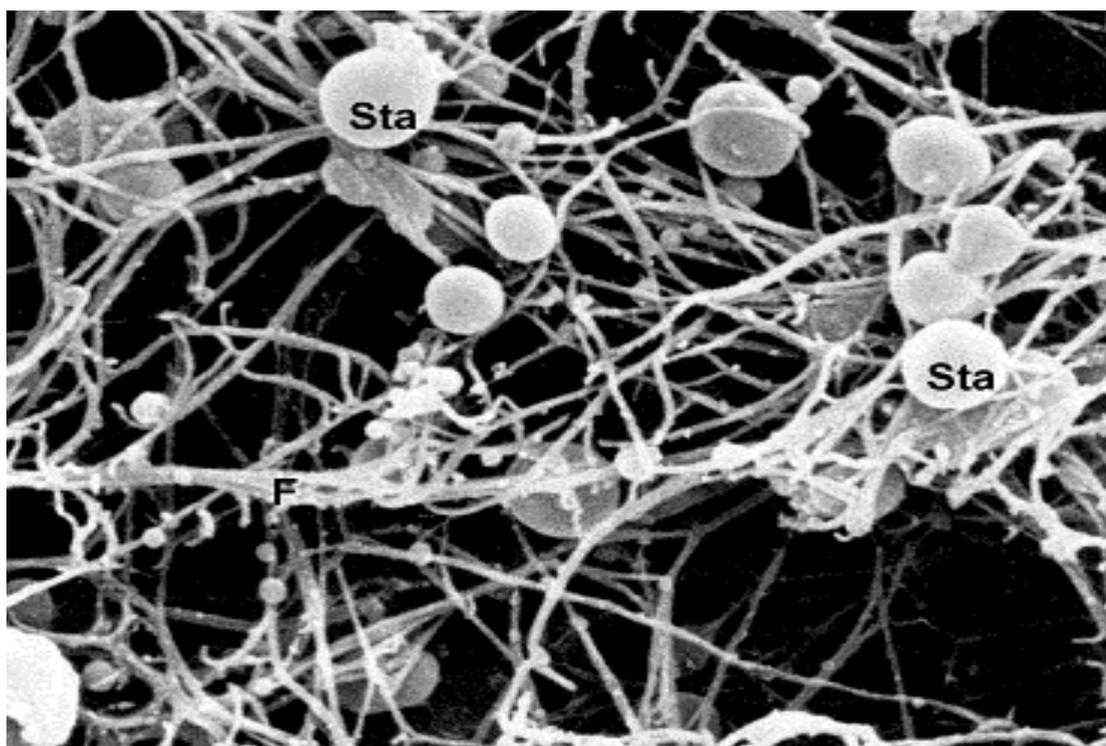


Abb. 17: Vergrößerung eines infizierten DAC-Präparates: Zwischen einem Fibrinnetzwerk (F) finden sich zahlreiche Staphylokokken (hier mit **Sta** gekennzeichnet). Vergrößerung x 7800.

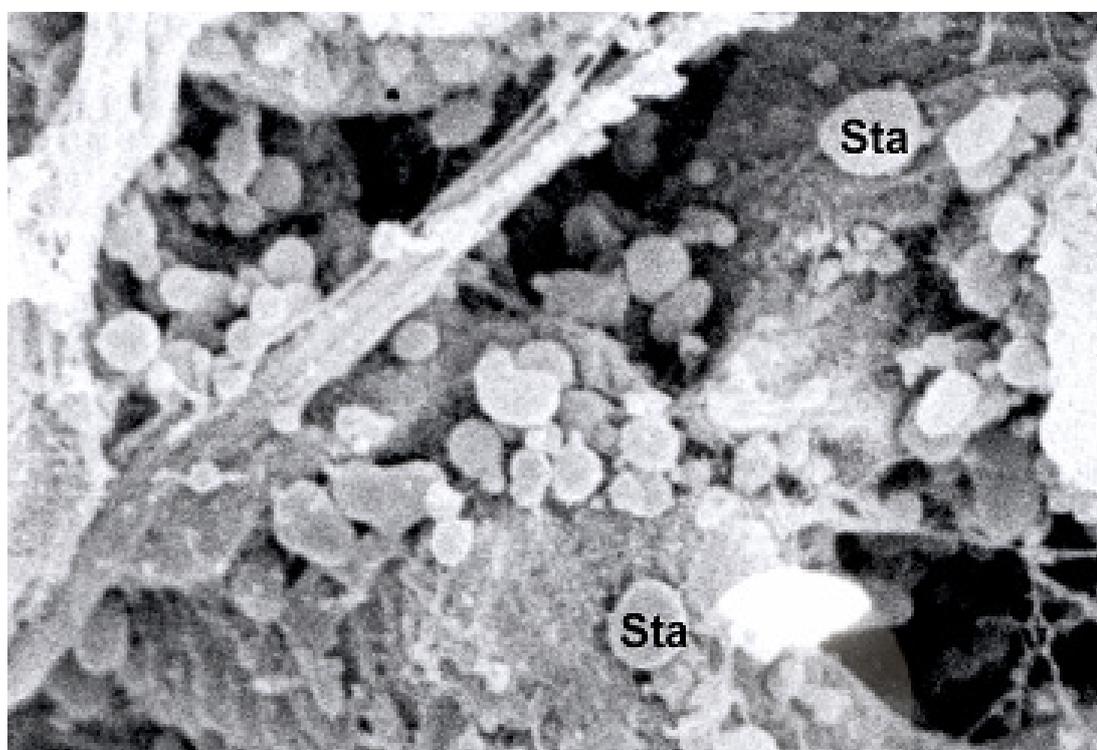


Abb. 18: Vergrößerung eines infizierten AG-Präparates: Hier finden sich ebenso zahlreiche Staphylokokken (hier mit **Sta** gekennzeichnet). Vergrößerung x 5400.

4. DISKUSSION

4.1 Diskussion des Modells

Die systematische Untersuchung der pathogenetischen Faktoren einer PKE im Menschen ist aus mehreren Gründen schwierig durchzuführen: In Anbetracht der klinisch prekären Situation der Patienten und der mangelnden Standardisierungsmöglichkeit, was Eingangsvoraussetzungen und weitere Therapie angeht, können verschiedene, in klinischen Studien nicht kontrollierbare Variablen, wie z. B. Art und Ausmaß der vorbestehenden Endothelläsionen, oder Dauer und Durchführung eines zur Bakteriämie führenden Eingriffes unter kontrollierten, tierexperimentellen Bedingungen eher standardisiert werden. Überdies lassen sich die im klinischen Alltag oft anzutreffende Erregervielfalt, der Einfluss von Begleiterkrankungen und der Einfluss der chirurgischen Technik in einem experimentellen Vorgehen vereinheitlichen.

Aus diesem Grund war die Etablierung eines Tiermodells nötig, das die Untersuchung der Erkrankung unter physiologischen Bedingungen, wie sie auch bei Menschen vorliegen würden, erlauben sollte. Bereits 1970 entwickelten *Lawrence Freedman* und *Penelope Garrison* deshalb, ausgehend von der Beobachtung, dass sich intravaskulär gelegene Polyethylenkatheter in Patienten häufig infizieren, das heutige Standardmodell zur Erforschung der IE im Kaninchen (22, S. 394ff.). Dabei stand für die Untersucher zum damaligen Zeitpunkt trotz der essentiellen Rolle des Polyethylenkatheters in der Pathogenese der experimentell erzeugten IE, die Untersuchung des Fremdmaterials nicht im Vordergrund.

Die zunehmende Verwendung von Prothesenmaterialien und damit die Zunahme von Protheseninfektionen verändert allerdings die Anforderungen an experimentelle Versuchsvorhaben zur Erforschung der IE. Da das von *Freedman* und *Garrison* beschriebene, und auch folgende experimentelle Endokarditis-Modelle jedoch nicht auf Fragestellungen zum Themenbereich einer Protheseninfektion ausgerichtet sind, wurde das in der vorliegenden Arbeit beschriebene Modell zur Untersuchung der Prothesenklappenendokarditis entwickelt. Dieses Modell soll im Weiteren auf seine Anwendbarkeit und Übertragbarkeit auf den Menschen hin diskutiert werden.

4.1.1 Entwicklung des vorliegenden Modells

4.1.1.1 Pathogenese

Grundsätzlich spielen in der Entstehung einer PKE folgende Mechanismen eine zentrale Rolle: zum Einen die Endothelläsion, welche im Zuge des HKE operativ gesetzt wird, zum Anderen das intrakardiale Einbringen von Fremdmaterial und schließlich die veränderte hämodynamische Situation nach HKE, welche das Entstehen von Vegetationen am implantierten Fremdmaterial begünstigt. Diese wesentlichen Schritte in der Pathogenese der PKE wurden im vorliegenden Modell berücksichtigt und sollen im Folgenden einzeln diskutiert werden.

4.1.1.1.1 Gewebeläsion und Ausbildung von sterilen Vegetationen

Nicht vorgeschädigtes Endokard ist weitgehend resistent gegenüber einer Besiedelung mit Mikroorganismen (8, S. 1231; 12, S. 81; 18, S. 1, 38, S. 7), so dass Endothelschädigungen durch z. B. intrakardiale Fremdkörper, Narben, oder im Zuge einer aufzehrenden, v. a. malignen Erkrankung („marantische Endokarditis“) Voraussetzung für die Entstehung einer IE sind: Zahlreiche immunologische, toxische oder traumatische Schädigungen des Endothels können minimale Endokardläsionen erzeugen, die zu einer Bildung von Mikrothromben, bestehend aus Thrombozyten und Fibrin, führen. Die Ausbildung solcher Thromben geschieht über mehrere Matrixbestandteile und subendotheliale Substanzen, welche im Zuge einer Endothelverletzung freigesetzt werden, und das Gerinnungssystem aktivieren, allen voran Kollagen und der von Willebrand Faktor. Die im Blut befindlichen Thrombozyten interagieren sofort mit diesen subendothelialen Matrixproteinen, diese Interaktion führt zu Plättchenadhäsion und der Ausbildung eines Monolayers aus Thrombozyten an der Stelle der Gewebeverletzung. Die aktivierten Plättchen binden ihrerseits Fibrinogen und andere Adhäsionsmoleküle, es kommt zur Ausbildung der „sterilen“ Thromben, die auch „nichtbakterielle thrombotische Vegetationen (NBTV)“ genannt werden (18, S. 1-2).

Experimentell konnte nachgewiesen werden, dass selbst mikroskopische Endothelläsionen, hervorgerufen durch einen nur wenige Minuten eingeführten Katheter oder aber eine Endothelverletzung im Rahmen einer z. B. durch Vagusreizung hervorgerufenen iatrogenen und arrhythmischen Herzmuskelkontraktion, zur Ausbildung solcher NBTV führen können (12, S. 81; 41, S. 1353; 61, S. 1815). Die im Zuge eines HKE erzeugte Gewebeläsion ist demnach ein ätiologisch wichtiger Faktor in der Entstehung der PKE. Im vorliegenden Modell wird durch die Art der Fixierung der untersuchten Materialien an das Mitralklappensegel eine im Zuge eines HKE vergleichbare Gewebeläsion geschaffen, durch welche es bereits vor Bakterienapplikation zur sichtbaren Ausbildung von NBTV kommt. Dies konnte anhand

der Auswertung von zwei Versuchstieren (GAP n=1, DAC n=1), die kurz nach Beendigung der Operation, aber noch vor der Bakterieninokulation verstarben, gezeigt werden: Dabei waren die NBTV bereits kurz nach Operationsende makroskopisch deutlich sichtbar und streng um das Material herum lokalisiert zu erkennen gewesen.

Grundsätzlich können bei der Entstehung solcher NBTV in vorliegendem Modell verschiedene Mechanismen diskutiert werden: Zum einen kann das eingebrachte Material selbst thrombogen wirken, was zur Absiedelung von Gerinnungsbestandteilen auf diesem Material mit sekundärer endothelialer Ausbreitung führen würde. Als zweiter, entscheidender Mechanismus wäre die intraoperativ geschaffene Gewebeverletzung des Klappenendothels anzuführen, die letztlich zu einer Ausbildung von sterilen Vegetationen zunächst am Endothel und erst sekundär am Material führen könnte. Davon abzugrenzen ist, als dritte Möglichkeit, die permanente mechanische Reizung des Endothels durch das implantierte Gewebestück, die ebenfalls über eine so erzeugte Gewebeläsion zur Ausbildung von sterilen Vegetationen zunächst am Endothel, dann am eingebrachten Material führen könnte.

Insgesamt ist es durchaus vorstellbar, dass es bei der Entstehung von NBTV im vorliegenden Modell zu einem Zusammenspiel aller genannten Mechanismen kommt. Zur genaueren Klärung dieser Frage sind gesonderte experimentelle Versuchsvorhaben durchzuführen.

4.1.1.1.2 Mitralinsuffizienz

Die pathologisch-anatomische und echokardiographische Beobachtung, dass bei der Endokarditis die Vegetationen meist an den gleichen Prädilektionsstellen des Klappenapparates ansetzen (54, S. 318 ff.), lässt sich auf hämodynamische Faktoren zurückführen. Durch eine Klappenschädigung oder im Zuge eines HKE entsteht zumeist eine modifizierte hämodynamische Situation, bei der Blut mit hoher Geschwindigkeit durch eine enge Öffnung von einem System hohen Druckes in eines mit niedrigerem Druck fließt. Die dabei entstehenden Turbulenzen erzeugen, wie *Rodbard* in seinem experimentellen Versuchsaufbau zeigen konnte, Vegetationen im System niedrigeren Druckes (76, S. 18 ff.). Dabei spielt eine vorbestehende Klappeninsuffizienz eine bedeutendere Rolle als vorbestehende Stenosen (87, S. 160).

In der vorliegenden Arbeit wird diesem ätiologischen Agens durch die Art der Fixierung des Fremdmaterials an der Mitralklappe Rechnung getragen. Einerseits erfolgt durch den atrialen Zugang die Fixation des Materials auf der atrialen Seite der Klappe und somit auf der Seite des niedrigeren Druckes. Andererseits ist es durch Zug am fixierenden Fadenmaterial möglich, eine definierte Klappeninsuffizienz zu erzeugen, die die Bildung

von NBTV durch Blutflussstörung erleichtern sollte. Diese Insuffizienz konnte mittels Messung der Druckkurven im linken Vorhof durch einen transient in den Vorhof eingebrachten Katheter quantifiziert und angepasst werden. Die Messungen wurden jeweils vor Einbringen des Materials sowie nach Implantation, vor und nach Fixierung des Materials, durchgeführt. Dabei wurde im Gegensatz zu vorbeschriebenen Modellen der IE, in welchen zumeist eine nicht beeinflussbare, katheter-induzierte Klappeninsuffizienz geschaffen wurde, eine standardisierte Mitralinsuffizienz mit vergleichbarer Zunahme der v-Welle ohne klinische Anzeichen einer Linksherzinsuffizienz erzielt.

Vorliegendes Modell ist nach aktueller Kenntnis der Autorin das einzige experimentelle Endokarditis-Modell, welches eine standardisierte, experimentell erzeugte Mitralinsuffizienz beinhaltet.

4.1.1.1.3 Bakterielle Sekundärinfektion der NBTV

Normalerweise werden NBTV, die einmal entstanden sind, innerhalb von drei Tagen ohne erneuten Reiz wieder abgebaut (**12**, S. 83). Kommt es allerdings vorher zu einer transienten oder persistierenden Bakteriämie, so können derlei NBTV als ein leichter Anheftungspunkt für mikrobielle Besiedelung dienen und sich sekundär infizieren (**12**, S. 84ff.; **22**, S. 395ff.). Aus sterilen werden keimdurchsetzte Vegetationen, die durch permanente Bakterienfreisetzung den infektiösen Prozess weiter unterhalten und sich Immunabwehrmechanismen ihrer Umgebung durch weitere Bedeckung mit Fibrin-Plättchen-Schichten entziehen (**62**, S. 994ff.): es entsteht eine manifeste IE. Die charakteristischen morphologischen Korrelate einer IE oder PKE sind demnach bakterielle Vegetationen, die nach einer mikrobiellen Besiedelung von NBTV entstehen.

Durack konnte 1974 in seiner Studie der Endokarditis zeigen, dass experimentell eine Kolonialisierung von zuvor erzeugten NBTV mit *S. aureus* bereits 30 min nach Bakteriengabe erfolgt. Ist der Prozess durch die mikrobielle Kolonisierung initialisiert, folgt die exponentielle Vermehrung der Keime mit allen möglichen Folgekomplifikationen, z. B. dem Ausbilden septischer Embolisationen oder aber komplexen immunologischen Abwehrmechanismen durch zelluläre und humorale Reaktionen (**12**, S. 84). Die intravaskulär gelegene, infizierte Vegetation gibt dann in einem circulus vitiosus permanent Bakterien, die an ihrer Oberfläche haften, in die Blutbahn ab. Damit können einerseits frische NBTV neu beimpft werden, andererseits kommt es zu einer Auto-Infektion, so dass der infektiöse Prozess weiter unterhalten wird.

In diesem Modell wird die Sekundärinfektion der zuvor erzeugten NBTV durch die intravenöse Bakterieninokulation von 6×10^6 CFU eines *S. aureus* - Stammes sechs Stunden postoperativ erzeugt. Der Zeitpunkt der Bakterienapplikation wurde so gewählt, dass die Tiere nach der Operation bereits vollständig wach und mobilisiert waren. Damit

wurde gewährleistet, eine Folgekomplikation der Bakteriengabe von einer Folgekomplikation der Operation unterscheiden zu können. Die Applikation der Bakterien erfolgte einmalig um eine zeitliche Standardisierung zu gewährleisten. Der in diesem Modell angewandte Infektionsmechanismus entspricht einer postoperativen Kontamination einer initial sterilen Klappe, die in einen keimfreien Situs implantiert wurde. Die beiden alternativen Mechanismen (Implantation eines infizierten Materials in einen keimfreien Situs oder Implantation eines keimfreien Materials in einen infizierten Situs) wurden in vorliegender Arbeit nicht berücksichtigt.

Der Mechanismus der Sekundärinfektion von präexistierenden NBTV wurde in vorliegender Arbeit dadurch bestätigt, dass das Auftreten einer mikrobiologisch nachgewiesenen Endokarditis signifikant mit der gleichzeitigen Bildung von Vegetationen um das eingebrachte Material vergesellschaftet war. Dies entspricht den Beobachtungen anderer experimenteller Studien der IE (**22**, S. 395). Zudem waren NBTV-Ausbildungen in vorliegendem Versuch bereits vor Bakterienapplikation zu sehen (vgl. Punkt 4.1.1.1.1), was für die postulierte Reihenfolge in der Pathogenese spricht. Nur in 12,2% der 56 ausgewerteten Versuchstiere war eine Infektion des Materials ohne Vegetationsbildung festzustellen, wobei die Möglichkeit einer direkten Bindung von Staphylokokken an Polymere, ohne das obligate Vorhandensein von NBTV, bereits von *Durack* beschrieben wurde (**12**, S. 81) und auch im klinischen Alltag zu finden ist (**102**, S. 719ff.).

4.1.1.1.3.1 Wahl des Bakterienstammes

Obwohl fast alle Keime eine PKE verursachen können, sind Staphylokokken sowohl in der Ätiologie der Early-Onset Endokarditis (Eintreten von Symptomen < 60 Tagen) als auch der Late-Onset Endokarditis (Eintreten von Symptomen > 60 Tagen) prädominant. Dabei ist innerhalb der letzten Jahre eine Zunahme von *S. aureus* - Infektionen, darunter solcher mit Multiresistenzen gegenüber antimikrobiellen Therapien, zu verzeichnen (**16**, S. 106). Aus diesem Grund wurde im vorliegenden Modell ein koagulase-positiver *S. aureus* verwendet, der bereits in anderen experimentellen Endokarditis-Modellen als infektiöses Agens Verwendung gefunden hat (**61**, S. 1815; **65**, S. 1748). Weitere häufige Vertreter einer PKE wie etwa Streptokokken oder *Staphylococcus epidermidis* wurden im vorliegenden Modell nicht berücksichtigt.

Auf welche Weise genau Staphylokokken an Oberflächen anhaften und worin sich diese Mechanismen von denen anderer Keime unterscheiden, ist noch immer eine zentrale Frage der Endokarditisforschung. Bereits die Pioniere der Endokarditisforschung beschrieben Unterschiede in der Aggressivität der Staphylokokken zu anderen Keimen

wie etwa den Streptokokken. In-vitro-Untersuchungen mit menschlichem oder tierischem Aortenklappenendothel zur Adhärenz verschiedener grampositiver Kokken und gramnegativer Stäbchen haben gezeigt, dass *S. aureus* deutlich stärker am Endothel haftet als etwa *Escherichia coli* und *Klebsiella pneumoniae* (24, S. 1367). Diese In-vitro-Studien zeigten eine gute Übereinstimmung mit den In-vivo-Untersuchungen von bakterieller Adhärenz an NBTV am Kaninchen: In der Untersuchung von *Freedman* konnte gezeigt werden, dass sich im Vergleich der ID 50 (Dosis, bei welcher es in 50% der Fälle zu einer Infektion kommt) von *S. aureus*, *Streptococcus viridans* und *Escherichia coli* herausstellte, dass die zur Infektion benötigte Dosis beim verwendeten *S. aureus* am geringsten war (20, S. 176).

Zwei entscheidende Mechanismen werden als Virulenzfaktoren der Staphylokokken diskutiert: Der erste Mechanismus wird in Zusammenhang gebracht mit der Produktion einer unterschiedlichen Anzahl von besonderen bakteriellen Oberflächenstrukturen, die zur Ausbildung von komplexen bakteriellen Interaktionen führen. Diese werden vor allem vermittelt über sogenannte **MSCRAMM's** (microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules) (46, S. 897; 70, S. 585). Zu diesen MSCRAMM's gehören neben den *Clumping factors A* und *B* (ClfA und ClfB), das *staphylokokkale Protein A* (SPA) sowie das *Fibronectin-binding Protein A* und *B* (FnbpA und FnbpB) und das *Collagen adhesin* (CNA). Diese genannten Oberflächenantigene interagieren mit dem Wirtsorganismus, also mit extrazellulären Matrixbestandteilen wie dem Kollagen und Laminin, aber auch mit Liganden wie dem Fibronectin, Fibrinogen und Vitronectin, welche neben der extrazellulären Matrix auch in löslicher Form in Körperflüssigkeiten wie dem Blutplasma zu finden sind (46, S. 897ff.). Die über MSCRAMM's vermittelte Interaktion geschieht meist mit hoher Affinität und auch Spezifität und bildet so einen wesentlichen Faktor für das mikrobielle Adhärenzverhalten.

Neben den MSCRAMM's ist ein zweiter Faktor ganz entscheidend für die hohe Pathogenität der Staphylokokken: 1982 konnte Christensen beobachten, dass bestimmte Staphylokokken-Stämme sich von anderen Bakterien durch die Fähigkeit unterscheiden, einen dichten Schleimüberzug auszubilden (6, S. 318ff.). Diese „Schleimproduktion“, auch „Biofilmformation“ genannt, ist neben dem Staphylokokken nur wenigen Bakterien zu eigen und beginnt direkt nach Anbindung der Mikroorganismen an entsprechende Liganden. Wichtigste Komponenten des Biofilms sind bakterielle Exopolysaccharide, die eine Glykokalix ausbilden. Diese Glykokalix kann einerseits nutritive Bestandteile des Wirtsorganismus abfiltern und das bakterielle Wachstum in einer Vegetation steuern, andererseits auch Schutz vor antimikrobiellen Substanzen und immunvermittelte Abwehrmechanismen bieten (11, S. 155ff.).

4.1.1.1.3.2 Höhe der verabreichten Bakteriendosis

Die Konzentration der intravenös verabreichten Staphylokokken-Suspension wurde in Anlehnung an ein Modell gewählt, in dem eine IE durch den gleichen *S. aureus* – Stamm mit einer Bakterienkonzentration von 5×10^6 CFU erzeugt wurde (**65**, S. 1749).

Die bei der Autopsie entnommenen Blutkulturen sowie die Gewebeproben enthielten bei positivem, mikrobiellen Befund ausnahmslos den zuvor applizierten *S. aureus* – Stamm. Dadurch lässt sich einerseits die beabsichtigte Sekundärinfektion der zuvor erzeugten sterilen Gewebeläsion nachweisen, andererseits aber auch eine unbeabsichtigte Kreuzkontamination während des operativen Eingriffes oder postoperativ weitgehend ausschließen.

4.1.1.1.4 Rolle des Fremdmaterials

Das Vorhandensein eines Fremdkörpers kann entscheidend den natürlichen Verlauf einer Endokarditis beeinflussen. Experimentell wurde aufgezeigt, dass das Entfernen des Katheters im Standardmodell der IE, die spontane Sterilisierung von bakteriell kolonisierten, experimentell erzeugten NBTV beschleunigt, während aber die Präsenz des Fremdmaterials das Persistieren der Infektion begünstigt (**17**, S. 483; **71**, S. 221). Dabei hatte die Entfernung des Katheters innerhalb von je einer Stunde vor und einer Stunde nach Bakterienapplikation einen entscheidenden Einfluss auf die Ausbildung von infizierten NBTV (**101**, S. 1273ff.). Die diesem Phänomen zugrunde liegenden Mechanismen sind nicht endgültig geklärt. Es ist vorstellbar, dass die Persistenz des Fremdmaterials kontinuierlich frische sterile Vegetationen erzeugt, welche von einer bereits infizierten Vegetation mit Bakterien beimpft werden können. Zusätzlich könnte die permanente mechanische Irritation von vorhandenen bakteriellen Vegetationen durch das Fremdmaterial die weitere Freisetzung von Bakterien begünstigen. Als weiterer Diskussionspunkt muss hinzugefügt werden, dass in der Umgebung von Fremdkörpern immunologisch günstige Wachstumsbedingungen für Keime bestehen (**17**, S. 483), und dass Fremdkörper mit der Wirksamkeit antibiotischer Substanzen interferieren (**34**, S. 911).

4.1.1.1.5 Zeitpunkt der Autopsie

Die hier gewählte Gesamtdauer des Experimentes von 48 Stunden nach Bakterieninokulation ist einerseits ausreichend, um eine effektive Infektionsrate zu gewährleisten. Zum anderen wird durch die im Vergleich zu weiteren Modellen der Endokarditis-Forschung relativ kurze Dauer eine zu hohe Letalität umgangen. Denn bereits von *Freedman* wurde in ihrem Modell einer Linksherzendokarditis eine Letalität von 44,4% innerhalb der ersten 72 h nach Katheterimplantation und Bakterienbeimpfung festgestellt (72, S. 206ff.).

4.1.1.2 Wahl der Versuchstiere

Kaninchen sind aus vielen Gründen ein häufig verwendetes Versuchstier tierexperimenteller Fragestellungen. Auch für die Erforschung der Fragestellungen vorliegender Arbeit bietet das Kaninchenmodell mehrere Vorteile: Einerseits ist das Kaninchen groß genug, um die technische Durchführbarkeit des vorliegenden operativen Ansatzes zu gewährleisten. Andererseits ist das Kaninchen klein und damit ökonomisch in der Haltung sowie ausreichend verfügbar für experimentelle Versuchsvorhaben. Allgemein bekannt sind die einfache Handhabung in der Tierhaltung und eine große Toleranz in experimentellen Versuchsvorhaben.

Das Kaninchen wurde bereits 1878 von *Ottomar Rosenbach* zur tierexperimentellen Erforschung der Endokarditis verwendet (77, S. 1ff.). Schließlich wurde 1970 von *Freedman* und *Garrison* das Standardmodell zur Erforschung der IE im Kaninchenmodell etabliert. Dabei zeigten die Kaninchen einen dem Menschen ähnlichen Krankheitsverlauf des infektiösen Prozesses, wie etwa positive Blutkulturen, Splenomegalie, Leukozytose und eine Vielzahl von Begleiterscheinungen, z. B. septische Embolien, und waren damit geeignet, um bestimmte Fragestellungen bezüglich der Pathogenese, Immunologie und Bakteriologie einer IE zu beleuchten (19, S. 456). Auch in unserem Modell erwies sich das Kaninchen als optimales Versuchstier, da es aufgrund seiner Größe zwar einfach in der Haltung, aber dennoch groß genug für das operative Vorgehen war. Das bereits von *Freedman* und *Garrison* beobachtete Erscheinungsbild der Erkrankung war auch in vorliegendem Modell nachvollziehbar.

4.1.2 Ergebnisse des Modells

4.1.2.1 Infektionsrate

Die Variationsbreite der in vielen existierenden Modellen der IE beschriebenen Infektionsraten ist groß. Diese Ungleichheit ist einerseits erklärbar durch die unterschiedliche Höhe, Dauer und Wahl der Bakterienapplikation, andererseits durch das Vorhandensein bzw. Fehlen eines intrakardial gelegenen Fremdkörpers und die Gesamtdauer des Experimentes. So ließ sich z.B. in dem von *Imataka* 1993 beschriebenen Endokarditis-Modell die Infektionsrate durch das gleichzeitige Erhöhen von Menge und Dauer der Staphylokokken-Applikation von initial 0% auf 30% steigern (**41**, S. 1354). In vorliegender Arbeit gelang mittels der oben im Einzelnen genannten Versuchsparameter eine effektive Infektion der implantierten Prothesenmaterialien in 34 von 56 Versuchstieren (60,7%). Die erzeugte Infektionsrate wurde im Vergleich zu anderen experimentellen Modellen der IE als ausreichend gewertet (z. B. 90% Infektionsrate bei *Garrison* und *Freedman*, jedoch 44% Letalität; 61,3% Infektionsrate bei *Maurin* (**61**, S. 1815; **72**, S. 206ff.)). Auf eine Änderung der Parameter, z. B. um über mehrfache Bakterienapplikation oder durch eine höhere Bakteriendosis zugleich eine höhere Infektionsrate zu gewährleisten, wurde nicht zuletzt deshalb verzichtet, damit eine höhere Letalität umgangen werden konnte.

4.1.2.2 Blutkulturen

In vorliegender Arbeit zeigte sich eine signifikante Korrelation zwischen dem Auftreten einer positiven Blutkultur und gleichzeitigem Nachweis einer intrakardialen Infektion. Die Anzahl der korrekt positiven Blutkulturen betrug 80%. In der klinischen Praxis wird die Anzahl positiver Blutkulturen bei IE unterschiedlich mit 76% bis 87% angegeben (**73**, S. 43ff.; **95**, S. 508; **97**, S. 328), also in vergleichbarer Größenordnung. In 20% der ausgewerteten Versuche war eine Bakteriämie ohne Endokarditis nachweisbar. Da *Shamsuddin* 1983 in einem Versuch mit 29 Kaninchen zeigen konnte, dass die einmalige Applikation von 10^8 CFU Staphylokokken in gesunde Kaninchen über eine marginale Vene nach 24 Stunden eine vollständige bakterielle Clearance bei allen Tieren zur Folge hatte (**82**, S. 142), ist die in vorliegender Arbeit gemessene Bakteriämie wohl nicht mehr reiner Ausdruck der noch im Blut zirkulierenden, restlichen Bakterien nach Applikation. Es müssten auch in vorliegendem Modell 24 h nach Beimpfung der Tiere keine Bakterien mehr im Blut nachweisbar sein, es sei denn, es hätte bereits eine Absiedelung der Keime in ein Organsystem stattgefunden und die Keime würden von dort aus wieder in das Blut freigesetzt. Dieser Annahme entsprechen auch die in vorliegender Arbeit gemachten Beobachtungen, dass bei den genannten 20% zwar keine intrakardiale Infektion, aber eine Infektion der Nieren oder Milz mikrobiologisch nachweisbar war. In allen Tieren

(n=9) ohne nachweisbare Infektion aller entnommenen Organe waren entsprechend auch die Blutkulturen negativ.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass ein positiver Blutbefund als positives Infektionskriterium zu werten ist. Ohne eine Organinfektion kam es nicht zur Ausbildung von positiven Blutkulturen.

4.1.2.3 Folgekomplikationen der experimentell erzeugten IE

4.1.2.3.1 Splenomegalie

Eines der Leitsymptome der IE ist die Splenomegalie, die als Zeichen einer zellulären Immunreaktion im Zusammenhang mit einer Monozytose, oder aber im Rahmen einer primären oder sekundären Rechtsherzinsuffizienz durch bakteriellen Klappenbefall der rechten bzw. linken Herzseite häufig zu finden ist. Sie ist heutzutage in ca. 50% der klinischen Fälle anzutreffen und galt früher sogar als ein obligates Kriterium der IE.

Entsprechend der von *Freedman* und *Garrison* in ihrem Standardmodell festgesetzten Kriterien (72, S. 210) bei Kaninchen gleichen Gewichtes, wurde in der vorliegenden Arbeit bei einem Milzgewicht von > 2 g von einer Splenomegalie ausgegangen. Entsprechend dieser Kriterien wäre es in 81,4% der untersuchten Tiere zum Auftreten einer Splenomegalie gekommen, wobei sich kein signifikanter Unterschied im Auftreten und Ausmaß einer Milzgewichtszunahme zwischen den Tieren mit mikrobiell nachgewiesener IE oder ohne IE zeigte. Die Zunahme der Milzgröße ist also in vorliegendem Modell kein sicheres Kriterium einer intrakardialen Infektion. Ob die Versuchstiere a priori ein höheres Milzgewicht aufwiesen als die von *Freedman* und *Garrison* verwendeten Kaninchen, oder aber ob es sich um eine Splenomegalie durch relative Rechtsherzinsuffizienz nach operativ erzeugter Mitralklappeninsuffizienz handelte, ist in dieser Versuchsanordnung nicht zu klären. Es könnte auch anzunehmen sein, dass es aufgrund einer vermehrten Immunreaktion, hervorgerufen durch die Bakterienapplikation, zu einer Vergrößerung der immunvermittelnden, weißen Milzpulpa in allen Tieren kam.

4.1.2.3.2 Infektion Milz und Nieren

Im klinischen Alltag bestehen embolische Komplikationen im Zuge einer IE nicht selten, diese finden sich in absteigender Reihenfolge in der Niere, im Gehirn und in der Milz, spärlicher finden sich Mikroembolien im Myokard bzw. weitere periphere Embolien. Diese absteigende Tendenz zeigte sich auch in vorliegender Arbeit (s. Tab. 1). In vorgelegtem Modell fand sich in allen Gruppen die höchste Keimdichte intrakardial. Je weniger Keime am Patchmaterial mikrobiologisch nachgewiesen werden konnten, desto weniger Keimdurchsetzung der Folgeorgane war festzustellen (s. Tab. 1). Da z. B. die GAP-Gruppe die niedrigste intrakardiale Keimzahl aufwies, waren entsprechend die Keimzahlen in Milz und Niere niedriger als in den anderen Gruppen.

Auch in anderen experimentellen Endokarditis-Modellen ist das Auftreten von septischen Embolien nach Erzeugen einer IE häufig beschrieben (22, S. 399). Das vorgelegte Modell entspricht somit der klinischen Situation und kompetitierenden Endokarditis-Modellen.

4.1.3 Vergleich des vorgelegten Modells zu existierenden Modellen der IE

Im Folgenden werden die im Ergebnisteil beschriebenen Daten des vorliegenden Modells mit bereits etablierten In-vivo - Modellen diskutiert. Die existierenden In-vitro - Modelle entsprechen nicht der klinisch-physiologischen Situation im Menschen, auf ihren Vergleich wird aus diesem Grund verzichtet.

4.1.3.1 Modell-Konzept der IE nach *Freedman* und *Garrison*, 1970

In den Jahren 1878-1881 unternahm *Ottomar Rosenbach* Untersuchungen an experimentell erzeugten Herzklappenläsionen (77, S. 1ff.). Die Fragen, die er damit zu klären versuchte, waren, wann und unter welchen Bedingungen es möglich sei, eine Endokarditis zu erzeugen, und wie experimentelle Ergebnisse dabei helfen könnten, klinische Fragestellungen zu beantworten. *Rosenbach* erzeugte die Endokarditis in einem Kaninchenmodell wie folgt: Nach Isolation und Präparation der rechten Arteria carotis wurde eine dünne Knopfsonde eingeführt und durch einen Faden fixiert. Die Sonde wurde bis in den linken Ventrikel vorgeschoben. So sollte die Klappe, ohne Verletzung des umliegenden Gewebes oder Blutung, durch die Sonde in einer Zwangsstellung gehalten werden. Die Sonde war dabei entweder zuvor durch Erhitzen sterilisiert oder im Kontroll-Arm des Versuches mit septischem Material behandelt worden. Die Tiere wurden fünf Wochen später eingeschläfert und autopsiert. Dabei konnte *Rosenbach* erstmals experimentell einen direkten Zusammenhang zwischen den infektiösen Kanülen und der Endokarditis herstellen.

1886 konnte *Vladimir Wyssokowitsch* im gleichen Modell zeigen, dass eine Perforation der Klappe nicht unbedingt notwendig war, um eine Endokarditis zu erzeugen, sondern dass vielmehr alleine oberflächliche Verletzungen durch die Sonde günstige Voraussetzungen für das Anheften und Wachstum der Bakterien schafften (44, S. 876ff.).

Nahezu alle Tiermodelle zur Erzeugung einer experimentellen Endokarditis, die bis heute Verwendung finden, sind den Ende des 19. Jahrhunderts entwickelten Modellen von *Rosenbach* und *Wyssokowitsch* sehr ähnlich und werden in der Regel relativ unspezifisch durch eine Endothelverletzung mit darauf folgender Bakterieninokulation induziert (5, S. 263ff.; 64, S. 1593ff.; 99, S. 697ff.): So auch das Endokarditis-Modell am Kaninchen nach seinen Erstbeschreibern *Garrison* und *Freedman* (1970), das heutzutage das Standardmodell der Erforschung der akuten bakteriellen Endokarditis ist (22, S. 394ff.): Aus der klinischen Beobachtung heraus, dass sich intravenös liegende Katheter häufig infizieren (84, S. 1229ff.), verwandten sie in ihrem Kaninchenmodell statt einer Knopfsonde, einen mit virulenten Keimen gefüllten Polyethylenkatheter, den sie über die rechte bzw. linke Arteria carotis, respektive Jugularvene, in das linke oder rechte

Herz einbrachten. Durch den auf diese Weise mechanisch induzierten Zellschaden des Klappenendothels schafften sie eine für die Anheftung der im Katheter befindlichen Keime anfällige Oberfläche. Die Infektion der präexistierenden Läsionen geschah dann abhängig von (1) der Menge des Inokulums und (2) der Virulenz des Bakterienstammes. Trotz des entscheidenden Einfluss des Polyethylenkatheters auf die Pathogenese der in diesem Modell erzeugten IE, stand das Fremdmaterial für die Untersucher im Hintergrund, jedoch entspricht das Modell damit eher dem Pathomechanismus einer PKE, nicht einer NKE. Durch relative Einfachheit in der Durchführung und Vorteile im zeitlichen, personellen sowie technischen Aufwand, wäre das Kathetermodell dem vorliegenden operativen Modell überlegen: Die Dauer der intrakardialen Implantation eines Polyethylenkatheters über ein peripheres Gefäß ist mit etwa 20 Minuten beschrieben, der personelle Bedarf entspricht nur jeweils einer Person.

Einen entscheidenden Nachteil gegenüber dem operativen Ansatz bietet das Kathetermodell jedoch in der fehlenden Standardisierbarkeit der erzeugten Gewebeläsion und Mitralinsuffizienz mittels des intrakardial frei flottierenden Katheters. Die größte Beschränkung erfährt dieses Modell aber, da es nicht die Möglichkeit einer gezielten intramyokardialen Platzierung unterschiedlicher Prothesenmaterialien bietet bzw. die Untersuchung auf deren bakterielles Adhärenzverhalten unabhängig vom eingebrachten Polyethylenkatheter nicht ermöglicht.

Erstaunlicherweise ist die mit 44,4% (4 von 9 Versuchstieren) angegebene Letalität innerhalb der ersten 72 h in dem von *Freedman* und *Garrison* beschriebenen Linksherzmodell (72, S. 206ff.) ungleich höher als in vorliegendem Modell (27%), obwohl im Zuge des herzchirurgischen Eingriffes eine höhere Letalitätsrate zu erwarten wäre.

Der Unterschied der Letalität ist vermutlich zurückzuführen auf eine vermehrte NBTV-Ausbildung durch ständige mechanische Reizung des frei flottierenden Katheters und die kontinuierliche Bakterienapplikation aus dem Katheterlumen. Insgesamt ist zu erwarten, dass der Kreislauf durch die permanente und höhere Bakterienfreisetzung mehr belastet wird als im operativen Modell, und es durch eine vermehrte septische Embolisation und Immunantwort des Wirtstieres zu einem fulminanteren Verlauf kommt.

Die Vergleichbarkeit beider Modelle findet sich lediglich in den Folgemechanismen wie etwa dem Auftreten einer Splenomegalie, von Niereninfarkten oder positiven Blutkulturen.

4.1.3.2 Modell-Konzept der IE nach *Imataka, 1993* und *Maurin, 1997*

Die von *Imataka* und *Maurin* beschriebenen Modell-Konzepte unterscheiden sich deutlich vom Katheter-Modell nach *Freedman*. Sie sind in ihrer Pathogenese der NKE und nicht der PKE ähnlich, da sie auf ein permanent intravaskulär gelegenes Fremdmaterial verzichten:

Das von *Imataka* 1992 erstmals beschriebene Modell-Konzept verzichtet komplett auf das intrakardiale Einbringen von Fremdmaterial, die Gewebeläsion und damit Induktion einer NBTV-Ausbildung wird durch eine wiederholte elektrische Vagusreizung (50 Hertz ad 1 msec) hervorgerufen. Diese führt über ungeklärte Mechanismen zur Ausbildung von Mikroläsionen an Mitralklappe, Mitralklappen-Anulus sowie dem linksventrikulären Papillarmuskelgewebe (41; S. 1353ff.).

Dem von *Imataka* beschriebenen Modell ähnlich ist das im Jahr 1997 von *Maurin et al.* entwickelte Modell an Meerschweinchen (61, S. 1815ff.), in dem über eine kathetervermittelte Elektrokoagulation eine gezielte Aortenklappenläsion gesetzt wird, der Katheter nach erfolgter Intervention jedoch sofort wieder entfernt wird.

In beiden Fällen erfolgt die Infektion der im Rahmen der Gewebeläsion entstandenen NBTV durch die sekundäre intravenöse Applikation von *S. aureus* über eine periphere Vene.

Beide Modelle sind auf die experimentelle Untersuchung der NKE, nicht aber PKE-relevanter Fragestellungen ausgerichtet und somit zur Beantwortung der in dieser Arbeit genannten Problematiken nicht geeignet.

4.1.3.3 Modell-Konzept der PKE nach *Jones, 1968*

Zur In-vivo-Evaluation von künstlichen Herzklappen wurden in diesem Modell 134 Hunde mit einer mechanischen Mitralklappe verschiedenen Designs versehen (48, S. 293ff.). Durch den kompletten HKE in den Tieren wurde eine, der physiologischen Situation nach HKE im Menschen am ähnlichste Situation geschaffen. Es zeigte sich aber im Hundemodell eine im Vergleich zum Menschen oder Rind erstaunlich höhere postoperative perivalvuläre Thrombusformation (NBTV) mit bakterieller Besiedelung und gesteigerter Letalität (34% innerhalb der ersten 24 Stunden). Dies führten die Autoren auf eine im Hund erhöhte Autoinfektionsrate aus dem Gastrointestinal-Trakt über den Portalkreislauf zurück, der durch einen während des kardiopulmonalen Bypasses entstehenden Kreislaufschock entstehe und so weder bei Mensch noch Rind zu finden sei. Aufgrund dieser mikrobiellen Interferenzen eignet sich das Hundemodell nicht zur Untersuchung der Fragestellungen dieser Arbeit.

Der zweite entscheidende Nachteil liegt in den anspruchsvolleren Haltungsbedingungen der größeren Tiere sowie der aufwendigeren Technik bei komplettem HKE, welcher nur

in großen Tieren möglich ist. Das Zweitgenannte gilt auch für ähnliche experimentelle Versuche im Rind oder Schwein (**28**, S. 64ff.; **35**, S. 413ff.).

4.1.3.4 Modelle zur Erforschung von Protheseninfektionen jeglicher Art

Neben den oben genannten Modell-Konzepten der Endokarditisforschung haben sich viele Wissenschaftler experimentell mit Protheseninfektionen verschiedenster Art auseinandergesetzt. Diese Modelle repräsentieren im Wesentlichen Infektionen der Kutis bzw. Subkutis oder entzündliche Prozesse im Gelenk- bzw. Knochenbereich (**4**, S. 614ff.; **9**, S. 1295ff.; **49**, S. 35ff.; **51**, S. 878ff.). Damit sind sie nicht geeignet, intravaskulär gelegene, infektiöse Prozesse zu beleuchten und werden in vorliegender Arbeit nur der Vollständigkeit halber erwähnt.

4.1.4 Schlussfolgerung

In Zusammenschau der Ergebnisse konnte mittels vorliegenden Modells erfolgreich und reproduzierbar eine Endokarditis erzeugt werden, die in ihrer Pathogenese der klinischen Situation einer PKE entspricht. Dabei bietet das vorgelegte Tiermodell die Möglichkeit, verschiedene Fremdmaterialien gezielt intrakardial zu platzieren und sekundär bakteriell zu infizieren. Das vorgelegte Endokarditis-Modell ist nach aktuellem Kenntnisstand der Autorin das erste experimentelle Endokarditismodell, bei welchem standardisiert eine Veränderung der hämodynamischen Situation (i.e. Mitralsuffizienz) erzeugt werden konnte, die zur Ausbildung von Vegetationen als hilfreich erachtet wird.

In der Regel trat eine nachgewiesene intrakardiale Infektion im Zusammenhang mit einer mikrobiellen Besiedelung des nachgeschalteten Organsystems auf, wobei die Keimzahl der untersuchten Folgeorgane üblicherweise geringer war als die der kardialen Gewebeproben. Dies lässt sich als eine primär intrakardiale Infektion mit sekundärer septisch-embolischer Verschleppung in die Folgeorgane werten, wobei untersuchte Gewebeproben mit makroskopisch sichtbaren Veränderungen (i.e. Infarktzone) deutlich größere Keimdichten aufwiesen als morphologisch unauffällige Organe. Ebenso ging eine intrakardiale Infektion normalerweise mit einem positiven Blutkulturbefund einher. Somit ist das Modell auch geeignet, den klinischen Verlauf einer PKE widerzuspiegeln.

Anders als existierende Modelle der IE erlaubt das vorgelegte PKE-Modell die intrakardiale Infektion verschiedener, standardisiert eingebrachter Fremdmaterialien und imitiert die Situation einer PKE damit besser als bereits etablierte Modelle der IE. In Infektionsrate und Letalität ist das vorgelegte Modell trotz eines durch die Operation zu erwartenden höheren Letalitätsrisikos den existierenden Endokarditismodellen vergleichbar.

4.2 Vergleich der implantierten Fremdmaterialien

Da, wie bereits erwähnt, der „Materialfrage“ eine entscheidende Bedeutung im Entstehen der PKE zugeschrieben wird, sollte das Modell durch die einfache Implantation und Untersuchung verschiedener Fremdmaterialien intrakardial einen Vergleich der bakteriellen Kolonisation verschiedener Materialien ermöglichen. Mit diesem Vergleich beschäftigt sich der zweite Teil der Arbeit.

4.2.1 Wahl der untersuchten Materialien

In der Klinik werden Unterschiede zwischen mechanischen und biologischen Prothesenklappen hinsichtlich der Entstehungsmechanismen einer PKE postuliert. Prothesen aus künstlichem Material (wie z.B. Metall, Silikon oder Pyrolit®) bieten Mikroorganismen im Bereich der künstlichen Klappensegel keine Möglichkeit zur Adhärenz, so lange sie frei von thrombotischem Material sind. Stattdessen entstehen Infektionen mechanischer Prothesen oft im Bereich des Klappenrings (üblicherweise aus Polypropylen, Teflon oder Dacron®) (**31**, S. 1781; **94**, S. 444).

Demgegenüber befinden sich Bakterien in explantierten Bioprothesen oder allogenen Transplantaten meist direkt auf den Klappensegeln oder auf den Klappen anhaftenden Mikrothromben (**93**, S. 553), und zeigen nur wenig Tendenz, den Klappenring zu befallen oder perivalvuläre Abszesse auszubilden.

Die Auswahl der im vorliegenden Endokarditismodell getesteten Materialien erfolgte entsprechend diesem Tatsachenbestand: So steht das Material Polyethylene-Terephthalat, auch bekannt als Dacron®, für synthetische Klappen, da der Klappenring der meisten etablierten mechanischen Klappenprothesen daraus gefertigt ist. Glutaraldehydfixiertes autologes Perikard und kryopräservierte Allografts sind in Vertretung der Bioprothesen gewählt worden und entsprechend geltenden Standards vor Implantation behandelt worden.

Als zusätzliches Material wurde ein durch eine spezielles Verfahren silberbeschichtetes Polyester-Material untersucht, das in der St. Jude „Silzone™“-Klappe zum Aufbau des Klappenringes Verwendung findet (**40**, S. 524; **93**, S. 553): Seit dem 19. Jahrhundert ist Silber in der Medizin als bakterizid wirkendes Agens bekannt (**25**, S. 122ff.; **93**, S. 553). St. Jude hat sich, im Wissen um die hohe Letalität bei PKE, diese Beobachtung zunutze gemacht, um eine entsprechende Klappe, die Silzone™-Klappe, herzustellen. Diese Klappe fand bereits klinisch Anwendung, musste jedoch aufgrund vermehrter Bildung paravalvulärer Lecks frühzeitig vom Markt genommen werden (**43**, S. 1055ff.; **81**, S. 758ff.; **90**, S. 729ff.; **96**, S. 785ff.). Da die Idee, Materialien durch den Einsatz von Silber weniger infekтанfällig zu machen, jedoch weiterhin verfolgt wird, wurde das Material in die Auswertung der vorliegenden Arbeit mit eingeschlossen.

Bei der Versuchsplanung wurde darauf geachtet, dass die Implantation der Materialien streng dem Zufall entsprechend erfolgte.

4.2.2 Vergleich der Materialien hinsichtlich der nachgewiesenen Keimdichte

Betrachtet man allein das Auftreten einer nachgewiesenen, intrakardialen Infektion (Inzidenz der Endokarditis), dann ergab die Gegenüberstellung der verschiedenen Materialien keinen Unterschied. Auch mittels Elektronenmikroskopie ließ sich lediglich das Vorhandensein von Bakterien nachweisen, eine quantitative Aussage war jedoch nicht möglich. Vergleicht man jedoch die relative Keimdichte der mikrobiell positiven intrakardialen Materialien, ließ sich ein Trend hinsichtlich einer geringeren mikrobiellen Kolonisation der Biomaterialien, v. a. des GAP nachweisen (vgl. Fig. 8). Dabei ist die große Streubreite der Einzelwerte zu berücksichtigen: durch einen Wegfall der Extremwerte würden die Unterschiede in der Keimbesiedelung der Materialien sogar eine statistische Signifikanz erreichen, die bei Auswertung aller Ergebnisse jedoch nicht gegeben ist.

Da die Implantation des Materials und auch die Bakterienapplikation in Menge und Zeitpunkt streng standardisiert erfolgte, muss der Unterschied der bakteriellen Besiedelung durch die Substrate selbst bedingt sein. Dabei ist anzunehmen, dass es im Rahmen der zeitlichen Standardisierung der Bakterienapplikation zu einer vermehrten Bindung von Bakterien an die synthetischen Materialien kommt, die primären Kolonien sich durch ihr exponentielles Wachstum zunehmend vermehren, und letztendlich zum Zeitpunkt der Autopsie eine größere Keimdichte besitzen als die der biologischen Materialien, da mehr Ausgangskolonien zur Verfügung stehen. Die augenscheinlichste Begründung einer vermehrten Bindung von Bakterien liegt im Unterschied der Oberflächenbeschaffenheit der Materialien begründet: Elektronenmikroskopisch konnte gezeigt werden, dass die synthetischen Materialien DAC und SIL eine deutlich gröbere Oberflächenbeschaffenheit haben als die biologischen Materialien GAP und AG, selbst nach Behandlung der Patches mittels Kryopräservierung bzw. Fixation in Glutaraldehyd. Es muss davon ausgegangen werden, dass diese „gröbere“ Oberfläche der synthetischen Materialien durch eine insgesamt größere Gesamtoberfläche erheblich mehr Interaktionsmöglichkeiten bietet als die entsprechend „glattere“ Oberfläche der biologischen Materialien.

Die Auswirkung dieses Oberflächen-Unterschiedes soll im Folgenden weiter erläutert werden.

4.2.2.1 Unterschiede in der NBTV-Ausbildung der Materialien

Eine unnatürliche Oberfläche, wie sie bei Klappenprothesen anzutreffen ist, aktiviert immer das Gerinnungssystem und führt damit zur NBTV-Ausbildung. Eine Gerinnungsaktivierung wäre somit bei allen verwendeten Materialien in vorliegender Arbeit gegeben. Selbst das vitale Allograft-Gewebe wird durch den Kryopräservationsprozess derart verändert, dass es seine Deckendothelschicht verliert (57, S. 912ff.) und auf diese Weise ebenfalls die physiologische Gerinnungskaskade aktiviert. Aus diesem Grund werten manche Autoren kryopräserviertes Allograft-Gewebe auch als „morphologisch nicht vital“ (80, S. 72). Somit unterscheiden sich die Materialien nicht in ihrer generellen Neigung zur Fibrin-Thrombus-Formation.

Geht man von unterschiedlichen Interaktionsmöglichkeiten durch die verschiedenen Oberflächenbeschaffenheiten aus, muss man annehmen, dass der Ausbildung der Gerinnungskonglomerate unterschiedlich viele Liganden zur Verfügung stehen, je nachdem, wie groß die Gesamtoberfläche ist: Je größer also die Fläche, desto mehr NBTV-Ausbildung. Wenn, wie angenommen, in einem zweiten Schritt erst die Anheftung der Bakterien erfolgt, dann würde eine vermehrte Bereitstellung bindungsfähiger Plättchen-Fibrin-Thromben die bakterielle Besiedelung deutlich erleichtern.

4.2.2.2 Unterschiede in der direkten Oberflächenanhaftung der Bakterien

Neben einer primären NBTV-Ausbildung mit sekundärer bakterieller Besiedelung ist eine direkte Adhäsion der Bakterien an die Oberfläche der Materialien mit anschließender NBTV-Bildung in Erwägung zu ziehen. In einer Studie von *Ferguson* und dessen Kollegen zur Staphylokokken-Endokarditis, konnte ein Nebeneinander von reiner bakterieller Kolonisation des Klappenendothels mit wenig begleitendem Gerinnungsmaterial auf der einen Seite, und einem in NBTV eingebetteten Keimmaterial auf der anderen Seite gezeigt werden, wobei nicht genannt werden konnte, in welcher Reihenfolge diese koexistierenden, infektiösen Läsionen entstanden waren (15, S. 679ff.).

Auch in vorliegendem Modell kam es in 12,2% der auswertbaren Versuche zu einer bakteriellen Kolonisation des implantierten Materials ohne makroskopisch sichtbare Vegetationsformation bei Explantation: es wäre auch hier die Initiierung der Infektion durch die Staphylokokken möglich, allerdings wurde methodisch eine primäre Bindung von Plättchen und Fibrin ohne gleichzeitige, makroskopisch sichtbare Vegetationsbildung nicht ausgeschlossen, eine elektronenmikroskopische Beurteilung entsprechender Materialien ist nicht erfolgt.

Auch bei der primär rein mikrobiellen Besiedelung bietet eine gröbere und damit größere Oberfläche mehr Bindungsmöglichkeiten für die spezifischen Rezeptoren und

membranständigen Moleküle der beteiligten Keime. Dabei spielt neben den dargebotenen Liganden auch die atomare Geometrie und der elektronische Status des betroffenen Materials in der bakteriellen Adhärenz eine Rolle (**26**, S. 1588ff.).

4.2.2.3 „Conditioning“ oder Interaktion des Substrates mit der Umgebung

Beide oben dargestellten Mechanismen sind in der Entstehung der PKE vorstellbar, aber vielleicht zu „groß“ gedacht. So ist es möglich, dass es direkt nach Implantation eines Materials in ein funktionierendes physiologisches System durch die Adsorption von Wasser, Albumin, Lipiden, extrazellulären Matrixbestandteilen, Komplement, Fibronectin, anorganischen Salzen, etc. zur sofortigen Ausbildung einer Deckschicht aus Glycoproteinen und weiteren Blutbestandteilen wie etwa Fibronectin, Fibrinogen, Kollagen und anderen Proteinen kommt (**11**, S. 155ff.; **26**, S. 1588ff.; **69**, S. 677ff.). Dieser Vorgang der Interaktion des Substrates mit seiner Umgebung, der von vielen Autoren auch als „conditioning“ bezeichnet wird und sich auf einer molekularen Ebene, im Nanometer-Bereich, abspielt, ist sicher ein Mechanismus, der sowohl auf eine mögliche Thrombusformation (NBTV) als auch auf die bakterielle Andockungs- und schließlich Anheftungsphase einen entscheidenden Einfluss ausübt (vgl. Abb. 19).

Ist eine Oberfläche einmal von einer solchen Deckschicht überzogen, dann ist ihre Beschaffenheit, und damit auch die Wechselwirkung mit der Umgebung, permanent verändert. Sowohl Thrombusformation (NBTV) als auch bakterielle Adhärenz kann also für eine definierte Oberfläche sehr unterschiedlich ausfallen, abhängig davon, ob dieselbe nativ getestet wird oder aber in einem physiologischen System durch „conditioning“ verändert ist (**11**, S. 159).

Die Sequenz und vielleicht auch die Zeit des „conditioning“ ist dabei wieder abhängig von der nativen Oberflächenbeschaffenheit des zugrunde liegenden Materials: Der primäre Status (atomare Geometrie, Elektronenladung) des Gewebes wird die Sequenz, Streuung und die Zusammensetzung der am conditioning beteiligten Substanzen bestimmen. Metalllegierungen z.B. formieren eine dünne (100 bis 200 Å) Oxidationsschicht (**26**, S. 1588ff.) während Polymere und Metalle in Abhängigkeit von deren Oberflächentextur, Manufakturprozessen, ionischen und glycoproteinischen Komponenten der Wirtsumgebung ihre dynamischen Prozesse an der Oberfläche ausbilden. Als etwas vereinfachte Faustregel gilt, dass die primäre Adhäsion von Blutbestandteilen und Bakterien auf avitalen, so genannten „abiotischen“ Oberflächen mehr oder weniger auf nichtspezifische Wechselwirkungen (z.B. Hydrophobizität oder van der Waals-Kräfte) zurückzuführen ist, während man bei Anheftung an lebendes oder devitalisiertes Gewebe von der Ausbildung spezifischer molekularer

Andockungsmechanismen ausgeht (z.B. über Lektine, Liganden oder Adhäsine) (**11**, S. 156-157; **26**, S. 1588ff.).

Auch in vorliegender Arbeit ist davon auszugehen, dass sich manche Unterschiede in der mikrobiellen Besiedelung der getesteten Materialien auf den Vorgang des „conditioning“ zurückführen lassen: so kann das „Versagen“ der an sich antimikrobiell wirksamen Silberbeschichtung in vorliegendem Modell im Phänomen des „conditioning“ begründet liegen, bei welchem durch das Ausbilden einer Plasmadeckschicht nach Implantation des Materials zugleich eine Neutralisierung der Silberschicht erfolgt. Auch die in die klinische Praxis transportierten Überlegungen, durch entsprechende präoperative Behandlung des Prothesenmaterials (z. B. durch Silberbeschichtung, Antibiotikumbeschichtung oder Behandlung mit Hydrogenperoxid) eine bakterielle Besiedelung zu verhindern (**2**, S. 2123ff.; **7**, S. 1432ff.; **23**, S. 751ff.; **25**, S. 122ff.; **93**, S. 553ff.), sollten eine Überlegung hinsichtlich des conditioning-Phänomens erfahren.

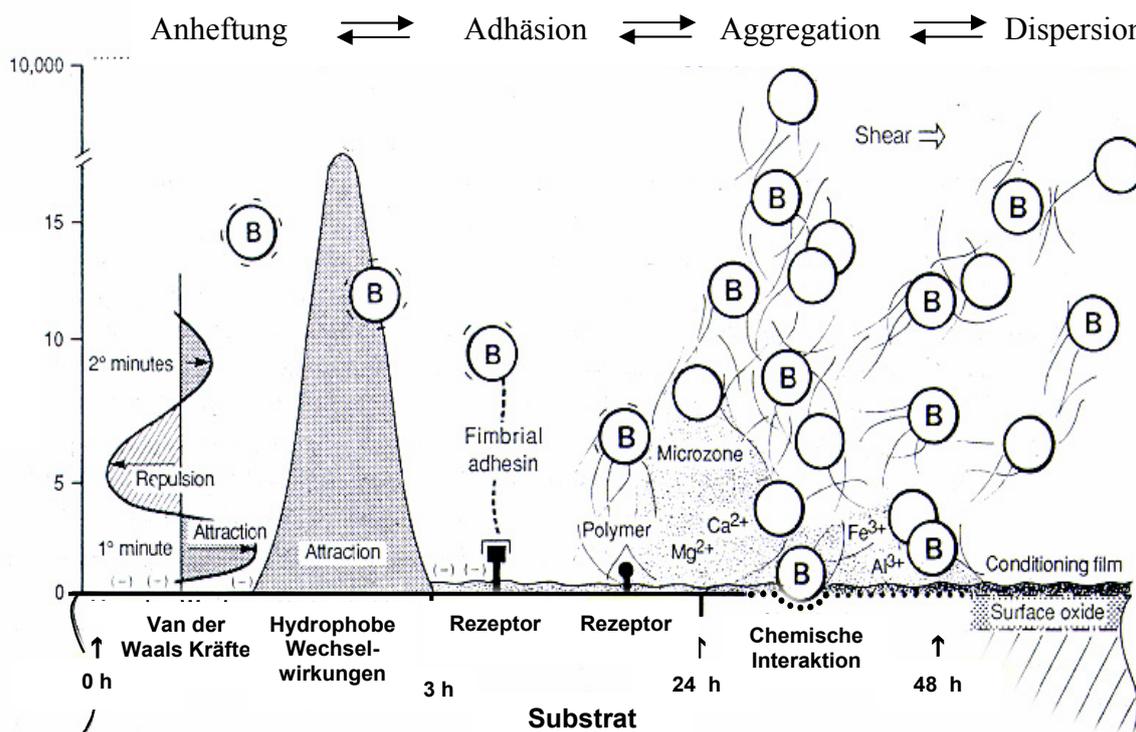


Abb. 19: Rolle der Wechselwirkung an der Substratoberfläche auf die bakterielle Adhärenz. **B** für Bakterien. (entnommen aus (**26**, S: 1589))

4.2.2.4 Rolle der Glutaraldehyd-Fixation

Die GAP-Gruppe zeigte, wie oben beschrieben, die niedrigste Keimbesiedelung. Inwieweit die Fixation des Materials in Glutaraldehyd zu einer niedrigeren Adhäsion von Bakterien, einer verminderten bakteriellen Überlebensfähigkeit, einer deutlich verminderten NBTV-Bildung, oder aber einer Veränderung der „conditioning“-Parameter geführt hat, ist nicht abschließend zu beantworten, dieser Einfluss ist aber vorstellbar, da dem Glutaraldehyd eine toxische Wirkung zugeschrieben wird (21, S. 1522-1523).

4.2.3 Unterschiede der Folgekomplikationen im Vergleich der Materialien

Entsprechend der Annahme, dass es in vorgelegtem Modell zunächst zur Ausbildung einer intrakardialen Infektion mit sekundärer, embolischer Verschleppung der Bakterien in die Folgeorgane kommt, war die Keimdichte auch bei Vergleich der verschiedenen Materialien immer intrakardial am höchsten, gefolgt von Nieren und Milz (vgl. Tab. 1).

Entsprechend dem Trend war in vorliegender Arbeit die Keimdurchsetzung der peripheren Organe bei den Biomaterialien der GAP- und AG-Gruppe niedriger als bei den synthetischen Materialien der SIL- und DAC-Gruppe ohne eine sichere statistische Signifikanz zu erreichen (Ausnahme im Vergleich des Nierenbefalls zwischen GAP- und SIL-Gruppe mit $p = 0,028$).

Erstaunlicherweise kam es, betrachtet man alleine die Infektions-Inzidenz und nicht die Höhe der Keimzahl, am häufigsten in der AG-Gruppe zu einer Infektion der peripheren Organsysteme, gleichwohl sich in der Auszählung der Bakterien die zweitniedrigste Keimdichte in der AG-Gruppe nach der GAP-Gruppe finden ließ. Warum das AG-Material in vorliegender Arbeit häufiger zu einer Embolisierung neigte als die anderen Materialien ist nicht eindeutig klärbar. Auch ist nicht nachvollziehbar, warum es in einigen Tieren der AG-Gruppe zu einer Infektion der peripheren Organe, nicht aber des Herzens kommt.

4.2.4 Schlussfolgerung

Im Vergleich der verschiedenen Materialien bezüglich einer positiven intrakardialen Infektion findet sich kein Unterschied zwischen den Biomaterialien GAP und AG und den synthetischen Geweben DAC und SIL. Dabei zeigt sich dennoch eine deutlich geringere relative Keimdichte der Biomaterialien, v. a. des GAP, sowohl, was die Patchmaterialien selbst, als auch, was die Folgeorgane Nieren und Milz angeht.

Dies ist am ehesten auf die präventive Funktion einer glatteren Oberfläche der biologischen Patches zurückzuführen. Der elektronenmikroskopisch nachgewiesene Unterschied der einzelnen Gruppen im Bezug auf deren Oberflächenstruktur und die dazu kongruierenden mikrobiologischen Daten in vorliegender Arbeit untermauern diese These. Dabei ist anzunehmen, dass die insgesamt kleinere Gesamtoberfläche der glatteren Biomaterialien durch eine geringere Bereitstellung bindungsfähiger Liganden zu einer verminderten Adhäsion von Bakterien führt, die trotz exponentieller Vermehrung der Mikroorganismen geringere Keimdichten bei Autopsie aufweisen als die „gröberen“ synthetischen Materialien. Dies erklärt auch die Tatsache, dass es trotz einer vergleichbaren Infektionsinzidenz zu einer unterschiedlich ausgeprägten mikrobiellen Besiedelung der Patches und der Folgeorgane kommt.

Der fehlende antibakterielle Effekt der Silberbeschichtung ist vermutlich zurückzuführen auf eine Bedeckung des Materials mit einer Plasma-Schicht direkt nach Implantation in ein physiologisches System und somit Wirkungsverlust der Silberionen, die nicht durch diese Schicht diffundieren können. Effektive Strategien, um die Infektion einer Prothese zu reduzieren, müssen sich also mit einer geeigneten Oberflächenmodifikation auseinandersetzen, sowohl was die Gesamtoberfläche der Materialien als auch die Wirksamkeit antibakterieller Beschichtungen angeht.

4.2.5 Materialdiskussion im Vergleich zu klinischen Studien

Natürlich ergibt sich nach Erhebung der mittels dieses Modells gewonnenen Daten die Frage, ob sich diese mit den im klinischen Alltag erworbenen Erfahrungswerten vergleichen lassen. Um diesen Vergleich zu ziehen, muss man die klinischen Studien grundsätzlich unterteilen in generelle Follow-up – Studien, die den Prozentsatz an Komplikationen, so z.B. auch den einer PKE, angeben, und Studien über den Ersatz der Herzklappe im Rahmen einer bereits etablierten Prothesenklappenendokarditis. Dieser Unterschied ist wichtig, da die zugrunde liegenden Pathomechanismen sich deutlich voneinander unterscheiden: In ersten Fall kommt es zur Ausbildung einer Protheseninfektion durch perioperative Kontamination oder aber durch spätere Bakteriämie. Beim zweiten Fall aber handelt es sich fast ausschließlich um eine operative Kontamination, da die Klappen immer in bereits infiziertes Gewebe eingebracht werden

müssen. In vorliegendem Modell wird die erste Situation imitiert, jedoch sind, im Bezug auf die Materialdiskussion, auch die Ergebnisse der zweiten Studien von Bedeutung, denn auch sie können einen Unterschied im bakteriellen Adhärenzverhalten von Materialien aufdecken.

4.2.5.1 Vergleich mit Follow-up - Studien nach HKE

Es gibt zahlreiche klinische Studien zu verschiedenen, heutzutage zum HKE verwendeten Materialien und auch viele Langzeit-Beobachtungen der Klappen im Bezug auf mögliche Komplikationen. Eine Zusammenfassung mehrerer großer klinischer Studien im Zeitraum 1989-1999 wurde von *Grunkemeier et. al.* im Jahr 2000 veröffentlicht (**29**, S. 73ff.). In dieser vergleichenden Studie werden verschiedene mechanische (Kugelprothesen, Scheibenprothesen und Doppelfügelprothesen) und biologische Klappen (Schweineklappen, Rinderperikardklappen, Homografts/Allografts) neben weiteren Komplikationen auch auf die Inzidenz einer PKE hin einander gegenübergestellt. Von den jeweils gängigen Firmen wurden dabei alle Modelle bis hin zu den aktuellsten des Beobachtungszeitraumes berücksichtigt. Dabei betrug die Endokarditisrate bei den meisten der evaluierten mechanischen und auch biologischen Prothesen in Aorten- oder Mitralposition weniger als 1% pro Jahr. Die biologischen Klappen waren dabei in der Endokarditisinzidenz den mechanischen vergleichbar (s. Abb.20 a + b und 21 a + b). Diese Beobachtung und die anderer Follow-up Studien (**3**, S. 359ff.; **27**, S. 1698ff.; **32**, S. 1289ff.) deckt sich somit mit denen dieser Arbeit, denn auch hier wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen Biomaterial und mechanischem Prothesenmaterial hinsichtlich der Infektions-Inzidenz gefunden.

In Betrachtung nur der biologischen Klappen gab es keinen Unterschied in der PKE-Inzidenz zwischen allogenen Transplantaten und Schweine- bzw. Perikardklappen (**29**, S. 107). Auch die mechanischen Klappen waren in den Ergebnissen hinsichtlich des Auftretens einer PKE einander vergleichbar. Diese Tatsache ist sehr erstaunlich, immerhin sind die verschiedenen Klappen sowohl in ihrer Herstellung (z. B. Fixationsprozesse) als auch in ihrer Bauart sehr unterschiedlich. So gibt es z. B. in der Gruppe der evaluierten mechanischen Prothesen neben der generellen Struktur auch Unterschiede im Klappenringmaterial: Klappen der Firmen Medtronic, Bjork-Shiley und Monostrut benutzen Teflon als Ringmaterial, während für St. Jude-, CarboMedics- und Edwards Tekna-Prothesen das auch in vorliegender Arbeit verwendete DAC-Material benutzt wird und Silikon in den Starr-Edwards-Klappen das Ringmaterial darstellt.

Der in vorliegender Arbeit gesehene Trend zu einer geringeren mikrobiellen Besiedelung von biologischem Material konnte in den genannten Studien nicht beobachtet werden.

Ein Nachteil klinischer Studien ist, dass eine Randomisierung der Patienten im Bezug auf die zu implantierende Prothese aus ethischen Gründen schwer ist, somit die Grundcharakteristiken der Patienten nicht unbedingt vergleichbar sind.

Die einzige Auffälligkeit war, dass in der Studie von *Grunkemeier* et. al. in der Gruppe der mechanischen Prothesen eine halb so große PKE-Inzidenzrate in Mitralposition im Vergleich zur Aortenposition festzustellen war, während dieser „Sprung“ zwischen Mitral- und Aortenlage bei den biologischen Klappen nicht auftrat (**29**, S. 120). Auf den Grund dieser Ergebnisse wurde von den Autoren jedoch nicht eingegangen.

4.2.5.2 Vergleich mit Studien von HKE bei florider Endokarditis

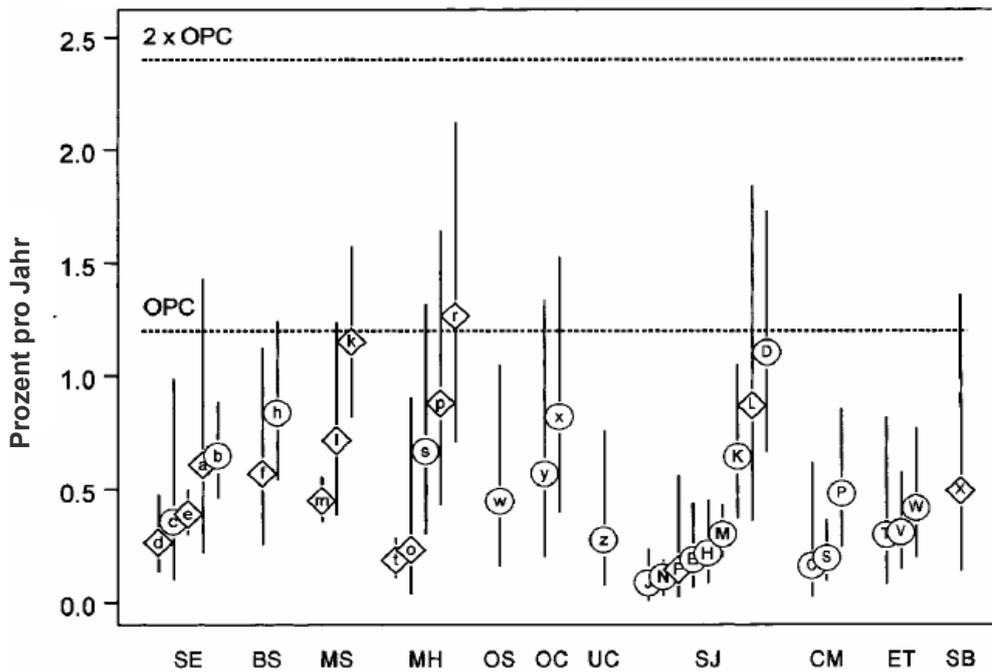
Es gibt eine anhaltende klinische Debatte über die Wahl des Materials bezüglich eines HKE bei florider Endokarditis. Da allogene Transplantate in mehreren klinischen Studien ein niedrigeres Risiko für eine EOE aufwiesen als die mechanischen oder biologischen Klappensysteme, bilden sie für viele Autoren die erste Wahl bei Klappenersatz im Zuge einer NKE oder PKE, insbesondere, wenn es sich dabei um komplexe Bilder mit Abszessformationen handelt (**31**, S. 1781ff.; **33**, S. 130ff.; **50**, S. 490ff.; **59**, S. 198ff.; **63**, S. 511ff.; **66**, S. 1603ff.; **100**, S. 260ff.). Es konnte in den genannten Publikationen gezeigt werden, dass allogene Transplantate mit exzellenten Ergebnissen hinsichtlich einer Reinfektion verbunden sind. Jedoch muss dazu angemerkt werden, dass im Zuge eines HKE mittels Homograft oder Allograft durch die Strukturgegebenheiten und Anpassungsfähigkeit des Materials ein radikales Debridement des gesamten Situs möglich ist. Dieses Debridement aber verursacht bei HKE mittels manchen mechanischen Prothesen Schwierigkeiten in der Annahrt des rigiden oder gestenteten Klappenringes, so dass gerade auf die Implantation mechanischer Prothesen oft verzichtet wird (**66**, S. 1603). Es stellt sich also die Frage, ob die besseren Ergebnisse der Allograft-Materialien wirklich nur auf das Material selbst zurückzuführen ist und nicht etwa auf die Operationstechnik (**55**, S. 1418; **75**, S. 41; **94**, S. 460).

So ist es nicht verwunderlich, dass in Studien, in welchen Allograft-Prothesen mit biologischen oder mechanischen Prothesen verglichen werden, bei Einhaltung desselben operativen Vorgehens für die Vergleichsmaterialien auch ähnliche Ergebnisse erzielt werden konnten (**1**, S. 100ff.; **3**, S. 359ff.; **30**, S. 63ff.; **31**, S. 1781ff.; **55**, S. 1416ff.; **83**, S. 803ff.). Und so lässt sich auch die von *McGiffin* 1992 gemachte Beobachtung erklären, dass die Rezidivrate für eine PKE bei mechanischen oder biologischen Prothesen nur am Anfang erhöht ist und im Verlauf den Werten für Allografts ähnlich wird, während Allograft-Prothesen bereits anfangs eine niedrige Hazardfunktion zeigen, die über die Zeit stabil bleibt (**63**, S. 511ff.): Bei ungenügender Exzision der Mikroorganismen ist auch eine schnelle Reinfektion der neuen Prothese zu erwarten.

4.2.6 Schlussfolgerung

Sowohl generelle Prothesenklappen-Follow-up-Studien als auch klinische Studien bezüglich des HKE bei aktiver infektiöser Endokarditis decken sich in ihren Ergebnissen mit den in vorliegendem Modell gewonnenen Daten über die bakterielle Adhärenzfähigkeit verschiedener Materialien: in keiner der Studien konnte ein signifikanter Unterschied zwischen biologischen und künstlichen Herzklappen gezeigt werden. Die von manchen Autoren postulierten Unterschiede mit besseren Ergebnissen der Homo- bzw. Allograft-Klappen sind vermutlich Ausdruck eines radikaleren operativen Vorgehens mit konsequentem Debridement vor Klappenneuimplantation.

Endokarditis-Raten für mechanische Klappen in Aortenposition



Endokarditis-Raten für mechanische Klappen in Mitralposition

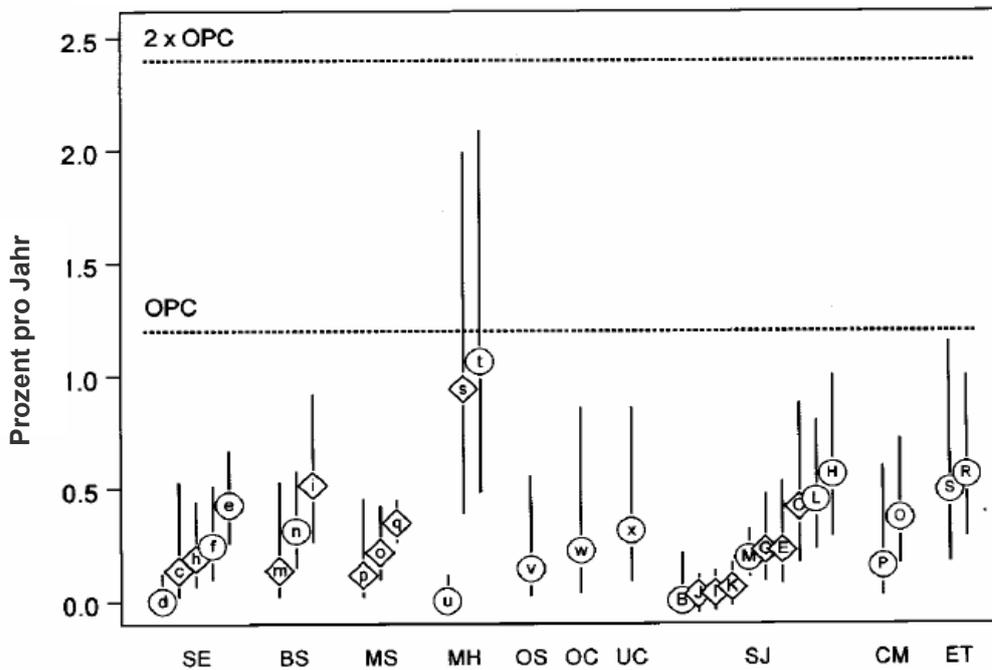
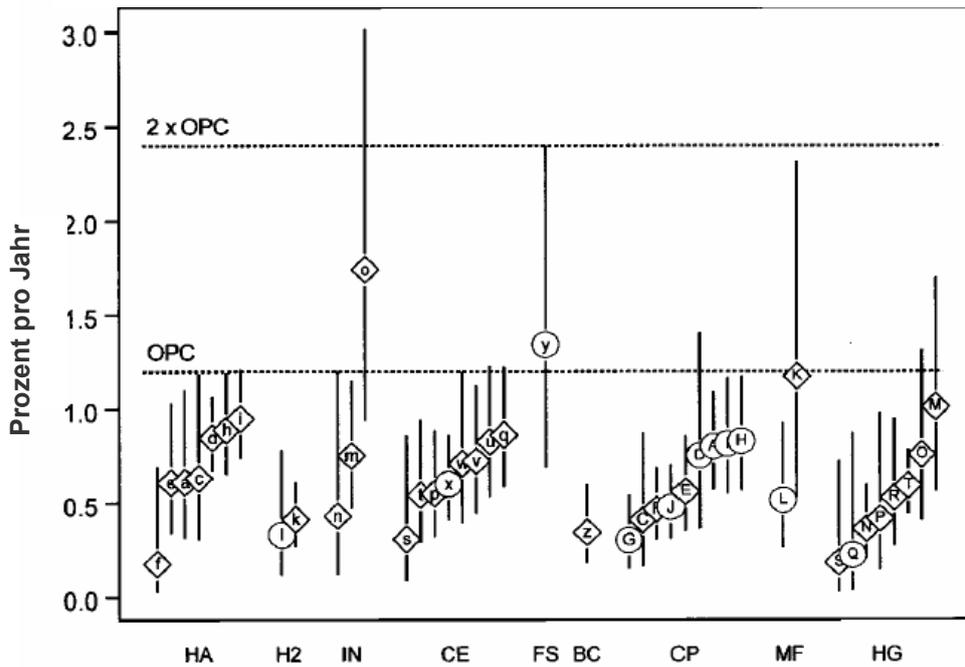


Abb. 20 a+b und 21 a+b (entnommen aus (29, S: 102,107)): Metaanalyse: Darstellung der Endokarditisinzidenz in Abhängigkeit von Position (Aortenposition/Mitralposition) und Klappe. **OPC**: Objective Performance Criteria. y-Achse: Prozent/Jahr. x-Achse: Klappen.

Abb. 20 a+b: **SE**, Starr Edwards; **BS**, Björk-Shiley; **MS**, Monostrut; **MH**, Medtronic Hall; **OS**, Omniscience; **OC**, Omnicarbon; **UC**, Ultracor; **SJ**, St. Jude; **CM**, Carbomedics; **ET**, Edwards Tekna oder Duromedics; **SB**, Sorin Bicarbon.

Endokarditis-Raten für biologische Klappen in Aortenposition



Endokarditis-Raten für biologische Klappen in Mitralposition

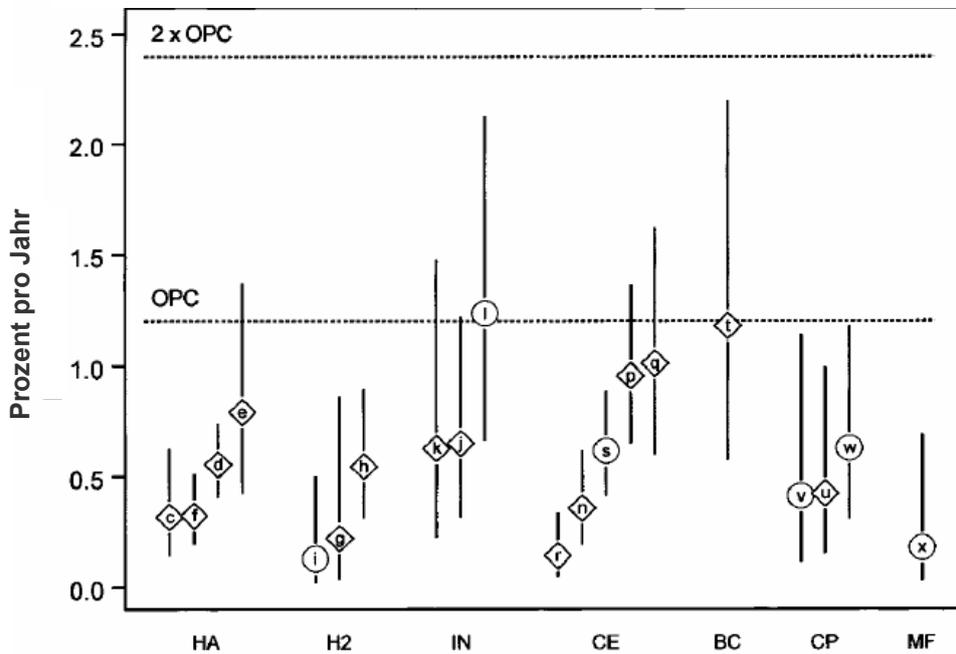


Abb 21 a+b: *HA*, Hancock I und MO; *H2*, Hancock II; *IN*, Medtronic Intact; *CE*, Carpentier-Edwards Porcine; *FS*, Medtronic Freestyle; *BC*, St. Jude Medical Biocor; *CP*, Carpentier-Edwards Perimount; *MF*, Mitroflow; *HG*, Homograft

4.3 Unterschied der Endokarditisinzidenz rechts- und linkskardial

Im vorgestellten Tiermodell wurde zunächst versucht, eine IE durch rechtskardiales Einbringen von Prothesenmaterial mit nachfolgender Staphylokokkeninjektion zu erzeugen. Dieses war bei zehn Versuchstieren nicht möglich. Demgegenüber war es nach dem operativen Wechsel auf die linke Seite des Herzens sofort möglich, eine Materialinfektion bzw. Endokarditis zu erzeugen.

Auf dieses Phänomen, welches auch in der klinischen Situation anzutreffen ist, wurde bereits von den Pionieren der Endokarditisforschung, *Lawrence Freedman* und *Stephen Arnold*, hingewiesen (**19**, S. 456-457). Diese zeigten deutliche Unterschiede zwischen rechter und linker Herzseite in einer experimentell erzeugten IE in Kaninchen, betreffend Letalität und Morbidität. Überdies konnte gezeigt werden, dass eine Entfernung des Kathetermaterials nicht auf der linken, wohl aber auf der rechten Herzseite zu einer spontanen Rückbildung zuvor erzeugter Vegetationen führte.

Die Ursache der unterschiedlichen Ausprägung der IE rechts- oder linkskardial ist bis heute nicht erklärt. Die plausibelsten Erklärungsversuche schließen Unterschiede der nutritiven Verhältnisse (z. B. Sauerstoffsättigung) und Druckverhältnisse mit ein. Eine weitere Option könnte ein Unterschied in lokalen Abwehrmechanismen der rechten bzw. linken Herzseite darstellen (**13**, S. 1ff.). Zur Klärung entsprechender Fragestellungen bedarf es weiterer experimenteller Studien, die auch mit Hilfe des vorliegenden Modells bereits durchgeführt werden (**13**, S. 1ff.). Die Annahme, dass die Ursache der Unterschiede einer Endokarditis-Inzidenz rechts- und linkskardial in einer durch die niedrigere Druckbelastung der rechten Herzseite verminderten NBTV-Ausbildung als Nidationsstelle der Bakterien liegt, ist jedoch durch das vorliegende Modell zum Teil widerlegt: hier wurde beidseits eine operative Endothelläsion gesetzt, die als Promotor einer NBTV-Ausbildung zu werten ist. Da die Bakterienapplikation erst 6 Stunden postoperativ erfolgt, muss geklärt werden, ob es vielleicht rechtsseitig zu einem schnelleren „Heilungsprozess“ kommt, der eine weitere bakterielle Besiedelung verhindert.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Es ist verständlich, dass die Prophylaxe der PKE aufgrund des oft fulminanten Krankheitsverlaufes und ihrer hohen Morbidität und Letalität unverändert Ärzte aus verschiedenen Fachgebieten beschäftigt, mit dem Ziel, dieser schwerwiegenden Erkrankung mit präventiven Maßnahmen oder neuen Therapieoptionen zu begegnen.

Eine Möglichkeit zur Erkenntnisgewinnung stellen klinische Studien dar. Diese sind jedoch zumeist weder randomisiert noch prospektiv und unterscheiden sich erheblich voneinander, was Eingangsvoraussetzungen und Therapiestrategie der Patienten angeht. Tierexperimentelle Studien zum Thema IE sind aus diesem Grund unverzichtbar: verschiedene, in klinischen Studien kaum kontrollierbare Variablen, wie Art und Ausmaß der vorbestehenden Endothelläsionen, oder Dauer und Durchführung eines zur Bakteriämie führenden Eingriffes können unter kontrollierten, tierexperimentellen Bedingungen eher standardisiert werden.

Da das von *Freedman* und *Garrison* beschriebene, und auch folgende experimentelle Endokarditis-Modelle nicht auf die Fragestellung einer Protheseninfektion ausgerichtet sind, wurde das in der vorliegenden Arbeit beschriebene Modell zur Untersuchung der Prothesenklappenendokarditis entwickelt. Dazu wurden in einem chirurgischen, operativen Modell im Kaninchen verschiedene Fremdmaterialien linksseitig intrakardial eingebracht und die wichtigsten pathophysiologischen Schritte einer PKE: (1) Endothelläsion mit Ausbilden von NBTV, (2) Veränderung der hämodynamischen Situation durch das standardisierte Erzeugen einer Mitralinsuffizienz und (3) Implantation von Fremdmaterial, im Modell umgesetzt. Die Sekundärinfektion der implantierten Materialien wurde durch postoperative Gabe von *S. aureus* erzielt. Nach Autopsie der Tiere wurden die verschiedenen Fremdmaterialien und weitere Organproben entnommen und auf deren mikrobielle Keimdurchsetzung hin untersucht.

Insgesamt konnte gezeigt werden, dass Art und Ausmaß der erzielten Infektion erfolgreich und vergleichbar war mit denen anderer tierexperimenteller Studien, somit eine ausreichende Infektionsrate bei einer im Vergleich zu anderen Modellen gleichen Letalitätsrate zu erreichen war. Außerdem konnte gezeigt werden, dass sämtliche Schritte einer IE, primäre Endothelläsion mit Bildung von NBTV und sekundäre bakterielle Besiedelung der zunächst sterilen Vegetationen, in entsprechender Reihenfolge in vorliegendem Modell erzeugt werden konnten und die intrakardiale Infektion vergleichbar der klinischen Situation auch mit Folgekomplikationen wie dem Auftreten septischer Embolien einherging. Somit entspricht das vorliegende Modell der klinischen Situation einer PKE und ist geeignet, verschiedene Pathomechanismen der PKE zu beleuchten.

Im Vergleich der verschiedenen Materialien zeigte sich kein Unterschied in der Infektions-Inzidenz. Dies entspricht der Datenlage der klinisch durchgeführten Studien. Dennoch war in der Auswertung der relativen Keimdichte der untersuchten Patchmaterialien und Organproben ein deutlicher Trend hinsichtlich einer geringeren mikrobiellen Besiedelung der Biomaterialien (v. a. GAP) zu erkennen, dies jedoch, aufgrund der großen Streubreite der Einzelwerte, ohne statistische Signifikanz. Da sowohl operativer Eingriff, als auch Bakterienapplikation standardisiert erfolgte, muss der Unterschied in der mikrobiellen Kolonisation im Material selbst begründet liegen. Der augenscheinlichste Grund ist dabei in einer unterschiedlichen Oberflächenstruktur der Materialien zu suchen, wobei die synthetischen Materialien aufgrund ihrer poröseren Struktur eine insgesamt größere Oberfläche, und damit größere potentielle Bindungsoberfläche ausbilden als die Biomaterialien. Die in vorliegendem Modell elektronenmikroskopisch und mikrobiologisch gewonnenen Daten untermauern diese These. Zusätzliche Faktoren, wie etwa die Veränderung der Oberfläche nach Implantation in ein physiologisches System sowie die Auswirkung von Glutaraldehyd oder Silberbeschichtung, müssen ebenso berücksichtigt werden. Zusammenfassend ist der Oberflächenbeschaffenheit der prothetischen Produkte damit in jedem Fall ein präventiver Faktor zuzuordnen: effektive Strategien, um bakterielle Adhärenz an Prothesen zu reduzieren, müssen sich mit einer geeigneten Oberflächenmodifikation auseinandersetzen, handelt es sich nun um biologische oder künstliche Prothesenmaterialien

Als bemerkenswerte Nebenbeobachtung konnte gezeigt werden, dass entsprechend den klinischen Erfahrungen in vorliegendem Modell das Erzeugen einer rechtsseitigen Endokarditis nicht möglich war, obwohl dasselbe Vorgehen gewählt wurde wie linksseitig. Diese Unterschiede zwischen der rechten und linken Herzseite sind bereits von anderorts beobachtet worden und bedürfen einer weiteren Klärung. Vorstellbar sind neben Unterschieden der Druck- und Sauerstoffverhältnisse auch Unterschiede in lokalen Immunmechanismen. Vorliegendes Modell findet bereits zur Klärung dieser Fragestellung weitere Anwendung, die Ergebnisse sind zum Teil publiziert (**13**, S. 1 ff.).

LITERATURVERZEICHNIS

1. Aagaard J, Andersen PV. Acute Endocarditis Treated With Radical Debridement and Implantation of Mechanical or Stented Bioprosthetic Devices. *Ann Thorac Surg.* 2001;71:100-104.
2. Alt E, Leipold F, Milatovic D, Lehmann G, Heinz S, Schömig A. Hydrogen Peroxide for Prevention of Bacterial Growth on Polymer Biomaterials. *Ann Thorac Surg.* 1999;68(6):2123-2128.
3. Bauernschmitt R, Jakob HG, Vahl CF, Lange R, Hagl S. Operation for Infective Endocarditis: Results after Implantation of Mechanical Valves. *Ann Thorac Surg.* 1998;65(2):359-364.
4. Blomgren G, Lundquist H, Nord CE, Lindgren U. Late anaerobic haematogeneous infection of experimental total joint replacement. A study in the rabbit using *Propionibacterium acnes*. *J Bone Joint Surg.* 1981;63B:614-618.
5. Chemlal K, Saint-Julien L, Joly V, Farinotti R, Seta N, Yeni P, Carbon C. Comparison of fluconazole and amphotericin B for treatment of experimental endocarditis in rabbits. *Antimicrob Agents Chemother.* 1996;40:263-266.
6. Christensen GD, Simpson WA, Bisno AL, Beachey EH. Adherence of slime-producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces. *Infect Immun.* 1982;37:318-326.
7. Cimbollek M, Nies B, Wenz R, Kreuter J. Antibiotic-Impregnated Heart Valve Sewing Rings for Treatment and Prophylaxis of Bacterial Endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother.* 1996;40(6):1432-1437.
8. Cooper MD, Jeffery C, Gall DL, Anderson AS. Scanning electron microscopy studies of staphylococcal adherence to heart valve endothelial cells in organ culture: an in vitro model of acute endocarditis. *Scn Electron Microscop.* 1985;Pt 3:1231-1237.
9. Crémieux A-C, Carbon C. Experimental Models of Bone and Prosthetic Joint Infections. *Clin Infect Dis.* 1997;25:1295-1302.
10. Darouiche RO, Meade R, Mansouri M, Raad II. In vivo efficacy of antimicrobial-coated fabric from prosthetic heart valve sewing rings. *J Heart Valve Dis.* 1998;7(6):639-646.
11. Dunne WM. Bacterial Adhesion: Seen Any Good Biofilms Lately? *Clin Microbiol Rev.* 2002;15(2):155-166.
12. Durack DT. Experimental bacterial endocarditis. IV. Structure and evolution of very early lesions. *J Pathol.* 1975;115(2):81-89.
13. Eichinger WB, Grammer JB, Zhao B, Brückner J, Mendler N, Lange R, Bauernschmitt R.. Transcriptional regulation of $\alpha 5\beta 1$ integrin, fibronectin, VCAM-1, MCSF-1/*c-fms* and MCP-1 in atrioventricular valves after valvular surgery and *Staphylococcus aureus* bacteremia. 1-25 [accepted for *Cytokine*, 2005].
14. Ellner PD, Stoessel CI, Drakeford E, Vasi F. A new culture medium for medical bacteriology. *Am J Clin Pathol.* 1966;45(4):502-504.

15. Ferguson DJ, McColm AA, Savage TJ, Ryan DM, Acred P. A morphological study of experimental staphylococcal endocarditis and aortitis. II. Inter-relationship of bacteria, vegetation and cardiovascularity in established infections. *Br J Exp Path.* 1986;67(5):679-686.
16. Fowler VG Jr, Sanders LL, Kong LK, McClelland RS, Gottlieb GS, Li J, Ryan T, Sexton DJ, Roussakis G, Harrell LJ, Corey GR. Infective endocarditis due to *Staphylococcus aureus*: 59 prospectively identified cases with follow-up. *Clin Infect Dis.* 1999;28(1):106-114.
17. Francioli P, Freedman LR. Streptococcal infection of endocardial and other intravascular vegetations in rabbits: Natural history and effects of dexamethasone. *Infect Immun.* 1979;24(2):483-491.
18. Freedman LR. The pathogenesis of infective endocarditis. *J Antimicrob Chemotherapy.* 1987; 20: Suppl A, 1-6.
19. Freedman LR, Arnold S, Valone J. Experimental Endocarditis. *Ann NY Acad Sci.* 1974;236:456-465.
20. Freedman LR, Valone J. Experimental infective endocarditis. *Progr Cardiovasc Dis.* 1979;22:169-180.
21. Fürst W, Banerjee A. Release of Glutaraldehyde From an Albumin-Glutaraldehyde Tissue Adhesive Causes Significant In Vitro and In Vivo Toxicity. *Ann Thorac Surg.* 2005;79:1522-1529.
22. Garrison PK, Freedman LR. Experimental Endocarditis I. Staphylococcal endocarditis in rabbits resulting from placement of a polyethylene catheter in the right side of the heart. *Yale J Biol Med.* 1970;42(6):394-410.
23. Giacometti A, Cirioni O, Ghiselli R, Goffi L, Mocchegiani F, Riva A, Scalise G, Saba V. Efficacy of polycationic peptides in preventing vascular graft infection due to *Staphylococcus epidermidis*. *J Antimicrob Chemother.* 2000;46:751-756.
24. Gould K, Ramirez-Ronda CH, Holmes RK, Sanford JP. Adherence of bacteria to heart valves in vitro. *J Clin Invest.* 1975;56(6):1364-1370.
25. Gravens DL, Margraf HW, Butcher HR Jr, Ballinger WF. The antibacterial effect of treating suture with silver. *Surgery.* 1973;73(1):122-127.
26. Gristina AG. Biomaterial-Centered Infection: Microbial Adhesion Versus Tissue Integration. *Science.* 1987;237:1588-1595.
27. Grocott-Mason RM, Lund O, Elwidaa H, Mazhar R, Chandrasakeran V, Mitchell AG, Ilesley C, Khaghani A, Rees A, Yacoub M. Long-term results after aortic valve replacement in patients with congestive heart failure. Homografts vs prosthetic valves. *Eur Heart J.* 2000;21:1698-1707.
28. Grogan EL, Sande MA, Clark RE, Nolan SP. Experimental endocarditis in calf after tricuspid valve replacement. *Ann Thorac Surg.* 1980;30(1):64-69.
29. Grunkemeier GL, Li H-H, Naftel DC, Starr A, Rahimtoola SH. Long-Term Performance of Heart Valve Prostheses. *Curr Probl Cardiol.* 2000;25:73-154.

30. Guerra JM, Tornos MP, Permanyer-Miralda G, Almirante B, Murtra M, Soler-Soler J. Long term results of mechanical prostheses for treatment of active infective endocarditis. *Heart*. 2001;86:63-68.
31. Hagl C, Galla JD, Lansman SL, Fink D, Bodian CA, Spielvogel D, Griep RB. Replacing the ascending aorta and aortic valve for acute prosthetic valve endocarditis: is using prosthetic material contraindicated? *Ann Thorac Surg*. 2002;74 (Suppl):1781-1785.
32. Hammermeister KE, Sethi GK, Henderson WG, Oprian C, Kim T, Rahimtoola S. A Comparison of Outcomes in Men 11 Years after Heart-Valve Replacement with a Mechanical Valve or Bioprosthesis. *N Engl J Med*. 1993;328:1289-1296.
33. Haydock D, Barratt-Boyes B, Macedo T, Kirklin JW, Blackstone E. Aortic valve replacement for active infectious endocarditis in 108 patients. A comparison of freehand allograft valves with mechanical prostheses and bioprostheses. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1992;103:130-139.
34. Heraief E, Glauser MG, Freedman LR. Vancomycin prophylaxis of streptococcal endocarditis in rats. In: Nelson JD, rassi C, editors. Current chemotherapy and infectious diseases. Washington DC.: American Society of Microbiology, 1980: 911-913.
35. Hernandez-Richter T, Schardey HM, Lohlein F, Heiss MM, Redondo-Muller M, Hammer C, Schildberg FW. The Prevention and Treatment of Vascular Graft Infection With a Triclosan (Irgasan®)-bonded Dacron Graft: an Experimental Study in the Pig. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2000;20:413-418.
36. Hernandez-Richter T, Schardey HM, Wittmann F, Mayr S, Schmitt-Sody M, Blasenbren S, Heiss MM, Gabka C, Angele MK. Rifampin and Triclosan but not Silver is Effective in Preventing Bacterial Infection of Vascular Dacron Graft Material. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2003;26:550-557.
37. Horstkotte D, Follath F, Gutschik E, Lengyel M, Oto A, Pavie A, Soler-Soler J, Thiene G, von Graevenitz A; Grupo de Trabajo de Endocarditis Infecciosa de la Sociedad Europea de Cardiologia. Guidelines on Prevention, Diagnosis and Treatment of Infective Endocarditis. Executive Summary. The Task Force on Infective Endocarditis of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J*. 2004;25(3):267-276.
38. Horstkotte D. Bakterielle Endokarditis. 2 ed. Gräefelfing:SMV: Upjohn Media, 1994.
39. Hyde JA, Darouiche RO, Costerton JW. Strategies for prophylaxis against prosthetic valve endocarditis: A review article. *J Heart Valve Dis*. 1998;7(3):316-326.
40. Illingworth BL, Tweden K, Schroeder RF, Cameron JD. In vivo efficacy of silver-coated (Silzone™) infection-resistant polyester fabric against a biofilm-producing bacteria, *Staphylococcus epidermidis*. *J Heart Valve Dis*. 1998;8(3):524-530.
41. Imataka K, Kitahara Y, Naito S, Fujii J. A new model for infective endocarditis of the mitral valve in rabbits. *Am Heart J*. 1993;125(5 Pt.1):1353-1357.
42. Ingraham FD, Matson DD. Synthetic plastic materials in surgery. *New Engl J Med*. 1947;236:361-368.

43. Ionescu A, Payne N, Fraser AG, Giddings J, Grunkemeier GL, Butchart EG. Incidence of embolism and paravalvular leak after St. Jude Silzone valve implantation: experience from the Cardiff Embolic Risk Factor Study. *Heart*. 2003;89:1055-1061.
44. Jarcho S. Experimental Endocarditis (Wysokowitsch, 1886). *Am J Cardiol*. 1969;24(6):876-879.
45. Jault F, Gandjbakhch I, Chastre JC, Levasseur JP, Bors V, Gibert C, Pavie A, Cabrol C. Prosthetic valve endocarditis with ring abscesses. Surgical management and long-term results. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1993;105(6):1106-1113.
46. Joh D, Speziale P, Gurusiddappa S, Manor J, Höök M. Multiple specificities of the staphylococcal and streptococcal fibronectin-binding microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules. *Eur J Biochem*. 1998;258:897-905.
47. John MD, Hibberd PL, Karchmer AW, Sleeper LA, Calderwood SB. Staphylococcus aureus prosthetic valve endocarditis: Optimal management and risk factors for death. *Clin Infect Dis*. 1998;26(6):1302-1309.
48. Jones RD, Akao M, Cross FS. Bacteremia and thrombus accumulation on prosthetic heart valves in the dog. *J Surg Res*. 1969;9(5):293-300.
49. Katz S, Izhar M, Mirelman D. Bacterial adherence to surgical sutures. *Ann Surg*. 1981;194:35-41.
50. Knosalla C, Weng Y, Yankah AC, Siniawski H, Hofmeister J, Hammerschmidt R, Loebe M, Hetzer R. Surgical treatment of active infective aortic valve endocarditis with associated periannular abscess - 11 year results. *Eur Heart J*. 2000;21:490-497.
51. Kron IL, Georgitis JW, Holmes P, Britton RC. Propagation of sepsis in vascular grafts. *Arch Surg*. 1980;115:878-879.
52. Larena-Avellaneda A, Desbus ES, Siegel R, Körner C, Dietz UA, Franke S, Thiede A. Die Silikon-beschichtete Polyester-Prothese. Weiterführende Modifikation und Vorstellung des "drug releasing graft". *Gefässchirurgie*. 2004;9(2):105-110.
53. Lehnhardt F-J, Torsello G, Claeys LG, Pfeiffer M, Wachol-Drewek Z, Grundmann RT, Sandmann W. Systematic and Local Antibiotic Prophylaxis in the Prevention of Prosthetic Vascular Graft Infection: an Experimental Study. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2002;23:127-133.
54. Lepeschkin E. On the relation between the site of valvular involvement on endocarditis and the blood pressure resting on the valve. *Am J Med Sci*. 1952;224(3):318-319.
55. Leyh RG, Knobloch K, Hagl C, Ruhparwar A, Fischer S, Kofidis T, Haverich A. Replacement of the aortic root for acute prosthetic valve endocarditis: Prosthetic composite versus aortic allograft root replacement. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2004;127:1416-1420.
56. Lopéz-Lopéz G, Pascual A, Martínéz-Martínéz L, Perea EJ. Effect of siliconized latex urinary catheter on bacterial adherence and human neutrophil activity. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1991;14(1):1-6.

57. Lupinetti FM, Tsai TT, Kneebone JM, Bove EL. Effect of cryopreservation on the presence of endothelial cells on human valve allografts. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1993;106(5):912-917.
58. Lupinetti FM, Warner J, Jones TK, Herndon SP. Comparison of human tissues and mechanical prostheses for aortic valve replacement in children. *Circulation.* 1997;96(1):321-325.
59. Lytle BW, Priest BP, Taylor PC, Loop FD, Sapp SK, Stewart RW, McCarthy PM, Muehrcke D, Cosgrove DM 3rd. Surgery for acquired heart disease: Surgical treatment of prosthetic valve endocarditis. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1996;111(1):198-210.
60. Lytle BW, Sabik JF, Blackstone EH, Svensson LG, Pettersson GB, Cosgrove DM 3rd. Reoperative cryopreserved root and ascending aorta replacement for acute aortic prosthetic valve endocarditis. *Ann Thorac Surg.* 2002;74 (Suppl):1754-1757.
61. Maurin M, Lepidi H, La Scola B, Feuerstein M, Andre M, Pellissier JF, Raoult D. Guinea Pig Model for Staphylococcus aureus Native Valve Endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother.* 1997;41(8):1815-1817.
62. McCormick JK, Tripp TJ, Dunny GM, Schlievert PM. Formation of vegetations during infective endocarditis excludes binding of bacterial-specific host antibodies to Enterococcus faecalis. *J Infect Dis.* 2002;185(7):994-997.
63. McGiffin DC, Galbraith AJ, McLachlan GJ, Stower RE, Wong ML, Stafford EG, Gardner MA, Pohlner PG, O'Brien MF. Aortic valve infection. Risk factors for death and recurrent endocarditis after aortic valve replacement. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1992;104(1):511-520.
64. Nicolau DP, Freeman CD, Nightingale CH, Quintiliani R, Coe CJ, Maderazo EG, Cooper BW. Reduction of bacterial titers by low-dose aspirin in experimental aortic valve endocarditis. *Infect Immun.* 1993;61(4):1593-1595.
65. Nicolau DP, Marangos MN, Nightingale CH, Quintiliani R. Influence of Aspirin on Development and Treatment of Experimental *Staphylococcus aureus* Endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother.* 1995;39(8):1748-1751.
66. Niwaya K, Knott-Craig CJ, Santangelo K, Lane MM, Chandrasekaran K, Elkins RC. Advantage of Autograft and Homograft Valve Replacement for Complex Aortic Valve Endocarditis. *Ann Thorac Surg.* 1999;67:1603-1608.
67. Osler W. Malignant endocarditis. Gulstonian Lectures. *Lancet.* 1885;1:495-505.
68. Pansini S, di Summa M, Patane F, Forsennati PG, Serra M, Del Ponte S. Risk recurrence after reoperation for prosthetic valve endocarditis. *J Heart Valve Dis.* 1997;6(1):84-87.
69. Parsek MR, Singh PK. Bacterial Biofilms: An Emerging Link to Disease Pathogenesis. *Annu Rev Microbiol.* 2003;57:677-701.
70. Patti JM, Allen BL, McGavin MJ, Höök M. MSCRAMM-Mediated Adherence of Microorganisms to Host Tissues. *Annu Rev Microbiol.* 1994;48:585-617.
71. Perlman BB, Freedman LR. Experimental Endocarditis III. Natural history of catheter induced staphylococcal endocarditis following catheter removal. *Yale J Biol Med.* 1971;44:214-224.

72. Perlman BB, Freedman LR. Experimental Endocarditis II. Staphylococcal infection of the aortic valve following placement of a catheter in the left side of the heart. *Yale J Biol Med.* 1971; 44: 206-213.
73. Pesanti EL, Smith IM. Infective endocarditis with negative blood cultures. An analysis of 52 cases. *Am J Med.* 1979;66:43-50.
74. Pudenz RH, Russell FE, Hurd AH, Shelden CH. Ventricula-auriculostomy. A technique for shunting cerebrospinal fluid into the right auricle; preliminary report. *J Neurosurg.* 1957;14(2):171-179.
75. Renzulli A, Carozza A, Romano G, De Feo M, Della Corte A, Gregorio R, Cotrufo M. Recurrent Infective Endocarditis: A Multivariate Analysis of 21 Years of Experience. *Ann Thorac Surg.* 2001;72:39-43.
76. Rodbard S. Blood velocity and endocarditis. *Circulation.* 1963;27:18-28.
77. Rosenbach O. Über artificielle Herzklappenfehler. *Arch Exp Path Pharm.* 1878;9:1-30.
78. Scheld WM, Valone JA, Balian. Microbial adhesion to fibronectin in the pathogenesis of infective endocarditis. *Clin Res.* 1983;31:542A.
79. Scheld WM, Valone JA, Sande MA. Bacterial adherence in the pathogenesis of endocarditis. Interaction of bacterial dextran, platelets and fibrin. *J Clin Invest.* 1978;61(5):1394-1404.
80. Schoen FJ, Jonas RA. Pathological considerations on cryopreserved allograft heart valves. *J Heart Valve Dis.* 1995;4(Suppl 1):72-75.
81. Seipelt RG, Vazquez-Jimenez JF, Seipelt IM, Franke A, Chalabi K, Schoendube FA, Messmer BJ. The St. Jude "Silzone" Valve: Midterm Results in Treatment of Active Endocarditis. *Ann Thorac Surg.* 2001;72:758-763.
82. Shamsuddin D, Tuazon CU, Miller H, Shamsuddin AK, Friedman D. Experimental *Staphylococcus epidermidis* Endocarditis in Rabbit Model. *Arch Pathol Lab Med.* 1983;107:141-143.
83. Siniawski H, Lehmkuhl H, Weng Y, Pasic M, Yankah C, Hoffmann M, Behnke I, Hetzer R. Stentless Aortic Valves as an Alternative to Homografts for Valve Replacement in Active Infective Endocarditis Complicated by Ring Abscess. *Ann Thorac Surg.* 2003;75:803-808.
84. Smits H, Freedman LR. Prolonged venous catheterization as a cause of sepsis. *N Engl J Med.* 1967;276(22):1229-1233.
85. Starr A, Edwards ML, Griswold H. Mitral replacement: Late results with a ball valve prosthesis. *Prog Cardiovasc Dis.* 1962;5:298-312.
86. Starr A, Edwards ML. Mitral replacement: Clinical experience with a ball-valve prosthesis. *Ann Surg.* 1961;154:726-740.
87. Steiner I, Patel AK, Hutt MS, Somers K. Pathology of infective endocarditis, post mortem evaluation. *Br Heart J.* 1973;35:159-164.

88. Sweeney MS, Reul GJ Jr, Cooley DA, Ott DA, Duncan JM, Frazier OH, Livesay JJ. Comparison of bioprosthetic and mechanical valve replacement for active endocarditis. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1985;90(2):676-680.
89. Szilagyi DE, Smith RF, Elliott JP, Vrandecic MP. Infection in arterial reconstruction with synthetic grafts. *Ann Surg.* 1972;176(3):321-333.
90. Tozzi P, Al-Darweesh A, Vogt P, Stumpe F. Silver-coated prosthetic heart valve: a double-bladed weapon. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2001;19:729-731.
91. Truninger K, Attenhofer Jost CH, Seifert B, Vogt PR, Follath F, Schaffner A, Jenni R. Long term follow up of prosthetic valve endocarditis: what characteristics identify patients who were treated successfully with antibiotics alone? *Heart.* 1999;82(6):714-720.
92. Tweden KS, Cameron JD, Razzouk AJ, Bianco RW, Holmberg WR, Bricault RJ, Barry JE, Tobin E. Silver Modification of Polyethylene Terephthalate Textiles for Antimicrobial Protection. *ASAIO Journal.* 1997; 43: M475-M481.
93. Tweden KS, Cameron JD, Razzouk AJ, Holmberg WR, Kelly SJ. Biocompatibility of silver-modified polyester for antimicrobial protection of prosthetic valves. *J Heart Valve Dis.* 1997;6(5):553-561.
94. Vlessis AA, Khaki A, Grunkemeier GL, Li HH, Starr A.. Risk, Diagnosis and Management of Prosthetic Valve Endocarditis: A review. *J Heart Valve Dis.* 1997;6(5):443-465.
95. von Reyn CF, Levy BS, Arbeit RD. Infective endocarditis: an analysis based on strict case definitions. *Ann Intern Med.* 1981;94:505-518.
96. von Schaff H, Carrel TP, Jamieson WR, Jones KW, Rufflanhas JJ, Cooley DA, Hetzer R, Stumpe F, Dubeau D, Moseley P, van Boven WJ, Grunkemeier GL, Kennard ED, Holubkov R; Artificial Valve Endocarditis Reduction Trial. Paravalvular Leak and Other Events in Silzone-Coated Mechanical Heart Valves: A Report From AVERT. *Ann Thorac Surg.* 2002;73:785-792.
97. Walterspiel JN, Kaplan SL. Incidence and clinical characteristics of "culture-negative" infective endocarditis in a pediatric population. *Pediatr Infect Dis.* 1986;5:328-332.
98. Wolff M, Witchitz S, Chastang C, Regnier B, Vachon F. Prosthetic Valve Endocarditis in the ICU: Prognostic Factors of Overall Survival in a Series of 122 Cases and Consequences for Treatment Decision. *Chest.* 1995;108(3):688-692.
99. Xiong YQ, Caillon J, Zhou XY, Potel G, Bugnon D, Le Conte P, Le Gallou F, Le Floch R, Baron D, Drugeon H. Treatment of experimental rabbit infective endocarditis due to a multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* with high-dose ceftazidime alone and combined with amikacin or sulbactam or both. *J Antimicrob Chemother.* 1995;35(5):697-706.
100. Yankah AC, Klose H, Petzina R, Musci M, Siniawski H, Hetzer R. Surgical management of acute aortic root endocarditis with viable homograft: 13-year experience. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2002;21:260-267.
101. Yersin B, Glauser MP, Guze PA, Guze LB, Freedman LR. Experimental *Escherichia coli* endocarditis in rats: Roles of serum bactericidal activity and duration of catheter placement. *Inf Immun.* 1988;56(5):1273-1280.

102. Zussa C, Gallonie MR, Zattera GF, Pansini S, di Summa M, Poletti GA, Ottino G, Morea M. Endocarditis in patients with bioprosthesis: pathology and clinical correlations. *Int J Cardiol.* 1984;6(6):719-735

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

ABBILDUNGEN

Abbildung 1:	Prothesenklappenendokarditis (PKE) – Ziele der Forschung
Abbildung 2 a-g:	Mechanische Prothesenklappen, Bioprothesen, Allograft und Silzone™
Abbildung 3:	Allograft-Sterilisationslösung
Abbildung 4 a-c:	Abbildungen des Operationsverlaufes
Abbildung 5:	Phosphatpuffer nach Sörensen
Abbildung 6:	Präparation für die elektronenmikroskopische Auswertung
Abbildung 7:	Postmortale Entnahme des Patchmaterials
Abbildung 8:	Auftauvorgang des Allograft-Materials
Abbildung 9–11:	Abbildungen der Morphologie der untersuchten Organe
Abbildung 12–18:	Elektronenmikroskopische Darstellung der untersuchten Prothesenmaterialien
Abbildung 19:	Wechselwirkungen an der Substratoberfläche
Abbildung 20–21:	Metaanalyse: Darstellung der Endokarditisinzidenz in Abhängigkeit von Position und verwendeter Klappe.

FIGUREN

Figur 1:	Studiendesign
Figur 2 A-D:	Schematische Darstellung der Operationstechnik
Figur 3:	Intraoperative Messung der Mitralinsuffizienz
Figur 4:	Schematische Innenansicht eines Elektronenmikroskopes
Figur 5:	Korrelation Keimnachweis intrakardial – Vegetationsformation
Figur 6:	Mikrobielle Infektionsrate
Figur 7:	Vergleich der Patchmaterialien hinsichtlich des Auftretens einer intrakardialen Infektion
Figur 8:	Vergleich der Keimdichten der Patchmaterialien
Figur 9:	Infektions-Inzidenz in Nieren, Milz und Blutkulturen

TABELLEN

Tabelle 1:	Keimdichten in Herz, Nieren und Milz im Vergleich der Materialien
------------	---

CURRICULUM VITAE

Name: Goppel, Gertrud Maria
 Geburtsdatum: 05. März 1975
 Geburtsort: München
 Nationalität: deutsch

1981-1984 Grundschole in Mühldorf am Inn
 1984-1985 Grundschole in Polling bei Mühldorf
 1985-1994 Gymnasium der Englischen Fräulein Altötting

1994-1995 Studium der Mathematik, LMU München
 1995-2002 Studium der Humanmedizin, LMU München

2002-2003 Praktisches Jahr:
 - Innere Medizin: Medizinische Klinik und Poliklinik I, Klinikum Großhadern, LMU München
 - Neurologie: Städtisches Krankenhaus München-Harlaching
 - Chirurgie: Chirurgische Klinik und Poliklinik Innenstadt, Klinikum Innenstadt, LMU München

2003-2004 Arzt im Praktikum,
 Medizinische Klinik und Poliklinik I, Klinikum Großhadern, LMU München

2004-2007 Wissenschaftliche Assistentin,
 Medizinische Klinik und Poliklinik I, Klinikum Großhadern, LMU München

2000-2007 Dissertation „Etablierung eines experimentellen in-vivo Modells zur Analyse der bakteriellen Adhärenzfähigkeit intrakardialer Prothesenmaterialien.“
 Klinik für Herz- und Gefäßchirurgie, Deutsches Herzzentrum, Technische Universität, München

VORTRÄGE UND VERÖFFENTLICHUNGEN

1. Eichinger W, **Goppel G**, Mandler N, Mattes T, Bauernschmitt R, Lange R (2001): „In-vivo bacterial adherence to intracardiac prosthetic materials: A new experimental model.” 6th International Symposium On Modern Concepts In Endocarditis And Cardiovascular Infections. Barcelona, Spanien, 27.06.–29.06.01

2. Eichinger W, **Goppel G**, Mandler N, Mattes T, Lankes E, Botzenhardt F, Grammer JB, Lange R, Bauernschmitt R (2002): „In-vivo bacterial adherence to intracardiac prosthetic materials: A new experimental model.”
Vortragspräsentation: 68. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie, Mannheim, 04.04.–06.04.02

3. Eichinger WB, **Goppel G**, Mandler N, Mattes J, Bauernschmitt R, Lange R. „In-vivo bacterial adherence to intracardiac prosthetic materials: A new experimental model.”
J Heart Valve Dis. 2002 May; 11(3): 438-446

4. **Goppel G**, Eichinger WB, Lange R, Bauernschmitt R (2004): „Allograft Compared to Synthetic Materials Regarding Bacterial Adherence in a Standardized Animal Model of Prosthetic Valve Endocarditis.”
Vortragspräsentation: American Heart Assocoation. New Orleans, 09.11.-12.11.04.
Abstract Circulation Suppl. 2004; 110: 134

DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich mich bei Allen bedanken, die zum Entstehen dieser Arbeit beigetragen haben. Dies gilt im Besonderen für:

Herrn Prof. Dr. R. Lange, Direktor der Klinik für Herz- und Gefäßchirurgie des Deutschen Herzzentrums München, für die Möglichkeit, meine Dissertation im Rahmen der Endokarditisforschung an seinem Institut anfertigen zu können, für die freundliche Unterstützung und die Einbindung in die Klinik über den Rahmen der Doktorarbeit hinaus.

Herrn Prof. Dr. R. Bauernschmitt, Leiter der Abteilung für experimentelle chirurgische Forschung am Deutschen Herzzentrum München, für seine fachliche Unterstützung und die ständige Bereitschaft zu kritischen Diskussionen über die Endokarditisforschung. Darüber hinaus aber auch für die Möglichkeit, mich an anderen wissenschaftlichen Projekten des Deutschen Herzzentrums zu beteiligen. Herrn Prof. Dr. N. Mendler, der durch seine Expertise einen großen Beitrag zum Gelingen des in dieser Arbeit entwickelten Modells geleistet hat. Herrn Priv.-Doz. Dr. W. Eichinger gilt mein herzlichster Dank für die Möglichkeit dieser wundervollen Zusammenarbeit, die geprägt war von Produktivität, Freude an der Arbeit, dem Mut, dass es gelingen wird, auch wenn es nicht immer danach aussah, und großer Bereitschaft zu einer offenen Diskussion.

Herrn Dr. T. Mattes und Frau Wagner, Mitarbeiter des Institutes für medizinische Mikrobiologie der Technischen Universität München, für ihre Unterstützung im Bereich der mikrobiologischen Auswertung.

Für die unglaublich nette Hilfe bei den Vorbereitungen und Anfertigungen der elektronenmikroskopischen Aufnahmen und für die Bereitstellung der Geräte und Materialien danke ich Herrn Prof. Dr. H. Bartels, Frau U. Fazekas und Herrn E. Thielke vom Lehrstuhl II der Anatomischen Anstalt der LMU München.

Zuletzt gilt ein herzlicher Dank den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Institutes für experimentelle chirurgische Forschung am Deutschen Herzzentrum München, für das Engagement und die Mithilfe zum Gelingen des Projektes und meinem Bruder für die liebevolle und tatkräftige Hilfe in der Verbesserung der Tierschutzhaltung (Vereinigte Wallgauer Werkstätten).