

Diplomarbeit

**Zur Stabilität von Carbapenemen vor und nach
Zumischung zu PMMA Knochenzementen bei
Wechseloperationen bedingt durch gramnegative
Bakterien**

eingereicht von

Matthias Schmid

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktor(in) der gesamten Heilkunde
(Dr. med. univ.)**

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der/am

**Universitätsklinik für Orthopädie und Traumatologie
Institut für Chemie, Analytische Chemie für Gesundheit und
Umwelt**

unter der Anleitung von

**Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Klaus-Dieter Kühn
Univ.-Prof. Dr. med. univ. Andreas Leithner
Ao. Univ.-Prof. Dr. Walter Goessler**

Graz, den 11.10.2018

Eidesstaatliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Diplomarbeit 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 11.10.2018

Matthias Schmid eh.

Vorwort

Bereits in meiner Kindheit entwickelte sich mein großes Interesse am Fach Orthopädie. Häufige Besuche bei Orthopäden nach Sportverletzungen trugen einen bedeutenden Anteil dazu bei. Mein Interesse am Fach wurde durch Praktika als Pflegekraft und späteren Famulaturen als Medizinstudent noch zusätzlich intensiviert. Das Gebiet der Endoprothetik hat mich auf meinem bisherigen medizinischen Weg besonders fasziniert. Es war daher ein besonderes Anliegen für mich, mein Studium mit einem orthopädischen Thema als Diplomarbeit abschließen zu können. Die Versuche im Labor stellten sich ebenfalls als äußerst interessant und vielfältig heraus. Die Zusammenarbeit mit dem Team der analytischen Chemie war eine sehr lehrreiche und positive Erfahrung für mich.

Danksagungen

Ich bedanke mich sehr bei Herrn Univ.-Prof. Dr. Klaus – Dieter Kühn für die wissenschaftliche Betreuung der Diplomarbeit und die Ermöglichung der Arbeit durch die Themenvergabe. Außerdem bedanke ich mich für die vielen Ratschläge und für die Bereitstellung des Materials wie des PMMA Knochenzements und der Antibiotika.

Ein großer Dank geht an Ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Walter Goessler, der als Vorstand des Instituts für Chemie immer ein offenes Ohr für Problemstellungen bei den Versuchen hatte. Des Weiteren bedanke ich mich für die Bereitstellung der Utensilien sowie die Möglichkeit, die Versuche am Institut für analytische Chemie durchführen zu können.

Ein besonders großer Dank gilt Herrn Oliver Steiner, Mitarbeiter am Institut für analytische Chemie, der mir während der Laborarbeiten zum Freund wurde. Bei Fragen oder Problemen konnte ich jederzeit Herrn Steiner um Hilfe ersuchen. Weiterhin bedanke ich mich für die Geduld, die er mir gegenüber als Medizinstudent trotz meines zu anfangs noch bescheidenen chemischen Wissens entgegenbrachte. Die Betreuung durch ihn während meiner Laborversuche hätte nicht angenehmer und konstruktiver sein können.

Ein weiterer großer Dank geht an Lisa Fasshold, ebenfalls Mitarbeiterin am Institut für analytische Chemie, die mir immer Hilfe bei offenen Fragen entgegenbrachte.

Des Weiteren möchte ich mich bei Herrn Univ.-Prof. Dr. med. univ. Andreas Leithner für die Bereitstellung der Forschungsgelder bedanken.

Ein weiterer Dank geht an meine Freundin Magdalena Reiter, an alle Freunde, die mich während des Studiums begleitet haben und an meine lieben Geschwister Johanna, Moritz und Theresa Schmid.

Darüber hinaus bedanke ich mich beim Team der Orthopädie am Klinikum Passau um Chefarzt Dr. Konrad Mayerhofer und Oberarzt Dr. Heinz Ziegler, welches es mir ermöglicht hat, Fotos zur Veranschaulichung durchführen zu können.

Abschließend möchte ich mich ganz besonders bei meinen lieben Eltern, Dr. Hubert Schmid und Dr. Marion Schmid, bedanken, die mich immer in allen Belangen unterstützt haben und bei Problemen aller Art immer die richtigen Ansprechpartner sind. Danke, dass ihr mir dieses Studium und alle Erfahrungen, die dazu gehören, ermöglicht habt.

Zusammenfassung

Die Protheseninfektion ist eine schwerwiegende Komplikation bei orthopädischen Eingriffen. Die Therapie beinhaltet unter anderem den Einsatz eines antibiotikahaltigen Polymethyl-methacrylat (PMMA) - Zement - Spacer. Verschiedene Antibiotika werden bereits in solchen Spacern verwendet. Durch die wachsende Anzahl von Protheseninfektionen mit multiresistenten gramnegativen Bakterien steigt der Bedarf am Einsatz von Carbapenemen wie Meropenem und Imipenem.

Die während der PMMA – Polymerisation entstehende Polymerisationswärme stellt allerdings ein großes Problem für die Stabilität hitzelabiler Antibiotika dar.

In dieser Studie wurde die Stabilität von den Carbapenem – Antibiotika vor und nach der Zumischung zu PMMA Knochenzementpulver getestet. Die Konzentration von Meropenem und Imipenem wurde mit Ionenpaar–Umkehrphasen–Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (IPRP-HPLC-UV) mit UV–Detektion ermittelt.

Die Versuche vor der Zumischung zu PMMA Knochenzement wurden in Lösung und in Pulverform bei verschiedenen Temperaturen (37°C, 45°C, 65°C und 90°C) und verschiedenen Zeitpunkten nach Erwärmung (30 min, 60 min, 120 min) durchgeführt.

Der höchste detektierte Abbau von Meropenem in Lösung betrug 75 %, der von Imipenem insgesamt 95 %. Bei den Versuchen in Pulverform beider Antibiotika erfuhr Meropenem eine Inaktivierung um insgesamt 5 %, Imipenem zeigte einen Abbau von maximal 13 %. Die Versuchsreihen mit Meropenem und Imipenem nach Zumischung zu PMMA Knochenzement (nach Polymerisation) wurden mit verschiedenen Knochenzementen durchgeführt. Der höchste Abbau von Meropenem im Knochenzement betrug 30 %, beim Imipenem waren es maximal 31 %.

Abstract

Prosthetic joint infection is a serious complication of orthopedic implant surgery. Treatment often includes the use of an antibiotic loaded Poly(methyl methacrylate) (PMMA) cement spacer. Several antibiotics are commonly used for the preparation of these spacers but due to the increasing number of infections with resistant gram negative bacteria there is a need for the use of carbapenem antibiotics such as Meropenem and Imipenem.

Unfortunately, the reaction heat generated during PMMA polymerisation in bone cements can be a major problem for the stability of heat labile antibiotics.

In this study, the stability of carbapenem antibiotics Meropenem and Imipenem is tested before and after admixture to PMMA bone cement powder. The concentration of Meropenem and Imipenem was determined by high performance liquid chromatography with ion-pairing reversed phase separation and ultraviolet detection (IPRP-HPLC-UV).

Tests before admixture to PMMA bone cement were performed in solution and solid at different temperatures (37°C, 45°C, 60°C, 90°C) and time points after heating (30 min, 60 min, 120 min). Highest degradation levels of Meropenem in solution were 75 %, Imipenem showed a degradation of 95 % at most. Tests of both antibiotics in solid showed a degradation of 5 % of Meropenem and Imipenem of 13 % at most. Test series with Meropenem and Imipenem after admixture to PMMA cement (after polymerization) were performed with different bone cements. The highest degradation level of Meropenem in the bone cement was 30 %, and 31 % for Imipenem.

Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 1 ANZAHL HÜFT - UND KNEIENDOPROTHESEN IN DEUTSCHLAND UND DEN USA (2005 - 2011)	18
ABBILDUNG 2 ROHE RATE PRO 100 000 EINWOHNER (10)	19
ABBILDUNG 3 POLYMERISATIONSREAKTION VON MMA ZU PMMA.....	21
ABBILDUNG 4 KRITERIEN ZUR DIAGNOSE EINER PERIPROTHETISCHEN INFEKTION	23
ABBILDUNG 5 GRAPHISCHE DARSTELLUNG DER ENTWICKLUNG VON BIOFILM AUF EINER IMPLANTATOBERFLÄCHE	26
ABBILDUNG 6 ANZAHL DER HÜFT - UND KNIE - PROTHESENWECHSEL IN DEUTSCHLAND UND DEN USA (2005 - 2011).....	28
ABBILDUNG 7 EXPLANTATION EINER INFIZIERTEN HÜFTPROTHESE	29
ABBILDUNG 8 GRUNDSTRUKTUR VON CARBAPENEMEN MIT BETALAKTAM-RING	33
ABBILDUNG 9 SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DER HYDROLYSE AM BEISPIEL VON IMIPENEM.....	35
ABBILDUNG 10 ELUTIONSRATE VON MEROPENEM IN PMMA KNOCHENZEMENT ÜBER 816 H	38
ABBILDUNG 11 ELUTIONSRATE VON IMIPENEM IN PMMA KNOCHENZEMENT ÜBER 72 H	40
ABBILDUNG 12 MEROPENEM KABI [®]	41
ABBILDUNG 13 IMIPENEM/CILASTATIN KABI [®]	44
ABBILDUNG 14 AGILENT HPLC 1260	50
ABBILDUNG 15 BESTANDTEILE DES KNOCHENZEMENTS.....	53
ABBILDUNG 16 FORMKÖRPER (25MM/12MM) UND FERTIGE ZEMENTKÖRPER.....	55
ABBILDUNG 17 PRÄPARAT AUS GUSSEISEN ZUR BESCHWERUNG DER FORMKÖRPER BIS ZUR ZEMENTAUSHÄRTUNG	56
ABBILDUNG 18 PHYSIKALISCHE ZERKLEINERUNG UND MAHLEN DES KNOCHENZEMENTS.....	56
ABBILDUNG 19 VERSCHIEDENE LÖSUNGSMITTEL ZUR AUFLÖSUNG VON PMMA KNOCHENZEMENT	57
ABBILDUNG 20 AUFLÖSUNGSPROZESS MIT MAGNETRÜHRER	60
ABBILDUNG 21 VERMUTETE KONZENTRATION AN ANTIBIOTIKUM IN WÄSSRIGER PHASE.....	60
ABBILDUNG 22 TUBE MIT ETHYLACETAT - PHASE UND WÄSSRIGER PHASE (LINKS) UND SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DER 2 PHASEN (RECHTS)	61
ABBILDUNG 23 VERSUCHSAUFBAU ZUR MESSUNG DER TEMPERATURENTWICKLUNG IM KNOCHENZEMENT (COPAL SPACEM [®]) ..	63
ABBILDUNG 24 CHROMATOGRAMM VON MEROPENEM: DARGESTELLT SIND STANDARD (BLAU) UND MESSWERT BEI PROBE NACH 120 MIN BEI 90 °C (ORANGE)	65
ABBILDUNG 25 CHROMATOGRAMM VON IMIPENEM/CILASTATIN: DARGESTELLT SIND STANDARD (BLAU) UND MESSWERT DER PROBE NACH 120 MIN BEI 90 °C (ORANGE)	66
ABBILDUNG 26 ABBAU VON MEROPENEM BEI 37 °C IN LÖSUNG (N=5)	66
ABBILDUNG 27 ABBAU VON IMIPENEM BEI 37 °C IN LÖSUNG (BLAU) UND PULVER (ORANGE)(N=5)	67
ABBILDUNG 28 ABBAU VON MEROPENEM BEI 45 °C IN LÖSUNG (BLAU) UND PULVER (ORANGE)(N=5).....	68
ABBILDUNG 29 ABBAU VON IMIPENEM BEI 45 °C IN LÖSUNG (BLAU) UND PULVER (ORANGE)(N=5)	68
ABBILDUNG 30 ABBAU VON MEROPENEM BEI 65 °C IN LÖSUNG (BLAU) UND PULVER (ORANGE)(N=5).....	69
ABBILDUNG 31 ABBAU VON IMIPENEM BEI 65 °C IN LÖSUNG (BLAU) UND PULVER (ORANGE)(N=5)	70
ABBILDUNG 32 ABBAU VON MEROPENEM BEI 90 °C IN LÖSUNG (BLAU) UND PULVER (ORANGE)(N=5).....	70
ABBILDUNG 33 ABBAU VON IMIPENEM BEI 90 °C IN LÖSUNG (BLAU) UND PULVER (ORANGE)(N=5)	71

ABBILDUNG 34 VERGLEICH VON WIEDERGEFUNDENEM MEROPENEM UND IMIPENEM NACH 30 MIN, 60 MIN UND 120 MIN IN LÖSUNG BEI VERSCHIEDENEN TEMPERATUREN (N=5)	72
ABBILDUNG 35 VERGLEICH VON WIEDERGEFUNDENEM MEROPENEM UND IMIPENEM NACH 120 MIN BEI VERSCHIEDENEN TEMPERATUREN IN PULVER (N=5)	74
ABBILDUNG 36 WIEDERGEFUNDENES MEROPENEM (250 MG) NACH DER POLYMERISATIONSREAKTION IN PALACOS [®] R (N=4), COPAL [®] G+V (N=3) UND COPAL [®] SPACEM (N=1); * KEINE STANDARDABWEICHUNG VORHANDEN, DA DER VERSUCH NUR EINMAL DURCHGEFÜHRT WURDE.....	76
ABBILDUNG 37 WIEDERGEFUNDENES IMIPENEM (250 MG) NACH DER POLYMERISATIONSREAKTION IN PALACOS [®] R (N=4), COPAL [®] G+V (N=3) UND COPAL [®] SPACEM (N=1); * KEINE STANDARDABWEICHUNG VORHANDEN, DA DER VERSUCH NUR EINMAL DURCHGEFÜHRT WURDE.....	77
ABBILDUNG 38 VERGLEICH VON WIEDERGEFUNDENEM MEROPENEM UND IMIPENEM (JEWEILS 250 MG) NACH DER POLYMERISATIONSREAKTION IN PALACOS [®] R (N=4), COPAL [®] G+V (N=3) UND COPAL [®] SPACEM (N=1); * KEINE STANDARDABWEICHUNG VORHANDEN, DA DER VERSUCH NUR EINMAL DURCHGEFÜHRT WURDE)	78
ABBILDUNG 39 VERGLEICH ZWISCHEN WIEDERGEFUNDENEM MEROPENEM UND IMIPENEM (JEWEILS 500 MG) NACH DER POLYMERISATIONSREAKTION IN COPAL [®] SPACEM (N=1)	79
ABBILDUNG 40 TEMPERATURENTWICKLUNG IN 30 G COPAL [®] SPACEM WÄHREND DER POLYMERISATION	79
ABBILDUNG 41 TEMPERATURENTWICKLUNG IN 30 G PALACOS [®] R WÄHREND DER POLYMERISATION	80
ABBILDUNG 42 TEMPERATURENTWICKLUNG IN 30 G COPAL [®] G+V WÄHREND DER POLYMERISATION	81

TABELLE 1 RISIKOFAKTOREN ZUR ENTSTEHUNG EINER ARTHROSE (5)	16
TABELLE 2 THERAPIEMÖGLICHKEITEN ZUR BEHANDLUNG DER ARTHROSE (7) (4)	17
TABELLE 3 KLASSIFIZIERUNG EINER PERIPROTHETISCHEN INFektion	23
TABELLE 4 RISIKOFAKTOREN ZUR ENTWICKLUNG EINER PROTHESENINFektion UND RELATIVES RISIKO (BEI 95 %-KI)	27
TABELLE 5 ANTIBIOTISCHE THERAPIE BEI GRAMNEGATIVEN PROTHESENINFektionen	33
TABELLE 6 BEISPIEL FÜR MESSERGEBNIS IN DER HPLC	42
TABELLE 7 ÜBERSICHTSTABELLE ÜBER DIE DURCHFÜHRTE UNTERSUCHUNGEN UND MENGEN AN EINGESETZTEM WIRKSTOFF *DIE METHODEN SIND IM FOLGENDEN (SIEHE KAPITEL 2.2.1) GENAUER BESCHRIEBEN	48
TABELLE 8 HPLC – METHODE ZUR MEROPENEMDETEKTION	51
TABELLE 9 HPLC - METHODE ZUR IMPENEMDETEKTION	51
TABELLE 10 ÜBERSICHTSTABELLE ÜBER DIE DURCHFÜHRTE UNTERSUCHUNGEN UND MENGEN AN EINGESETZTEM WIRKSTOFF NACH DER POLYMERISATION VON PMMA KNOCHENZEMENT	54
TABELLE 11 MESSERGEBNISSE VON MEROPENEM IN LÖSUNG TABELLARISCH (N=5)	73
TABELLE 12: MESSERGEBNISSE VON IMPENEM IN LÖSUNG TABELLARISCH (N=5)	73
TABELLE 13 MESSERGEBNISSE VON MEROPENEM IN PULVERFORM TABELLARISCH (N=5)	75
TABELLE 14 MESSERGEBNISSE VON IMPENEM IN PULVERFORM TABELLARISCH (N=5)	75
TABELLE 15 TEMPERATURENTWICKLUNG IN 30 G PALACOS® R, 30 G COPAL® G+V UND 30 G COPAL® SPACEM WÄHREND DER POLYMERISATION TABELLARISCH	82

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis

Eidesstaatliche Erklärung	2
Vorwort	3
Danksagungen	4
Zusammenfassung	6
Abstract	7
Abbildungsverzeichnis	8
Inhaltsverzeichnis	11
1 Einleitung	15
1.1 Arthrosis deformans	15
1.1.1 Bedeutung und Prävalenz.....	15
1.1.2 Pathogenese	15
1.1.3 Risikofaktoren.....	16
1.1.4 Symptomatik	16
1.1.5 Radiologisches Bild	16
1.1.6 Therapiemöglichkeiten.....	17
1.1.7 Operative Therapie.....	17
1.1.8 Rohe Rate pro 100 000 Einwohner.....	19
1.1.9 Ausblick.....	19
1.1.10 Material.....	20
1.2 Wechseloperationen	20
1.2.1 PMMA - Knochenzement	20
1.2.2 Periprothetische Infektionen.....	22
1.2.3 Klassifizierung.....	22
1.2.4 Diagnostik.....	23
1.2.5 Erregerspektrum.....	23
1.2.6 Gramnegative Protheseninfektionen	24
1.2.7 Rolle des Biofilms	25
1.2.8 Risikofaktoren zur Entstehung einer periprothetischen Infektion.....	27

1.2.9	Anzahl der Revisionseingriffe und Therapieoptionen	28
1.2.10	Chirurgische Therapie	29
1.2.11	Antibiotische Therapie	32
1.3	Carbapeneme	33
1.3.1	Wirkmechanismus	34
1.3.2	Weitere Betalaktam-Antibiotika	34
1.3.3	Rolle der Carbapeneme	34
1.3.4	Chemische Eigenschaften der Carbapeneme.....	35
1.3.5	Klinische Vertreter der Carbapeneme.....	36
1.4	Meropenem	37
1.4.1	Strukturformel Meropenem.....	37
1.4.2	Verwendung von Meropenem	37
1.4.3	Chemische Eigenschaften von Meropenem.....	37
1.4.4	Meropenem in PMMA Knochenzement.....	38
1.5	Imipenem.....	39
1.5.1	Strukturformel Imipenem.....	39
1.5.2	Verwendung von Imipenem	39
1.5.3	Kombination mit Cilastatin	39
1.5.4	Imipenem in PMMA Knochenzement	40
2	Material und Methoden.....	41
2.1	Temperaturstabilität von Meropenem und Imipenem vor der Zugabe zu PMMA Knochenzement.....	41
2.1.1	Versuchsreihe mit Meropenem.....	41
2.1.2	Versuchsreihe mit Imipenem	44
2.2	HPLC – UV - Methoden.....	48
2.2.1	High Performance Liquid Chromatography.....	50
2.3	Temperaturstabilität von Meropenem und Imipenem nach der Zugabe zu PMMA Knochenzement.....	51
2.3.1	Verfügbare Knochenzemente.....	52
2.3.2	Herstellung der Zementkörper	55
2.3.3	Physikalische Zerkleinerung des PMMA Knochenzements	56
2.3.4	Verschiedene chemische Lösungsmittel zur Auflösung von PMMA Knochenzement.....	57
2.3.5	Prüfung auf Interaktionen zwischen Polymer und Antibiotikum im Chromatogramm	58

2.3.6	Auflösung von antibiotikahaltigem PMMA - Zementpulver.....	58
2.3.7	Auflösung von PMMA Knochenzement ohne Antibiotikum	59
2.3.8	Versuche mit antibiotikahaltigem Knochenzement.....	59
2.3.9	Messung der Antibiotikakonzentration in der Ethylacetat - Phase.....	62
2.4	Messung der Temperatur während der Polymerisation in PMMA Knochenzement ..	63
3	Ergebnisse	64
3.1	Verdampfung des Probeninhalts in den Messreihen vor der Zugabe zu PMMA Knochenzement.....	64
3.2	Lösungsmittel.....	64
3.3	Temperaturstabilität von Meropenem und Imipenem vor der Zugabe zu PMMA Knochenzement.....	64
3.3.1	Chromatogramme von Meropenem und Imipenem (Standard und nach 120 min bei 90 °C)	65
3.3.2	Temperaturstabilität von Meropenem und Imipenem bei 37 °C in Lösung und Pulver	66
3.3.3	Temperaturstabilität von Meropenem und Imipenem bei 45 °C in Lösung und Pulver	68
3.3.4	Temperaturstabilität von Meropenem und Imipenem bei 65 °C in Lösung und Pulver	69
3.3.5	Temperaturstabilität von Meropenem und Imipenem bei 90 °C in Lösung und Pulver	70
3.3.6	Vergleich der Temperaturstabilität von Meropenem und Imipenem in Lösung und Pulver	72
3.4	Temperaturstabilität von Meropenem und Imipenem nach der Zugabe zu PMMA Knochenzement.....	75
3.4.1	Stabilität von Meropenem nach der Polymerisation in PMMA Knochenzement	76
3.4.2	Stabilität von Imipenem nach der Polymerisation in PMMA Knochenzement.....	77
3.4.3	Stabilitätsvergleich zwischen Meropenem und Imipenem nach der Polymerisationsreaktion in PMMA Knochenzement	78
3.5	Temperaturentwicklung während der Polymerisation in PMMA Knochenzement....	79
4	Diskussion.....	83
4.1	Ziel der Studie	83
4.2	Einsatz antibiotikahaltiger Knochenzemente	83
4.2.1	Mögliche Alternative zu ALBC	84

4.3	Limitationen dieser Diplomarbeit.....	84
4.4	Diskussion der Messergebnisse von Meropenem und Imipenem vor der Polymerisation	86
4.5	Diskussion der Messergebnisse von Meropenem und Imipenem nach der Polymerisation	87
4.5.1	Ethylacetat als Lösungsmittel.....	87
4.5.2	Temperaturentwicklung in PMMA Knochenzement.....	89
4.6	Mechanische Eigenschaften von ALBC.....	91
5	Conclusio	93
	Literaturverzeichnis.....	94

1 Einleitung

1.1 Arthrosis deformans

1.1.1 Bedeutung und Prävalenz

Die Arthrose, bekannt als Arthrosis deformans, zählt zu den degenerativen Gelenkserkrankungen und spielt für Menschen mittleren Alters sowie für ältere Personen eine entscheidende Rolle im Hinblick auf Arbeitsunfähigkeit und Invalidität (1). Die Lebenszeitprävalenz lag 2010 in Deutschland ab einem Alter von 65 Jahren für Frauen bei 52,9 %, für Männer bei 34,8 % (2). Die zunehmenden Kenntnisse und Möglichkeiten der modernen Medizin haben zur Folge, dass das Patientinnen- und Patienten Klientel zum einen älter wird, zum anderen höhere Ansprüche an das Versorgungssystem stellt. In den USA lag 2015 das Durchschnittsalter für einen primären Gelenkersatz der Hüfte bei 65,4 Jahren, bei einem primären Kniegelenkersatz bei 66,4 Jahren (3).

1.1.2 Pathogenese

Die höheren Ansprüche an die Medizin betreffen unter anderem auch den Bereich der Orthopädie und Unfallchirurgie aufgrund typischer altersspezifischer Beschwerden, wie die der degenerativen Gelenkserkrankung. Es handelt sich hierbei um einen durch Abnutzung bedingten Rückgang des Knorpelgewebes mit konsekutiver Schädigung des sich darunter befindlichen Knochens aufgrund einer Diskrepanz zwischen Belastung und der individuellen Fähigkeit eines Gelenks, Belastung zu kompensieren. Man unterscheidet zwischen der primären und sekundären Arthrose. Bei der Primären ist die exakte Ätiologie nicht bekannt, hier liegt ein minderwertiges Gewebe des Knorpels unklarer Genese vor. Die sekundäre Arthrose dagegen entsteht aufgrund von Stoffwechselstörungen, Traumata, fehlerhafter Belastung des Gelenks oder entzündlichen Prozessen (4).

1.1.3 Risikofaktoren

Ebenfalls zu berücksichtigen sind individuelle Risikofaktoren (siehe Tabelle 1). Hier wird dem Zusammenspiel von lokalen und systemischen Faktoren eine Rolle bei der Entwicklung einer Arthrose zugeordnet.

Lokale Risikofaktoren	Systemische Risikofaktoren
Adipositas	Alter
Verletzungen	Geschlecht
Berufstätigkeit	Hormone
Leistungssport	Ethnizität
Achsenstellung	Genetik
Beinlängendifferenz	Ernährung

Tabelle 1 Risikofaktoren zur Entstehung einer Arthrose (5)

Frauen haben Studien zufolge ein höheres Risiko zur Entwicklung einer Arthrose als Männer, was durch den Östrogenabfall während und nach der Menopause bedingt sein kann (5).

1.1.4 Symptomatik

Degenerative Erkrankungen des Gelenks sind besonders aus sozialmedizinischer Sicht von großer Bedeutung. Grund dafür ist die reduzierte Lebensqualität der Betroffenen aufgrund typischer klinischer Symptome wie anhaltende starke Schmerzen, Schwellung, Bewegungseinschränkung und anwachsende Deformation des betroffenen Gelenks (4).

1.1.5 Radiologisches Bild

Radiologisch präsentiert sich die Arthrosis deformans mit einer Verschmälerung des Gelenkspalts, Geröllzysten als Zeichen einer subchondralen Sklerosierung und Osteophyten im Randbereich des Gelenks. Häufig betroffen sind die Wirbelsäule (Spondylarthrosis deformans), außerdem Knie (Gonarthrose), Schulter (Omarthrose), Hüfte (Coxarthrose), die proximalen und distalen Zwischenfingerelgelenke (Bouchard- und Heberdenarthrose) und das Daumensattelgelenk (Rhizarthrose) (6). In Europa wird der Begriff „Arthrose“

bevorzugt, während man im angloamerikanischen Raum von der „Osteoarthritis“ (OA) spricht (4).

1.1.6 Therapiemöglichkeiten

Therapeutisch bieten sich der behandelnden Ärztin bzw. dem behandelnden Arzt mehrere Möglichkeiten zur Optimierung der Versorgung der Patientinnen und Patienten. Die Therapie der Arthrose kann symptomatisch und/oder kausal erfolgen. Sie umfasst einerseits einen konservativ medikamentösen und nichtmedikamentösen Ansatz, sowie andererseits eine operative Intervention. Neben der Behandlung oder Beseitigung von Risikofaktoren gelten folgende Richtlinien zur optimalen Therapie (siehe Tabelle 2):

Nichtmedikamentös	Medikamentös	Operativ
Gewichtreduktion	NSAR	Arthrodese
Körperliche Aktivität	Analgetika	Arthroskopie
Orthesen	Opiode	Gelenkersatz
Aufklärung	Psychopharmaka	Gelenkplastik
Kuren	Sexualhormone	Gelenkbiologie
Vitamine	Topische Behandlung	Gelenkmechanik
Mineralstoffe	Intraartikuläre Steroide	

Tabelle 2 Therapiemöglichkeiten zur Behandlung der Arthrose (7) (4)

Zum Bereich Gelenksbiologie zählen unter anderem Knochenanbohrungen zur Verbesserung der Durchblutung im Gelenk, Synovialektomie und Denervierung zur Veränderung der Gelenksmechanik. Eine Verbesserung der Gelenkmechanik beinhaltet eine Verminderung der Belastung des betroffenen Gelenks und eine Verbesserung der Kongruenz der artikulierenden Flächen (4).

1.1.7 Operative Therapie

Besonders die operative Therapie der Arthrose hat in den letzten Jahren immer mehr an Bedeutung zugenommen. In den USA beispielsweise war die Arthrose 2015 mit 70,3% die mit Abstand häufigste Indikation für einen operativen Eingriff an der Hüfte (3). Die Indikation für eine operative Intervention setzt sich zusammen aus dem Versagen von konservativer Therapie, radiologisch sichtbare morphologische Gelenksveränderung und stark reduzierter Lebensqualität der Patientinnen und

Patienten (8). Die Implantation eines künstlichen Gelenkersatzes gewinnt zunehmend an Bedeutung für den Bereich der Orthopädie und Unfallchirurgie. Der Gelenkersatz ist gekennzeichnet durch einen intraoperativen Austausch eines beschädigten Gelenks im Körper mit einem industriell gefertigten, aus künstlichem Material hergestelltem, Gelenk. Zu unterscheiden ist hier der Gelenktotalsatz, bei welchem alle artikulierenden Gelenkflächen ersetzt werden und der Gelenkteilersatz, bei welchem nur einzelne oder mehrere Gelenkflächen ausgetauscht werden (8).

Der Protheseneinbau erfolgt häufig unter Verwendung eines Knochenzementes, welcher die Prothese im Gelenk stabilisieren und den freien Raum zwischen Prothese und Knochen ausfüllt (9).

Die folgende Abbildung (siehe Abbildung 1) soll einen Einblick in die Fallzahlen von Hüft – und Kniegelenkersatz im Zeitraum 2005 bis 2011 in den Industrieländern Deutschland und USA geben (10):

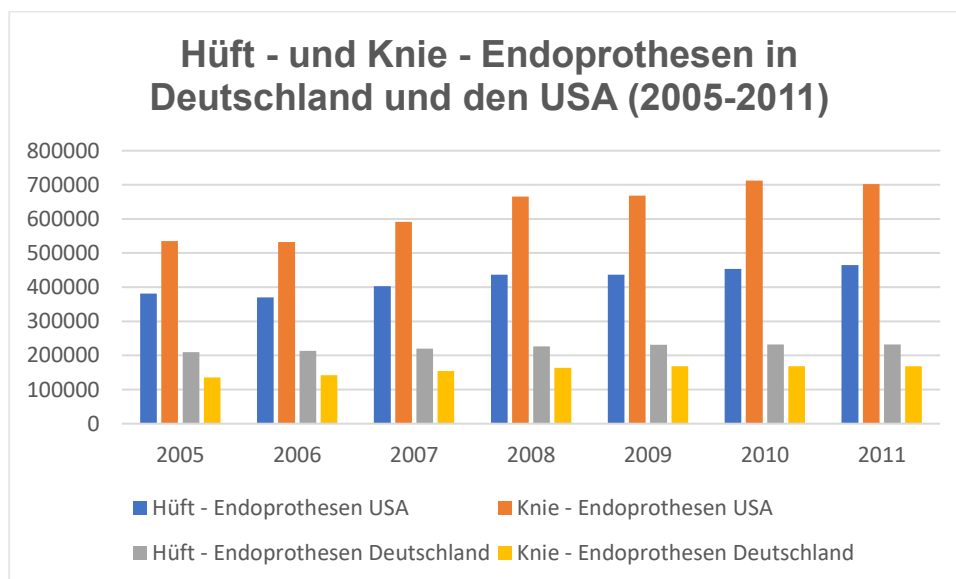


Abbildung 1 Anzahl Hüft - und Knieendoprothesen in Deutschland und den USA (2005 - 2011)

Wie in Abbildung 1 dargestellt, haben die Fallzahlen seit 2005 in beiden Ländern einen Anstieg erfahren. Die Erstimplantation von Hüftendoprothesen in Deutschland legte um insgesamt 11 % zu, in den USA sogar um 28 %. Die Anzahl der künstlichen Kniegelenkerstimplantation stieg in Deutschland um 22 %, die USA Fallzahlen wuchsen um 30 % (10).

1.1.8 Rohe Rate pro 100 000 Einwohner

Abbildung 2 soll die Anzahl der durchgeführten Gelenkersatzoperationen an Hüfte und Knie in Deutschland und den USA pro 100 000 Einwohner in den Jahren 2005 und 2011 darstellen. Auffallend ist, dass in Deutschland die Implantation einer Hüftprothese deutlich häufiger vorgenommen wird, während in den USA der Ersatz des Kniegelenks öfter zum Einsatz kommt. Die unterschiedliche Entwicklung der Fallzahlen der beiden Länder kann auf die demographischen Verschiedenheiten zurückgeführt werden (10).

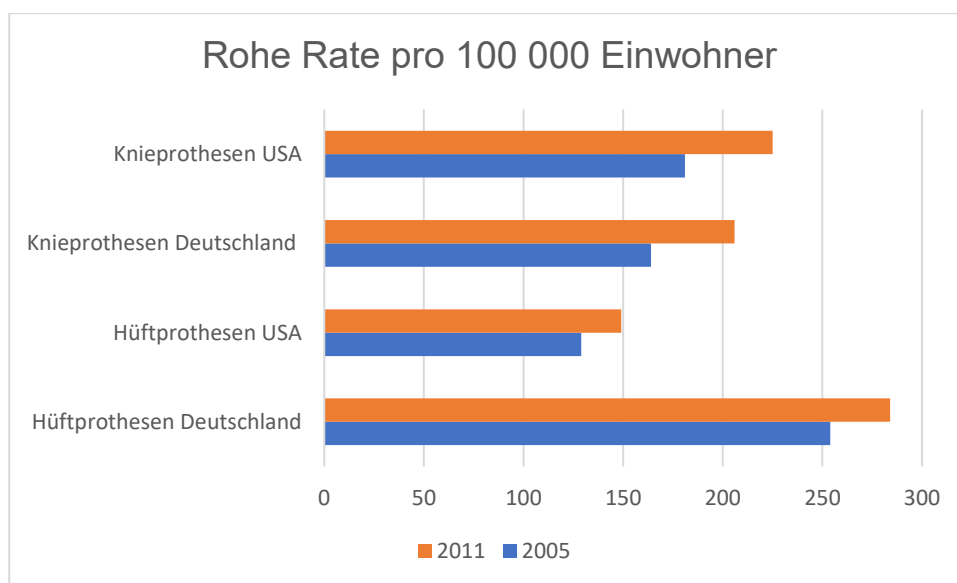


Abbildung 2 Rohe Rate pro 100 000 Einwohner (10)

1.1.9 Ausblick

Prognosen besagen, dass die Anzahl der Hüft – und Knieprothesenimplantationen in den USA bis 2030 um bis zu 174 % und 673 % ansteigen wird (11).

Für die Erstimplantation gilt, dass die künstlichen Gelenke als Langzeitimplantate solange wie möglich Symptombefreiheit und ausreichende Mobilisierung gewährleisten, im Optimalfall lebenslang.

1.1.10 Material

Diesem Anspruch können nur bestimmte Materialien als gelenkbildende Körper gerecht werden. Zum jetzigen Zeitpunkt kommen Metalle, Kunststoffe, Keramiken und bestimmte Knochenzemente zum Einsatz. Die Metalle dienen dabei als Kraftträger. Aufgrund von ausreichender Festigkeit und guter Gewebeverträglichkeit, haben sich Metalllegierungen behauptet: Eisen/Chrom/Nickel, Kobalt/Chrom, Kobalt/Nickel/Chrom/Molybdän und Titanium (4). Häufig werden die Materiale als Kombination eingesetzt. Beispiele sind Metall mit Polyethylen und Keramik mit Polyethylen. Andere Varianten sind gelenkbildende Körper vom gleichen Material, wie Metall mit Metall oder Keramik mit Keramik (12).

1.2 Wechseloperationen

1.2.1 PMMA - Knochenzement

Die implantierten Prothesen bieten Bakterien als Fremdkörper günstige Bedingungen zur Kolonisation der Oberfläche. Versuche an Tieren haben gezeigt, dass bei Fremdmaterialien eine deutlich niedrigere Dosis an Erregern (*Staphylococcus Aureus*) nötig war, um eine Abszessbildung auszulösen als ohne Fremdmaterial. Grund dafür ist die fehlende Erreichbarkeit des infizierten Bereichs für Neutrophile Granulozyten (13). Der operative Gelenkersatz kann zementiert oder nicht zementiert mit speziellen Knochenzementen erfolgen. Der Zement wird vor der Aushärtung nach vorheriger Präparation des Knochens in den Raum zwischen Prothese und Knochen gegeben. Der in der Endoprothetik eingesetzte Knochenzement ist häufig antibiotikahaltig. Zementierte Prothesen, die mit antibiotikahaltigem Knochenzement verankert sind, reduzieren das Risiko für eine Protheseninfektion nachweislich (13)(14). Knochenzemente werden meist auf Basis von Polymethylmethacrylat (PMMA) hergestellt. Solche Acrylate wurden zunächst in verschiedenen Anwendungsgebieten der Zahnmedizin eingesetzt, bevor spezielle Zusätze und Mischungen auch einen Einsatz in der Chirurgie zuließen. Der erste Einsatz von Knochenzement in der Orthopädie erfolgte 1958 bei einem Hüftgelenkersatz durch den Chirurgen Sir John Charnley (15).

PMMA Knochenzement entsteht durch die Beimischung von pulverförmigem Polymer zu flüssigem Monomer (MMA). Während der Aushärtung des Zements wird

zur Entwicklung einer tiefen Infektion um bis zu 50 % zu (18). Bei Knieprothesen liegt der Anteil an verwendeten Knochenzementen mit Antibiotika heute in vielen Ländern bei über 90 % (19).

Eine wesentliche Rolle für die lokale antibiotische Wirkung spielen die Stabilität der Antibiotika während der Polymerisation des Knochenzements und die Freisetzung über die Oberfläche. Die Freisetzung ist abhängig von der Art und Qualität des Antibiotikums, der Dichte und Oberflächencharakteristik des Zements und der Zusammensetzung des Polymerpulvers (16).

1.2.2 Periprothetische Infektionen

Durch die wachsende Zahl an Erstimplantationen steigt allerdings auch die Wahrscheinlichkeit von Komplikationen. (11) Eine dieser Komplikationen ist die periprothetische Infektion. Es handelt sich hierbei um ein schwerwiegendes Krankheitsbild, welches eine adäquate Zusammenarbeit zwischen Mikrobiologen, Infektiologen und Chirurgen in Anspruch nimmt (14). Aufgrund von sterileren Bedingungen und verbesserten Operationstechniken, sowie dem prophylaktischen Einsatz von Antibiotika, liegt das Risiko für die Entstehung einer Protheseninfektion bei 1 % - 2 % (11).

1.2.3 Klassifizierung

Man unterscheidet grundsätzlich zwischen akuter und chronischen Protheseninfektion. Eine weitere Klassifizierung bezieht sich auf den Beginn der Infektion (siehe Tabelle 3) (20).

Klassifikation	Beginn (postoperativ)	Typische Erreger
Frühinfektion	< 3 Monate	- Staph. Aureus - Gramnegative Bazillen (z.B. E. coli)
Verzögerte Infektion	3 – 4 Monate	- Koagulase negative Staphylokokken - Propionibakterium Acnes
Spätinfektion	< 24 Monate	- Staph. Aureus

		<ul style="list-style-type: none"> - Streptokokken - Gramnegative Bazillen
--	--	--

Tabelle 3 Klassifizierung einer periprothetischen Infektion

1.2.4 Diagnostik

Voraussetzung für die Diagnose ist das Vorliegen von mindestens einem der folgenden Kriterien (siehe Abbildung 4) (21):

Klinisches Bild:	Periprothetische oder intraartikuläre Suppuration, Fistelbildung,
Histologie:	Periprothetisch akut entzündliches Gewebe
Entzündungszellen (Punktat):	> 2000 Leukozyten/ μ l; > 70% granulozytärer Anteil
Mikrobiologie:	Nachgewiesene Erreger in: ≥ 2 Biopsien; ≥ 1 bei virulentem Erreger
	Nachgewiesene Erreger in: Gelenksflüssigkeit
	Nachgewiesene Erreger in: Sonikationsflüssigkeit ≥ 50 Kolonien/ml

Abbildung 4 Kriterien zur Diagnose einer periprothetischen Infektion

Der Infektionsweg erfolgt in zwei Drittel der Fälle per continuitatem exogen, hier sind überwiegend Keime der Haut ursächlich (22), oder in einem Drittel hämatogen. Letzterer liegt zumeist erst im zweiten postoperativen Jahr vor und ist häufig verbunden mit einer vorbestehenden Infektion.

1.2.5 Erregerspektrum

Das Erregerspektrum reicht von aeroben grampositiven und gramnegativen Keimen bis zu obligat anaeroben Erregern. Die aeroben grampositiven Bakterien nehmen mit ca. 65% den Hauptanteil der Gelenkinfektionen ein. Insgesamt sind hier vor allem Staphylokokken (44%), Streptokokken (14%) und Enterokokken (7%) für die Infektionen verantwortlich. Die gramnegativen aeroben Erreger verschulden 25% der Gelenkinfektionen.

Die übrigen 10% fallen an obligat anaerobe Keime. In seltenen Fällen können auch Pilze eine Protheseninfektion verursachen (22)(21).

1.2.6 Gramnegative Protheseninfektionen

Die Inzidenz der gramnegativen Infektionen ist im Vergleich zu der der grampositiven zwar deutlich reduziert, gramnegative Infektionen verlaufen aber häufig komplikationsreicher. Grund dafür ist die höhere Virulenz der Pathogene, die zunehmende Resistenz der zum Spektrum gehörenden Erreger gegenüber antibakteriellen Substanzen und die resultierenden Begleiterkrankungen für die Patientinnen und Patienten (23). Zusätzlich verlaufen die Gelenksinfektionen mit gramnegativen Pathogenen häufig polymikrobiell, was die Therapie einerseits erschwert und andererseits ein höheres Risiko für ein Versagen der antibiotischen Therapie zur Folge hat (24).

Zum Spektrum der gramnegativen Protheseninfektionen gehören unter anderem Enterobacteriaceae wie *Escheria Coli*, *Proteus*, *Klebsiellen.*, *Enterobacter* und *Salmonellen*. Weiters vertreten sind *Pseudomonas aeruginosa* und andere gramnegative Bakterien wie *Bacteroides fragilis*, *Pasteurella multocida* und *Alcaligenes xylosoxidans* (25). Die am häufigsten nachgewiesenen gramnegativen Keime auf infizierten Prothesen sind *Pseudomonas aeruginosa*, gefolgt von *Escheria Coli* und *Klebsiella pneumoniae* (11).

1.2.6.1 Pseudomonas aeruginosa

Die häufigste Infektion eines Implantats mit gramnegativen Keimen erfolgt durch *Pseudomonas aeruginosa*. Bei diesem Bakterium handelt es sich um ein opportunistisches, aerobes, gramnegatives Stäbchen, welches bei 10 – 20 % der Fälle häufig Grund für nosokomiale Infektionen ist (26)(27). Nachgewiesen wird der Erreger vor allem bei Pneumonien, Harnwegsinfektionen und in der Blutbahn (28). Zusätzlich sind Infektionen mit diesem Bakterienstamm für 4 – 6 % aller orthopädischen Infektionen verantwortlich. Bei infizierten Hüftprothesen konnte *Pseudomonas aeruginosa* in 10 % der Fälle nachgewiesen werden (29). Ein großes Problem in der Therapie stellt die weltweit zunehmende Rate an Infektionen mit multiresistentem *P. aeruginosa* dar (28). Bei einem multiresistenten *P. aeruginosa* (MDR) handelt es sich per Definition um einen mindestens gegenüber drei antimikrobiellen Substanzen (Aminoglykoside, Penicilline, Cephalosporine, Carbapeneme und Fluorquinolone) resistenten Keim. Das Bakterium hat verschiedene Strategien entwickelt, Resistenzen gegenüber Antibiotikagruppen zu

entwickeln. Eine verringerte Permeabilität der Membran oder spezielle Transportproteine sind dabei verantwortlich für Antibiotikaresistenzen. Sogar Carbapeneme wie Imipenem oder Meropenem sind eingeschränkt wirksam (28).

1.2.7 Rolle des Biofilms

Für die Pathogenese der Protheseninfektion durch die oben genannten Keime spielt die Produktion eines Biofilms eine zentrale Rolle (23). Bei einem Biofilm handelt es sich um eine Akkumulation von mikrobiellen Zellen einer oder mehrerer Arten, welche von einer eigens produzierten Matrix umhüllt werden und sowohl an biotischen, als auch an abiotischen Oberflächen anhaften. Die von den Zellen hergestellte extrazelluläre Matrix enthält Komponenten wie Exopolysaccharide, Proteine, Lipide, Teichonsäuren und Desoxyribonukleinsäure (DNA) und erreicht einen Durchmesser von ungefähr 50 µm (30)(20).

1.2.7.1 Entstehung des Biofilms

Die Entwicklung eines Biofilms erfolgt in einem Prozess aus mehreren Schritten. Die ersten beiden Schritte bestehen aus der Zelladhäsion und Zellanhäufung. Hier kann sich während dem Gelenkersatz intraoperativ ein auf der Oberfläche des Implantats haftender Film aus Proteinen wie Fibrinogen, Fibronectin und Vitronectin bilden. Dieser Film begünstigt eine bakterielle Besiedelung und führt zu Wechselwirkungen zwischen den Proteinen des auf dem Implantat haftenden Films und bakteriellen Proteinen. Es folgen eine mehrschichtige Zellproliferation und eine vermehrte Anhaftung von Zellen. Dies gipfelt in der Entwicklung einer oder mehrerer Mikrokolonien, welche in der Lage sind, eine Matrix aus Polysacchariden zu produzieren und von dieser umgeben sind. Zu diesem Zeitpunkt ist der Biofilm noch labil und anfällig für eine antibiotische Therapie. Im dritten Schritt findet die Biofilmreifung statt. Diese beinhaltet die Anordnung von Pili, Flagellen und Exopolysacchariden der Zellen im Biofilm. In diesem Stadium ist der Biofilm bereits reif und resistent gegenüber antibiotischer Eradikation. Der letzte Schritt ist die Zellablösung. Reife Biofilme sind in der Lage, Teile ihrer Oberfläche frei zu setzen, um eine umfangreichere lokale Besiedelung oder die eines weiter entfernten Areals zu ermöglichen (20). Abbildung 5 stellt die Entwicklung von Biofilm auf Implantatoberflächen graphisch dar.

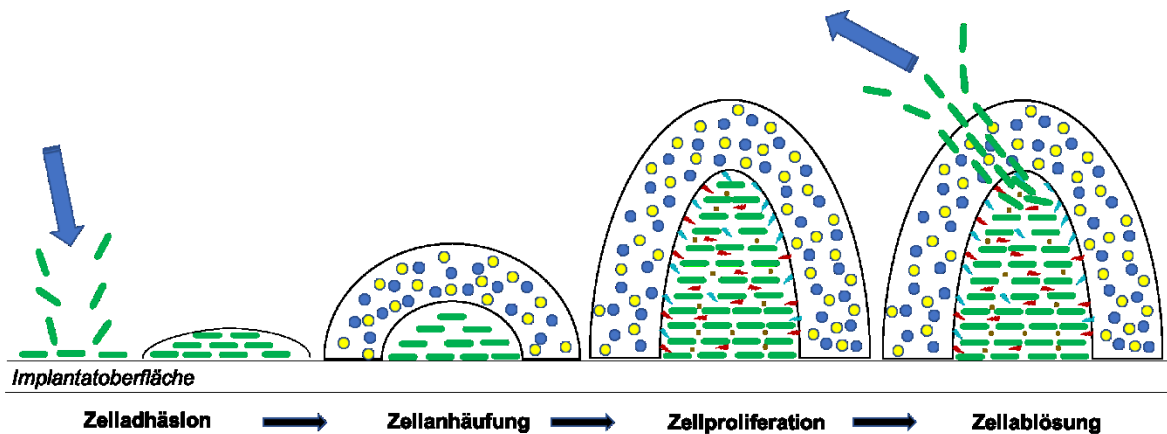


Abbildung 5 Graphische Darstellung der Entwicklung von Biofilm auf einer Implantatoberfläche

1.2.7.2 Rolle des Biofilms bei orthopädischen Eingriffen

Es wird geschätzt, dass über 65 % aller Infektionen beim Menschen auf die Bildung eines Biofilms zurückgehen. Daher erlangt das Thema „mikrobielle Biofilme“ zunehmend Aufmerksamkeit in Industrie, im alltäglichen und im klinischen Bereich. Besonders die in der Orthopädie wichtigen Materialien für die Endoprothetik wie Titan, Stahl, Keramik-Kobalt, Polyethylene und Polymethylmethacrylat (PMMA)-Knochenzement sind sehr anfällig für eine Besetzung durch Biofilm-produzierende Keime (20). Ein großes Problem bei der Keimbesezung dieser Materialien ist die Tatsache, dass bei Infektionen an Implantaten, im Gegensatz zu anderen Infektionen, keine spontane Heilung möglich ist. Bei reifen Biofilmen erreichen sogar Antibiotika mit hoher Affinität zum Biofilm-produzierenden Keim aufgrund der meist zu niedrigen Konzentrationen häufig keine ausreichende Wirkung, daher muss in den meisten Fällen chirurgisch im Sinne eines Prothesenwechsels interveniert werden (30)(31).

1.2.8 Risikofaktoren zur Entstehung einer periprothetischen Infektion

Bei manchen Patientinnen und Patienten besteht ein erhöhtes Risiko für die Entstehung einer periprothetischen Infektion. Zu den wichtigsten Risikofaktoren gehören unter anderem Adipositas, Diabetes Mellitus, Rheumatoide Arthritis und Depressionen. Soziodemographische Merkmale wie Geschlecht und Rauchverhalten spielen ebenfalls eine zentrale Rolle. Eine metaanalytische Studie befasste sich mit dem patientinnen- und patientenbezogenen Relativen Risiko zur Entstehung einer Gelenksinfektion nach primärem Gelenkersatz (siehe Tabelle 4)(18):

Risikofaktoren	Relatives Risiko (95%-KI)
Männlich vs. Weiblich	1,36
Rauchen vs. Nichtrauchen	1,83
BMI > 25 vs. BMI < 25	1,02
BMI > 30 vs. BMI < 30	1,60
BMI > 35 vs. BMI < 35	1,53
BMI > 40 vs. BMI < 40	3,68
Diabetiker vs. Nichtdiabetiker	1,74
Rheumatoide Arthritis (RA) vs. Keine RA	1,70
Depression vs. Keine Depression	1,48
Steroidverabreichung vs. Nichtverabreichung	1,68
Vorherige Gelenkoperationen vs. Keine vorherigen Gelenkoperationen	2,98

Tabelle 4 Risikofaktoren zur Entwicklung einer Protheseninfektion und Relatives Risiko (bei 95 %-KI)

Des Weiteren wird dem Prothesenmaterial eine Rolle bei der Entstehung einer Gelenkinfektion zugeteilt. Keramik mit Keramik zeigt auf lange Sicht (15 Jahre) ein reduziertes Risiko im Vergleich zu anderen Materialkombinationen. Ein höheres Risiko zeigen (in Reihenfolge von geringerem zu höherem Risiko) Keramik mit Polyethylen, Metall mit Polyethylen und Metall mit Metall (12). Patientinnen und Patienten in höherem Alter neigen ebenfalls zur Entwicklung einer periprothetischen Infektion. Im Alter zwischen 65 - 75 ist das relative Risiko gegenüber 45 – 65 - jährigen Patientinnen und Patienten um 3,36 (bei 95 % KI) erhöht (12).

1.2.9 Anzahl der Revisionseingriffe und Therapieoptionen

Die Zahl der Revisionseingriffe stieg in den vergangenen Jahren stark an (siehe Abbildung 6) (10).

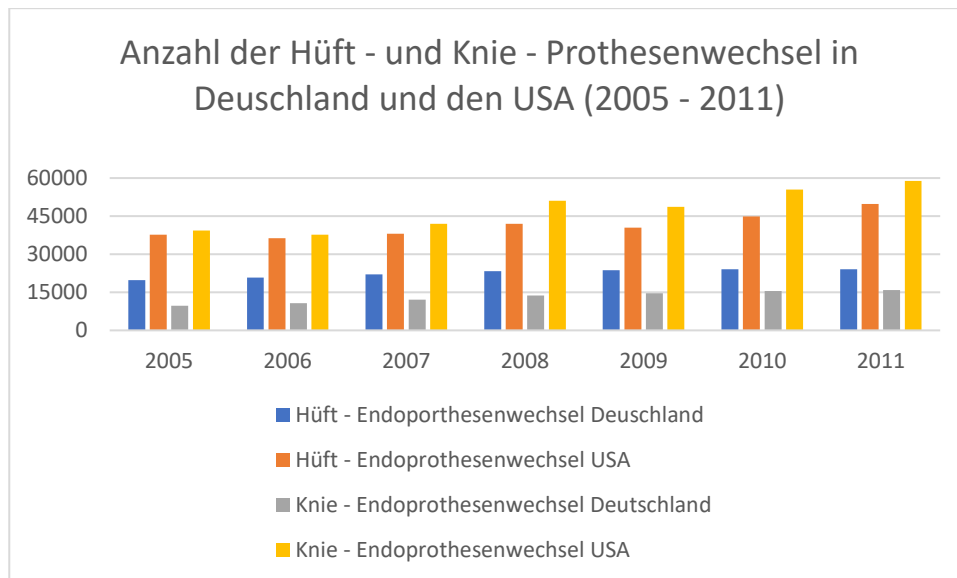


Abbildung 6 Anzahl der Hüft - und Knie - Prothesenwechsel in Deutschland und den USA (2005 - 2011)

Für die Therapie stehen verschiedene Ansätze zur Verfügung. Die Therapie beinhaltet einerseits chirurgische Interventionen und andererseits die Bekämpfung der infizierenden Keime mit antimikrobiellen Substanzen. Die chirurgische Therapie besteht häufig in einer Entfernung von infiziertem Gewebe und einem Implantatwechsel (10)(18). Das Entfernen von Gewebe und Explantation einer infizierten Prothese ist in Abbildung 7 bildlich dargestellt.

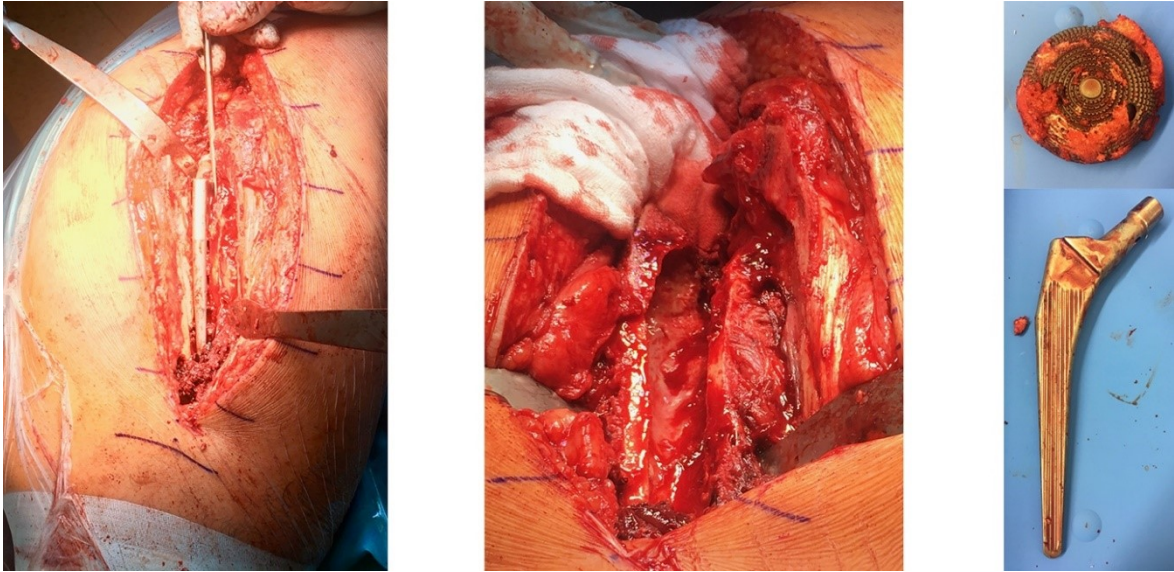


Abbildung 7 Explantation einer infizierten Hüftprothese

1.2.10 Chirurgische Therapie

Die Wahl der chirurgischen Therapie bezieht sich auf verschiedene Einflussfaktoren. So ist sie abhängig von der Infektdauer, von der Ausdehnung des Weichteilschadens, von der Implantatstabilität und der Erregerart. Maurer et al. (2005) beschrieben im Liestaler Behandlungsalgorithmus das chirurgische Vorgehen für Infektionen von Knieendoprothesen. Die Therapie richtet sich nach den oben genannten Kriterien und besteht entweder aus chirurgischem Débridement mit Saug – Spül - Drainage, einem einzeitigen Wechsel, einem zweizeitigen Wechsel mit Spacer oder einem zweizeitigen Wechsel ohne Spacer. Der zweizeitige Prothesenwechsel wird als Goldstandard zur Beherrschung der Gelenkinfektion angesehen (22). In der Literatur werden beim zweizeitigen Wechsel Keimeradikationen von über 90 % beschrieben (32).

1.2.10.1 Débridement bei Prothesenerhalt

Das Débridement kommt unter Erhalt der Prothese bei einer Symptombdauer von weniger als 3 Wochen bei festem Prothesensitz und keinem stattgefundenen Weichteilschaden zum Einsatz (33). Operativ kann hier zudem die Notwendigkeit einer Synovektomie, einer Lavage und Drainage erfolgen (34). Perioperativ und bis zu 6 Monate nach der Operation wird eine keimspezifische Antibiose angewandt. Ein Prothesenerhalt kann bei Débridement mit Saug – Spül – Drainage in 25 – 30% der Fälle erreicht werden (35).

1.2.10.2 Einzeitiger Prothesenwechsel

Bei einer andauernden Symptomatik über 3 Wochen und bei nicht geschädigtem Weichteilgewebe kann ein einzeitiger Prothesenwechsel vorgenommen werden, falls es präoperativ möglich ist, dem infizierenden Keim mit Antibiotika entgegenwirken zu können. Hier wird nach der Explantation der Prothese ein Débridement des Knochenzements und der Weichteile vorgenommen, außerdem eine intraoperative Antibiose eingeleitet und das Operationsinstrumentarium gewechselt. Der erneute Einbau einer Prothese erfolgt ausschließlich mit antibiotikahaltigem Knochenzement (34). Hier wird eine intravenöse Antibiotikatherapie bis zwei Wochen postoperativ, danach eine bis zu 6 Monate andauernde orale Antibiose empfohlen.

1.2.10.3 Zweizeitiger Wechsel

Der zweizeitige Wechsel kommt bei chronischen Infektionen und Spätinfektionen zum Einsatz, ebenfalls muss er bei Fisteln und geschädigtem Weichteilgewebe erfolgen. Er kann sowohl mit, als auch ohne Einsatz eines Spacers vorgenommen werden. Der Wechsel mit Einsatz eines solchen wird als langes Intervall bezeichnet, der Wechsel ohne Spacer als kurzes Intervall. Ein Spacer wird aus Knochenzement hergestellt und entsteht aus der Vorlage der Originalprothese oder wird industriell angefertigt (36). Besonders geeignet sind Spacer aus PMMA-Knochenzement (14).

1.2.10.4 Rolle und Funktion von PMMA-Knochenzement-Spacern

Der Einsatz von antibiotikahaltigen Spacern bringt den Vorteil, lokal hohe Konzentrationen von antimikrobiellen Substanzen erreichen zu können. Das Ziel ist die höchste mögliche Keimeradikation im umliegenden Gewebe (32). Diesbezüglich muss erwähnt werden, dass es Studien gibt, bei denen sich beim Einsatz eines antibiotikahaltigen Spacers keine Beschleunigung bei der Eradikation erkennen ließ und die den Spacern keine signifikante Rolle zur Kontrolle des Infektionsausmaßes zuschreiben (Larikov et al., 2012) (37).

Grundsätzlich entscheidet man zwischen statischen Spacern, die keine oder nur sehr begrenzte Bewegungen mehr ermöglichen, und gelenkbildenden oder dynamischen Spacern, die einen weitaus größeren Bewegungsumfang erlauben. In der Literatur werden beim Vergleich zwischen beiden Spacern am Kniegelenk

widersprüchliche Vor- und Nachteile beschrieben (36). Statische Spacer ermöglichen laut einigen Autoren eine suffizientere Keimeradikation im umliegenden Gewebe (38), andere Autoren beschreiben dynamische Spacer als eine nicht weniger suffiziente Wahl zur Keimbekämpfung (39).

Als großer Nachteil der statischen Spacer am Kniegelenk wird die mangelnde Bewegungsfähigkeit beschrieben, welche nach Entfernung des Spacers und anschließender Reimplantation einer neuen Prothese auftritt. Des Weiteren wird über Instabilitäten im Gelenk, insuffizienter Wundheilung und erschwerte Reimplantation aufgrund der durch den statischen Spacer veränderte Anatomie berichtet (36).

Es kann unter anderem zu einer Muskelverkürzung, zu einer Verdickung der Kapsel und zu Narbenbildung rund um das Gelenk kommen.

Dynamische Spacer ermöglichen neben einer suffizienten Keimentfernung eine Flexion und Extension im Kniegelenk zwischen den operativen Eingriffen. Insgesamt wird den dynamischen Spacern aufgrund des erleichterten Wiedereinbaus einer Prothese und des besseren Outcomes der Patientinnen und Patienten eine Überlegenheit gegenüber den statischen zugeteilt (36)(32)(18).

Die am häufigsten verwendeten und erhältlichen PMMA-Knochenzement-Spacer enthalten Tobramycin, Gentamicin, Vancomycin, Clindamycin und Colisitin (14).

Um eine ausreichende mechanische Stabilität des PMMA-Knochenzements gewährleisten zu können, wird empfohlen, dass der Anteil des Antibiotikums am Verhältnis zwischen Antibiotikum und Zementpulver nicht 10 % überschreiten sollte (32).

Nach Ablauf des Intervalls mit oder ohne Spacer kann das Einsetzen einer neuen Prothese und eine weitere antibiotische Abschirmung für bis zu 6 Monate angestrebt werden.

1.2.10.5 Arthrodesen mit Fixateur Externe

Bei Infektion der Prothese mit problematischen Keimen wie Methicillin – resistentem Staphylococcus aureus (MRSA), Enterokokken oder Pilzen wird auf den Einsatz eines Spacers verzichtet. Stattdessen wird in einem 6 – 8 - wöchigen Intervall nach Explantation der Prothese das Kniegelenk mit einem Fixateur Externe überbrückt und für 6 – Wochen eine antibiotische Therapie aufrechterhalten. Nach Absetzen der antibiotischen Therapie und Reimplantation

der Gelenksprothese wird bei diesem Verfahren in der Regel auf eine weitere Antibiotikagabe verzichtet (34)(33).

1.2.10.6 Dreizeitiger Wechsel

Alternativ beschreiben Renz et al. (2015) ein Therapieschema mit einer totalen Antibiotikadauer für insgesamt 12 Wochen. Hier wird zudem ein dreizeitiger Wechsel bei Problemkeimen, schlechtem Weichteilgewebe, Fisteln oder nicht zufrieden stellendem Verlauf nach zweizeitigem Wechsel beschrieben. Hier wird drei Wochen nach der Explantation des infizierten Gelenks ein neuerliches Débridement mit Wechsel des Spacers vorgenommen. Nach weiteren drei Wochen erfolgt der endgültige Einbau der neuen Prothese und eine anschließende 6 - wöchige Antibiose (21).

1.2.11 Antibiotische Therapie

Die Wahl der suffizientesten systemischen Antibiose richtet sich nach dem infizierenden Keim, welcher mittels Biopsie, Synovialflüssigkeit oder Sonikation zuvor eruiert wird. Die Dosierung muss den Patientinnen und Patienten individuell angepasst werden unter Berücksichtigung der Nierenfunktion, Leberfunktion, Allergien, Wechselwirkungen mit anderer Medikation, Nebenwirkungen und der Konstitution der Patientinnen und Patienten.

1.2.11.1 Antibiotische Therapie bei gramnegativen Erregern

Zur systemischen antibiotischen Therapie bei Infektionen mit gramnegativen Keimen stehen verschiedene Präparate zur Verfügung (siehe Tabelle 5) (40)(21).

Gramnegative Keime	Antibiotika
<i>Enterobacter spp.</i>	<ul style="list-style-type: none">- Cefepim oder- Ertapenem oder- Ciprofloxacin
<i>Enterobacteriaceae</i>	<ul style="list-style-type: none">- Beta-Laktam-Antibiotikum oder- Ciprofloxacin
<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	<ul style="list-style-type: none">- Piperacillin/Tazobactam oder- Meropenem oder- Cefepim oder- Tabromycin oder- Ciprofloxacin

Tabelle 5 Antibiotische Therapie bei gramnegativen Protheseninfektionen

Aminoglykosiden oder Carbapenemen wird sehr hohe Effizienz bei der Eradikation gramnegativer Keime zugeschrieben. Die Zugabe von Vancomycin zu Carbapenemen erhöht zusätzlich das Potential für die Therapie bei gramnegativen Protheseninfektionen (41).

1.3 Carbapeneme

Aufgrund der wachsenden Zahl von multiresistenten gramnegativen Bakterien ist der vermehrte Einsatz von Carbapenemen in der Revisionsendoprothetik erforderlich (32). Carbapeneme gehören zur Gruppe der Betalaktam-Antibiotika.

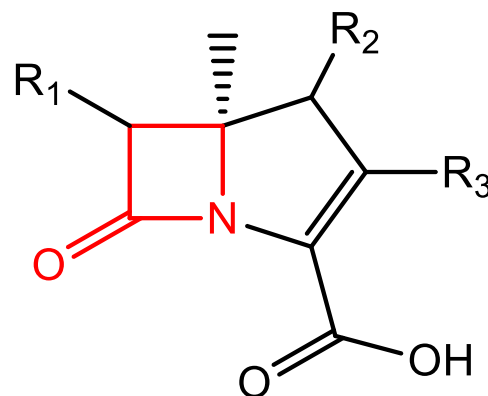


Abbildung 8 Grundstruktur von Carbapenemen mit Betalaktam-Ring

1.3.1 Wirkmechanismus

Betalaktam-Antibiotika sind in der Lage, die Zellwandsynthese der Bakterien zu verhindern, indem sie die für die Synthese wichtigen Penicillin-bindenden Proteine (PBP) ihrer Wirksamkeit berauben (42). Diese Proteine katalysieren die Vernetzung von Peptidoglykanen in der Zellwand (43). Betalaktame sind in der Lage, durch die Außenhülle ins Innere der Bakterien zu gelangen. Dort binden sie an die PBP, wodurch keine Zellwandsynthese mehr stattfinden kann. Infolge sammeln sich die Bausteine für die Bakterienwand im Zellinneren und lösen die Bildung von autolytischen Enzymen aus, welche eine Autolyse der Bakterienzelle hervorrufen (44).

1.3.2 Weitere Betalaktam-Antibiotika

Zu den Betalaktam-Antibiotika zählen neben den Carbapenem noch Penicilline, Cephalosporine und Monobactame. Um ein größeres Spektrum an Keimen erreichen zu können, werden Betalaktame häufig mit Betalaktamasehemmern kombiniert. Beispiele hierfür sind Amoxicillin/Clavulansäure oder Piperacillin/Tazobactam (45).

1.3.3 Rolle der Carbapeneme

Carbapeneme sind Reserveantibiotika und besitzen eine sehr hohe Potenz bei der Eradikation von grampositiven und gramnegativen Keimen. Sie decken zudem ein breiteres Spektrum an Keimen ab als Penicilline, Cephalosporine oder Kombinationen aus Betalaktam-Antibiotika mit Betalaktamasehemmern. Carbapeneme zählen zu den Betalaktamaseinhibitoren und weisen einen hohen Widerstand gegenüber der Hydrolyse durch Betalaktamase bildenden Bakterien auf (46).

1.3.3.1 Hydrolyse

Es existieren verschiedene Möglichkeiten zur Hydrolyse von Carbapenemen. Einerseits findet diese statt bei Carbapenemen in wässrigen Lösungen und hohen Temperaturen. Andererseits sind bestimmte Betalaktasen in der Lage, eine enzymatische Hydrolyse herbei zu führen (47)(48). Nukleophile können die Ringstruktur der Carbapeneme zerstören und machen diese instabil. Eine weitere

Möglichkeit zur Hydrolyse ist das Vorhandensein eines Protonendonators, welcher den Aminring chemisch instabil werden lässt (47). Während der Hydrolyse werden die Carbonylgruppe im Betalaktam-Ring und das tertiäre Amin gespalten. Es entsteht eine Carboxylgruppe und ein sekundäres Amin. Im nächsten Schritt erfolgt eine Decarboxylierung der Carboxylgruppe (siehe Abbildung 9)(49).

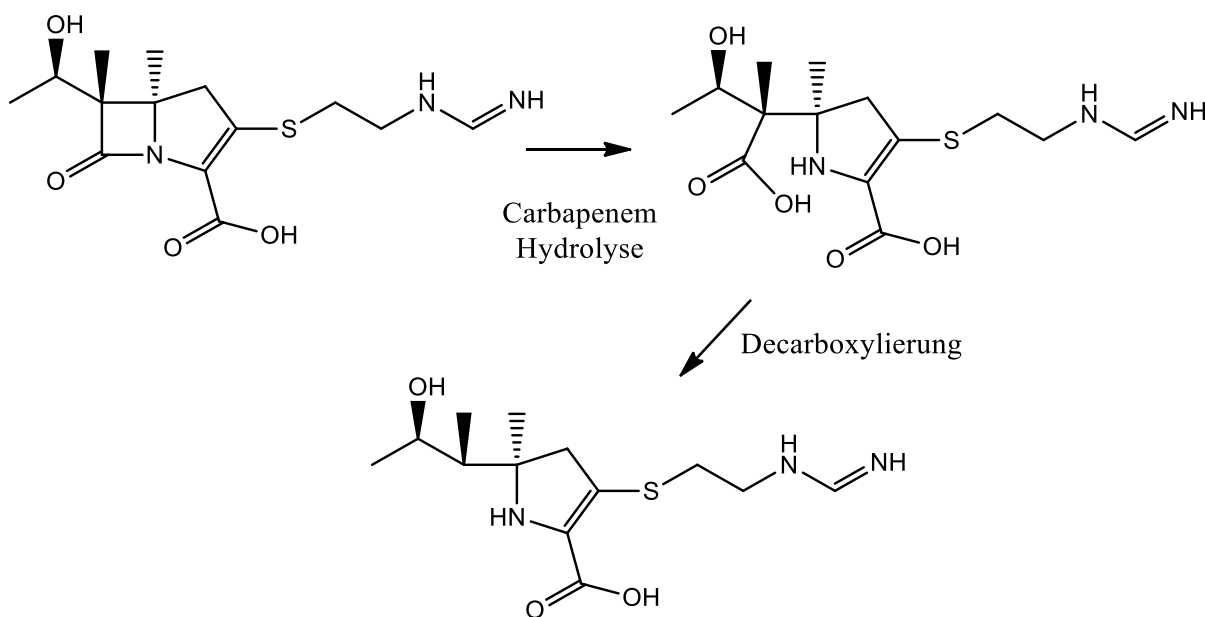


Abbildung 9 Schematische Darstellung der Hydrolyse am Beispiel von Imipenem

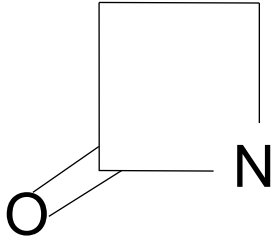
1.3.3.2 Betalaktamasen und Bioverfügbarkeit von Carbapenemen

Betalaktamasen sind von bestimmten Bakterien produzierte Enzyme und bewirken aufgrund ihrer katalytischen Funktion eine Durchbrechung des Betalaktam-Rings. Dadurch werden die Antibiotika inaktiviert und insuffizient (44). Zu den Betalaktamasen produzierenden Bakterienstämmen gehören unter anderem Extended Spectrum Betalactamase (ESBL) und AmpC-bildende Enterobacteriaceae. Alle Substanzen aus der Gruppe der Carbapeneme sind bakterizid wirksam (44). Für die systemische Therapie werden Carbapeneme wegen der geringen oralen Bioverfügbarkeit überwiegend intravenös verabreicht (46).

1.3.4 Chemische Eigenschaften der Carbapeneme

Das erste Carbapenem war Thienamycin, welches vom Bakterium *Streptomyces Cattleya* produziert wird. Auf dessen Grundlage wurden die weiteren Carbapeneme

entwickelt und modifiziert. Allen gemeinsam ist der Beta-Laktam-Ring, welcher als Grundstruktur der Carbapeneme dient.



Die nebenstehende Graphik zeigt den typischen Ring der Beta-Laktam-Antibiotika. Dieser kann durch Beta-Laktamasen durchbrochen und das entsprechende Antibiotikum unwirksam gemacht werden.

Darüber hinaus enthalten Carbapeneme typische Doppelbindungen an den C-2 und C-3 – Stellen. Sie unterscheiden sich zu den anderen Beta-Laktam-Antibiotika durch ein Kohlenstoffatom an der Stelle C-1 anstatt eines Schwefelatoms. Dem Kohlenstoffatom an der Stelle C-1 wird eine zentrale Rolle in Bezug auf das Ausmaß des Keimspektrums und die Wirksamkeit der Carbapeneme zugesprochen. Des Weiteren sorgt es für eine größere Widerstandsfähigkeit gegen Hydrolyse durch Beta-Laktamasen. Eine weitere Differenz in der chemischen Struktur besteht in der Hydroxyethyl-Seitenkette, welche ebenfalls eine wichtige Eigenschaft der Carbapeneme darstellt. Sie ist bestimmend für die stereochemischen Eigenschaften und Aktivität der Carbapeneme, sowie für die Stabilität gegenüber der Hydrolyse durch Beta-Laktamasen (46).

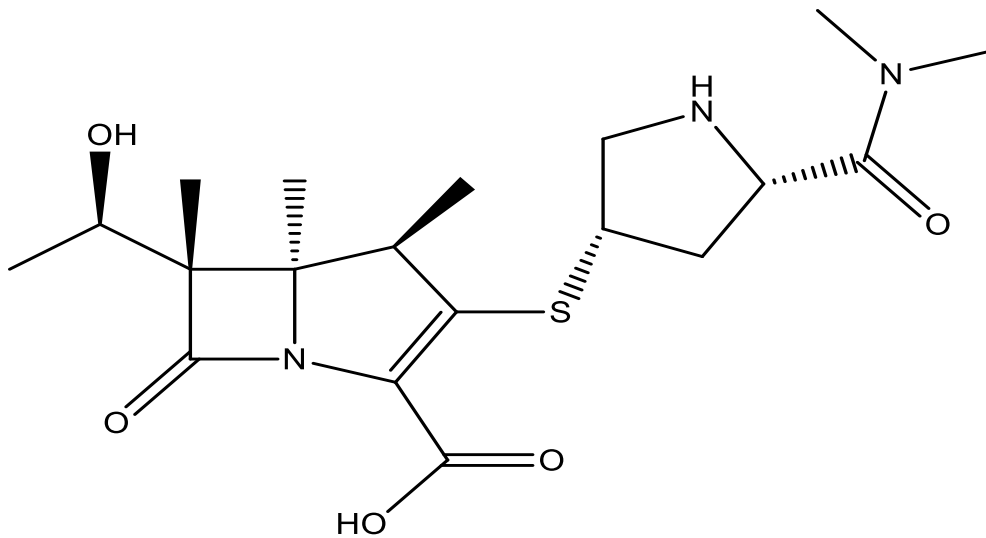
1.3.5 Klinische Vertreter der Carbapeneme

Die häufigsten klinisch angewandten Vertreter der Carbapeneme sind Imipenem/Cilastatin, Meropenem, Doripenem, Ertapenem, Panipenem-betamipron und Biapenem (46) (50).

Die Laborversuche, die im Rahmen dieser Arbeit zur Testung auf Stabilität von Carbapenemen im PMMA-Knochenzement stattfanden, wurden mit Imipenem/Cilastatin und Meropenem durchgeführt. Daher wird im Folgenden vor allem auf diese beiden Carbapeneme eingegangen.

1.4 Meropenem

1.4.1 Strukturformel Meropenem



Chemische Formel: $C_{19}H_{29}N_3O_5S$

Molekulargewicht: 411,52 g/mol

1.4.2 Verwendung von Meropenem

Insbesondere Meropenem, eine Substanz aus dieser Gruppe, kann bei schwerwiegenden gramnegativen Infektionen oder polymikrobiellen Mischinfektionen lokal angewendet werden (14). Meropenem wird eine höhere Affinität bei der Eradikation gramnegativer Bakterien zugesprochen als bei der Bekämpfung von grampositiven Erregern. Besonders wichtig ist die Substanz bei der Behandlung von Infektionen durch *Pseudomonas Aeruginosa*. Meropenem weist eine hohe Affinität zu PBP 2 (*Escheria Coli*, *Staphylococcus Aureus*), PBP 3 (*Pseudomonas Aeruginosa*) und PBP 6 (*Escheria Coli*) auf (50) (51). Zusätzlich kommt Meropenem eine bedeutende Rolle bei der Therapie von Tuberkulose (*Mycobacterium tuberculosis*) zu (52).

1.4.3 Chemische Eigenschaften von Meropenem

Meropenem gehört zu den Carbapenemen, die neben der typischen Grundstruktur einen Pyrrolidin-Ring aufweisen. Es handelt sich hierbei um einen fünfgliedrigen Aminring. Diese Eigenschaft ermöglicht die Eradikation eines breiteren Keimspektrums als bei Carbapenemen ohne Pyrrolidin-Ring (46).

1.4.4 Meropenem in PMMA Knochenzement

Experimente mit Meropenem in PMMA Knochenzement wurden bereits durchgeführt. In einer Studie wird die Konzentration von Meropenem an der Oberfläche von Knochenzement bis 34 Tage nach Anfertigung dargestellt. (siehe Abbildung 10). Je höher die Konzentration von Meropenem im Knochenzement ist, desto höher ist die Elution des Antibiotikums an der Oberfläche und desto länger ist sie messbar. Die Elution von Meropenem war bis 27 Tage nach Beimischung zu PMMA Knochenzement messbar. Darüber hinaus wurden Messungen zur Bioaktivität von Meropenem im Knochenzement zu verschiedenen Erregern durchgeführt. In diesen Versuchen zeigte sich Meropenem biologisch wirksam gegenüber *Staphylococcus aureus* (MSSA), *Pseudomonas aeruginosa*, *Escheria coli* und *Klebsiella pneumoniae* (16).

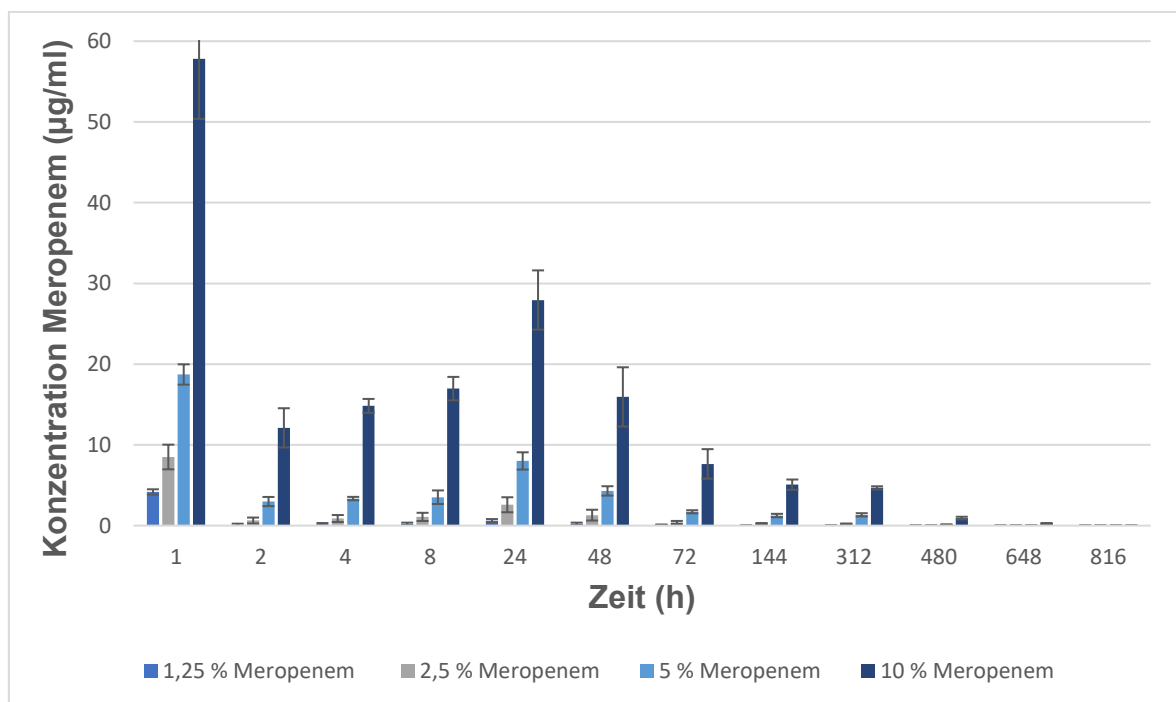
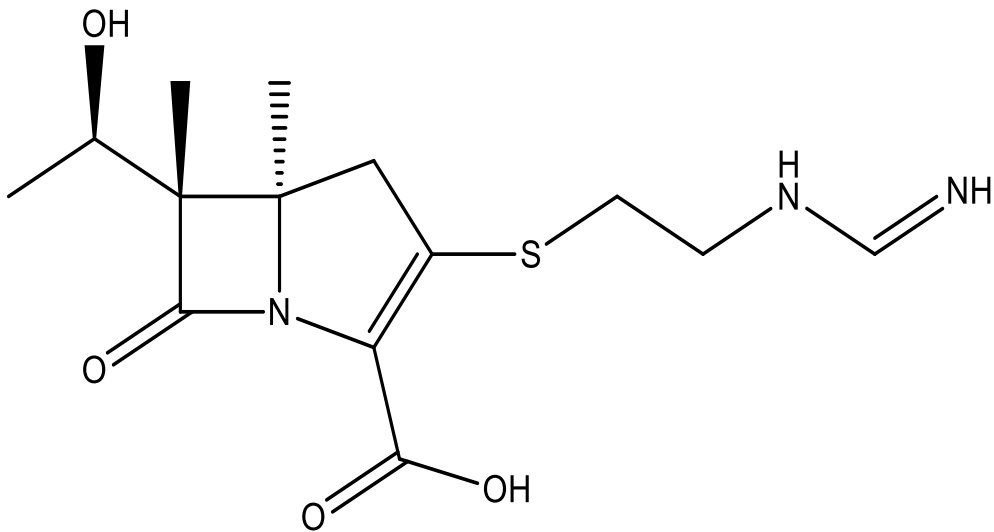


Abbildung 10 Elutionsrate von Meropenem in PMMA Knochenzement über 816 h

1.5 Imipenem

1.5.1 Strukturformel Imipenem



Chemische Formel: C₁₄H₂₁N₃O₄S

Molekulargewicht: 327,40 g/mol

1.5.2 Verwendung von Imipenem

Als perioperative, intravenöse Antibiose bei gramnegativen Protheseninfektionen wird in der Literatur auch der Einsatz von Imipenem, ebenfalls ein Carbapenem, empfohlen (11). Imipenem zeigt sich insgesamt suffizienter bei der Behandlung von grampositiven Keiminfektionen. Allerdings wird der Substanz auch eine wichtige Rolle bei der Bekämpfung von Infektionen mit gramnegativen Keimen wie *Acinetobacter Baumannii* und *Pseudomonas Aeruginosa* zuteil (46). Imipenem weist eine hohe Affinität zu PBP 1 (*Staphylococcus Aureus*), PBP 2 (*Escheria Coli*, *Staphylococcus Aureus*) und PBP 5 (*Escheria Coli*) auf (50) (51).

1.5.3 Kombination mit Cilastatin

Aufgrund eines gesteigerten Abbaus von Imipenem im Tubulussystem der Nieren durch das Enzym Dehydropeptidase – 1 wird dem Präparat für den klinischen Gebrauch häufig die Substanz Cilastatin, einem Dehydropeptidase – 1 Hemmer, beigemischt (42). Die beiden Substanzen unterscheiden sich im Hinblick auf Stabilität in Lösungen. Während Imipenem nach 15 min in Lösung einen deutlichen Abbau verzeichnet, bleibt Cilastatin bis zu 24 h in Lösung stabil (53).

1.5.4 Imipenem in PMMA Knochenzement

In der Literatur gibt es eine *in vitro* Studie, die sich mit Imipenem in PMMA Knochenzement in Kombination mit Vancomycin befasst. Dort wird die Elution von Vancomycin ohne und mit Imipenem-Cilastatin beschrieben. Ergebnis war eine deutlich höhere Elutionsrate von Vancomycin in Kombination mit Imipenem-Cilastatin. Ebenfalls wird erwähnt, dass Palacos R, welcher Gegenstand dieser Arbeit war, die höchste Elutionsrate gegenüber anderen Knochenzementen aufweisen konnte (54). Eine weitere Studie stellt die Elution von Imipenem aus PMMA Knochenzement-Kügelchen (Länge 12 mm, Durchmesser 7 mm, Simplex R®) dar (siehe Abbildung 11). In dieser Studie wurden 500 mg PMMA Knochenzement-Kügelchen mit 3,7 mg Imipenem (0,74 %) angefertigt und die Elution an verschiedenen Zeitpunkten gemessen. Die höchste Elutionsrate war nach 6 h messbar. Imipenem-Konzentrationen konnten noch nach 3 Tagen gemessen werden (55).

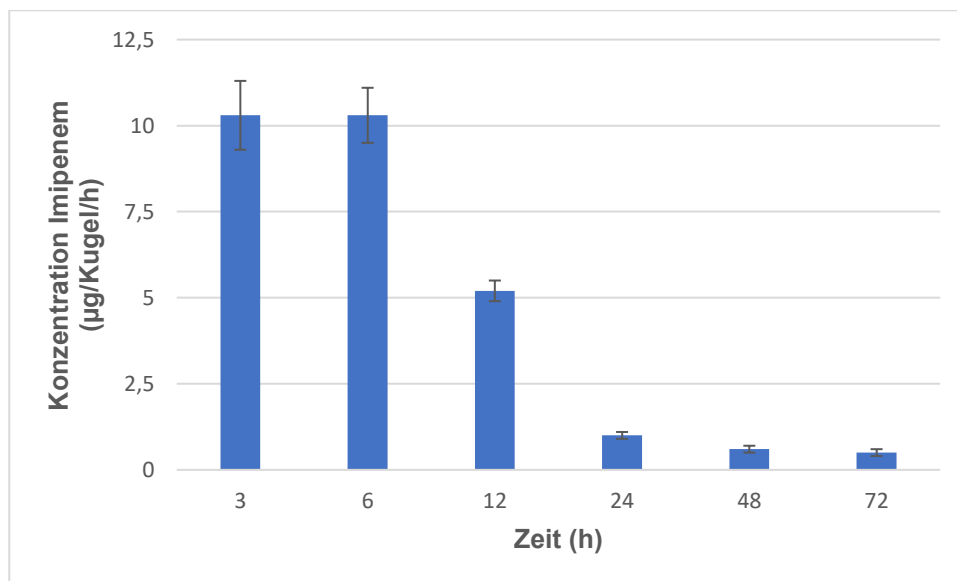


Abbildung 11 Elutionsrate von Imipenem in PMMA Knochenzement über 72 h

2 Material und Methoden

2.1 Temperaturstabilität von Meropenem und Imipenem vor der Zugabe zu PMMA Knochenzement

2.1.1 Versuchsreihe mit Meropenem

Alle Versuchsreihen wurden im Institut für Chemie und analytische Chemie für Gesundheit und Umwelt der Karl-Franzens-Universität in Graz durchgeführt.

Die erste Testreihe wurde mit Meropenem begonnen, wofür 2 g von Meropenem Kabi® (siehe Abbildung 12) zur Verfügung standen. 15 Proben mit Meropenem sollten auf 37°C erhitzt werden, wobei jeweils 5 Proben unterschiedlich lange im dafür verwendeten Ofen blieben, 30 min, 60 min und 120 min. Als Standard sollten 5 Meropenem - enthaltende Proben ohne vorherige Erwärmung dienen. Für alle Versuche für die Messungen vor Zugabe zu PMMA Knochenzement wurden Standards mit einer Konzentration von 1 mg/ml hergestellt. Alle Proben wurden vor der Erhitzung für die ersten Versuche mit Natriumchlorid verdünnt, für spätere Versuche mit Reinstwasser (milliQ – Wasser).

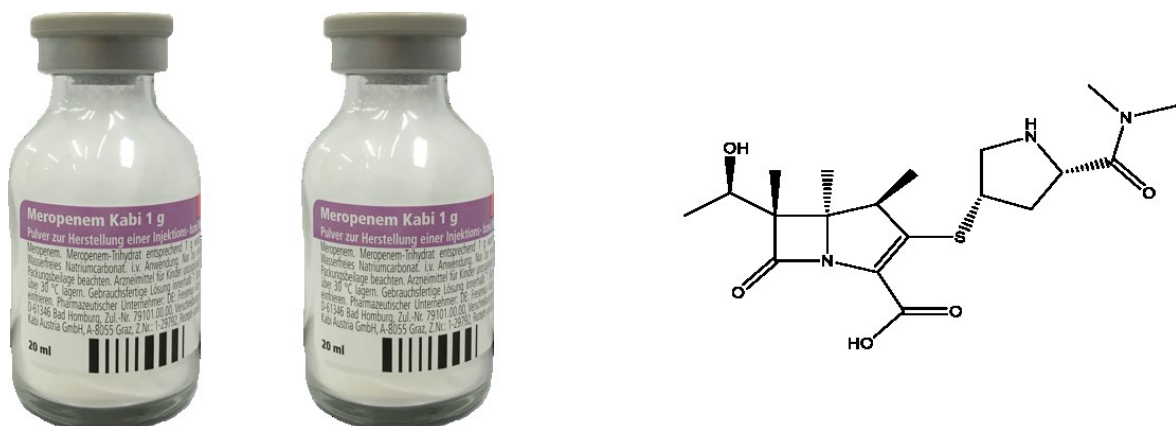


Abbildung 12 Meropenem Kabi®

Zu anfangs musste 1 Liter physiologische Kochsalzlösung hergestellt werden. Hier fanden sowohl 0,009 kg (=9 g) Natriumchlorid (NaCl) der Firma Sigma – Aldrich, als auch 1 Liter Milli Q Wasser, Klasse 1 Wasser, Verwendung. Die 9 g Natriumchlorid

wurden mittels einer Denver SI 234A Einwaage abgemessen. Genau 1 Liter Milli Q Wasser wurde mit einem Messzylinder ermittelt und zum NaCl gefüllt.

Es wurden 15 mg Meropenem mit einer Sartorius ME 235P Analysenwaage abgewogen und gleichzeitig in ein 15 ml fassendes steriles „Cellstar“ – Kulturröhrchen eingebracht. Anschließend wurde zur Verdünnung 15 ml Natriumchlorid hinzugegeben (Konzentration 1 mg/ml). Je 0,75 ml (750 µl) wurden mit einer Pipette in 20 Braunglasanalysen (Vilas) gefüllt. Jeweils 5 Vials wurden zuvor wie folgt gekennzeichnet: t=0, t=30, t=60 und t=120. Die t=0 Proben wurden neben 2 Proben, die reines Natriumchlorid enthalten, zur Chromatographie bereitgestellt. Dies ermöglichte eine Aussage über den ursprünglichen Zustand des in Lösung gegebenen Meropenems im Vergleich zu den erhitzten Proben, die nun in den auf 37°C erhitzten Ofen, ein Memmert UF 30 plus Modell, gegeben wurden. Nach jeweils 30 min, 60 min und 120 min wurden die auf 37°C erhitzten Proben aus dem Ofen genommen und zur Analyse durch die Chromatographie bereitgestellt. Auf eine Analyse des Meropenems in Pulverform wurde zunächst und in weiterer Folge aufgrund der Ergebnisse bei höheren Temperaturen verzichtet.

Die Chromatogramme der einzelnen Proben wurden mit einem PC am Arbeitsplatz mittels einer speziellen Software analysiert und die Flächen unterhalb des „Peak“ integriert. Die Flächen der Chromatogramme waren in mAU*S angegeben. Dies bedeutet „milli absorption units pro Sekunde“. Die Ergebnisse der integrierten Flächen wurden gespeichert und in Microsoft Excel kopiert. Ein Beispiel für ein Integral aus Excel findet sich in Tabelle 6.

#	Time	Area	Height	Width	Area%	Symmetry
1	0,958	1628,9	483,1	0,0562	100	8,34E-01

Tabelle 6 Beispiel für Messergebnis in der HPLC

In Excel kam die Berechnung von Mittelwert, Standardabweichung und relative Standardabweichung der Peaks aller Proben mit der jeweiligen Verweildauer im Ofen zur Geltung. Die Flächen der Messwerte wurden auf die Einwaage bezogen berechnet. Die drei Werte konnten nun jeweils tabellarisch bei 0 min (=Standard), 30 min, 60 min und 120 min dargestellt werden.

Es folgten weitere Messreihen mit Meropenem Kabi® bei den Temperaturen 45°C, 65°C und 90°C. Alle Versuche mit Meropenem wurden mit der oben bereits beschriebenen Methode durchgeführt. Der Ofen wurde zuvor auf die entsprechende Temperatur erhitzt.

Für die 45°C - Versuchsreihe wurden nach der Verdünnung mit NaCl auf 1 mg/ml wiederum 5 Proben als Standard verwendet, jeweils 5 weitere Proben für 30 min, 60 min und 120 min in den erhitzten Ofen gestellt.

Zusätzlich zu den Proben in Lösung wurden bei diesem Versuch weitere 5 Proben (beschriftet A - E) mit jeweils 5 mg Meropenem (auf 0,01 mg genau gemessen) für die Tests in Pulverform bereitgestellt. Die Proben wurden in 5 verschiedene Fläschchen eingewogen und 120 min bei 45°C in den Ofen gegeben. Da es sich um eine Flüssigkeitschromatographie handelte, mussten hier wiederum jeweils 5 ml NaCl zu dem Meropenempulver pipettiert werden, um eine Konzentration von 1 mg/ml zu erhalten. Der Inhalt wurde mit einem Vortexmischer gut zusammen gerührt und 1000 µl davon auf 5 Vials verteilt, jeweils ein Vial für eine Probe (A – E). Danach konnten die Proben zur Chromatographie zu den sich bereits in der HPLC befindlichen Proben in Lösung beigemischt werden. Auch hier wurden die Ergebnisse integriert und in Microsoft Excel übertragen.

Die Messreihe für Meropenem in Lösung bei 65°C begann mit der Einwaage von 15 mg Meropenem Kabi®. Auch hier wurden zusätzlich jeweils 5 Proben für die Messung in Pulverform bereitgestellt. Diese beinhalteten jeweils Messwerte von 5 mg und wurden nach dem Einwiegen für 120 min in den auf 65°C erhitzten Ofen gestellt. Vor der Chromatographie mussten die Proben jeweils mit 5 ml NaCl befüllt werden, um eine Konzentration von 1 mg/ml zu erhalten. Die Proben in Lösung wurden mit 15 ml NaCl ebenfalls auf eine Konzentration von ca. 1 mg/ml gebracht. Die ersten 5 Proben in Lösung kamen bei 0 min (=Standard) zur Chromatographie, die weiteren, jeweils 5, nach 30 min, 60 min und 120 min nach Erhitzung auf 65°C. Die Ergebnisse wurden integriert und in Excel übertragen.

Die letzte Messreihe mit Meropenem vor der Zumischung zum Zementpulver erfolgte bei 90°C. Die Einwaage für die Versuchsreihe in Lösung betrug 15 mg mit Meropenem Kabi®. Diese wurde mit 15 ml NaCl auf eine Konzentration von 1 mg/ml gebracht. Für die Messung im Pulver wurden 5 Fläschchen befüllt und beschriftet (A – E), pro Flasche 5 mg Meropenem. Jede Probe wurde in den auf 90°C erhitzten Ofen gestellt, nach 120 min herausgenommen, mit 5 ml NaCl befüllt und zur

Chromatographie gegeben. Zuvor waren die Proben in Lösung nach 0 min (=Standard), 30 min, 60 min und 120 min chromatographiert worden. Die Ergebnisse des Meropenems bei 90°C in Pulver und Lösung wurden in Microsoft Excel übertragen und graphisch dargestellt. Um eine potentielle Verdampfung des Inhalts der Proben bei 90°C erkennen zu können, wurden die Proben der 30 min - und 60 min – Messreihe vor der Erhitzung im Ofen und nach dem Aufenthalt in diesem gewogen.

2.1.2 Versuchsreihe mit Imipenem

Die Versuchsreihen mit Imipenem starteten, wie zuvor die Messungen mit Meropenem, bei 37°C. Der Ablauf der Versuchsreihen war nahezu deckungsgleich mit den vorherigen Versuchen mit Meropenem. Für die Tests standen 3 Kombipräparate der Firma Kabi® zur Verfügung (siehe Abbildung 13), welche jeweils 500 mg Imipenem und 500 mg Cilastatin beinhalten.

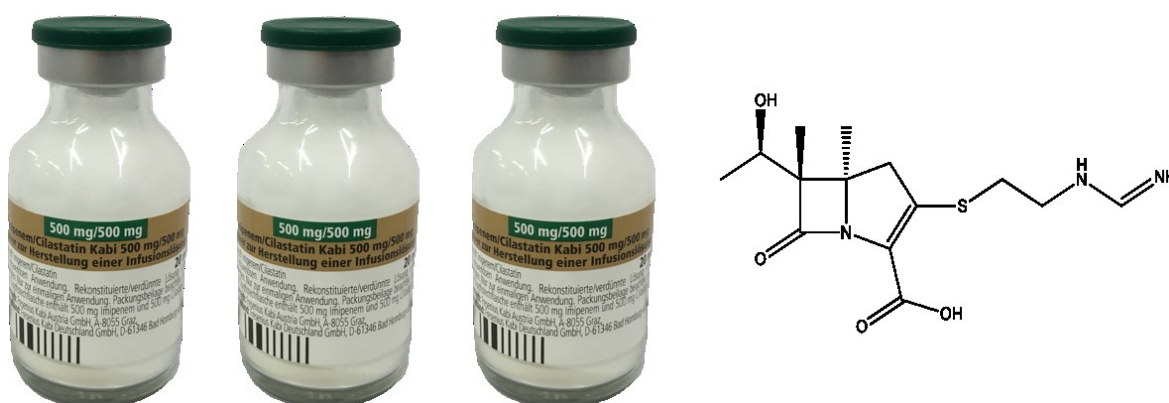


Abbildung 13 Imipenem/Cilastatin Kabi®

Es sollten Erkenntnisse darüber gesammelt werden, wie stabil sich das Imipenem bei den Temperaturen 37°C, 45°C, 65°C und 90°C zeigt. Dazu wurde Imipenem/Cilastatin in den zuvor erwärmten Memmert UF 30 plus Ofen für 30 min, 60 min und 120 min gegeben. Für die 37°C Messreihe wurden zunächst 30 mg Imipenem/Cilastatin Kabi® eingewogen und mit 15 ml NaCl verdünnt, um eine Konzentration von 1 mg/ml für das Imipenem zu erhalten. Zusätzlich kam eine Messung in Pulverform zum Einsatz. Dafür wurden 5 Proben mit jeweils 5 mg des Kombipräparats bereitgestellt und für 120 min in den Ofen gegeben. Diese wurden

jeweils mit 2500 µl NaCl verdünnt, da davon ausgegangen wurde, dass sich in 5 mg des Kombipräparats Imipenem/Cilastatin 2,5 mg Imipenem befinden, welche wiederum auf eine Konzentration von 1 mg/ml gebracht werden sollten.

Aufgrund der unterschiedlichen chemischen Eigenschaften von Imipenem im Vergleich zu Meropenem kam eine differente Methode für die Chromatographie zur Geltung.

Die Ergebnisse der Chromatographie wurden analysiert, in Microsoft Excel übertragen und graphisch dargestellt.

Die Versuche und die Ergebnisanalysen für die Messreihen für 45°C und für 65°C wurden identisch zu den Versuchen der 37°C – Reihe durchgeführt. Die Einwaagen für die Versuche in Lösung bei 45°C betrug 30 mg. Für die Messung mit 65°C lag der Messwert ebenfalls bei 30 mg.

Es folgten die Versuchsreihe für Imipenem bei 90°C. Die Einwaage für die Versuche in Lösung betrug 30 mg. Das weitere Vorgehen war identisch zu den bereits beschriebenen Versuchen mit den entsprechenden Temperaturen. Um Wirkstoff zu sparen, wurden für die Pulver - Messreihe 5 Proben mit jeweils nur 2 mg des Imipenem/Cilastatin eingewogen. Dementsprechend wurde 1 ml NaCl dem Inhalt hinzugefügt, woraus eine Konzentration von 1 mg/ml für das Imipenem resultierte. Die fertigen Proben wurden in die HPLC gegeben und chromatographiert. Nach dem Übertragen der Ergebnisse in Excel waren die Messungen der beiden Antibiotika im Hinblick auf ihre Temperaturstabilität vor der Beimischung in PMMA – Pulver und des nachfolgenden Polymerisationsvorgangs abgeschlossen. In Tabelle 7 sind die Wirkstoffe, die Mengen, die Untersuchungen und die angewandten Methoden in den Versuchen vor der Zugabe der beiden Antibiotika zum PMMA Zementpulver zur besseren Übersicht tabellarisch dargestellt.

Wirkstoff	Untersuchung	Menge an eingesetztem Wirkstoff (in mg)	Methode *
Meropenem	Abbau in Lösung nach 30 min (n=5) 60 min (n=5) und 90 min (n=5) bei 37 °C	15	Meropenem - Methode
Meropenem	Abbau in Lösung nach 30 min (n=5), 60 min (n=5) und 90 min (n=5) bei 45 °C	15	Meropenem - Methode
Meropenem	Abbau in Lösung nach 30 min (n=5), 60 min (n=5) und 90 min (n=5) bei 65 °C	15	Meropenem - Methode
Meropenem	Abbau in Lösung nach 30 min (n=5), 60 min (n=5) und 90 min (n=5) bei 90 °C	15	Meropenem - Methode
Meropenem	Abbau in Pulverform nach 120 min bei 45°C (n=5)	25	Meropenem - Methode

Meropenem	Abbau in Pulverform nach 120 min bei 65°C (n=5)	25	Meropenem - Methode
Meropenem	Abbau in Pulverform nach 120 min bei 90°C (n=5)	25	Meropenem -Methode
Imipenem/Cilastatin	Abbau in Lösung nach 30 min (n=5), 60 min (n=5) und 90 min (n=5) bei 37 °C	30	Imipenem - Methode
Imipenem/Cilastatin	Abbau in Lösung nach 30 min (n=5), 60 min (n=5) und 90 min (n=5) bei 45 °C	30	Imipenem -Methode
Imipenem/Cilastatin	Abbau in Lösung nach 30 min (n=5), 60 min (n=5) und 90 min (n=5) bei 65 °C	30	Imipenem - Methode
Imipenem/Cilastatin	Abbau in Lösung nach 30 min (n=5), 60 min (n=5) und 90 min (n=5) bei 90 °C	30	Imipenem Methode

Imipenem/Cilastatin	Abbau in Pulverform nach 120 min bei 37 °C (n=5)	25	Imipenem - Methode
Imipenem/Cilastatin	Abbau in Pulverform nach 120 min bei 45 °C (n=5)	25	Imipenem - Methode
Imipenem/Cilastatin	Abbau in Pulverform nach 120 min bei 65 °C (n=5)	25	Imipenem - Methode
Imipenem/Cilastatin	Abbau in Pulverform nach 120 min bei 90 °C (n=5)	10	Imipenem - Methode

*Tabelle 7 Übersichtstabelle über die durchgeführten Untersuchungen und Mengen an eingesetztem Wirkstoff
Die Methoden sind im Folgenden (siehe Kapitel 2.2.1) genauer beschrieben

2.2 HPLC – UV - Methoden

Die Konzentrationen der Antibiotika wurden mittels Ionenpaar-Umkehrphasen-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie mit UV-Detektion (IPRP-HPLC-UV) bestimmt.

Bei dem Chromatographie - Gerät handelte es sich um ein Agilent 1260 Series HPLC System (siehe Abbildung 14). HPLC steht für „High Performance Liquid Chromatography“ und dient zur chemischen Analyse des Zerfalls des Meropenems. Die Chromatographie ist in der Lage, einen Substanzverlust pro Zeit zu detektieren und benötigt eine stationäre und eine mobile Phase. Als stationäre Phase diente für beide Antibiotika eine Zorbax Eclipse XDB – C18 50 x 4,6 mm, 1,8 µm Säule. Für die mobile Phase waren zwei basische Tetrabutylammoniumhydroxid – Lösungen (A und B) in Verwendung. Diese setzten sich folgendermaßen zusammen:

Mobile Phase A:

12 g Tetrabutylammoniumhydroxid (TBAOH), aufgelöst in 780 ml Wasser; dem werden 150 ml Acetonitril (ACN) und 70 ml Methanol (MeOH) beigemengt; Der pH – Wert wird mittels Phosphorsäure (H₃PO₄) auf 7,5 eingestellt.

Mobile Phase B:

12 g Tetrabutylammoniumhydroxid, aufgelöst in 1000 ml Wasser; Der pH – Wert wird mittels Phosphorsäure (H₃PO₄) auf 7,5 eingestellt.

2.2.1 High Performance Liquid Chromatography

Die folgende Abbildung zeigt die im Labor verwendete HPLC mit den beiden mobilen Phasen A und B. Die HPLC - Methoden für Meropenem und Imipenem werden im Folgenden dargestellt (siehe Tabelle 8 und Tabelle 9)

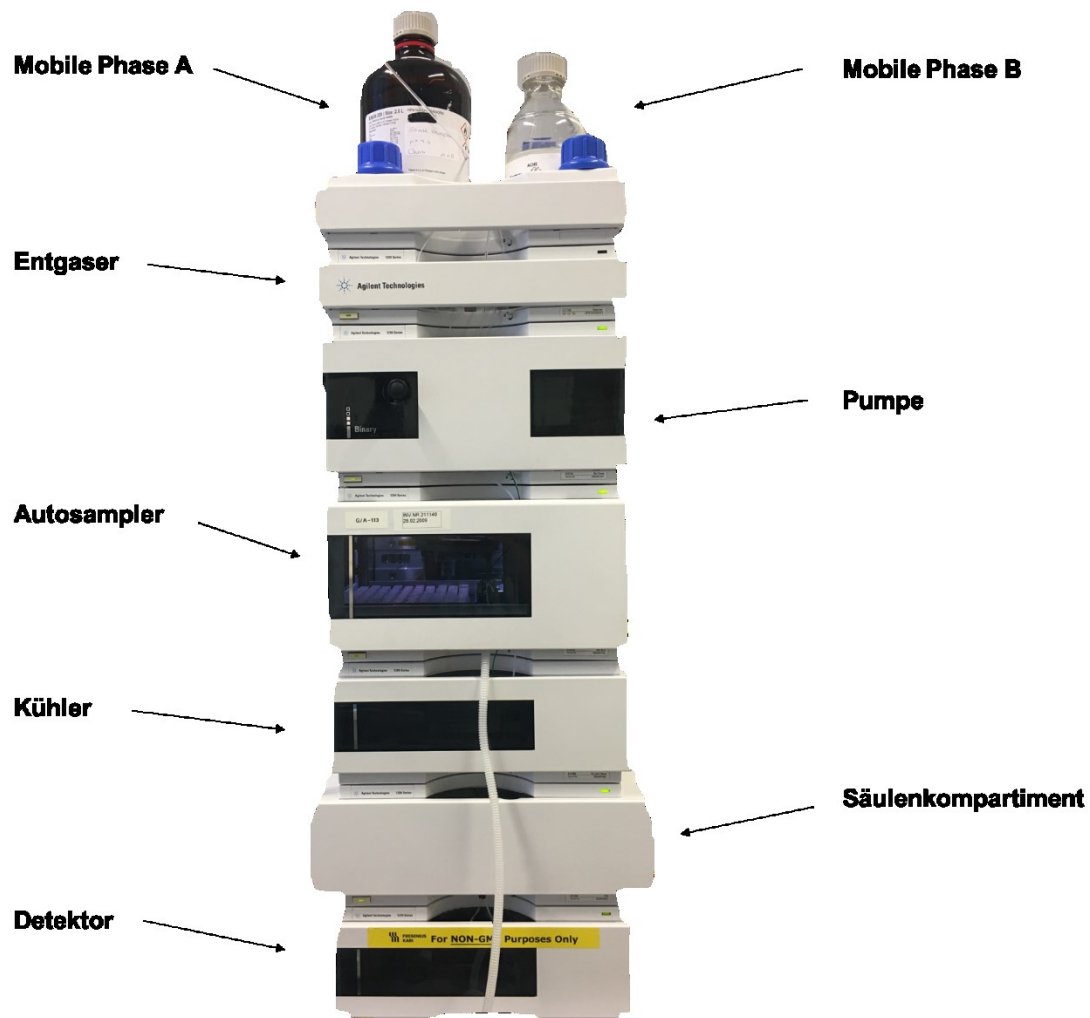


Abbildung 14 Agilent HPLC 1260

Im Wesentlichen benötigt die HPLC eine mobile Phase, eine Pumpe, einen Injektor, eine stationäre Phase und einen Detektor. Das Zusammenspiel dieser Elemente liefert die fertigen Chromatogramme, welche über eine Software auf umstehende Computer übermittelt wurden.

Für die Meropenem Versuche kam folgende Methode zur Flüssigkeitschromatographie zur Geltung (Tabelle 8):

Flussrate: 1,5 ml/min
Mobile Phase: 75% von A und 25% von B
Injektionsvolumen: 1 µl
VWD – Wellenlänge: 300 nm
Autosampler – Temperatur: 5°C
Säulen- Temperatur: 45°C
Laufzeit pro Vial: 4 min

Tabelle 8 HPLC – Methode zur Meropenemdetektion

Die HPLC – Methode für Imipenem wurde folgendermaßen konfiguriert (Tabelle 9)

Flow: 1,0 ml/min
Mobile Phase: 100% von B
Injektionsvolumen: 1 µl
VWD - Wellenlänge: 300 nm
Autosampler – Temperatur: 5°C
Säulen – Temperatur: 45°C
Laufzeit pro Vial: 4 min

Tabelle 9 HPLC - Methode zur Imipenemdetektion

2.3 Temperaturstabilität von Meropenem und Imipenem nach der Zugabe zu PMMA Knochenzement

Ziel der neuen Messreihen war es, 250 mg Meropenem bzw. 250 mg Imipenem/Cilastatin zu 10 g PMMA Pulver (Palacos® R, Copal® G+V oder Copal® Spacem) beizumengen und danach mit 5 ml des flüssigen Monomers Zement herzustellen. Dieser Zement sollte hinterher auf quantitative Rückstände der beiden zugeführten Antibiotika nach der Polymerisation untersucht werden. In den Versuchen nach Zugabe der Antibiotika zu PMMA Knochenzement wurde beim

Imipenem/Cilastatin auf eine Konzentration von 2 mg/ml, wie sie in den Versuchen vor der Polymerisation verwendet worden war, verzichtet. Die Konzentration von Imipenem/Cilastatin betrug in den nachfolgenden Versuchen 1 mg/ml. Auf die Messergebnisse hatte dies keinen Einfluss, da nur der Wirkstoff berücksichtigt wurde und die Wiederfindungen sich auf den eingesetzten Wirkstoff bezogen. Die Ergebnisse von Meropenem und Imipenem konnten verglichen werden, da diese nur auf den eingesetzten Wirkstoff bezogen wurden. Der einzige Unterschied lag darin, dass in den Versuchen mit Meropenem die doppelte Menge an Wirkstoff enthalten ist als bei den Messungen mit Imipenem.

Mit den übergebliebenen Mengen des ersten Teils waren nun insgesamt 1810 mg Meropenem Kabi® und 2725 mg Imipenem/Cilastatin Kabi® für den zweiten Teil der Laborarbeiten vorhanden. Neben den Antibiotika kamen zunächst zwei aus Hartplastik angefertigte Formkörper zum Einsatz, welche die Anfertigung von Zementkörpern ermöglichten. Für alle Messungen wurden Standards in einer Konzentration von 1 mg/ml hergestellt.

2.3.1 Verfügbare Knochenzemente

Für die Versuchsreihen standen verschiedene Sorten von PMMA Knochenzement der Firma „Heraeus“ in der ursprünglichen Pulverform zur Verfügung. Es kamen insgesamt drei verschiedene Sorten zum Einsatz:

- Palacos® R
- Copal® G + V
- Copal® Spacem

Der Copal® Spacem kam erst später zum Einsatz und „ersetzte“ den Copal® G+V, von dem gegen Ende der Messreihen kein Zementpulver mehr vorhanden war und noch weitere Messungen geplant waren.

Eine Packung des Palacos® R beinhaltet jeweils 40 g PMMA sowie 20 ml flüssiges Monomer (siehe Abbildung 15).



Abbildung 15 Bestandteile des Knochenzements

Bestandteile des Pulvers des Palacos® R sind neben dem Polymethylmethacrylat noch Zirconiumoxid, Benzoylperoxid und ein Chlorophyllin – Kuper – Natrium – Komplex. Das flüssige Monomer setzt sich aus 2 – Methylacrylsäuremethylester, 4,N,N – Trimetyhlanilin, Hydrochinon und einem Chlorophyllin – Kuper – Natrium – Komplex zusammen. Das Pulver und die flüssige Phase bilden nach Zusammenmischung den Knochenzement. Dazu werden die beiden Komponenten in ein Plastikbehältnis gegeben und mit einem Spatel zu Brei verrührt. Der Zement entsteht aus der chemischen Reaktion der Komponenten mittels Polymerisation. Der Brei wird nach ca. 6 – 8 min starr. Der Copal® G+V gleicht dem Palacos® R im Hinblick auf die Zusammensetzung, einziger Unterschied ist das Vorhandensein von 0,5 g Gentamycin, ein Aminoglycosidantibiotikum, und 2 g Vancomycin, ein Glykopeptidantibiotikum. Die Zusammensetzung des flüssigen Monomers entspricht der des Palacos® R. Die Bestandteile des dritten untersuchten Knochenzements, Copal® Spacem, sind Methylmethacrylat – Methacrylat - Copolymer, Benzoylperoxid, Hydrochinon, Calciumcarbonat, ein Chlorophyllin – Kupfer – Komplex, 4,N,N – Trimetyhlanilin und Methacrylsäuremethylester.

Zur besseren Übersicht sind die durchgeführten Untersuchungen der beiden Antibiotika nach der Polymerisation in Tabelle 10 dargestellt.

Wirkstoff	Knochenzement	Menge an eingesetztem Wirkstoff (in mg)	Methode
Meropenem	Palacos® R	250	Meropenem - Methode
Meropenem	Palacos® R	250	Meropenem - Methode
Meropenem	Palacos® R	250	Meropenem - Methode
Meropenem	Palacos® R	250	Meropenem - Methode
Meropenem	Copal® G+V	250	Meropenem - Methode
Meropenem	Copal® G+V	250	Meropenem - Methode
Meropenem	Copal® G+V	250	Meropenem - Methode
Meropenem	Copal® Spacem	250	Meropenem - Methode
Meropenem	Copal® Spacem	500	Meropenem - Methode
Imipenem/Cilastatin	Palacos® R	250	Imipenem - Methode
Imipenem/Cilastatin	Palacos® R	250	Imipenem - Methode
Imipenem/Cilastatin	Palacos® R	250	Imipenem - Methode
Imipenem/Cilastatin	Palacos® R	250	Imipenem - Methode
Imipenem/Cilastatin	Copal® G+V	250	Imipenem - Methode
Imipenem/Cilastatin	Copal® G+V	250	Imipenem - Methode
Imipenem/Cilastatin	Copal® G+V	250	Imipenem - Methode
Imipenem/Cilastatin	Copal® Spacem	250	Imipenem - Methode
Imipenem/Cilastatin	Copal® Spacem	500	Imipenem - Methode

Tabelle 10 Übersichtstabelle über die durchgeführten Untersuchungen und Mengen an eingesetztem Wirkstoff nach der Polymerisation von PMMA Knochenzement

2.3.1.1 Herstellung von PMMA Knochenzement

Es erfolgte eine Literaturrecherche, um das genaue Vorgehen planen zu können. Gemäß der Arbeit „Lokale Antibiotikatherapie“ aus dem Journal „Der Unfallchirurg“ wurde bei der Herstellung von PMMA Knochenzement folgendermaßen schrittweise vorgegangen: (56)

1. Eine sterile Unterlage, ein Gefäß zur Homogenisierung, ein Gefäß zum Anrühren, das Zementpulver, das flüssige Monomer, ein Spatel, ein Mörser und das Antibiotikum in Pulverform wurden vorbereitet
2. Antibiotikumpulver wurde in das erste Gefäß gegeben und granuläre Anteile mit dem Mörser homogenisiert
3. Schrittweise Zugabe von Zementpulver zum zuvor homogenisierten Antibiotikumpulver und Vermischung durch den Spatel
4. Das flüssige Monomer wurde in das zweite Gefäß gefüllt und die Kombination aus Zementpulver und Antibiotikum vorsichtig dazugegeben. Der Inhalt wurde mit dem Spatel verrührt, bis gebrauchsfertiger Zement entstand
5. Der Zement wurde, bevor er sich verfestigt, in zwei Formkörper gegeben und mit einem Gewicht (Schienerersatzteil aus Eisen) beschwert.

2.3.2 Herstellung der Zementkörper

Vor den Versuchen, in denen das Zementpulver mit Antibiotikum versehen wurde und daraus fertiger Zement entstehen sollte, wurden 10 neue Formkörper für den Zement in Auftrag gegeben (siehe Abbildung 16). Die Zementkörper hatten einen Durchmesser von 25 mm und erreichten eine Höhe von insgesamt 12 mm. Ein fertiger Körper erreichte ein Gewicht von 6,766 g. Für die Herstellung von Zementkörpern wurde der Zementbrei in die Formkörper gegeben.



Abbildung 16 Formkörper (25mm/12mm) und fertige Zementkörper

Um Druck auf den Zementbrei im Formkörper auszuüben, wurden diese mit einem Gewicht beschwert. In dieser Arbeit war dafür ein Präparat aus Gusseisen (ca. 10 kg) im Einsatz (siehe Abbildung 17).



Abbildung 17 Präparat aus Gusseisen zur Beschleunigung der Formkörper bis zur Zementaushärtung

2.3.3 Physikalische Zerkleinerung des PMMA Knochenzements

Vor dem Beginn der Messungen am ausgehärteten Knochenzement wurden die Formkörper physikalisch zerkleinert und danach chemisch aufgelöst. Die Zerkleinerung erfolgte zunächst mit Hilfe eines Stemmeisens. Die kleinen Zementstücke wurden zu ca. 4 mm kleinen Partikeln bzw. zu Pulver gemahlen (siehe Abbildung 18). Dies geschah mithilfe einer Retsch® ZM 200 Mühle. Das Zubehör der Mühle bestand aus einer Labyrinthscheibe, einem Rotor, einer Auffangkassette, einem Ringsieb mit 4 mm breiten Durchlässen und einem Kassetendeckel.



Abbildung 18 Physikalische Zerkleinerung und Mahlen des Knochenzements

2.3.4 Verschiedene chemische Lösungsmittel zur Auflösung von PMMA Knochenzement

Der gemahlene Zement wurde zunächst in 4 Tubes mit jeweils 500 mg Zementpulver abgefüllt. Nun galt es, die 500 mg gemahlene Zement chemisch aufzulösen. Dazu erfolgte zunächst eine Literaturrecherche über die Auflösung von PMMA in organischen Säuren. Gemäß einer Studie aus dem „Russian Journal of chemistry“ wurden für die Versuchsreihen 4 verschiedene Lösungsmittel bevorzugt: (57)

- Ethylacetat
- Tetrahydrofluransäure
- Chloroform
- Azeton

Jeweils 10 ml von jedem Lösungsmittel wurden in 4 verschiedene Tubes gegeben, die 500 mg gemahlene Zement enthielten (siehe Abbildung 19). Der Inhalt der Tubes wurde in 4 beschriftete Gläser (A – D) für 1 h auf einen Magnetrührer gestellt. Nach Ablauf dieser Zeit wurde der Inhalt in Tubes abgefüllt und der darin aufgelöste Zement mit Reinstwasser verdünnt, um eine Flüssigkeitschromatographie zu ermöglichen. Vor der Chromatographie musste der mit dem jeweiligen Lösungsmittel aufgelöste Zement filtriert werden. Dies geschah mittels Chromafil® Xtra PA-20/13 Einmalfiltern. Diese wurden auf eine 3 ml Einmalspritze gegeben, mit welcher der Inhalt der Proben aufgezogen wird. Das Produkt des Filtrats wurde in Vials abgefüllt.

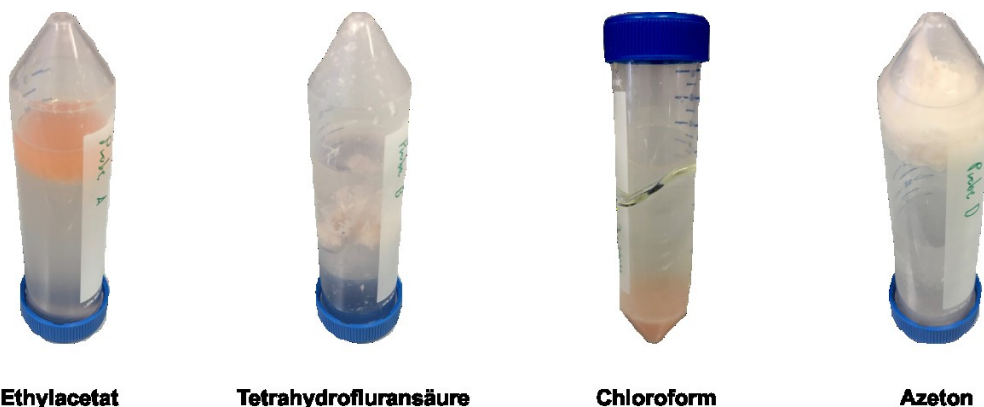


Abbildung 19 Verschiedene Lösungsmittel zur Auflösung von PMMA Knochenzement

Der Inhalt der Vials wurde chromatographiert und die Ergebnisse analysiert. Nach der Auswertung der Ergebnisse wurden jeweils 10 mg Meropenem und Imipenem

eingewogen und mit Ethylacetat vermischt. Gleiches geschah mit 10 mg Meropenem und 10 mg Imipenem, die jeweils mit Azeton vermischt wurden. Alle Proben wurden mit Reinstwasser verdünnt und sowohl mit der Meropenem-, als auch mit der Imipenem-Methode chromatographiert.

2.3.5 Prüfung auf Interaktionen zwischen Polymer und Antibiotikum im Chromatogramm

Zudem wurde untersucht, zu welchen Zeitpunkten das Zementpulver des Palacos® R und des Copal® G+V und die darin enthaltenen Antibiotika Gentamycin und Vancomycin im Chromatogramm sichtbar wurden. Dies wurde überprüft, da bei Interaktionen zwischen Meropenem oder Imipenem mit dem PMMA keine Aussage mehr über die Konzentration des Antibiotikums getroffen werden könnte. Dazu wurden 200 mg des Palacos® R und 200 mg des Copal® G+V in Pulverform eingewogen und 10 ml Reinstwasser verdünnt. Der Inhalt der Tubes wurde geschüttelt und chromatographiert.

2.3.6 Auflösung von antibiotikahaltigem PMMA - Zementpulver

Noch vor der Herstellung von fertigem Knochenzement erfolgte die Analyse von insgesamt 4 Proben mit Beimischung von Meropenem und Imipenem zum Zementpulver, also vor der Polymerisation. Davon wurden 2 aus Palacos® R - Zementpulver und 2 aus Copal® G+V - Zementpulver gebildet. Jede enthielt 500 mg Zementpulver, wovon jeweils 2 mit dem Palacos® R und 2 mit dem Copal® G+V befüllt wurden. Zu dem Pulver wurden 12,5 mg Meropenem oder Imipenem/Cilastatin beigemischt, sodass beide Knochenzemente mit beiden Antibiotika analysiert werden konnten. Die Proben wurden nun jeweils mit 5 ml Ethylacetat befüllt und mit Reinstwasser verdünnt. Der Inhalt wurde in verschiedene Vials filtriert und zur Chromatographie bereitgestellt. Zusätzlich wurden 2 Proben vorbereitet, von denen eine 12,5 mg Meropenem und die andere 12,5 mg Imipenem/Cilastatin enthielt. Zu beiden Antibiotika wurden ebenfalls 5 ml Ethylacetat pipettiert, danach mit Reinstwasser verdünnt, filtriert und chromatographiert. Danach erfolgte die Analyse der Ergebnisse und die Planung für die weitere Vorgehensweise.

2.3.7 Auflösung von PMMA Knochenzement ohne Antibiotikum

Es folgte die Herstellung von insgesamt 4 Zementkörper, denen jeweils das Palacos® R - Zementpulver und das Copal® G+V - Zementpulver als Grundlage dienten. Diese wurden gemäß dem oben genannten Schema angefertigt. Der ausgehärtete Knochenzement wurde daraufhin mittels Stemmeisen und Mühle physikalisch zerkleinert. Die chemische Auflösung erfolgte mit Ethylacetat. Nach Verdünnung mit Reinstwasser und anschließender Filtration wurde das Produkt chromatographiert.

2.3.8 Versuche mit antibiotikahaltigem Knochenzement

Der nächste Schritt bestand in der Herstellung von Knochenzement mit Antibiotikum. Dazu wurden zweimal 10 g Palacos® R und zweimal 10 g Copal® G+V abgemessen und auf vier Tubes verteilt. Ebenfalls wurden weitere vier Tubes vorbereitet, in zwei davon wurden jeweils 250 mg Meropenem eingewogen, die beiden verbliebenen Tubes wurden mit jeweils 250 mg Imipenem/Cilastatin befüllt. Das flüssige Monomer wurde zu je 5 ml auf vier weitere Tubes verteilt. Gleiches geschah in einem Einzelversuch mit dem Copal® Spacem.

Es wurden folgende PMMA Knochenzemente hergestellt:

- 10 g Palacos® R + 5 ml Monomer + 250 mg Meropenem
- 10 g Palacos® R + 5 ml Monomer + 250 mg Imipenem/Cilastatin
- 10 g Copal® G+V + 5 ml Monomer + 250 mg Meropenem
- 10 g Copal® G+V + 5 ml Monomer + 250 mg Imipenem/Cilastatin
- 10 g Copal® Spacem + 5 ml Monomer + 250 mg Meropenem
- 10 g Copal® Spacem + 5 ml Monomer + 250 mg Imipenem/Cilastatin

Die Herstellung wurde nach dem oben genannten Verfahren durchgeführt. Es folgten die physikalische Zerkleinerung und die chemische Auflösung der Zementkörper mit Ethylacetat. Dafür wurden Aliquote der Proben entnommen und in Glasbehälter mit Rührknochen gefüllt. 500 mg gemahlener Knochenzement wurden in 10 ml Ethylacetat aufgelöst. Dies geschah auf einem Magnetrührer

(Siehe Abbildung 20). Zum Schutz vor einer Verdampfung des Ethylacetats wurden Uhrglasdeckel auf dem Glasbehältnis platziert.

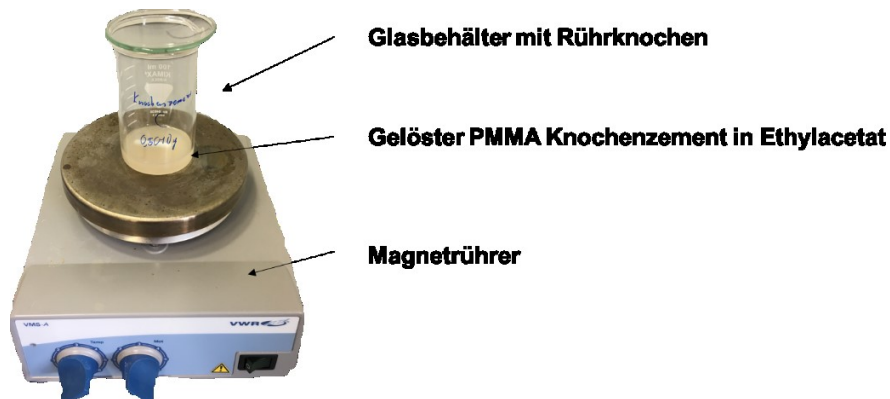


Abbildung 20 Auflösungsprozess mit Magnetrührer

Die Auflösungszeit betrug ca. 45 min. Der aufgelöste Inhalt der Glasbehälter wurde in ein 50 ml Tube gegeben und eine flüssig – flüssig Extraktion mit 20 ml Reinstwasser durchgeführt. Der Inhalt musste nun stark geschüttelt werden, um das Antibiotikum aus dem PMMA in die wässrige Phase freizusetzen. Es ergab sich somit folgende Konzentration des Antibiotikums (siehe Abbildung 21):

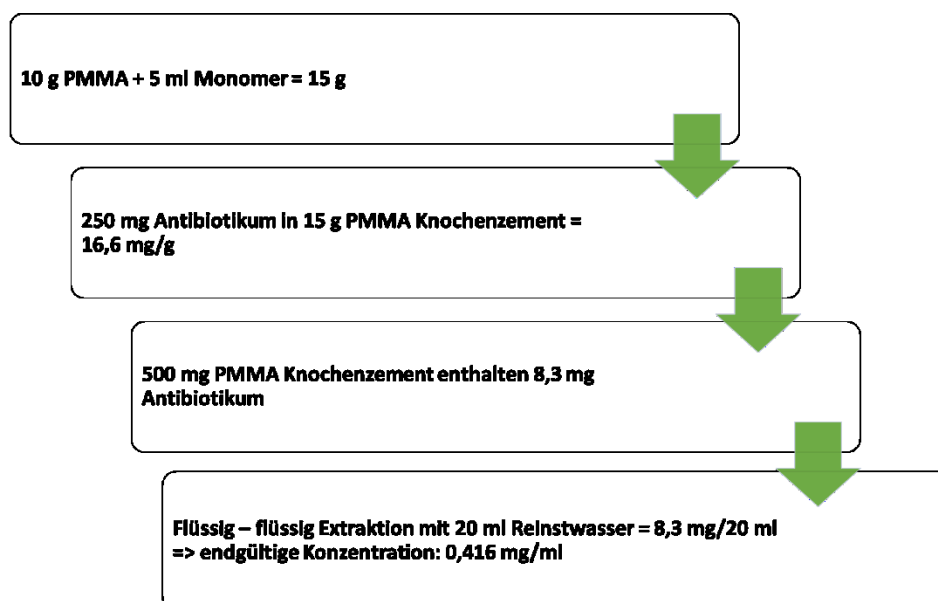


Abbildung 21 Vermutete Konzentration an Antibiotikum in wässriger Phase

Zur besseren Phasentrennung wurden die Tubes anschließend zentrifugiert. In den Tubes waren nun das Polymer in der Ethylacetat-Phase und das gelöste Antibiotikum in der wässrigen Phase. Zudem fanden sich nicht lösliche Stoffe wie Zirkondioxid und Röntgenkontrastmittel (siehe Abbildung 22). Aus der wässrigen Phase wurde jeweils 1 ml pipettiert. Anschließend erfolgte eine Filtration und Abfüllung in Vials, um eine Chromatographie zu ermöglichen.

Diese Messungen wurden insgesamt viermal durchgeführt. In der letzten Messreihe wurde der Copal® G+V durch den Copal Spacem® ersetzt, da kein Copal G+V® mehr vorhanden war und noch weitere Messungen geplant waren.

Zum Abschluss der Messungen mit antibiotikahaltigem Knochenzement wurde versucht, mit zwei weiteren Messungen die *in vitro* Situation besser zu simulieren. Deshalb wurden für diese Messungen doppelt so viel Knochenzement und doppelt so viel Antibiotikum wie in den vorherigen Versuchen verwendet. Jeweils 500 mg Meropenem und Imipenem wurden eingewogen. Diese sollten zu jeweils 30 g PMMA Knochenzement beigemischt werden. Der dafür verwendete Knochenzement war Copal Spacem®. Aus den verwendeten Zutaten ergaben sich folgende PMMA Knochenzementkörper:

- 20 g Copal Spacem® + 10 ml Monomer + 500 mg Meropenem
- 20 g Copal Spacem® + 10 ml Monomer + 500 mg Imipenem/Cilastatin

Die Herstellung, Zerkleinerung und chemische Auflösung erfolgte synchron zu den bisherigen Messreihen.

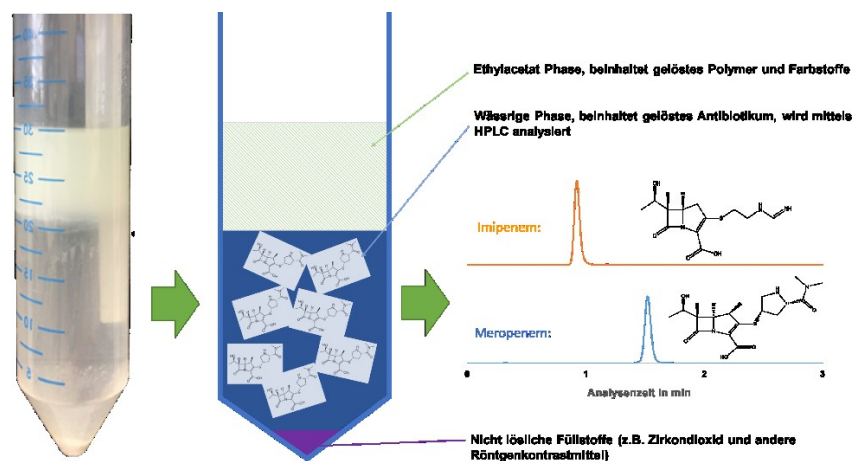


Abbildung 22 Tube mit Ethylacetat - Phase und wässriger Phase (links) und schematische Darstellung der 2 Phasen (rechts)

2.3.9 Messung der Antibiotikakonzentration in der Ethylacetat - Phase

Die bisherigen Messungen beruhten auf der Annahme, dass das Antibiotikum nicht in der Ethylacetat – Phase im Tube gelöst ist. Um sicherzustellen, dass sich das Antibiotikum in der wässrigen Phase befindet, musste eine weitere Messung durchgeführt werden. Verwendet wurden hierfür dieselben Proben wie in den vorherigen Messreihen (siehe Kapitel 2.3.8). Jeweils 1 ml des gelösten PMMA in der Ethylacetat – Phase wurde pipettiert und entsprechend mit Reinstwasser verdünnt. Anschließend musste der Inhalt wieder stark geschüttelt werden. Nach einer Filtration und Abfüllung in Vials konnte eine Chromatographie durchgeführt werden. Der Anteil an Antibiotika lag bei maximal 1 %.

2.4 Messung der Temperatur während der Polymerisation in PMMA Knochenzement

In den letzten Messreihen mit antibiotikahaltigem Knochenzement wurden Messungen der sich im PMMA Knochenzement entwickelnden Temperatur während der Polymerisationsreaktion durchgeführt. Dafür wurde ein Voltcraft DT – 300 LCD Handthermometer verwendet. Die erste Messung fand mit dem Copal[®] Spacem statt. Gemessen wurde die Temperatur während der Polymerisation von 30 g PMMA Knochenzement, welcher zusätzlich 500 mg Antibiotikum enthielt. Der Zementbrei wurde unmittelbar nach Zusammenführung von Polymer und Monomer in ein nach beiden Seiten offenes Polypropylenbehältnis gegeben. Der Temperaturfühler des Handthermometers wurde im Zentrum des Zementbreis platziert. Es folgte die Messung der Temperaturentwicklung bis 20 min nach Beginn der Polymerisation. Eine Darstellung des Versuchsaufbaus findet sich in Abbildung 23.



Abbildung 23 Versuchsaufbau zur Messung der Temperaturentwicklung im Knochenzement (Copal Spacem[®])

Anschließend wurden Temperaturmessungen mit den beiden anderen Knochenzementen, Palacos[®] R und Copal[®] G+V, durchgeführt. Der Versuchsaufbau erfolgte bei beiden Zementen identisch zu dem oben beschriebenen.

3 Ergebnisse

3.1 Verdampfung des Probeninhalts in den Messreihen vor der Zugabe zu PMMA Knochenzement

Die Proben der 30 min Messreihe wurden im Mittelwert um 0,00074 g reduziert, die Proben der 60 min Messreihe um 0,000152 g.

Aufgrund des sichtlich nicht signifikant abnehmenden Verlusts an Probeninhalt wurde auf weitere Einwaagen der Proben bei 90°C sowie bei den anderen zuvor beschriebenen Temperaturen verzichtet.

3.2 Lösungsmittel

In den in Kapitel 2.3.4 beschriebenen Versuchen mit den chemischen Substanzen, Ethylacetat, Tetrahydrofluransäure, Chloroform und Azeton zur Auflösung von ausgehärtetem PMMA Knochenzement wurde erkennbar, dass sich besonders Ethylacetat und Azeton zur Auflösung des Zements eignen. Nach weiteren Versuchen mit den beiden Lösungsmitteln war zu erkennen, dass Meropenem gleichfalls gut mit Ethylacetat und Azeton kombinierbar ist und Imipenem sich vor allem für die Kombination mit Ethylacetat eignet. Ethylacetat zeigte sich als das geeignetste Lösungsmittel.

3.3 Temperaturstabilität von Meropenem und Imipenem vor der Zugabe zu PMMA Knochenzement

Zuerst sollten beide Antibiotika sowohl in Lösung, als auch in Pulverform bei verschiedenen Temperaturen in Hinblick auf die Stabilität getestet werden. Die Degradierung von Meropenem und Imipenem wurde immer am Standard (= 100 %) gemessen. Die in der HPLC ermittelte Fläche der Standard – Peaks von Meropenem erreichte im Mittelwert ca. 800 mAU*s. Die in der HPLC ermittelte Fläche der Standard – Peaks von Imipenem/Cilastatin erreichte im Mittelwert ca. 1500 mAU*s.

3.3.1 Chromatogramme von Meropenem und Imipenem (Standard und nach 120 min bei 90 °C)

Um einen genauen Einblick zu erhalten, sind in den folgenden Graphiken Chromatogramme von Meropenem (siehe Abbildung 24) und Imipenem/Cilastatin (siehe Abbildung 25) dargestellt. Die Darstellungen zeigen jeweils ein Chromatogramm eines Standards (blaue Linie) und das Chromatogramm eines Messwerts nach 120 min bei 90 °C (orange Linie).

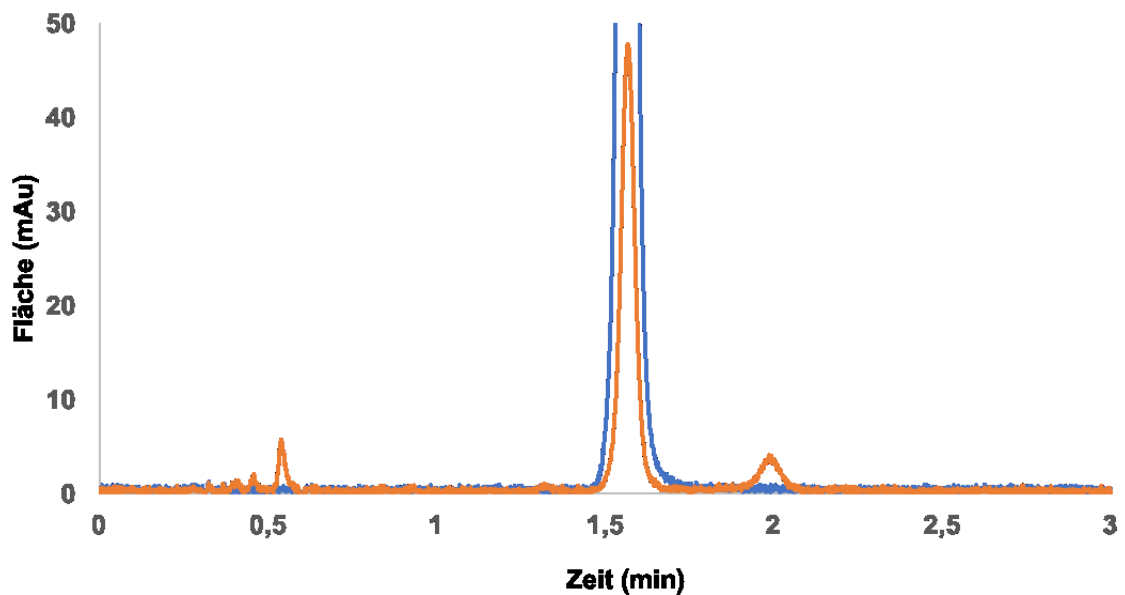


Abbildung 24 Chromatogramm von Meropenem: Dargestellt sind Standard (blau) und Messwert bei Probe nach 120 min bei 90 °C (orange)

Der Abbau von Meropenem nach Einwirkung von hoher Temperatur ist bereits in diesem Chromatogramm gut sichtbar. Der Peak der Probe nach 120 min bei 90 °C fällt deutlich geringer aus verglichen mit dem des Standards. Ebenfalls sichtbar sind mehrere Metaboliten, die sich während der Erhitzung gebildet haben.

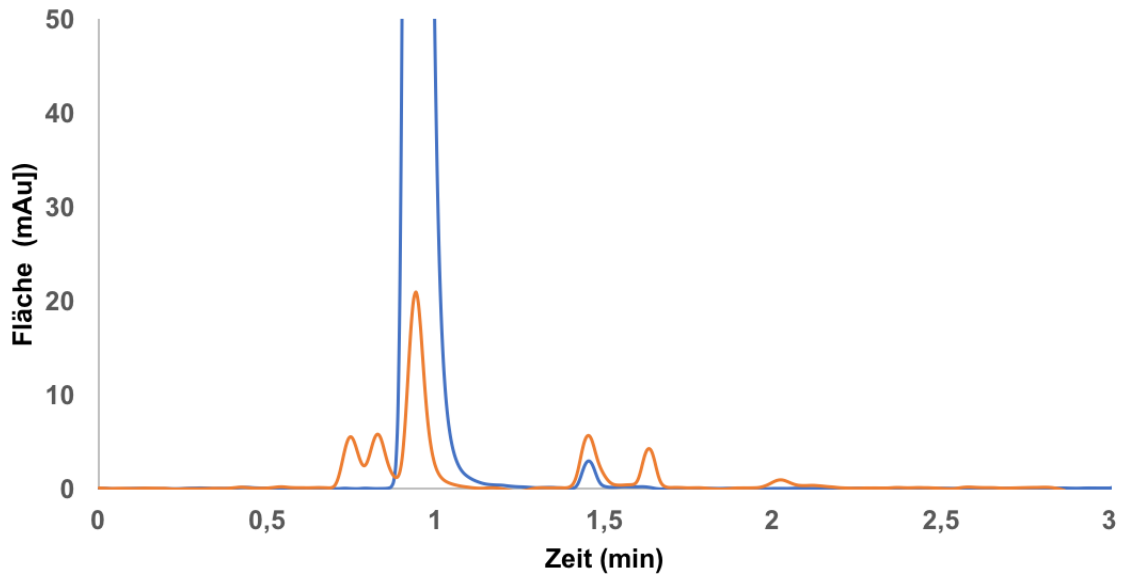


Abbildung 25 Chromatogramm von Imipenem/Cilastatin: Dargestellt sind Standard (blau) und Messwert der Probe nach 120 min bei 90 °C (orange)

Auch im Chromatogramm mit Imipenem/Cilastatin ist der Substanzverlust von Imipenem nach 120 min bei 90°C ist deutlich erkennbar. Auch hier haben sich nach den hohen Temperaturen zahlreiche Metaboliten gebildet. Die Detektion in der HPLC erfolgt früher als die von Meropenem.

3.3.2 Temperaturstabilität von Meropenem und Imipenem bei 37 °C in Lösung und Pulver

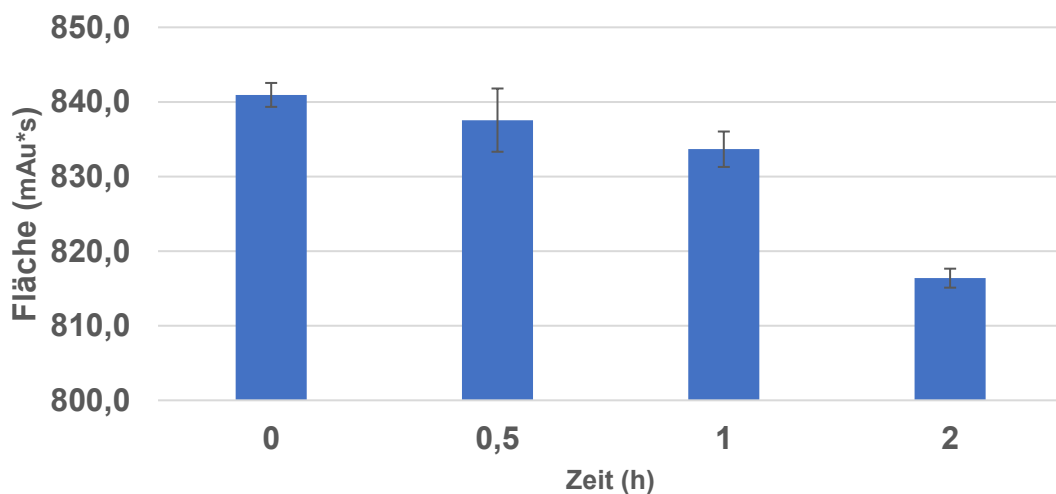


Abbildung 26 Abbau von Meropenem bei 37 °C in Lösung (n=5)

Meropenem in Lösung erlitt in den Messungen mit 37 °C einen Abbau von insgesamt 3 % nach 120 min. Nach 30 min in Lösung konnte ein Verlust von 0,5 %, nach 60 min ein Verlust von 1 % detektiert werden. Aufgrund der vorher durchgeführten Messung von Meropenem in Pulverform bei 45 °C, bei der sich kein Substanzverlust erkennen ließ, wurde auf eine Versuchsreihe von Meropenem in Pulverform bei 37 °C verzichtet (siehe Abbildung 26).

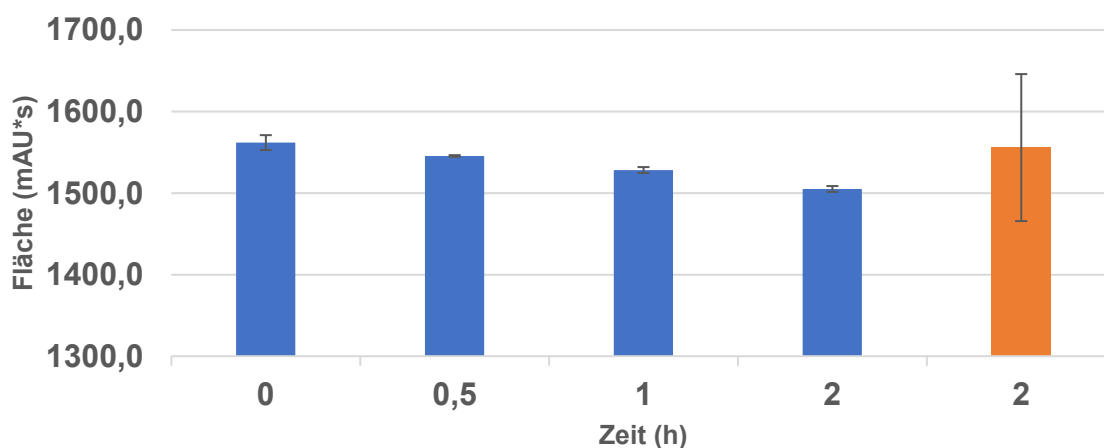


Abbildung 27 Abbau von Imipenem bei 37 °C in Lösung (blau) und Pulver (orange)(n=5)

Imipenem erlitt insgesamt eine Degradierung um 4 % nach 120 min in Lösung. Nach 30 min in Lösung zeigte sich ein Substanzverlust von 1 %, nach 60 min von 2 %. Das Imipenem-Pulver erlitt nach 120 min keine Degradierung (siehe Abbildung 27).

3.3.3 Temperaturstabilität von Meropenem und Imipenem bei 45 °C in Lösung und Pulver

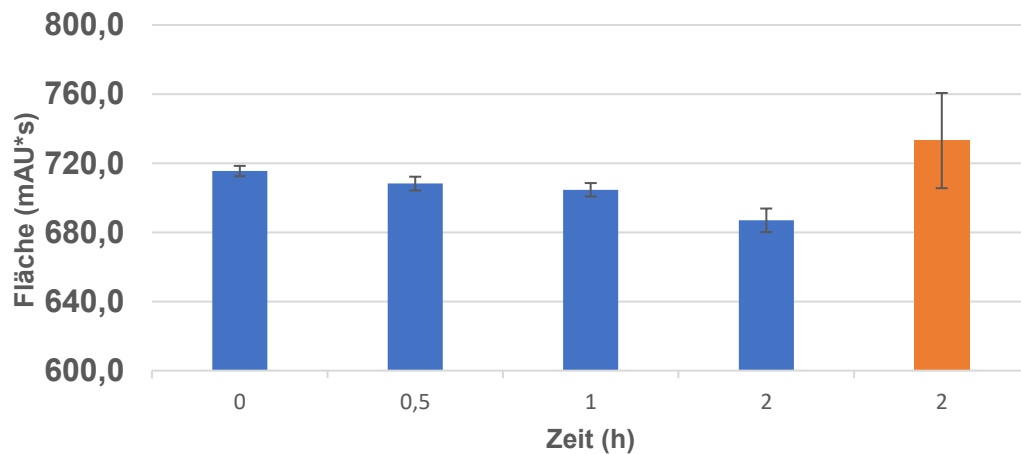


Abbildung 28 Abbau von Meropenem bei 45 °C in Lösung (blau) und Pulver (orange)(n=5)

Bei den Messreihen mit 45 °C zeigte sich Meropenem ebenfalls stabil, erlitt einen maximalen Abbau von 4 % nach 120 min in Lösung. Nach 30 min Temperatureinwirkung in Lösung konnte nur ein Verlust von 1 % detektiert werden. Nach 60 min zeigte sich ein Abbau von 1,5 %. Das Pulver erlitt nach 120 min überhaupt keine Degradierung (siehe Abbildung 28).

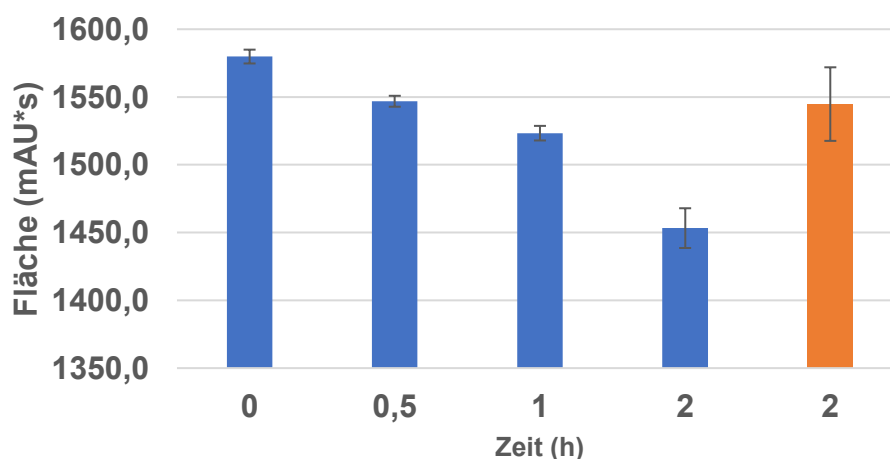


Abbildung 29 Abbau von Imipenem bei 45 °C in Lösung (blau) und Pulver (orange)(n=5)

Imipenem zeigte einen etwas größeren Substanzverlust bei 45 °C als Meropenem. Hier konnte nach 120 min in Lösung ein Abbau von 8 % detektiert werden. Nach 30 min erlitt Imipenem bereits eine Degradierung um 2 %. Die Temperatureinwirkung nach 60 min in Lösung bewirkte einen Abbau um 4 %. Das

Pulver zeigte sich ähnlich wie bei Meropenem relativ stabil im Gegensatz zu den Proben in Lösung. Hier war nach 120 min ein Verlust von 2 % messbar (siehe Abbildung 29).

3.3.4 Temperaturstabilität von Meropenem und Imipenem bei 65 °C in Lösung und Pulver

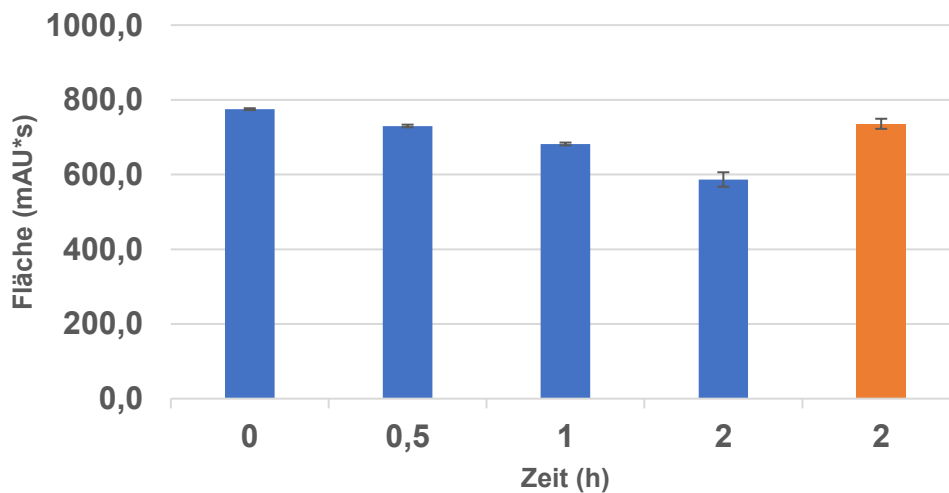


Abbildung 30 Abbau von Meropenem bei 65 °C in Lösung (blau) und Pulver (orange)(n=5)

In den Messungen von Meropenem bei einer Temperatureinwirkung von 65 °C zeigten sich bereits größere Substanzverluste. Der größte Abbau erfolgte nach 120 min in Lösung. Hier erlitt Meropenem eine Degradierung um insgesamt 24 %. Bereits nach 30 min in Lösung konnte ein Abbau von 6 % erhoben werden. Auch nach 60 min in Lösung zeigte sich das Antibiotikum im Vergleich zu den vorherigen Messungen deutlich instabiler. Hier konnte eine Degradierung um 12 % detektiert werden (siehe Abbildung 30).

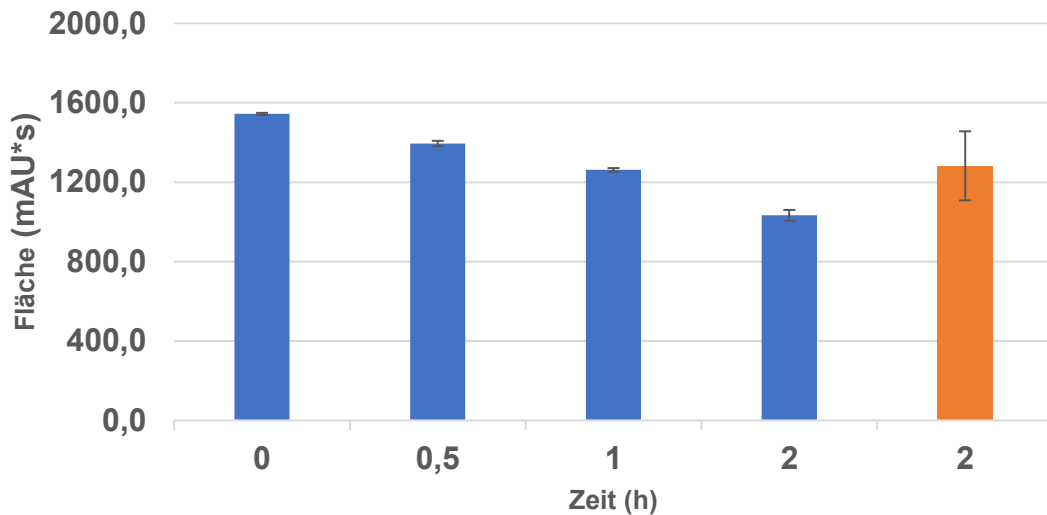


Abbildung 31 Abbau von Imipenem bei 65 °C in Lösung (blau) und Pulver (orange)(n=5)

Ähnlich wie bei den Messungen mit Meropenem zeigte Imipenem einen verstärkten Abbau durch die höheren Temperaturen. Der größte Abbau in Lösung erfolgte nach 120 min Erhitzung mit insgesamt 33 % Substanzverlust. Nach 30 min in Lösung konnte eine Degradierung von 10 % detektiert werden. Bereits nach 60 min in Lösung erlitt Imipenem einen Verlust von 18 %. Das Pulver zeigte einen Abbau von insgesamt 17 % nach 120 min Temperatureinwirkung (siehe Abbildung 31).

3.3.5 Temperaturstabilität von Meropenem und Imipenem bei 90 °C in Lösung und Pulver

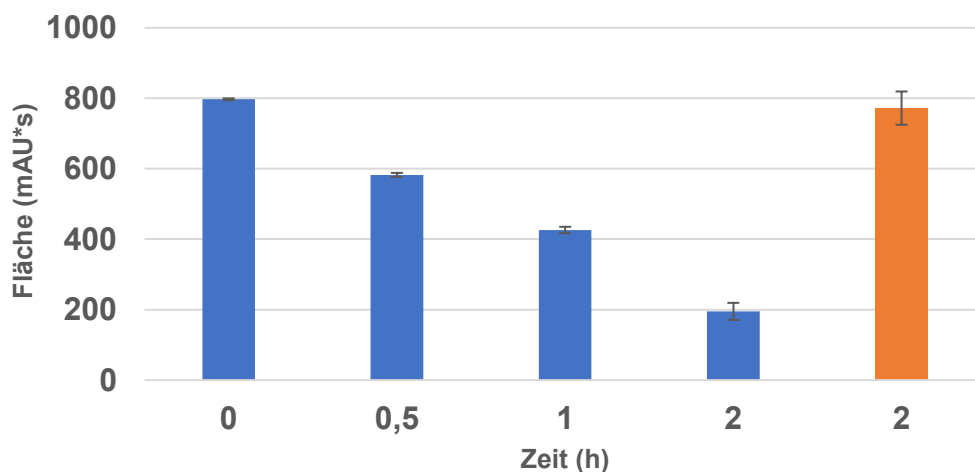


Abbildung 32 Abbau von Meropenem bei 90 °C in Lösung (blau) und Pulver (orange)(n=5)

In den Messungen von Meropenem bei einer Temperatur von 90 °C zeigte sich der mit Abstand größte Substanzverlust. Nach 120 min in Lösung wurde ein Abbau von 75 % detektiert. Bereits nach 30 min Erhitzung in Lösung erfolgte eine Degradierung von Meropenem um 27 %. Beinahe die Hälfte der Substanz war nach 60 min in Lösung abgebaut, hier konnte ein Verlust von 47 % gemessen werden. Das Pulver wiederum zeigte sich überwiegend stabil. Nach 120 min erlitt das Antibiotikum nur einen Abbau von 3 % (siehe Abbildung 32).

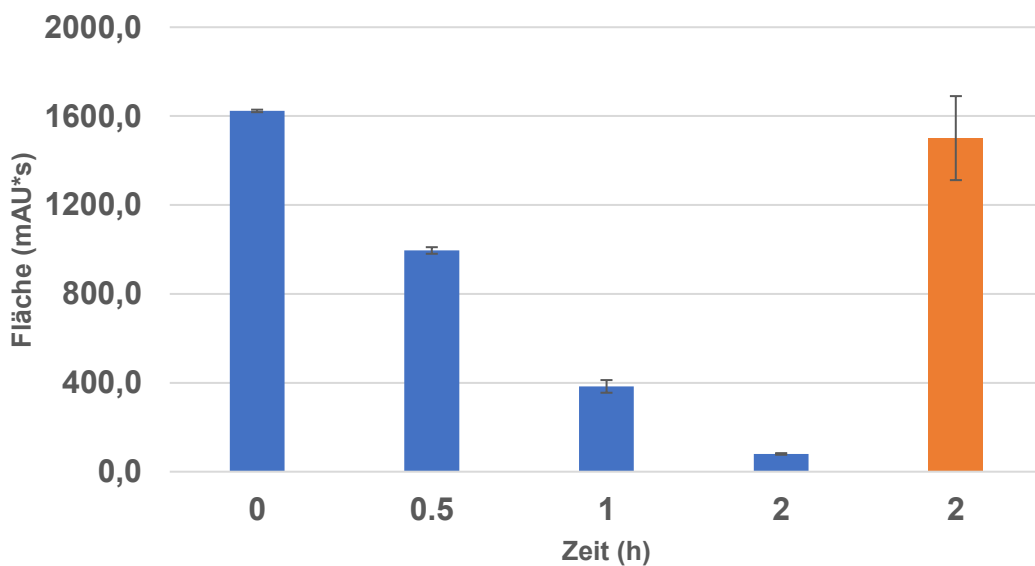


Abbildung 33 Abbau von Imipenem bei 90 °C in Lösung (blau) und Pulver (orange)(n=5)

Imipenem erlitt bei den hohen Temperaturen in Lösung einen massiven Substanzverlust. Nach 120 min in Lösung konnte ein Abbau von insgesamt 95 % ermittelt werden. Bereits nach 30 min in Lösung wurden 39 % der Substanz eliminiert. Nach 60 min konnten nur mehr 24 % des Antibiotikums in der HPLC detektiert werden, was einen Substanzverlust von 76 % bedeutet. In Pulverform zeigte Imipenem einen Abbau von insgesamt 7 % (siehe Abbildung 33).

3.3.6 Vergleich der Temperaturstabilität von Meropenem und Imipenem in Lösung und Pulver

3.3.6.1 Temperaturstabilitätsvergleich beider Antibiotika in Lösung

Zur besseren Übersicht sind in Abbildung 34 die Ergebnisse der einzelnen Messungen mit Meropenem und Imipenem in Lösung dargestellt. Die Graphik zeigt nicht wie oben den Verlust an Substanz der Antibiotika, sondern den Anteil an wiedergefundenem Meropenem und Imipenem.

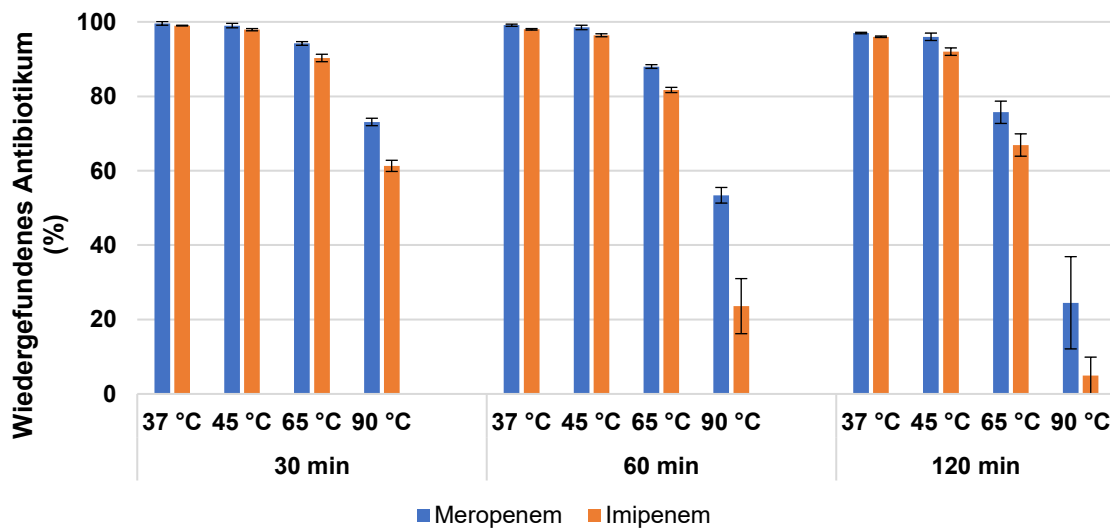


Abbildung 34 Vergleich von wiedergefundenem Meropenem und Imipenem nach 30 min, 60 min und 120 min in Lösung bei verschiedenen Temperaturen (n=5)

Beide Antibiotika waren instabil in Lösung, je höher die Temperaturen waren und je länger die Antibiotika dieser ausgesetzt waren. Meropenem verhielt sich bei allen Temperaturen stabiler als Imipenem. In allen Messungen in Lösung erlitt Imipenem einen massiveren Abbau als Meropenem. Ebenfalls auffällig ist der große Verlust an Substanz zwischen den einzelnen Temperaturstufen. Ein signifikanter Abbau beider Substanzen zeigt sich vor allem ab 65 °C.

Die folgenden Tabellen (siehe Tabelle 11 und Tabelle 12) zeigen die Messergebnisse von Meropenem und Imipenem in Lösung in tabellarischer Ansicht:

Temperatur (°C)	Zeit (min)	Fläche	Standardabweichung	Rel. Standardabweichung
37	0	840,9	1,6	0,2
37	30	837,6	4,2	0,5
37	60	833,7	2,4	0,3
37	120	816	1,3	0,2
45	0	715,5	3	0,4
45	30	708,2	4	0,6
45	60	704,6	3,9	0,6
45	120	687	6,8	1
65	0	775	2,5	0,3
65	30	730	3,6	0,5
65	60	681,8	3,7	0,5
65	120	586,7	19,3	3
90	0	797,1	2,4	0,3
90	30	582,3	5,8	1
90	60	426	9,1	2,1
90	120	195,2	21,4	12,4

Tabelle 11 Messergebnisse von Meropenem in Lösung tabellarisch (n=5)

Temperatur (°C)	Zeit (min)	Fläche	Standardabweichung	Rel. Standardabweichung
37	0	1562	9,1	0,6
37	30	1545,5	1	0,1
37	60	1528,3	3,6	0,2
37	120	1505,1	3,6	0,2
45	0	1579,8	5,1	0,3
45	30	1546,9	4	0,3
45	60	1523,3	5,4	0,4
45	120	1453,3	14,7	1
65	0	1543,5	5,3	0,3
65	30	1394,5	13,7	1
65	60	1261,7	9	0,7
65	120	1032,7	27,3	3
90	0	1623,4	5,7	0,3
90	30	995,4	14,9	1,5
90	60	383,5	28,5	7,4
90	120	79,9	3,7	5

Tabelle 12: Messergebnisse von Imipenem in Lösung tabellarisch (n=5)

3.3.6.2 Temperaturstabilitätsvergleich beider Antibiotika in Pulverform

Die folgende Abbildung (Abbildung 35) soll einen besseren Überblick über die Messergebnisse der beiden Antibiotika in Pulverform geben. Dargestellt sind die wiedergefundenen Konzentrationen von Meropenem und Imipenem nach 120 min Erwärmung.

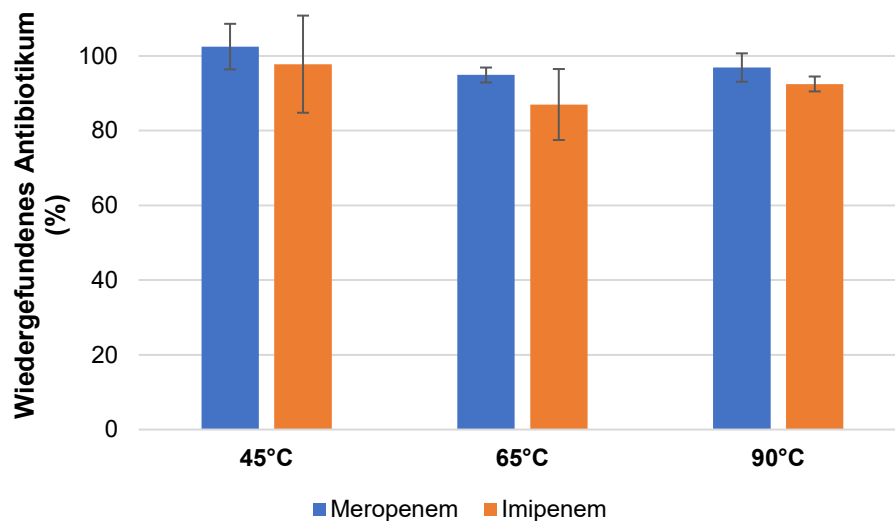


Abbildung 35 Vergleich von wiedergefundenem Meropenem und Imipenem nach 120 min bei verschiedenen Temperaturen in Pulver (n=5)

Verglichen mit den Messergebnissen von Meropenem und Imipenem in Lösung zeigten sich beide Substanzen in Pulverform überwiegend stabil. Sogar bei hohen Temperaturen konnten keine größeren Substanzverluste festgestellt werden. Ebenfalls auffallend ist die höhere Stabilität von Meropenem gegenüber Imipenem. Die bisherigen Messergebnisse belegen die höhere Stabilität von Meropenem sowohl in Lösung, als auch in Pulverform.

Der geringe Abbau beider Antibiotika in Pulverform erweist als Vorteil für die anschließenden Messreihen, bei denen Meropenem und Imipenem in Pulverform PMMA Knochenzement beigemischt werden.

Die folgenden Tabellen (Tabelle 13 und Tabelle 14) zeigen die Messergebnisse von Meropenem und Imipenem in Pulverform in tabellarischer Ansicht:

Temperatur (°C)	Zeit (min)	Fläche (mAU*s)	Standardabweichung	Relative Standardabweichung (%)
90	120	772	47,2	6,1
65	120	735,9	13,5	2
45	120	733,1	27,5	3,8

Tabelle 13 Messergebnisse von Meropenem in Pulverform tabellarisch (n=5)

Temperatur (°C)	Zeit (min)	Fläche (mAU*s)	Standardabweichung	Relative Standardabweichung (%)
90	120	1501,1	189	13
65	120	1342,3	127,5	9,5
45	120	1544,8	27,1	2

Tabelle 14 Messergebnisse von Imipenem in Pulverform tabellarisch (n=5)

3.4 Temperaturstabilität von Meropenem und Imipenem nach der Zugabe zu PMMA Knochenzement

Nach den Versuchen in Lösung und in Pulverform wurden Meropenem und Imipenem in Hinblick auf Stabilität nach der Polymerisationsreaktion in PMMA Knochenzement getestet. Es wurden Versuche mit drei verschiedenen Knochenzementen der Firma Heraeus mit unterschiedlichen Eigenschaften durchgeführt. Die Versuche zeigten, dass sich die beiden Antibiotika in den verschiedenen PMMA Knochenzementen unterschiedlich stabil verhielten. Als am besten geeignet erwies sich der Copal® Spacem.

3.4.1 Stabilität von Meropenem nach der Polymerisation in PMMA Knochenzement

Meropenem zeigte sich in allen drei untersuchten PMMA Knochenzementen überwiegend stabil. Die Versuche mit Palacos® R brachten die am wenigsten hohe Wiederfindung von Meropenem in Knochenzement hervor. Es konnte insgesamt ein Abbau von 29 % verzeichnet werden. In Copal® G+V fiel der Substanzverlust geringer aus. Hier wurden 23 % des Antibiotikums abgebaut. Am wenigsten Degradierung von Meropenem erfolgte in Copal® Spacem. In diesem Knochenzement konnte in der HPLC nur ein Abbau von 8 % nach der Polymerisation verzeichnet werden (siehe Abbildung 36).

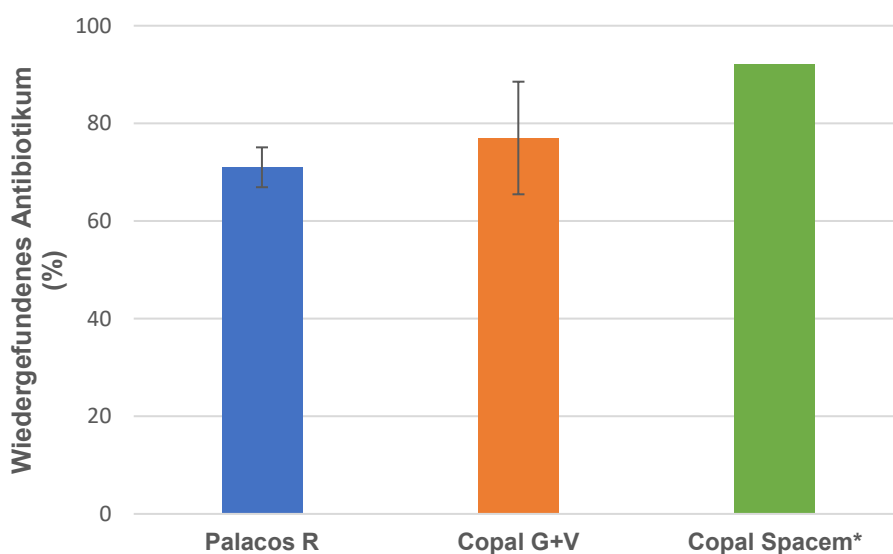


Abbildung 36 Wiedergefundenes Meropenem (250 mg) nach der Polymerisationsreaktion in Palacos® R (n=4), Copal® G+V (n=3) und Copal® Spacem (n=1); * Keine Standardabweichung vorhanden, da der Versuch nur einmal durchgeführt wurde

3.4.2 Stabilität von Imipenem nach der Polymerisation in PMMA Knochenzement

Auch Imipenem zeigte sich während der Polymerisation im Knochenzement überwiegend stabil. In 15 g PMMA Knochenzement wurden 250 mg im Hinblick auf Stabilität getestet. Der Knochenzement mit dem höchsten Verlust an Antibiotikum war ebenfalls Palacos® R. Insgesamt wurde ein Abbau des Imipenem in Palacos® R von 30 % in der HPLC detektiert. Der Copal® G+V brachte ein besseres Messergebnis hervor. Hier wurden insgesamt 27 % der Substanz abgebaut. Die Messreihen mit Copal® Spacem erbrachten die geringste Degradierung des Antibiotikums. Hier konnte ein Substanzverlust von 22 % verzeichnet werden (siehe Abbildung 37).

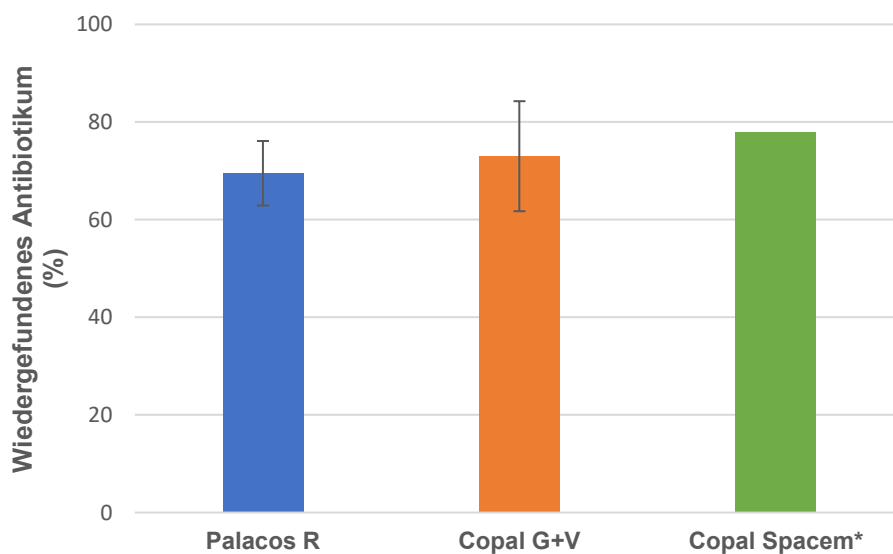


Abbildung 37 Wiedergefundenes Imipenem (250 mg) nach der Polymerisationsreaktion in Palacos® R (n=4), Copal® G+V (n=3) und Copal® Spacem (n=1); * Keine Standardabweichung vorhanden, da der Versuch nur einmal durchgeführt wurde

3.4.3 Stabilitätsvergleich zwischen Meropenem und Imipenem nach der Polymerisationsreaktion in PMMA Knochenzement

Zur besseren Veranschaulichung sind in Abbildung 38 die Messergebnisse beider Antibiotika in den verschiedenen PMMA Knochenzementen graphisch dargestellt. Auffallend ist, dass sich Meropenem in allen Zementen stabiler verhält als Imipenem

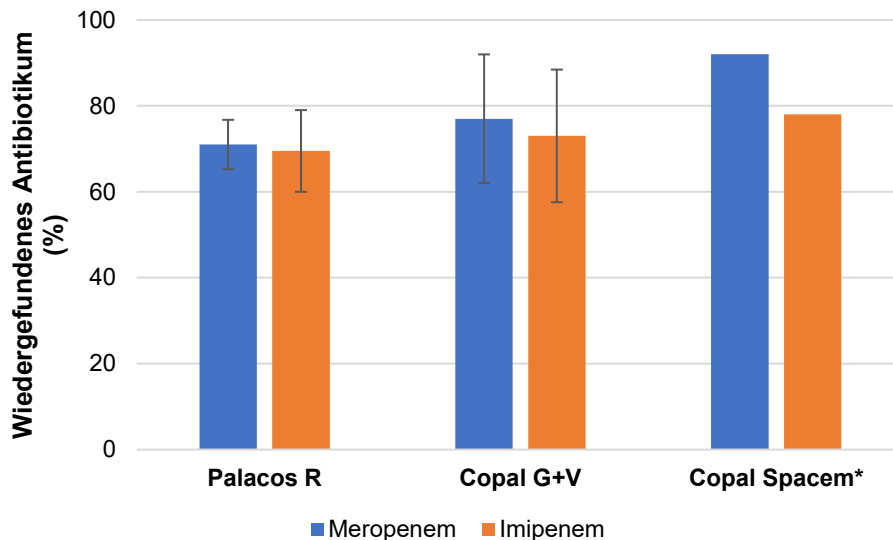


Abbildung 38 Vergleich von wiedergefundenem Meropenem und Imipenem (jeweils 250 mg) nach der Polymerisationsreaktion in Palacos® R (n=4), Copal® G+V (n=3) und Copal® Spacem (n=1); * Keine Standardabweichung vorhanden, da der Versuch nur einmal durchgeführt wurde)

In einem weiteren Versuch wurden 500 mg Meropenem oder Imipenem in 30 g Knochenzement (Copal® Spacem) im Hinblick auf Stabilität getestet (siehe Abbildung 39).

Meropenem blieb wie in allen Versuchsreihen zuvor überwiegend stabil. Es konnte lediglich ein Abbau von 17 % in der HPLC detektiert werden.

Auffällig dagegen ist der sehr geringe Abbau von Imipenem. Nur 7 % Substanzverlust konnte verzeichnet werden. In dieser Messung zeigte sich Imipenem stabiler als Meropenem.

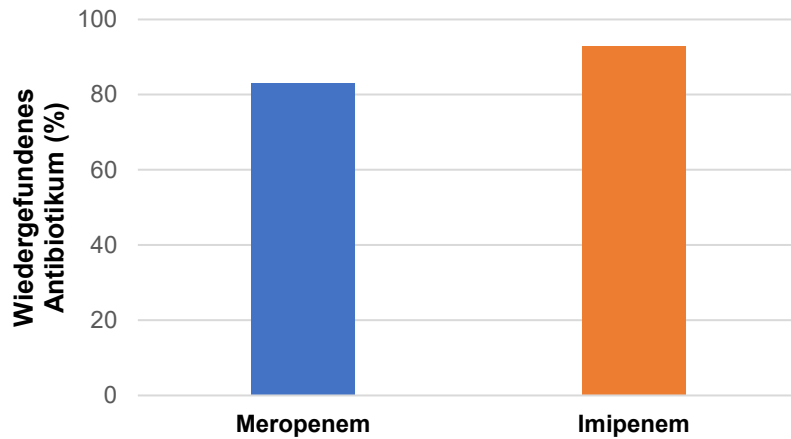


Abbildung 39 Vergleich zwischen wiedergefundene Meropenem und Imipenem (jeweils 500 mg) nach der Polymerisationsreaktion in Copal® Spacem (n=1)

3.5 Temperaturentwicklung während der Polymerisation in PMMA Knochenzement

Um einen Einblick in das Ausmaß der sich während der Polymerisation des PMMA entwickelnden Temperatur zu erhalten, wurde diese bei der Messreihe mit 500 mg Antibiotikum in 30 g Knochenzement aufgezeichnet. Für Copal® Spacem konnte die höchste gemessene Temperatur nach 10 min ermittelt werden. Das Maximum betrug zu diesem Zeitpunkt 106,3 °C. Nach einer verzögerten Wärmeentwicklung nahm diese ab einem bestimmten Zeitpunkt exponentiell zu. Abbildung 40 zeigt den Temperaturverlauf des Copal® Spacem.

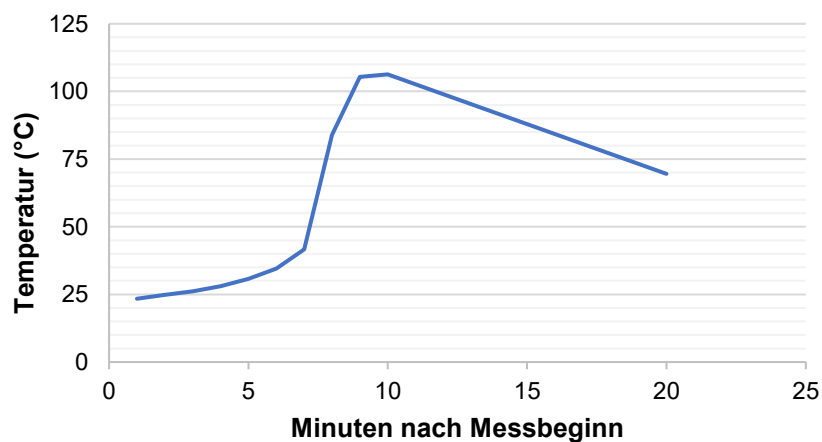


Abbildung 40 Temperaturentwicklung in 30 g Copal® Spacem während der Polymerisation

Die gemessenen Einzelwerte sind in Tabelle 15 zusammengefasst.

Wie in Tabelle 15 dargestellt, erreicht die Temperatur nach 7 min die 50 °C – Marke. Bereits nach 9 min liegt sie schon über 100 °C. Der Temperaturabfall nach der Polymerisation erfolgt langsam.

Die maximale Temperatur von Palacos® R wurde nach 7 min ermittelt. Sie betrug 116,3 °C und war die höchste aller drei untersuchten Knochenzemente. Der Temperaturabfall erfolgt langsam, die 100 °C – Grenze wird nach 11 Minuten wieder unterschritten. Der Temperaturverlauf ist in Abbildung 41 dargestellt.

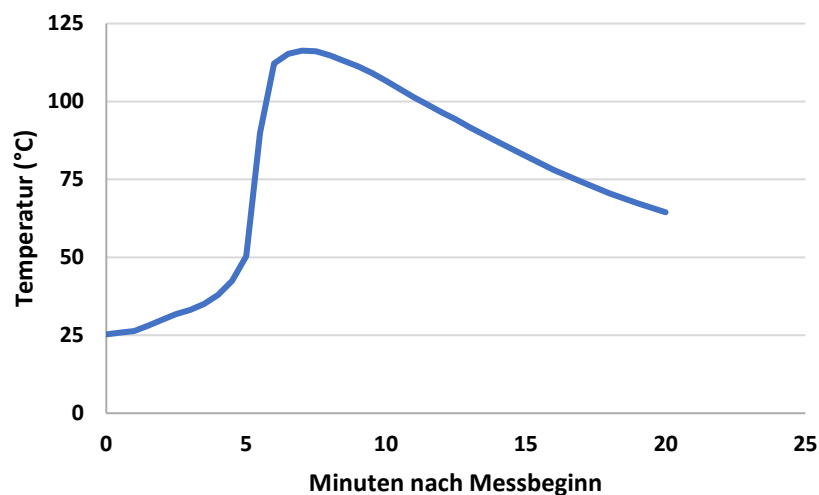


Abbildung 41 Temperaturentwicklung in 30 g Palacos® R während der Polymerisation

Abbildung 42 zeigt den Verlauf der Temperaturentwicklung in 30 g Copal® G+V. Die maximale Temperatur, die gemessen werden konnte, betrug 109 °C. Diese Temperatur konnte nach 6,5 Minuten ermittelt werden. Die Temperatur fiel nur langsam ab, nach 9 Minuten wurde die 100 °C – Grenze unterschritten.

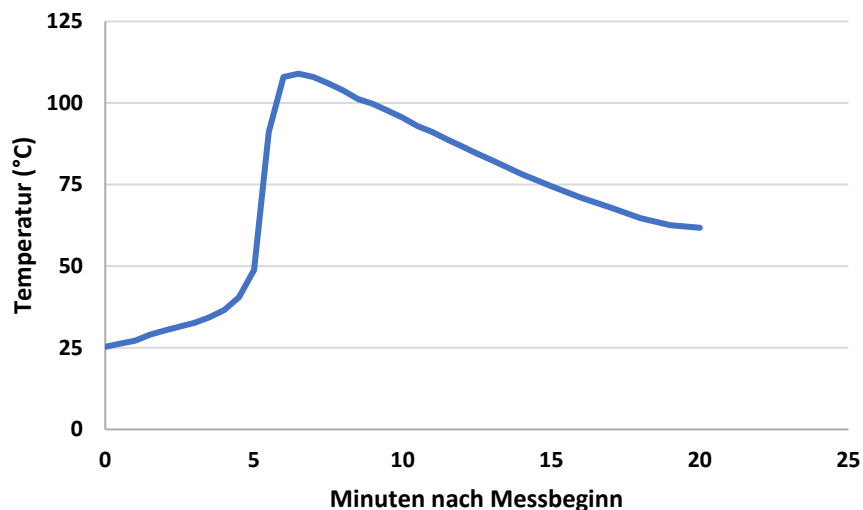


Abbildung 42 Temperaturentwicklung in 30 g Copal® G+V während der Polymerisation

Die Messergebnisse des Palacos® R, des Copal® G+V und des Copal® Spacem sind in Tabelle 15 dargestellt.

Minuten nach Messbeginn	Temperatur (in °C)		
	Palacos® R	Copal® G+V	Copal® Spacem
0	25,3	25,3	
0,5	25,9	26,3	
1	26,4	27,2	23,4
1,5	28,1	29	
2	30	30,3	24,8
2,5	31,8	31,5	
3	33,1	32,7	26,1
3,5	35,1	34,3	
4	38	36,6	28
4,5	42,5	40,5	
5	50,4	48,8	30,8
5,5	89,9	91,1	
6	112,2	108	34,5
6,5	115,3	109	
7	116,3	108	41,6
7,5	116,1	106	

8	114,8	103,9	84
8,5	113	101,2	
9	111,3	99,7	105,4
9,5	109,1	97,7	
10	106,7	95,5	106,3
10,5	104	93	
11	101,3	91,1	
11,5	99	88,9	
12	96,5	86,7	
12,5	94,2	84,5	
13	91,7	82,5	
14	87	78,3	
15	82,5	74,5	
16	78	71	
17	74,2	68	
18	70,5	64,7	
19	67,3	62,6	
20	64,5	61,8	69,5

Tabelle 15 Temperaturentwicklung in 30 g Palacos® R, 30 g Copal® G+V und 30 g Copal® Spacem während der Polymerisation tabellarisch

4 Diskussion

4.1 Ziel der Studie

Gramnegative Infektionen nehmen mit bis zu 25 % einen bedeutenden Anteil bei Infektionen der implantierten Prothesen ein. (22). Oftmals sind gramnegative Keime schwer zu bestimmen und häufig sind solche Infekte schwer zu therapieren. Zmistowski et al. (2011) berichten in ihrer Studie über einen Therapieerfolg (Debridement und/oder zweizeitiger Wechsel) bei gramnegativer Protheseninfektion von insgesamt 61,2 % bei 31 Patientinnen und Patienten (58). Carbapeneme werden insbesondere bei schwerwiegenden Protheseninfektionen mit gramnegativen Keimen eingesetzt (32). Die Verwendung dieser Reserve-Antibiotika – insbesondere des Meropenems - im PMMA Knochenzement ist gesichert und belegt. Eine effektive lokale, antimikrobielle Wirkung wird erzielt (59). Unklar ist der lokale Einsatz vom Imipenem.

Aufgrund der Temperaturempfindlichkeit der Carbapeneme stellt sich die Frage, wie stabil Wirkstoffe dieser AB-Klasse bei der Polymerisation von PMMA Knochenzementen tatsächlich sind (52).

Ziel dieser Studie war deshalb die Überprüfung der Verwendbarkeit von Meropenem und Imipenem in PMMA Knochenzementen.

4.2 Einsatz antibiotikahaltiger Knochenzemente

Antibiotikahaltige Knochenzemente (ALBC) werden in der orthopädischen Chirurgie seit vielen Jahrzehnten verwendet, um Protheseninfektionen vorzubeugen und bestehende Infektionen durch hohe lokale Konzentrationen an antimikrobiellen Substanzen zu bekämpfen (16). Diese Infektionen werden mit der Entwicklung von mikrobiellen Biofilmen assoziiert, welche eine Barriere für die die Infektion bekämpfenden Antibiotika darstellen (23). Die antibiotikahaltigen Knochenzemente dienen im primären Einsatz der Prophylaxe und sollen dazu beitragen, der Biofilmbildung lokal entgegenzuwirken. Dennoch wird der Einsatz dieser Knochenzemente in der Literatur kontrovers diskutiert. Manche Autoren warnen vor dem Einsatz antibiotikahaltiger Knochenzemente. In dieser Diskussion finden sich Argumente gegen den Einsatz, wie beispielsweise fehlende Wirksamkeit, hohe

Kosten, Resistenzentwicklung, systemische Toxizität und Beeinflussung mechanischer Merkmale (60). Demgegenüber steht eine Vielzahl an Publikationen, welche den Einsatz von ALBC unterstützen. Die Autoren dieser Veröffentlichungen begründen dies über den Nachweis einer Reduktion tiefer Protheseninfektionen durch den Einsatz antibiotikahaltiger Knochenzemente (60)(18). Eine größere Auswahl an PMMA Knochenzementen mit verschiedenen Antibiotika kann die Therapie zielgerechter und dadurch noch erfolgreicher gestalten. Aus diesem Grund ist es wichtig, mögliche neue Antibiotika im Knochenzement zu testen, um das gegenwärtige Sortiment an ALBCs zu vervollständigen.

4.2.1 Mögliche Alternative zu ALBC

In der Literatur berichtet eine Publikation aus dem Jahr 2016 über eine mögliche Alternative zu ALBC. Es ist die erste klinische Studie zum Einsatz von DAC® (engl.: Defensive Antibacterial Coating). Bei diesem Verfahren handelt es sich um die Verwendung eines antibiotikahaltigen, schnell resorbierbaren Hydrogels aus Hyaluronsäure und Polymilchsäure, welches vor Implantation auf die Oberfläche der entsprechenden Prothesen gegeben wird. Verwendet wurden in dieser Studie Hydrogels mit Vancomycin, Gentamycin oder Vancomycin + Meropenem. Die Ergebnisse zeigten keine nennenswerten radiologischen Auswirkungen in Bezug auf Knochenunstabilität und keine organspezifischen Nebenwirkungen. Verzögerte Wundheilung trat im Vergleich zu der Kontrollgruppe ohne DAC® deutlich weniger häufig auf. Zusätzlich konnte in der Zielgruppe eine zehnfache Reduktion infektionsspezifischer Merkmale (impliziert lokale Anzeichen einer Infektion, Drainage, Debridement und/oder Notwendigkeit einer Wechselloperation mit antibiotischer Therapie) als in der Kontrollgruppe nachgewiesen werden (61).

4.3 Limitationen dieser Diplomarbeit

In den Versuchen mit antibiotikahaltigem PMMA Knochenzement (ALBC) wurde versucht, die Situation und die Herstellung ähnlich dem realen Operationsgeschehen zu gestalten, allerdings konnten keine *in vivo* Bedingungen geschaffen werden. Mit neuen Techniken und verbessertem Material können im Operationssaal große Mengen (bis zu 80 g) antibiotikahaltigen PMMA

Knochenzements hergestellt werden. Die maximale Menge an Knochenzement, die in dieser Studie hergestellt werden konnte, betrug 30 g. Auch die Konzentration der Antibiotika im Knochenzement, welcher intraoperativ eingesetzt wird, übersteigt dabei die der Versuche in dieser Forschungsarbeit deutlich. Größere Mengen PMMA Knochenzement führen gleichzeitig zu einer höheren Wärmeentwicklung. Die höhere Temperatur kann die Stabilität der dem PMMA beigemischten Antibiotika zusätzlich reduzieren. Dies könnte beispielsweise bei der Herstellung von temporären Interimsprothesen, sogenannten Spacern, eine Rolle spielen, da die große Zementmasse ohne die Wärmeableitung der metallischen Prothese hierbei deutlich höher ist als bei der Zementverankerung einer Prothese. Falls Meropenem oder Imipenem der Auswahl von klinisch anwendbaren, antibiotikahaltigen Knochenzementen hinzugefügt werden sollen, müssen *in vitro* Messungen mit 1 – 2 g Antibiotikum pro 40 g PMMA durchgeführt werden.

Darüber hinaus konnte bei den Versuchen eine große Streuung in den Ergebnissen festgestellt werden. Die hohe Standardabweichung am Beispiel von Meropenem in Copal® G+V (ca. 15 %) ist ein Beispiel dafür. Für eine adäquate Beurteilung der Stabilität der beiden Antibiotika im Knochenzement müssen die Versuche vor einem Einsatz im klinischen Bereich noch häufig wiederholt werden. Da allerdings der Einsatz – insbesondere des Meropenems – bereits im klinischen Alltag bei Revisionsoperationen indiziert ist, kann von einer sicheren Anwendung des Meropenems in PMMA Knochenzementen ausgegangen werden.

In dieser Arbeit wurden Palacos® R, Copal® G + V und Copal® Spacem nach Zugabe von Carbapenemen untersucht. Die Ergebnisse dieser Untersuchung gelten ausschließlich auf die hier gewählten Kombinationen aus PMMA Knochenzement und Carbapenemen. Wird gegebenenfalls ein anderer PMMA Zement eingesetzt, sind diese hier ermittelten Ergebnisse nicht übertragbar. Dasselbe gilt gegebenenfalls für die Carbapeneme, falls diese von anderen als den hier verwendeten Hersteller stammen.

Darüber hinaus konnte in dieser Arbeit zwar der Anteil an Substanzverlust der untersuchten Antibiotika festgestellt werden, aber es wurden keine Elutionsraten gemessen.

4.4 Diskussion der Messergebnisse von Meropenem und Imipenem vor der Polymerisation

Beide Carbapeneme zeigten sich insgesamt instabil in Lösung. Dieser Effekt verstärkte sich zusätzlich durch die Einwirkung von hohen Temperaturen. Meropenem erwies sich, verglichen mit Imipenem, in allen Versuchen in Lösung als die stabilere Substanz. Dem maximalen Substanzverlust von 95 % bei Imipenem steht ein Gesamtabbau von Meropenem mit 75 % gegenüber. Nach längeren Verweildauern in flüssigen Medien muss daher bei beiden Antibiotika von einer biologischen Unwirksamkeit ausgegangen werden. Das flüssige Monomer, welches für die Knochenzementpräparierung benötigt wird, sollte nur so kurz als möglich mit dem Antibiotikumpulver in Verbindung gebracht werden.

Samara et al. (2017) überprüften neben einigen anderen Antibiotika ebenfalls die Stabilität von Imipenem und Meropenem in wässriger Lösung. Diese Untersuchungen fanden bei Körpertemperatur (37 °C über 42 Tage) und in späterer Folge bei erhöhter Temperatur (83 °C für 1 min) statt. Wie auch in den Versuchen in dieser Arbeit zeigten sich in deren Messungen beide Carbapeneme instabil in Lösung. Bei Körpertemperatur erlitt Meropenem einen Abbau bei einer Halbwertszeit von 67 Tagen und Imipenem von 72 Tagen. Bei erhöhten Temperaturen zeigten beide Substanzen, ebenfalls wie in dieser Arbeit, einen vermehrten Substanzverlust (62).

Als richtungsweisend für die späteren Versuche mit PMMA Knochenzement erwiesen sich die Ergebnisse beider Antibiotika nach Erhitzung in Pulverform. Trotz hoher Temperaturen konnte nahezu fast kein Substanzverlust von Meropenem oder Imipenem festgestellt werden. Auch in diesen Versuchen konnte Meropenem eine höhere Stabilität aufweisen als Imipenem. Während unter maximaler Temperatureinwirkung (120 °C) bei Meropenem ein Abbau von lediglich 3 % detektiert wurde, verlor Imipenem insgesamt 7 % an Substanz.

Der geringe Abbau beider Antibiotika in Pulverform erwies sich als Vorteil für die anschließenden Messreihen, bei denen Meropenem und Imipenem in Pulverform PMMA Knochenzement beigemischt werden.

4.5 Diskussion der Messergebnisse von Meropenem und Imipenem nach der Polymerisation

4.5.1 Ethylacetat als Lösungsmittel

Für die Ermöglichung einer Flüssigkeitschromatographie wurde der zuvor physikalisch zerkleinerte PMMA Knochenzement mit Ethylacetat chemisch aufgelöst. Dies liegt zum einen an der Eigenschaft, dass Ethylacetat in Wasser eine wässrige Phase und eine Ethylacetat – Phase bildet. Das Polymer des Knochenzements bindet in der Ethylacetat – Phase, während das gelöste Antibiotikum in der wässrigen Phase aufzufinden ist. Somit konnte das Antibiotikum in der wässrigen Phase gut abpipettiert werden, was eine Chromatographie ermöglichte. Zum anderen konnten in der Chromatographie keine Interaktionen zwischen dem Lösungsmittel und den gelösten Antibiotika gefunden werden.

Die Versuche mit PMMA Knochenzement bestätigten die positiven Ergebnisse aus den Messreihen mit Pulver. Im Gegensatz zu den Versuchen in Lösung konnte sowohl bei Meropenem, als auch bei Imipenem kein großer Substanzverlust nachgewiesen werden. Die Versuche mit beiden Antibiotika fanden mit verschiedenen PMMA Knochenzementen statt. Die Messungen wurden mit Palacos® R, Copal® G+V und Copal® Spacem durchgeführt. Die Versuche mit Copal® Spacem konnten sowohl mit 15 g PMMA Knochenzement, als auch mit 30 g Zement aufgrund fehlender Antibiotikaressourcen nur einmal durchgeführt werden. Der geringste Verlust an Antibiotika konnte bei den Versuchen mit dem Copal® Spacem nachgewiesen werden. Hier wurde ein Verlust von 17 % bei Meropenem verzeichnet. Bei Imipenem konnte eine Inaktivierung um 7 % nachgewiesen werden. Auffällig ist der sehr geringe Abbau von Imipenem. In dieser Messung zeigte sich Imipenem etwas stabiler als Meropenem. Ursache könnten die in situ gebildeten Mikroporen im Copal® Spacem sein, die einerseits die Maximaltemperatur beeinflusst, andererseits für eine signifikant bessere Elution der eingesetzten Antibiotika sorgt.

Die Ergebnisse der Tests zeigen, dass grundsätzlich beide Carbapeneme im PMMA Knochenzement in etwa gleich stabil sind. Diese Tests müssen allerdings noch

mehrmals wiederholt werden, um statistische Sicherheit zu erlangen. Der höchste gemessene Abbau von Meropenem und Imipenem erfolgte mit 250 mg Antibiotikum im Palacos R® (15 g PMMA Knochenzement) mit insgesamt 29 % bei Meropenem und 30 % bei Imipenem. Dies bedeutet im schlechtesten Fall eine Wiederfindung von 70 %. Aufgrund der Ergebnisse nach der Polymerisationsreaktion scheint ein Einsatz beider Antibiotika in PMMA Knochenzement im klinischen Bereich realisierbar.

Versuche mit Meropenem in PMMA Zement wurden bereits von anderen Autoren durchgeführt. Baleani et al. (2008) untersuchten PMMA Zemente, die entweder Vancomycin und Meropenem in unterschiedlichen Dosierungen (jeweils 0,5 g und 1 g) enthielten, oder Vancomycin alleine (1 g). Die Knochenzemente mit Meropenem zeigten sich wirksam gegenüber Bakterienstämmen, gegen die Vancomycin alleine unwirksam war. Dies lässt sowohl auf eine ausreichende Elutionsrate von Meropenem in PMMA Knochenzementen, als auch auf seine biologische Wirksamkeit an deren Oberfläche schließen (59). Aufgrund der hohen Wiederfindungsrate der in dieser Arbeit untersuchten Carbapeneme decken sich die Ergebnisse beider Studien.

Solomon et al. (2010) berichten in einem Einzelfall über den Einsatz von Meropenem (10 g), das auf zwei PMMA Knochenzemente (Palacos®; jeweils mit 1,8 g Gentamicin und 1,8 g Clindamycin) aufgeteilt wurde. Es handelt sich hierbei um den ersten in der Literatur erwähnten erfolgreichen Einsatz von Meropenem in PMMA Zementen zur Therapie von Protheseninfektionen (63).

Heute wird Meropenem häufiger mit PMMA Knochenzement eingesetzt. Anagnostakos berichtet in seiner Studie (2017) über den Einsatz von Meropenem – haltigen Spacern (0,5 g Gentamicin + 2 g Cefotaxime + 2 g Meropenem) bei mit *Pseudomonas aeruginosa* infizierten Prothesen (64).

Die ähnlichen Wiederfindungsergebnisse von Meropenem und Imipenem nach der PMMA Polymerisation lassen auch einen Einsatz von Imipenem in PMMA Knochenzementen realisierbar erscheinen.

Wie auch beim Meropenem gibt es Studien, in denen Imipenem/Cilastatin in Kombination mit Vancomycin in PMMA Zementen getestet wurde. Cerretani et al. (2002) überprüften die Elutionsraten von Vancomycin, welches alleine (2 g) oder mit Imipenem/Cilastatin (jeweils 2 g) in drei verschiedenen PMMA Knochenzementen (40 g Palacos® R, Simplex® P und CMW®1) enthalten war. Es

wurden in dieser Studie nur die Ergebnisse von der Vancomycin – Elution berücksichtigt. Allerdings fand man heraus, dass die Elutionsraten von Vancomycin in Kombination mit Imipenem/Cilastatin deutlich höher ausfielen als beim Vancomycin ohne das Carbapenem. Leider liegen in dieser Studie keine Daten über die Elution des Imipenem/Cilastatin vor, ebenso wenig wie Daten über biologische Wirksamkeit an der Oberfläche von PMMA Knochenzementen (54).

Solche synergistischen Effekte sind aber weitestgehend bekannt (56) und können auch für die Kombination Carbapeneme mit Gentamicin angenommen werden.

Barla et al. (2015) überprüften die minimale Hemmkonzentration von Imipenem (2 g) alleine und in Kombination mit Vancomycin (4 g) in PMMA Knochenzement (Simplex® mit Tobramycin) mittels UPLC. Die Antibiotika waren dabei in kleinen Platten aus PMMA Knochenzement mit 10 mm bzw. 16 mm Durchmesser enthalten. Es konnte nachgewiesen werden, dass die Konzentration von Imipenem nach 6 Wochen noch über der minimalen Hemmkonzentration war (65).

Diese Ergebnisse stimmen mit der hohen Wiederfindungsrate von Imipenem nach der Polymerisation aus dieser Arbeit überein und sprechen auch für einen Einsatz von Imipenem in PMMA Knochenzementen.

4.5.2 Temperaturentwicklung in PMMA Knochenzement

Aufgrund der in der Literatur beschriebenen exothermen Reaktion bei der Polymerisation vom MMA zum PMMA (66) wurden in dieser Studie Temperaturmessungen im Zentrum von einer Zementkugel aus 30 g PMMA Knochenzement durchgeführt.

Neben dem Stabilitätsverlust der hitzelabilen Carbapeneme stellt die hohe Temperatur auch ein Risiko zur Entstehung von lokalen thermisch induzierten Nekrosen sowie chemischen Nekrosen durch das Monomer dar, welches während der Polymerisation nicht reagiert hat (67). Der Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Temperaturentwicklung und der Menge an verwendetem Knochenzement ist in der Literatur bereits beschrieben worden. In einer Arbeit aus dem Jahr 2009 wurde die Temperatur an der Oberfläche von Knochenzementproben unterschiedlicher Dicke (1, 2, 4 und 5 mm) und gleichem Durchmesser (25 mm) ausgewertet. Mit zunehmender Zementmasse stieg die

Temperatur. Zudem dauerte der Polymerisationsvorgang länger, je höher die Masse war. Der Mittelwert der maximalen Temperatur war bei einer Dicke von 5 mm 44,2 °C. In einer anderen Studie wurde bei einer Dicke von 10 mm eine maximale Temperatur von 107 °C gemessen (68). Solche hohen in-vitro Werte werden erzielt, wenn die in-vivo Situationen unberücksichtigt bleiben bzw. die Messungen adiabatisch durchgeführt werden. Die Werte entsprechen dann den Literaturwerten und sind auch bei dieser Untersuchung (106,3 °C) vergleichbar. Der Unterschied zu der in dieser Diplomarbeit durchgeführten Messung ist, dass hier nicht im Zentrum, sondern jeweils an der Oberfläche von PMMA Knochenzement gemessen wurde. Im Zentrum wurde gemessen, da im Zentrum des Knochenzements die Polymerisationsfraktion (> 96 %) höherer ist als im Randbereich (ca. 84 %) und deshalb von einer höheren Temperaturentwicklung auszugehen ist (67). Da es in dieser Arbeit um die Auswertung der Stabilität der Antibiotika ging, wurde der Temperaturfühler am Ort der größten Hitze platziert. Unter in-vivo Bedingungen wird das im Zement eingeschlossene Antibiotikum nur aus den äußersten Zementschichten freigesetzt. Antibiotikapartikel, die sich im Inneren des Zementköchers befinden, verbleiben ohne Freisetzung im Zement. Temperaturmessungen zum Einfluss der Stabilität auf die im Zement eingesetzten Antibiotika sollten daher unter worst case im Inneren des Zementköchers erfolgen, auch wenn die in-vivo Situation ganz anders ist und die tatsächliche Temperaturentwicklung im Körper bei ca. 42-46°C liegt (69).

Die Temperaturmessungen wurden mit Copal® Spacem, Palacos® R und Copal® G+V durchgeführt. Der Temperaturabfall nach der Polymerisation erfolgt stets langsam. Dies hat zur Folge, dass die Antibiotika länger einer hohen Temperatur ausgesetzt sind. Allerdings sind die temperaturableitenden in-vivo Faktoren in unseren in-vitro Versuchen bewusst ausgeschaltet worden. So fehlt eine temperaturableitende metallische Prothese, Gewebe und ein Austausch an Flüssigkeiten über den Blutstrom.

Interessant ist, dass beim Palacos® R, bei dem die im Vergleich zu den beiden anderen PMMA Knochenzementen niedrigste Wiederfindungsrate an Antibiotika nachweisbar war, die höchste Temperatur gemessen wurde. Hier könnte ein Zusammenhang bestehen, da die Carbapeneme länger höheren Temperaturen ausgesetzt waren. Die maximale gemessene Temperatur im Copal® G+V war höher

als die vom Copal® Spacem und auch hier fiel die Wiederfindungsrate im Vergleich geringer aus.

Falls die beiden Carbapeneme im klinischen Bereich auch in anderen als die in dieser Arbeit verwendeten Knochenzementen zum Einsatz kommen sollen, müssen noch Messungen der Hitzeentwicklung in anderen Knochenzementen vorgenommen werden. Dies könnte Inhalt für weitere Forschungsarbeiten liefern.

4.6 Mechanische Eigenschaften von ALBC

Antibiotikhaltige Knochenzemente haben sich als sinnvolle Maßnahme zur Vorbeugung oder Behandlung von Protheseninfektionen bewiesen. Ein Problem, welches in der Literatur diskutiert wird, stellt die Menge an Antibiotika dar, die den therapeutisch besten Erfolg bietet und gleichzeitig die mechanischen Eigenschaften des PMMA Knochenzements nicht negativ beeinflusst. Studien haben gezeigt, dass sowohl die Konzentration, als auch die Art der Antibiotika eine Rolle spielen. In einer Forschungsarbeit im Journal of Arthroplasty aus dem Jahr 2015 wurden die mechanischen Veränderungen von PMMA Knochenzement (Palacos® R + G), welcher mit Cefazolin und Vancomycin in unterschiedlicher Konzentration (von 2,5 % bis zu 10 % Anteil an Antibiotika) kombiniert wurde, getestet. Mögliche mechanische Veränderungen wurden mit einer Kontrollgruppe ohne Antibiotika sofort nach Aushärtung und nach einem Monat ausgewertet. Die Ergebnisse zeigten zunächst keinen signifikanten Unterschied, nach einem Monat konnte vor allem in den Gruppen mit höheren Antibiotikakonzentrationen (7,5 % und 10 %) eine Reduktion der Druckfestigkeit nachgewiesen werden. Ebenfalls zeigten sich Unterschiede in den Ergebnissen der Proben mit Cefazolin und Vancomycin. In der Gruppe mit Vancomycin mit 2,5 % Anteil konnte eine höhere Druckfestigkeit festgestellt werden als in der Vergleichsgruppe mit Cefazolin 2,5 % (70). Die in dieser Arbeit verwendeten Proben mit ALBC wiesen eine Konzentration von ca. 1,6 % Antibiotika auf. Dieser Wert liegt deutlich unter den in der beschriebenen Studie getesteten. Davon ausgehend, dass die Höhe der Konzentration eine Rolle spielt, würde man gute mechanische Eigenschaften der hergestellten Proben erwarten. Allerdings gibt es keine Studien über die Auswirkungen von Meropenem und Imipenem auf die Stabilität von PMMA Knochenzement. Daher müssten vor

einem Einsatz in der Klinik noch mechanische Testungen mit den beiden Carbapenemen durchgeführt werden.

5 Conclusio

Bei Revisionseingriffen in der Endochirurgie wird der lokale Einsatz von Reserveantibiotika bei schwer kontrollierbaren Infekten durch gramnegative, multiresistente Bakterienstämme immer häufiger verwendet. PMMA Knochenzemente dienen dabei als lokale Wirkstoffträger, die intraoperativ entsprechend mit den Wirkstoffen ausgerüstet werden müssen. Die Chirurgin oder der Chirurg ist bei dieser Vorgehensweise darauf angewiesen, dass die gewählte Kombination aus PMMA Zement und Antibiotika sicher ist und negative Wechselwirkungen ausbleiben. Aus diesem Grund wurde in dieser Arbeit die Stabilität zweier temperaturempfindlicher Carbapeneme, Meropenem und Imipenem, vor und nach der mit starker Hitzeentwicklung einhergehenden Polymerisationsreaktion ermittelt. Die Ergebnisse vor Polymerisation zeigten eine sehr hohe Stabilität der Antibiotika in Pulverform und eine große Anfälligkeit mit Substanzverlust bei Erhitzung in Lösung. Die Versuche mit PMMA Knochenzement lieferten Messergebnisse mit Wiederfindung von mindestens 66 % bei Meropenem und 63 % bei Imipenem. In fast allen Versuchsreihen konnte Meropenem eine höhere Temperaturstabilität aufweisen als Imipenem. Das geringe Ausmaß an Substanzverlust bei beiden Antibiotika im PMMA Knochenzement weist auf eine ausreichende Hitzestabilität der untersuchten Carbapeneme in diesem Medium hin. Aus diesem Grund kann ein klinischer Einsatz von Meropenem und Imipenem in PMMA Knochenzement bei Revisionseingriffen in der Endochirurgie zur Bekämpfung hartnäckiger Infekte durch gramnegative Keime empfohlen werden.

Literaturverzeichnis

1. Kim C, Linsenmeyer KD, Vlad SC, Guermazi A, Clancy MM, Niu J, u. a. Prevalence of radiographic and symptomatic hip osteoarthritis in an urban United States community: the Framingham osteoarthritis study. *Arthritis Rheumatol (Hoboken, NJ)* [Internet]. November 2014 [zitiert 30. Juni 2017];66(11):3013–7. Verfügbar unter: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25103598>
2. Koch-Institut R. Ro [Internet]. Daten und Fakten: Ergebnisse der Studie »Gesundheit in Deutschland aktuell 2010«. 2012. S. 106. Verfügbar unter: https://www.rki.de/DE/Content/Gesundheitsmonitoring/Gesundheitsberichterstattung/GBEDownloadsB/Geda2010/Arthrose.pdf?__blob=publicationFile
3. American Joint Replacement Registry 2016 Annual Report Third AJRR Annual Report on Hip and Knee Arthroplasty Data.
4. Niethard FU, Pfeil J, Biberthaler P. Orthopädie und Unfallchirurgie. In: *Duale Reihe*, 6 Auflage. 2009. S. 168–74.
5. Zhang Y, Jordan JM. Epidemiology of osteoarthritis. *Rheum Dis Clin North Am* [Internet]. August 2008 [zitiert 20. Juli 2017];34(3):515–29. Verfügbar unter: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18687270>
6. Reiser M, Kuhn F-P, Debus J. Radiologie. In: *Duale Reihe*, 3 Auflage. 2011. S. 355–6.
7. American Joint Replacement Registry - Annual Report 2016 [Internet]. 2016. S. 12–28. Verfügbar unter: http://www.ajrr.net/images/annual_reports/AJRR_2016_Annual_Report_final.pdf
8. Bleß H-H, Kip M. Weißbuch Gelenkersatz - Versorgungssituation bei endoprothetischen Hüft- und Knieoperationen in Deutschland. 2016. 1-130 S.
9. Vaishya R, Chauhan M, Vaish A. Bone cement. *J Clin Orthop Trauma* [Internet]. Dezember 2013;4(4):157–63. Verfügbar unter: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0976566213001057>
10. Wengler A, Nimptsch U, Mansky T. Hip and knee replacement in Germany and the USA—analysis of individual inpatient data from German and US hospitals for the years 2005 to 2011 [Internet]. 2014. S. 408–14. Verfügbar

unter: <https://www.aerzteblatt.de/pdf/111/23/m407.pdf>

11. Hsieh P, Lee MS, Hsu K, Chang Y, Shih H, Ueng SW. Gram-Negative Prosthetic Joint Infections: Risk Factors and Outcome of Treatment. *Clin Infect Dis* [Internet]. Oktober 2009;49(7):1036–43. Verfügbar unter: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/605593>
12. Pitto RP, Sedel L. Periprosthetic Joint Infection in Hip Arthroplasty: Is There an Association Between Infection and Bearing Surface Type? *Clin Orthop Relat Res* [Internet]. 1. Oktober 2016;474(10):2213–8. Verfügbar unter: <http://link.springer.com/10.1007/s11999-016-4916-y>
13. Song Z, Borgwardt L, Høiby N, Wu H, Sørensen TS, Borgwardt A. Prosthesis infections after orthopedic joint replacement: the possible role of bacterial biofilms. *Orthop Rev (Pavia)* [Internet]. 14. Juni 2013;5(2):14. Verfügbar unter: <http://www.pagepress.org/journals/index.php/or/article/view/or.2013.e14>
14. Kühn K-D, Renz N, Trampuz A. Lokale Antibiotikatherapie. *Unfallchirurg* [Internet]. 22. Juli 2017 [zitiert 26. September 2017];120(7):561–72. Verfügbar unter: <http://link.springer.com/10.1007/s00113-017-0372-8>
15. Arora M. Polymethylmethacrylate bone cements and additives: A review of the literature. *World J Orthop* [Internet]. 2013;4(2):67. Verfügbar unter: <http://www.wjgnet.com/2218-5836/full/v4/i2/67.htm>
16. Samuel S, Mathew BS, Veeraraghavan B, Fleming DH, Chittaranjan SB, Prakash JAJ. In vitro study of elution kinetics and bio-activity of meropenem-loaded acrylic bone cement. *J Orthop Traumatol* [Internet]. 30. September 2012;13(3):131–6. Verfügbar unter: <http://link.springer.com/10.1007/s10195-012-0191-1>
17. Lye KW, Tideman H, Merx MAW, Jansen JA. Bone Cements and Their Potential Use in a Mandibular Endoprosthesis. *Tissue Eng Part B Rev* [Internet]. Dezember 2009;15(4):485–96. Verfügbar unter: <http://www.liebertonline.com/doi/abs/10.1089/ten.teb.2009.0139>
18. Tande AJ, Patel R. Prosthetic Joint Infection. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 1. April 2014;27(2):302–45. Verfügbar unter: <http://cmr.asm.org/cgi/doi/10.1128/CMR.00111-13>
19. Hinarejos P. Use of antibiotic-loaded cement in total knee arthroplasty. *World J Orthop* [Internet]. 2015;6(11):877. Verfügbar unter: <http://www.wjgnet.com/2218-5836/full/v6/i11/877.htm>

20. Gbejuade HO, Lovering AM, Webb JC. The role of microbial biofilms in prosthetic joint infections. *Acta Orthop* [Internet]. April 2015 [zitiert 6. Juni 2017];86(2):147–58. Verfügbar unter: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25238433>
21. Renz N, Trampuz A. Periprothetische Infektionen: aktueller Stand der Diagnostik und Therapie. [zitiert 22. Oktober 2017]; Verfügbar unter: https://www.pro-implant-foundation.org/images/material/Renz_Periprothetische_Infektionen_Aktuelle_r_Stand_OR_PJI.pdf
22. Harrasser N, Lenze U, Pohlig F. Die periprothetische Gelenkinfektion: Diagnostik und Therapie. 2012 [zitiert 21. November 2017];1(1):7–87. Verfügbar unter: https://www.online-oup.de/media/article/2012/01/BC3A9CA0-10A0-4E13-AFDD-B20DB5314C46/BC3A9CA010A04E13AFDDB20DB5314C46_harrasser_1_original.pdf
23. Jacqueline C, Caillon J. Impact of bacterial biofilm on the treatment of prosthetic joint infections. *J Antimicrob Chemother* [Internet]. 1. September 2014;69(suppl 1):i37–40. Verfügbar unter: <https://academic.oup.com/jac/article-lookup/doi/10.1093/jac/dku254>
24. Radoicic D, Milanovic M, Marinkovic J, Radoicic D. Ertapenem Articulating Spacer for the Treatment of Polymicrobial Total Knee Arthroplasty Infection. *Can J Infect Dis Med Microbiol* [Internet]. 2016;2016:1–5. Verfügbar unter: <http://www.hindawi.com/journals/cjidmm/2016/5753489/>
25. Rodríguez-Pardo D, Pigrau C, Lora-Tamayo J, Soriano A, del Toro MD, Cobo J, u. a. Gram-negative prosthetic joint infection: outcome of a debridement, antibiotics and implant retention approach. A large multicentre study. *Clin Microbiol Infect* [Internet]. November 2014;20(11):O911–9. Verfügbar unter: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1198743X14653477>
26. de Bentzmann S, Plésiat P. The *Pseudomonas aeruginosa* opportunistic pathogen and human infections. *Environ Microbiol* [Internet]. Juli 2011;13(7):1655–65. Verfügbar unter: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1462-2920.2011.02469.x>
27. Bodey GP, Bolivar R, Fainstein V, Jadeja L. Infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Rev Infect Dis* [Internet]. 5(2):279–313. Verfügbar

- unter: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6405475>
28. Hirsch EB, Tam VH. Impact of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection on patient outcomes. *Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res* [Internet]. 9. August 2010;10(4):441–51. Verfügbar unter: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1586/erp.10.49>
 29. Brouqui P, Rousseau MC, Stein A, Drancourt M, Raoult D. Treatment of *Pseudomonas aeruginosa*-infected orthopedic prostheses with ceftazidime-ciprofloxacin antibiotic combination. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. November 1995;39(11):2423–5. Verfügbar unter: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8585720>
 30. Zimmerli W, Moser C. Pathogenesis and treatment concepts of orthopaedic biofilm infections. *FEMS Immunol Med Microbiol* [Internet]. Juli 2012;65(2):158–68. Verfügbar unter: <https://academic.oup.com/femspd/article-lookup/doi/10.1111/j.1574-695X.2012.00938.x>
 31. Wu H, Moser C, Wang H-Z, Høiby N, Song Z-J. Strategies for combating bacterial biofilm infections. *Int J Oral Sci* [Internet]. 12. März 2015;7(1):1–7. Verfügbar unter: <http://www.nature.com/articles/ijos201465>
 32. Senthil S, Munro JT, Pitto RP. Infection in total hip replacement: meta-analysis. *Int Orthop* [Internet]. 18. Februar 2011;35(2):253–60. Verfügbar unter: <http://link.springer.com/10.1007/s00264-010-1144-z>
 33. Maurer TB, Ochsner PE. Infected knee arthroplasty. A treatment algorithm at the Kantonsspital Liestal, Switzerland. *Orthopade* [Internet]. September 2006 [zitiert 15. Oktober 2017];35(9):917–8, 920–8. Verfügbar unter: <http://link.springer.com/10.1007/s00132-006-0978-y>
 34. med Erwin Kollig P-D, Willem Kroes B. Die infizierte Knieendoprothese : Evaluation eines diagnostischen und therapeutischen Algorithmus. 2005 [zitiert 15. Oktober 2017];14–20. Verfügbar unter: <http://www-brs.ub.ruhr-uni-bochum.de/netahtml/HSS/Diss/KroesBerndWillem/diss.pdf>
 35. Peter Ritschl U-P, Florian Thalhammer Teilnehmer U-P, Univ-Prof Nikolaus Böhler P, Univ-Prof Hans Bröll P, Univ-Prof Ulrich Dorn P, DDr Wolfgang Graninger U-P, u. a. *Österreichische Ärztezeitung - Protheseninfektionen in der Orthopädie*. 2008 [zitiert 22. November 2017]; Verfügbar unter: http://www.oeginfekt.at/download/experten_statement_protheseninfektionen

_in_der_orthopaedie_2008.pdf

36. Mazzucchelli L, Rosso F, Marmotti A, Bonasia DE, Bruzzone M, Rossi R. The use of spacers (static and mobile) in infection knee arthroplasty. *Curr Rev Musculoskelet Med* [Internet]. 22. Dezember 2015;8(4):373–82. Verfügbar unter: <http://link.springer.com/10.1007/s12178-015-9293-8>
37. Iarikov D, Demian H, Rubin D, Alexander J, Nambiar S. Choice and Doses of Antibacterial Agents for Cement Spacers in Treatment of Prosthetic Joint Infections: Review of Published Studies. *Clin Infect Dis* [Internet]. 1. Dezember 2012;55(11):1474–80. Verfügbar unter: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1093/cid/cis735>
38. Faschingbauer M, Bieger R, Reichel H, Weiner C, Kappe T. Complications associated with 133 static, antibiotic-laden spacers after TKA. *Knee Surgery, Sport Traumatol Arthrosc* [Internet]. 15. Oktober 2016;24(10):3096–9. Verfügbar unter: <http://link.springer.com/10.1007/s00167-015-3646-0>
39. Hsu YC, Cheng HC, Ng TP, Chiu KY. Antibiotic-Loaded Cement Articulating Spacer for 2-Stage Reimplantation in Infected Total Knee Arthroplasty. *J Arthroplasty* [Internet]. Oktober 2007;22(7):1060–6. Verfügbar unter: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0883540307002550>
40. Osmon DR, Berbari EF, Berendt AR, Lew D, Zimmerli W, Steckelberg JM, u. a. Diagnosis and Management of Prosthetic Joint Infection: Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* [Internet]. 1. Januar 2013;56(1):e1–25. Verfügbar unter: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1093/cid/cis803>
41. Sousa R, Pereira A, Massada M, da Silva MV, Lemos R, Costa e Castro J. Empirical antibiotic therapy in prosthetic joint infections. *Acta Orthop Belg* [Internet]. April 2010;76(2):254–9. Verfügbar unter: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20503953>
42. Zhanel GG, Wiebe R, Dilay L, Thomson K, Rubinstein E, Hoban DJ, u. a. Comparative review of the carbapenems. *Drugs* [Internet]. 2007;67(7):1027–52. Verfügbar unter: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17488146>
43. Bush K, Bradford PA. β -Lactams and β -Lactamase Inhibitors: An Overview. *Cold Spring Harb Perspect Med* [Internet]. August 2016;6(8):a025247. Verfügbar unter: <http://perspectivesinmedicine.cshlp.org/lookup/doi/10.1101/cshperspect.a02>

44. Suerbaum S, Burchard G-D, Kaufmann SHE, Schulz TF. Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie [Internet]. Suerbaum S, Burchard G-D, Kaufmann SHE, Schulz TF, Herausgeber. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2016. 737-740 S. (Springer-Lehrbuch). Verfügbar unter: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-662-48678-8>
45. Bush K. Bench-to-bedside review: The role of β -lactamases in antibiotic-resistant Gram-negative infections. Crit Care [Internet]. 2010;14(3):224. Verfügbar unter: <http://ccforum.biomedcentral.com/articles/10.1186/cc8892>
46. Papp-Wallace KM, Endimiani A, Taracila MA, Bonomo RA. Carbapenems: Past, Present, and Future. Antimicrob Agents Chemother [Internet]. November 2011;55(11):4943–60. Verfügbar unter: <http://aac.asm.org/lookup/doi/10.1128/AAC.00296-11>
47. Lisa M-N, Palacios AR, Aitha M, González MM, Moreno DM, Crowder MW, u. a. A general reaction mechanism for carbapenem hydrolysis by mononuclear and binuclear metallo- β -lactamases. Nat Commun [Internet]. 14. Dezember 2017;8(1):538. Verfügbar unter: <http://www.nature.com/articles/s41467-017-00601-9>
48. Mendez A, Chagastelles P, Palma E, Nardi N, Schapoval E. Thermal and alkaline stability of meropenem: Degradation products and cytotoxicity. Int J Pharm [Internet]. Februar 2008;350(1–2):95–102. Verfügbar unter: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378517307007053>
49. Smith GB, Dezeny GC, Douglas AW. Stability and Kinetics of Degradation of Imipenem in Aqueous Solution. J Pharm Sci [Internet]. August 1990;79(8):732–40. Verfügbar unter: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022354915483170>
50. Breilh D, Texier-Maugein J, Allaouchiche B, Saux M-C, Boselli E. Carbapenems. J Chemother [Internet]. 12. Februar 2013;25(1):1–17. Verfügbar unter: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1179/1973947812Y.0000000032>
51. Chowdhury C, Nayak TR, Young KD, Ghosh AS. A weak dd-carboxypeptidase activity explains the inability of PBP 6 to substitute for PBP 5 in maintaining normal cell shape in Escherichia coli. FEMS Microbiol Lett [Internet]. Februar 2010;303(1):76–83. Verfügbar unter:

- <https://academic.oup.com/femsle/article-lookup/doi/10.1111/j.1574-6968.2009.01863.x>
52. Cielecka-Piontek J, Paczkowska M, Lewandowska K, Barszcz B, Zalewski P, Garbacki P. Solid-state stability study of meropenem – solutions based on spectrophotometric analysis. *Chem Cent J* [Internet]. 2013;7(1):98. Verfügbar unter: <http://ccj.springeropen.com/articles/10.1186/1752-153X-7-98>
 53. Zaccardelli DS, Sanders Krcmarik C, Wolk R, Khalidi N. Stability of Imipenem and Cilastatin Sodium in Total Parenteral Nutrient Solution. *J Parenter Enter Nutr* [Internet]. 2. Mai 1990;14(3):306–9. Verfügbar unter: <http://doi.wiley.com/10.1177/0148607190014003306>
 54. Cerretani D, Giorgi G, Fornara P, Bocchi L, Neri L, Ceffa R, u. a. The in vitro elution characteristics of vancomycin combined with imipenem-cilastatin in acrylic bone–cements: A pharmacokinetic study. *J Arthroplasty* [Internet]. August 2002;17(5):619–26. Verfügbar unter: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0883540302000591>
 55. Bowyer GW, Cumberland N. Antibiotic release from impregnated pellets and beads. *J Trauma* [Internet]. März 1994;36(3):331–5. Verfügbar unter: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8145311>
 56. Kühn KD, Renz N, Trampuz A. Lokale Antibiotikatherapie. *Unfallchirurg* [Internet]. 2017;561–72. Verfügbar unter: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00113-017-0372-8>
 57. Evchuk IY, Musii RI, Makitra RG, Pristanskii RE. Solubility of Polymethyl Methacrylate in Organic Solvents. *Russ J Appl Chem* [Internet]. Oktober 2005 [zitiert 29. August 2017];78(10):1576–80. Verfügbar unter: <http://link.springer.com/10.1007/s11167-005-0564-9>
 58. Zmistowski B, Fedorka CJ, Sheehan E, Deirmengian G, Austin MS, Parvizi J. Prosthetic Joint Infection Caused by Gram-Negative Organisms. *J Arthroplasty* [Internet]. September 2011;26(6):104–8. Verfügbar unter: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0883540311001562>
 59. Baleani M, Persson C, Zolezzi C, Andollina A, Borrelli AM, Tigani D. Biological and Biomechanical Effects of Vancomycin and Meropenem in Acrylic Bone Cement. *J Arthroplasty* [Internet]. Dezember 2008;23(8):1232–8. Verfügbar unter: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0883540307006055>
 60. Dunbar MJ. Antibiotic Bone Cements: Their Use in Routine Primary Total Joint

- Arthroplasty Is Justified. *Orthopedics* [Internet]. 1. September 2009;32(9):660–3. Verfügbar unter: <http://www.healio.com/doiresolver?doi=10.3928/01477447-20090728-20>
61. Romanò CL, Malizos K, Capuano N, Mezzoprete R, D'Arienzo M, Van Der Straeten C, u. a. Does an Antibiotic-Loaded Hydrogel Coating Reduce Early Post-Surgical Infection After Joint Arthroplasty? *J Bone Jt Infect* [Internet]. 2016;1:34–41. Verfügbar unter: <http://www.jbji.net/v01p0034.htm>
 62. Samara E, Moriarty TF, Decosterd LA, Richards RG, Gautier E, Wahl P. Antibiotic stability over six weeks in aqueous solution at body temperature with and without heat treatment that mimics the curing of bone cement. *Bone Joint Res* [Internet]. Mai 2017;6(5):296–306. Verfügbar unter: <http://online.boneandjoint.org.uk/doi/10.1302/2046-3758.65.BJR-2017-0276.R1>
 63. Solomon AW, Stott PM, Duffy K, Kumar PGA, Holliman RE, Bridle SH. Elution and antibacterial activity of meropenem from implanted acrylic bone cement. *J Antimicrob Chemother* [Internet]. 1. August 2010;65(8):1834–5. Verfügbar unter: <https://academic.oup.com/jac/article-lookup/doi/10.1093/jac/dkq196>
 64. Anagnostakos K. Therapeutic Use of Antibiotic-loaded Bone Cement in the Treatment of Hip and Knee Joint Infections. *J Bone Jt Infect* [Internet]. 2017;2(1):29–37. Verfügbar unter: <http://www.jbji.net/v02p0029.htm>
 65. Barla JD. Vancomycin and Imipenem Release from Nails Covered with Antibiotic-Loaded Acrylic Cement. *Int J Surg Res Pract* [Internet]. 31. Dezember 2015;2(2). Verfügbar unter: <https://www.clinmedjournals.org/articles/ijsrp/international-journal-of-surgery-research-and-practice-ijsrp-2-031.php?jid=ijsrp>
 66. Yoon J-R, Ko Y-R, Shin Y-S. Effect of shape on bone cement polymerization time in knee joint replacement surgery. *Medicine (Baltimore)* [Internet]. April 2018;97(17):e0558. Verfügbar unter: <http://insights.ovid.com/crossref?an=00005792-201804270-00073>
 67. Stańczyk M, van Rietbergen B. Thermal analysis of bone cement polymerisation at the cement–bone interface. *J Biomech* [Internet]. Dezember 2004;37(12):1803–10. Verfügbar unter: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021929004001290>
 68. Liptakova T, Lelovics H, Necas L. Variations of temperature of acrylic bone

cements prepared by hand and vacuum mixing during their polymerization. Acta Bioeng Biomech [Internet]. 2009; Verfügbar unter: www.actabio.pwr.wroc.pl/Vol11No3/7.pdf

69. Kühn K-D. PMMA cements: are we aware what we are using? 2014.
70. Paz E, Sanz-Ruiz P, Abenojar J, Vaquero-Martín J, Forriol F, Del Real JC. Evaluation of Elution and Mechanical Properties of High-Dose Antibiotic-Loaded Bone Cement: Comparative “In Vitro” Study of the Influence of Vancomycin and Cefazolin. J Arthroplasty [Internet]. August 2015;30(8):1423–9. Verfügbar unter: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0883540315001643>