

Diplomarbeit

Der Einsatz biochemischer Analysen zur Verlaufskontrolle bei Wunden

Analyse von Wundsekreten unter VAC-Therapie

eingereicht von

Christina Helene Wolfsberger

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktorin der gesamten Heilkunde
(Drⁱⁿ. med. univ.)**

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

**Klinischen Abteilung für Plastische, Ästhetische und Rekonstruktive
Chirurgie, Universitätsklinik für Chirurgie, Graz**

unter der Anleitung von

ao. Univ. Prof. Dr. med. univ. Michael Schintler

Drⁱⁿ.scient.med. Drⁱⁿ.med.univ. Frederike Reischies

Graz, 12.01.2020

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 12.01.2020

Christina Wolfsberger eh.

Danksagungen

An dieser Stelle möchte ich mich bei all jenen bedanken, die mich persönlich und fachlich beim Durchführen der Studie und beim Verfassen dieser Diplomarbeit unterstützt haben.

Mein Dank gilt meinem Betreuer, Prof. Dr. Michael Schintler, der mir dieses interessante Projekt und gleichzeitig Thema meiner Diplomarbeit angeboten hat und mir mit freundlicher Hilfsbereitschaft zur Seite stand.

Ein großer Dank gilt meiner Zweitbetreuerin, DDr.ⁱⁿ Frederike Reischies, die mir mit wertvollem und hilfreichem Feedback zur Seite gestanden ist, und die sowohl fachlich, als auch persönlich für meine Entwicklung hinsichtlich klinischer Studien einen großen Beitrag geleistet hat.

Weiterhin danke ich auch der gesamten Abteilung der Plastischen, Ästhetischen und Rekonstruktiven Chirurgie, am Univ.-Klinikum Graz, für ihre Unterstützung während der Durchführung dieser Studie.

Danken möchte ich außerdem den Mitarbeitern der Firma Qualizyme Diagnostics GmbH & Co KG für die gute Zusammenarbeit.

Ebenso danke ich auch Frau Daniela Gmeindl-Tscherner, MSc (Koordinierungszentrum Klinische Studien, Medizinische Universität Graz) und Frau Mag. Riessner (Abteilung Forschungsförderung und Technologietransfer, Medizinische Universität Graz), welche mir eine große Unterstützung bei der Planung dieser Studie waren.

Mein besonderer Dank gilt meiner Familie, vor allem meinen Eltern und Großeltern, die mir mein Studium ermöglicht, mich immer ermutigt und in meinen Entscheidungen unterstützt haben.

Herzlich bedanken möchte ich mich auch bei meinem Freund Emanuel, mit dem ich gemeinsam durch das Studium gegangen bin, der immer an meiner Seite war, an mich geglaubt und mich unterstützt hat.

Zusammenfassung

Einleitung

Wunden, besonders chronische, stellen eine wachsende Herausforderung in der medizinischen Versorgung dar. Die Wahl des Verbandes und der rechtzeitige Beginn mit Antibiotika, bedürfen viel Erfahrung des/der behandelnden Arztes/Ärztin. Eine Möglichkeit des Wundverbandes bietet der Unterdruckverband. Neben den Vorteilen, kann bei liegendem Unterdruckverband die Wunde jedoch nicht beurteilt werden. Das Problem hier ist, dass ein Wechsel meist nur im Zuge einer Operation durchgeführt wird.

Ziel dieser Studie soll die Überprüfung sein, ob *(I)* mittels eines Zwischenstückes die Wundflüssigkeit während laufender Unterdrucktherapie gewonnen und *(II)* dieses Sekret biochemisch auf Enzymaktivitäten analysiert werden kann, um somit frühzeitig eine Veränderung der Wundsituation (infiziert/ nicht infiziert) erkennen zu können.

Methodik

In einer prospektiven Studie werden Patienten/Patientinnen der plastischen Chirurgie mit einem Unterdruckverband eingeschlossen. Vor Anlage des Unterdruckverbandes werden intraoperativ zwei Abstriche der Wunde entnommen (biochemische und mikrobiologische Analyse). Nach Anlage des Verbandes wird der Verbindungsschlauch zwischen der Wunde und dem unterdruckerzeugenden Gerät steril durchtrennt und anschließend ein Zwischenstück eingefügt. Dieses Behältnis wird täglich getauscht und biochemisch auf die Konzentration von Enzymen wie Lysozyme, Elastase, Myeloperoxidase analysiert.

Ergebnisse

Neun Patienten mit Wunden unterschiedlicher Genese wurden eingeschlossen. Der Unterdruckverband wurde durchschnittlich vier Tage belassen. Acht dieser neun Patienten erhielten bei diesem Unterdruckverband einen Schwamm als Füllmaterial. Der mikrobiologische Abstrich ergab bei fünf Patienten kein Keimwachstum, bei den restlichen vier Patienten war zumindest zu einem Zeitpunkt ein pathogener Keim nachweisbar. *(I)* Bei acht Patienten war es problemlos möglich, während laufender Unterdrucktherapie, Wundsekret zu gewinnen und dieses biochemisch zu analysieren. Diese Analyse wurde mithilfe von cut-offs zur Einstufung von infiziert/nicht-infiziert verwendet. *(II)* In sechs

von neun Fällen ist in den drei Kategorien (klinische Beurteilung, mikrobiologische und biochemische Analyse) ein übereinstimmendes Ergebnis erzielt worden.

Conclusio

Das Sammeln des Wundsekretes während laufender Unterdrucktherapie war mit einem Schwamm als Füllmaterial problemlos möglich, ebenso die biochemische Analyse aus diesem Wundsekret. Bei Baumwollgazen als Füllmaterial ließ sich jedoch nur klares Wasser sammeln, erklärbar durch einen zu gering eingestellten Sog, wodurch sich das Sekret in den Gazen angesammelt hat. Am anfälligsten für Fehlinterpretationen der biochemischen Analyse ist die Enzymaktivität der Elastase. Vor allem dadurch bedingt, dass dieses Enzym stark reguliert und von einzelnen gängigen Antibiotika inhibiert wird.

Abstract

Introduction

Chronic wounds represent a growing challenge in medical care. The choice of dressings and the timely start with antibiotics require a lot of experience of the attending physician. One possibility for wound dressings is the negative pressure wound therapy (NPWT). One drawback of NPWT is that the dressed wounds cannot be assessed during vacuum therapy. The aim of this study was to evaluate (I) the possibility of wound fluid acquisition by means of an “additional collector” during ongoing NPWT and to answer if (II) this secretion can be biochemically analyzed for enzyme activities in order to be able to detect a change in the wound situation at an early stage.

Methods

Patients of the plastic surgery with a NPWT were included in a prospective study. Before the NPWT was applied, two swabs (biochemical and microbiological analysis) of the wounds were taken. After installation of the dressing, the connecting tube between the wound and the vacuum-generating device was cut and an “additional collector” was inserted. This collector was changed daily and afterwards the concentrations of enzymes (lysozyme, elastase, myeloperoxidase) were biochemically analyzed.

Results

Nine patients with wounds of different origin were included. Eight patients received a sponge as filling material for the vacuum dressing. The microbiological swab showed no bacterial growth in five patients and in the remaining four growth of pathogenic bacteria was detectable at least once. (I) For eight patients no problems occurred during acquisition of wound secretions in the course of NPWT and during the following biochemical analysis. (II) In six out of nine cases comparable results could be achieved in clinical evaluation, microbiological and biochemical analysis.

Conclusion

The collection of the wound secretion during NPWT was easily possible, as well as the biochemical analysis of this fluid. Most susceptible for misinterpretation is the elastase enzyme activity, due to the fact that this enzyme is highly regulated and some common

antibiotics also lead to its inhibition. With cotton gauze as filling material, only clear water could be collected, possibly explainable by a suction set too low and accumulation of secretion the gauze.

Inhaltsverzeichnis

Danksagungen	3
Zusammenfassung	4
Abstract	6
Inhaltsverzeichnis	8
Abkürzungen	11
Abbildungsverzeichnis	14
Tabellenverzeichnis	16
Grafikverzeichnis	16
1. Einleitung	17
1.1. Wunden.....	17
1.1.1. Historischer Hintergrund	17
1.1.2. Entzündungszeichen	17
1.1.3. Terminologie	18
1.1.4. Wundheilungsphasen.....	19
1.1.5. Akute vs. Chronische Wunden	21
1.1.6. Arten von chronischen Wunden	22
1.1.7. Ursachen für Wunden.....	24
1.1.8. Prädispositionsfaktoren/Einflussfaktoren	24
1.1.9. Inzidenz, Epidemiologie	28
1.1.10. Diagnose	28
1.1.11. Behandlungsmöglichkeiten	28
1.1.12. Pathogene	33
1.2. VAC-Therapie	35
1.2.1. Anfänge der VAC-Therapie	36
1.2.2. Funktionsprinzip der Vakuumtherapie	37
1.2.3. Effekte/Vorteile	37
1.2.4. Elemente der Unterdrucktherapie.....	38
1.2.5. Indikationen	43
1.2.6. Kontraindikationen	44
1.2.7. Anbringen des VAC-Verbandes.....	45
1.2.8. Sog.....	45

1.2.9. Nachteile/Nebenwirkungen/Risiken der Unterdrucktherapie.....	46
1.3. Enzyme	47
1.3.1. Lysozyme	50
1.3.2. Myeloperoxidase	51
1.3.3. Humane neutrophile Elastase	51
1.3.4. Enzymaktivitäten	52
1.3.5. pH – Wert	53
2. Relevanz des Projektes.....	55
3. Hypothesen.....	56
4. Material und Methoden	57
4.1. Beschreibung des Prüfproduktes	57
4.1.1. Ursprüngliche Produkte.....	57
4.1.2. modifiziertes Produkt „NPWW 40cc“.....	59
4.1.3. vorgesehene Verwendung des Prüfproduktes „NPWW 40cc“	62
4.1.4. Zweckbestimmung des Prüfproduktes seitens des Herstellers	63
4.1.5. Risikoanalyse.....	63
4.2. Aufbau der klinischen Studie	64
4.2.1. Praktische Durchführung der Studie	64
4.2.2. Studiendesign	66
4.2.3. Prüfungsteilnehmer.....	67
4.2.4. Studienspezifische Behandlungen	68
4.2.5. Monitoring	69
4.2.6. Statistische Überlegung	69
4.2.7. Datenmanagement	71
4.2.8. Versicherung.....	72
4.2.9. Zustimmung der Ethikkommission/BASG.....	72
5. Ergebnisse/Resultate	73
5.1. Das Patientenkollektiv	73
5.2. Gewinnen der Wundflüssigkeit während laufender Unterdrucktherapie	78
5.3. Analyse der Wundflüssigkeit biochemisch anhand von Enzymen.....	78
5.4. Cut-offs der biochemischen Analyse zur Beurteilung einer Infektion	87
5.5. Vergleich klinische Beurteilung, Mikrobiologie und biochemischer Analyse.....	89
5.6. pH-Wert.....	90

6. Diskussion.....	93
6.1. Zwischenstück	93
6.2. „Kerlix™“ (Gaze) als Füllmaterial – VAC05.....	94
6.3. Enzyme	95
6.4. pH-Wert.....	98
6.5. Limitation	99
7. Conclusio und Perspektive.....	100
8. Literaturverzeichnis	101
9. Referenzen – Abbildungsverzeichnis	114
10. Referenzen – Tabellenverzeichnis.....	116
11. Referenzen – Grafikenverzeichnis	117
Anhang – CRF	118
Anhang – IC	124

Abkürzungen

µm	Mikrometer
a	Jahr
Abb.	Abbildung
Ag	Silber
ARDS	acute respiratory distress syndrome
B.C.	before Christ (vor Christus)
BAL	Bronchoalveoläre Lavage
BASG	Bundesamt für Sicherheit im Gesundheitswesen
bzw.	beziehungsweise
CE	Communauté Européenne
cm	Zentimeter
COPD	chronic obstructive pulmonary disease
CRF	Case Report Form
CRP	C-reaktives Protein
CT	Computertomographie
d	Tage
d.h.	das heißt
DFS	diabetisches Fußsyndrom
E.coli	Escherichia coli
EK	Ethikkommission
ESBL	Extended-Spectrum Beta-Lactamasen
et al	et alteri
etc	et cetera
f	fehlt
g	Gramm
GCP	Good Clinical Practice
GmbH & Co KG	Gesellschaft mit beschränkter Haftung und Compagnie Kommanditgesellschaft
Graf.	Grafik
HBO	hyperbaric oxygen

HNE	human neutrophil elastase
IVD	In-vitro-Diagnostics
Jhdt.	Jahrhundert
KCI	Name einer Medizinproduktfirma
li	links
LKH	Landeskrankenhaus
LYS	Lysozym
m	Meter
min	Minute
ml	Milliliter
mmHg	Millimeter-Quecksilbersäule
MPO	Myeloperoxidase
Mrd.	Milliarden
MRSA	Methicillin-resistenter Staphylococcus aureus
MRT	Magnetresonanztomographie
n.Chr.	nach Christus
NPWT	negative pressure wound therapy
NPWW	negative pressure wound watch
O ₂	Sauerstoff
OP	Operation
P.aeruginosa	Pseudomonas aeruginosa
pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
PDGF	platelet-derived growth factor
PET-CT	Positronen-Emissions-Tomographie-Computertomographie
pH	potentia Hydrogenii
PMN	polymorphnukleäre Neutrophile
PPMOS	potentially pathogenic microorganismn
PTA	perkutane transluminale Angioplastie
PU	Polyurethan
PVA	Polyvinylalkohol
PVP-Jod	Povidon-Jod

py	pack years
re	rechts
spp.	Spezies
Tabl.	Tabelle
TGF-b	transforming growth factor - b
TMF	Trial Master File
u.a.	unter anderem
VAC	vacuum assisted closure
VRE	Vancomycin resistente Enterokokken
z.B.	zum Beispiel

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1. Akute vs. chronische Wunden.....	21
Abb. 2. Grundelemente der Unterdrucktherapie	38
Abb. 3. PVA - Schwamm („VAC WhiteFoam Dressing™“).....	40
Abb. 4. PU - Schwamm („VAC GranuFoam Dressing™“).....	40
Abb. 5. PU - Schwamm mit Silber („VAC GranuFoam Silver™ Dressing“)	41
Abb. 6. Folie.....	41
Abb. 7. Klebepad mit Drainageschlauch, sowie mit Klemme und Konnektor	42
Abb. 8. Y - Verbindungsstück	42
Abb. 9. „VAC-Instill®“	43
Abb. 10. Enzymaktivitäten abhängig von der bakteriellen Belastung	53
Abb. 11. Steril verpacktes "Argyle™ Specimen Trap 40ml"	57
Abb. 12. Lieferumfang "Argyle™ Specimen Trap 40ml"	58
Abb. 13. Steril verpacktes "VAC GranuFoam™ Dressing“	58
Abb. 14. Lieferumfang "VAC GranuFoam™ Dressing“	59
Abb. 15. Schritt 1: sterile Entnahme aus der Verpackung	60
Abb. 16. Schritt 2: Durchtrennen des Schläuchens.....	60
Abb. 17. Schritt 3: Anstecken des halbierten Schläuchens	60
Abb. 18. Schritt 4: Steriler Verbindungsschlauch "Sensa T.R.A.C.™"	61
Abb. 19. Klemme offen.....	61
Abb. 20. Klemme geschlossen.....	61
Abb. 21. Schritt 5: Durchtrennung des Verbindungsschlauches	62
Abb. 22. Fertig modifiziertes Prüfprodukt.....	62
Abb. 23. Nahaufnahme Prüfprodukt	62
Abb. 24. Wunde VAC01: Weichteildefekt nach Fraktur	74
Abb. 25. Wunde VAC01: Angebrachter Unterdruckverband.....	74
Abb. 26. Wunde VAC01: Angebrachtes Zwischenstück.....	74
Abb. 27. Wunde VAC03: Pyoderma gangraenosum mit nekrotischen Sehnen.....	75
Abb. 28. Wunde VAC05: chronisches Ulcus.....	75
Abb. 29. pH-Wert Referenz	92
Abb. 30. pH-Werte VAC01/VAC02	92
Abb. 31. pH-Werte VAC01	92

Abb. 32. pH-Werte VAC01	92
Abb. 33. pH-Werte VAC02	92
Abb. 34. pH-Werte VAC03	92
Abb. 35. pH-Werte VAC03	92
Abb. 36. pH-Werte VAC06	92

Tabellenverzeichnis

Tabl. 1. Beispiele von potentiellen Wund-Pathogenen.....	33
Tabl. 2. Resistenzbericht 2018.....	35
Tabl. 3. Polyurethan-Schwamm (PU) vs. Polyvinylalkohol-Schwamm (PVA).....	39
Tabl. 4. Demographische Daten.....	73
Tabl. 5. Beschreibung der Wunden Teil 1	74
Tabl. 6. Beschreibung der Wunden Teil 2	76
Tabl. 7. Vacuum assisted closure.....	76
Tabl. 8. Keime	77
Tabl. 9. Umrechnungstabelle	79
Tabl. 10. Enzymaktivität Elastase.....	80
Tabl. 11. Enzymaktivität Lysozyme	81
Tabl. 12. Enzymaktivität Myeloperoxidase	83
Tabl. 13. Cut-offs.....	87
Tabl. 14. Binärer Code für Infektion bzw. keine Infektion	87
Tabl. 15. Beurteilung Infektion/keine Infektion	89
Tabl. 16. pH-Werte	90

Grafikverzeichnis

Graf. 1. Enzymaktivität Elastase	81
Graf. 2. Enzymaktivität Lysozyme.....	83
Graf. 3. Enzymaktivität Myeloperoxidase aller Patienten.....	85
Graf. 4. Enzymaktivität MPO ohne VAC06.....	86
Graf. 5. Enzymaktivität MPO ohne VAC04 und VAC06	86

1. Einleitung

1.1. Wunden

1.1.1. Historischer Hintergrund

Die ersten medizinischen Manuskripte gehen zurück bis etwa 2000 BC, wo als „heilend“ das Waschen der Wunden, das Anbringen des Pflasters und der Bandagen beschrieben wurde. Vergleichend mit damaligen Pflastern sind die heutigen Wundauflagen. Damals enthielten sie jedoch Substanzen wie Schlamm, Lehm oder Kräuter. Ziel war die Protektion der Wunde und die Absorption des Wundexsudates. Weiters wurde auch Öl, bekannt als eine Substanz in der Bakterien nur spärlich wachsen, verwendet.

Die Ägypter behandelten mit adhäsiven Bandagen sowie mit Mull, Fett und Honig. Honig wurde also schon seit 1000 Jahren verwendet und hat auch heute noch Bedeutung in der Wundbehandlung. Weiters bemalten die Ägypter die Wunden mit grüner Farbe; dies enthält Kupfer, welches sich toxisch auf Bakterien auswirkt.

Die Griechen, darunter auch Hippocrates, legten mehr Wert auf Säuberung und empfahlen Wunden mit reinem, teils auch gekochtem Wasser, aber ebenso auch mit Wein und Essig zu reinigen. Weiters teilten sie bereits, wie auch heute noch gebräuchlich, die Wunden in akut, chronisch und heilend ein.

Von den Römern kam die Beschreibung der „Kardinalzeichen“: rubor, calor, tumor, dolor. Damals waren es noch vier, mittlerweile ist zusätzlich noch „Functio laesa“ mit dabei.

Im 19. Jhdt. war der Durchbruch der antiseptischen Technik. Besonders die Einführung von Antibiotika zog große Verbesserungen mit sich und senkte die Mortalität durch Infektionen deutlich [1][2].

1.1.2. Entzündungszeichen

Bedingt durch verschiedene Auslöser können Entzündungen, als eine Reaktion des Körpers auf schädigende Reize entstehen. Im Zuge dessen, kommt es zu den klassischen Entzündungszeichen, auch Kardinalzeichen genannt. Diese sind: rubor (Rötung), calor (Überwärmung), tumor (Gewebsschwellung), dolor (Schmerzen) und functio laesa

(Funktionsverlust). Die Erstbeschreibung der ersten vier Zeichen wurde von dem Römer Celsus (30-38 B.C.) getätigt, *functio laesa*, etwas später von Galen (130-200 n.Chr) [3].

Calor ist durch den verstärkten Strom des Blutes, durch die erweiterten Gefäße in den umgebenden kühlen Extremitäten bedingt. Die Rötung kann ebenfalls durch die Gefäßdilatation und die somit erhöhte Anzahl an Erythrozyten, die durchströmen, erklärt werden. Durch die Mehrpassage von Flüssigkeit durch die dilatierten und durchlässigen Blutgefäße, und somit dem Durchtritt in das umliegende Gewebe, kommt es zur Schwellung. Der Schmerz bei einer Entzündung ist die Folge von der Aktivierung der Mediatoren, entweder durch die ursächliche Schädigung oder durch die eigentliche Entzündungsreaktion. Er kann jedoch aber auch durch die Dehnung der sensorischen Nerven bedingt durch die Gewebsschwellung ausgelöst werden. *Functio laesa* kann sich durch den partiellen lokalen Mobilitätsverlust oder den Umbau ursprünglich gesunden funktionsfähigen Gewebes in Narbengewebe äußern [4].

Entzündungen werden als Reaktionen des Immunsystems auf ein beschädigtes Gewebe oder eine Infektion gesehen. Jedoch gilt es, klar zwischen Infektionen und Entzündungen zu unterscheiden, da eine Infektion nicht zwingend mit einer Entzündung einhergehen muss.

Weiters werden Entzündungen je nach Dauer des Bestehens in akut und chronisch eingeteilt. Während im akuten Verlauf meist nach wenigen Wochen wieder eine Ausheilung zu erwarten ist, besteht die chronische Entzündung über einen längeren Zeitraum. Beispielsweise kommt es bei einem chronischen inflammatorischen Prozess in den Gefäßen zu einem Umbau der Gefäßwände (Entstehung der Atherosklerose) [4].

Zusätzlich zu den lokalen Entzündungszeichen gibt es auch die systemischen, die sich als Schüttelfrost, Fieber und/oder Erhöhung der Entzündungszeichen im Blutbild (CRP, Leukozytenanzahl) zeigen.

1.1.3. Terminologie

Chronische Wunden sind meist immer mit Bakterien besiedelt. Die bloße Anwesenheit dieser wird als *Kontamination* bezeichnet. Die Bakterien vermehren sich jedoch nicht, ebenso ist ihr Bestehen in der Wunde nur vorübergehend. Zusätzlich hat die Besiedelung der Mikroorganismen keine Auswirkung auf die Wundheilung. Bei Vermehrung der Mikroorganismen in Wunden, spricht man von einer *Kolonisation*. Auch hier entsteht

keine Wundinfektion bzw. kein Schaden für den/die Patienten/Patientin. Der Begriff *kritische Kolonisation* wird bei einer Anzahl von $>10^5$ Mikroorganismen/g verwendet; in diesem Zustand ist es für eine Wunde nicht möglich zu heilen. Wenn die in der Wunde vorhandenen Bakterien nicht nur wachsen und sich vermehren, sondern auch eindringen, und somit eine Reaktion des Immunsystems des Wirtes auslösen, wird dies als *Infektion* (z.B. Phlegmone) bezeichnet. Weiters kommt es zu einer Störung der Wundheilung [5][6].

Die am häufigsten vorkommenden Keime in chronischen Wunden, unabhängig vom Infektionsstatus, sind aerobe Bakterien wie Staphylokokken, Streptokokken und Pseudomonas, aber auch Anerobier wie Bacteroides [7].

Die Übertragung der Keime kann auf verschiedene Arten erfolgen. Primär kann noch unterschieden werden, ob es sich um eine endogene oder exogene Infektion handelt. Bei endogenen Infektionen stammt der Erreger aus der körpereigenen Flora, wie z.B. Infektionen mit Bakterien des Magen-Darm-Traktes (E.coli).

Zu den exogenen Infektionen zählen [8]:

- *Schmierinfektion/ Kontaktinfektion*: Die Übertragung erfolgt hier durch den direkten Kontakt z.B. durch verunreinigte Geräte (OP, invasive Eingriffe) oder durch Hände. Schleimhäute, sowie Verletzungen der Haut erleichtern den Eintritt der Erreger. Häufige, über Schmierinfektionen übertragene Keime sind u.a. Clostridium difficile und auch der Norovirus.
- *Tröpfcheninfektion*: Die Verbreitung der Keime, wie das Influenzavirus oder Meningokokken, erfolgt z.B. durch Niesen oder Husten, wobei infektiöse Partikel von einer Größe $>5\mu\text{m}$, über eine kurze Distanz ($<1\text{m}$) von einer Person auf eine andere übertragen werden.
- *Luftübertragung*: Hierbei werden kleine, sich in der Luft befindende, Mikroorganismen übertragen.

1.1.4. Wundheilungsphasen

Der physiologische Ablauf der Wundheilung lässt sich in vier Phasen einteilen, die sich gegenseitig zeitlich überlappen. Diese sind: die exsudative Phase, resorptive Phase, reparative Phase und Regeneration/Reepithelialisierung.

Die *exsudative Phase* beginnt unmittelbar nach der Verletzung. Primär kommt es zu einer Auffüllung der geschädigten Stelle durch Thrombozytenpfropfen und Fibrin, wodurch die Gerinnungskaskade aktiviert wird. Bedingt durch das aus den Endothelzellen freigesetzte Kollagen werden die Thrombozyten zur Aktivierung, Adhäsion und Aggregation angeregt. Weiters produzieren diese PDGF sowie TGF- β . Fibronectin sorgt für die Stabilisierung der Wunde, wodurch es wie eine Matrix für die von den Wachstumsfaktoren PDGF und TGF- β angelockten Makrophagen und Fibroblasten wirkt. Die Oberfläche des Defektes ist von einem sogenannten „Blutschorf“ (koaguliertes Blut) bedeckt [9-11].

Die neutrophilen Granulozyten sind die ersten Zellen der Immunabwehr bei einer Wunde [12]. In der *resorptiven Phase* wird der Abbau des Exsudats begonnen. Dafür kommt es zur Migration von Makrophagen, sowie neutrophilen Granulozyten. Letztere bedienen sich den Enzymen Elastase und Kollagenase, die die Migration erleichtern. Sind diese angekommen, wird mit der Phagozytose von Bakterien begonnen, ebenso werden weitere neutrophile Granulozyten und Makrophagen zum Ort des Defektes rekrutiert. In dieser Phase der Wundheilung beginnt auch die Entstehung von Granulationsgewebe, etwa am dritten Tag nach der Verletzung [10][11][13].

Die Reparation des Defektes erfolgt durch die Bildung von Granulationsgewebe, gekennzeichnet durch Fibroblasten, der Einsprossung von Blutgefäßen (Angiogenese), sowie durch die Bildung von Kollagen und Proteoglykan (Extrazellulärmatrix); dies wird als *reparative* oder auch *proliferative Phase* bezeichnet. Primär kommt es bei der Kollagensynthese zur Bildung von Typ-III-Kollagen. Dies wird jedoch im Laufe der Zeit zu Typ-I-Kollagen umgewandelt. Innerhalb der nächsten Wochen bis Monaten wird das Granulationsgewebe in reifes Narbengewebe umgewandelt [11].

In der letzten Phase der Wundheilung, der *Reepithelialisierung/Regeneration*, bildet sich basales Epithel zwischen dem an der Oberfläche der Wunde befindenden Blutschorf und dem darunterliegenden Granulationsgewebe aus. Schließlich wird dieser Blutschorf abgestoßen. Nach Abschluss dieser Phase gibt es die Möglichkeit, dass der ursprüngliche Zustand wiederhergestellt wird (Heilung, *Restitutio integrum*), oder aber, dass es zu einer Defektheilung kommt. Letztere tritt ein, wenn keine Regeneration möglich war, und es zu einem Ersatz des ursprünglichen Gewebes mit Bindegewebe gekommen ist [11].

1.1.5. Akute vs. Chronische Wunden

Der Begriff „chronische Wunden“ umfasst Wunden, die länger als sechs Wochen bestehen, und trotz optimaler Behandlung, nach zwölf Monaten noch immer nicht verheilt sind, oder nach drei Monaten keine Verbesserung hinsichtlich der Wundheilung zeigen [14].

Wie gut entstandene Wunden heilen, ist abhängig von verschiedenen Faktoren, wie z.B. der Größe und der Tiefe der Wunde, der Lokalisation, aber auch Patienten/Patientinnen-abhängige Punkte, wie das Alter oder Vorerkrankungen. Betrachtet man die Wunde genauer, so zeigen jene, die sich in Heilung befinden, eine geringe Anzahl an Bakterien, entzündlichen Zytokinen, Proteasen und reaktiven Sauerstoffprodukten.

Dementsprechend zeichnen verminderte Oxygenation, chronische Entzündung, seneszente Fibroblasten, sowie starke bakterielle Besiedlung chronischen Wunden aus [10][15].

Acute wounds	Chronic wounds
Low levels of bacteria	High levels of bacteria (MRSA)
Low inflammatory cytokines	High inflammatory cytokine levels
Low protease and reactive oxygen species levels	High protease and reactive oxygen species levels
Intact functional matrix	Degraded nonfunctional matrix
High mitogenic activity Mitotically competent cells	Low mitogenic activity Senescent cells

MRSA, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.
Adapted from Mast and Schultz.¹¹

Abb. 1. Akute vs. chronische Wunden

Studien zeigten, dass sich die Fibroblasten hinsichtlich mitogener Aktivitäten voneinander unterscheiden. Während in chronischen Wunden Fibroblasten eine niedrige mitogene Kapazität aufweisen, sind sie in akuten Wunden mitotisch kompetent und besitzen eine hohe Aktivität hinsichtlich Mitose. Weiters konnte nachgewiesen werden, dass die Proliferation der Keratinozyten sowie der Fibroblasten im Wundsekret chronischer Wunden gehemmt wird [16][17].

Auch die Aktivität der Matrix-Metaloproteinase ist in chronischen Wunden verändert. Die Überaktivität führt dazu, dass Matrixgewebe abgebaut wird und es zu einer verzögerten Wundheilung kommt [18-20].

1.1.6. Arten von chronischen Wunden

Die Ursachen für die Entstehung von nicht heilenden, chronischen Wunden sind verschieden. Oft spielen multiple Faktoren zusammen. Je nach dem Hauptentstehungsgrund kann man die Mehrheit der chronischen Wunden in vier Kategorien einteilen [21]:

- Venöses Ulcus
- Arteriellulcus (arterielle Ischämie)
- Druckulcus
- Diabetisches Ulcus

Venöse Ulcera:

Venös bedingte Ulcera sind die Ursache für mehr als die Hälfte der chronischen Wunden an den unteren Extremitäten. Betroffen sind eher Frauen und ältere Patienten/Patientinnen [22].

Ursächlich für venöse Ulcera sind venöse Hypertension, aber auch venöse Thrombosen oder Klappenfehler, die Stauungen verursachen. In Folge kommt es zu Leukozyteninfiltrationen sowie zu Ödemen und Fibrose. Dies verhindert die Diffusion von Sauerstoff, Wachstumsfaktoren und Nährstoffe, was wiederum eine Verschlechterung der Wundsituation mit sich zieht [23][24].

Makroskopisch sind venöse Ulcera, im Vergleich mit anderen Ulcustypen, größer und oberflächlicher. Typisch ist auch der unregelmäßige Rand. Lokalisiert sind diese meist im Bereich des medialen Malleolus [22].

Arterielle Ulcera:

Arterielle Ulcera, die klinisch betrachtet einen scharf begrenzten Randsaum aufweisen, treten gehäuft an vorwölbenden knöchernen Bereichen auf [25]. Risikofaktoren für die Entstehung arterieller Ulcera sind Nikotinabusus, Diabetes mellitus, Hypertonie, Hypercholesterinämie, Hyperlipidämie oder höheres Alter. Diese Faktoren begünstigen die Bildung von Atherosklerose und weiter von Thrombembolien in den Gefäßen, wodurch es zu einer Einengung (pAVK) und somit zu einer arteriellen Insuffizienz kommen kann [26][27].

Druckulcera:

Unter Druckulcera bzw. Decubitus versteht man Gewebsdefekte, die bei vermehrtem Druck an der gleichen Stelle auftreten, wodurch es zu einer Durchblutungsstörung in diesem Gebiet kommt. Gehäuftes Auftreten ist bei Patienten/Patientinnen zu finden, die eine verminderte Mobilität haben (Querschnittslähmungen, Bettlägerigkeit, Rollstuhlfahrer) [22]. Weitere Risikofaktoren sind erhöhtes Alter, unausgewogene Ernährung, Gefäßschäden, fäkale Inkontinenz (Dekubitus Os Sacrum) [28]. Besonders betroffen sind vorwölbende Knochenstellen, wie am Os Sacrum, den Hüftknochen oder den Malleoli zu finden [29].

Diabetische Ulcera:

Diabetes mellitus ist mit rund 600.000 betroffenen Menschen allein in Österreich, eine der häufigsten Krankheiten [30].

Eine Komplikation dieser Erkrankung stellt das diabetische Fußsyndrom dar, welches sich als eine chronische Wunde, meist lokalisiert am Unterschenkel bzw. Fuß, präsentiert.

Schlecht eingestellte Blutzuckerwerte, arterielle Insuffizienz, Bagateltrauma und vor allem die periphere Polyneuropathie zählen zu den Hauptrisikofaktoren. Durch die Störung des sensiblen Empfindens werden oft Druckstellen bzw. Verletzungen von den Patienten/Patientinnen zu spät erkannt und somit entstehen Weichteildefekte, die auch bis zu dem darunterliegenden Knochen reichen können. Kommt es hier zusätzlich auch zu einer Entzündung, so spricht man von einer Osteomyelitis, einer gefürchteten Begleitkomplikation des Diabetischen Fußsyndroms. Die Glykosylierung von Sehnen führt zu Veränderungen wie Versteifungen oder Verkürzungen. Betrifft dies die Achillessehne, so besteht die Gefahr von einer Ulcusentstehung, vor allem am Vorfußballen, da hier durch die Spitzfußdeformierung ein erhöhter Druck vorliegt.

Auch die Wundheilung selbst ist bei diabetischen Ulcera gestört. Dies hat zur Folge, dass die Mehrheit dieser Wunden mikrobakteriell besiedelt sind. Vorwiegende Keime sind hier Streptokokken und Staphylokokken. Aber auch „Problemkeime“ wie MRSA, die aufgrund ihrer Resistenzlage, hinsichtlich der antibiotischen Behandlung, ein Problem darstellen [31][32].

1.1.7. Ursachen für Wunden

Wunden sind in allen Belangen vor allem Eines: nicht einheitlich. Dies betrifft sowohl die klinische Erscheinung, die Größe, die Dauer des Bestehens, die Entstehungsfaktoren, die Besiedelung mit Mikroorganismen, das Ansprechen auf diverse Therapien, etc.

Wunden können entstehen bedingt durch Traumata, Operationen, schlechte Gefäßsituationen, wie z.B. der venösen Insuffizienz, Druckstellen bei Immobilisation, aber auch begünstigt durch Faktoren wie Diabetes mellitus, Hypertension, rheumatische und andere entzündliche Erkrankungen [10].

1.1.8. Prädispositionsfaktoren/Einflussfaktoren

Wundheilung, als ein sehr komplexer Mechanismus, kann von vielen verschiedenen Faktoren beeinflusst werden. Grob wird zwischen intrinsischen/lokalen und extrinsischen Faktoren unterschieden. Häufig treten Kombinationen dieser Faktoren auf.

Intrinsische/ lokale Faktoren: Hierzu zählen Ischämie, Infektionen, Vorliegen von nekrotischem Gewebe sowie Fremdkörper im Wundgebiet, aber auch Radiatio.

Ischämie: Ein wichtiger Schritt der Wundheilung ist der ausreichende Sauerstofftransport zum verletzten Gewebe. Bei vielen Erkrankungen, wie arteriellen Verschlusskrankheiten oder chronischen Veneninsuffizienzen, bedingt durch Atherosklerose und/oder Thrombosen von Blutgefäßen, oder auch durch Veränderungen der Gefäße bzw. der Gefäßwandstruktur durch Trauma oder Autoimmunerkrankungen, ist diese Abgabe von Sauerstoff und auch Nährstoffen gestört. Die Behinderung des Blutflusses zum Ort der Wunde führt über eine Reduktion des Perfusionsdruckes des Sauerstoffs zu einer hypoxischen Wunde. Diese Hypoxie bewirkt, dass die Wunde nicht heilt und der Wirt anfälliger auf Infektionen wird [33].

Es konnte nachgewiesen werden, dass Wunden ab einem Sauerstoffpartialdruck von 35mmHg oder weniger nicht heilen können [34]. Eine Anämie an sich, beeinflusst die Wundheilung nicht, jedoch weisen anämische Patienten/Patientinnen meist zusätzliche Faktoren auf, die eine negative Beeinflussung der Wundheilung bewirken [33].

Infektionen:

Eine offene Wunde ist immer mit einem Verlust der Integrität assoziiert. Die schützende Hautbarriere ist verloren, was dazu führt, dass es immer zu einer Besiedlung mit Mikroben kommt [33].

Kontamination: Vorhandensein von Organismen in einer Wunde, die sich nicht replizieren können.

Kolonialisierung: Vorhandensein von Organismen in einer Wunde, die sich replizieren können. Es findet hierbei jedoch kein Gewebeschaden statt.

Wundinfektion: Vorhandensein von Organismen in einer Wunde, die sich sowohl replizieren, als auch einen lokalen Gewebeschaden verursachen können [35].

Die Veränderung des Heilungsprozesses einer Wunde bei einer Infektion wird verursacht durch eine Verlängerung der Entzündungsphase, wahrscheinlich zurückzuführen auf die Wirkung bakterieller Enzyme. Eine Wundinfektion wird definiert als eine Wunde mit einer Keimzahl von $>10^5/g$. Risikofaktoren für eine Infektion sind Immunsuppression, Malnutrition, Hypoxie, in den Körper eingebrachte Fremdkörper sowie nekrotisches Gewebe. Das Erkennen von Wundinfektionen kann bei oberflächlichen Wunden rein makroskopisch mit freiem Auge erfolgen, durch Berücksichtigung der Infektionszeichen, der Anamnese sowie der klinischen Untersuchung. Weiters bieten Wundabstriche und Biopsien zusätzliche Anhaltspunkte. Tiefer gelegene Infektionen benötigen zur Diagnose meist apparative Unterstützung mit CT bzw. MRT (PET-CT mit Radioisotopen zur Feststellung von u.a. Osteomyelitis, Abszesse im Skelett) [33].

Fremdkörper:

Fremdkörper, wie z.B. orthopädische Prothesen, Gefäßtransplantate, devitalisierter Knochen in offenen Wunden oder Brustimplantate, stellen eine Gefahr für eine Besiedlung mit Bakterien dar. Diese Fremdkörper zählen somit zu Risikofaktoren sowohl für Infektionen als auch oft damit verbundener, protrahierter Wundheilung. Damit sich eine offene Wunde verschließen kann, müssen primär die im Wundgebiet freiliegenden Fremdkörper entfernt werden. Oft wird versucht diesen Schritt zu umgehen, indem man eine NPWT (Unterdrucktherapie) als „Rettung der Prothese“ einsetzt.

Nekrotisches Material in der Wunde muss jedoch entfernt werden, damit die Wundheilung ablaufen kann (Debridement) [33].

Bestrahlung:

Die Radiatio im Zuge einer Tumorthherapie hat Nebenwirkungen, die sich in akute/frühe und in chronische Strahlungseffekte unterteilen. Abhängig sind die Auswirkungen der Strahleneffekte von der Bestrahlungsdosis, der Lokalisation, dem Ausmaß der Bestrahlungsfläche, sowie der begleitenden Operationen und Co-Therapien, wie Chemotherapie. Besonders die chronischen Effekte/Spätfolgen beeinflussen die Heilungsfähigkeit dauerhaft, vor allem die Schädigung der Blutgefäße und der Zellen im Bestrahlungsgebiet. Histologisch konnte eine Endarteriitis obliterans der kleinen Gefäße festgestellt werden. Diese Endarteriitis führt wiederum zu einer Hemmung der Wundheilung, durch eine Störung der physiologischen Angiogenese. Zu den akuten Nebenwirkungen einer Bestrahlung zählen Erythem, Mucositis und lokale offene Ulzerationen. Bestrahlte Haut bietet weiters eine Anfälligkeit für Ulzerationen und protrahierter Wundheilung. Wichtig bei der Diagnosestellung ist auch, eine Wunde von einem Tumorrezidiv zu unterscheiden. Unter Umständen können sich auch Neoplasien (z.B. Plattenepithelkarzinome) aus chronischen Wunden entwickeln.

Tumorerkrankungen an sich sind oft mit einer veränderten Wundheilung assoziiert. Dazu führen u.a. Malnutrition (Unterernährung, sowie katabole Zustände), aber auch Chemotherapie und Radiatio [33].

Zu den **extrinsischen/ externen Faktoren** gehören u.a. Diabetes mellitus, Tumorerkrankungen, chronische Erkrankungen, wie chronische Niereninsuffizienz, Behandlung mit Steroiden, Malnutrition, Adipositas, Nikotinabusus, Stress [33].

Diabetes mellitus: Diabetes mellitus, als eine chronische Stoffwechselerkrankung, zählt mit etwa 32 Millionen betroffenen Erwachsenen in Europa, zu den häufigsten Krankheiten in unserer Gesellschaft [36].

Diabetes mellitus hat eine Auswirkung auf die Wundheilung. Häufig mit dieser Stoffwechselerkrankung sind chronische Wunden, wie das diabetische Fußsyndrom (DFS), assoziiert. Das DFS setzt sich aus einer sensorischen, motorischen und autonomen Neuropathie zusammen, und ist charakterisiert durch Ulzerationen, Infektionen und Gangrän – oft letzter Ausweg ist die Amputation. Ausgelöst werden die offenen Stellen durch die verminderte sensorische Wahrnehmung am Fuß. Druckstellen in z.B. zu engen Schuhen oder auch Bagateltraumata werden oft nicht oder zu spät wahrgenommen, meist erst dann, wenn bereits ein in die Tiefe reichender Defekt vorhanden ist.

Prädilektionsstellen sind der Fußballen (Charcot-Fuß), die Ferse, aber auch der Knöchelbereich. Ein zusätzliches Risiko stellt die oft schlechte Gefäßsituation dar. Patienten/Patientinnen mit Diabetes mellitus weisen häufig zusätzliche Erkrankungen der Gefäße und damit verbunden eine Ischämie, u.a. bedingt durch Atherosklerose, auf. Eine Kombination aus dem verminderten Blutfluss und der Veränderung des Kollagenstoffwechsels kann eine Exazerbation der chronischen Wunde mit sich ziehen. Ein weiterer Einflussfaktor den Diabetes mellitus mit sich bringt, ist die geschwächte Immunlage der Betroffenen. Besonders die Granulozyten sind in ihrer Fähigkeit der bakteriziden Aktivität eingeschränkt bzw. gestört. Zusätzlich ist häufig die Epithelisierung gestört, was wiederum zu einer Verschlechterung der Wundheilung führen kann [33].

Kardiovaskuläre Erkrankungen:

Im Zuge von Erkrankungen des kardiovaskulären Systems kommt es durch eine Abnahme des Perfusionsdruckes in der Haut und somit auch in Wunden zu einer Verlängerung des Heilungsprozesses [33].

Steroidtherapie:

Eine Therapie mit Steroiden, wie es z.B. bei Autoimmunerkrankungen oder nach Transplantationen vorkommt, beeinflusst die Wundheilung. Besonders betroffen in der entzündlichen Phase der Wundheilung ist die Hemmung der Freisetzung von lysosomalen Enzymen. Effekte wie, Hemmung der Makrophagenaktivität, Angiogenese, Fibrogenese oder Wundkontraktionen, treten primär bei täglicher Steroideinnahme auf. D.h. eine kurze Behandlungsdauer hat keinen signifikanten Einfluss auf die Wundheilung [33].

Chemotherapie:

Eingesetzt meist in der Behandlung maligner Neoplasien, da sie Einfluss auf das Tumorwachstum haben, beeinflussen Chemotherapeutika jedoch auch die Wundheilung, da ihr Effekt sich auch auf schnell teilende Zellen auswirkt. Es kommt zu einer Anämie, Granulozytopenie sowie Thrombozytopenie. Weiters wird das Immunsystem des/der Patienten/Patientin so geschwächt, dass es zu einem verminderten Abwehrmechanismus gegenüber Infektionen kommen kann [33].

Nikotinabusus:

Nikotin, als ein Vasokonstriktor, beeinflusst die Wundheilung auf verschiedenen Wegen. Es kommt in den Wunden zu einer Reduktion des Sauerstoffangebotes durch Bindung des im Nikotin vorhandenen Kohlenmonoxids an Hämoglobin [37].

Bei einer Nikotinabstinenz für zwei Wochen postoperativ, ist die Wundheilung hingegen gleich wie bei Nichtrauchern [33].

Malnutrition:

Besonders ein Mangel an Proteinen beeinflusst die Wundheilung, die Zellsynthese, das Remodeling, die Angiogenese und die Fibroblastenproliferation. Ein Mangel an Vitaminen, Zink, Eisen, Kupfer, Magnesium und Proteinen beeinflusst das Immunsystem negativ, wodurch die Infektanfälligkeit steigt [33].

1.1.9. Inzidenz, Epidemiologie

In Österreich sind etwa 250.000 Menschen von chronischen Wunden betroffen [38].

Es gibt Daten aus England, die zeigen, dass in Industrieländern etwa 3% bis 5,5% des Gesundheitsbudgets zur Behandlung chronischer Wunden benötigt werden. Bezieht man diese Zahlen auf Österreich, so wären es etwa €1,2 bis 2,2Mrd [39-42].

1.1.10. Diagnose

Die Diagnose lässt sich in den meisten Fällen mit der klinischen Untersuchung, sowie der Anamnese stellen. Jedoch gibt es weitere Möglichkeiten, die dabei unterstützen können, wie farbkodierte Duplexsonographie, Angiographie, CT/PET-CT oder MRT. Weiters können Biopsien (mit histologischer Auswertung) oder mikrobiologische Abstriche zusätzliche Informationen über die Wunde liefern, wie z.B. Erregernachweis oder Ausschluss eines malignen Geschehens [14].

1.1.11. Behandlungsmöglichkeiten

Bevor mit der eigentlichen Wundbehandlung begonnen werden kann, ist es wichtig einen Überblick über die soziale und psychische Beschaffenheit des/der Patienten/Patientin zu

erhalten. Studien konnten zeigen, dass das Vorhandensein von chronischen Wunden häufig mit Depressionen assoziiert sind. Das bedeutet, dass das Miteinbeziehen des/der Patienten/Patientin in den Krankheitsverlauf, aber auch das Erkennen von psychischen, sozialen, familiären Problemen und Verbesserungen dieser, die Basis der Behandlung von chronischen Wunden darstellen. Besonders eine ausführliche und genaue Aufklärung, aber auch das Ansprechen von realistischen Therapiezielen fördert die Compliance.

Ein weiterer Punkt der unabdingbar in der Wundbehandlung ist, ist das Management der extrinsischen Faktoren. Dazu zählen z.B. die Sanierung von vaskulären Problemen, wie die PTA (perkutane transluminale Angioplastie) oder die gefäßchirurgische Umgehung verschlossener Blutgefäße, die adäquate Einstellung des Glukosespiegels bei Diabetes mellitus oder auch die Reduktion von Steroiden [33].

In Wunden mit einer nachgewiesenen Hypoxie ist die hyperbare Sauerstofftherapie eine wirksame Strategie, um die Abgabe von Sauerstoff im Gewebe unmittelbar der Wunde zu verbessern; wodurch auch die Wundheilung positiv beeinflusst wird [33].

Die Behandlungsmöglichkeiten werden unterteilt in:

- Debridement
- Konservativ inkl. Verbandstrategien
- Operativ

Debridement

Damit eine Wunde heilen kann, muss initial nekrotisches bzw. devitalisiertes Gewebe entfernt werden, dies wird als Debridement bezeichnet. Nicht selten ist es der Fall, dass mehrere Debridements nötig sind, bis ein Wundbett vorliegt, welches frei von nekrotischem Material ist [33].

Es werden verschiedene Arten von Debridement unterschieden:

- *Chirurgisches Debridement*: Die Entfernung von nekrotischem und devitalisiertem Gewebe erfolgt mittels chirurgischen Werkzeugen, wie Skalpell, scharfem Löffel, Knochenzange nach Luer, Kürette oder Hochdruck-Wasserstrahl/Vakuum-Absauger (Versajet®)
- *Enzymatische Debridement*: Enzymhaltige Wirkstoffe, die lokal aufgetragen werden, z.B. in Salbenform, und so über Spaltung von Kollagenbrücken wirken.

- *Autolytisches Debridement*: körpereigene Abbauprozesse werden unterstützt

- *Biochirurgisches Debridement*: Madentherapie [14][33]

Mit dem Debridement wird nicht nur nekrotisches und avitales Gewebe entfernt, sondern es kommt auch zu einer Reduktion der Bakterienzahl. Dadurch wird die Wundheilung beschleunigt und die Infektionsentstehung in Wunden reduziert, da das Vorhandensein von nekrotischem Gewebe mit erhöhter Infektionsgefahr assoziiert ist. Prinzipiell sollte ein Debridement im OP-Saal durchgeführt werden, da dort die Rahmenbedingungen (Sterilität, bessere Beleuchtung und somit bessere Beurteilung der Wunde, Elektrokauter) besser sind. Debridement chronischer Ulcera beim diabetischen Fußsyndrom können hingegen auch außerhalb des OPs durchgeführt werden. Hier sind häufig keratinartige Wundbelege zu finden, die, auch bedingt durch die diabetische Polyneuropathie, weitgehend schmerzlos entfernt werden können [33].

Konservativ inkl. Verbandsstrategien:

Negative Pressure Wound Therapy (NPWT) – Unterdrucktherapie: siehe Kapitel VAC-Therapie

Hyperbare Sauerstofftherapie (HBO, hyperbaric oxygen):

Die Anwendung von hyperbarem Sauerstoff in Überdruckkammern als Therapie, wurde primär für die Tauchdekompressionskrankheit entwickelt. Nach und nach kamen andere Indikationen für diese Therapieart dazu, so auch chronische Wunden oder Gasbrand. Gasbrand, eine Infektion mit anaeroben Clostridien perfringens, kann so behandelt werden, da durch das Angebot von extrem hohen Sauerstoffpartialdrücken sich über Diffusion auch der O₂-Partialdruck im Gewebe erhöht.

Wunden profitieren von der HBO-Therapie, da dadurch die Sauerstoffzufuhr erhöht und somit die Wundheilung gefördert wird. Ein vaskuläres Problem, wie eine Gefäßstenose mit nachfolgender Ischämie, kann jedoch alleine durch die HBO-Therapie nicht behandelt werden. Eine Revaskularisation kann somit nicht ersetzt werden. Die Wirksamkeit und die Kostenbelastung der HBO-Therapie sind nach wie vor umstritten [33].

Wang et al beschreibt in seiner Arbeit von 2003, dass die Therapie mit hyperbarem Sauerstoff einen positiven Einfluss auf die Wundheilung von chronischen, nicht heilenden diabetischen Wunden, Hauttransplantaten, Osteoradionekrose, Weichteilradionekrose und Gasbrand hat [43].

Andrade et al zeigten, dass Wunden, wie venöse Ulcera, diabetische Fußulcera und akute traumatische Wunden, die häufigsten Indikationen für hyperbare Sauerstofftherapie waren. Patienten/Patientinnen mit chronischen Wunden profitieren mehr von der HBO-Therapie, als jene mit akuten Wunden [44].

Vitamine, Wachstumsfaktoren:

Die Vitamine A, C und E weisen eine antioxidante und antiinflammatorische Potenz auf. Vitamin C spielt eine entscheidende Rolle in der Wundheilung. Einerseits durch lokale Effekte, wie als Antioxidant oder als freier Radikalfänger, andererseits beeinflusst es die generelle Immunität des/der Patienten/Patientin. Wachstumsfaktoren, wie epidermal growth factor oder keratinocyte growth factor, sind für die Heilung einer Wunde unumgänglich [45][46].

Madentherapie

Die Maden- oder Larventherapie zählt zu dem biochirurgischen Debridement. Primär werden speziell gezüchtete *Lucilia sericata*, *Phaenicia sericata* und *Lucilia cuprina* verwendet. Indikationen für die Madentherapie sind länger andauernde, schlecht heilende fibrinöse Wunden. Die Wirksubstanz sind Enzyme im Speichel der Maden, die damit nekrotisches Gewebe auflösen können, welches wiederum von den Larven aufgenommen wird [47][48].

Silberwundauflagen:

Wundverbände mit Silber, wie z.B. „Mepilex® Ag“, werden gerne bei keimbesiedelten Wunden verwendet, da Silber ein gutes antiseptisches Potential aufweist [14].

Wundverbände:

Wichtig bei der Wahl des Verbandsmaterials ist es zu beachten, dass die Wunde in einer feuchten Umgebung gehalten wird. Es konnte gezeigt werden, dass trockene Verbände die Wundheilung negativ beeinflussen [49].

Feuchte Verbände hingegen fördern die Migration von Keratinozyten und die Wundheilung. Wichtig ist jedoch zu beachten, dass die Verbände zwar feucht, aber nicht nass sind. Es gibt fünf Hauptkategorien von feuchten Wundauflagen: Hydrocolloide, Alginates, Hydrogels, Folien und Schaumstoffe [47][50].

Die Variante der Kompressionstherapie wird primär für Patienten/Patientinnen mit chronischer Veneninsuffizienz verwendet, da es dadurch zu einer Reduktion der Extravasation von Flüssigkeit in den Extrazellularraum kommt. So wird die Diffusion von Sauerstoff und Nährstoffen in die Wunde verbessert. Auch bei Ödemen ist ein Kompressionsverband indiziert, da Ödeme einen schädlichen Einfluss auf die Wundheilung haben. Eine weitere heutzutage sehr häufig eingesetzte Möglichkeit des Wundverbandes ist der Unterdruckverband (negative pressure wound therapy/NPWT; VAC-Verband/vacuum-assisted closure) [33][51].

Pharmakologisch:

Prinzipiell gilt, systematische Antibiotika, lokalen vorzuziehen. Da lokale, wie Salben oder Cremes, eine Resistenzentwicklung der Keime gegenüber dem Antibiotikum begünstigen können. Weiters besteht die Gefahr der Entwicklung eines allergischen Kontaktekzems. Zusätzlich wirken sich lokale Antibiotika hemmend auf die Wundheilung aus, wodurch der Zustand der chronischen Wunde nicht verbessert wird [14].

Die adäquate Therapie mit antibiotischen Substanzen soll nach einer Resistenztestung erfolgen, um möglichst gezielt und akkurat behandeln zu können.

Weiters können Antiseptika zur lokalen Behandlung von kolonisierten Wunden verwendet werden, dazu zählen u.a. Octenidin, Polihexanid, PVP-Jod [14].

Operativ:

Direktverschluss - Verschließen von Wunden mit Hautersatz/Lappenplastik:

Um eine Wunde erfolgreich verschließen zu können, z.B. mit Hautersatz, Spalthauttransplantation oder Lappenplastik, ist es notwendig, eine Keimzahl von unter $10^5/g$ zu erreichen. Ebenso muss nekrotisches und devitalisiertes Gewebe entfernt werden [52][53].

Ist die Wunde sauber, gibt es verschiedene Möglichkeiten des Verschlusses. Oft kommt es nach Eradikationen von Pathogenen und nekrotischem Gewebe zu einer Selbstheilungstendenz (Sekundärheilung). Es gibt jedoch Indikationen, wo ein operativer Wundverschluss in Erwägung gezogen werden muss, u.a. bei sehr großen Defekten (Ulcus cruris) oder Dekubiti.

Für eher unkomplizierte, gut durchblutete Wunden ohne freiliegende Sehnen- bzw. Knochenanteile, können Hauttransplantate verwendet werden, vor allem Spalthaut-, aber

auch Vollhauttransplantate. Vollhauttransplantate liefern meist ein kosmetisch schöneres und funktionelleres Ergebnis. Der Vorteil der Spalthauttransplantate liegt einerseits darin, dass sie durch Meshen in ihrer Fläche vergrößert werden und somit größere Defekte abdecken können, andererseits sind sie tolerabler gegenüber suboptimalen Wundbettbedingungen. Alternativ können künstliche Hautersatzprodukte verwendet werden.

Reichen Hauttransplantate nicht aus, so besteht noch die Möglichkeit der Lappenplastik. Bei den lokalen, sogenannten Schwenklappen, wird ein Hautlappen in seiner Position verschoben und somit der Defekt verschlossen. Unter Umständen muss ein freier Lappen verpflanzt werden, wie z.B. ein freier Gracilis-Lappen mit mikrochirurgischer Gefäßanastomosennaht bei einem Defekt am Fuß [14][33].

1.1.12. Pathogene

Die Mehrheit der Mikroorganismen sind kleiner als 0,1 mm im Durchmesser und können daher nur unter einem Mikroskop gesehen werden. Sie können in verschiedene Gruppen, wie Bakterien, Pilze, Protozoen und Viren, je nach ihrer Struktur und metabolischen Fähigkeiten kategorisiert werden [54-56].

Es ist wichtig, sich daran zu erinnern, dass verschiedene Mikroorganismen in polymikrobiellen Gemeinschaften existieren können. Dies ist in Wunden oft der Fall [57].

In Tabl. 1 sind die häufigsten Pathogene, welche mit Wundinfektionen assoziiert sind, aufgelistet [58].

Tabl. 1. Beispiele von potentiellen Wund-Pathogenen

gram positive Pathogene	<ul style="list-style-type: none"> • Enterokokken (<i>Enterococcus faecalis</i>) • Staphylokokken (<i>Staphylococcus aureus</i>/MRSA) • beta-hämolysierende Streptokokken der Gruppe A (<i>Streptococcus pyogenes</i>)
anaerobe Pathogene	<ul style="list-style-type: none"> • Clostridien • Bacteroides
Enterobakterien	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Proteus species</i> • <i>Enterobacter</i>

	<ul style="list-style-type: none"> • Escherichia coli • Klebsiella species • Citrobacter • Serratia • Morganella
Nonfermenter	<ul style="list-style-type: none"> • Pseudomonas aeruginosa • Stenotrophomonas • Acinetobacter • Burkholderia
Fungi	<ul style="list-style-type: none"> • Yeasts (Candida) • Aspergillus
fraglich pathogene Erreger	<ul style="list-style-type: none"> • Streptokokken der Viridans-Gruppe • Streptokokken der Gruppe B • Neisseria • Haemophilus

Ein Problem das besonders in chronischen Wunden auftritt, ist die hohe Anzahl an Bakterien, besonders auch jener, die aufgrund von Resistenzentwicklungen schwierig zu behandeln sind (MRSA) [10].

Eine weitere große Herausforderung hinsichtlich der Behandlung sind Biofilme, die sich an nekrotisches Gewebe und an chirurgischen Implantaten, wie Prothesen oder Brustimplantate anlagern. Unter Biofilmen versteht man eine Art Schutzschicht/Schleimschicht, die sich an Oberflächen anhaften und in welcher sich diverse Mikroorganismen, wie Bakterien, Pilze, Protozoen, etc. befinden, die durch diese Schicht geschützt sind und dadurch, vor allem in chronischen Wunden, überleben, wachsen und sich vermehren können. Somit sind diese Mikroorganismen weitgehend von der körpereigenen Immunabwehr geschützt. Zusätzlich stellen sie ein wesentliches Hindernis hinsichtlich der Eradikation dar. James et al zeigten, dass Biofilme in 60% der Biopsien von chronischen Wunden, jedoch nur in 6% bei akuten Wunden vorkommen. Vor allem die Antibiotika-Resistenz der Bakterien im Biofilm begünstigt die Chronifizierung von Infektionen [33][59][60].

Im Resistenzbericht des Instituts für Hygiene, Mikrobiologie und Umweltmedizin von 2018 [61] waren bei den Probenarten Wundabstriche, Abszesse, Drains u. ä. am häufigsten *Staphylococcus aureus* mit insgesamt 14,5% (bei einer Gesamtmenge von 22.108 identifizierten Keimen) nachgewiesen; davon waren wiederum 8,7% MRSA [61]. (Tabl. 2)

Tabl. 2. Resistenzbericht 2018

Keim	Häufigkeit
<i>Staphylococcus aureus</i>	14,5%, davon 8,7% MRSA
Koagulase-negative Staphylokokken	13,6%
Enterokokken (Gruppe D Streptokokken)	9,5%, davon 0% VRE
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6,7%
<i>Escherichia coli</i>	5,2%, davon 10,2% ESBL
Proteus/Morganella-Gruppe	5,5%, davon 0,7% ESBL
Sprosspilze (<i>Candida</i> spp.)	5,1%
Bacteroides-Gruppe	4,7%
Streptokokken der Viridans-Gruppe	4,7%
Enterobacter/Citrobacter	3,7%, davon 0,5% ESBL
Peptostreptokokken-Gruppe	3,9%
Prevotella-Gruppe	3,3%
Klebsiella-Gruppe	3,1%, davon 4,0% ESBL
Corynebakterien	2,4%

Bei dem Keim *Staphylococcus aureus* ergab die Resistenzbildung bei 1.386 Getesteten für das Antibiotikum Penicillin einen Resistenzprozentsatz von 70,1%. Hinsichtlich der MRSA Rate konnte 2017 verglichen mit den Vorjahren, in denen es zu einem Anstieg kam, ein Rücklauf vermerkt werden. Von 2017 auf 2018 hingegen, ist erneut eine minimale Zunahme erkennbar.

1.2. VAC-Therapie

VAC-Therapie steht für „vacuum-assisted closure“ und bezeichnet damit den am häufigsten verwendeten Unterdruckverband der Firma KCI (San Antonio, Texas). Der

Name hat sich seit der Entwicklung dieses Medizinproduktes etabliert und wird fälschlicherweise, standardmäßig für die Art des Verbandes verwendet. Die richtige, firmenunabhängige Bezeichnung lautet NPWT, also **n**egative **p**ressure **w**ound **t**herapy, ein Verband, der Unterdruck in der Wunde erzeugt. Folgend wird von VAC-Verbänden gesprochen; das beschriebene Prinzip gilt ebenfalls für die Unterdruckverbände anderer Hersteller. Weiters werden in der durchgeführten Medizinproduktstudie ausschließlich unterdruckerzeugende Geräte und das dazugehörige Verbandsmaterial der Firma KCI/Acility verwendet.

Der VAC-Verband, vacuum-assisted-closure, besteht aus einem Schwamm- und Foliensystem, welches in direktem Kontakt mit der Wunde steht, und aus einem Saug-Drainagesystem, durch welches der Unterdruck erzeugt wird. Es wird an dem Gerät ein Sog eingestellt, mit dem kontinuierlich angesaugt wird. Der Verband kann zwei bis fünf Tage belassen werden, bevor er gewechselt werden muss. Ein häufigerer Verbandswechsel muss bei pädiatrischen Patienten/Patientinnen erfolgen, da sich das Granulationsgewebe schneller ausbildet und damit auch schneller in den Schwamm „einwachsen“ kann. Mehrere Vorteile bietet diese Verbandsart: Es müssen weniger Verbandswechsel durchgeführt werden, die Ödembildung wird reduziert, die Granulationsgewebsbildung beschleunigt und die Wunde wird feucht gehalten [33]. Komplikationen unter der VAC-Therapie sind recht selten. In der Literatur wurde von Toxik-Schocksyndromen, Hämatomen, Blutungen und Schmerzen berichtet [62][63].

1.2.1. Anfänge der VAC-Therapie

Erstmals beschrieben wurde der vacuum-assisted closure (VAC) - Verband in der Publikation von Argenta et al 1997. Es handelte sich um eine prospektive Fallserie aus insgesamt 300 Patienten/Patientinnen, die alle Wunden aufwiesen, die nicht primär verschlossen werden konnten. Die Ursache, Dauer, Lokalisation der Wunde waren hierbei nicht relevant. Ausgeschlossen wurden Wunden, die eine Malignität besaßen, ebenso mit einer aktiven Osteomyelitis oder direkt anliegend an Gefäßen oder Viszeralgeweben. Der VAC-Verband setzte sich zusammen aus einer Polyurethanetherschaummatrix, die an einem Schlauch befestigt war, der nicht kollabieren konnte. Dieser Schlauch ist wiederum mit einem Kanister verbunden und weiters mit einer computergesteuerten Vakuumpumpe,

die über den Schlauch einen Unterdruck erzeugt. Der Schwamm wird so platziert, dass die gesamte Wundfläche ausgefüllt ist. Eine klebende Folie darüber fixiert den Schwamm und sorgt für die luftdichte Abdeckung der Wunde [51].

1.2.2. Funktionsprinzip der Vakuumtherapie

Die Funktion der Vakuumtherapie erfolgt über einen Sog, der über einen Schwamm, gleichmäßig über die ganze Wundfläche ausgeübt wird. Um verhindern zu können, dass Luft aus der Umgebung angesaugt wird, wird über dem Schwamm eine Klebefolie, bestehend aus transparentem und keimdichtem Polyurethan, angebracht. Der Saugnapf am Ende des Verbindungsschlauches, der sich zwischen unterdruckerzeugendem Gerät und Wunde befindet, wird auf ein kleines ausgeschnittenes Loch, das man in der Folie und im Schwamm erzeugt hat, aufgeklebt [64].

1.2.3. Effekte/Vorteile

Der Effekt, der mittels des VAC-Verbandes erzielt wird, ist primär auf die gleichmäßige Sogwirkung zurückzuführen. Das bedeutet, das Prinzip ist rein mechanisch [51][64-66]:

Der Sog, der gleichmäßig auf die Wundfläche einwirkt, bewirkt ein Zusammenziehen der Wundränder (Makrodeformation), wodurch sich die Wunde verkleinert. Weiters führt der kontinuierliche Unterdruck dazu, dass das Wundsekret abtransportiert wird. Damit gelangen einerseits bakterielle Toxine sowie kleinere Gewebetrümmer aus der Wunde, andererseits bietet dieser Abtransport auch den Vorteil, dass weniger Verbandswechsel durchgeführt werden müssen. Der Druck auf die Wunde zieht eine Minderung des interstitiellen Ödems mit sich. Dadurch kommt es zu einer Verbesserung der Mikrozirkulation und somit der Oxygenierung, begründet durch die verringerte Kompression der Arteriolen. Ein weiterer wichtiger Effekt ist die Anregung/Förderung der Bildung von Granulationsgewebe. Begründet durch die Anregung zur vermehrten Zellproliferation, Angiogenese sowie Bildung von Gewebematrix.

Durch die luftdichte Klebefolie und den geschlossenen Kreislauf, kann verhindert werden, dass Keime von exogen in die Wunde gelangen.

Der Unterdruckverband verhindert weiters ein Durchnässen des Verbandes. Dies hat als Vorteil, dass der Verband weniger oft gewechselt werden muss (Kostenreduktion). Aber

auch die Geruchsbelastung durch nässende Wunden und Wundverbände kann eingedämmt werden.

1.2.4. Elemente der Unterdrucktherapie

Die Grundelemente der Unterdrucktherapie sind von ihrem Prinzip seit Entwicklung dieser Therapie, und wie in der Arbeit von Argenta et al [51] beschrieben, nach wie vor enthalten. Jedoch haben sich über die Jahre Modifikationen der einzelnen Elemente ergeben. Folgendes zählt zur Basisausstattung (Abb. 2) [67]:

- Vakuumpumpe
- Kanister
- Füllmaterial
- Schlauch
- Folie
- Saugnapf
- Y-Verbindungsstück



Abb. 2. Grundelemente der Unterdrucktherapie

Sogerzeuger – Vakuumpumpe/-quelle (akkubetrieben). Es können Sogstärke und Sogmodus (kontinuierlich und intermittierend) eingestellt werden. Ist das System an einer Stelle undicht, kommt es zu einem Sogverlust oder ist der Kanister voll, gibt es eine Fehlermeldung mit Alarm [68].

Kanister – Der Kanister dient als Auffangbehältnis für das „abgesaugte“ Wundsekret und ist verfügbar mit verschiedenen Fassungsvermögen. Mit der Weiterentwicklung des VAC-Verbandes wurde in den Kanistern ein Gelkissen eingelegt, mit der Aufgabe, Wundflüssigkeit zu verklumpen. Damit konnte eine Art Auslaufschutz erzielt werden.

Füllmaterial – Schwämme oder Gaze („Kerlix™“) als Füllmaterial, decken die Wunde ab. Sie sorgen für einen Luft- und Flüssigkeitsstrom und dienen als permeable Membran und als eine Verbindung zur Saugpumpe [69]. Bei den Schwämmen kann zwischen einem Polyurethan- oder einem Polyvinylalkohol-Schwamm unterschieden werden [68]. (Tabl. 3)

Tabl. 3. Polyurethan-Schwamm (PU) vs. Polyvinylalkohol-Schwamm (PVA)

	Polyurethanschwamm	Polyvinylalkoholschwamm
Porengröße	400-600µm	200-1000µm
Konsistenz	weich	fester, weniger verformbar
Farbe	schwarz	weiß
Verweildauer	2-3d	bis zu 7d
Verwachsungstendenz	hoch	gering
Anpassung an unebene Wundflächen	gut	schlecht
	hydrophob	hydrophil

Aufgrund der geringeren Verwachsungstendenz (Einwachsen von Granulationsgewebe in das Füllmaterial) wird der Polyvinylalkoholschwamm eher bevorzugt, wenn ein längerer Verbleib des VAC-Verbandes angestrebt werden soll (z.B. saubere Wunden, wie nach einer Spalthauttransplantation).

Polyvinylalkoholschwamm (PVA) [67]

Die PVA – Schwämme sind in rechteckiger Form in verschiedenen Größen erhältlich. In Studien konnte gezeigt werden, dass bei Sogstärken ab -150mmHg und mehr eine Verminderung der Übertragung des Sogs im PVA-Schwamm stattfindet. Liegt der Sog hingegen unter -150mmHg, so findet ein vernachlässigbarer kleiner Verlust der Sogwirkung auch über Distanzen von 50cm statt. Wichtig, aufgrund der höheren Dichte des Schwammes, ist jedoch ein Druck von mindestens -125mmHg zu wählen, da es ansonsten zu einem ungenügenden „Absaugen“ des Wundsekretes kommt. Die im Wundbett verbleibende Flüssigkeit verhindert die optimale Bildung von Granulationsgewebe [70-72].

Aufgrund der hydrophilen (feuchtigkeitsspeichernden) Eigenschaft, wird der PVA-Schwamm in sterilem Wasser vorbefeuchtet verpackt. Der Vorteil der sich dadurch ergibt ist, dass es zu einem verminderten Anheften des Verbandes an der Wunde kommt [73].



Abb. 3. PVA - Schwamm („VAC WhiteFoam Dressing™“)

Polyurethanschwamm (PU)

PU-Schwämme mit einer Stärke von 3,3cm gibt es in vier verschiedenen Größen und können je nach Größe und Tiefe der Wunde zugeschnitten werden. Neuere Varianten der Polyurethanschwämme besitzen Perforationslinien, womit eine einfachere Anpassung des Schwammes in die Wunde durch Abreißen der äußeren Schichten, ermöglicht wird. Die Retikulären (offenen Poren) im Schwamm ermöglichen eine gleichmäßige Verteilung des Druckes auf der Wunde. Außerdem begünstigt es die Granulationsgewebebildung und die Wundkontraktion. Das Material des Polyurethanschwammes, mit seiner hydrophoben (feuchtigkeitsabweisenden) Eigenschaft, hat den Vorteil, dass Exsudat in der Wunde vermehrt entfernt wird [67][73].



Abb. 4. PU - Schwamm („VAC GranuFoam Dressing™“)

Polyurethanschwamm mit Silber

Die Eigenschaften des Schwammes entsprechen jenen des herkömmlichen PU-Schwammes. Hinzu kommt jedoch, dass metallisches Silber in einem Mikroverbund in den Schwamm eingebracht wurde und somit über den ganzen Verband verteilt ist. Silberhaltige Wundauflagen wirken bakterienabtötend [73].



Abb. 5. PU - Schwamm mit Silber („VAC GranuFoam Silver™ Dressing“)

Gaze – Füllmaterial

Einen geringeren Stellenwert als Füllmaterial im VAC-Verband haben Gaze, oder auch „Kerlix™“. Beide bieten die Möglichkeit die Wunde auszutamponieren und anschließend mit transparenter Folie zu überkleben. „Kerlix™“ ist eine gewebte, weiche Wundaufgabe aus Baumwolle, die mit Polyhexanid imprägniert ist [74].

Folien – Über das Füllmaterial wird zum luftdichten Abschluss der Wunde eine wasserdampfdurchlässige, atmungsaktive, selbstklebende und transparente Folie angebracht [67].



Abb. 6. Folie

Saugnapf mit Drainageschlauch - Ein Klebepad wird auf ein Loch, welches in das Füllmaterial und in die Folie geschnitten wurde, aufgeklebt. Von dem Klebepad führt ein Drainageschlauch (Verbindungsschlauch) in Richtung Vakuum-Pumpe. Innerhalb der Wand des Drainageschlauchs befinden sich vier kleine Druckmesskanäle. Über diese erfolgt die Alarmfunktion bei Undichtheit des Systems, sowie die Sogsteuerung. Daher auch die Bezeichnung „T.R.A.C.™ Pad“, was für „therapeutic regulated accurate care“ steht [67]. Auf dem Bild (Abb. 7) sieht man das Klebepad mit dem Drainageschlauch, sowie einer Klemme und dem Konnektor.



Abb. 7. Klebepad mit Drainageschlauch, sowie mit Klemme und Konnektor

Verschluss-Stopfen - Der Verschlussstopfen dient zum sicheren Verschließen des Kanisterschlauchs [67].

Y-Verbindungsstück - Hat ein/eine Patient/Patientin mehr als eine Wunde und werden diese jeweils mit einem eigenen Schwamm sowie Folie verbunden, so ermöglicht der Y-Konnektor am Drainageschlauch die Verwendung von nur einer Vakuumpumpe [67][73].



Abb. 8. Y - Verbindungsstück

Spezielle Arten – Instillationstherapie („VAC-Instill®“)

Zusätzlich zum herkömmlichen VAC-System bietet das „VAC-Instill®“ Modell mit einem zweiten Schlauchsystem die Möglichkeit, Flüssigkeiten mit antibiotischer und antiseptischer Lösung, wie z.B. Polyhexanid oder Povidon-Iod, in die Wunde zu instillieren. Hierbei bleibt der Verband nach außen weiterhin luftdicht verschlossen, der Sog wird jedoch für einen gewissen Zeitraum inaktiviert. Durch die Zufuhr von Flüssigkeit wird das Füllmaterial getränkt. Es wird eine Einwirkzeit von bis zu etwas 15min abgewartet und anschließend wird die zugefügte Flüssigkeit wieder abgesaugt, indem der Sog wieder eingeschaltet wird. Mit dem System des „VAC-Instill®“ wird dieser Vorgang automatisch gesteuert. Dieser Zyklus, mit Instillation der Flüssigkeit, Einwirkzeit und Absaugen, kann so oft wie für nötig erachtet, wiederholt werden. Mit dieser Methode kann eine Reinigung

bei eventuell noch bestehender Restkontamination durchgeführt werden, ohne dass der Verband gewechselt werden muss [68][75].



Abb. 9. „VAC-Instill®“

1.2.5. Indikationen

Der VAC-Verband kann zur Behandlung von offenen (komplizierten, schwer behandelbaren) Wunden herangezogen werden [73][76][77].

Akute Wunden

- wie z.B. Verbrennungswunden (Grad 1, Grad 2) - hier steht primär die antiödematöse Wirkung der Unterdrucktherapie im Fokus, wodurch es zu einer Verbesserung der Mikrozirkulation im Wundgebiet kommt.
- Weichteildefekte – z.B. zum Verschließen einer Wunde, bei der eine Primärnaht nicht möglich ist.
- Postoperative Wunden
 - nach *Kompartmentspaltung*
 - nach *Spalthauttransplantat* (Liegedauer des Unterdruckverbandes, bis zur sicheren Einheilung des Transplantates, ca. 4.-6. postoperativer Tag)
 - Deckung der *Entnahmestelle von Lappentransplantaten*
 - vorübergehender *Verschluss der Bauchwand*
 - *sternale Wunden*, nach vorangegangenem Debridement
 - *Traumatische Wunden* – mit freiliegendem bradytrophem Gewebe wie Sehnen und Knochen

Subakute Wunden (Wunden, die sich erst nach 4 – 8 Wochen verschließen. Zum Überbrücken dieses Zeitraums wird die Unterdrucktherapie angewandt.)

- sternale Wunden - nach vorangegangenem Debridement, zum Konditionieren der Wunde
- Fisteln – z.B. sternale Wundinfektionen, enterokutane Fisteln, lymphokutane Fisteln; Die Unterdrucktherapie bewirkt einerseits eine Kompression der Öffnung der Fistel, andererseits kommt es zu einer Ableitung des Sekrets.

Chronische Wunden (Die Wundkonditionierung, darunter versteht man die Säuberung der Wunde sowie die Bildung von Granulationsgewebe, steht im Vordergrund. Das Ziel der Unterdrucktherapie bei chronischen Wunden ist, die Wunde in einen Zustand zu bringen, sodass ein endgültiger Verschluss der Wunde durchgeführt werden kann.)

- Dekubitus
- Ulcera bedingt durch venöse Insuffizienzen (Ulcus cruris venosum, Ulcus cruris mixtum)
- Diabetisches Fußsyndrom (Ulcus am Fußballen/Vorfuß, oft Ulcus am Amputationsstumpf bei DFS)
- chronische Wundheilungsstörungen
- Strahlenulcus

1.2.6. Kontraindikationen [73][76][77]

Maligne Wunden

Die Kontraindikation bei neoplastischem Geschehen lässt sich mit der durch das Unterdrucksystem angeregten Angiogenese und Granulationsgewebsformation erklären, welches in malignen Wunden nicht erwünscht ist. Eine Ausnahme stellen jedoch maligne Wunden bei Patienten/Patientinnen in palliativem Setting dar. Hier kann die VAC-Therapie den Vorteil der weniger oft stattfindenden Verbandswechsel und hygienischen Verbandssituation bieten [78].

Unbehandelte Osteomyelitis

Nekrotisches Gewebe in der Wunde

Vor Anlage eines Unterdruckverbandes sollte die Wunde möglichst so gereinigt werden, dass nekrotisches Material entfernt wird.

Gerinnungsstörungen/Blutungsgefahr

Durch den Sog besteht die Gefahr, dass ständig Blut angesaugt wird und es somit zu relevanten Blutverlusten kommen kann [79].

Freiliegende Gefäße und Gefäßprothesen

1.2.7. Anbringen des VAC-Verbandes

Der VAC-Verband wird meist im OP angebracht, da hier ein gründlicheres Debridement und eine genauere Beurteilung der Wunde erfolgen kann. Jedoch besteht auch die Möglichkeit der Anlage z.B. im Krankbett oder ambulant. Wichtig ist, dass sich die Wunde in einem sauberen Zustand befinden soll.

Nach Entfernung von nekrotischem und avitalem Gewebe wird entweder ein VAC-Schwamm oder Gaze auf die Wunde aufgebracht. Besonders bei Verwendung des Schwammes ist darauf zu achten, dass er nicht auf intakter Haut anliegt, da es hierbei zu Mazerationen des umliegenden Gewebes kommen kann. Anschließend wird die Folie so aufgebracht, dass die Wunde luftdicht verschlossen ist. Bevor das Saugpad mit dem Verbindungsschlauch auf dem Schwamm und der darüberliegenden Folie angebracht werden kann, wird mit einer sterilen Schere ein Loch in den Schwamm und in die darüberliegende Folie geschnitten, sodass darüber der Sog gleichmäßig über der ganzen Wunde aufgebaut werden kann. Als letzter Schritt wird der Verbindungsschlauch mit dem unterdruckerzeugenden Gerät konnektiert und der gewünschte Sog wird eingestellt. Gibt das Gerät hier keine Fehlermeldung an, so ist der VAC-Verband luftdicht angebracht und es kann mit dem eingestellten Sog, kontinuierlich aber auch intermittierend angesaugt werden.

Die Verweildauer des Verbandes liegt zwischen zwei bis sieben Tagen. Die Entscheidung hierbei ist für jeden/jede Patienten/Patientin individuell zu treffen und hängt von der Wunde (Lokalisation, Ätiologie), der Keimbesiedlung und dem Füllmaterial ab [80].

1.2.8. Sog

Es sind Sogstärken zwischen -50 und -200mmHg wählbar. Ebenso kann eingestellt werden, ob der Sog kontinuierlich auf die Wunde wirkt, oder intermittierend [68].

Im Regelfall wird der Sog zwischen -75mmHg und -125mmHg eingestellt. Wird ein Polyurethanschwamm als Füllmaterial verwendet, so wird in den meisten Wunden ein Sog von -125mmHg verwendet. Wenn Sekret aus einer Wunde abgesaugt werden soll, wo dickere oder dichtere Schwämme eingesetzt werden, so muss dementsprechend der Sog höher eingestellt werden. Ebenso benötigen hydrophile Materialien, wie Polyvinylalkoholschwämme oder Gaze, einen höheren Sog, da diese zusätzlich mehr

Sekret aufsaugen. Wird der Unterdruck nicht an das Füllmaterial angepasst und ist somit zu niedrig, so verbleibt das Exsudat im Bereich der Wunde und verhindert dementsprechend den Heilungsprozess, weiters wird das Zellwachstum und die Proliferation beeinträchtigt. Stellt man einen höheren Sog ein, so muss bedacht werden, dass der Unterdruck von den Patienten/Patientinnen als unangenehm bis schmerzhaft empfunden werden kann. Im Extremfall kann ein zu hoch eingesetzter Druck auch zu Ischämien im Bereich der Wunde führen [81-86].

Der Sog-Modus kann sowohl kontinuierlich, d.h. es wird durchgehend mit dem eingestellten Sog der Unterdruck erzeugt, als auch intermittierend sein. Den Vorteil der intermittierenden Methode zeigte Morykwas et al. Hierbei wurde zwei Minuten Sog und fünf Minuten ohne Sog angewandt, wobei ein positiver Effekt auf die Wundheilung erkannt werden konnte [65].

Aktuell wird empfohlen, in den zumindest ersten 48 Stunden postoperativ bzw. nach initialer Anlage, einen kontinuierlichen Sog einzustellen, damit das Exsudat „abgesaugt“ wird. Anschließend kann zur Förderung der Granulationsgewebsbildung auf die intermittierende Einstellung umgestiegen werden [68].

Eine rein kontinuierliche Therapie wird bei Patienten/Patientinnen mit erhöhtem Blutungsrisiko, wenn vermehrt über Schmerzen unter intermittierender Therapie geklagt wird, bei initialer Schwierigkeit den Verband luftdicht zu versiegeln, bei Fisteln, bei anhaltender großer Menge an Drainageflüssigkeit oder bei Transplantaten (z.B. Spalthaut, Lappenplastik) empfohlen [73].

1.2.9. Nachteile/ Nebenwirkungen/ Risiken der Unterdrucktherapie

Bei jedem Verbandswechsel, d.h. bei jedem Entfernen des Füllmaterials von der Wunde, wird das neu gebildete Granulationsgewebe, welches in dem Schwamm oder den Gazen eingewachsen ist, beschädigt. Somit ist der Wechsel des VAC-Verbandes mit Blutungen, Gewebsbeschädigungen und Schmerzen verbunden. Letzteres kann durch einen VAC-Wechsel mit Anästhesie reduziert werden [87-89].

Eine Nebenwirkung, die immer wieder von Patienten/Patientinnen beschrieben wird, wird durch die Sogwirkung verursacht. Wird der Sog zu hoch gewählt, wie über -125mmHg, so können Schmerzen und Unwohlsein auftreten. Grundsätzlich wird ein Sog von etwa -125 mmHg gut toleriert. Patienten/Patientinnen mit Ulcus cruris verspüren eher mehr Schmerzen. Um dem entgegenzusteuern, sollte mit einem niedrigeren Unterdruck

begonnen und dieser langsam gesteigert werden. Auch wird der intermittierende Sog häufiger als unangenehm empfunden als der kontinuierliche [90].

Liegt der Schwamm auf der gesunden umliegenden Haut an, besteht die Gefahr von Mazerationen. Um dies zu verhindern, empfiehlt sich ein exaktes Zuschneiden des Füllmaterials und ein Anpassen an die Wunde [90].

Ein weiterer Nachteil des Unterdruckverbandes ist, dass man keine Sicht auf die Wunde erlangen kann. Die durchsichtige Abklebefolie ermöglicht zwar einen Blick auf die Wundumgebung, wo Entzündungszeichen wie Rötungen oder Überwärmung der Region beurteilt werden können, jedoch verhindert der graue bzw. weiße Schwamm oder die Gaze eine Evaluierung der Wundsituation. Da der Verbandswechsel oft mit erheblichem Aufwand, wie einer Operation, verbunden ist, ist es nicht möglich die Wunde regelmäßig (täglich, jeden zweiten/ dritten Tag) einzusehen.

1.3. Enzyme

Infizierte Wunden sind ein Problem, das eine Vielzahl von Menschen, unabhängig vom Alter oder der sozialen Schicht betrifft. Wichtig hierbei ist, eine rasche Diagnose zu stellen, um anschließend eine adäquate und vor allem rechtzeitige Behandlung starten zu können. Um eine Wundinfektion zu erkennen, gibt es verschiedene Möglichkeiten, wie u.a. die Beurteilung mit freiem Auge (Erkennen der klassischen Entzündungszeichen, klinische Beurteilung), Erhöhung von Entzündungsparametern im Blut (wie Leukozyten, CRP-Wert), Wundabstriche, die mikrobiologisch auf das Vorhandensein von Keimen untersucht werden können, oder aber auch Biopsien, die mit Mehraufwand sowie Schmerzen verbunden sind.

Neben den Vorteilen, die jede einzelne Methode bietet, gibt es aber auch Punkte, die die jeweilige Anwendung nicht zur zweifelsfrei besten Methode macht.

Ad klinische Beurteilung: Oft braucht es nur einen Blick oder eine klinische Untersuchung, um eine Wunde mit freiem Auge zu beurteilen. Dies ist nicht nur kostengünstig, sondern erfolgt v.a. innerhalb weniger Sekunden und ist nicht mit Schmerzen für den/die Patienten/Patientin verbunden.

Limitationen bestehen jedoch u.a. bei Diabetischen Fußulcera. Bei Patienten/Patientinnen mit Diabetes Mellitus ist oft die Abwehrreaktion auf Infektionen oder Verletzungen reduziert, begründet durch die gestörte Leukozytenfunktion und vaskuläre Schäden. Ein weiterer Punkt, der die klinische Beurteilung beim Diabetischen Fußsyndrom (DFS) wesentlich erschwert, sind die Polyneuropathien [91].

Unabhängig von dem DFS erfordert die klinische Beurteilung Erfahrung von dem/der behandelnden Arzt/Ärztin, und selbst damit ist es kein sicheres Diagnostiktool.

Ad Entzündungsparameter im Blut: Diese Ergebnisse sind meist innerhalb von wenigen Stunden abrufbar. Trotz der Invasivität des Eingriffes ist es eine gut tolerierbare Methode und rasch durchführbar. Jedoch kann eine Erhöhung eines Entzündungsparameters nicht mit Sicherheit einer Ursache zugeordnet werden, wodurch es nicht sensitiv auf Wundinfektionen ist.

Ad mikrobiologische Wundabstriche: In der Klinik werden die oberflächlichen Wundabstriche und die anschließende mikrobiologische Auswertung als der Silber-Standard in der Detektion von Wundinfektionen angesehen. Die Durchführung ist einfach und schnell, ebenfalls wird es auch von den Patienten/Patientinnen gut toleriert. Bis die Ergebnisse vorliegen, vergehen in der Regel (Stand LKH Universitätsklinikum Graz) etwa drei bis vier Tage. In dem Befund lässt sich herauslesen, welche Bakterien, Pilze etc. im Abstrich zu finden waren und ebenso besteht die Möglichkeit eines Antibiogrammes (eine Auflistung der Resistenzlage auf bestimmte Antibiotika).

In der Zeit bis der Befund vorliegt, wird meist schon mit einem Breitspektrumantibiotikum begonnen, womit auch das Risiko auf eine Resistenzentwicklung steigt oder aber es wird auf eine Antibiotika Therapie verzichtet, was wiederum zu schwerwiegenden Infektionen führen kann [92-94].

Ad Biopsie: Die Durchführung einer Biopsie aus einer Wunde als Diagnostikmethode ist der Gold-Standard. Diese werden jedoch relativ selten durchgeführt, da es sowohl mit Schmerzen für den/die Patienten/Patientin, Sorge vor der Zerstörung von Granulationsgewebe, als auch mit logistischen Problemen, besonders außerhalb von Kliniken verbunden ist. Auch hier dauert die Auswertung mehrere Tage [94][95].

Ad Enzyme: Enzyme wie Myeloperoxidase, Elastase und Lysozyme bieten sich als sehr gute Infektionsfrühdagnostiktools an: schnell (<30min), einfach und schonend für den/die Patienten/Patientinnen durchführbar, sowie kostengünstig. Studien zeigten, dass es zu einer signifikanten Erhöhung der Enzymaktivität bei infizierten im Vergleich zu nicht-infizierten Wunden kommt. Diese Enzymreaktionen können mittels einer Farbreaktion sichtbar gemacht werden. Ein weiterer Vorteil wäre, dass die Anwendung im klinischen und im außerklinischen Bereich möglich ist. Ein negatives Testergebnis kann somit unnötige Antibiotikagaben und damit Resistenzentwicklungen von Bakterienstämmen verhindern. Bei einem positiven Ergebnis sollte die Verordnung von Antibiotika in Betracht gezogen werden. Jedoch sagt dieses Diagnostiktool nicht aus, welche spezifischen Mikroorganismen die Wunde besiedeln. Dafür bietet die mikrobiologische Auswertung den ergänzenden Befund [96].

In dem Wundbett, bzw. in dem Wundsekret befinden sich viele Biomarker, wie zum Beispiel Enzyme, die einen Aufschluss über den Status der Wunde geben können [97-99], aber auch ein Monitoring hinsichtlich Veränderungen bezüglich der Wundheilung erlauben [100].

Der Nachweis der Enzymaktivitäten, vor allem von Myeloperoxidase (MPO), human neutrophil elastase (HNE) und Lysozyme (LYS), könnten dafür hilfreich sein [101-103].

Farbumschläge aufgrund von Enzymerhöhungen sind mögliche Indikatoren für eine Veränderung der Wundsituation und können somit frühzeitig eine Auskunft über den Status der Wunde geben.

Die Schlüsselzellmarker von Infektionen sind die neutrophilen Granulozyten, Teil der angeborenen, unspezifischen Immunabwehr. In dem Zytoplasma von den neutrophilen Granulozyten befinden sich Granula, die der Abwehr von in den Körper eingedrungenen Mikroorganismen dienen, indem sie freigesetzt werden. Enzyme und andere Bestandteile von neutrophilen Granulozyten sind z.B. Myeloperoxidase, Defensine, Elastase, Cathepsin G, Phospholipase A2 oder Lysozyme.

Eine exzessive Stimulation der neutrophilen Granulozyten, wie es z.B. bei Wundinfektionen der Fall ist, führt dazu, dass sowohl einerseits proteolytische Enzyme wie Gelatinase, Elastase oder Cathepsin G, andererseits aber auch antimikrobielle Enzyme wie Myeloperoxidase oder Lysozyme, in die Umgebung der Wunde freigesetzt werden [100].

1.3.1. Lysozyme

Lysozyme sind Enzyme, die physiologisch u.a. im Speichel, in der Tränenflüssigkeit oder im Schweiß vorkommen. Die antibakterielle Wirkung kommt dadurch zustande, dass Lysozyme, auch als Muramidasen bezeichnet, die Zuckerketten in dem Peptidylcangerüst der Zellwand der Bakterien spalten. Dies führt über einen Abbau der Zellwand zur Lyse der Bakterienzelle [104].

Es gilt als bewiesen, dass eine Erhöhung des Lysozym Wertes im Serum oder im Harn ein Zeichen für eine Erkrankung, wie z.B. eine Entzündung (inflammatorische Reaktion) ist. Diese Erkenntnis machen Lysozyme zu guten Markern hinsichtlich der Diagnostik oder des Screenings von Erkrankungen [105].

Hasmann et al untersuchten 2011 Niveaus von Lysozymen in verschiedenen Arten von chronischen Wunden. Wie in der Literatur auch schon beschrieben, war die Lysozymaktivität in infizierten Wunden signifikant höher, als in nicht infizierten; in dieser Studie bis zu 12fach erhöht. Auch die Werte von Elastase und Gelatinase waren hier erhöht. Um die Sensitivität und Spezifität des Lysozym-Nachweises zu erhöhen, wurden in der biochemischen Auswertung verschiedene spezielle Auflagen verwendet [103].

In einer klinischen Studie von 2015 untersuchten Schiffer et al erneut die Erhöhung von Lysozymen in infizierten/ nicht-infizierten Wunden, jedoch wurden diese mit dem Silber-Standard der Infektionsdetektion, der mikrobiologischen Analyse, verglichen. Weiters wurde die klinische Beurteilung der behandelnden Ärzte/Ärztinnen mitberücksichtigt. Auch hier konnten wieder statistisch signifikante Ergebnisse erzielt werden, die zeigten, dass die Lysozymwerte mit dem aktuellen Wundstatus korrelieren, auch hinsichtlich infiziert oder nicht-infiziert.

Dipsticks: Es wurde an der Entwicklung eines Enzym-reaktionsfähigem Polymer-basierten Systems für die Detektion von Wundinfektionen geforscht. Wie oben beschrieben, können erhöhte Enzymmengen (z.B. Erhöhung der Lysozym-Konzentration) einen Rückschluss auf den Wundstatus geben. Diese Enzym-reaktionsfähige Matrix besteht aus Farbstoff-anzeigenden Peptidoglykanen; resultierend in verfärbten Oligosacchariden auf Hydrolysis von Lysozymen. Mithilfe eines Doppelschichtsystems kann eine Wundinfektion schnell und einfach angezeigt werden. Die erste Schicht steht in Kontakt mit der Wundflüssigkeit, wodurch es zu einer Freisetzung von verfärbten Oligosacchariden kommt. Diese werden darauffolgend von der Schicht abgefangen, wodurch sie sichtbar werden [106].

1.3.2. Myeloperoxidase

Myeloperoxidase ist ein eisenenthaltendes Häm-Protein, aus der Gruppe der Peroxisomen, welches sich in den azurophilen Granulas der Neutrophilen Granulozyten und in den Lysosomen der Monozyten befindet. Es wird erst bei Aktivierung und Degranulation der Neutrophilen freigesetzt [107][108].

Die Funktion der Neutrophilen ist die Phagozytose und die Destruktion von Mikroorganismen. Bei der Zersetzung bzw. Unschädlichmachung von Mikroorganismen, kommt es zu einem oxidativen Burst. MPO katalysiert die Produktion der hypochlorigen Säure, aus Wasserstoffperoxid und Chloridanionen. Hypochlorige Säure hat eine starke bakterizide Wirkung, wodurch die Zerstörung der Zellwand und der Zellmembran von Bakterien aber auch Pilzen, Viruszellen etc. möglich ist [107-109].

Hasmann et al untersuchten 2013 die Aktivität der Myeloperoxidase in verschiedenen Typen von chronischen Wunden. Wie bei den Lysozymen konnten auch hier erhöhte Werte hinsichtlich der MPO Aktivität in infizierten, verglichen mit nicht-infizierten Wunden nachgewiesen werden. Auch bietet die Aktivität der MPO eine gute Möglichkeit als ein einfaches und schnelles Infektionsfrühdagnostiktool, via Farbumschläge [101].

Ebenfalls wurde die MPO Aktivität in Korrelation mit einer erhöhten Bakterien Belastung und dem Vorhandensein von Mikroorganismen untersucht, jedoch mehr im Hinblick auf die Entwicklung von einem neuen Sensor System für die Detektion der Aktivität. (Hajsek et al 2015) [110].

Eine erhöhte Konzentration von Myeloperoxidase, ausgeschüttet von neutrophilen Granulozyten, die als First-line-Abwehrzellen gelten, wird als ein Indikator für eine inflammatorische Reaktion angesehen [111][112].

1.3.3. Humane neutrophile Elastase

Humane neutrophile Elastase (HNE; Elastase) ist eine Serinproteinase und gehört der gleichen Familie wie Chymotrypsin an. Gespeichert wird HNE in den primären (azurophilen) Granulas der polymorphonukleären Neutrophilen (PMN). Elastase hat die Fähigkeit phagozytierte Produkte zu lysieren [113-115]. Weiters ist bekannt, dass diese Proteinase an verschiedenen Pathogenesen beteiligt ist; dazu zählen neben

Wundinfektionen, auch chronische Infektionen wie Cystische Fibrose oder auch intrauterine Infektionen [116][117].

Auch konnten erhöhte Werte der humanen neutrophilen Elastase bei rheumatoider Arthritis [118], COPD [119], ARDS [120], chronischen Wunden (Druckulcera, Fußulcera) oder Verbrennungswunden [121] nachgewiesen werden.

Der Grund für die Assoziation von HNE und chronischen Wunden bzw. verzögerte Wundheilung ist, dass die übermäßige Produktion von HNE, bedingt durch die PMN Granulozyten, eine pathologische Gewebszerstörung bedingt [122][123].

Da HNE, beschrieben von Hofer et al., vor allem zu Beginn einer Infektion erhöht ist, eignet es sich sehr gut als ein Parameter zur Detektion von Wundinfektionen, besonders in Hinblick auf die Diagnostik [124].

Dies wurde auch von Hasmann et al 2011 untersucht. Es wurden Wundsekrete sowohl von infizierten als auch von nicht-infizierten Wunden gesammelt und diese hinsichtlich ihrer Enzymaktivität analysiert. Diese Ergebnisse zeigten ebenfalls eine gute Korrelation mit der klinischen Beurteilung [102].

1.3.4. Enzymaktivitäten

In Abb. 10 [125] sieht man in der linken Grafik unten die unterschiedlichen Aktivitäten der Enzyme Lysozyme (LYS), humane neutrophile Elastase (HNE) und Myeloperoxidase (MPO), abhängig von der bakteriellen Belastung in der Wundflüssigkeit. Erhöhte Enzymwerte wurden bei erhöhter PPMOS Bakterienbelastung beobachtet. (PPMOS = potentially pathogenic microorganisms)

Rechts sind jene Farbveränderungen sichtbar, die auftreten, wenn die Wundflüssigkeit in Kontakt mit den immobilisierten Enzymen kommt. Als $t=0$ ist der Zeitpunkt gekennzeichnet, sobald das Wundsekret aufgetragen wird, jedoch noch ohne Inkubation. In der mittleren Spalte sind die Farbumschläge bzw. Trübungsverluste nach Inkubation bei infizierten Wunden im Vergleich zu der Spalte rechts bei nicht-infizierten Wunden sichtbar.

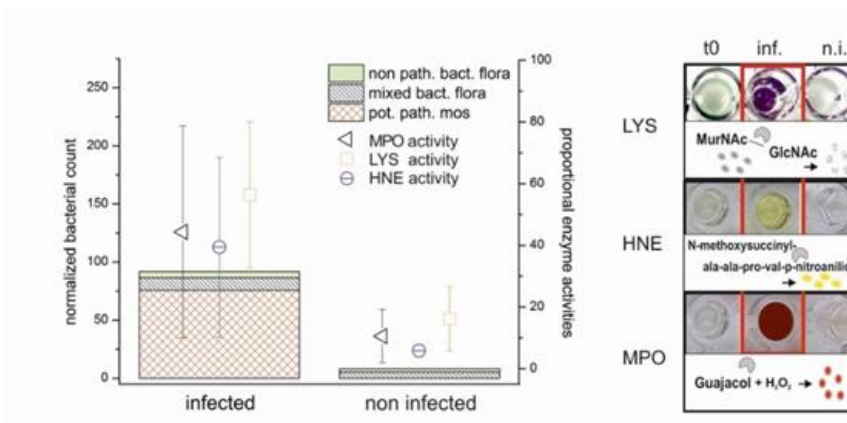


Abb. 10. Enzymaktivitäten abhängig von der bakteriellen Belastung

Auch die gelatinolytische und kollagenolytische Aktivität waren in infizierten, als auch in kritischen Wunden signifikant erhöht. Wodurch auch hier die Möglichkeit für die Verwendung als ein Infektionsfrühdagnostiktool besteht [126].

Die Enzyme Gelatinase und Elastase werden nicht nur vom menschlichen Körper im Zuge von Abwehrreaktionen freigesetzt, sondern auch von verschiedenen Mikroorganismen, wie *Staphylococcus aureus* und *Pseudomonas aeruginosa*, während einer Infektion.

Schmidtchen et al konnte ex vivo zeigen, dass Elastase-produzierende *P. aeruginosa* Isolate das Zellwachstum der Fibroblasten hemmen. Die in dieser Studie nachgewiesenen Effekte lassen auf die pathogene Wirkung der bakteriellen Proteasen, besonders in der Entstehung und Nicht-Abheilung von chronischen Ulcera, schließen [127][128].

Die für diese Studie relevanten Enzyme können entweder von Bakterien im Falle einer Infektion freigesetzt werden und so die menschlichen Zellen schädigen bzw. zerstören sowie ihr Fortkommen im Gewebe erleichtern (Elastase, Hyaluronidase, Phospholipasen, verschiedene Lysine), oder aber auch Enzyme, die im Zuge der Abwehrreaktion vom menschlichen Immunsystem (meist von neutrophilen Granulozyten) produziert und abgegeben werden (Lysozyme, Cathepsin G, Elastase, Myeloperoxidase) [100][128][129].

1.3.5. pH – Wert

Ein weiterer Biomarker, der zur frühzeitigen Detektion von Infektionen verwendet werden kann, ist der pH - Wert. Der pH – Wert ist per Definition der negative dekadische logarithmische Wert (Werte von 0-14) für die effektive Konzentration der H⁺-Ionen in Flüssigkeiten, so auch z.B. im Wundsekret.

Da Wunden metabolisch sehr aktiv sind, ist es naheliegend, dass sich dementsprechend auch der pH-Wert im Laufe der Heilung einer Wunde verändert (Änderungen der Enzymaktivität, Sauerstoff Aktualisierungsrate in Wunden), wodurch ein Rückschluss auf die aktuelle Wundsituation möglich ist [130].

Der pH-Wert der Haut bei intakter Epidermis liegt zwischen 4 und 6, abhängig von der Lokalisation und dem Alter des Menschen und dient als natürliche Hautbarrierefunktion. Das physiologische Gleichgewicht des pH-Wertes wird durch lokale Verschiebungen des Laktat-Bikarbonat Buffer-Systems des Körpers in Richtung saures Milieu aufrechterhalten [131].

Eine Verschiebung in den basischen Bereich tritt auf, wenn es zu einer Schädigung des Gewebes bzw. zu einer Kolonisation mit Bakterien kommt [132].

2. Relevanz des Projektes

Die Relevanz dieser Studie liegt darin, dass es nach wie vor nicht möglich ist, die Wunde regelmäßig ohne weiteren größeren Aufwand während einer VAC-Therapie zu beurteilen. Dies liegt einerseits darin, dass der graue oder weiße VAC-Schwamm einen Blick auf die Wunde nicht zulässt, und andererseits die Wundflüssigkeit, die bedingt durch den Unterdruck aus der Wunde „gezogen“ wird, in dem Kanister am VAC-Gerät durch Gel-Einlagen verklumpt und somit nicht mehr zur Analyse herangezogen werden kann.

Um jedoch die Wunde beurteilen zu können, gibt es bis jetzt nur die Möglichkeit, den VAC-Verband zu entfernen und einen neuen anzulegen. Normalerweise wird der VAC-Verband nach drei bis fünf Tagen gewechselt; in dieser Zeit kann sich die Wunde bereits verschlechtert haben, ohne dass dies erkannt werden konnte. In den meisten Fällen muss der VAC-Verbandswechsel unter sterilen Bedingungen im OP stattfinden. Dies bedeutet nicht nur zusätzlichen Aufwand bzw. Schmerzen für den/die Patienten/Patientin, sondern ist auch mit extra Kosten (OP, Zeitaufwand, Material) verbunden.

Das Ziel dieser klinischen Studie soll sein, mit Hilfe eines Zwischenstückes, welches in das VAC-System eingebaut wird, die Wundflüssigkeit zu gewinnen und durch Enzymkonzentrationen und damit verbundenen Farbumschläge, frühzeitig eine Auskunft über den Zustand der Wunde zu geben.

Die Nachfrage nach einem Infektionsfrühdiagnostiktool besteht seit Längerem. Die Anforderungen sind hoch, es soll schnell gehen, d.h. das Ergebnis soll innerhalb von wenigen Minuten vorhanden sein, es soll nicht-invasiv sein, schnell durchführbar und gleichzeitig auch kostengünstig sein. Weiters wäre es von großem Vorteil, eine Infektion bzw. eine Veränderung der Wunde zu erkennen, bevor es zu einer klinischen oder laborchemisch sichtbaren Verschlechterung kommt.

3. Hypothesen

Ziel dieser klinischen Studie soll es sein, Wundflüssigkeiten während der Unterdrucktherapie zu gewinnen und diese anschließend biochemisch zu analysieren. Die zu bestätigende Hypothese sagt aus, dass mittels erhöhter Enzymkonzentrationen (Myeloperoxidase, Elastase, Lysozyme, pH-Wert) eine Wundinfektion während laufender „negative pressure wound therapy“, d.h. ohne Abnahme des Verbandes, nachgewiesen werden kann. Weiters soll die Anwendung dieser Enzyme eine Verschlechterung der Wundsituation noch vor einer klinisch sichtbaren Infektion anzeigen können. Die Richtigkeit der biochemischen Analyse wird mit dem Ergebnis der mikrobiologischen Untersuchung (routinemäßig in der Klinik, zum Nachweis von Mikroorganismen in Wunden, auf Kathetern, etc. angewandt) kontrolliert. Ebenso wird die klinische Beurteilung seitens der behandelten Ärzte mit dem Ergebnis verglichen.

Die in dieser Prüfung gewonnenen Erkenntnisse dienen dazu, um die Anwendbarkeit des entwickelten in vitro Testsystems zur frühzeitigen Detektion von Infektionen in der Anwendung der Unterdrucktherapie zu untersuchen. Die Ergebnisse können zu einem späteren Zeitpunkt für die Herstellung eines Infektionsfrühdagnostikstool bei der Unterdrucktherapie herangezogen werden. Mit Hilfe dieser einfachen biochemischen Essays wird eine erhöhte Enzymaktivität durch eine Farbreaktion angezeigt, ohne dass das Unterdrucksystem gewechselt werden muss.

Primäre Fragestellung:

Ist es möglich mit dem Zwischenstück, Wundsekret während laufender Unterdrucktherapie zu gewinnen, und kann diese Flüssigkeit analysiert werden und somit eine Auskunft über den Zustand der Wunde unterhalb des Verbandes gegeben werden?

Sekundäre Fragestellung:

Kann die Wundflüssigkeit, die mittels des Zwischenstückes während der Unterdrucktherapie gewonnen wird, biochemisch anhand von Enzymen so analysiert werden, sodass eine Aussage über den Zustand der Wunde vorzeitig getroffen werden kann, wie eine Art Frühinfectionsdiagnostiktool? Ist es somit möglich, eine Verlaufskontrolle der Wunde anhand von Wundflüssigkeiten zu erhalten?

4. Material und Methoden

4.1. Beschreibung des Prüfproduktes

Das in dieser klinischen Studie verwendete Material, das Prüfprodukt „NPWW 40cc“, setzt sich aus zwei bereits zugelassenen Produkten mit CE-Kennzeichen zusammen. Es werden Materialien (chemische Substanzen/Enzyme + Auffangbehältnis) getestet, die möglicherweise zukünftig ein CE-gekennzeichnetes Produkt ergeben und als Infektionsfrühdagnostiktool, während laufender Unterdrucktherapie dienen sollen.

4.1.1. Ursprüngliche Produkte

Es werden für diese klinische Prüfung zwei Produkte verwendet, die im klinischen Alltag häufig im Gebrauch sind.

Das Zwischenstück – „Argyle™ Specimen Trap 40ml“; Hersteller Firma Covidien™

Dieses Produkt wird primär in der Thoraxchirurgie bzw. Pulmologie zur Durchführung einer Bronchoalveolären Lavage (BAL) verwendet. Ein CE-Kennzeichen ist vorhanden (gemäß der Richtlinie 93/42/EEC für Medizinprodukte, Annex V; Klasse 1).

Lieferumfang – Das Produkt „Argyle™ Specimen Trap 40ml“ ist steril verpackt (Abb. 11) und besteht aus einem Auffangbehältnis mit einem Fassungsvermögen von 40ml, einem zusätzlichen Schraubverschluss für einen möglichen Transport des flüssigkeitsgefüllten Behältnisses, einem latexfreien Schläuchens und einem Klebesticker für die Beschriftung (Abb. 12)



Abb. 11. Steril verpacktes "Argyle™ Specimen Trap 40ml"



Abb. 12. Lieferumfang "Argyle™ Specimen Trap 40ml"

Der Verbindungsschlauch – „Sensa T.R.A.C.™ Technology + Sensa T.R.A.C.™ Pad“; Hersteller Firma KCI/Acility, (Abb. 13)

Der Verbindungsschlauch „Sensa T.R.A.C.™“ wird in Verbindung mit einem unterdruckerzeugenden Gerät (VAC-Gerät der Firma KCI/Acility), sowie einem Schaumverband („VAC GranuFoam™ Dressing“) und einer Folie (VAC-Folie) verwendet. Das unterdruckerzeugende Gerät (VAC-Gerät an sich), welches unabhängig von dem Verbindungsschlauch, nicht steril verpackt ist, ist von unserer Modifikation nicht betroffen. Der Verbindungsschlauch „Sensa T.R.A.C.™ Technology + Sensa T.R.A.C.™ Pad“ kann entweder ebenfalls extra verpackt vorkommen oder aber in Kombination mit dem Schaumverband und der Folie (Schaumverband und Folie können in der Größe variieren; jedoch sind alle Eigenschaften ansonsten gleich). Für diese Produkte gibt es ebenfalls CE-Kennzeichen.



Abb. 13. Steril verpacktes "VAC GranuFoam™ Dressing“ und „Sensa T.R.A.C.™ Technology + Pad“

- „Sensa T.R.A.C.™ Pad mit Sensa T.R.A.C.™ Technologie“: Steriles, latexfreies, frei verfügbares VAC-Zubehör; bestehend aus dem Pad, Schlauch, Klemme und Konnektor (Abb. 14). CE – Kennzeichen gemäß der Richtlinie 93/42/EEC Annex II; Klasse IIb. Hersteller des Produktes ist KCI USA.



Abb. 14. Lieferumfang "VAC GranuFoam™ Dressing" und „Sensa T.R.A.C.™ Technology + Pad“

- "V.A.C. GranuFoam™ Dressing": Schaumverband („GranuFoam™“), 1 Folie („V.A.C Standard Drape™“) und 1 „Sensa T.R.A.C.™ Pad“ mit Konnektor; ebenfalls 1 wegwerfbares Messlineal (Abb. 14). CE – Kennzeichen gemäß der Richtlinie 93/42/EEC, Annex II; Klasse IIb. Rule 4; Hersteller ebenfalls KCI USA.

4.1.2. modifiziertes Produkt „NPWW 40cc“

Das Prüfprodukt, „NPWW 40cc – **n**egative **p**ressure **w**ound **w**atch“ entsteht durch Modifikationen an bereits CE-gekennzeichneten Produkten, die unter 4.1.1. beschrieben wurden. Das Zusammenbauen des Produktes erfolgt unter sterilen Bedingungen im Krankenhaus, während der Operation/ VAC-Anlage. Der Hersteller ist die Firma Qualizyme Diagnostics GmbH & Co KG. Jedoch wird das Prüfprodukt nicht von dieser Firma produziert/hergestellt. Um das Produkt „NPWW 40cc“ zu erhalten, müssen folgende Schritte durchgeführt werden:

1. Das „Argyle™ Specimen Trap 40ml“ wird steril aus der Verpackung entnommen, sodass der weitere Vorgang ebenfalls unter sterilen Bedingungen (mit sterilen Handschuhen, auf der sterilen OP Unterlage) abläuft. (Abb. 15)



Abb. 15. Schritt 1: sterile Entnahme aus der Verpackung

2. Das Schläuchen des Zwischenstückes wird mit einer sterilen Schere durchgeschnitten, sodass man zwei Teile davon erhält. (Abb. 16)



Abb. 16. Schritt 2: Durchtrennen des Schläuchens

3. Anschließend wird das freie halbierte Schläuchen auf den Deckel des Zwischenstückes gesteckt. (Abb. 17)



Abb. 17. Schritt 3: Anstecken des halbierten Schläuchens

4. Im nächsten Schritt wird der Verbindungsschlauch des „Sensa T.R.A.C.TM“ (Abb. 18), welches meist zu diesem Zeitpunkt der Operation von dem Chirurgen bereits steril auf der

VAC-Folie über dem Schaumverband angebracht wurde, ebenfalls mit einer Schere durchgeschnitten. Bevor dies jedoch gemacht werden darf, muss die Klemme verschlossen werden, sodass der Verbindungsschlauch abgeklemmt ist (Abb. 19 Klemme offen, Abb. 20 Klemme geschlossen)



Abb. 18. Schritt 4: Steriler Verbindungsschlauch "Sensa T.R.A.C.™"

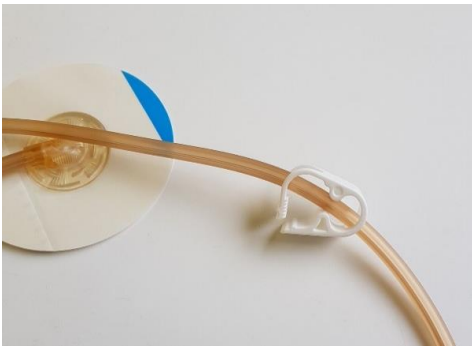


Abb. 19. Klemme offen

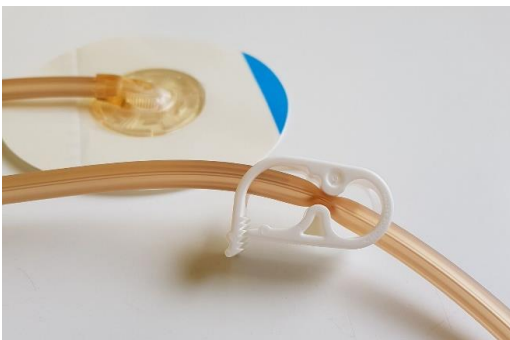


Abb. 20. Klemme geschlossen

5. Nachdem die Durchtrennung des Verbindungsschlauches (Abb. 21) erfolgt ist, werden das Zwischenstück und die zwei VAC-Enden zusammengesteckt. (Abb. 22, 23)

6. Als letzter Schritt wird die Klemme wieder geöffnet, sodass der Schlauch wieder durchgängig ist.



Abb. 21. Schritt 5: Durchtrennung des Verbindungsschlauches



Abb. 22. Fertig modifiziertes Prüfprodukt



Abb. 23. Nahaufnahme Prüfprodukt

4.1.3. vorgesehene Verwendung des Prüfproduktes „NPWW 40cc“

Das Prüfprodukt wird wie oben dargestellt, unter sterilen Bedingungen aus zwei bereits zugelassenen, CE-gekennzeichneten Produkten zusammengesteckt. Der Grund für die Modifikation ist, dass dadurch die Wundflüssigkeit, die während der VAC-Therapie durch den Unterdruck aus der Wunde „gezogen“ wird, gewonnen werden kann. Eine andere

Möglichkeit die Wundflüssigkeit, und somit die Wunde, während der VAC-Verband angebracht ist, zu beurteilen, ist aufgrund der Gel-gefüllten VAC-Kanister nicht möglich. Eine weitere wichtige Rolle spielen auch die Schnelltests mit Enzymen. Die mit dem Zwischenstück aus dem VAC-Verband aufgefangene Wundflüssigkeit wird von der Firma Qualizyme Diagnostics GmbH & Co KG hinsichtlich Enzymkonzentrationen getestet. Auch wird diese gewonnene Wundflüssigkeit auf immobilisierten Enzymen, die Indikatoren enthalten, aufgetragen. Durch den Kontakt mit (Wund-)Flüssigkeiten, verändern sich diese Enzyme (sichtbar durch Farbumschlag) und man erhält Auskunft über den Enzymgehalt in der Wunde. Dies wiederum ermöglicht einen Rückschluss auf Entzündungen/ Infektionen in der Wunde. Diese Prototypen von immobilisierten Enzymen auf Teststreifen sollen zu einem späteren Zeitpunkt als Schnelltests in die „Zwischenstücke“ der Unterdrucktherapie-Systeme eingebaut werden, und somit Auskunft über den Status der Wunde geben, ohne dass der VAC-Verband abgenommen und gewechselt werden muss.

Hier wäre der Einbau des Teststreifens ein ideales Monitoring-Tool, um den Wundstatus während der VAC-Therapie zu überprüfen und somit frühzeitig eine Aussage treffen zu können, ob die Wunde infiziert ist oder nicht (Detektion einer Wundinfektion bevor es zu einer Verschlechterung der klinischen Situation kommt, d.h. die Wunde sieht klinisch sauber und bland aus, die Teststreifen zeigen aber bereits eine Infektion an).

4.1.4. Zweckbestimmung des Prüfproduktes seitens des Herstellers

Die vorgesehene Zweckbestimmung des „modifizierten Prüfproduktes“ ist es, Wundflüssigkeit während der VAC-Therapie aufzufangen, um einen Nachweis von infektionsspezifischen erhöhten Enzymmengen bzw. pH-Wert Änderungen, durch Farbänderung bei beginnender Wundinfektion, zu erhalten.

4.1.5. Risikoanalyse

Es wurde vor Beginn der klinischen Studie eine Risikoabschätzung durchgeführt, mit dem Ziel so viele Risiken wie möglich zu identifizieren. Hierfür wurden die Produkte „Argyle™ Specimen Trap 40ml“ und „Sensa T.R.A.C.™“, die zusammen das modifizierte Produkt

„NPWW 40cc“ ergeben, bewertet. Das Fazit ergab, dass es durch die Verwendung von „NPWW 40cc“ zu keinen zusätzlichen Risiken für den/die Patienten/Patientinnen kommt.

4.2. Aufbau der klinischen Studie

Diese klinische Studie ist Teil einer Medizinproduktstudie, die an der Abteilung für Plastische, Ästhetische und Rekonstruktive Chirurgie in Graz stattfindet. Mit der praktischen Durchführung wurde am 15.10.2018 begonnen.

4.2.1. Praktische Durchführung der Studie

Probengewinnung

Im Zuge der Unterdrucktherapiebehandlung sollen bei 22 Patienten/Patientinnen Wundflüssigkeiten entnommen werden. Bevor der VAC-Verband im OP angebracht wird, erfolgt eine Abstrichentnahme aus der Wunde. Anschließend wird das Produkt „Argyle™ Specimen Trap 40ml“ in das VAC-System zwischengeschaltet und so Wundflüssigkeit gesammelt. Dafür wird der Verbindungsschlauch zwischen der Wunde und dem VAC-Gerät wie in 4.1.2. beschrieben, durchtrennt und „Argyle™ Specimen Trap 40ml“ zugeschnitten und dazwischen gesteckt. Der Wechsel dieser Zwischenstücke erfolgt fortan täglich; hierfür muss lediglich das Behältnis heruntergeschraubt und ausgetauscht werden. Die Durchtrennung des Verbindungsschlauches ist also nur zu Beginn der Behandlung, bei der VAC-Verband Anlage, nötig.

Dieser Eingriff ist nicht invasiv. Da die Gewinnung der Probe im Zuge der routinemäßigen Versorgung erfolgt, ist für die Patienten/Patientinnen weder mit Schmerzen, noch mit einem erhöhten Risiko oder zusätzlichem Aufwand zu rechnen.

Die gewonnene Wundflüssigkeit wird anschließend in den Laboren von Qualizyme Diagnostics GmbH & Co KG biochemisch als Flüssigessays und auch auf immobilisierten Substraten, für die Enzyme MPO, Elastase, Gelatinase, Lysozyme, sowie auf pH-Wert und andere chemische Metabolite hin getestet.

Wundabstrich

Zusätzlich zur Abnahme der Wundflüssigkeit werden Wundabstriche, vor der ersten VAC-Anlage und bei etwaigen VAC-Wechseln durchgeführt, um die vorhandenen Bakterien identifizieren bzw. Enzymkonzentrationen in der Wunde analysieren zu können.

Verwendet werden die Abstrichtupfer „eSwab™“ der Firma Copan, welche im Handel erhältlich sind und routinemäßig im klinischen Alltag verwendet werden. Die Auswertung (Keimidentifikation) dieser Abstriche erfolgt an dem Institut für Hygiene, Mikrobiologie und Umweltmedizin Graz. Ein weiterer Abstrich wird mittels sterilen „FLOQSwabs™“ entnommen. Diese Abstrichtupfer werden an der Sollbruchstelle abgebrochen, in kleinen Eppendorfküvetten aufbewahrt und anschließend in den Laboren von Qualizyme Diagnostics GmbH & Co KG biochemisch, hinsichtlich Enzymen, analysiert.

Fotodokumentation und Case Report Form

Weiters wird zu Beginn der Behandlung ein Foto der Wunde gemacht und ein Case Report Form ausgefüllt. Beim nächsten Tausch, bzw. der Beendigung der Therapie und somit der Abnahme des VAC-Verbandes, wird erneut ein Foto angefertigt, ebenso wie Informationen im Case Report Form (CRF) dokumentiert werden. Dies soll dem Vergleich der sichtbaren Wundveränderungen dienen. Außerdem soll damit festgestellt werden, ob eventuell noch keine Veränderungen der Wunde mit freiem Auge wahrnehmbar sind, die untersuchten Enzymen hingegen über mögliche Veränderungen frühzeitig Auskunft geben können.

Biochemische Analyse

Die biochemische Analyse der Wundflüssigkeit erfolgt in den Laboren von Qualizyme Diagnostics GmbH & Co KG. Die Analyse wird von Dr. Andrea Heinzle, Dr. Eva Sigl und DI Clemens Gamerith in zugelassenen und entsprechend ausgestatteten S2 Laboren durchgeführt.

Nachdem die Proben in den Laboren eingelangt sind, werden sie zentrifugiert, steril filtriert und für die weitere Verwendung aliquotiert, sowie bei -20°C gelagert. Diese durchgehende Kühlung ist nötig, da es sich um biologisch-organisches Material (Enzyme, Wundflüssigkeiten, Wundabstriche) handelt. Die geplanten Enzym-Aktivitätsbestimmungen werden nach etablierten Standardarbeitsanweisungen durchgeführt. Die in den Wundflüssigkeiten vorhandenen Enzyme können mit Hilfe von Farbreaktionen, fluoreszenzmarkierten Substraten oder einfachen Trübungssays, durch geeignete Standardreihen quantifiziert werden.

In dieser Studie werden die Enzyme Lysozym, Elastase, Myeloperoxidase, Gelatinase, Katalase, Hämolyisin, Phospholipase C, Cathepsin G und Hyaluronidase mittels den entsprechenden Enzym-Essays in Mikrotiterplatten mit einem „Platereader“ der Firma Tecan analysiert werden.

Die Proben werden nach der Analyse totautoklaviert und ordnungsgemäß entsorgt.

Patientenzahl

Es sollen Wundflüssigkeiten von 22 Patienten/Patientinnen mit Unterdrucktherapie in einem Zeitverlauf von mindestens drei Tagen analysiert werden.

4.2.2. Studiendesign

Es handelt sich bei dieser Studie um eine monozentrische, offene, klinische Prüfung eines Medizinproduktes (Leistungsbewertungsprüfung/ In-Vitro-Diagnostikum). Es ist nicht notwendig eine Randomisierung bzw. eine Verblindung durchzuführen, da es sich um eine Machbarkeitsstudie handelt. D.h. es wird getestet, ob Wundsekret aus dem Unterdrucktherapiesystem abgezweigt und anschließend hinsichtlich Enzymkonzentrationen analysiert werden kann. Eine „Vergleichsgruppe bzw. Kontrollgruppe“ im klassischen Sinne gibt es nicht, jedoch werden die Ergebnisse der biochemischen Analyse (Enzymkonzentrationen, Farbumschläge) mit dem Ergebnis der Mikrobiologie (durchgeführt am Institut für Mikrobiologie, Hygiene und Umweltmedizin Graz; unabhängiges Labor) abgeglichen.

Primäre Endpunkte dieser klinischen Prüfung sind Informationen zu erhalten, die in weiteren Studien der Entwicklung des eigentlichen Medizinproduktes dienen sollen. In dieser klinischen Prüfung werden Materialien, wie das modifizierte Produkt „NPWW 40cc“ (System zur Wundflüssigkeitsabzweigung), sowie chemische Substanzen getestet.

Als zukünftiges Endziel ist anzusehen, ein Zwischenstück in dem Verbindungsschlauch des VAC-Systems zu testen, welches Wundsekrete abzweigt und in welchem Indikatoren sind, die anzeigen, z.B. mittels eines Farbumschlages, ob ein Verbandswechsel nötig ist. Auch kann dadurch eine Auskunft über den Status einer möglichen Infektion in der Wunde gegeben werden.

Die ordnungsgemäße Wartung und Kalibrierung der Geräte, die für die biochemische Analyse der Wundflüssigkeiten nötig sind, werden von Qualizyme Diagnostics GmbH & Co KG durchgeführt.

4.2.3. Prüfungsteilnehmer

Einschlusskriterien: Ein Einschlusskriterium ist primär die schriftliche Einwilligung der teilnehmenden Patienten/Patientinnen nach erfolgter Aufklärung. Für diese Studie sind Patienten/Patientinnen mit offenen Wunden von Interesse. Diese Wunden können von unterschiedlicher Genese sein; d.h. es können Verbrennungen, Ulcera, infizierte akute Wunden, nicht infizierte Wunden, chronische Wunden im Zuge des diabetischen Fußsyndroms, etc. sein. Es werden nur Patienten/Patientinnen eingeschlossen, die mit den oben genannten Wunden stationär auf der plastischen, ästhetischen und rekonstruktiven Chirurgie behandelt werden und eine Unterdrucktherapie, mit einem VAC-Gerät der Firma KCI/Acility erhalten. Weiters müssen die teilnehmenden Probanden über 18 Jahre alt sein.

Ausschlusskriterien: Ausgeschlossen sind schwangere Patientinnen, sowie Patienten/Patientinnen unter 18 Jahren, oder wenn keine schriftliche Einwilligung vorliegt. Weiters werden Probanden ausgeschlossen, die eine „VAC-Instill®“ Behandlung erhalten, da in diesem Fall die Wundflüssigkeit zu sehr verdünnt ist und somit keine biochemische Analyse mit Hinblick auf die zu bestimmenden Enzymen sinnvoll ist.

Kriterien für das Zurückziehen von Prüfungsteilnehmern/Prüfungsteilnehmerinnen oder den Abbruch der Studie: Der/die Teilnehmer/Teilnehmerin an der klinischen Prüfung kann jederzeit auch ohne Angaben von Gründen sich dazu entscheiden aus der Studie auszutreten, ohne dass es dadurch zu irgendwelchen Nachteilen für die weitere medizinische Betreuung kommt. Nicht nur der Proband, auch der/die Prüfarzt/Prüfärztin kann die Entscheidung treffen, dass ein/eine Patient/Patientin aus der klinischen Prüfung vorzeitig ausscheidet. Dies könnte sein, wenn die Einschlusskriterien nicht mehr erfüllt werden (z.B. im Vorhinein wurde entschieden, dass ein VAC-Verband angelegt wird, während der OP wurde jedoch eine andere Therapieform gewählt) oder der/die Prüfarzt/Prüfärztin den Eindruck hat, dass eine weitere Teilnahme an der klinischen Prüfung nicht im Interesse des/der Patienten/Patientin ist.

Aufnahmezeitpunkt: Die Aufnahme in die klinische Prüfung erfolgt nach der Unterzeichnung des Informed consent.

Erwartete Teilnahmedauer jedes/jeder Prüfungsteilnehmers/Prüfungsteilnehmerin: Die Teilnahmedauer beschränkt sich auf die geplante VAC-Therapie. Diese Zeitspanne ist unterschiedlich und wird je nach Indikation und Notwendigkeit von dem/der behandelnden Arzt/Ärztin festgelegt. Somit kann die Dauer der Teilnahme von drei Tagen bis 14 oder mehr Tagen variieren.

Geforderte Anzahl der in der Studie aufzunehmenden Prüfungsteilnehmer/Prüfungsteilnehmerin: Es werden 22 Patienten/Patientinnen in die klinische Prüfung aufgenommen.

4.2.4. Studienspezifische Behandlungen

Zu Beginn werden ein Abstrich aus der Wunde mit den „FLOQSwabsTM“ (biochemische Analyse durch Qualizyme Diagnostics GmbH) und ein weiterer mit „eSwabTM“ (Auswertung durch das Institut für Hygiene, Mikrobiologie und Umweltmedizin Graz) entnommen. Anschließend wird bei der Anlage des VAC-Verbandes der Verbindungsschlauch zwischen dem Verband und dem VAC-Gerät durchtrennt und ein Zwischenstück in den Schlauch eingefügt („NPWW 40cc“). In den folgenden Tagen wird dieses Behältnis mit der Wundflüssigkeit täglich getauscht und im Labor biochemisch analysiert.

Faktoren, die die Ergebnisse der klinischen Studie oder deren Interpretation beeinträchtigen, können sein, dass das unterdruckerzeugende Gerät nicht funktioniert, und somit kein Wundsekret in das Zwischenstück gefördert werden kann. Ursachen hierfür könnten sein, wenn der Akku des NPWT-Gerätes leer wird, oder der Verband nicht luftdicht angebracht wurde.

4.2.5. Monitoring

Da diese Studie ein Teil einer Medizinproduktstudie (Leistungsbewertungsprüfung, In-Vitro-Diagnostica) ist, wird ein Monitoring durchgeführt; Koordinierungszentrum für klinische Studien, Medizinische Universität Graz. Hierbei wurde von der für das Monitoring verantwortlichen Person die Datensammlung sowie die zufriedenstellende Erhebung der Daten, die Dokumentation, deren Aufbewahrung und die Einhaltung des Prüfplanes überprüft.

4.2.6. Statistische Überlegung

Diese klinische Studie wird als monozentrische, prospektive, offene, klinische Prüfung durchgeführt. Es handelt sich hierbei um eine Pilotstudie. In dieser Studie gibt es nur eine Gruppe (Interventionsgruppe); die Kontrolle der Ergebnisse der biochemischen Analyse (Enzymkonzentrationen) erfolgt durch die mikrobiologische Auswertung der Wundabstriche.

Das Ziel der Studie ist es, die Machbarkeit bzw. Umsetzbarkeit von Methoden für eine spätere größere Studie zu überprüfen und eventuell auch Zusammenhänge zu finden, die ebenfalls in einer Folgestudie überprüft werden sollen.

Die Sensitivität und Spezifität enzymatischer Werte im Vergleich mit der mikrobiologischen Analyse ist die Hauptzielgröße. Es sollen Infektionen mit Nicht-Infektionen gemäß den Leistungsdaten der immobilisierten Enzyme und dem Case Report Form, also der klinischen Bewertung des/der behandelnden Arztes/Ärztin, verglichen werden.

Die Nullhypothese besagt, dass die enzymatischen Werte, bzw. das Ergebnis der biochemischen Analyse, nicht mit dem mikrobiologischen Ergebnis übereinstimmt. Diese Hypothese trifft bei $p > 0,05$ zu. Die Alternativhypothese, die enzymatischen Werte der biochemischen Analyse stimmen mit den mikrobiologischen Ergebnissen überein, hingegen trifft zu, wenn die Nullhypothese verworfen wird ($p < 0,05$). Sollte die Alternativhypothese angenommen werden, so kann von einem positiven Ausgang der Studie gesprochen werden, jedoch müssen die Limitationen in Betracht gezogen werden. Es wird eine Prävalenz von 0,5 angenommen. Die Fallzahlberechnung basiert auf Alpha (=Fehler 1.Art) mit 0,95; einseitig. Es erfolgt kein multiples Testen. Es wird mit einer

Drop-out-Quote von 5% gerechnet. Somit ergibt sich eine Fallzahl von 22 Personen. Die statistische Analyse wird nach dem Intention-to-treat Prinzip durchgeführt. Die Auswertung des CRF wird deskriptiv durchgeführt.

Da die Rekrutierung dieser 22 Personen zu viel Zeit in Anspruch nehmen würde, werden für diese Diplomarbeit nur 9 Patienten ausgewertet.

Neben der Sensitivität und Spezifität der enzymatischen Werte im Vergleich mit der mikrobiologischen Analyse, soll mit dieser Studie geprüft werden, ob es überhaupt machbar ist, Wundflüssigkeit aus dem Unterdrucktherapie-System so abzuzweigen, sodass eine Auswertung hinsichtlich des Sekretes auf Infektionen überhaupt möglich ist.

Limitationen

Die Limitationen dieser Studie liegen vor allem darin, dass in dieser Pilotstudie die Fallzahl nicht höher angesetzt werden kann. Die Begründung dafür ist, dass mit dieser Studie geprüft werden will, ob einerseits eine Abzweigung der Wundflüssigkeit aus dem Unterdruckverband-System überhaupt möglich ist und andererseits, ob die biochemische Analyse auch im Verlauf (über mehrere Messzeitpunkte/Tage hinweg) mit dem Ergebnis der Mikrobiologie korreliert.

Es wäre aus biostatistischer Sicht empfehlenswert neben einem zweiseitigen Konfidenzintervall auch eine geringere Breite des Konfidenzintervalls anzunehmen. Somit könnte die Sensitivität und Spezifität erhöht und die Aussagekraft der erhaltenen Daten verbessert werden. Es wäre jedoch auch mit einer höheren Fallzahl verbunden.

Eine weitere Limitation ist, dass die Prävalenzrate (in dieser Studie mit 0,5 angenommen; infiziert – nicht infiziert) in der Realität anders sein könnte (z.B. 0,3/0,7), dies würde ebenfalls mit einer Erhöhung der Fallzahl einhergehen.

Die in dieser Pilotstudie beteiligten Personen sind sich jedoch den Limitationen bewusst und wissen, dass die Ergebnisse, die aus dieser Studie gewonnen werden, mit Vorsicht interpretiert werden müssen.

4.2.7. Datenmanagement

Das Datenmanagement wird nach den GCP-Richtlinien durchgeführt. Das Erheben von Messwerten, die fehlen, werden mit f (=fehlt) gekennzeichnet und dokumentiert. Weiters wird ein CRF bei jedem/jeder Patienten/Patientin bzw. mehrmals bei einem/einer Patienten/Patientin (jedes Mal, wenn der VAC-Verband entfernt wird, und die Wunde von einem/einer Arzt/Ärztin begutachtet wird) angelegt. Da dieser anonymisiert ist, ist der Datenschutz mit Sicherheit gewährleistet.

Für die Auswertung der Ergebnisse ist eine ausreichende Dokumentation durch die behandelnden Ärzte/Ärztinnen bzw. das behandelnde Personal notwendig (Fotodokumentation, Case Report Form). Die Patienten/Patientinnen werden mit einer Anonymisierungsnummer versehen. Neben Alter und Geschlecht sind vor allem die Dauer der Wunde, die Lokalisation und der Zustand der Wunde bzw. die vorgenommenen Behandlungen von großer Wichtigkeit.

Alle Daten und Dokumente, die im Zusammenhang mit der klinischen Prüfung stehen, werden in einem Trial Master File (TMF) gesammelt und aufbewahrt. Dieser TMF wird ebenfalls nach den GCP-Richtlinien geführt.

Archivierung der Daten: Die Archivierung der Daten wird am Studienzentrum (Medizinische Universität Graz) durchgeführt. Die Listen mit den Namen der Teilnehmer/Teilnehmerinnen an der Studie werden mit einem Passwort geschützt und sind nur für Studienpersonal zugänglich. Der Sponsor der Studie, Qualizyme Diagnostics GmbH & Co KG, erhält die Daten verblindet.

Die Aufbewahrungszeit der gesammelten Daten und Dokumente beträgt 15 Jahre.

Identifizierung der Prüfungsteilnehmer/Prüfungsteilnehmerinnen: Die Identifizierung der Studienteilnehmer/-teilnehmerinnen erfolgt mit dem Subject Identification Log. Hier ist die Identität der Patienten/Patientinnen vermerkt, es ist jedoch nur für die autorisierten durchführenden Personen der klinischen Studie zugänglich. Die Anonymisierung erfolgt mit dem ersten und zweiten Buchstaben des Nachnamens und dem ersten Buchstaben des Vornamens, sowie mit einer fortlaufenden Nummerierung. Dies ist auf dem CRF zu finden.

4.2.8. Versicherung

Da es sich um eine Medizinproduktstudie (IVD-Studie) handelt und ein modifiziertes, nicht CE-gekennzeichnetes Produkt überprüft wird, wurde eine Versicherung für die an der Studie teilnehmenden Patienten/Patientinnen abgeschlossen. (Newline Insurance; Polizzenummer GER18928373A)

4.2.9. Zustimmung der Ethikkommission/BASG

Für die Durchführung dieser klinischen Prüfung wurde die Zustimmung der Ethikkommission Graz eingeholt (EK-Nummer 30-236 ex 17/18; das Votum wurde am 04.05.2018 gültig für 1 Jahr ausgestellt). Eine Verlängerung des Votums wurde bis 04.05.2020 genehmigt. Da es sich um eine Leistungsbewertungsprüfung nach dem Medizinproduktgesetz (ohne CE-Kennzeichen) handelt, wurde zusätzlich auch eine Meldung an das Bundesamt für Sicherheit im Gesundheitswesen gemacht (Verfahrensnummer 10916689; die Zustimmung zur Durchführung wurde am 29.8.2018 erteilt)

5. Ergebnisse/Resultate

5.1. Das Patientenkollektiv

Insgesamt wurden nach einem Jahr Rekrutierung neun Patienten in diese Studie eingeschlossen. Alle neun Patienten waren männlich mit einem durchschnittlichen Alter von 56,8 Jahren. Es waren vier Nichtraucher, zwei Ex-Raucher und drei Raucher (durchschnittlich 24py). Vier Patienten waren Diabetiker, Typ II – Diabetes und mit laufender Medikation. Acht Patienten erhielten zum Zeitpunkt der Teilnahme an der Studie ein Antibiotikum. (Demographische Daten Tabl. 4)

Die Art der Wunde variierte innerhalb des Patientenkollektivs. Sechs Patienten hatten Wunden, die aufgrund ihrer Bestehensdauer als chronische Wunden eingestuft wurden, darunter u.a. diabetisches Fußsyndrom, chronisches Ulcus, Osteomyelitis, Phlegmone, Sacraldecubitus. (Abb. 24-28) Am häufigsten betroffen, hinsichtlich der Lokalisation, war der Fuß; wie bei acht Patienten der Fall: der Vorfuß war dreimal betroffen, zweimal die Achillessehne, weiters das Fersenbein, der Außenknöchel sowie die Fußsohle. Ein Patient hatte einen Sacraldecubitus III-IV°. Es bestand auch eine deutliche Variation hinsichtlich der Größe. Die kleinste Wunde hatte eine Fläche von 4x4cm, die größte etwa 20x20cm. (Beschreibung der Wunde, Tabl. 5)

Tabl. 4. Demographische Daten

	Alter	m/w	Raucher	PY	Diabetiker	Antibiotikum
VAC01	71	m	nein		nein	ja (Cefuroxim seit 7d)
VAC02	77	m	Exraucher	50py	ja (TypII)	ja (Cefepim, seit 8d)
VAC03	27	m	Exraucher	5py	nein	ja (Flucloxacillin, Aztreonam seit 4d)
VAC04	49	m	nein		ja (TypII)	nein
VAC05	67	m	nein		ja (TypII)	ja (Clindamycin, Ciprofloxacin seit 14d)
VAC06	57	m	ja	30py	ja (TypII)	ja (Tazonam, Clavamox seit 3d)
VAC07	44	m	nein		nein	ja (Augmentin, Levofloxacin seit 6d)
VAC08	60	m	ja	10py	nein	ja (Linezolid >1Monat)
VAC09	59	m	ja	32py	nein	ja (Cefuroxim seit 2Monate)

Tabl. 5. Beschreibung der Wunden Teil 1

	Art der Wunde	Dauer der Wunde	Lokalisation der Wunde	Größe der Wunde
VAC01	Weichteildefekt nach Fraktur	3 Wochen	Vorfuß re dorsal	10x6cm
VAC02	Diabetisches Fußsyndrom	>1a	Achillessehne links	5x7cm
VAC03	Pyoderma gangraenosum	4d	Fuß Außenknöchel li+re	9x7, re 14x10cm
VAC04	Phlegmone/ akuter Infekt	2 Wochen	li Vorfuß	10x8cm
VAC05	posttraumatisch chron. Ulcus	4 Monate	li Vorfuß 3.Strahl	5x5cm
VAC06	Phlegmone	8 Monate	plantar	5x5cm
VAC07	Osteomyelitis	>3 Monate	Fersenbein links	4x4cm
VAC08	Wundheilungsstörung nach Achillessehnenplastik	>3 Monate	Achillessehne links	5x2cm
VAC09	Sacraldekubitus III-IV	>6 Monate	sacral	20x20



Abb. 24. Wunde VAC01: Weichteildefekt nach Fraktur



Abb. 25. Wunde VAC01: Angebrachter Unterdruckverband



Abb. 26. Wunde VAC01: Angebrachtes Zwischenstück mit bereits gesammeltem Wundsekret



Abb. 27. Wunde VAC03: Pyoderma gangraenosum mit nekrotischen Sehnen



Abb. 28. Wunde VAC05: chronisches Ulcus

Acht der neun Wunden wurden als blutig beschrieben, was dadurch begründet ist, dass vor Anlage eines Unterdruckverbandes die Wundfläche „angefrischt“ wurde, solange bis nekrotisches, fibrinöses Gewebe entfernt wurde und Blutungen auf der Wundfläche auftraten. Fünf Wunden wurden als serumhältig und vier als eitrig beschrieben. Nekrosen konnten bei allen neun Wunden beobachtet werden, bei sieben waren diese sowohl am Rand der Wunde, als auch in der Wundmitte. Bei einem Patienten war zusätzlich nekrotisches Gewebe am Muskel und an den Sehnen zu erkennen. In sieben Fällen beurteilte der Operateur die Wunde als entzündet, bei fünf als infiziert und bei einem zusätzlich als schlecht heilend. (Beschreibung der Wunde, Tabl. 6)

Die Verweildauer der Unterdrucktherapie variierte zwischen drei bis sechs Tagen, durchschnittlich verblieb der Verband für vier Tage bis er abgenommen und die Wunde evaluiert werden konnte. Bei acht von neun Patienten wurde der VAC-Schwamm „GranuFoamTM“ als Füllmaterial verwendet, bei einem Patienten „KerlixTM“. Der Sog wurde entweder auf -125mmHg oder auf -75mmHg eingestellt. Nur in einem Fall musste

der initial gewählte Sog von -75mmHg nach zwei Tagen auf -50mmHg reduziert werden, da der Patient Schmerzen angab. (Tabl. 7. Vacuum assisted closure)

Tabl. 6. Beschreibung der Wunden Teil 2

	Beschreibung der Wunde	Geruch ja/nein	Nekrose	Zustand der Wunde
VAC01	blutig	nein	Rand und Mitte der Wunde	Entzündung
VAC02	serumhältig	nein	Wundbasis	Entzündung, schlecht heilend
VAC03	serumhältig, blutig	nein	Rand und Mitte der Wunde, Sehne und Muskel	Entzündung
VAC04	blutig, eitrig	ja	Rand und Mitte der Wunde	Infektion
VAC05	serumhältig, blutig	nein	Rand und Mitte der Wunde	Entzündung, Infektion
VAC06	serumhältig, blutig, geringgradig eitrig	ja	Rand und Mitte der Wunde	Entzündung, Infektion
VAC07	blutig, eitrig	ja	Rand und Mitte der Wunde	Infektion
VAC08	blutig	nein	Rand	Entzündung
VAC09	serumhältig, blutig, eitrig	ja	Rand und Mitte der Wunde	Entzündung, Infektion

Tabl. 7. Vacuum assisted closure

	Dauer der NPWT	Füllmaterial	Sog
VAC01	6d	„GranuFoam TM “	-125mmHg
VAC02	3d	„GranuFoam TM “	-75mmHg
VAC03	3d	„GranuFoam TM “	-125mmHg
VAC04	4d	„GranuFoam TM “	-125mmHg
VAC05	3d	„Kerlix TM “	initial -75mmHg, nach 2d -50mmHg
VAC06	4d	„GranuFoam TM “	-75mmHg
VAC07	4d	„GranuFoam TM “	-125mmHg
VAC08	6d	„GranuFoam TM “	-75mmHg
VAC09	3d	„GranuFoam TM “	-125mmHg

Ein mikrobiologischer Abstrich wurde jeweils zu Beginn der VAC-Therapie und am Ende/bzw. beim Wechsel entnommen und am Institut für Hygiene, Mikrobiologie und Umweltmedizin ausgewertet. (Tabl. 8) Am Tag der VAC-Anlage konnte bei fünf Patienten kein Keim nachgewiesen werden. Drei Patienten hatten mehr als einen Keim zum Zeitpunkt der ersten Abstrichentnahme. Die Keimsituation von vor der VAC-Anlage zu nachher veränderte sich nur gering. Patienten, die vorher einen Keim in der Wunde hatten, hatten nachher auch einen, ebenso blieb bei sauberen Wunden (vorher keimfrei), die Wunde nachher auch keimfrei. Von diesem Schema wichen nur zwei Patienten ab. Bei Patient 1 konnte vor der VAC-Anlage kein Keim nachgewiesen werden, danach konnte ein *Enterococcus faecalis* angezüchtet werden. Hier ist jedoch zu bedenken, dass es von diesem Bakterium sowohl pathogene, als auch apathogene Stämme gibt. Der gleiche Keim, *Enterococcus faecalis* wurde auch bei Patient 5 gefunden, hier jedoch nur vor der VAC-Anlage. Nach Beendigung dieser konnte kein Keimwachstum nachgewiesen werden.

Tabl. 8. Keime

	kein	Ba	E.c	Pr	Pseu	Ent	Staph	Strept	Ach	Bre	MRSA
VAC01 t0	x										
VAC01						x					
VAC02 t0	x										
VAC02							x				
VAC03 t0	x										
VAC03	x										
VAC04 t0					x						
VAC04					x			x			
VAC05 t0						x	x	x			
VAC05	x										
VAC06 t0	x										
VAC06							x				
VAC07 t0					x	x			x		
VAC07						x		x		x	
VAC08 t0	x										
VAC08	x										
VAC09 t0		x	x	x	x						x
VAC09		x	x	x	x	x					

Abkürzungen Tabl. 8

kein = kein Keimwachstum nachweisbar
Ba = Bacteroides spp.
E.c. = Escherichia coli
Pr = Proteus spp.
Pseu = Pseudomonas spp.
Ent = Enterococcus spp.
Staph = Staphylococcus spp.
Strept = Streptococcus spp.
Ach = Achromobacter spp.
Bre = Brevundimonas diminuta

5.2. Gewinnen der Wundflüssigkeit während laufender Unterdrucktherapie

Primäre Fragestellung:

Ist es möglich mit dem Zwischenstück, Wundsekret während laufender Unterdrucktherapie zu gewinnen, und kann diese Flüssigkeit analysiert werden und somit eine Auskunft über den Zustand der Wunde unterhalb des Verbandes gegeben werden?

Bei acht von neun Patienten war es problemlos möglich Wundsekret während laufender Unterdrucktherapie zu gewinnen. Das Behältnis wurde täglich getauscht und darin war jeweils genug Wundflüssigkeit um eine biochemische Analyse durchzuführen. Die gesammelte Menge an Sekret variierte stark, sowohl unter den Patienten, als auch bei einem Patienten an verschiedenen Tagen. Das System des VAC-Gerätes gab keine Fehlermeldung aufgrund des Zwischenstückes an. Wenn alarmiert wurde, konnte der Grund in einem undichten Folienverband gefunden werden.

Bei einem Patienten hingegen war im Zwischenstück an allen drei Tagen, wo ein Tausch stattgefunden hat, nur glasklare Flüssigkeit vorhanden.

5.3. Analyse der Wundflüssigkeit biochemisch anhand von Enzymen

Sekundäre Fragestellung:

Kann die Wundflüssigkeit, die mittels des Zwischenstückes während der Unterdrucktherapie gewonnen wird, biochemisch anhand von Enzymen so analysiert

werden, sodass eine Aussage über den Zustand der Wunde vorzeitig getroffen werden kann, wie eine Art Frühinfektionsdiagnostiktool? Ist es somit möglich, eine Verlaufskontrolle der Wunde anhand von Wundflüssigkeiten zu erhalten?

Gemessen wurden der Swab zu Beginn der VAC-Anlage sowie das Wundsekret in den Zwischenstücken. Aus den Behältnissen mit Wundflüssigkeit wurde 10µl von der Probe in die Lösung des Essays gegeben. Dieser Essay ist für jedes Enzym ein anderer. Das Substrat wird umgesetzt und es kommt zur Produktion von Farbstoffen. Diese Farbstoffe können mit einem Fotometer gemessen werden. Die Steigung wird abgelesen und ist gleichzeitig ein Maß für die Aktivität. In den nachfolgenden Tabellen 10-12 wird mit der Beschriftung $\Delta\text{Abs}/\text{min}$ die Änderung der Absorption pro Minute bezeichnet, was gleich der Steigung ist. Die Steigungen sind gemittelt aus dreifach Messungen, inklusive der daraus berechneten Sd und RSD. Sd ist die Standardabweichung und RSD % beschreibt die relative Standardabweichung in %. Die negativen Steigungen der Lysozymmessungen wurden mit -1 multipliziert um positive Werte zu erhalten. Negative Steigungen wurden mit 0 U/ml gleichgesetzt. Die Steigungen wurden nicht leerwertkorrigiert. Der Verdünnungsfaktor mit dem das Ergebnis multipliziert wurde ist als „f“ angegeben. Blank (Leerwert) ist die Reaktionslösungs-Negativkontrolle, d.h. NaCl reagiert mit der Reaktionslösung und ist gemittelt aus allen vermessenen Negativkontrollen. Die Abkürzung n/a steht für nicht auswertbar. Bei den Swab Proben wurde der Verdünnungsfaktor 10 eingesetzt.

Für die Erstellung der Grafiken 1-5 wurde jeweils U/ml verwendet. Die Umrechnung dazu findet sich in Tabl. 9.

Tabl. 9. Umrechnungstabelle – Unit (U) Definition

Enzymaktivität in U/ml Enzymlösung bzw. Probe:

ELA:

1 Unit entspricht ΔAbs 405nm/min von 0,1 bei pH 7,5 und 25°C

LYS

1 Unit entspricht ΔAbs 450nm/min von 0,1 bei pH 6,5 und 25°C

MPO

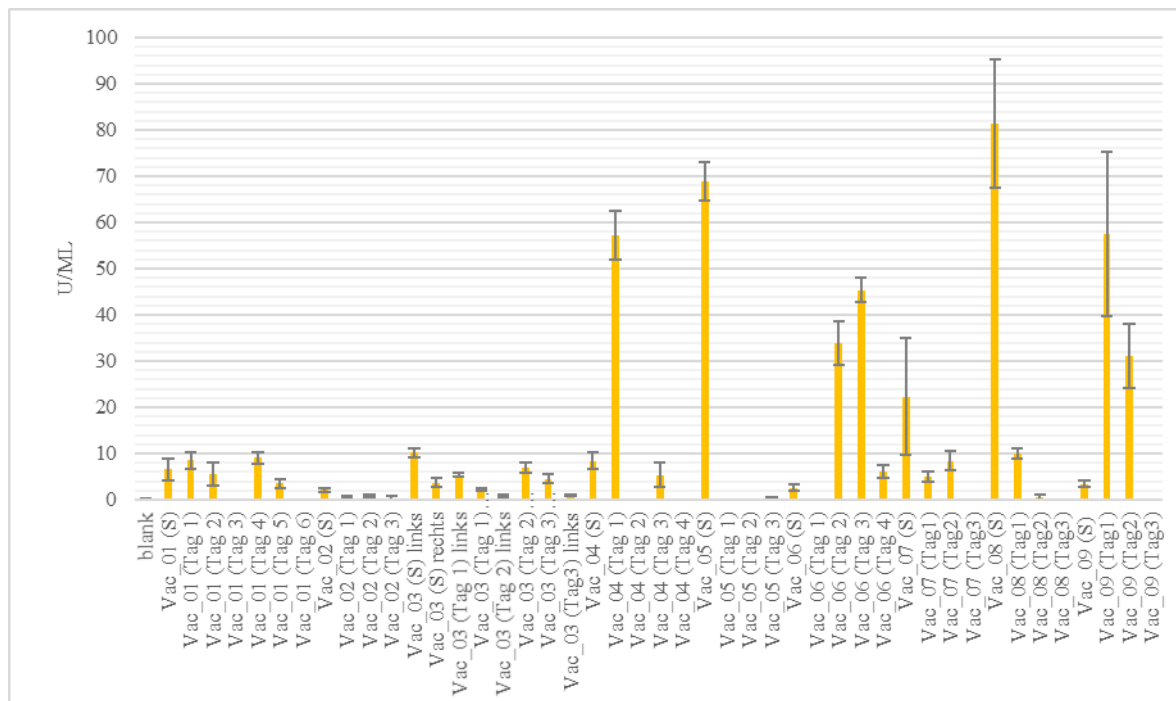
1 Unit entspricht ΔAbs 470nm/min von 0,1 bei pH 7,0 und 25°C

Tabl. 10. Enzymaktivität Elastase

VAC	Ela				
Extern	Δ Abs/min *f	sd*f	U/ml	sd	RSD%
blank	1,55E-04	8,40E-05	0,16	0,08	54,12
Vac_01 (S)	6,58E-03	2,37E-03	6,58	2,37	35,95
Vac_01 (Tag 1)	8,46E-03	1,86E-03	8,46	1,86	21,93
Vac_01 (Tag 2)	5,57E-03	2,43E-03	5,57	2,43	43,54
Vac_01 (Tag 3)	-1,78E-04	1,23E-03	0,00	0,00	0,00
Vac_01 (Tag 4)	9,04E-03	1,16E-03	9,04	1,16	12,88
Vac_01 (Tag 5)	3,46E-03	1,01E-03	3,46	1,01	29,30
Vac_01 (Tag 6)	-6,09E-03	6,30E-03	0,00	0,00	0,00
Vac_02 (S)	2,14E-03	4,17E-04	2,14	0,42	19,49
Vac_02 (Tag 1)	5,33E-04	2,11E-04	0,53	0,21	39,58
Vac_02 (Tag 2)	7,05E-04	3,10E-04	0,71	0,31	44,00
Vac_02 (Tag 3)	3,61E-04	3,43E-04	0,36	0,34	95,01
Vac_03 (S) links	1,01E-02	1,05E-03	10,13	1,05	10,31
Vac_03 (S) rechts	3,72E-03	1,08E-03	3,72	1,08	29,12
Vac_03 (Tag 1) links	5,27E-03	4,31E-04	5,27	0,43	8,18
Vac_03 (Tag 1) rechts	2,09E-03	2,67E-04	2,09	0,27	12,78
Vac_03 (Tag 2) links	7,44E-04	2,44E-04	0,74	0,24	32,79
Vac_03 (Tag 2) rechts	6,86E-03	1,13E-03	6,86	1,13	16,50
Vac_03 (Tag 3) rechts	4,50E-03	9,34E-04	4,50	0,93	20,75
Vac_03 (Tag3) links	8,14E-04	1,44E-04	0,81	0,14	17,62
Vac_04 (S)	8,39E-03	1,77E-03	8,39	1,77	21,08
Vac_04 (Tag 1)	5,73E-02	5,28E-03	57,27	5,28	9,22
Vac_04 (Tag 2)	-1,85E-03	9,87E-03	0,00	0,00	0,00
Vac_04 (Tag 3)	5,38E-03	2,72E-03	5,38	2,72	50,55
Vac_04 (Tag 4)	-1,03E-03	6,13E-03	0,00	0,00	0,00
Vac_05 (S)	6,89E-02	4,04E-03	68,88	4,04	5,87
Vac_05 (Tag 1)	2,22E-05	3,49E-05	0,02	0,03	157,50
Vac_05 (Tag 2)	-1,30E-06	5,69E-05	0,00	0,00	0,00
Vac_05 (Tag 3)	1,53E-04	2,87E-04	0,15	0,29	187,82
Vac_06 (S)	2,61E-03	6,89E-04	2,61	0,69	26,40
Vac_06 (Tag 1)	-2,41E-03	1,16E-03	0,00	0,00	0,00
Vac_06 (Tag 2)	3,39E-02	4,74E-03	33,86	4,74	14,00
Vac_06 (Tag 3)	4,54E-02	2,63E-03	45,38	2,63	5,79

Vac_06 (Tag 4)	6,03E-03	1,39E-03	6,03	1,39	23,09
Vac_07 (S)	2,23E-02	1,27E-02	22,26	12,69	57,03
Vac_07 (Tag1)	5,08E-03	1,08E-03	5,08	1,08	21,22
Vac_07 (Tag2)	8,35E-03	2,09E-03	8,35	2,09	25,00
Vac_07 (Tag3)	-3,13E-04	1,39E-03	0,00	0,00	0,00
Vac_08 (S)	8,15E-02	1,39E-02	81,45	13,94	17,11
Vac_08 (Tag1)	9,90E-03	1,10E-03	9,90	1,10	11,16
Vac_08 (Tag2)	5,43E-04	4,66E-04	0,54	0,47	85,76
Vac_08 (Tag3)	-1,04E-04	1,53E-03	0,00	0,00	0,00
Vac_09 (S)	3,37E-03	6,53E-04	3,37	0,65	19,36
Vac_09 (Tag1)	5,75E-02	1,79E-02	57,46	17,86	31,09
Vac_09 (Tag2)	3,11E-02	7,01E-03	31,12	7,01	22,53
Vac_09 (Tag3)	-3,97E-04	7,88E-04	0,00	0,00	-198,36

Graf. 1. Enzymaktivität Elastase



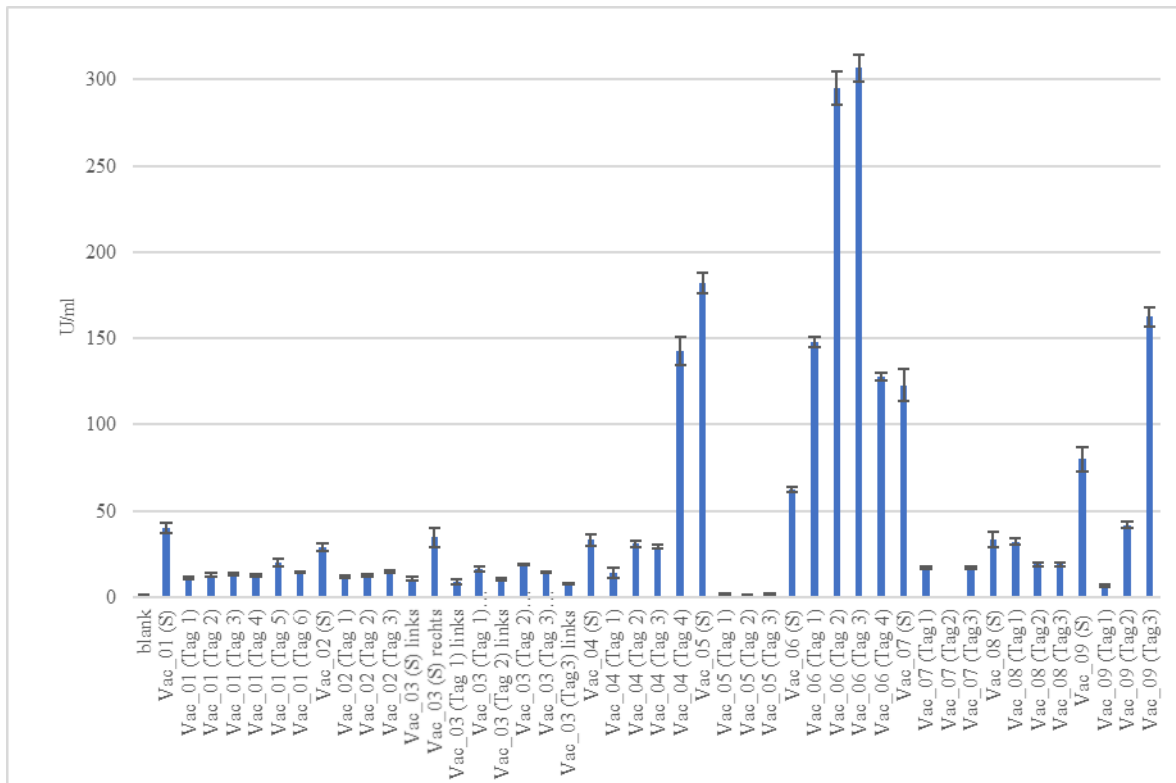
Tabl. 11. Enzymaktivität Lysozyme

VAC	Lys					
	Extern	Δ Abs/min *f	sd*f	U/ml	sd	RSD%
blank		1,23E-03	4,57E-04	1,23	0,46	37,22
Vac_01 (S)		3,98E-02	2,98E-03	39,81	2,98	7,48
Vac_01 (Tag 1)		1,14E-02	6,89E-04	11,37	0,69	6,06

Vac_01 (Tag 2)	1,30E-02	1,09E-03	12,99	1,09	8,39
Vac_01 (Tag 3)	1,33E-02	4,65E-04	13,28	0,47	3,50
Vac_01 (Tag 4)	1,25E-02	6,69E-04	12,51	0,67	5,35
Vac_01 (Tag 5)	1,98E-02	2,19E-03	19,79	2,19	11,05
Vac_01 (Tag 6)	1,48E-02	3,92E-04	14,83	0,39	2,65
Vac_02 (S)	2,90E-02	2,35E-03	29,00	2,35	8,12
Vac_02 (Tag 1)	1,16E-02	7,34E-04	11,57	0,73	6,34
Vac_02 (Tag 2)	1,28E-02	9,08E-04	12,80	0,91	7,09
Vac_02 (Tag 3)	1,45E-02	7,40E-04	14,50	0,74	5,10
Vac_03 (S) links	1,05E-02	1,05E-03	10,51	1,05	10,01
Vac_03 (S) rechts	3,46E-02	5,74E-03	34,64	5,74	16,58
Vac_03 (Tag 1) links	9,00E-03	1,45E-03	9,00	1,45	16,13
Vac_03 (Tag 1) rechts	1,64E-02	1,48E-03	16,41	1,48	9,00
Vac_03 (Tag 2) links	1,05E-02	6,60E-04	10,54	0,66	6,26
Vac_03 (Tag 2) rechts	1,89E-02	4,01E-04	18,91	0,40	2,12
Vac_03 (Tag 3) rechts	1,45E-02	3,43E-04	14,53	0,34	2,36
Vac_03 (Tag3) links	7,62E-03	5,04E-04	7,62	0,50	6,62
Vac_04 (S)	3,32E-02	3,23E-03	33,22	3,23	9,71
Vac_04 (Tag 1)	1,41E-02	2,79E-03	14,09	2,79	19,81
Vac_04 (Tag 2)	3,09E-02	1,92E-03	30,94	1,92	6,19
Vac_04 (Tag 3)	2,92E-02	1,17E-03	29,25	1,17	4,01
Vac_04 (Tag 4)	1,43E-01	8,22E-03	142,89	8,22	5,76
Vac_05 (S)	1,82E-01	5,79E-03	182,00	5,79	3,18
Vac_05 (Tag 1)	1,54E-03	3,79E-04	1,54	0,38	24,60
Vac_05 (Tag 2)	1,44E-03	3,08E-04	1,44	0,31	21,33
Vac_05 (Tag 3)	1,86E-03	4,16E-04	1,86	0,42	22,38
Vac_06 (S)	6,24E-02	1,52E-03	62,43	1,52	2,44
Vac_06 (Tag 1)	1,48E-01	2,98E-03	147,61	2,98	2,02
Vac_06 (Tag 2)	2,95E-01	9,75E-03	295,15	9,75	3,31
Vac_06 (Tag 3)	3,07E-01	7,86E-03	306,70	7,86	2,56
Vac_06 (Tag 4)	1,28E-01	1,88E-03	127,81	1,88	1,47
Vac_07 (S)	1,23E-01	9,32E-03	122,68	9,32	7,60
Vac_07 (Tag1)	1,71E-02	9,14E-04	17,10	0,91	5,35
Vac_07 (Tag2)	3,76E-05	1,07E-05	0,04	0,01	28,48
Vac_07 (Tag3)	1,71E-02	7,80E-04	17,15	0,78	4,55
Vac_08 (S)	3,36E-02	4,35E-03	33,59	4,35	12,94

Vac_08 (Tag1)	3,22E-02	1,89E-03	32,17	1,89	5,87
Vac_08 (Tag2)	1,91E-02	1,02E-03	19,12	1,02	5,32
Vac_08 (Tag3)	1,91E-02	1,09E-03	19,09	1,09	5,72
Vac_09 (S)	7,99E-02	6,95E-03	79,95	6,95	8,69
Vac_09 (Tag1)	6,60E-03	6,62E-04	6,60	0,66	10,03
Vac_09 (Tag2)	4,19E-02	1,68E-03	41,86	1,68	4,01
Vac_09 (Tag3)	1,62E-01	5,67E-03	162,50	5,67	3,49

Graf. 2. Enzymaktivität Lysozyme



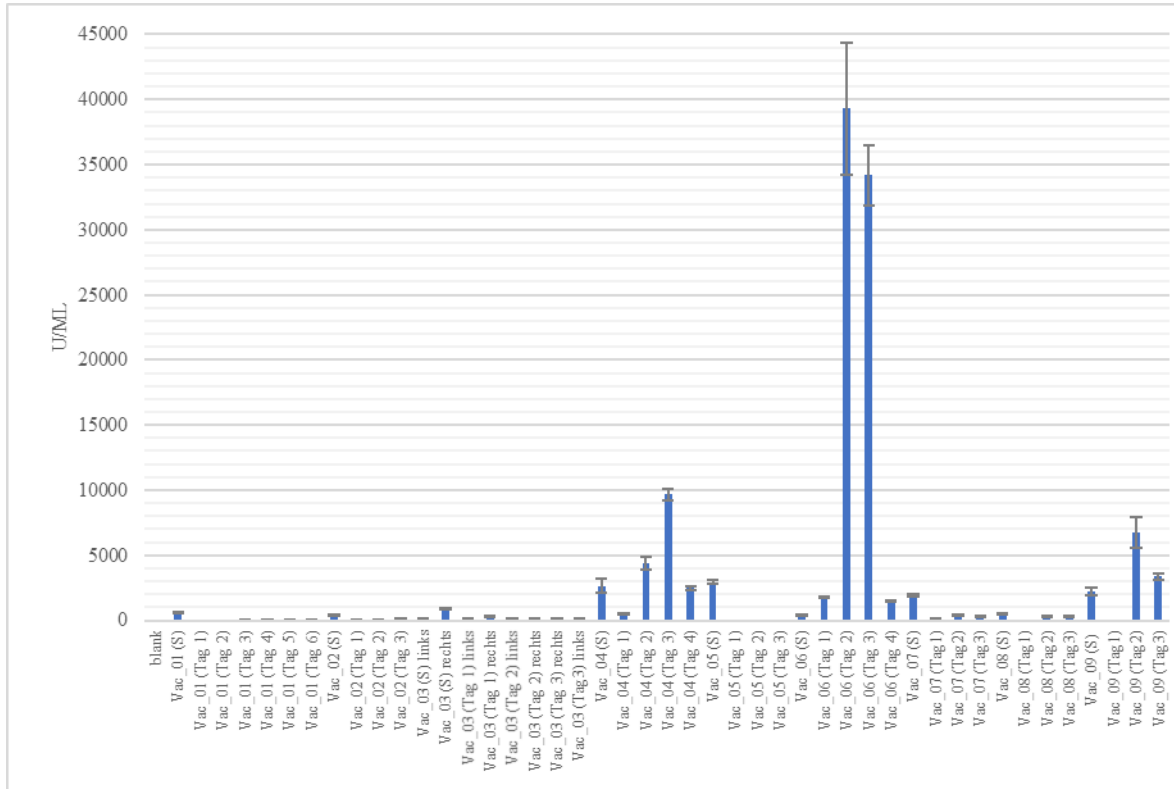
Tabl. 12. Enzymaktivität Myeloperoxidase

VAC	MPO				
Extern	Δ Abs/min *f	sd*f	U/ml	sd	RSD%
blank	7,69E-05	2,84E-04	0,08	0,28	368,66
Vac_01 (S)	6,24E-01	4,92E-02	623,97	49,21	7,89
Vac_01 (Tag 1)	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
Vac_01 (Tag 2)	-1,50E-02	4,98E-03	0,00	0,00	0,00
Vac_01 (Tag 3)	1,85E-02	4,06E-03	18,51	4,06	21,92
Vac_01 (Tag 4)	2,16E-02	4,25E-02	21,58	42,45	196,75
Vac_01 (Tag 5)	7,00E-02	8,21E-03	70,02	8,21	11,72

Vac_01 (Tag 6)	6,10E-03	1,70E-02	6,10	16,98	278,21
Vac_02 (S)	4,24E-01	4,83E-02	424,05	48,33	11,40
Vac_02 (Tag 1)	2,61E-02	4,62E-03	26,12	4,62	17,68
Vac_02 (Tag 2)	3,27E-02	6,19E-03	32,71	6,19	18,93
Vac_02 (Tag 3)	9,62E-02	5,42E-03	96,20	5,42	5,63
Vac_03 (S) links	1,20E-01	1,12E-02	120,30	11,21	9,32
Vac_03 (S) rechts	8,88E-01	3,62E-02	888,15	36,21	4,08
Vac_03 (Tag 1) links	9,18E-02	1,24E-02	91,76	12,44	13,56
Vac_03 (Tag 1) rechts	3,36E-01	1,92E-02	335,86	19,16	5,71
Vac_03 (Tag 2) links	1,49E-01	1,03E-02	148,58	10,33	6,96
Vac_03 (Tag 2) rechts	1,71E-01	1,72E-02	171,08	17,24	10,07
Vac_03 (Tag 3) rechts	1,32E-01	6,43E-03	131,77	6,43	4,88
Vac_03 (Tag3) links	1,31E-01	6,65E-03	131,16	6,65	5,07
Vac_04 (S)	2,65E+00	5,16E-01	2653,46	516,21	19,45
Vac_04 (Tag 1)	5,25E-01	5,96E-02	525,39	59,64	11,35
Vac_04 (Tag 2)	4,42E+00	4,89E-01	4420,25	488,62	11,05
Vac_04 (Tag 3)	9,65E+00	4,22E-01	9652,71	422,35	4,38
Vac_04 (Tag 4)	2,50E+00	1,62E-01	2495,05	162,04	6,49
Vac_05 (S)	2,94E+00	1,27E-01	2941,74	126,74	4,31
Vac_05 (Tag 1)	1,50E-04	8,61E-05	0,15	0,09	57,50
Vac_05 (Tag 2)	1,55E-04	4,00E-05	0,15	0,04	25,85
Vac_05 (Tag 3)	1,00E-04	1,90E-04	0,10	0,19	189,19
Vac_06 (S)	4,54E-01	9,51E-03	454,39	9,51	2,09
Vac_06 (Tag 1)	1,75E+00	2,54E-02	1754,69	25,40	1,45
Vac_06 (Tag 2)	3,93E+01	5,11E+00	39294,38	5106,40	13,00
Vac_06 (Tag 3)	3,42E+01	2,27E+00	34176,74	2273,27	6,65
Vac_06 (Tag 4)	1,49E+00	2,62E-02	1487,29	26,22	1,76
Vac_07 (S)	1,94E+00	6,80E-02	1936,18	68,04	3,51
Vac_07 (Tag1)	1,48E-01	2,72E-02	147,66	27,18	18,41
Vac_07 (Tag2)	3,89E-01	8,70E-03	389,01	8,70	2,24
Vac_07 (Tag3)	3,41E-01	3,20E-02	340,70	31,99	9,39
Vac_08 (S)	5,37E-01	2,47E-02	536,60	24,69	4,60
Vac_08 (Tag1)	-4,23E-02	1,79E-02	0,00	0,00	0,00
Vac_08 (Tag2)	2,86E-01	2,69E-02	286,42	26,92	9,40
Vac_08 (Tag3)	3,38E-01	1,84E-02	338,31	18,38	5,43
Vac_09 (S)	2,22E+00	2,71E-01	2220,69	271,32	12,22

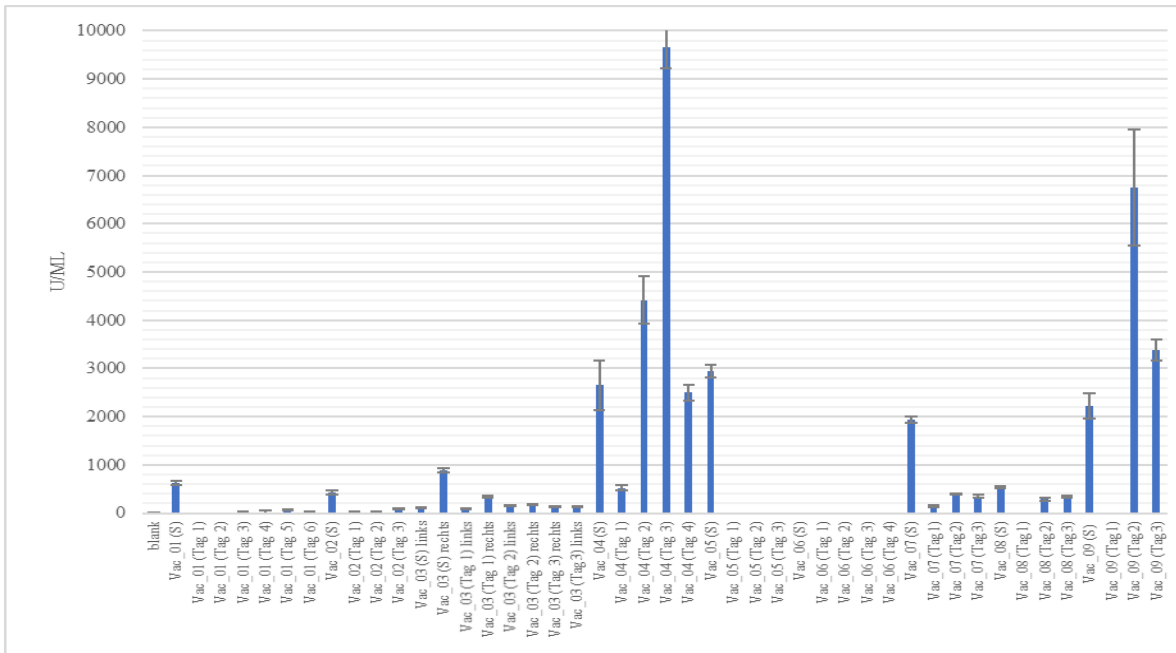
Vac_09 (Tag1)	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
Vac_09 (Tag2)	6,75E+00	1,20E+00	6745,57	1201,70	17,81
Vac_09 (Tag3)	3,37E+00	2,22E-01	3373,85	222,48	6,59

Graf. 3. Enzymaktivität Myeloperoxidase aller Patienten

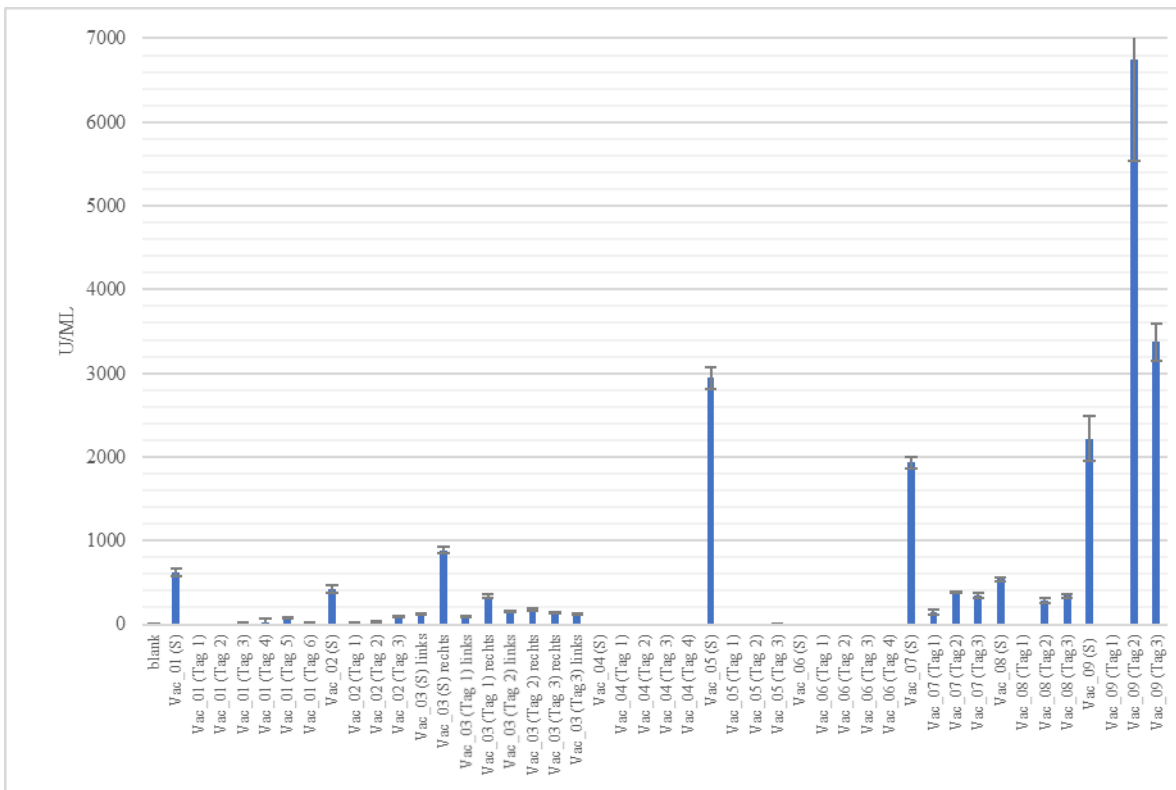


Mit Verwendung einer anderen Skalierung der Achse U/ml wird auch die Aktivität bei den anderen Patienten besser ablesbar. Um diese andere Skalierung wählen zu können, wurde bei der Graf. 4 VAC06 herausgelöscht. Bei der Graf. 5 zusätzlich zu VAC06, VAC04.

Graf. 4. Enzymaktivität MPO ohne VAC06



Graf. 5. Enzymaktivität MPO ohne VAC04 und VAC06



5.4. Cut-offs der biochemischen Analyse zur Beurteilung einer Infektion

Um eine Aussage treffen zu können, ob anhand der biochemischen Analyse einer Probe eine Infektion angezeigt werden kann oder nicht, wurden cut-offs mithilfe der Ergebnisse einer vorherigen Studie bestimmt. Bei dieser Studie wurden ebenfalls Swabs biochemisch in den Laboren von Qualizyme Diagnostics GmbH ausgewertet, jedoch wurden die Ergebnisse hierzu noch nicht publiziert.

Tabl. 13. Cut-offs. Ermittelt aus einer vorangegangenen Studie

Ela	Lys	MPO
<i>ΔAbs/min</i>	<i>ΔAbs/min</i>	<i>ΔAbs/min</i>
7,80E-03	2,80E-02	4,26E-01
<i>U/ml</i>	<i>U/ml</i>	<i>U/ml</i>
7,80	28,00	426,00

In Tabl. 13 sind die Werte angegeben, die, ermittelt aus der vorangegangenen Studie, als cut-offs zwischen infiziert und nicht-infiziert, unterscheiden sollen. In den oben angeführten Tabellen 10-12 wurden nun mit rot jene Werte unterlegt, die über dem cut-off liegen. In weiterer Folge wurde der binärische Code 1=über cut-off und 0=unter cut-off vergeben. (Tabl. 14) Wenn bei zwei Enzymen der cut-off Wert überschritten werden konnte, so erfolgt die Beurteilung nach biochemischer Analyse als infiziert. Dies ist in Tabl. 14, in der Spalte Beurt. mit 0=nicht infiziert bzw. 1=infiziert bezeichnet.

Tabl. 14. Binärischer Code für Infektion bzw. keine Infektion

VAC	Ela	Lys	MPO	gesamt	Beurt.
blank	0	0	0	0	0
Vac_01 (S)	0	1	1	2	1
Vac_01 (Tag 1)	1	0	n/a	1	0
Vac_01 (Tag 2)	0	0	0	0	0
Vac_01 (Tag 3)	0	0	0	0	0
Vac_01 (Tag 4)	1	0	0	1	0
Vac_01 (Tag 5)	0	0	0	0	0
Vac_01 (Tag 6)	0	0	0	0	0
Vac_02 (S)	0	1	0	1	0

Vac_02 (Tag 1)	0	0	0	0	0
Vac_02 (Tag 2)	0	0	0	0	0
Vac_02 (Tag 3)	0	0	0	0	0
Vac_03 (S) links	1	0	0	1	0
Vac_03 (S) rechts	0	1	1	2	1
Vac_03 (Tag 1) links	0	0	0	0	0
Vac_03 (Tag 1) rechts	0	0	0	0	0
Vac_03 (Tag 2) links	0	0	0	0	0
Vac_03 (Tag 2) rechts	0	0	0	0	0
Vac_03 (Tag 3) rechts	0	0	0	0	0
Vac_03 (Tag3) links	0	0	0	0	0
Vac_04 (S)	1	1	1	3	1
Vac_04 (Tag 1)	1	0	1	2	1
Vac_04 (Tag 2)	0	1	1	2	1
Vac_04 (Tag 3)	0	1	1	2	1
Vac_04 (Tag 4)	0	1	1	2	1
Vac_05 (S)	1	1	1	3	1
Vac_05 (Tag 1)	0	0	0	0	0
Vac_05 (Tag 2)	0	0	0	0	0
Vac_05 (Tag 3)	0	0	0	0	0
Vac_06 (S)	0	1	1	2	1
Vac_06 (Tag 1)	0	1	1	2	1
Vac_06 (Tag 2)	1	1	1	3	1
Vac_06 (Tag 3)	1	1	1	3	1
Vac_06 (Tag 4)	0	1	1	2	1
Vac_07 (S)	1	1	1	3	1
Vac_07 (Tag1)	0	0	0	0	0
Vac_07 (Tag2)	1	0	0	1	0
Vac_07 (Tag3)	0	0	0	0	0
Vac_08 (S)	1	1	1	3	1
Vac_08 (Tag1)	1	1	0	2	1
Vac_08 (Tag2)	0	0	0	0	0
Vac_08 (Tag3)	0	0	0	0	0
Vac_09 (S)	0	1	1	2	1
Vac_09 (Tag1)	1	0	1	2	1
Vac_09 (Tag2)	1	1	1	3	1

Vac_09 (Tag3)	0	1	1	2	1
---------------	---	---	---	---	---

5.5. Vergleich von klinischer Beurteilung, Mikrobiologie und biochemischer Analyse

Die Beurteilung des/der behandelnden Arztes/Ärztin, der Mikrobiologie sowie der biochemischen Analyse werden hinsichtlich der Fragestellung verglichen, ob eine Wunde als infiziert (grün unterlegt in Tabl. 15) eingestuft wird oder nicht (rot unterlegt in Tabl. 15). Um biochemisch als infiziert eingestuft zu werden, müssen zwei der drei Enzyme in ihrer Aktivität eine Erhöhung darstellen. (Tabl. 14) Die klinische Einschätzung des/der Arztes/Ärztin wird nach Aussehen der Wunde und nach klinischer Erfahrung getroffen. Ob mikrobiologisch eine Infektion vorliegt, ist abhängig von den sich in der Wunde befindenden Keimen. (Tabl. 8) D.h. wenn sich Hautkeime, wie z.B. Straphylococcus epidermidis, in der Wunde befinden, wird nicht davon ausgegangen, dass es sich um eine Wundinfektion handelt.

In sechs von neun Fällen ist in allen drei Kategorien ein gleiches Ergebnis erzielt worden.

Tabl. 15. Beurteilung Infektion/keine Infektion

Patient ID	Infektion +/- (klin. Beurt.)	Essay (Ela/Lys/MPO)	Keimwachstum Abstrich 1/Abstrich2	Antibiotikum
Vac01	-	(+)	-/+	+
Vac02	-	-	-/-	+
Vac03	-	(+)	-/-	+
Vac04	+	+	+/+	-
Vac05*	+	+	+/-	+
Vac06	+	+	-/+	+
Vac07	+	(+)	+/+	+
Vac08	-	+	-/-	+
Vac09	+	+	+/+	+

* = nur klare Flüssigkeit im VAC, Swab +

+ = wenn an zwei oder mehreren Tagen mit (1) bewertet

(+) = wenn nur an einem Tag mit (1) bewertet bzw. knapp am cut-off Wert

5.6. pH-Wert

Zur Beurteilung des pH-Wertes wurde das Wundsekret aus dem Zwischenstück, bzw. der Swab des ersten Tages auf einen Streifen aufgetragen und anhand von Farbveränderungen der pH-Wert beurteilt. Zeigte sich eine Farbveränderung in Richtung grün, gelb, orange oder rot, so verändert sich der pH-Wert in den sauren Bereich. Wird der Farbumschlag hingegen eher türkis, blau oder violett, so bedeutet dies, dass die Probe basisch ist. In Tabl. 16 wurden die einzelnen Proben (aufgetragen auf einen Indikatorstreifen), eingeteilt in pH-Wert unter 7 (sauer) oder über 7 (basisch). Die Bewertung der Essays, ob infiziert oder nicht infiziert, wurde aus Tabl. 14 übernommen und ist somit abhängig von der Enzymaktivität von Lysozymen, Elastase und Myeloperoxidase, nicht von dem pH-Wert.

Tabl. 16. pH-Werte

Beschriftung	Beschriftung der Bilder	< pH 7 >	Bewert. Essays
Vac_01 (S)	Vac01	<	1
Vac_01 (Tag 1)	Vac03	>	0
Vac_01 (Tag 2)	Vac04	>	0
Vac_01 (Tag 3)	Vac05	>	0
Vac_01 (Tag 4)	Vac09	>	0
Vac_01 (Tag 5)	Vac10	>	0
Vac_01 (Tag 6)	Vac11	>	0
Vac_02 (S)	Vac02	<	0
Vac_02 (Tag 1)	Vac06	>	0
Vac_02 (Tag 2)	Vac07	>	0
Vac_02 (Tag 3)	Vac08	>	0
Vac_03 (S) links	Vac12	<	0
Vac_03 (S) rechts	Vac13	<	1
Vac_03 (Tag 1) links	Vac14	>	0
Vac_03 (Tag 1) rechts	Vac15	>	0
Vac_03 (Tag 2) links	Vac16	>	0
Vac_03 (Tag 2) rechts	Vac17	>	0
Vac_03 (Tag 3) rechts	Vac19	>	0
Vac_03 (Tag3) links	Vac18	>	0
Vac_04 (S)	Vac20	<	1
Vac_04 (Tag 1)	Vac21	>	1

Vac_04 (Tag 2)	Vac22	>	1
Vac_04 (Tag 3)	Vac23	>	1
Vac_04 (Tag 4)	Vac25	>	1
Vac_05 (S)	Vac24	<	1
Vac_05 (Tag 1)*	Vac26	<	0
Vac_05 (Tag 2)*	Vac27	<	0
Vac_05 (Tag 3)*	Vac28	<	0
Vac_06 (S)	Vac29	<	1
Vac_06 (Tag 1)	Vac30	>	1
Vac_06 (Tag 2)	Vac31	>	1
Vac_06 (Tag 3)	Vac32	>	1
Vac_06 (Tag 4)	Vac33	<	1
Vac_07 (S)	Vac34	>	1
Vac_07 (Tag1)	Vac35	>	0
Vac_07 (Tag2)	Vac36	>	0
Vac_07 (Tag3)	Vac37	>	0
Vac_08 (S)	Vac38	<	1
Vac_08 (Tag1)	Vac39	>	1
Vac_08 (Tag2)	Vac42	>	0
Vac_08 (Tag3)	Vac43	>	0
Vac_09 (S)	N_Vac21	<	1
Vac_09 (Tag1)	Vac40	>	1
Vac_09 (Tag2)	Vac41	>	1
Vac_09 (Tag3)	Vac44	>	1

1 infiziert

0 nicht infiziert

* VAC klare Flüssigkeit

N_VAC... non – VAC (Swab-Abstrichentnahme bei Patienten/Patientinnen ohne VAC-Therapie)

In den nachfolgenden Abbildungen (Abb. 29-36) sieht man die Farbveränderungen der einzelnen Proben. In Abb. 29 sieht man jene Veränderungen, die entstehen, wenn eine Lösung mit bekanntem pH-Wert, mit dem Indikatorstreifen in Kontakt gebracht wird. Die Beschriftung der Abbildungen 30-35 und deren Zuordnung zu den Patienten sind aus Tabl. 16 zu entnehmen.

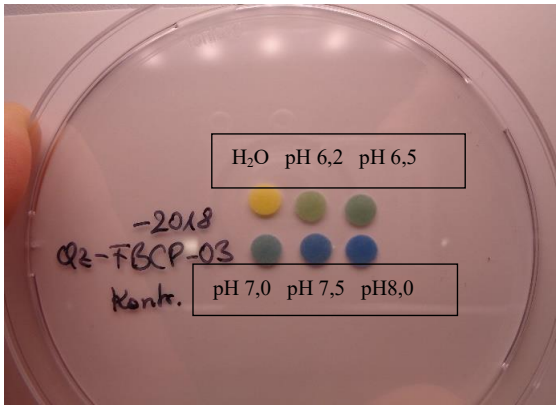


Abb. 29. pH-Werte Referenz

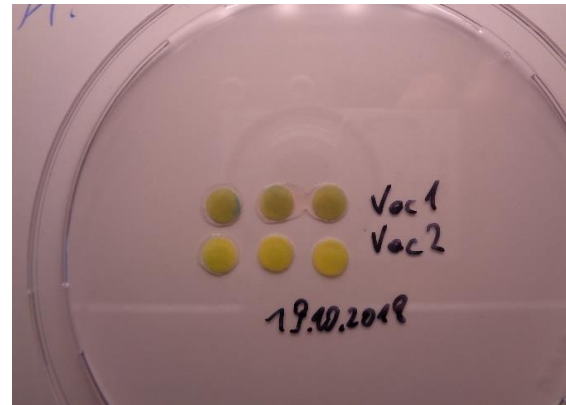


Abb. 30. pH-Werte VAC01/VAC02

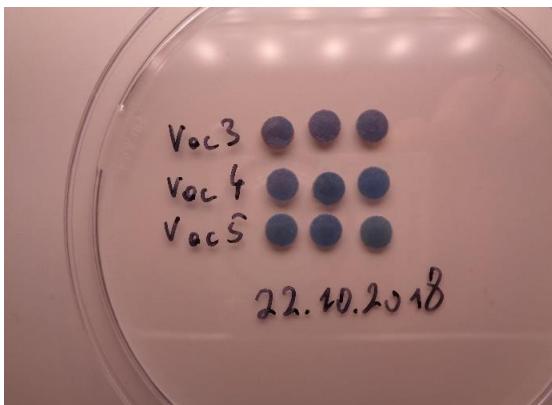


Abb. 31. pH-Werte VAC01

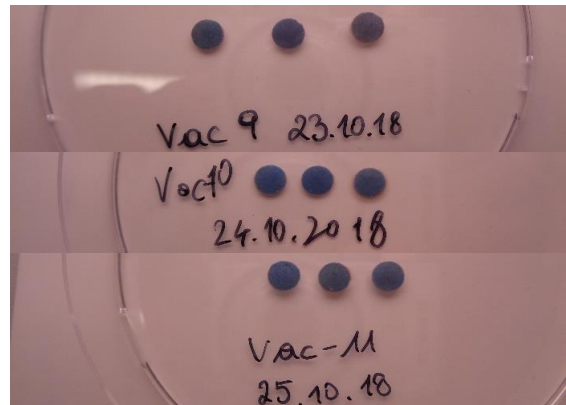


Abb. 32. pH-Werte VAC01

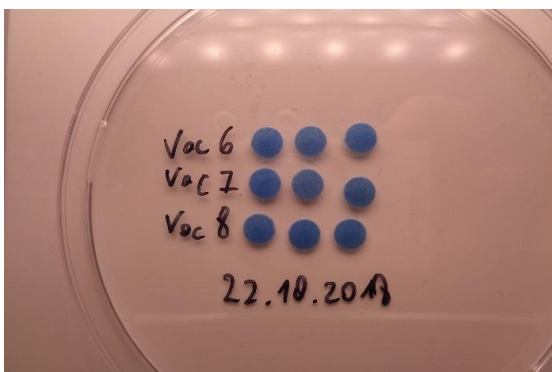


Abb. 33. pH-Werte VAC02

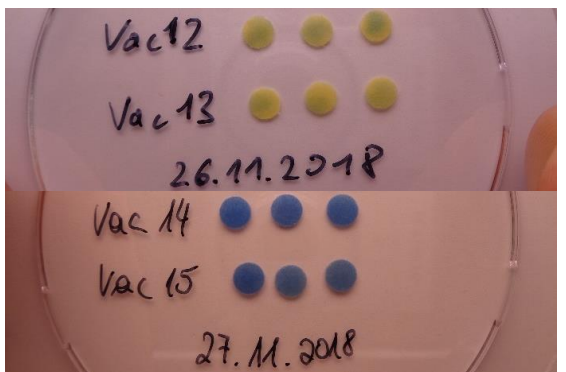


Abb. 34. pH-Werte VAC03

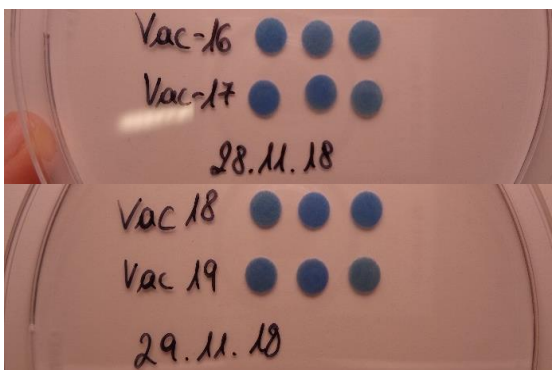


Abb. 35. pH-Werte VAC03

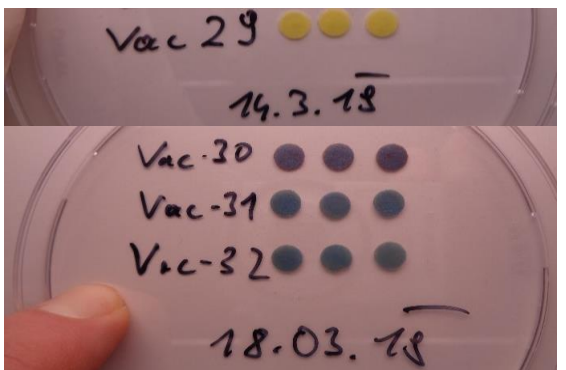


Abb. 36. pH-Werte VAC06

6. Diskussion

6.1. Zwischenstück

In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass mittels eines Zwischenstückes, welches in den Verbindungsschlauch des VAC-Verbandes eingebaut wird, Wundsekret während laufender Unterdrucktherapie gesammelt werden kann. Bei acht von neun Patienten funktionierte dies ohne Probleme, sodass die gewonnene Wundflüssigkeit biochemisch analysiert werden konnte.

In der Literatur konnte bisher nichts gefunden werden, wo ein ähnlicher Mechanismus, hinsichtlich des Auffangens des Wundsekrets während laufender VAC-Therapie, beschrieben wurde. Darin liegt auch der große Mehrwert dieser Studie. Mithilfe dieser Wundflüssigkeit kann ein Einblick in die Wundsituation unter dem VAC-Füllmaterial (VAC-Schwamm oder Gaze) gewährleistet und bei Auftreten von Veränderungen, frühzeitig reagiert werden. Bisher bleibt die Wundsituation unter dem Verband für den Zeitraum bis der nächste VAC-Wechsel, meist im OP, angesetzt ist, unbemerkt. In dieser Zeit kann sich eine Wunde verschlechtern, ohne dass man rechtzeitig eine adäquate Intervention setzt.

In der Anfangszeit der VAC-Therapie-Etablierung wurden Kanister ohne Geleinlagen verwendet. Somit wären diese Kanister geeignet gewesen, um die Wundflüssigkeit zu analysieren. Mittlerweile sind jedoch nur mehr Kanister mit Gelbeuteln vorhanden, da damit ein Auslaufschutz, der möglicherweise kontaminierten Wundflüssigkeit gewährleistet ist.

Cagnoni et al untersuchten 2016 in einer Studie das Mediastinalwundsekret von Patienten/Patientinnen mit tiefen sternalen Wundinfektionen. Hierfür wurden einerseits Wundabstriche („eSwabTM“, der Firma Copan) entnommen, Mediastinalsekret aspiriert, sowie Flüssigkeit aus dem NPWT-Kanister verwendet. Um die Flüssigkeit aus dem Kanister zu erhalten, wurde der Kanister von dem unterdruckerzeugenden Gerät entfernt und anschließend unter sterilen Bedingungen geöffnet. Mithilfe einer Spritze mit großer Nadel wurde das Gel von der Rückseite des Behälters, durch ein kleines Fenster, abgesaugt. Nach Aufbereitung konnte diese gewonnene Wundflüssigkeit analysiert werden [133].

Der Nachteil dieser Methode verglichen mit jener, in unserer Studie angewandten, ist der, dass hierfür der Kanister abgenommen und nach Entnahme der Probe gegen einen Neuen ausgetauscht werden muss. Hingegen bietet das Zwischenstück ein unkompliziertes sowie schnelleres und einfacher durchführbares Handling. Der VAC-Kanister kann belassen werden und es muss einzig das Zwischenstück heruntergeschraubt und gegen ein anderes ausgetauscht werden.

6.2. „Kerlix™“ (Gaze) als Füllmaterial – VAC05

Bei acht Patienten konnte die Wundflüssigkeit während der Unterdrucktherapie problemlos gewonnen werden. Der tägliche Wechsel des Zwischenstückes enthielt genug Sekret, sodass eine biochemische Analyse durchgeführt werden konnte. Die Sogstärken lagen hier entweder bei -75mmHg oder -125mmHg. Das gewählte Füllmaterial war Polyurethanschwamm. Eine Ausnahme stellte jedoch Patient 5 dar. Ein Patient mit einem posttraumatischen chronischen Ulcus am linken Vorfuß bei bekanntem Diabetes Mellitus Typ II. Es wurde ein operatives Debridement durchgeführt. Anschließend wurde „Kerlix™“ (Polyhexanid Baumwollgaze) als Füllmaterial der Unterdrucktherapie angelegt und ein initialer Sog von -75mmHg wurde eingestellt. Aufgrund zunehmender Schmerzen wurde in der Nacht nach der Operation der Sog auf -50mmHg reduziert. Bei den täglichen Wechseln der Zwischenstücke, an drei aufeinanderfolgenden Tagen, konnte erkannt werden, dass in dem Behälter („Argyle™ Specimen Trap“) nur wenige Tropfen klare Flüssigkeit gesammelt waren. Dies war sowohl von Tag 1 auf Tag 2, von Tag 2 auf Tag 3 und von Tag 3 auf Tag 4 erkennbar. Makroskopisch erhielt man den Eindruck, dass es sich bei dieser Flüssigkeit um Kondenswasser handelte. Dieser primäre Verdacht wurde mittels der enzymatischen Auswertung bestätigt. Hier konnten keinerlei Enzyme ermittelt werden. Weiters wurde auch beobachtet, dass in dem Kanister, der am unterdruckerzeugenden Gerät als Auffangbehältnis dient, kein Wundsekret zu finden war. Ebenso war auch das Gel, welches sich in dem Kanister befindet, in einem unveränderten Zustand, wie bei der Neuanlage des Verbandes.

Eine Begründung, warum bei diesem Patienten kein Wundsekret gefördert wurde und somit weder in dem Zwischenstück noch in dem Kanister gesammelt werden konnte, wurde von Timmers et al beschrieben. Bei hydrophilen Verbänden, wie Polyvinylalkoholschwämme oder Gaze („Kerlix™“) werden höhere negative Drücke

benötigt, als bei hydrophoben Verbänden (u.a. Polyurethan), da sie mehr Flüssigkeit zurückhalten [82].

Wird der Unterdruck zu niedrig gewählt, so kann das Wundsekret nicht abgesaugt werden, und verbleibt stattdessen im Wundbett. Dies wiederum beeinträchtigt den Heilungsprozess. Weiters können Entzündungsfaktoren in der Wundflüssigkeit das Zellwachstum und die Proliferation behindern, wodurch der positive Effekt der Unterdrucktherapie verloren geht [83][84].

Angesichts dieser Literaturstellen gehen wir davon aus, dass, wie soeben beschrieben, der zu niedrig gewählte Unterdruck, ursächlich für das Versagen der Wundsekretkollektion war. Es wäre zu erwarten, dass bei einem, für das Füllmaterial adäquaten Druck, auch bei „Kerlix™“ als Wundaufgabe, ein Wundsekret mit dem Zwischenstück gesammelt werden kann. Dies wäre interessant in Folgestudien zu untersuchen.

6.3. Enzyme

In einer Studie von 2015 führte Schiffer et al eine Studie durch, die als Vorstudie zu dieser angesehen werden kann. Hierbei wurden Wundabstriche von 95 Patienten/Patientinnen entnommen, ebenfalls pro Patient/Patientin zwei – eine zur biochemischen Auswertung (Enzyme) und die andere (mikrobiologische Analyse) als Kontrolle. Es wurden sowohl infizierte als auch nicht-infizierte Wunden untersucht. Für die biochemische Analyse wurde die Messung des totalen Proteininhaltes und der Enzymaktivität von MPO, HNE und LYS herangezogen.

Die Ergebnisse zeigten, dass die Kombination der Aktivität der drei Enzyme Infektionen identifizieren können, verglichen mit dem mikrobiologischen Ergebnis. Ein weiteres Resultat dieser Studie war, dass bei 85% der Wunden zwar die Mikrobiologie diese als infiziert beschrieben hat, nicht jedoch die Ärzte mittels klinischer Beurteilung; die drei Enzyme ermöglichten ebenfalls eine treffsichere Infektionsdiagnostik [101-103][125].

Der Unterschied dieser Studie im Vergleich mit der von Schiffer et al durchgeführten, liegt darin, dass nun Veränderungen einer Wunde im Verlauf über drei Tage bzw. drei Messzeitpunkte, untersucht wurden. Diese Form der Analyse mittels Enzyme liegt nach unserer Recherche bislang nicht vor. Dies jedoch würde einen großen Mehrwert in der Diagnostik von Wunden darstellen [125].

Der Unterschied dieser Studien verglichen mit der hier präsentierten, liegt darin, dass bisher nur Abstriche zu einem einzigen Zeitpunkt genommen wurden. Veränderungen in der Enzymkonzentration (MPO, Elastase, Lysozyme) auch über Tagen, könnte die Situation der Wunde im Verlauf anzeigen.

Die Enzymaktivität der Elastase konnte aus dem Wundsekret in dem Zwischenstück analysiert werden. Da die Elastase sehr stark reguliert wird, ist sie anfällig für diverse Bias. Einen möglichen Einfluss auf die Aktivität kann die Menge der Probe darstellen. Diese Menge variiert besonders in den Zwischenstücken sehr stark, so kann das 40ml-Behältnis voll sein, oder aber auch nur wenige Tropfen Wundflüssigkeit fassen. Eine Möglichkeit das Problem der unterschiedlichen Menge zu umgehen, könnte die Analyse des Proteingehalts bieten. Dadurch lässt sich die Verdünnung erkennen. Ist die Probe sehr stark verdünnt, so würde man sich auch eine verminderte Aktivität an Elastase erwarten, was bei der Interpretation der Elastase Enzymaktivität in Betracht gezogen werden muss. Ein weiterer Faktor der einen Einfluss auf die Enzymaktivität der Elastase hat, ist, dass Elastase zu unterschiedlichen Phasen der Wundinfektion anders reguliert wird und somit Schwankungen auftreten, die nicht beeinflussbar sind. Um diese Schwankungen in der Interpretation berücksichtigen zu können, muss dies in Folgestudien untersucht werden.

Ein weiterer möglicher Einflussfaktor auf die Aktivität der Elastase stellen Antibiotika dar. Devi et al [134] zeigten, dass beta-Laktam-Antibiotika (wie z.B. Penicilline, Cephalosporine, Carbapeneme, Monobactame) u.a. die humane neutrophile Elastase inhibieren. Gorrini et al [135] evaluierte, dass auch die Makrolidantibiotika, Erythromycin und Flurythromycin, ebenfalls die humane neutrophile Elastase inhibieren. Während Erythromycin als ein Inhibitor fungiert, inaktiviert Flurythromycin die Elastase. Dies wäre eine mögliche Erklärung für eine erniedrigte Enzymaktivität der Elastase bei vorliegender Infektion und muss somit bei der Interpretation der Aktivität in Betracht gezogen werden.

Die Möglichkeit anhand der Enzymaktivität der Myeloperoxidase bzw. des Lysozyms eine Wunde hinsichtlich ihres Infektionsstatus zu beurteilen, konnte bereits nachgewiesen werden [101][106]. In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass die Enzymaktivität der MPO im Falle einer Infektion sehr stark und auch sehr eindeutig ansteigt. Wichtig hierbei ist zu beachten, dass die Aktivität der Elastase, der Myeloperoxidase und des Lysozyms nicht zum selben Zeitpunkt ansteigen muss. Begründung hierfür ist, dass die Elastase, wie oben erwähnt, sehr stark reguliert und leichter durch andere Faktoren beeinflusst wird. Die

Lysozymaktivität hingegen ist relativ unbeeinflussbar von diversen Faktoren. Wann es zu dieser zeitlichen Verschiebung kommt, bzw. ob überhaupt, muss in weiteren Studien überprüft werden, um auch diesen Faktor bei der Interpretation der Enzymaktivitäten beachten zu können.

Die Interpretation der Tabelle „Beurteilung Infektion/keine Infektion“ lässt erkennen, dass sich die Meinungen der Ärzte/Ärztinnen, die Mikrobiologie und die biochemische Analyse nicht immer decken. In sechs von neun Fällen ist in allen drei Kategorien ein gleiches Ergebnis erzielt worden. Die für Fehler am anfälligste Methode um eine Infektion als solche zu bezeichnen, stellt die Einschätzung des/der Arztes/Ärztin dar. Um zu dem Ergebnis Infektion ja/nein zu kommen, wird neben den klassischen Entzündungszeichen (Überwärmung, Rötung, Schwellung, Schmerzen), auch der Geruch der Wunde, mögliche Nekrosen sowie die Wundfläche an sich (serumhaltig, blutig, eitrig, grünlich belegt, etc.) beurteilt. Diese Faktoren zusammen sollen schlussendlich bei der Beantwortung der Fragestellung Infektion ja/nein helfen. Dies wird von sehr vielen Faktoren beeinflusst, u.a. von der Erfahrung, von eventuellen Wundbelegen, aber auch vom Lichteinfluss. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass die klinische Einschätzung in sieben von neun Fällen mit dem Ergebnis der Mikrobiologie übereinstimmt.

Die mikrobiologische Analyse stellt den Goldstandard in der Beurteilung von Wunden dar. Befinden sich potentiell pathogene Keime in der Wunde, so wird entsprechend des AntibioGRAMMS mit einer antibiotischen Therapie begonnen. Somit stellt das mikrobiologische Ergebnis für diese Studie die Kontrolle, sowohl der klinischen Einschätzung als auch der biochemischen Analyse, dar.

Um nach biochemischer Analyse als Infektion bezeichnet zu werden, müssen zwei der drei Enzyme eine Aktivität anzeigen, die als Infektion interpretiert werden kann. Cut-offs, das bedeutet, ab welcher Enzymaktivität die Grenze zwischen Infektion oder nicht gezogen wird, sind bisher erst in Entwicklung; Publikationen dazu folgen. Dies bedeutet, dass das Ergebnis der biochemischen Analyse hinsichtlich Infektion ja/nein, zu diesem Zeitpunkt aus Einschätzung des biochemischen Labors erfolgt. Für statistisch begründete Aussagen müssen größere Fallzahlen an Abstrichen und Zwischenstücken analysiert und ausgewertet werden. Zu dem jetzigen Zeitpunkt stimmen die mikrobiologischen Ergebnisse mit jenen der biochemischen in sieben von neun Fällen überein. In einem Fall zeigten die Enzyme eine Infektion an, während hingegen in der mikrobiologischen Auswertung kein pathogener Keim gefunden werden konnte. Möglicherweise liegt hier der Vorteil der

Analyse der Enzymaktivität, was bedeutet, dass die Enzyme eine Infektion anzeigen können, bevor die Wunde besiedelt ist. Begründet dadurch, dass die Enzymaktivität von Elastase und MPO abhängig von den Entzündungszellen in der Wunde und nicht von Keimen sind.

Informationen hinsichtlich der Machbarkeit der Enzymaktivität als Infektionsbestimmung sind dahingehend von großer Bedeutung, da die Enzyme in Kombination mit dem Zwischenstück im VAC-System als ein Infektionsfrühdagnostiktool fungieren könnten. Mit dieser Studie konnte somit einerseits das Auffangen von Wundsekret während laufender Unterdrucktherapie, als auch eine Infektionsdiagnostik über mehrere Tage mittels Enzyme, gezeigt werden.

6.4. pH-Wert

Der pH-Wert kann, ebenso wie die Enzyme, zur Detektion von Infektionen behilflich sein. Es konnte bereits gezeigt werden, dass eine Änderung des pH-Wertes einen Rückschluss auf die aktuelle Wundsituation geben kann [130].

Veränderungen der Wundheilung können sich auf verschiedener Weise in pH-Wert Veränderungen widerspiegeln. Chronische bzw. infizierte Wunden mit einer hohen bakteriellen Belastung weisen pH-Werte über 7,3 auf. Hingegen sind bei akuten Wunden oder Wunden mit Nekrose bzw. Eiter, aber auch bei sich in Heilung befindenden chronischen Wunden, niedrigere pH-Werte zu finden. Es wird angenommen, dass die physiologische Azidose einen positiven Einfluss auf die Wundheilung hat, u.a. bedingt durch die Proliferation von Fibroblasten. Weiters hemmt ein azidotischer pH-Wert das Bakterienwachstum (humanpathogene Bakterien brauchen pH-Werte über 6; sollte der Wert darunterliegen, so wird das Wachstum gestoppt), reduziert die proteolytische Aktivität und führt zu mehr Sauerstoffversorgung. Im Gegenzug dazu konnte gezeigt werden, dass chirurgisches Debridement zu einer Verschiebung des pH-Wertes in den alkalischen Bereich führt [136-138].

In Tabl. 16 lassen sich relativ wenig Zusammenhänge von infiziert und nicht infiziert mit typischen oder erwartbaren pH-Wert-Veränderungen erkennen. Bemerkbar ist jedoch, dass bei acht von neun Patienten, die Swab Probe vom ersten Tag im azidotischen pH-Wert Bereich ist. Erklärbar kann dies durch den Proteingehalt sein. Bei einem Abstrich sind tendenziell wenig Proteine enthalten, und da Proteine den pH-Wert in den basischen

Bereich verschieben, würde dies den pH-Wert hier kleiner 7 erklären. Andererseits ist in den Zwischenstücken, die oft reichlich mit Wundsekret gefüllt sind, meist ein hoher Proteinanteil enthalten, was die pH-Werte über 7 rechtfertigen. Auch findet sich öfters ein basischer pH-Wert bei nicht-infizierten und ein pH-Wert unter 7 bei infizierten Proben (Sekret aus den Zwischenstücken).

6.5. Limitation

Aufgrund der geringen Fallzahl liegen Limitationen in dieser Arbeit vor. So müsste in Folgestudien überprüft werden, ob diese Ergebnisse, besonders die der Enzymaktivitäten, pH-Wert Veränderungen, auch in einem größeren Patientenkollektiv reproduzierbar sind. Mit einer größeren Fallzahl könnten auch statistisch aussagekräftige cut-off Werte zur Unterscheidung von infiziert/nicht-infiziert entwickelt werden. Ebenfalls müsste untersucht werden, ob Wundsekret bei „Kerlix™“ (Gaze) als Füllmaterial gesammelt werden kann, wenn, so wie wir annehmen, ein adäquater Druck gewählt wird.

7. Conclusio und Perspektive

Das Ziel dieser Studie war es, Erkenntnisse zu gewinnen, die im weiteren Schritt der Entwicklung eines Medizinproduktes dienen sollen. D.h. in dieser Studie wurden die Grundvoraussetzungen getestet, welche später das Medizinprodukt ergeben sollen. Diese Grundvoraussetzungen sind einerseits, das Gewinnen der Wundflüssigkeit aus dem VAC-Verband mit Hilfe von Zwischenstücken, andererseits soll die Technologie an sich verbessert und überprüft werden. Es soll die Frage beantwortet werden, ob die Enzymaktivitäten mit dem Infektionsverlauf, über mehrere Zeitpunkte korrelieren, verglichen mit dem Goldstandard der mikrobiologischen Analyse.

Endziel längerfristig ist es, dauerhaft ein Zwischenstück in das VAC-System zu integrieren, in welchem Indikatoren, mit den getesteten Enzymen, sind, die Auskunft geben, wie der Status der Wunde ist, bzw. ob der Verband gewechselt gehört oder nicht.

Es ist vorstellbar ein Zwischenstück zu entwickeln, welches wesentlich kleiner ist, als das jetzige Zwischenstück und welches mittels eines Schraubverschlusses in den Verbindungsschlauch hineingedreht wird. In diesem Zwischenstück könnten sich immobilisierte Enzyme auf einem Teststreifen befinden, die mittels Farbumschlag eine Infektion in der Wunde anzeigen können.

8. Literaturverzeichnis

1. Shah JB. The History of Wound Care. *J Am Col Certif Wound Spec.* 2011; 3(3):65-6. doi: 10.1016/j.jcws.2012.04.002
2. Broughton G, Janis JE, Attinger CE. A Brief History of Wound Care. *Plast Reconstr Surg.* 2006; 117(7 suppl):6S-11S. doi: 10.1097/01.prs.0000225429.76355.dd
3. Ryan GB, Majno G. Acute inflammation. A review. *Am J Pathol.* 1977; 86(1):183-276. PMID:64118
4. Punchard NA, Whelan CJ, Adcock I. *The Journal of Inflammation.* 2004; 1(1):1. doi: 10.1186/1476-9255-1-1
5. Cooper RA. Understanding wound infection. Identifying criteria for wound infection, Position Paper. EWMA. MEP Ltd. London. 2005.
6. Streit M, Mayer D, Traber J. Definitionen von Wunden: Akute und chronische Wunden. *Zeitschrift für Wundheilung.* 2008; (3):159-166. doi: 10.5167/uzh-16279
7. Bowler PG, Duerden BI, Armstrong DG. Wound Microbiology and Associated Approaches to Wound Management. *Clin Microbiol Rev.* 2001; 14(2): 244-269. doi: 10.1128/CMR.14.2.244-269.2001
8. Stilianakis NI, Drossinos Y. Dynamics of infectious disease transmission by inhalable respiratory droplets. *J R Soc Interface.* 2010; 7(50):1355-1366. doi: 10.1098/rsif.2010.0026
9. Budzynski AZ. Fibrinogen und fibrin: biochemistry and pathophysiology. *Crit Rev Oncol Hematol.* 1986; 6(2):97-146. PMID:2878736
10. Morton LM, Phillips TJ. Wound healing and treating wounds: Differential diagnosis and evaluation of chronic wounds. *J Am Acad Dermatol.* 2016; 74(4):589-605; quiz 605-6. doi: 10.1016/j.jaad.2015.08.068
11. Müller CH, Höfler G, Imhof BA, Holländer GA. Entzündung. In: Böcker W, Denk H, Heitz PhU, Höfler G, Kreipe H, Moch H, Hrsg. *Pathologie.* 5.Auflage. München: Elsevier GmbH; 2012; 71-73.
12. Wang PH, Huang BS, Horng HC, Yeh CC, Chen YJ. Wound healing. *J Chin Med Assoc.* 2018. 81(2):94-101. doi: 10.1016/j.jcma.2017.11.002

13. McDaniel J, Roy S, Wilgus TA. Neutrophil activity in chronic venous leg ulcers – A target for therapy? *Wound Repair Regen.* 2013; 21(3):339-51. doi: 10.1111/wrr.12036
14. Scholz S. Chronische Wunden [Internet] in OGDC.o.J. [zitiert am 13.09.2018]. URL: http://www.oegdc.at/pat_chronische_wunden.html#frage1
15. Mast BA, Schultz GS. Interactions of cytokines, growth factors, and proteases in acute and chronic wounds. *Wound Repair Regen.* 1996; 4(4):411-20. doi: 10.1046/j.1524-475X.1996.40404.x
16. Shah JM, Omar E, Pai DR, Sood S. Cellular events and biomarkers of wound healing. *Indian J Plast Surg.* 2012; 45(2):220-8. doi: 10.4103/0970-0358.101282
17. Trengove NJ, Bielefeldt-Ohmann H, Stacey MC. Mitogenic activity and cytokine levels in non-healing and healing chronic leg ulcers. *Wound Repair Regen.* 2000; 8(1):13-25. PMID: 10760211
18. Ladwig GP, Robson MC, Liu R, Kuhn MA, Muir DF, Schultz GS. Ratios of activated matrix metalloproteinase-9 to tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in wound fluids are inversely correlated with healing of pressure ulcers. *Wound Repair Regen.* 2002. 10(1):26-37. PMID: 11983004
19. Yager DR, Zhang LY, Liang HX, Diegelmann RF, Cohen IK. Wound fluids from human pressure ulcers contain elevated matrix metalloproteinase levels and activity compared to surgical wound fluids. *J Invest Dermatol.* 1996; 107(5):743-8. doi: 10.1111/1523-1747.ep12365637
20. Swezey L. The Difference between Acute and Chronic Wounds. [Internet] in: *Wound Source.* [zitiert am 27.10.2018]. URL: <https://www.woundsource.com/blog/difference-between-acute-and-chronic-wounds>
21. Zhao R, Liang H, Clarke E, Jackson C, Xue M. Inflammation in Chronic Wounds. *Int J Mol Sci.* 2016; 17(12):2085. doi: 10.3390/ijms17122085
22. Fonder MA, Lazarus GS, Cowan DA, Aronson-Cook B, Kohli AR, Mamelak AJ. Treating the chronic wound: A practical approach to the care of nonhealing wounds and wound care dressings. *J Am Acad Dermatol.* 2008; 58(2):185-206. doi: 10.1016/j.jaad.2007.08.048
23. Demidova-Rice TN, Hamblin MR, Herman IM. Acute and impaired wound healing: pathophysiology and current methods for drug delivery, part 1: normal and chronic wounds: biology, causes, and approaches to care. *Adv Skin Wound Care.* 2012; 25(7):304-14. doi: 10.1097/01.ASW.0000416006.55218.d0

24. Trent JT, Falabella A, Eaglstein WH, Kirsner RS. Venous ulcers: pathophysiology and treatment options. *Ostomy Wound Manage.* 2005; 51(5):38-54; quiz 55-6. PMID: 16014984
25. Grey JE, Harding KG, Enoch S. Venous and arterial leg ulcers. *BMJ.* 2006; 332(7537):347-50. doi: 10.1136/bmj.332.7537.347
26. Bonham PA. Assessment and management of patients with venous, arterial, and diabetic/neuropathic lower extremity wounds. *AACN Clin Issues.* 2003; 14(4):442-56; quiz 548-50. PMID: 14595203
27. Fowkes FG, Rudan D, Rudan I, Aboyans V, Denenberg JO, McDermott MM, et al. Comparison of global estimates of prevalence and risk factors for peripheral artery disease in 2000 and 2010: a systematic review and analysis. *Lancet.* 2013; 382(9901):1329-40. doi: 10.1016/S0140-6736(13)61249-0
28. Reddy M. Pressure ulcers. *BMJ Clin Evid.* 2011. PMID: 21524319
29. Bansal C, Scott R, Stewart D, Cockerell CJ. Decubitus ulcers: a review of the literature. *Int J Dermatol.* 2005; 44(10):805-10. doi: 10.1111/j.1365-4632.2005.02636.x
30. Diabetes: was ist das? [Internet]. 2018 [zitiert am 03.02.2019]. URL: <https://www.gesundheit.gv.at/krankheiten/stoffwechsel/diabetes/was-ist-das>
31. Glaudemans AWMJ, Uckay I, Lipsky BA. Challenges in diagnosing infection in the diabetic foot. *Diabet. Med.* 2015; 32(6):748-59. doi: 10.1111/dme.12750
32. Murphy-Lavoie HM, Singh S. Diabetic Foot Infections. *StatPearls* [Internet]. 2019. PMID: 28722943
33. Izadi K, Ganchi P. Chronic Wounds. *Clin Plast Surg.* 2005; 32(2):209-22. doi: 10.1016/j.cps.2004.11.011
34. Gordillo GM, Sen CK. Revisiting the essential role of oxygen in wound healing. *Am J Surg.* 2003; 186(3):259-63. doi: 10.1016/s0002-9610(03)00211-3
35. Dow G, Browne A, Sibbald RG. Infection in chronic wounds: controversies in diagnosis and treatment. *Ostomy Wound Manage.* 1999; 45(8):23-7, 29-40; quiz 41-2. PMID: 10655866
36. Diabetes [Internet]. 12.04.2018 [zitiert am 10.02.2019]. URL: https://www.sozialministerium.at/site/Gesundheit/Krankheiten_und_Impfen/Krankheiten/Diabetes

37. Jensen JA, Goodson WH, Hopf HW, Hunt TK. Cigarette smoking decreases tissue oxygen. *Arch Surg.* 1991; 126(9):1131-4. doi: 10.1001/archsurg.1991.01410330093013
38. Feistritzer G. Wundreport 2015. So steht es um die Wundversorgung in Österreich. Initiative Wund?Gesund! [Internet]. 30.09.2015 [zitiert am 10.02.2019]. URL: https://wund-gesund.at/site/assets/files/1085/wundreport_2015_so_steht_es_um_die_wundversorgung_in_oesterreich.pdf
39. Järbrink K, Ni G, Sönnergren H, Schmidtchen A, Pang C, Bajpai R, et al. The humanistic and economic burden of chronic wounds: a protocol for a systematic review. *Syst Rev.* 2017; 6(1):15. doi: 10.1186/s13643-016-0400-8
40. Posnett J, Franks PJ. The burden of chronic wounds in the UK. *Nurs Times.* 2008; 104(3):44-5. PMID: 18293879
41. Phillips CJ, Humphreys I, Fletcher J, Harding K, Chamberlain G, Macey S. Estimating the costs associated with the management of patients with chronic wounds using linked routine data. *Int Wound J.* 2016; 13(6):1193-1197. doi: 10.1111/iwj.12443
42. Gesundheitsausgaben in Österreich. Statistik Austria. [Internet]. 18.06.2019 [zitiert am 17.07.2019]. URL: https://www.statistik.at/web_de/statistiken/menschen_und_gesellschaft/gesundheit/gesundheitsausgaben/index.html
43. Wang C, Schwaitzberg S, Berliner E, Zarin DA, Lau J. Hyperbaric oxygen for treating wounds: a systematic review of the literature. *Arch Surg.* 2003; 138(3):272-9. doi: 10.1001/archsurg.138.3.272
44. Andrade SM, Santos IC. Hyperbaric oxygen therapy for wound care. *Rev Gaucha Enferm.* 2016; 37(2):e59257. doi: 10.1590/1983-1447.2016.02.59257
45. Arnold M, Barbul A. Nutrition and wound healing. *Plast Reconstr Surg.* 2006; 117(7 Suppl):42S-58S. doi: 10.1097/01.prs.0000225432.17501.6c
46. Wernick B, Stanislaw SP. Impaired Wound Healing. *Stat Pearls.* 2019. PMID: 29489281
47. Powers JG, Higham C, Broussard K, Phillips TJ. Wound healing and treating wounds: Chronic wound care and management. *J Am Acad Dermatol.* 2016; 74(4):607-25; quiz 625-6. doi: 10.1016/j.jaad.2015.08.070

48. Blake FA, Abromeit N, Bubenheim M, Li L, Schmelzle R. The biosurgical wound debridement: experimental investigation of efficiency and practicability. *Wound Repair Regen.* 2007; 15(5):756-61. doi: 10.1111/j.1524-475X.2007.00298.x
49. Hinman CD, Maibach H. Effect of air exposure and occlusion on experimental human skin wounds. *Nature.* 1963; 200:377-8. doi: 10.1038/200377a0
50. Rovee DT, Kurowsky CA, Labun J. Local Wound Environment and Epidermal Healing. *Arch Dermatol.* 1972; 106(3):330-334. doi: 10.1001/archderm.1972.01620120018003
51. Argenta LC, Morykwas MJ. Vacuum-assisted closure: a new method for wound control and treatment: clinical experience. *Ann Plast Surg.* 1997; 38(6):563-76; discussion 577. PMID: 9188971
52. Edwards R, Harding KG. Bacteria and wound healing. *Curr Opin Infect Dis.* 2004; 17(2):91-6. PMID: 15021046
53. Robson MC. Wound infection. A failure of wound healing caused by an imbalance of bacteria. *Surg Clin North Am.* 1997; 77(3):637-50. doi: 10.1016/s0039-6109(05)70572-7
54. Cooper R, Kingsley A, White R. Wound infection and microbiology. *Medical Communications.* Ltd for Johnson & Johnson Medical. UK. 2003.
55. Cooper R, Lawrence JC. The isolation and identification of bacteria from wounds. *J Wound Care.* 1996; 5(7):335-340.
56. Kashha AM, Zailai AH, Alsaadi WS, Almutawa RY, Albarakati MH, Almhadi AH, et al. Causes and Management of Wound Infection. *The Egyptian Jour of Hospital Medicine.* 2017; 68(3):1436-1441. doi: 10.12816/0039686
57. Bowler PG, Duerden BI, Armstrong DG. Wound microbiology and associated approaches to wound management. *Clin Microbiol Rev.* 2001; 14(2):244-69. doi: 10.1128/CMR.14.2.244-269.2001
58. Krankheitserreger. AGES [Internet]. [zitiert am 17.06.2018]. URL: <https://www.ages.at/themen/krankheitserreger/#results>
59. Spear M. Acute or chronic? What's the difference? *Plast Surg Nurs.* 2013; 33(2):98-100. doi: 10.1097/PSN.0b013e3182965e94
60. James GA, Swogger E, Wolcott R, Pulcini ED, Secor P, Sestrich J, et al. Biofilms in chronic wounds. *Wound Repair Regen.* 2008; 16(1):37-44. doi: 10.1111/j.1524-475X.2007.00321.x

61. Feierl G, Buzina W, Masoud-Landgraf L. Resistenzbericht 2018. Diagnostik- & Forschungsinstitut für Hygiene, Mikrobiologie und Umweltmedizin. [Internet]. 2018 [zitiert am 02.07.2019] URL: <https://hygiene.medunigraz.at/diagnostik/mikrobiologie/erreger-und-resistenzstatistik/>
62. Steenvoorde P, van Engeland A, Oskam J. Vacuum-assisted closure therapy and oral anticoagulation therapy. *Plast Reconstr Surg.* 2004; 113(7):2220-1. doi: 10.1097/01.prs.0000123603.32963.11
63. Gwan-Nulla DN, Casal RS. Toxic shock syndrome associated with the use of the vacuum-assisted closure device. *Ann Plast Surg.* 2001; 47(5):552-4. doi: 10.1097/00000637-200111000-00014
64. Willy C, Schmidt R, Gerngroß H. Das Prinzip der Vakuumtherapie. In: Willy C, Hrsg. *Die Vakuumtherapie. Grundlagen, Indikationen, Fallbeispiele, praktische Tipps.* 1. Auflage. Ulm. 2005; 4.
65. Morykwas MJ, Argenta LC, Shelton-Brown EI, McGuirt W. Vacuum-assisted closure: a new method for wound control and treatment: animal studies and basic foundation. *Ann Plast Surg.* 1997; 38(6):553-62. doi: 10.1097/00000637-199706000-00001
66. Huang C, Leavitt T, Bayer LR, Orgill DP. Effect of negative pressure wound therapy on wound healing. *Curr Probl Surg.* 2014; 51(7):301-31. doi: 10.1067/j.cpsurg.2014.04.001
67. Willy C, Friemert B. Technische Grundlagen – Sogerzeuger/Schwämme. In: Willy C, Hrsg. *Die Vakuumtherapie. Grundlagen, Indikationen, Fallbeispiele, praktische Tipps.* 1. Auflage. Ulm. 2005; 23-33.
68. Willy C, Schmidt R, Gerngroß H. Das Prinzip der Vakuumtherapie. In: Willy C, Hrsg. *Die Vakuumtherapie. Grundlagen, Indikationen, Fallbeispiele, praktische Tipps.* 1. Auflage. Ulm. 2005; 6.
69. Nuutila K, Yang L, Broomhead M, Proppe K, Eriksson E. Novel negative pressure wound therapy device without foam or gauze is effective at -50mmHg. *Wound Repair Regen.* 2018; 27(2):162-9. doi: 10.1111/wrr.3
70. Isago T, Nozaki M, Kikuchi Y, Honda T, Nakazawa H. Effects of different negative pressures on reduction of wounds in negative pressure dressings. *J Dermatol.* 2003; 30(8):596-601. PMID: 12928528

71. Isago T, Nozaki M, Kikuchi Y, Honda T, Nakazawa H. Negative-pressure dressings in the treatment of pressure ulcers. *J Dermatol.* 2003; 30(4):299-305. PMID: 12707466
72. Maier D, Beck A, Kinzl L, Bischoff M. Physikalische Untersuchungen zur Vakuumtherapie. *Zentralbl Chir.* 2005; 130(5):463-468. doi: 10.1055/s-2005-836850
73. V.A.C. Therapie. Klinische Richtlinien. Eine Referenzquelle für Ärzte [Internet]. [zitiert am 23.02.2019]. URL: <https://www.acelity.com/-/media/Project/Acelity/Acelity-Base-Sites/shared/PDF/2-b-128-emea-dea-vac-clinical-guidelines-de.pdf>
74. KERLIX™ AMD Wundverband gerollt [Internet]. [zitiert am 23.02.2019]. URL: <https://www.sanismart.de/praxisbedarf-op/verbandstoffe/kompressionsbinden/kerlix-amd-wundverband-gerollt-11-4-cm-x-3-7-m/a-3702>
75. Fleischmann W, Russ M, Westhauser A, Stampehl M. Vacuum sealing as carrier system for controlled local drug administration in wound infection. *Unfallchirurg.* 1998; 101(8):649-54. PMID: 9782769
76. Willy C. Indikationen und Kontraindikationen. In: Willy C, Hrsg. *Die Vakuumtherapie. Grundlagen, Indikationen, Fallbeispiele, praktische Tipps.* 1. Auflage. Ulm. 2005; 17-22.
77. Wetzel-Roth W, Zöch G. Konsensus der Deutschen und der Österreichischen Gesellschaften für Wundheilung und Wundbehandlung zur Vakuumversiegelung und „V.A.C.-Therapieeinheit“. *Zentralbl Chir.* 2004; 129:7-11. doi: 10.1055/s-2004-822677
78. Dill-Müller D, Nuber V, Wagner A, Tilgen W. Maligne Tumoren der Haut - Einsatz der Mini-V.A.C.-Therapie bei sekundärem Wundverschluss. *ZfW.* 2000; 5: 25-26.
79. White RA, Miki RA, Kazmier P, Anglen JO. Vacuum-assisted closure complicated by erosion and haemorrhage of the anterior tibial artery. *J Orthop Trauma.* 2005; 19(1):56-9. PMID: 15668586
80. Willy C, Schmidt R, Gerngroß H. Das Prinzip der Vakuumtherapie. In: Willy C, Hrsg. *Die Vakuumtherapie. Grundlagen, Indikationen, Fallbeispiele, praktische Tipps.* 1. Auflage. Ulm. 2005; 5.

81. Timmers MS, Le Cessie S, Banwell P, Jukema GN. The effects of varying degrees of pressure delivered by negative-pressure wound therapy on skin perfusion. *Ann Plast Surg.* 2005; 55(6):665-71. doi: 10.1097/01.sap.0000187182.90907.3d
82. Timmers MS, Graafland N, Bernards AT, Nelissen RG, van Dissel JT, Jukema GN. Negative pressure wound treatment with polyvinyl alcohol foam and polyhexanide antiseptic solution instillation in posttraumatic osteomyelitis. *Wound Repair Regen.* 2009; 17(2):278-86. doi: 10.1111/j.1524-475X.2009.00458.x
83. Tarnuzzer RW, Schultz GS. Biochemical analysis of acute and chronic wound environments. *Wound Repair Regen.* 1996; 4(3):321-5. doi: 10.1046/j.1524-475X.1996.40307.x
84. Wlaschek M, Peus D, Achterberg V, Meyer-Ingold W, Scharffetter-Kochanek K. Protease inhibitors protect growth factor activity in chronic wounds. *Br J Dermatol.* 1997; 137(4):646. doi: 10.1111/j.1365-2133.1997.tb03804.x
85. Borgquist O, Ingemansson R, Malmsjö M. The effect of intermittent and variable negative pressure wound therapy on wound edge microvascular blood flow. *Ostomy Wound Manage.* 2010; 56(3):60-7. PMID: 20368675
86. Borgquist O, Ingemansson R, Malmsjö M. The influence of low and high pressure levels during negative-pressure wound therapy on wound contraction and fluid evacuation. *Plast Reconstr Surg.* 2011; 127(2):551-9. doi: 10.1097/PRS.0b013e3181fed52a
87. Campbell PE, Smith GS, Smith JM. Retrospective clinical evaluation of gauze-based negative pressure wound therapy. *Int Wound J.* 2008; 5(2):280-6. doi: 10.1111/j.1742-481X.2008.00485.x
88. Krasner DL. Managing wound pain in patients with vacuum-assisted closure devices. *Ostomy Wound Manage.* 2002; 48(5):38-43. PMID: 12046489
89. Borgquist O, Gustafson L, Ingemansson R, Malmsjö M. Tissue ingrowth into foam but not into gauze during negative pressure wound therapy. *Wounds.* 2009; 21(11):302-9. PMID: 25902776
90. Willy C. Nebenwirkungen und Risiken der Vakuumtherapie. In: Willy C, Hrsg. *Die Vakuumtherapie. Grundlagen, Indikationen, Fallbeispiele, praktische Tipps.* 1. Auflage. Ulm. 2005; 91-99.
91. Edmonds M. Infection in the neuroischemic foot. *Int J Low Extrem Wounds.* 2005; 4(3):145-53. doi: 10.1177/1534734605280597

92. Bowler PG. The 10(5) bacterial growth guideline: reassessing its clinical relevance in wound healing. *Ostomy Wound Manage.* 2003; 49(1):44-53. PMID: 12532033
93. Bonham PA. Swab cultures for diagnosing wound infections: a literature review and clinical guideline. *J Wound Ostomy Continence Nurs.* 2009; 36(4):389-95. doi: 10.1097/WON.0b013e3181aaef7f
94. Rondas AA, Schols JM, Halfens RJ, Stobberingh EE. Swab versus biopsy for the diagnosis of chronic infected wounds. *Adv Skin Wound Care.* 2013; 26(5):211-9. doi: 10.1097/01.ASW.0000428984.58483.aa
95. Bill TJ, Ratliff CR, Donovan AM, Knox LK, Morgan RF, Rodeheaver GT. Quantitative swab culture versus tissue biopsy: a comparison in chronic wounds. *Ostomy Wound Manage.* 2001; 47(1):34-7. PMID: 11889654
96. Blokhuis-Arkes MH, Haalboom M, van der Palen J, Heinzle A, Sigl E, Guebitz G, et al. Rapid enzyme analysis as a diagnostic tool for wound infection: Comparison between clinical judgment, microbiological analysis, and enzyme analysis. *Wound Repair Regen.* 2015; 23(3):345-52. doi: 10.1111/wrr.12282
97. Broszczak D, Stupar D, Compay All, Sharma MVS, Parker TJ, Shooter GK, et al. Biochemical profiling of proteins and metabolites in wound exudate from chronic wound environments. *Wound Pract Res.* 2012; 20(2):62-72.
98. Yager DR, Kulina RA, Gilman LA. Wound fluids: a window into the wound environment? *Int J Low Extrem Wounds.* 2007; 6(4):262-72. doi: 10.1177/1534734607307035
99. Drinkwater SL, Smith A, Burnand KG. What can wound fluids tell us about the venous ulcer microenvironment? *Int J Low Extrem Wounds.* 2002; 1(3):184-90. doi: 10.1177/153473460200100307
100. Yager DR, Nwomeh BC. The proteolytic environment of chronic wounds. *Wound Repair Regen.* 1999; 7(6):433-41. PMID: 10633002
101. Hasmann A, Wehrschuetz-Sigl E, Marold A, Wiesbauer H, Schoeftner R, Gewessler U, et al. Analysis of myeloperoxidase activity in wound fluids as a maker of infection. *Ann Clin Biochem.* 2013; 50(Pt 3):245-54. doi: 10.1258/acb.2011.010249
102. Hasmann A, Gewessler U, Hulla E, Schneider KP, Binder B, Francesko A, et al. Sensor materials for the detection of human neutrophil elastase and cathepsin G activity in wound fluid. *Exp Dermatol.* 2011; 20(6):508-13. doi: 10.1111/j.1600-0625.2011.01256.x

103. Hasmann A, Wehrschuetz-Sigl E, Kanzler G, Gewessler U, Hulla E, Schneider KP, et al. Novel peptidoglycan-based diagnostic devices for detection of wound infection. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2011; 71(1):12-23. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2010.09.009
104. Osserman EF, Klockars M, Halper J, Fischel RE. Effects of lysozyme on normal and transformed mammalian cells. *Nature*. 1973; 243(5406):331-5. doi: 10.1038/243331a0
105. Osserman EF, Lawlor DP. Serum und urinary lysozyme (muramidase) in monocytic and monomyelocytic leukemia. *J Exp Med*. 1966; 124(5):921-52. doi: 10.1084/jem.124.5.921
106. Schiffer D, Verient V, Luschnig D, Blokhuis-Arkes MHE, Palen JVD, Gamerith C, et al. Lysozyme-responsive polymer systems for detection of infection. *Eng Life Sci*. 2015. doi: 10.1002/elsc.201400145
107. Klebanoff SJ. Myeloperoxidase. *Proc Assoc Am Physicians*. 1999; 111(5):383-9. doi: 10.1111/paa.1999.111.5.383
108. Lanza F. Clinical manifestation of myeloperoxidase deficiency. *J Mol Med*. 1998; 76(10):676-81. PMID: 9766845
109. Klebanoff SJ. Myeloperoxidase: friend and foe. *J Leukoc Biol*. 2005; 77(5):598-625. doi: 10.1189/jlb.1204697
110. Hajsek M, Schiffer D, Harrich D, Koller D, Verient V, Palen JVD, et al. An electrochemical sensor for fast detection of wound infection based on myeloperoxidase activity. *Sensors Actuators, B Chem*. 2015; 209:265-274. doi: 10.1016/j.snb.2014.11.125
111. Nauseef WM. Myeloperoxidase deficiency. *Hematol Oncol Clin North Am*. 1988; 2(1):135-58. PMID: 2831185
112. Edelstam GAB, Lundkvist Ö, Venge P, Laurent TC. Hyaluronan and myeloperoxidase in human peritoneal fluid during genital inflammation. *Inflammation*. 1994; 18(2):141-9. doi: 10.1007/BF01534555
113. McDonald JA, Kelley DG. Degradation of fibronectin by human leukocyte elastase. Release of biologically active fragments. *J Biol Chem*. 1980; 255(18):8848-58. PMID: 6902725
114. Scuderi P, Nez PA, Duerr ML, Wong BJ, Valdez CM. Cathepsin-G and leukocyte elastase inactivate human tumor necrosis factor and lymphotoxin. *Cell Immunol*. 1991; 135(2):299-313. doi: 10.1016/0008-8749(91)90275-g

115. Kafienah W, Buttle DJ, Burnett D, Hollander AP. Cleavage of native type I collagen by human neutrophil elastase. *Biochem J.* 1998; 330(Pt 2):897-902. doi: 10.1042/bj3300897
116. Welsh MJ, Tsui LC, Boat TF, Beaudet AL. Cystic fibrosis. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, Hrsg. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease.* New York: McGraw-Hill; 1989: 2649-2680.
117. Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. *J Clin Microbiol.* 1991; 29(2):297-301. PMID: 1706728
118. Elsaid KA, Jay GD, Chichester CO. Detection of collagen type II and proteoglycans in the synovial fluids of patients diagnosed with non-infectious knee joint synovitis indicates early damage to the articular cartilage matrix. *Osteoarthritis Cartilage.* 2003; 11(9):673-80. PMID: 12954238
119. Shapiro SD. Proteinases in chronic obstructive pulmonary disease. *Biochem Soc Trans.* 2002; 30(2):98-102. doi: 10.1042/
120. Jaffray C, Yang J, Carter G, Mendez C, Norman J. Pancreatic elastase activates pulmonary nuclear factor kappa B and inhibitory kappa B, mimicking pancreatitis-associated adult respiratory distress syndrome. *Surgery.* 2000; 128(2):225-31. doi: 10.1067/msy.2000.107419
121. Grinnell F, Zhu M. Identification of neutrophil elastase as the proteinase in burn wound fluid responsible for degradation of fibronectin. *J Invest Dermatol.* 1994; 103(2):155-61. doi: 10.1111/1523-1747.ep12392625
122. Weiss SJ, Cumutte JT, Regiani S. Neutrophil-mediated solubilisation of the subendothelial matrix: oxidative and nonoxidative mechanisms of proteolysis used by normal and chronic granulomatous disease phagocytes. *J. Immunol.* 1986; 136(2):636-41. PMID: 3484496
123. Herrick S, Ashcroft G, Ireland G, Horan M, McCollum C, Ferguson M. Up-regulation of elastase in acute wounds of healthy aged humans and chronic venous leg ulcers are associated with matrix degradation. *Lab Invest.* 1997; 77(3):281-8. PMID: 9314951
124. Hofer HP, Kukovetz E, Petek W, Schweighofer F, Wildburger R, Schaur RJ. Released PMN elastase: an indicator of postsurgical uneventful wound healing and early inflammatory complications. A contribution to the search for objective criteria in wound healing monitoring. *Injury.* 1995; 26(2):103-6. PMID: 7721460

125. Schiffer D, Arkes M, van der Palen JAM, Sigl E, Heinzle A, Guebitz GM. Assessment of infection in chronic wounds based on the monitoring of elastase, lysozyme and myeloperoxidase activities. *Br J Dermatol.* 2015; 173(6):1529-31. doi: 10.1111/bjd.13896
126. Heinzle A, Papen-Botterhuis NE, Schiffer D, Schneider KP, Binder B, Schintler M, et al. Novel protease-based diagnostic devices for detection of wound infection. *Wound Repair Regen.* 2013; 21(3):482-9. doi: 10.1111/wrr.12040
127. Avidano MA, Cotter CS, Stringer SP, Schultz GS. Analysis of protease activity in human otitis media. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1998; 119(4):346-51. doi: 10.1016/S0194-5998(98)70076-2
128. Schmidtchen A, Holst E, Tapper H, Björck L. Elastase-producing *Pseudomonas aeruginosa* degrade plasma proteins and extracellular products of human skin and fibroblasts, and inhibit fibroblast growth. *Microb Pathog.* 2003; 34(1):47-55. PMID: 12620384
129. Schiffer D, Tegl G, Heinzle A, Sigl E, Metcalf D, Bowler P, et al. Enzyme-responsive polymers for microbial infection detection. *Expert Rev Mol Diagn.* 2015; 15(9):1125-31. doi: 10.1586/14737159.2015.1061935
130. Tegl G, Schiffer D, Sigl E, Heinzle A, Guebitz GM. Biomarkers for infection: enzymes, microbes, and metabolites. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2015; 99(11):4595-614. doi: 10.1007/s00253-015-6637-7
131. Shukla VK, Shukla D, Tiwary SK, Agrawal S, Rastogi A. Evaluation of pH measurement as a method of wound assessment. *Journal of Wound Care.* 2013; 16(7) doi: 10.12968/jowc.2007.16.7.27062
132. Stüttgen G, Schaefer H. Die Hautoberfläche. In: Stüttgen G, Schaefer H, Hrsg. *Funktionelle Dermatologie.* Berlin, Heidelberg, New York: Springer; 1974: 184-190.
133. Cagnoni G, Rimoldi SG, Pagani C, Savi C, Stefani F, Terzi R, et al. Can drainage using a negative-pressure wound therapy device replace traditional sample collection methods? *Surg Infect (Larchmt).* 2016; 17(5):577-82. doi: 10.1089/sur.2016.026
134. Devi P, Rutledge PJ. Cyclobutanone analogues of beta-lactam antibiotics: beta-lactamase inhibitors with untapped potential? *Chembiochem.* 2017; 18(4):338-351. doi: 10.1002/cbic.201600529

135. Gorrini M, Lupi A, Viglio S, Pamparana F, Cetta G, Iadarola P, et al. Inhibition of human neutrophil elastase by Erythromycin and Flurythromycin, two macrolide antibiotics. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2001; 25(4):492-9. doi: 10.1165/ajrcmb.25.4.4552
136. Schneider LA, Korber A, Grabbe S, Dissemond J. Influence of pH on wound-healing: a new perspective for wound-therapy? *Arch Dermatol Res.* 2007; 298(9):413-20. doi: 10.1007/s00403-006-0713-x
137. Thomas LV, Wimpenny JW, Davis JG. Effect of three preservatives on the growth of *Bacillus cereus*, Vero cytotoxigenic *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, on plates with gradients of pH and sodium chloride concentration. *Int J Food Microbiol.* 1993; 17(4):289-301. PMID: 8466802
138. Hunt TK, Twomey P, Zederfeldt B, Dunphy JE. Respiratory gas tensions and pH in healing wounds. *Am J Surg.* 1967; 114(2):302-7. doi: 10.1016/0002-9610(67)90388-1

9. Referenzen – Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:

[10] Morton LM, Phillips TJ. Wound healing and treating wounds: Differential diagnosis and evaluation of chronic wounds. *J Am Acad Dermatol.* 2016; 74(4):589-605; quiz 605-6. doi: 10.1016/j.jaad.2015.08.068

[15] Mast BA, Schultz GS. Interactions of cytokines, growth factors, and proteases in acute and chronic wounds. *Wound Repair Regen.* 1996; 4(4):411-20. doi: 10.1046/j.1524-475X.1996.40404.x

Abb. 2: <https://www.acelity.com/healthcare-professionals/global-product-catalog/catalog/activac-therapy-system> [letzter Zugriff 21.08.2019]

Abb. 3: <https://acelity.com/healthcare-professionals/global-product-catalog/catalog/vac-therapy-whitefoam-dressings> [letzter Zugriff 21.08.2019]

Abb. 4: <https://www.acelity.com/healthcare-professionals/global-product-catalog/catalog/vac-granufilm-dressing-kits> [letzter Zugriff 21.08.2019]

Abb. 5: <https://acelity.com/healthcare-professionals/global-product-catalog/catalog/vac-granufilm-silver-dressing-kits> [letzter Zugriff 21.08.2019]

Abb. 6: <https://middleeast.kci-medical.com/ME-ENG/vacdrape> [letzter Zugriff 21.08.2019]

Abb. 7: <https://acelity.com/healthcare-professionals/global-product-catalog/catalog/vac-therapy-accessories> [letzter Zugriff 21.08.2019]

Abb. 8: <https://acelity.com/healthcare-professionals/global-product-catalog/catalog/vac-therapy-accessories> [letzter Zugriff 21.08.2019]

Abb. 9: <https://www.acelity.com/healthcare-professionals/history-of-innovation/vac-veraflon-therapy> [letzter Zugriff 21.08.2019]

Abb. 10:

[125] Schiffer D, Arkes M, van der Palen JAM, Sigl E, Heinzle A, Guebitz GM. Assessment of infection in chronic wounds based on the monitoring of elastase, lysozyme and myeloperoxidase activities. *Br J Dermatol.* 2015; 173(6):1529-31. doi: 10.1111/bjd.13896

Abb. 11: Eigene Darstellung

Abb. 12: Eigene Darstellung

Abb. 13: Eigene Darstellung

Abb. 14: Eigene Darstellung

Abb. 15: Eigene Darstellung

Abb. 16: Eigene Darstellung

Abb. 17: Eigene Darstellung

Abb. 18: Eigene Darstellung

Abb. 19: Eigene Darstellung

Abb. 20: Eigene Darstellung

Abb. 21: Eigene Darstellung

Abb. 22: Eigene Darstellung

Abb. 23: Eigene Darstellung

Abb. 24: Eigene Darstellung

Abb. 25: Eigene Darstellung

Abb. 26: Eigene Darstellung

Abb. 27: Eigene Darstellung

Abb. 28: Eigene Darstellung

Abb. 29: erstellt vom biochemischen Labor Qualizyme Diagnostics GmbH & Co KG, fecit Mag. Sonja Winkler; modifiziert Christina Wolfsberger

Abb. 30: erstellt vom biochemischen Labor Qualizyme Diagnostics GmbH & Co KG, fecit Mag. Sonja Winkler; modifiziert Christina Wolfsberger

Abb. 31: erstellt vom biochemischen Labor Qualizyme Diagnostics GmbH & Co KG, fecit Mag. Sonja Winkler; modifiziert Christina Wolfsberger

Abb. 32: erstellt vom biochemischen Labor Qualizyme Diagnostics GmbH & Co KG, fecit Mag. Sonja Winkler; modifiziert Christina Wolfsberger

Abb. 33: erstellt vom biochemischen Labor Qualizyme Diagnostics GmbH & Co KG, fecit Mag. Sonja Winkler; modifiziert Christina Wolfsberger

Abb. 34: erstellt vom biochemischen Labor Qualizyme Diagnostics GmbH & Co KG, fecit Mag. Sonja Winkler; modifiziert Christina Wolfsberger

Abb. 35: erstellt vom biochemischen Labor Qualizyme Diagnostics GmbH & Co KG, fecit Mag. Sonja Winkler; modifiziert Christina Wolfsberger

Abb. 36: erstellt vom biochemischen Labor Qualizyme Diagnostics GmbH & Co KG, fecit Mag. Sonja Winkler; modifiziert Christina Wolfsberger

10. Referenzen – Tabellenverzeichnis

Tabl. 1:

[58] Krankheitserreger. AGES [Internet]. [zitiert am 17.06.2018]. URL:
<https://www.ages.at/themen/krankheitserreger/#results>

Tabl. 2:

[61] Feierl G, Buzina W, Masoud-Landgraf L. Resistenzbericht 2018. Diagnostik- & Forschungsinstitut für Hygiene, Mikrobiologie und Umweltmedizin. [Internet]. 2018 [zitiert am 02.07.2019] URL: <https://hygiene.medunigraz.at/diagnostik/mikrobiologie/erreger-und-resistenzstatistik/>

Tabl. 3:

[68] Willy C, Schmidt R, Gerngroß H. Das Prinzip der Vakuumtherapie. In: Willy C, Hrsg. Die Vakuumtherapie. Grundlagen, Indikationen, Fallbeispiele, praktische Tipps. 1. Auflage. Ulm. 2005; 6.

Tabl. 4: Eigene Darstellung

Tabl. 5: Eigene Darstellung

Tabl. 6: Eigene Darstellung

Tabl. 7: Eigene Darstellung

Tabl. 8: Eigene Darstellung

Tabl. 9: erstellt vom biochemischen Labor Qualizyme Diagnostics GmbH & Co KG, fecit Mag. Sonja Winkler

Tabl. 10: erstellt vom biochemischen Labor Qualizyme Diagnostics GmbH & Co KG, fecit Mag. Sonja Winkler

Tabl. 11: erstellt vom biochemischen Labor Qualizyme Diagnostics GmbH & Co KG, fecit Mag. Sonja Winkler

Tabl. 12: erstellt vom biochemischen Labor Qualizyme Diagnostics GmbH & Co KG, fecit Mag. Sonja Winkler

Tabl. 13: erstellt vom biochemischen Labor Qualizyme Diagnostics GmbH & Co KG, fecit Mag. Sonja Winkler

Tabl. 14: erstellt vom biochemischen Labor Qualizyme Diagnostics GmbH & Co KG, fecit Mag. Sonja Winkler

Tabl. 15: erstellt vom biochemischen Labor Qualizyme Diagnostics GmbH & Co KG, fecit Mag. Sonja Winkler; modifiziert von Christina Wolfsberger

Tabl. 16: erstellt vom biochemischen Labor Qualizyme Diagnostics GmbH & Co KG, fecit Mag. Sonja Winkler

11. Referenzen – Grafikenverzeichnis

Graf. 1: erstellt vom biochemischen Labor Qualizyme Diagnostics GmbH & Co KG, fecit Mag. Sonja Winkler

Graf. 2: erstellt vom biochemischen Labor Qualizyme Diagnostics GmbH & Co KG, fecit Mag. Sonja Winkler

Graf. 3: erstellt vom biochemischen Labor Qualizyme Diagnostics GmbH & Co KG, fecit Mag. Sonja Winkler

Graf. 4: erstellt vom biochemischen Labor Qualizyme Diagnostics GmbH & Co KG, fecit Mag. Sonja Winkler; modifiziert von Christina Wolfsberger

Graf. 5: erstellt vom biochemischen Labor Qualizyme Diagnostics GmbH & Co KG, fecit Mag. Sonja Winkler; modifiziert von Christina Wolfsberger

Anhang – CRF

EK-NR:	<input type="text"/>	Patienteninitialen:	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
--------	----------------------	---------------------	--

CASE REPORT FORM
Der Einsatz biochemischer Analysen zur Verlaufskontrolle bei Wunden
Kurztitel: Verlaufskontrolle von Wunden Teil 1: Analyse von Wundsekreten unter VAC-Therapie

Standort der klinischen Studie/ Abteilung:	KLINISCHE ABTEILUNG FÜR PLASTISCHE ÄSTHETISCHE UND REKONSTRUKTIVE CHIRURGIE
PI:	UNIV.PROF.DR.MED. MICHAEL SCHINTLER
Patienteninitialen:	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
Anonymisierungsnummer:	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>

Ich bin zuversichtlich, dass die Informationen die in diesem CRF angegeben werden, vollständige und genaue Daten sind. Ich bestätige, dass die Prüfung gemäß dem Prüfplan durchgeführt wurde, jede Prüfplan-Änderungen und das schriftliche Einverständniserklärung vor der Prüfung erhalten wurde.	
Unterschrift Prüfarzt:	
Datum der Unterschrift:	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> D D M O J J J J

EK-NR:	<input type="text"/>	Patienteninitialen:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
--------	----------------------	---------------------	----------------------	----------------------	----------------------

Visite 1/Screening

Datum: _____
TT MM JJJJ

INFORMED CONSENT	
<i>Bitte beachte: Unterschrift auf dem Informed consent muss gegeben worden sein bevor studienspezifische Anwendungen durchgeführt werden.</i>	
Proband seine Einwilligung aus freien Stücken gegeben?	<input type="checkbox"/>
Proband hat ausreichend Zeit zum Überlegen gehabt?	<input type="checkbox"/>
Es wurden alle Fragen beantwortet?	<input type="checkbox"/>
Proband hat eine Kopie erhalten?	<input type="checkbox"/>
aufklärende/r Ärztin/Arzt:	<input type="text"/>
Datum Einwilligungserklärung:	

<small>T T - M o n - J J J J</small>	

DEMOGRAPHIC DATA			
Geburtsdatum:	<input type="text" value="DD-Mon-YYYY"/>	Gender:	Weiblich <input type="checkbox"/> Männlich <input type="checkbox"/>

ALLGEMEINES			
Raucher: (wenn ja – PY vermerken!)	Ja <input type="checkbox"/>	Nein <input type="checkbox"/>	
Diabetiker: (Typ 1 oder 2 bitte vermerken!)	Ja <input type="checkbox"/>	Nein <input type="checkbox"/>	
Antibiotikum:	Ja <input type="checkbox"/>	Nein <input type="checkbox"/>	
welches: _____	Anfang: __	Ende: __	

EK-NR:	<input type="text"/>	Patienteninitialen:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
--------	----------------------	---------------------	----------------------	----------------------	----------------------

KOMMENTAR/BEMERKUNGEN/ SONSTIGES			
Datum	<input type="text"/>	Kürzel Arzt	<input type="text"/>

EK-NR:	<input type="text"/>	Patienteninitialen:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
--------	----------------------	---------------------	----------------------	----------------------	----------------------

Kategorie	Medizinischer Hintergrund	gerade aktiv?	
		Ja	Nein
Krankheiten:			
Allergien			
Operationen			
Medikamente			

EK-NR: <input style="width: 80px; height: 20px;" type="text"/>	Patienteninitialen: <input style="width: 40px; height: 20px;" type="text"/>
--	---

Wundbeschreibung

ART DER WUNDE <small>(wenn ja – ankreuzen, Mehrfachantworten möglich!)</small>	
0	Ulcus
1	Verbrennung
2	Nekrose
3	Brustoperation
4	SHT, VHT
5	Lappenplastik
6	<i>Sonstiges:</i>

Dauer der Wunde: _____

Lokalisation: _____

Größe der Wunde: _____ cm

BESCHREIBUNG DER WUNDE <small>(wenn ja – ankreuzen, Mehrfachantworten möglich!)</small>	
0	serumhältig
1	blutig
2	eitrig
3	blutig und eitrig
4	grünlich belegt
5	<i>Sonstiges:</i>

GERUCH DER WUNDE			
ja	<input type="checkbox"/>	nein	<input type="checkbox"/>
Anmerkung:			

NEKROSE <small>(wenn ja – ankreuzen, Mehrfachantworten möglich!)</small>	
0	keine
1	nur in Wundbasis
2	am Rand der Wunde
3	Am Rand und in der Mitte der Wunde
4	<i>Sonstiges:</i>

ZUSTAND DER WUNDE <small>(wenn ja – ankreuzen, Mehrfachantworten möglich!)</small>	
0	Entzündung
1	Infektion
2	gut heilend
3	kritisch
4	<i>Sonstiges:</i>

EK-NR:	<input type="text"/>	Patienteninitialen:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
--------	----------------------	---------------------	----------------------	----------------------	----------------------

VAC Behandlung

VAC			
Dauer:			
von:	<input type="text"/>	bis:	<input type="text"/>
Druck:			
Füllmaterial/Sonstiges:			

Keime: Bitte die genaue Art der Keime dazuschreiben (z.B. Staph. aureus, Staph epidermidis)

Gram Negative				
01	Aeromonas sp.		09	Haemophilus sp.
02	Bacteroides sp.		10	Klebsiella sp.
03	Campylobacter sp.		11	Mycoplasma sp.
04	Chlamydia sp.		12	Provotella sp.
05	Citrobacter sp.		13	Proteus sp.
06	Coxiella sp.		14	Pseudomonas sp.
07	Enterobacter sp.		15	Helicobacter sp.
08	E.coli sp.		16	Sonstiges:
Gram Positive				
01	Aerococcus sp.		06	Lactobacillus sp.
02	Bacillus sp.		07	Staphylococcus sp.
03	Clostridium sp.		08	Streptococcus sp.
05	Enterococcus sp.		09	Sonstiges:

BEMERKUNGEN ZU DER KEIMBESIEDLUNG	
(Lokalisation der Abstriche, pathogene/apathogene Keime, welche Keimarten im Speziellen sind vorhanden, Resistenzen, Veränderungen der Keimbeseidlung, Eradikation?)	

PatientInneninformation¹ und Einwilligungserklärung zur Teilnahme an der klinischen Prüfung

Der Einsatz biochemischer Analysen zur Verlaufskontrolle bei Wunden

Teil 2 – Analyse von Wundsekreten unter VAC-Therapie

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient!

Wir laden Sie ein an der oben genannten klinischen Prüfung teilzunehmen. Die Aufklärung darüber erfolgt in einem ausführlichen ärztlichen Gespräch.

Ihre Teilnahme an dieser klinischen Prüfung erfolgt freiwillig. Sie können jederzeit ohne Angabe von Gründen aus der Studie ausscheiden. Die Ablehnung der Teilnahme oder ein vorzeitiges Ausscheiden aus dieser Studie hat keine nachteiligen Folgen für Ihre medizinische Betreuung.

Klinische Prüfungen sind notwendig, um verlässliche neue medizinische Forschungsergebnisse zu gewinnen. Unverzichtbare Voraussetzung für die Durchführung einer klinischen Prüfung ist jedoch, dass Sie Ihr Einverständnis zur Teilnahme an dieser klinischen Prüfung schriftlich erklären. Bitte lesen Sie den folgenden Text als Ergänzung zum Informationsgespräch mit Ihrem Prüfarzt sorgfältig durch und zögern Sie nicht Fragen zu stellen.

Bitte unterschreiben Sie die Einwilligungserklärung nur

- wenn Sie Art und Ablauf der klinischen Prüfung vollständig verstanden haben,
- wenn Sie bereit sind, der Teilnahme zuzustimmen und
- wenn Sie sich über Ihre Rechte als Teilnehmer an dieser klinischen Prüfung im Klaren sind.

Zu dieser klinischen Prüfung, sowie zur Patienteninformation und Einwilligungserklärung wurde von der zuständigen Ethikkommission eine befürwortende Stellungnahme abgegeben.

1. Was ist der Zweck der klinischen Prüfung?

Der Zweck dieser klinischen Prüfung ist es, ein Medizinprodukt zu entwickeln. Dafür wird das Wundsekret, welches während der VAC – Therapie (Unterdrucktherapie) in der Wunde erzeugt wird, mittels eines Zwischenstückes, gewonnen. Dieses Zwischenstück „Argyle™ Specimen Trap 40ml“ wird zugeschnitten und in den Verbindungsschlauch

¹ Wegen der besseren Lesbarkeit wird im weiteren Text zum Teil auf die gleichzeitige Verwendung weiblicher und männlicher Personenbegriffe verzichtet. Gemeint und angesprochen sind – sofern zutreffend – immer beide Geschlechter.

zwischen Wunde und VAC-Gerät gesteckt. Zu Beginn der VAC Behandlung wird zusätzlich ein Wundabstrich genommen und ein Foto der Wunde gemacht.

Das Zwischenstück wird fortan täglich ausgetauscht. Hierbei ist es nicht nötig den Verbindungsschlauch zu durchtrennen, sondern es wird lediglich das Behältnis gewechselt, welches innerhalb einer Minute erfolgt.

Dieses Behältnis wird anschließend biochemisch hinsichtlich Enzymen, die in der Wundflüssigkeit sind, analysiert.

Zweck dieser Prüfung ist es, Wundbesiedelungen frühzeitig zu erkennen, ohne dass das VAC System abgenommen werden muss. Diese Früherkennung soll mittels Indikatoren (=Hilfsmittel, die bestimmte Informationen anzeigen) erfolgen, die in das Zwischenstück eingebracht werden.

2. Wie läuft die klinische Prüfung ab?

Diese klinische Prüfung wird an der Abteilung für Plastische, Ästhetische und Rekonstruktive Chirurgie, am Universitätsklinikum Graz durchgeführt. Die biochemische Analyse erfolgt in den Laboren von Qualizyme Diagnostics GmbH und CoKG. Es werden insgesamt 22 Personen daran teilnehmen.

Ihre Teilnahme an dieser klinischen Studie wird während der vorgesehenen Unterdrucktherapie erfolgen.

Folgende Maßnahmen werden ausschließlich aus Studiengründen durchgeführt:

Während dieser klinischen Prüfung wird täglich das Zwischenstück ausgetauscht. Sowie zu Beginn und am Ende der VAC Therapie ein Wundabstrich entnommen und Fotos der Wunde gemacht.

3. Was ist das Produkt?

Diese Studie ist Teil der Entwicklung eines Medizinproduktes. Es werden nur Materialien getestet, die eventuell zu einem späteren Zeitpunkt ein Medizinprodukt ergeben sollen. Da es noch kein Medizinprodukt gibt, sind auch keine weiteren Informationen dazu vorhanden.

Das Zwischenstück („Argyle™ Specimen Trap 40ml“, der Firma Covidien), welches in den Verbindungsschlauch des Unterdruck erzeugenden Gerätes eingesetzt wird, ist hingegen ein Produkt, das in der Thoraxchirurgie alltäglich verwendet wird. Für diese klinische Prüfung wird es jedoch für einen anderen Zweck verwendet. Da dieses Produkt steril ist und keinen direkten Kontakt zu Ihrer Wunde hat, geht kein erhöhtes Risiko für Sie einher.

4. Worin liegt der Nutzen einer Teilnahme an der Klinischen Prüfung?

Es ist mit ziemlicher Sicherheit anzunehmen, dass Sie aus dieser Studie keinen persönlichen Nutzen haben werden.

Der potenzielle Nutzen liegt in der wissenschaftlichen Weiterentwicklung der Infektionsfrüherkennung während der VAC-Therapie.

5. Gibt es Risiken, Beschwerden und Begleiterscheinungen?

Im Rahmen dieser klinischen Studie bestehen keine Risiken oder Beschwerden für Sie. Es können jedoch sein, dass der Verbindungsschlauch in Ihrem VAC System undicht wird. Hier ist jedoch nur das Wechseln von diesem die Konsequenz.

6. Versicherung

Als Teilnehmer an dieser klinischen Prüfung besteht für Sie der gesetzlich vorgeschriebene verschuldensunabhängige Versicherungsschutz (Personenschadenversicherung gemäß § 47 Medizinproduktegesetz, der alle Schäden abdeckt, die an Ihrem Leben oder Ihrer Gesundheit durch die an Ihnen durchgeführten Maßnahmen der klinischen Prüfung verursacht werden können, mit Ausnahme von Schäden auf Grund von Veränderungen des Erbmaterials in Zellen der Keimbahn.

Die Versicherung wurde für Sie bei der *Newline Insurance Company Limited* unter der Polizzennummer GER18928373A abgeschlossen. Auf Wunsch können Sie in die Versicherungsunterlagen Einsicht nehmen.

Im Schadensfall können Sie sich direkt an den Versicherer wenden und Ihre Ansprüche selbständig geltend machen. Für den Versicherungsvertrag ist österreichisches Recht anwendbar, die Versicherungsansprüche sind in Österreich einklagbar.

Zur Unterstützung können Sie sich auch an die Patientenanwaltschaft, Patientenvertretung oder Patientenombudsschaft wenden.

Um den Versicherungsschutz nicht zu gefährden

- dürfen Sie sich während der Dauer der klinischen Prüfung einer anderen medizinischen Behandlung nur im Einvernehmen mit Ihrem behandelnden Prüfarzt unterziehen (**ausgenommen davon sind Notfälle**). Dies gilt auch für die zusätzliche Einnahme von Medikamenten oder die Teilnahme an einer anderen Studie.
- müssen Sie dem behandelnden Prüfarzt - oder der oben genannten Versicherungsgesellschaft - eine Gesundheitsschädigung, die als Folge der klinischen Prüfung eingetreten sein könnte, unverzüglich mitteilen.
- müssen Sie alles Zumutbare tun um Ursache, Hergang und Folgen des Versicherungsfalles aufzuklären und den entstandenen Schaden gering zu halten. Dazu gehört ggf.

auch, dass Sie Ihre behandelnden Ärzte ermächtigen, vom Versicherer geforderte Auskünfte zu erteilen.

7. Wann wird die klinische Prüfung vorzeitig beendet?

Sie können jederzeit auch ohne Angabe von Gründen, Ihre Teilnahmebereitschaft widerrufen und aus der klinischen Prüfung ausscheiden, ohne dass Ihnen dadurch irgendwelche Nachteile für Ihre weitere medizinische Betreuung entstehen.

Ihr Prüfarzt wird Sie über alle neuen Erkenntnisse, die in Bezug auf diese klinische Prüfung bekannt werden, und für Sie wesentlich werden könnten, umgehend informieren. Auf dieser Basis können Sie dann Ihre Entscheidung zur weiteren Teilnahme an dieser klinischen Prüfung neu überdenken.

Es ist aber auch möglich, dass Ihr Prüfarzt (oder gegebenenfalls der Auftraggeber dieser klinischen Prüfung) entscheidet, Ihre Teilnahme an der klinischen Prüfung vorzeitig zu beenden, ohne vorher Ihr Einverständnis einzuholen. Die Gründe hierfür können sein:

- a) Sie können den Erfordernissen der Klinischen Prüfung nicht entsprechen;
- b) Ihr Prüfarzt hat den Eindruck, dass eine weitere Teilnahme an der klinischen Prüfung nicht in Ihrem Interesse ist;

8. In welcher Weise werden die im Rahmen dieser klinischen Prüfung gesammelten Daten verwendet?

Bei den Daten, die über Sie im Rahmen dieser klinischen Prüfung erhoben werden, ist grundsätzlich zu unterscheiden zwischen

- 1) jenen personenbezogenen Daten, anhand derer Sie direkt identifizierbar sind (z.B. Name, Geburtsdatum, Adresse...) und
- 2) pseudonymisierten (verschlüsselten) Daten, bei denen alle Informationen, die direkte Rückschlüsse auf Ihre Identität zulassen, durch einen Code (z. B. eine Zahl) ersetzt werden.

Der Code wird von den verschlüsselten Datensätzen streng getrennt und nur an Ihrem Prüfzentrum aufbewahrt. Zugang zu Ihren nicht verschlüsselten Daten haben der Prüfarzt und andere Mitarbeiter des Prüfzentrums, die an der klinischen Prüfung oder Ihrer medizinischen Versorgung mitwirken. Die Daten sind gegen unbefugten Zugriff geschützt. Zusätzlich können autorisierte und zur Verschwiegenheit verpflichtete Beauftragte des Sponsors (Kontaktinformationen unten angeführt), sowie Beauftragte von In- und/ oder ausländischen Gesundheitsbehörden und jeweils zuständige Ethikkommissionen in die nicht verschlüsselten Daten Einsicht nehmen, soweit dies für die Überprüfung der ordnungsgemäßen Durchführung der klinischen Prüfung notwendig ist. Diese Personen unterliegen einer strengen Geheimhaltungspflicht.

Eine Weitergabe der Daten, insbesondere an den Sponsor und seine Vertragspartner, erfolgt nur in verschlüsselter Form. Auch für etwaige Publikationen werden nur die verschlüsselten Daten verwendet.

Sie können Ihre Einwilligung zur Erhebung Ihrer Daten jederzeit widerrufen. Nach Ihrem Widerruf werden keine weiteren Daten mehr über Sie erhoben. Die bis zum Widerruf erhobenen Daten können allerdings weiter im Rahmen dieser klinischen Prüfung verwendet werden.

Aufgrund der gesetzlichen Vorgaben haben Sie außerdem, sofern dies nicht die Durchführung der klinischen Prüfung beeinträchtigt, das Recht auf Einsicht in die von Ihnen erhobenen Daten und die Möglichkeit der Berichtigung, falls Sie Fehler feststellen.

Sie haben auch das Recht, bei der österreichischen Datenschutzbehörde eine Beschwerde über den Umgang mit Ihren Daten einzubringen (www.dsb.gv.at)

Sämtliche Personen, die Zugang zu Ihren verschlüsselten und nicht verschlüsselten Daten erhalten, unterliegen im Umgang mit den Daten dem österreichischen Datenschutzgesetz in seiner gültigen Fassung sowie der Datenschutz-Grundverordnung (DSGVO).

Auch die Dauer der Speicherung Ihrer Daten ist durch Rechtsvorschriften geregelt.

Falls Sie Fragen zum Umgang mit Ihren Daten in dieser klinischen Prüfung haben, wenden Sie sich zunächst an Ihren Prüfarzt. Dieser kann Ihr Anliegen ggf. an die Personen, die beim Sponsor oder am Prüfzentrum für den Datenschutz verantwortlich sind, weiterleiten.

Datenschutzbeauftragte/r des Prüfzentrums, Krankenhausträger:

- Medizinische Universität Graz: office.datenschutz@medunigraz.at
- Krankenanstalten der KAGES: datenschutz@kages.at

9. Möglichkeit zur Diskussion weiterer Fragen

Für weitere Fragen im Zusammenhang mit dieser klinischen Prüfung stehen Ihnen Ihr Prüfarzt und seine Mitarbeiter gern zur Verfügung. Auch Fragen, die Ihre Rechte als Patient und Teilnehmer an dieser klinischen Prüfung betreffen, werden Ihnen gerne beantwortet. Sobald allgemeine Ergebnisse dieser klinischen Prüfung vorliegen, können Sie ebenfalls darüber informiert werden, falls Sie dieses wünschen.

Name der Kontaktperson: Univ.-Prof. Dr.med.univ. Michael Schintler
Ständig erreichbar unter: 0316 385 81904 oder michael.schintler@medunigraz.at

Name der Kontaktperson: Christina Helene Wolfsberger
Ständig erreichbar unter: 0660 44 222 18 oder christina.wolfsberger@stud.medunigraz.at
(24/h erreichbar)

Name der Kontaktperson: Dr.med.univ. Alexandru-Cristian Tuca
Ständig erreichbar unter: 0316 385 30742 oder alexandru.tuca@medunigraz.at

Name der Kontaktperson: Birgit Michelitsch, BSc., Studienkoordinatorin
Ständig erreichbar unter: 0316 385 30357 oder birgit.michelitsch@medunigraz.at

Sponsor der Studie:

Name der Kontaktperson: Dr. Eva Sigl
Ständig erreichbar unter: 0699 1040 65 60 oder eva.sigl@qualizyme.com

Qualizyme Diagnostics GmbH & Co KG
Neue Stiftingtalstraße 2
8010 Graz

10. Einwilligungserklärung

Name des Patienten in Druckbuchstaben:

Geb.Datum: Code:

Ich erkläre mich bereit, an der klinischen Prüfung "Der Einsatz biochemischer Analysen zur Verlaufskontrolle bei Wunden – Teil 2 Analyse von Wundsekreten unter VAC-Therapie" teilzunehmen.

Ich bin von Herrn/Frau ausführlich und verständlich über mögliche Belastungen und Risiken, sowie über Wesen, Bedeutung und Tragweite der klinischen Prüfung, die bestehende Versicherung sowie die sich für mich daraus ergebenden Anforderungen aufgeklärt worden. Ich habe darüber hinaus den Text dieser Patientenaufklärung und Einwilligungserklärung, die insgesamt 7 Seiten umfasst gelesen. Aufgetretene Fragen wurden mir vom Prüfarzt verständlich und genügend beantwortet. Ich hatte ausreichend Zeit, mich zu entscheiden. Ich habe zurzeit keine weiteren Fragen mehr.

Ich werde den ärztlichen Anordnungen, die für die Durchführung der klinischen Prüfung erforderlich sind, Folge leisten, behalte mir jedoch das Recht vor, meine freiwillige Mitwirkung jederzeit zu beenden, ohne dass mir daraus Nachteile für meine weitere medizinische Betreuung entstehen.

Ich stimme ausdrücklich zu, dass meine im Rahmen dieser klinischen Prüfung erhobenen Daten wie im Abschnitt „Datenschutz“ dieses Dokuments beschrieben verwendet werden.

Für den Fall, dass ich aus der klinischen Prüfung ausscheide, bin ich einverstanden, dass meine Proben weiterhin aufbewahrt und analysiert werden, wie in dieser Information beschrieben:

ja nein

Ich stimme zu, dass meine im Rahmen und zum Zweck dieser Studie ermittelten personenbezogenen Daten (Name, Anschrift, Alter, Angaben über die Gesundheit, OP

Berichte, Ambulanzkarten, Mikrobiologische Ergebnisse) verarbeitet werden und in indirekt personenbezogener (pseudonymisierter bzw. verschlüsselter) Form an Qualizyme Diagnostics GmbH & Co KG zum Zweck der biochemischen Analyse übermittelt werden.

Eine Kopie dieser Patienteninformation und Einwilligungserklärung habe ich erhalten. Das Original verbleibt beim Prüfarzt.

.....
(Datum und Unterschrift des Patienten)

.....
(Datum, Name und Unterschrift des verantwortlichen Prüfarztes)

(Der Patient erhält eine unterschriebene Kopie der Patienteninformation und Einwilligungserklärung, das Original verbleibt im Studienordner des Prüfarztes.)