

Etablierung eines porcinen Großtiermodells zur sekundären und infektionsbedingt verzögerten sekundären Wundheilung

INGA GREHN-KRAFT



Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Grades eines
Dr. med. vet.
beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Die rechtliche Verantwortung für den gesamten Inhalt dieses Buches liegt ausschließlich bei den Autoren dieses Werkes.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung der Autoren oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2016

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Authors or the Publisher.

1st Edition 2016

© 2016 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen
Printed in Germany



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890
email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

Klinik für Kleintiere, JLU Gießen

Betreuer: Prof. Dr. med. vet. Martin Kramer

und

Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Betreuer: Priv.-Doz. Dr. med. vet. Martin Sager

Etablierung eines porcinen Großtiermodells zur sekundären und infektionsbedingt verzögerten sekundären Wundheilung

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Dr. med. vet.

beim Fachbereich Veterinärmedizin

der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

Tierärztin Inga Grehn-Kraft

(geb. Grehn)

geb. 02.05.1980 in Weinheim/Bergstr.

Gießen 2015

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. Dr. h.c. Martin Kramer

1. Gutachter: Prof. Dr. Dr. h.c. Martin Kramer
2. Gutachter: Prof. Dr. Martin Sager
3. Gutachter: PD Dr. Axel Schönfelder

Tag der Disputation: 18.02.2016

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abkürzungsverzeichnis	IV
1. Einleitung und Literatur	1
1.1. Der Tierversuch und das Tierschutzgesetz	1
1.2. Das Tiermodell	4
1.3. Das Minischwein	6
1.4. Die Haut	8
1.4.1. Anatomischer Aufbau und Funktion	8
1.4.2. Speziesspezifische Unterschiede	11
1.5. Akute Wunden und Wundheilung	16
1.5.1. Wundarten und -ursachen im Human- und Veterinärbereich	16
1.5.2. Ablauf der physiologischen Wundheilung	17
1.5.3. Formen der Wundheilung	20
1.6. Chronische Wunden und Wundheilungsstörungen	23
1.6.1. Chronische Wunden	23
1.6.2. Störfaktoren der Wundheilung	24
1.6.2.1. Wundinfektionen	26
1.6.2.2. Andere Faktoren	30
1.7. Wundbehandlung	30
1.7.1. Historische Entwicklung	30
1.7.2. Traditionelle Wundbehandlung und -auflagen	31
1.7.3. Moderne Wundbehandlung und -auflagen	32
1.8. Wundheilungsmodelle in der Medizin	35
1.9. Zielsetzung der Studie	38
2. Material und Methoden	40
2.1. Versuchstiere	40
2.2. Die Experimente	40
2.2.1. Narkose, Analgesie und Euthanasie	41
2.2.2. Ablauf des initialen Eingriffs-Wundsetzung	42
2.2.3. Ablauf des Verbandwechsels mit Wundkontrolle und Probenentnahme	51
2.3. Die Untersuchungsparameter	54

2.3.1. Wundgröße und -morphologie	54
2.3.2. Keimzahl im Wundgrund	55
2.3.3. Histologische Veränderungen der Wundzone/Granulation	58
2.3.4. Blutwerte	61
2.3.5. Der Wollina-Score	61
2.4. Wundauflagen	62
2.4.1. Vorgehensweise bei Wundabdeckung	62
2.4.2. Mepilex®	63
2.4.3. Mepilex lite®	64
2.4.4. Tegaderm® Folie	65
3. Ergebnisse	66
3.1. Wundfläche	67
3.2. Granulation	70
3.3. Keimgehalt (E. coli)	71
3.4. Leukozyten	72
3.5. Wollina-Score	73
4. Diskussion	74
4.1. Grundidee	74
4.2. E. coli als Wundkeim	77
4.3. Verbandsmaterialien	77
4.4. Erläuterungen zur Optimierung der Methodik	80
4.4.1. Sedation und Narkosevorbereitung	80
4.4.2. Vorbereitung des Operationsfeldes	80
4.4.3. Anlegen der Schutzwesten	81
4.5. Kritische Betrachtung der ermittelten Daten	82
4.5.1. Reduktion der Wundfläche	82
4.5.2. Granulationsfortschritt	86
4.5.3. Entwicklung des Keimgehalts im Wundgrund	89
4.5.4. Wundbewertung nach dem Wollina-Score	91
4.5.5. Betrachtung des Leukozytengehalts	94
4.6. Therapeutischer Nutzen des Modells	95
4.6.1. Übertragbarkeit	95

4.6.2. Relevanz des Modells für die Human- und Veterinärmedizin _____	96
5. Zusammenfassung _____	99
6. Summary _____	102
Anhang _____	105
Annex I: 4-Wochenplan zur Dokumentation der personellen Zuständigkeiten _____	106
Annex II: Blutentnahmeprotokoll zur Dokumentation der Versuchsdurchführung und personellen Zuständigkeit der Entnahme _____	107
Annex III: Mikroskopische Probenentnahme – Dokumentation der Versuchsdurchführung und personellen Zuständigkeiten pro Wunde _____	108
Annex IV: Biopsie-Entnahme-Schema – detaillierte Dokumentation der Entnahmestellen pro Tier und Zeitpunkt _____	109
Annex V: Übersicht der angewandten Medikamente _____	110
Annex VI: Material und Geräte – operativer Abschnitt _____	111
Annex VII: Wundfläche (cm ²) - Einzelergebnisse der Schweine 2-7 zu jedem Untersuchungszeitpunkt in tabellarischer Form _____	115
Annex VIII: Keimgehalt E. coli - Einzelergebnisse der Schweine 2-7 zu jedem Untersuchungszeitpunkt in tabellarischer Form _____	117
Annex IX: Granulation (nm) - Einzelergebnisse der Schweine 2-7 zu jedem Untersuchungszeitpunkt in tabellarischer Form _____	119
Abbildungsverzeichnis _____	121
Literaturverzeichnis _____	123

Abkürzungsverzeichnis

µl	Mikroliter
µm	Mikrometer
°C	Celsius
cm	Zentimeter
E. coli	Escherichia coli
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure (<i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>)
ff.	fortfolgende
HCT	Hämatokrit
HE	Hämatoxylin-Eosin
HGB	Hämoglobin
i.m.	intramuskulär
i.v.	intravenös
kg	Kilogramm
KGW	Körpergewicht
MCH	mittleres korpuskuläres Hämoglobin (<i>mean corpuscular hemoglobine volume</i>)
MCHC	mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration (<i>mean corpuscular hemoglobine concentration</i>)
MCV	mittleres Erythrozyteneinzelvolumen (<i>mean corpuscular volume</i>)
mg	Milligramm
mm	Millimeter
mm ²	Quadratmillimeter
mm ³	Kubikmillimeter
MPV	durchschnittliches Thrombozytenvolumen (<i>mean platelet volume</i>)
nm	Nanometer
PBS	phosphatgepufferte Salzlösung (<i>phosphate buffered saline</i>)

pH	negativer dekadischer Logarithmus (= Zehnerlogarithmus) der Wasserstoffionen-Aktivität
PLT	Thrombozyten (<i>platelets</i>)
p.o.	per os
RBC	Erythrozyten (<i>red blood corpuscles</i>)
RDW	Erythrozytenverteilungsbreite (<i>red blood cell distribution width</i>)
S	Schwein
SALT	skin associated lymphoepithelial tissue
s.c.	subcutan
sp.	Spezies (<i>lat.: species</i>)
STABW	Standardabweichung
TschG	Tierschutzgesetz
USP	United States Pharmacopeia
V	Vene (<i>vena</i>)
VW	Verbandswechsel
WBC	Leukozyten (<i>white blood corpuscles</i>)

1. Einleitung und Literatur

1.1. Der Tierversuch und das Tierschutzgesetz

Als Begründer der westlichen Medizin gilt der griechische Arzt Hippokrates von Kos (460-377 v.Chr.). In dem nach ihm benannten ersten medizinischen Handbuch, dem Corpus Hippocraticum, sind bereits mehrere Tierversuche beschrieben. Sie dienten dem Ziel, eine auf philosophischer Spekulation beruhende Annahme durch Beobachtung am lebenden Tier zu überprüfen. Später schuf der Arzt Galenus (129-199 n.Chr.) mit Versuchen an Schweinen, Affen und Hunden die Grundlage für die Medizin seiner Zeit und vieler Jahrhunderte danach (Reichert 2006).

Um die Jahrhundertwende zum 20. Jahrhundert begann die züchterische Entwicklung spezieller Stämme bei Ratte und Maus. Sie wurden meist aus sogenannten „Farbschlägen“ gezüchtet. Diese bildeten oft den Grundstock für die Zucht von Versuchstierstämmen (Weiß et al. 2009).

Dienten in der Bundesrepublik im Jahr 2000 insgesamt noch etwa 1,8 Millionen Tiere der Forschung, sind es aktuell rund 2,9 Millionen; davon über 80 Prozent Mäuse und Ratten. Vor allem die Züchtung transgener Mäuse, die als Modell für verschiedene Krankheiten dienen, hat die Zahl der Labortiere wieder zunehmen lassen (Hennemann 2012).

Laut Ahne (2007) werden Tierversuche heute in der Grundlagenforschung, im Bereich der Medizin und Pharmazie, in der Ökotoxikologie, in der Nahrungsmitteltechnologie sowie in der Entwicklung von neuen Produkten durchgeführt. Das Meiste unseres heutigen Grundlagenwissens über die Biochemie, Physiologie, Endokrinologie und Pharmakologie des menschlichen Organismus wurde aus Studien abgeleitet, die an Tiermodellen durchgeführt wurden (Hau 2003).

Die den Tierversuch betreffenden tierschutzrechtlichen Bestimmungen sind in der Bundesrepublik Deutschland im Tierschutzgesetz (Ausfertigungsdatum 24.07.1972; in der Fassung der Bekanntmachung vom 18.05.2006 (BGBl. I, Seite 1206, 1313), das durch Artikel 4 Absatz 90 des Gesetzes vom 07.08.2013 (BGBl. Teil I, Seite 3154 ff.) geändert

worden ist), – vor allem im 5. Abschnitt – sowie in den zusätzlich erlassenen Verordnungen und Richtlinien festgehalten. Mit der Gesetzesänderung vom 07.08.2013 wurde die Richtlinie 2010/63/EU des Europäischen Parlaments und des Rates vom 22.09.2010 zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere (Versuchstierrichtlinie), die am 09.11.2010 in Kraft getreten ist, in nationales Recht umgesetzt. Das Tierschutzgesetz dient dem Schutz des Lebens und des Wohlbefindens der Tiere. „Zweck dieses Gesetzes ist es, aus der Verantwortung des Menschen für das Tier als Mitgeschöpf dessen Leben und Wohlbefinden zu schützen.“ (§1 TSchG) (Anonym 2013a).

Dieser Grundsatz, der erst bei der Novellierung des Tierschutzgesetzes 1986 hinzugefügt wurde, betont nach Hackbarth und Lückert (2002) die ethische Verantwortung des Menschen für das Tier. Die Hervorhebung „als Mitgeschöpf“ sage aus, dass das Tier nicht nur eine Sache ist, sondern sein „Leben und Wohlbefinden“ aus ethischen Gründen geschützt werden soll.

Da es sich bei Versuchstieren um Lebewesen und „Mitgeschöpfe“ handelt, hat jeder Forscher eine ethisch-moralische und seit der Novellierung des Tierschutzgesetzes 1986 auch eine rechtliche Verantwortung vor dem Gesetz.

Seit der Tierschutz im Jahre 2002 als Staatsziel in das Grundgesetz (Art. 20a) aufgenommen wurde, kommt ihm gegenüber der ebenfalls im Grundgesetz verankerten Forschungsfreiheit eine nahezu gleichwertige Bedeutung zu (Anonym 2012).

Tierversuche im engeren Sinne sind im 5. Abschnitt des Tierschutzgesetzes (§§ 7-9 TSchG) geregelt.

Danach sind Tierversuche „Eingriffe oder Behandlungen an Tieren bzw. am Erbgut von Tieren, wenn sie mit Schmerzen, Leiden oder Schäden verbunden sein können“ (§ 7 Abs. 1TSchG).

Das Tierschutzgesetz muss die Entwicklungen und Möglichkeiten der Wissenschaft berücksichtigen. Bei der Entscheidung über die Unerlässlichkeit eines Versuches wird der jeweilige Stand der wissenschaftlichen Erkenntnisse zugrunde gelegt. Damit sind die

Berücksichtigung des aktuellen Wissensstandes und die Prüfung, ob der verfolgte Zweck nicht durch andere Methoden erreicht werden kann (§ 7 Abs. 2 TSchG), wichtige Forderungen, um Tierversuche auf das „unerlässliche Maß“ zu beschränken (§ 9 Abs. 2 Satz 1 TSchG).

Die Entscheidung, ob das geplante Experiment wissenschaftlich notwendig und sinnvoll ist und ob es sich im Rahmen des Zumutbaren ohne Missachtung des Lebens und Wohlbefindens des Tieres durchführen lässt, orientiert sich an drei Grundgedanken, den drei „R’s“, die Russel und Burch bereits 1959 formulierten:

- *Replacement* (Ersatz durch Alternativen),
- *Reduction* (Reduzierung der Tierzahl),
- *Refinement* (Verminderung der Belastung für Versuchstiere durch Verfeinerung).

Die Bedeutung und die Notwendigkeit des Tierexperiments in der biomedizinischen Forschung sind bis heute anerkannt. Die meisten Erkenntnisse in der allgemeinen Biochemie, Physiologie und Endokrinologie stammen aus Tierversuchen (van Zutphen 1995). Praktisch sämtliche der heute verfügbaren Arzneimittel und Impfstoffe sind im Tierversuch entwickelt und getestet worden, gleiches gilt für die modernen OP-Techniken und Behandlungsmethoden (Steible 2001).

Rund 35 % der Experimente an Tieren sind aufgrund gesetzlicher Bestimmungen notwendig. Aus Gründen des Verbraucher- und Umweltschutzes werden von einigen Gesetzen Tierversuche vorgeschrieben (z.B. Arzneimittelgesetz, Bundes-Seuchengesetz, Chemikaliengesetz, Futtermittelgesetz, u.a.) (Reichert 2006).

Noch immer gibt es für viele Erkrankungen (z.B. die HIV-Infektion des Menschen oder die FIV-Infektion der Katze) keine Heilung, so wird die biomedizinische Forschung auch in der Zukunft auf Tierversuche nicht verzichten können (Steible 2001).

1.2. Das Tiermodell

In der biomedizinischen Forschung ist ein Modell eine Annäherung an morphologische, physiologische beziehungsweise molekulare Strukturen oder Reaktionsabläufe mit Abbildungscharakter. Es sollte den wichtigsten oder interessierenden Eigenschaften des Originals entsprechen und handhabbar sein. Im Hinblick auf das Tierexperiment wird dann von einem Tiermodell oder Modellversuch gesprochen, wenn die Ergebnisse auf eine andere Art (Mensch oder Tier) übertragen werden. Das Versuchstier übt in diesen Fällen eine Stellvertreterfunktion aus (Güttner et al. 1993). Klaus und Buhr (1969) definieren das Tiermodell als „ein Objekt, das aufgrund einer Struktur- oder Funktionsanalogie zu einem entsprechenden Original für die Lösung einer bestimmten Aufgabe verwendet wird, deren Durchführung mittels direkter Operation am Original nicht möglich ist“ (Grünberg 1992).

In der biomedizinischen Forschung ist der Modellversuch unerlässlich für die Aufklärung biologischer Vorgänge und Gesetzmäßigkeiten.

Grünberg (1992) gibt an, dass bei den für das Untersuchungsziel wesentlichen Merkmalen eine möglichst große Analogie zwischen Modell und Original von großer Wichtigkeit sei. Ein Versuchstier erfüllt laut van Zutphen (1995) nur selten seine Modellfunktion als Ganzes, meist werden nur Teilbereiche „modelliert“. Gewöhnlich ist es seiner Meinung nach ausreichend, ein Modell zu wählen, das nur in den die Fragestellung betreffenden Punkten Ähnlichkeiten/Gemeinsamkeiten mit dem Original aufweist. Ein Tiermodell ist demzufolge lediglich eine Annäherung an morphologische, physiologische oder molekulare Strukturen bzw. Funktionsabläufe (Weiß et al. 2009).

Die im Fall des Tiermodells gewählte Tierart weist laut van Zutphen (1995) dabei in der Regel eine deutliche taxonomische Äquivalenz zum Menschen auf und reagiert sowohl auf die Erkrankung selbst wie auch auf ihre Behandlung in einer der menschlichen Physiologie vergleichbaren Art und Weise. Viele Medikamente, Therapien und Heilmethoden für menschliche Erkrankungen sind mithilfe von Tiermodellen entwickelt worden.

Die Bedeutung der Ergebnisse von Tierversuchen hängt von der Wahl des geeigneten Tiermodells ab. Inwieweit die Ergebnisse auf den Menschen übertragbar sind, wird von der

Art des Tiermodells und der Forschungsrichtung beeinflusst. Für die Auswahl des „geeigneten“ Tiermodells bestehen keine festen Regeln. Die Kenntnis der wesentlichen vergleichenden biomedizinischen Gesichtspunkte ist hierfür von grundlegender Bedeutung (van Zutphen 1995).

Bei der Auswahl des Tiermodells sollten nach Ansicht von Held (1983) folgende Aspekte berücksichtigt werden:

- möglichst akkurate Wiedergabe des zu untersuchenden medizinischen Aspekts im gewählten Tiermodell;
- Verfügbarkeit für viele Forscher sowie leichte Handhabbarkeit der Versuchstiere, damit sich die Forscher Tiere und Daten teilen können;
- hohe Reproduktionsrate bei Tieren, die für Krankheiten mit genetischem Hintergrund eingesetzt werden;
- die Tierart sollte groß genug sein, um Biopsien und andere Proben gewinnen zu können;
- die Tiere sollten sich in den Käfigen der Versuchsanlagen wohlfühlen und dort tiergerecht leben können;
- ausreichende Lebensspanne der Tiere, um bis zum Versuchsende zu überleben.

Häufig beeinflussen nach Meinung von van Zutphen (1995) unzureichende Gründe wie Kosten, Handhabung, Verfügbarkeit oder Gewohnheit die Auswahl des „geeigneten“ Versuchstiers. Das Versuchstier sollte jedoch nach Kriterien des Versuchsziels ausgewählt werden. Dass bei bestimmten Versuchen, bei denen international verbindliche Prüfvorschriften anzuwenden sind, die Wahl des Versuchstiers vorgeschrieben ist, beschreiben Weiß et al. (2009), indem sie als Beispiele die Vorgaben der OECD (Organization for Economic Cooperation and Development) und der FDA (Food and Drug Administration) nennen.

Die als Modell verwendeten Tierarten weisen nach Held (1983) gegenüber dem Original häufig morphologische, physiologische oder pathologische Unterschiede quantitativer oder

qualitativer Art auf. Trotzdem kann die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf das Original möglich sein.

Wissenschaftlich wichtige Merkmale werden an Menschen, Tieren oder Teilsystemen meist mit physikalischen oder chemischen Methoden gemessen und variieren innerhalb eines Individuums und zwischen verschiedenen Individuen in fassbaren Grenzen (Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) 1984).

Diese Variabilität ist ein biologisches Phänomen. Auch unter ähnlichen Voraussetzungen, wie sie im Tierversuch z.B. durch Festlegung des genetischen Stammes einer Tierart oder durch Standardisierung der Umgebung bzw. der Haltungsbedingungen erreicht werden, lässt sich eine gewisse Variabilität einiger Merkmale nicht vermeiden. Quantitative Aussagen aus Tierversuchen sind deshalb nur Wahrscheinlichkeitsaussagen, die nicht aus einzelnen Werten, sondern nur mit Hilfe von Versuchsgruppen getroffen werden. Zu ihrer Abschätzung stehen statistische Methoden zur Verfügung (Steible 2001).

Die Ergebnisse vieler Tierversuche zur Klärung medizinischer Probleme bleiben auch bei der Berücksichtigung der Kriterien der Übertragbarkeit auf den Menschen in ihrer Aussage nur orientierend. Die Bestätigung der Ergebnisse am Menschen ist dann Aufgabe der klinischen Forschung (Steible 2001). Auch die Erkenntnis nach Abschluss des Versuchs, dass eine Übertragbarkeit vom Versuchstier auf den Menschen nicht gegeben ist, kann wertvoll sein.

Nach Meinung von Cramer (1988) würde sich der Tierversuch erübrigen, wenn alle Reaktionsabläufe vorhersehbar wären. Es gehöre zum Wesen der Forschung, dass eine Aussage über Erfolg bzw. Misserfolg erst am Versuchsende getroffen werden könne. Auch Misserfolge helfen daher weiter.

1.3. Das Minischwein

Heutzutage kommt das Schwein als Versuchstier häufig zum Einsatz; im Jahr 2012 wurden in Deutschland nach Angaben des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und

Verbraucherschutz insgesamt 16.310 Schweine im Tierexperiment eingesetzt (BMELV 2013).

Nach der ursprünglichen Verwendung normal großer Tiere, die zum Beispiel der deutschen Landrasse angehören und über 300 kg wiegen können, begann man planmäßig mit der Zucht von Schweinen geringerer Körpergröße speziell zu Versuchszwecken. Das Potenzial für die biomedizinische Forschung, Schweine zu züchten, die auch im Erwachsenenalter eine viel kleinere Körpergröße haben als das konventionelle Hausschwein, dabei aber physiologisch und anatomisch völlig identisch sind, führte nach McAnulty (2012) zur Entwicklung der sogenannten Minischweine.

Als Minischweine werden die durch Züchtung entwickelten kleinwüchsigen Versuchsschweine bezeichnet; die in der Natur vorkommenden kleinwüchsigen Arten werden laut Georgiev und Schoen (1973) als Zwergschweine bezeichnet.

Eine der ersten Rassen war, wie in den Veröffentlichungen von Dettmers und Kollegen (1965 und 1971) nachzulesen ist, das Minnesota Minischwein, welches in den 1940er Jahren in den USA entwickelt wurde.

Nach ihm folgten andere, wie z.B. das Göttinger Minischwein, das Vietnamesische Hängebauchschwein oder das Yucatan Minipig.

Das Ziel war bei allen Züchtungen gleich, nämlich ein „handliches“ Versuchstier zu züchten, welches auf Grund der anatomischen Ähnlichkeiten zum Menschen mit anderen Versuchstieren konkurrenzfähig sein sollte.

Die Vorteile gegenüber großen Schweinen sind der geringere Platzbedarf, die bessere Handhabbarkeit während der Versuche, geringere Futterkosten und vor allem die daraus resultierenden niedrigeren Versuchskosten.

Das Göttinger Minischwein ist nach den Beschreibungen von Sambras (2011) in den 1960er Jahren an der Universität Göttingen aus der Verpaarung von Amerikanischen Minischweinen, den Minnesota Minipigs, und Vietnamesischen Hängebauchschweinen

entstanden. Später wurde noch die Deutsche Landrasse eingekreuzt, um einheitlich weiße Schweine zu erzeugen. Dadurch können Hautreaktionen besser gesehen werden und die Vergleichbarkeit zwischen Tieren ist gewährleistet.

Für spezielle experimentelle Versuchsreihen wurde aus der Kreuzungslinie Hanford-Miniaturschwein und dem später eingekreuzten sog. Kolumbianischen Portionsschwein das Troll-Minischwein (Münchener Minischwein) entwickelt (Striowsky 2012).

Beim Troll-Schwein handelt es sich um ein weißhäutiges Zwergschwein, das unterschiedliche Haarfärbungen aufweisen kann, in der Vergangenheit häufig für humanäquivalente Versuche an Haut und anderen Organen diente (Puhlmann 2005) und auch im hier vorgestellten Projekt zum Einsatz kommt.

1.4. Die Haut

1.4.1. Anatomischer Aufbau und Funktion

Die Haut stellt nach Ansicht von Liebich (2009) als äußere Körperbedeckung sowohl eine schützende Grenzfläche als auch eine breite Kontaktfläche zur Außenwelt dar. Sie ist in erster Linie ein Schutzorgan gegenüber mechanischen, thermischen, chemischen und biologischen Einflüssen.

Die Haut wird strukturell in mehrere Schichten untergliedert. Die Hautdecke (Integumentum commune) setzt sich aus Haut (Cutis) und Unterhaut (Subcutis) zusammen. Die Cutis wiederum unterteilt sich in die Epidermis (Oberhaut) und die Dermis (Lederhaut/Korium) (Fürst 2002).

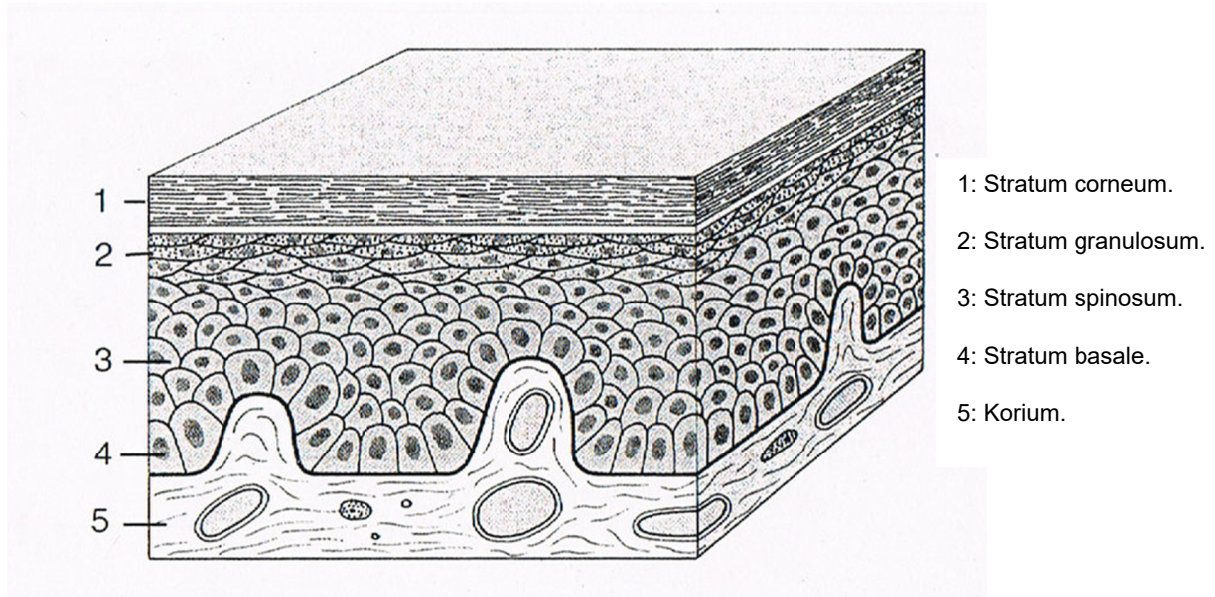


Abbildung 1: **Schichten der normalen humanen Haut** (aus: Thomas: Histologie: Begleitbuch für die Kurse Histologie und Histopathologie, 2006). Die vier Schichten der Epidermis liegen dem Korium der Dermis auf, in welches sich das Stratum basale der Epidermis als unterste Schicht bogig vorwölbt. Das Stratum corneum stellt aufliegend auf Stratum granulosum und Stratum spinosum die oberste Schicht der Epidermis dar.

Die Epidermis (Oberhaut) ist ein mehrschichtiges, verhornendes Plattenepithel und bildet eine undurchlässige Hornschicht als Grenzzone zur Umwelt (Furter und Jasch 2007).

Die Epidermis besteht aus vier Schichten (Abbildung 1): Bogig ins Korium (5) vorgewölbt, bildet die unterste Schicht, das Stratum basale (4), mit dem darüber liegenden Stratum spinosum (Walters et al. 2003) das Stratum germinativum. Diesem liegt das Stratum granulosum (2) auf, welches vom zuoberst gelegenen Stratum corneum (1) bedeckt wird.

Das Stratum basale stellt eine wellenförmig verlaufende Grenze zur darunter liegenden Dermis dar (Wennemuth 2012). Hier findet die mitotische Aktivität der Keratinozyten statt.

Das Stratum spinosum ist durch größere, polygonale Keratinozyten charakterisiert. Jede Zelle bildet an ihrer Oberfläche kurze stachelartige Fortsätze aus, die mit gleichartigen Fortsätzen der Nachbarzellen Kontakt aufnehmen (Thomas et al. 2006). Den Kontakt stellen kräftige Desmosomen her, der Interzellularraum ist relativ weit (Welsch und Deller 2010). In der aus 2-5 Zellschichten bestehenden Stachelzellschicht geht die Fähigkeit zur Zellteilung mit dem Eintritt der terminalen Differenzierung verloren. Nur unter besonderen Umständen (z.B. Wundheilung) finden vereinzelt noch Mitosen statt (Riedel 2003).

Das Stratum granulosum besteht aus 3 bis 5 Zellschichten, die reichlich Keratohyalingranula, verdichtete Tonofilamente und membrangebundene Granula einschließen (Thomas et al. 2006).

Das Stratum corneum ist das Endprodukt der keratinisierten Epidermis, die sich etwa im Zeitraum von 1-2 Wochen erneuert (Riedel 2003). Die Anzahl der Zellschichten im Stratum corneum ist recht variabel. Die Hornschicht besteht nach Elias (1983) jedoch zumeist aus circa 10 bis 20 Zellschichten voll keratinisierter Korneozyten.

Die Dermis (Korium/Lederhaut) ist nach Habermehl (2005) der zwischen der Unterhaut und Epidermis gelegene bindegewebige Anteil der Körperdecke. Vom Grad ihrer Ausbildung wird die Dicke der Haut bestimmt; so hat z.B. unter Haussäugetieren das Schaf die dünnste und das Rind die dickste Lederhaut. Im Allgemeinen ist die Dicke der Dermis auch vom Alter eines Individuums und von der Körpergegend abhängig.

Die Dermis erfüllt komplexe biologische Aufgaben, wie Ernährung der Epidermis und Bereitstellung von Abwehrzellen. Sie ist zudem für die mechanische Festigkeit der Haut verantwortlich. Es lassen sich zwei Schichten unterscheiden: ein dünnes, zell- und gefäßreiches, subepidermales Stratum papillare und ein dickes, faserreiches Stratum reticulare (Smolle 1998).

Das Stratum papillare stellt die Verbindungsschicht zur Epidermis dar. Es ist aus feinmaschigen kollagenen und elastischen Fasern aufgebaut und enthält reichlich ungeformte Grundsubstanz, die für das Wasserbindungsvermögen und damit für den Hautturgor maßgeblich ist (Linss 1999). Durch das Stratum papillare ziehen spezielle Kollagenfibrillen, die als Ankerfibrillen bezeichnet werden. Sie verbinden die Dermis mit der Basallamina, der Grundlage der Epidermis (Junqueira et al. 2004).

Vor allem in diese Schicht sind Haare, Talg und Schweißdrüsen als Abkömmlinge der Epidermis eingelagert (Liebich 2009). Außerdem charakterisieren freie Entzündungszellen (Lymphozyten, Plasmazellen, Makrophagen, Granulozyten) das Stratum papillare als relevant für die Abwehr (SALT = skin associated lymphoepithelial tissue) (Linss 1999).

Das Stratum reticulare ist relativ arm an Zellen und Gefäßen, vorzugsweise kleinere Arterien und Venen zu und von den oberflächlichen Hautschichten passieren diese Bindegewebslagen (Liebich 2009). Es stellt die tiefere Kutisschicht dar, die teilweise aus kollagenen Fasern Typ I besteht, welche in winkelförmiger Anordnung vorliegen und die Dehnung der Haut erlauben (Thomas et al. 2006).

Die Hypodermis, die auch als Tela subcutanea, Subcutis oder Unterhaut bezeichnet wird, besteht aus lockerem Bindegewebe, elastischen Fasern (Stratum fibrosum) und Fettgewebe (Stratum adiposum) (Riedel 2003). Sie stellt das Bindeglied zwischen der Dermis und den innenliegenden Faszien, Muskeln oder Knochen dar und ermöglicht so die Verschieblichkeit der Haut (Eckert 1992). Die Fetteinlagerungen dienen nach Liebich (2009) als Energiereserven und als Kälteschutz und an manchen Stellen, wie beispielsweise den Sohlenballen, auch einer mechanischen Polsterung.

Die Haut beinhaltet ein tiefes (fasziales), ein oberflächliches (kutanen) und ein subepitheliales Gefäßnetz. Über Arteriolen entsteht eine Verbindung zwischen dem tiefen und oberflächlichen Netz, dessen Gefäße schließlich in einen subepithelialen Venenplexus münden. Arteriovenöse Anastomosen ermöglichen eine Wärmeregulation in der Lederhaut (Riedel 2003).

Aus dem kutanen Gefäßnetz entspringen nach Liebich (2009) Kapillargefäße, die als haarnadelartige Kapillarschlingen in die Papillarkörper des Stratum papillare ziehen und von dort über Diffusion die Epidermis versorgen. Der Rückfluss erfolgt über Kapillaren, Venolen und Venen, die in der Hypodermis Anschluss an größere Venennetze finden.

1.4.2. *Speziesspezifische Unterschiede*

Eine Grundvoraussetzung für die erfolgreiche Durchführung eines Tierversuchs und dafür, dass das Versuchsergebnis auf die Verhältnisse des „Originals“ übertragbar ist, stellt nach Ansicht von Weiß und Kollegen (2009) die Auswahl eines „geeigneten“ Versuchstiers dar.

Hierbei ist es vor allem wichtig, dass – abhängig von der jeweiligen Fragestellung – größtmögliche Parallelen der anatomisch-physiologischen Verhältnisse bestehen.

Das Integumentum commune (allgemeine Körperdecke) unserer Haussäugetierarten zeigt bei vergleichender Auswertung eine Reihe von Spezies-spezifischen Eigenschaften, die für eine derartige Verwendung notwendigerweise berücksichtigt werden müssen.

Diese Besonderheiten sind in erster Linie bei Katze, Hund und Wiederkäuer zu beobachten, deren dichtes Haarkleid typische strukturelle und funktionelle Charakteristika besitzt, die dem Menschen fehlen. Ähnliches gilt für die „klassischen“ Labortiere, wie Kaninchen und Kleinnager.

Für humanäquivalente Versuche an der Haut, wie zum Beispiel Wundheilungsstudien, werden aus Praktikabilitätsgründen auch häufig kleine Säugetiere verwendet, aus experimenteller Sicht kann jedoch nur das Integument hellhäutiger Hausschweine als vollwertiges Struktur- und Funktionsmodell für die Haut des Menschen dienen (Meyer 1996).

Als Funktionsmodell für die Humanmedizin ist Schweinehaut daher besonders geeignet, als sie in Bau, Biomechanismus und grundlegenden stoffwechselphysiologischen Vorgängen deutliche Parallelen zum Menschen aufweist. Eine weitgehende Übereinstimmung wurde dabei vor allem im Aufbau der Epidermis festgestellt, die deutliche Parallelen in Bau, Biochemismus und grundlegenden stoffwechselphysiologischen Vorgängen zeigt (Meyer 1996).

Die totale Erneuerungsrate einschließlich Stratum corneum dauert beim Menschen 28 Tage und beim Schwein 30 Tage. Die Passage der vitalen Epidermis beträgt beim Menschen 13 Tage und beim Schwein 10-14 Tage (Meyer 1996).

Die Haut hellhäutiger Zuchtschweine wird in der Literatur bereits sehr detailliert beschrieben. Ähnlichkeiten zur menschlichen Haut finden sich in der Ausbildung der epidermalen Barriere, wie King (1980) beschreibt, strukturelle Gemeinsamkeiten zeigen sich demnach ebenfalls für die Dermis, die sich auf zahlreiche biochemische Parameter beziehen, wie den Gehalt, die Struktur und die Verteilung von Glykoproteinen, Proteoglykanen und Glykosaminoglykanen.

Die Haut des Schweines ist in ihrem grundsätzlichen Aufbau der der anderen Haussäugetiere und der des Menschen gleich und in der Regel nicht pigmentiert. Wie allen Säugetieren zueigen, weist sie eine unterschiedliche Dicke auf und ist am stärksten im Bereich des Nackens, des Widerristes und des Rückens ausgebildet. Die Epidermis ist im Rückenbereich nur schwach entwickelt (Habermehl 2005).

Dicht behaarte Tiere, wie beispielsweise das Schaf, besitzen grundsätzlich eine dünnere Epidermis als weniger dicht behaarte Spezies wie das Rind oder die Ziege (Weyrauch et al. 2009).

Die Dicke der Epidermis inklusive Stratum corneum liegt beim Schwein mit 70 bis 140 μm (Mikrometer) (Odland 1983) im selben Bereich wie die der menschlichen Epidermis mit 75 bis 150 μm (Meyer et al. 1978). Im Vergleich dazu weichen diese Werte bei anderen Säugetieren zum Teil erheblich ab: Ratte = $\sim 32 \mu\text{m}$ (Bronaugh und Stewart 1985), Hund = $\sim 20 \mu\text{m}$, (Habermehl 2005), Pferd = 30 bis 90 μm (Talukdar et al. 1972); bei dicht behaarten Tieren liegt das Stratum corneum zudem häufig nicht als durchgängige Schicht vor (Meyer et al. 1978).

Da jedoch bei allen Spezies die epidermale Dicke an unterschiedlichen Stellen des Körpers erheblich variiert, ist das dermal-epidermale Schichtdickenverhältnis das bessere Maß zum Vergleich. Dieses Verhältnis reicht von 10:1 bis 13:1 beim Schwein und ist somit dem des Menschen sehr ähnlich (Sullivan et al. 2001).

Sowohl Schwein als auch Mensch weisen gut ausgebildete Rete-Leisten, Papillarkörperchen und reichlich subdermales Fettgewebe auf (Meyer 1996). Die Epidermis des Schweines besteht aus geschichtetem Plattenepithel, welches in zahlreichen Schichten aufeinander liegt und so Hautpapillen und interpapillare Zäpfchen bildet; dies ist der menschlichen Haut sehr ähnlich (Sullivan et al. 2001).

Immunhistochemische Untersuchungen der Schweinehaut zeigten deutliche Parallelen in der Ausbildung von Keratinen, Filaggrin, Calmodulin, Fibronectin, Vimentin und Kollagen IV (Wollina et al. 1991).

So sind, wie von Meyer und Kollegen (1978) beschrieben, bei Mensch und Schwein ähnliche freie Aminosäuren intraepidermal ausgebildet, die zu einer vergleichbaren Keratinisation der Haut führen, und beide Spezies weisen eine vergleichbare Enzymausstattung auf.

Gewisse strukturelle Unterschiede ergeben sich für die Epidermis des Schweines allerdings in Bezug auf die Langerhans-Zellen. Diese treten beim Schwein in deutlich geringerer Zahl auf und sind abgerundet (Meyer 1996).

Zytoplasmatische Fortsätze scheinen sich erst nach Verlassen der Epidermis beim Transport in Blut- und Lymphgefäßen zu entwickeln, während Birbeck-Körperchen nach Aussage von Drexhage und Kollegen (1979) stets fehlen.

Für die porcine Dermis sind nach Meyer und Kollegen (1981 und 1982) ebenfalls klare strukturelle Gemeinsamkeiten mit dem menschlichen Integument aufzuzeigen, die sich auf die Anordnung und Verteilung der Bindegewebelemente und zahlreiche wichtige biochemische Parameter beziehen. Hierzu gehören nicht nur Gehalt, Struktur und Verteilung von Glykoproteinen, Proteoglykanen und Glykosaminoglykanen, sondern speziell das Kollagen der Schweinehaut (Meyer 1996).

Dieses entspricht laut Allam und Heidemann (1974) weitgehend demjenigen der menschlichen Haut, da die Zusammensetzung der Aminosäuren in der alpha-1 und alpha-2 Kette in porcinem und humanem Kollagen übereinstimmen. Neben den strukturellen Gemeinsamkeiten findet man ebenfalls Parallelen in der Anordnung der kollagenen und elastischen Fasern der Dermis, wie von Meyer und Neurand in den Jahren 1981 und 1982 beschrieben wird. Vom biochemischen Aspekt ähneln sich das porcine und das humane Kollagen also stark, was auch an der häufigen Nutzung des porcinen Kollagens für Wundtherapeutika im Humanbereich deutlich wird. Obwohl die Dermis des Schweines im Vergleich zu anderen Säugetieren einen relativ hohen elastischen Anteil hat, ist dieser jedoch trotzdem noch niedriger als der der menschlichen Dermis.

Weder Mensch noch Schwein weisen den *Musculus panniculus carnosus* auf, welcher in der Haut aller kleineren Säugetiere zu finden ist (Sullivan et al. 2001).

Auch die Blutgefäßversorgung der Schweinehaut gleicht weitgehend derjenigen der Haut des Menschen; Größe, Ausrichtung und Verteilung der Blutgefäße in der Dermis des Schweines sind denen in der Dermis des Menschen sehr ähnlich (Sullivan et al. 2001).

Bei Mensch wie Schwein ist das Gefäßmuster der Dermis so strukturiert, dass Wärme relativ schnell abgegeben werden kann (Meyer 1996).

Sowohl das Schwein als auch der Mensch weisen nur eine spärliche Menge an Körperhaaren auf. Ihre Haare durchlaufen voneinander getrennte Entwicklungszyklen, welche nicht wie bei den meisten anderen Tieren von den benachbart liegenden Follikeln abhängig sind. Dies ist sehr bedeutsam, da Adnexalstrukturen wie Haarfollikel bei der Reepithelisierung eine große Rolle spielen (Sullivan et al. 2001).

Die Wundheilung bei Mensch und Schwein geht physiologisch in sehr ähnlichem Ablauf vonstatten, beide Spezies verschließen oberflächliche Hautwunden zum größten Teil durch Reepithelisierung. Demgegenüber sind die meisten kleinen Säuger dabei auf ihren *Musculus panniculus carnosus* angewiesen und leisten einen Großteil ihrer Wundflächenverkleinerung durch Wundkontraktion (Sullivan et al. 2001). Eine vergleichende Studie zeigt, dass auch die Kontraktion von Vollhautwunden beim Schwein deutlich geringer ausfällt als bei der Ratte, wie Chvapil und Chvapil (1992) feststellen.

Obwohl Maus und Ratte als Versuchstier sehr einfach in Tierhaltung und Umgang sind, besteht hier das Problem, dass bei Nagern, wie auch bei vielen anderen Säugern, sich diese eben in wesentlichen Punkten bezüglich der Anatomie und Physiologie der Haut stark vom Menschen unterscheiden (Sullivan et al. 2001). Sullivan und Kollegen (2001) beweisen nach Evaluation von über 25 Wundheilungsstudien, dass positive Ergebnisse im Schweinemodell zu 78% auch beim Menschen einen positiven Effekt zeigen, während bei Nagetieren dies nur auf 53% der Studien zutrifft.

1.5. Akute Wunden und Wundheilung

1.5.1. Wundarten und -ursachen im Human- und Veterinärbereich

Eine Wunde ist jede Unterbrechung des Gewebezusammenhangs (ohne oder mit Substanzverlust) an der Körperober- oder -innenfläche mit Eröffnung von Lymphspalten und Blutgefäßen (Meurer und Wolf 2007). Ist das Integumentum verletzt, wird von offenen äußeren Wunden gesprochen (Piatek und Tautenhahn 2012a).

Je nach Entstehung unterscheidet man nach Angabe von Schumpelick und Mitarbeitern (2010) grundsätzlich verschiedene Formen von Wunden:

- mechanische Wunden durch äußere Gewalteinwirkung (Schnitt-, Stich-, Quetsch-, Platz-, Riss- oder Schürfwunden, Kratz-, Biss- und Schusswunden);
- thermische Wunden durch Einwirkung von Hitze oder Kälte (Verbrennung/Erfrörierung);
- chemische Wunden durch Verätzung mit Säuren oder Laugen;
- strahlenbedingte Wunden durch Einwirkung aktinischer und ionisierender Strahlung.

Aufgrund der Tiefe der Gewebeschädigung kann man Hautwunden weiter in Vollhaut- und Spalthautwunden unterteilen. Eine Spalthautwunde betrifft nur die Epidermis bis zur Grenzzone des Stratum papillare. Die Dicke der Spalthaut schwankt daher zwischen 0,1 und 0,6 mm (Rose und Rozée 2012). Demgegenüber geht nach Müller (2004) mit einer Vollhautwunde stets eine Trennung des Gewebezusammenhangs einher, welcher die gesamte Epidermis und Dermis umfasst und bis an die Subcutis reicht.

Allgemein unterscheidet man in der Veterinärmedizin zwischen geschlossenen und offenen Wunden, wobei geschlossene Wunden häufig durch stumpfe Traumata (z.B. Autounfälle, Tritte, etc.) verursacht werden. Es liegt dabei kein Defekt der Haut vor, unterliegende Gewebe werden jedoch durch die Kraftübertragung nach innen geschädigt (Hübler 2009).

Offene Wunden weisen einen Defekt der Hautoberfläche auf. Meist bestimmt die Ursache der Wunde das Ausmaß des Gewebeschadens. Unfallbedingte offene Wunden werden

nach ihrer Ätiologie folgendermaßen klassifiziert (Swaim und Henderson 1997): Schürfwunden (Abrasionsverletzungen), Abrissverletzungen (Avulsionsverletzungen), Schnittverletzungen (Inzisionsverletzungen), Risswunden (Lacerationen) und Bisswunden, welche meist eine Mischform aus den vorgenannten darstellen und in der Kleintiermedizin aufgrund ihres relativ größten Anteils an Gewebeschäden unter der meist kleinen, punktförmigen Hautwunde zu den schwersten Verletzungen zählen (Waldron und Zimmermann-Pope 2003).

1.5.2. *Ablauf der physiologischen Wundheilung*

Die Wundheilung ist eine dynamische Serie von komplexen Prozessen, gesteuert von chemischen Stoffen, welche von den verschiedenen Zellen der Wunde produziert und freigesetzt werden. Ziel der Wundheilung ist die Wiederherstellung der Gewebe oder der Ersatz von Gewebe durch Narbenbildung (Rytz 2004).

Die Wundheilung teilt sich in vier Phasen (Piatek und Tautenhahn 2012a):

1. Exsudationsphase (1.-8. Stunde) : Blutstillung und Wundverschluss
2. Resorptionsphase (1.-4. Tag) : Wundreinigung
3. Proliferationsphase (3.-10. Tag) : Bildung von Granulationsgewebe
4. Reparationsphase (7.-21. Tag) : Epithelisierung und Narbengewebe

Die Phasen überlappen sich gegenseitig. Der Beginn der Wundheilung erfolgt unmittelbar nach dem Entstehen der Wunde. An die Reparationsphase schließt sich die Maturationsphase an, welche bis zu zwei Jahre dauern kann und im Wesentlichen die Ausreifung des Narbengewebes und den Umbau des Kollagengewebes in Bindegewebe beinhaltet.

Das pathophysiologische Grundprinzip der Exsudationsphase ist die Hämostase (Schumpelick et al. 2010). Die unmittelbare Folge jeder Wundsetzung ist die Blutung (Piatek und Tautenhahn 2012a). Dadurch wird die Wunde sofort nach der Verletzung gereinigt und aufgefüllt, innerhalb der ersten fünf bis zehn Minuten erfolgt dann eine Vasokonstriktion, um den Blutverlust gering zu halten (Hedlund 2009). Diese wird im

Anschluss von einer Vasodilatation abgelöst, in deren Folge eine starke Invasion von Thrombozyten und Leukozyten im Wundspalt beobachtet werden kann (Piatek und Tautenhahn 2012a). Diese Aktivierung der Thrombozyten und die Adhäsion an subendotheliales Gewebe bewirkt die Freisetzung einer Mischung vielerlei Substanzen, darunter auch Wachstumsfaktoren (Fürst 2002), welche chemotaktisch auf nachfolgend einwandernde Zellen der Wundheilung wirken (Piatek und Tautenhahn 2012a). Die definitive Blutstillung erfolgt erst durch die Aktivierung der Gerinnungskaskade mit konsekutiver Bildung des Thrombus, welcher die Blutgefäße verschließt und den entstandenen Defekt auffüllt (Becker und Coerper 2012). Nachdem die primäre Blutung durch Thrombozytenaggregation und Fibrinagglutination gestoppt wurde, erweitern sich die Blutgefäße und werden permeabel (Tautenhahn und Piatek 2012). Auf der Wunde bildet sich ein Exsudat aus Leukozyten, abgestorbenem Gewebe und Wundflüssigkeit, chemoattraktive Substanzen locken neutrophile Granulozyten und Monozyten an, die etwa sechs bis zwölf Stunden nach Verletzung im Wundgebiet erscheinen (Hedlund 2009).

Mit der Einwanderung neutrophiler Granulozyten beginnt die Resorptionsphase (Piatek und Tautenhahn 2012a). Ihr pathophysiologisches Grundprinzip ist die Inflammation (Schumpelick et al. 2010). In dieser Phase der Wundheilung wandern die ersten Entzündungszellen in das Wundgebiet, begünstigt durch die zunehmende Permeabilität der Gefäßwände (Becker und Coerper 2012). Die Hauptaufgabe der eingewanderten Neutrophilen besteht in der Opsonierung und Phagozytose von Bakterien und dem Abräumen abgestorbener Zellen (Piatek und Tautenhahn 2012a).

Makrophagen werden aktiviert und setzen Stickoxid und Sauerstoffradikale frei, die ein antimikrobielles Milieu gewährleisten (Schumpelick et al. 2010). Verbrauchte Neutrophile werden durch Gewebsmakrophagen entfernt, deren Anzahl mit abnehmender Neutrophilenzahl ansteigt. Hat eine bakterielle Kontamination stattgefunden, so bleibt die Anzahl der Neutrophilen hoch (Fürst 2002). Mit Monokinen aktivieren die Makrophagen T-Lymphozyten zu zellvermittelten Immunreaktionen im verletzten Gewebe, freigesetzte Wachstumsfaktoren modulieren den weiteren Verlauf der Wundheilung (Piatek und Tautenhahn 2012a). Die zunehmende Dilatation und Permeabilität der Gefäße führt zu

Flüssigkeitsverschiebungen vom intra- in den extrazellulären Raum, was zu der makroskopisch sichtbaren Schwellung und Rötung führt, einem Charakteristikum der Entzündung (Becker und Coerper 2012).

Das pathophysiologische Grundprinzip der sich daran anschließenden Proliferationsphase ist durch die Bildung stark vaskularisierten Granulationsgewebes gekennzeichnet (Schumpelick et al. 2010) und weist eine hohe mitotische Aktivität der meisten Zellen im Wundmilieu auf (Becker und Coerper 2012). Mit dem Abklingen der entzündlichen Phase wandern Fibroblasten in die Wunde ein, gefolgt von Kapillarsprossen (Hedlund 2009). Die Einwanderung und Aktivierung der Fibroblasten wird durch Mediatoren aus Makrophagen vermittelt, wichtigster Wachstumsfaktor ist dabei β -FGF (Fibroblast Growth Faktor) (Schumpelick et al. 2010). Durch Wachstumsfaktoren stimulierte Fibroblasten fördern ihre Bildung durch einen positiven autokrinen Feedbackmechanismus selbst und verstärken somit den Heilungsprozess. Die Anzahl an Eosinophilen steigt. Sie dienen als Mediatoren des Gewebstoffwechsels und erleichtern die Epithelproliferation und Neovaskularisation (Kiritsy et al. 1993).

Die Gefäßneubildung ist einer der wichtigsten Vorgänge in der Phase der Bildung von Granulationsgewebe. Kapillaren folgen im Rahmen der Angiogenese den einwandernden Fibroblasten und erreichen so die Wunde. Die Angiogenese ist ein komplexer Prozess, der auf der Interaktion von extrazellulärer Matrix und Zytokinen basiert, dadurch wird die Migration und Proliferation von Endothelzellen stimuliert (Hedlund 2009). Fibroblasten, abgelagertes Fibronectin, Glucosaminoglycane und Kollagen bilden eine neue Matrix. Die Anzahl an Myofibroblasten steigt. Diese haben direkte Auswirkung auf die Wundkontraktion (Fürst 2002).

Die Reepithelisierung verläuft parallel zur Entzündung und Neubildung von Granulationsgewebe. Das stark kapillarisierte und junge Bindegewebe wächst vom Defektrand ins Zentrum vor, bis der Defekt völlig ausgefüllt ist. Makroskopisch erscheint seine Oberfläche durch die Vielzahl von Kapillaren als körnig (granulum, lat. = das Körnchen), woraus sich der Begriff des Granulationsgewebes ableitet (Schumpelick et al.

2010). Die Epithelzellen sind eine der wichtigsten Quellen für Wachstumsfaktoren während der Wundheilung. Der Wundverschluss geschieht in dieser Phase vor allem durch Kontraktion und Granulationsgewebebildung (Fürst 2002).

Der letzte Schritt im Heilungsverlauf ist die reparative Phase, während der es zur Ausreifung der Kollagenfasern und zur ersten Herstellung der Kontinuität des Bindegewebes kommt (Piatek und Tautenhahn 2012a). Definitionsgemäß beginnt diese Phase nach der vollständigen Epithelialisierung (Becker und Coerper 2012). Extrazelluläre Matrixkomponenten wie Fibronectin, Hyaluronsäure und Kollagenfibrillen folgen nun der Granulationsgewebsbildung. Kollagen und Proteoglycane bewirken mehr Zugfestigkeit und Elastizität des Narbengewebes. Trotz allem ist das Narbengewebe in seiner Reißfestigkeit und der Penetrierbarkeit von Nährstoffen und Sauerstoff der unverwundeten Haut unterlegen (Martin 1997). So können auch funktionelle Einbußen des Gewebes entstehen. Der Prozess der Wundheilung ist durch die Bildung eines Ersatzgewebes abgeschlossen.

1.5.3. *Formen der Wundheilung*

Neben der epithelialen Wundheilung (*regenerative Heilung*) und der primären Wundheilung (*Sanatio per primam intentionem*) kennt man nach Schumpelick und Mitarbeitern (2010) auch eine sekundäre Wundheilung (*Sanatio per secundam intentionem*) (Abbildung 2).

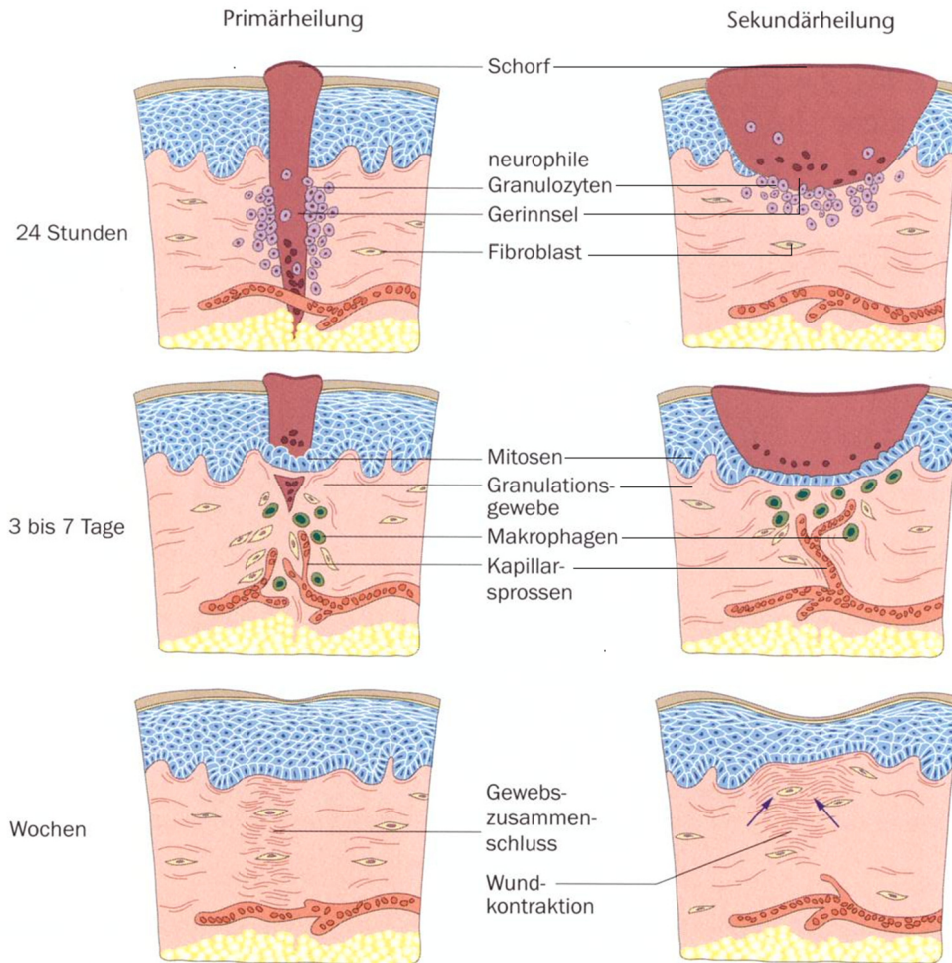


Abbildung 2: **Verlauf der primären und sekundären Wundheilung** im Vergleich zu mehreren Zeitpunkten (24 Stunden, 3-7 Tagen, mehreren Wochen) nach Entstehung einer Hautläsion. (modifiziert nach: Knottenbelt: Wundversorgung in der Pferdepraxis, 2006).

Bei oberflächlichen Hautwunden, bei denen nur die Epidermis verletzt wird (z.B. Schürfwunden), lässt sich eine regenerative Wundheilung beobachten, welche auch unter Schorf stattfinden kann. Diese Wunden heilen vollständig und innerhalb von wenigen Tagen aufgrund der Regenerationskraft von Hautepithelien ohne Narbe ab (Piatek und Tautenhahn 2012a).

Voraussetzung für eine primäre Wundheilung sind nach Keller (2010) glatte, dicht aneinanderliegende Wundränder bei geringer Gewebeschädigung an gut durchbluteten, keimfreien bzw. keimarmen Wunden.

Der Wundspalt wird zunächst mit Fibrin verklebt, die Wundränder verschmelzen daher relativ schnell, Leukozyten und Makrophagen wandern rasch in den Wundspalt ein.

Insgesamt wird nur wenig Granulationsgewebe gebildet (Schumpelick et al. 2010). Dieser Typ der Wundheilung hinterlässt in der Regel kaum Spuren der Wunde nach Heilungsende, abgesehen von eventuell milder Fibrose der oberflächlichen Dermis und/oder einem gewissen Verlust von Adnexalstrukturen (z.B. Haarfollikeln, Talg- oder Schweißdrüsen) an der ehemaligen Wundlokalisierung. Eine *Sanatio per primam intentionem* ist stets das Ziel des Chirurgen bei operativ gesetzten Inzisionen (Ackermann 2007). In der Veterinärmedizin kommen mit Ausnahme nicht-infizierter Operationswunden dafür nur wenige Wunden in Betracht (Knottenbelt 2006).

Bei der sekundären Wundheilung (*Sanatio per secundam intentionem*) wird die Wunde nicht primär verschlossen. Diese wird in allen Fällen gesehen, in denen die Primärheilung durch traumatische, chemische oder bakterielle Noxen verhindert wird. Wunden, die nur durch eine sekundäre Wundheilung verschlossen werden können, stellen sowohl in der Humanmedizin als auch in der Tiermedizin häufig ein großes Problem dar (André 2007).

Die Hautränder klaffen auseinander, die Wunde heilt aus der Tiefe durch Granulation, Kontraktion und anschließender Epithelialisierung unter Bildung einer meist breiten Narbe (Paetz 2009). Im Gegensatz zur Primärheilung kommt es zu größeren Einbußen sowohl der Morphologie als auch der Funktion des verwundeten Gewebes. Der Behandlung einer sekundär heilenden Wunde muss mehr Aufmerksamkeit als der einer primär heilenden gewidmet werden, da es während jeder Heilungsphase zu Heilungsstörungen kommen kann, womit die Gefahr der Bildung einer chronischen Wunde droht (Piatek und Tautenhahn 2012a).

Im Bereich der equinen Wundversorgung schlägt ein primärer Wundverschluss traumatischer Wunden in drei von vier Fällen fehl. Die sekundäre Wundheilung ist deshalb, trotz bekannter Komplikationen wie schlechter Wundkontraktion, Hypergranulation und langsamer Epithelisierung, als Versorgungsstandard für traumatische Wunden beim Pferd anzusehen (Braun 2010). Häufiger wird bei der sekundären Wundheilung eine überschießende Granulationsgewebsbildung (*Caro luxurians*) beobachtet. In diesen Fällen wölbt sich das Granulationsgewebe wulstig vor und epithelisiert verzögert (Wintzer und

Dämmrich 1993). Die eigentlichen Ursachen für diese überschießende Granulationsgewebsreaktion sind noch nicht erforscht. Begünstigende Faktoren sind erhöhte Beweglichkeit, starke Kontamination und schlechte Durchblutung der distalen Gliedmaßen beim Pferd. Diese Faktoren stehen im Zusammenhang mit dem Ungleichgewicht zwischen den Stimulations- und Inhibitionsfaktoren bei der Bildung von Granulationsgewebe (Molnar 2002). Trotz der verlängerten Heilungszeit und den oft sowohl kosmetisch als auch funktionell nicht optimalen Resultaten ist die Sekundärheilung jedoch eine in der Veterinärmedizin unverzichtbare Methode zur Behandlung von Wunden (Waldron und Zimmermann-Pope 2003).

Faktoren, die physiologische Wiederherstellungsprozesse stören, komplizieren unweigerlich die Wundheilung. Bei einer verzögert ablaufenden Heilung durchläuft die Wunde (vor allem bei traumatisch bedingten Wunden) eine chronische Entzündungsphase, welche in der Heilungskaskade allerdings höchst unerwünscht ist (Knottenbelt 2006).

1.6. Chronische Wunden und Wundheilungsstörungen

1.6.1. Chronische Wunden

Die physiologische, unkomplizierte Wundheilung dauert in der Regel zwei bis drei Wochen. Eine Wunde, die nach vier Wochen bis drei Monaten adäquater lokaler und kausaler Behandlung nicht abheilt, kann als chronische Wunde bezeichnet werden (Jannasch und Lippert 2012). Ausnahme ist die großflächige, offene Wunde, die vom Rand her epithelisiert und welche selbst unter guten Bedingungen eine längere Zeit bis zum kompletten Wundverschluss benötigt (Piatek et al. 2012d). Im Gegensatz zur akuten Wunde befindet sich eine chronische Wunde in einem kontinuierlichen Entzündungszustand (Anonym 1997).

Bei der Entstehung einer chronischen Wunde tragen verschiedene Faktoren zur Pathogenese bei:

Primäre (Kausal-) Faktoren in Form einer (zu 70% vaskulär bedingten) chronischen Grunderkrankung, sekundäre (Stör-) Faktoren in Form von lokalen Störungen (z.B.

Fibrinpersistenz, Gewebeischämie wegen lokaler Hypoxie) und tertiäre (Begleit-) Faktoren, welche sich als allgemeine oder lokale Störfaktoren darstellen (z.B. Medikamente, Vitamin- oder Spurenelementemangel) (Meyrat 2007).

Die Wundheilung ist stark abhängig vom geordneten Ablauf der Interaktionen zwischen den einzelnen biologischen und biochemischen Prozessen, der Balance zwischen einzelnen physiologischen Vorgängen. In chronischen Wunden ist nach Garrett und Garrett (1997) demnach das Gleichgewicht zwischen den einzelnen physiologischen Vorgängen der Wundheilung gestört. Verschiedene Einflüsse, wie z.B. hydrostatischer Druck, Ischämie oder Hyperglykämie führen zu einer permanenten Reizung und Schädigung von Gefäßwänden. Daraufhin markieren Adhäsionsmoleküle diese Stellen, wodurch eine Anlagerung von Entzündungszellen (z.B. neutrophiler Granulozyten und Monozyten) ermöglicht wird. Diese Entzündungszellen induzieren durch pro-inflammatorische Zytokine eine stetige Entzündungsreaktion (Scharffetter-Kochanek et al. 2003). Es kommt nach Mast und Schulz (1996) zu einer Überproduktion von Gewebe abbauenden Proteasen und einer gleichzeitigen Reduktion von Proteaseinhibitoren und Wachstumsfaktoren. So entsteht ein Übergewicht an abbauenden Prozessen, welches die Chronifizierung der Wunde bedingt: der Hautdefekt wird immer größer und tiefer, die zerklüftete Wundoberfläche bietet eine ideale Angriffsfläche für Bakterien, so dass eine chronische Wunde in der Regel infiziert ist (Anonym 1997).

In chronischen Wunden finden sich typischerweise Aerobier wie Staphylokokken, Pseudomonaden oder Streptokokken und Anaerobier wie Peptostreptokokken oder Bacteroides (Streit und Mayer 2009). Generell infektionsgefährdete chronische Wunden im humanmedizinischen Bereich sind das chronische Ulcus Cruris, das Decubitalulcus, der diabetische Fuß sowie sekundär heilende traumatische Wunden (Kramer und Hoffmann 2006).

1.6.2. *Störfaktoren der Wundheilung*

Weltweit leiden circa ein bis zwei Prozent der Bevölkerung an Wunden mit gestörtem Heilungsverlauf, oft auf dem Boden einer zugrunde liegenden Erkrankung (Smola et al.

2001). Die Autoren lassen hier offen, ob es sich dabei um eine Grund- oder eine Primärerkrankung handelt.

Während die normale Heilung ein geordneter Reparatursprozess ist, der in der dauerhaften Erneuerung der anatomischen und funktionellen Integrität endet, durchlaufen heilungsgestörte Wunden diesen Regelkreis nicht oder nur unvollständig (Tautenhahn und Piatek 2012). Alle Störfaktoren wirken auf eine oder mehrere Teilphasen der Wundheilung und beeinflussen den Ablauf zumeist im Sinne einer Heilungsverzögerung. Die Hauptursache einer beeinträchtigten Wundheilung ist die qualitativ oder quantitativ reduzierte Perfusion des Wundgebietes (Schumpelick et al. 2010). Grundsätzlich können aus der Sicht von Grey und Mitarbeitern (2008) und Tautenhahn und Piatek (2012) als mögliche disponierende Faktoren systemische und lokale Faktoren unterschieden werden:

Zu den möglichen systemischen Störfaktoren können unter anderem gehören:

- hohes Alter;
- Bewegungsmangel;
- mangelhafter Ernährungszustand;
- Vitamin-/ Spurenelementmangel;
- Grund-, Begleit-, Stoffwechsel- und Gefäßerkrankungen (z.B. Diabetes, Morbus Cushing, maligne Erkrankungen);
- Chemo- / Bestrahlungstherapie;
- Pharmaka (Immunsuppressiva, Kortikosteroide, Antikoagulanzen).

Mögliche lokale Störfaktoren können sein:

- morphologische Besonderheiten (Lokalisation der Wunde, erhöhte Hautspannung, Entstehungsmechanismus, Fremdkörperreaktionen, etc.);
- Gewebeischämie oder Nekrosen;
- OP-Technik (Naht unter Spannung, schlecht adaptierte Wundränder, Elektrokoagulation);
- Lokaltherapeutika;

- Nahtdehiszenz;
- exzessive Bewegung;
- Wundinfektionen.

1.6.2.1. Wundinfektionen

Alle offenen Wunden sind bakteriell besiedelt oder kontaminiert (Grey, Enoch et al. 2008). Unter einer Wundinfektion versteht man das Eindringen und Vermehren eines Infektionserregers in (bzw. auf) einer Wunde und die immunologische Reaktion des Wirtsorganismus auf den Erreger (Piatek et al. 2012c). Wundinfektionen stellen die schwerste Störung der Wundheilung dar. Das Risiko einer Wundinfektion ist sowohl für akute Problemwunden als auch für chronische Wunden gegeben (Kramer und Hoffmann 2006).

Mit einer Inzidenz von rund 3,5% gehören akute Wundinfektionen in Europa und Nordamerika zu den wichtigsten Komplikationen einer einfachen traumatischen Wunde beim Menschen (Piatek et al. 2012c). Auch beim veterinärmedizinischen Patienten kommt die größte Bedeutung im Feld der Wundheilungsstörungen den Wundinfektionen zu (Hedlund 2009).

Postoperative Wundinfektionen stellen nach Harbarth (2006) sowohl im Bereich der Human- als auch der Veterinärmedizin ein gravierendes Problem dar und gehören zu den häufigsten Todesursachen nach chirurgischen Eingriffen.

Wundinfektionen können zu schwerwiegenden Komplikationen führen. Die Infektion kann lokal begrenzt bleiben, generalisieren oder zu einer Organmanifestation führen. Ausgehend von Wunden kann sich eine Sepsis bzw. Allgemeininfektion entwickeln (Piatek und Tautenhahn 2012b).

Die oberflächliche Wundinfektion beschränkt sich auf die Haut und das subkutane Fettgewebe, wobei nach Piatek und Tautenhahn (2012b) zumindest eines der folgenden Kriterien erfüllt sein sollte:

- eitriges Sekretion aus der oberflächlichen Inzision;
- kultureller Nachweis eines Mikroorganismus aus einem aseptisch entnommenen Wundsekret oder einer Gewebekultur von der oberflächlichen Inzision;
- Schmerz oder Empfindlichkeit;
- lokalisierte Schwellung;
- Rötung;
- Überwärmung.

Infektionen der Wunde bewirken eine Steigerung der Hyperämie, der Exsudation und der Immigration von Abwehrzellen. Die Proliferation dagegen wird vermindert (Meurer und Wolf 2007). Dadurch ist die Dauer der sekundären Wundheilung gegenüber der primären deutlich verlängert, da wesentlich mehr Granulationsgewebe aufgebaut werden muss. Für das Auftreten sekundärer Wundheilung sind Infektionen die häufigste Ursache, da erst nach Elimination des infektiösen Agens die Wundheilung stattfinden kann (Wintzer und Dämmrich 1993).

Infektionen verzögern die Wundheilung durch die Abkapselung der Wundoberfläche von exsudativen Prozessen und durch die Produktion nekrotisierender Enzyme, welche Gewebe zerstören, die Fibroblastenaktivität beeinträchtigen und die Wundstruktur schwächen. Insgesamt sind vier Faktoren entscheidend an der Pathogenese von Wundinfektionen beteiligt (Harbarth 2006):

- Menge und Konzentration des bakteriellen Inokulums;
- Virulenz der Mikroorganismen;
- lokale Wundverhältnisse (Nekrosen, Blutzufuhr);
- Wirtsabwehr.

Infizierte Wunden heilen langsamer als nicht infizierte Wunden (Knottenbelt 2006). Bei Wundinfektionen handelt es sich häufig um Mischinfektionen, Bakterienzahlen über 1×10^6 im Gewebe verzögern die Wundheilung (Hackett 1983). Krizek und Robson (1975) haben gezeigt, dass im Falle eines großen bakteriellen Inokulums mit mehr als

10^5 Mikroorganismen pro Gramm Körpergewebe das Infektionsrisiko rapide ansteigt. Kontamination oder Infektion (über 10^5 Organismen pro Gramm Gewebe) mit Bakterien können sich in einer Wunde in der Entstehung von Ulcerae, Abszessen, Fisteln oder Gangränen äußern (Pavletic 1993).

Je größer die Virulenz, desto höher die Wahrscheinlichkeit einer klinisch symptomatischen Infektion. Große Virulenz haben nach Ansicht von Harbarth (2006) Streptokokken der Gruppe A (*Streptococcus pyogenes*), Exotoxin bildende *Staphylococcus aureus*- Stämme und gewisse Anaerobier (z.B. *Clostridium perfringens*). *E. coli* und andere gramnegative Bakterien bilden Endotoxine in ihrer Zellaußenwand, die wesentlich zur Virulenz dieser Mikroorganismen beitragen. Koagulasenegative Staphylokokken und Enterokokken haben dagegen nur eine begrenzte eigenständige Virulenz und sind daher häufig auf die Synergie mit anderen Bakterien oder eine schwache Wirtsabwehr angewiesen, um klinisch relevante Wundinfektionen auszulösen.

In einer 1998 veröffentlichten Zusammenstellung aus 62 Studien aus den Jahren 1969 bis 1997 fand Bowler folgende Keime in akuten und chronischen humanen Wunden mit und ohne Infektzeichen am häufigsten: *Staphylococcus aureus* (63%), Kolibakterien (45%), *Bacteroides* (39%), *Peptostreptococcus* (36%), *Pseudomonas aeruginosa* (29%), *Enterococcus* (26%) und *Streptococcus pyogenes* (13%) (Streit und Mayer 2009).

Eine Wundinfektion kann durch einzelne Erreger einer Gruppe oder durch eine bestimmte Bakterienart dieser Gruppe hervorgerufen werden (Monoinfektion), im veterinärmedizinischen Bereich bestehen allerdings meist eitrig-jauchige Mischinfektionen (Dietz und Thein 2004).

Die häufigsten Erreger postoperativer Wundinfektionen beim Menschen sind Bakterien der Haut- und Darmflora des Patienten, wie in den Veröffentlichungen von Emori und Gaynes (1993) sowie Geubbels und Kollegen (2000) im Detail nachgelesen werden kann. Daher ist es nicht verwunderlich, dass Hautkeime wie *Staphylococcus aureus* und koagulasenegative Staphylokokken sowie Enterobakterien und Enterokokken am häufigsten bei chirurgischen Wundinfektionen angetroffen werden (Harbarth 2006).

Auch beim Tier spielen postoperative Wundinfektionen eine Rolle. Ebrecht und Winterhoff (2005) führten eine bakteriologische Untersuchung von 110 Wundtupfern durch, die aus caninen Wunden mit Verdacht auf postoperative Wundinfektion gewonnen wurden. Bei 60 Tupfern (54,5%) konnte kein Keimwachstum nachgewiesen werden, bei 50 Tupfern (45,5%) konnten Bakterien angezüchtet werden. Aus diesen 50 Tupfern wurden hauptsächlich *Staphylococcus intermedius* (26%), (19%), und *Pseudomonas* spp. (15,7%) isoliert. *Staphylococcus aureus* war mit einem Anteil von 7% vertreten, mit jeweils 5,1% wurden *Staphylococcus haemolyticus*, *Enterococcus* spp., *Enterobacter* spp. und *Staphylococcus epidermidis* nachgewiesen. Anaerobier, bestehend aus *Porphyromonas* spp. (4,1%) und *Fusobacterium* spp. (0,9%) kamen außerdem vor. Der Anteil an hämolysierendem *E. coli* und *Acinetobacter* spp. machte jeweils 3,4% aus. Häufig wurden Mischinfektionen der oben aufgeführten Bakterien angetroffen (Ebrecht, Winterhoff et al. 2005).

Verantwortlich für das Entstehen postoperativer Wundinfektionen beim Tier ist die mikrobielle Flora im Operationsgebiet. Diese wird zum einen vom Tier selbst bestimmt, zum anderen aber auch zu einem nicht unerheblichen Maße vom Menschen. Für *Staphylococcus aureus* beispielsweise gilt der Mensch als prädominierendes Erregerreservoir, etwa 20 bis 40% der Bevölkerung beherbergen *Staphylococcus aureus* als Besiedler vorwiegend in Nase und Rachen (Grehn 1985).

Vor allem bei Pferden infizieren sich oberflächliche Wunden zudem relativ häufig mit Pilzen. So kann beispielsweise die Infektion einer eigentlich trivialen Wunde mit *Phytium* spp. oder *Basidiobolus haptosporus* zu Komplikationen mit katastrophalen Auswirkungen führen. Die parasitäre Infestation mit z.B. *Habronema musca* oder bestimmten Fliegenlarven (Myiasis) verzögert ebenfalls die Abheilung (Knottenbelt 2006).

Bei Papageien und Sittichen stellen lokalisierte Wundinfektionen/-nekrosen ebenfalls ein schwerwiegendes Problem dar. Oft sind auch hier traumatische Einwirkungen die primäre Ursache dieser Hautveränderungen (Pees 2011).

1.6.2.2. *Andere Faktoren*

Bewegung an der Wunde oder den benachbarten Geweben verzögert die Wundheilung. Es kommt zum Zerreißen von Kapillarsprossen sowie zu erhöhter Kollagenablagerung, der Heilungsprozess läuft dadurch in Richtung einer chronischen Entzündung (Knottenbelt 2006).

Fremdkörper sind beim Tier einer der häufigsten Gründe für eine verzögerte Wundheilung. Es kann sich dabei entweder um körperfremdes Material (Sand, Pflanzenteile, Glas, etc.) oder um körpereigenes Material (Haare, nekrotisches Gewebe, etc.) handeln. Nahtmaterial und chirurgische Implantate können ebenfalls als Fremdkörper wirken (Hedlund 2009).

Manipulationen durch den Patient selbst (Lecken und Beißen/Nagen) an Wunden, die eigentlich primär heilen könnten, sowie Infektionen des Wundbereichs können häufig zum Ausbleiben einer Sanatio per primam (primären Wundheilung) führen (André 2007).

1.7. Wundbehandlung

1.7.1. *Historische Entwicklung*

Eine Wundauflage wird generell auf eine Wunde aufgebracht, um Blutungen zu stillen, Exsudat zu absorbieren, Wundschmerz zu lindern und neu gebildetem Gewebe Schutz zu bieten (Thomas 1990).

Aus dem alten Ägypten (3.200-3.000 v.Chr.) wird über die Blutstillung durch Druck, die Anwendung des Glüheisens und Verbandstechniken in Papyrusurkunden berichtet (Lippert 2012).

Die ersten geschriebenen Hinweise auf eine ausgefeiltere Verwendung von Wundauflagen finden sich in den Ebers und Edwin Smith Papyri aus der Zeit um 1.600-1.500 v.Chr. Die damals verfügbaren Materialien wie gewebte Stoffe sind bis heute eine akzeptable Option. Doch die Suche nach alternativen Wundauflagen wird seit Jahrhunderten ununterbrochen fortgeführt. Aus den antiken Aufzeichnungen des römischen Arztes Galen (129-199 n.Chr.)

sind uns 108 Arten von Wundverbänden überliefert. Grundlage waren kunstvolle Bindetechniken mit in Rotwein getränkten Verbandstoffen (Protz 2005).

1.7.2. *Traditionelle Wundbehandlung und -auflagen*

Ziel der Wundversorgung blieb lange Zeit das Austrocknen der Wunde gemäß den Lehren der antiken Mediziner wie Hippokrates, Plinius und Galen, daher wird die „traditionelle Wundversorgung“ in der Regel mit „trockener Wundbehandlung“ gleichgesetzt (Piatek et al. 2012c). Während sich chirurgische Verfahren und Techniken über die Jahrhunderte erheblich weiterentwickelt und verbessert haben, machten Wundmanagement und die Anerkennung der Wichtigkeit korrekt angewandter Wundaufgaben nur relativ langsam Fortschritte. Bis in die späten fünfziger Jahre des 20. Jahrhunderts war es allgemeine Ansicht, dass eine Wunde so trocken wie möglich gehalten werden sollte, um eine bakterielle Wundinfektion zu verhindern (Thomas 1990).

Nach Jones und Kollegen (2006) wird eine Wunde traditionell mit einer sterilen Baumwollkompressen bedeckt, die mit steriler Kochsalzlösung befeuchtet ist und dem Austrocknen überlassen wird, das sogenannte „wet-to-dry“ (nass-trocken) Prinzip. Die so ausgetrockneten Wunden bilden an der Oberfläche Schorf, der zur natürlichen Wundabdeckung dient und bis zur Nekrose führen kann. Bei Schorf handelt es sich um ein hartes sprödes Material aus getrocknetem Blut und den eiweißhaltigen Bestandteilen des Wundexsudats, welches die Wunde auf natürliche Weise schützt. Schorf gilt nicht mehr als ideale Wundabdeckung, da er aufgrund seiner spröden Beschaffenheit leicht beschädigt werden und das überschüssige Exsudat nur bedingt regulieren kann. Zudem sind die Verhältnisse für die Regeneration der Haut unter Schorf nicht optimal: Die für die Heilung notwendigen Enzyme, Wachstumsfaktoren und Nährstoffe trocknen im Wundschorf aus und fehlen dann für die Wundheilung. Eine ungehinderte Epithelmigration ist nicht gewährleistet, die für die Immunabwehr in der Exsudationsphase wichtigen Makrophagen können ebenfalls nur im Wundrandbereich verbleiben und nicht im gesamten Wundgebiet phagozytisch tätig werden (Protz 2005). Schorf kann zudem die Beteiligung weißer Blutzellen am Wundheilungsgeschehen behindern (Stashak et al. 2004).

Textile Wundverbände, meist (Gaze-) Kompressen, werden vor allem zur primären Wundabdeckung verwendet, da sie Exsudat in gewissem Umfang aufnehmen können. Gaze-Verbände werden als sogenannte Feucht-Trocken oder Trocken-Trocken-Verbände angewandt. Dies sind ältere Formen des Wundverbands, die der Reinigung der Wunde von Exsudaten und nekrotischem Gewebe in der frühen Phase der Wundbehandlung dienen (Swaim et al. 2013). Sie haben Polsterfunktion, sind Schutz gegen äußere Einflüsse und evtl. Träger für Arzneimittel. Allerdings ermöglichen auch sie durch ihren austrocknenden Effekt eine Schorfbildung, was den großen Nachteil des Verklebens des Wundverbands mit der Wunde nach sich zieht. Der Verbandswechsel wird somit schmerzhaft, das darunter liegende Gewebe wird traumatisiert, die in die Wundaufgabe eingewachsenen Kapillaren und Fibringerüste werden zerstört und der Heilungsprozess durch diese Beschädigungen der Wundfläche verlangsamt (Protz 2005). Zudem begünstigen die textilen Verbände das Eindringen von Bakterien, insbesondere wenn sie mit Exsudat durchnässt sind (Szycher und Lee 1992) und bieten in thermischer Hinsicht keinen genügenden Schutz.

1.7.3. *Moderne Wundbehandlung und -auflagen*

Im Jahre 1962 begründet der Engländer Winter durch Versuche an Schweinehautwunden die moderne feuchte Wundversorgung und revolutioniert mit seinen Erkenntnissen die Herangehensweise an die Versorgung humaner Wunden.

Odland hat bereits 1958 eine beschleunigte Reepithelisierung unter intakter Hautblase gezeigt, Winter demonstriert dann 1962 eine doppelt so schnelle Reepithelisierung von Hautwunden unter Polyurethanfolien wie unter Luftexposition, was in den jeweiligen Veröffentlichungen im Detail nachgelesen werden kann. Bereits im Jahre 1861 hatte Hebra die beschleunigte Wundepithelisierung bei kontinuierlicher Wasserbadbehandlung Verbrennungsverletzter beobachtet und ist somit als eigentlicher Inaugurator dieser Methode anzusehen (Piatek et al. 2012c).

Bei der feuchten Wundheilung soll ein Austrocknen der Wundfläche ebenso verhindert werden wie ein zu feuchtes Klima, das zu einer Vermehrung von Bakterien und zu einer Mazeration des umgebenden Gewebes führen würde (Braun 2009).

Ziel ist das Aufrechterhalten eines idealfeuchten Milieus zur Unterstützung der körpereigenen Abwehr gegen Mikroorganismen. Dies wird erreicht durch Aufbringen geeigneter Materialien direkt auf die Wundfläche, die eine Schutzschicht gegen Austrocknung bilden, dabei aber den Gasaustausch gewährleisten. Feuchtigkeit unter einer okkludierenden Wundaufgabe steigert nicht nur die Epithelisierungsrate, sie fördert die Heilung durch Feuchtigkeit und die Anwesenheit einer initial niedrigen Sauerstoffspannung, welche in der Entzündungsphase notwendig ist, selbst (Jones et al. 2006). Das Aufrechterhalten eines feuchten Milieus verhindert die Bildung von Schorf und gewährleistet die Diffusion der Nährstoffe, Wachstumsfaktoren und Enzyme über die gesamte Wundfläche. Die Epithelisierung wird erleichtert und die neu gebildete, anfangs sehr empfindliche Haut wird geschützt (Braun 2009).

Es wird im Rahmen der feuchten Wundheilung Wundsekret durch Semiokklusion oder Absorption in bzw. unter der Wundaufgabe retiniert. Dieses Wundsekret enthält, wie in den Veröffentlichungen von Dyson und Kollegen (1988) und Falanga (1988) in detaillierterer Form nachzulesen ist, im feuchten Milieu mehr zelluläre Bestandteile und verschiedene Wachstumsfaktoren, wie z.B. das IGF-1. Zellaktivitäten wie Chemotaxis, mitotische Aktivität, Angiogenese, Matrixformation, dermale Reparatur, Keratinozytenmigration und autolytisches Debridement werden stimuliert.

Die Reepithelisierung einer feuchten Wunde ist verbessert, da die Wanderung der Keratinozyten auf der Wundoberfläche erleichtert wird (Braun 2010).

Ein erhöhtes Infektionsrisiko unter der Semiokklusion konnte nicht festgestellt werden (Hutchinson und Lawrence 1991). Hutchinson und McGuckin (1990) finden im Vergleich der Infektionsraten unter semiokklusiven versus trockenen Wundaufgaben sogar eine reduzierte Infektionsrate von 2,6% unter semi-okklusiven Auflagen gegenüber 7,1% bei trockenen Auflagen.

Nach der Grundidee, die Turner bereits 1979 entwickelte, sehen die Qualitätskriterien für einen idealen Wundverband wie folgt aus (Stashak et al. 2004):

- Erhaltung eines feuchten Klimas im Wundbereich;
- Entfernung von überschüssigem Exsudat und toxischen Komponenten;
- Ermöglichung des Gasaustausches;
- thermische Isolation der Wunde;
- Schutz vor Sekundärinfektion;
- Ausschalten partikulärer und toxischer Schadstoffe;
- atraumatische Verbandswechsel;
- Schmerzreduktion durch gute Haftung zum Wundgrund ohne Verklebung;
- Gewährleistung der Wundruhe durch lange Wechselintervalle.

Man unterscheidet heutzutage zwischen drei Klassen von Wundauflagen nach ihrem Wirkungsprinzip, den inaktiven/passiven, interaktiven und (bio-) aktiven (Piatek et al. 2012c).

Passive Wundauflagen beinhalten traditionelle Kompressen aus Mull und Vliesstoffen sowie alle kombinierten Saugkompressen.

Die Gruppe der interaktiven Wundauflagen umfasst Verbände, die aufgrund spezifischer Materialeigenschaften in Interaktion mit der Wunde treten. Grundprinzip dabei ist die Schaffung eines idealfeuchten Wundmilieus durch Okklusion. Neben diesen semipermeablen Wundauflagen (z.B. Folien, Hydrogele, Hydrokolloide, geschlossene - oder feingeschäumte Schaumstoffprodukte) sind auch luftpermeable Systeme (z.B. Hydrofasern oder Lamine aus Polyacrylaten) in Gebrauch. Alle Produkte besitzen zusätzlich unterschiedlich absorbierende Eigenschaften, so dass gezielte Beeinflussungen der Wundheilungsphasen möglich sind.

Bei der Gruppe der (bio-) aktiven Wundauflagen handelt es sich in erster Linie um Transplantatmaterialien (z.B. autologe Eigenhaut, lyophilisierte Schweinehaut, autologe Keratinozytenkulturen) oder mit Wachstumsfaktoren imprägnierte Wundauflagen (Piatek et al. 2012c).

1.8. Wundheilungsmodelle in der Medizin

Tiermodelle und in-vitro Untersuchungen sind in nahezu jedem wissenschaftlichen Fachbereich für Forscher unentbehrliche Hilfsmittel geworden (Perez und Davis 2008).

Die medizinische Fachliteratur führt unzählige in-vitro und in-vivo Wundheilungsmodelle an. Viele dieser Modelle sind dazu gedacht, spezifische Abläufe und Mechanismen isoliert zu betrachten. Dennoch wird die Aussagekraft eines jeden einzelnen anhand seiner Fähigkeit beurteilt, eine Voraussage über das tatsächliche Verhalten des getesteten Verfahrens unter klinischen Bedingungen in einer humanen Wunde zu tätigen (Sullivan et al. 2001).

Um die Effekte verschiedener externer Faktoren, die auf die Wundheilung Einfluss nehmen, objektiv beurteilen zu können, stellt die Anwendung eines einfachen und reproduzierbaren Modells eine grundlegende Voraussetzung dar (Gal et al. 2008). Fragestellungen im Zusammenhang mit der Dynamik multifaktorieller Prozesse (Reinigung, Granulation, Wundschluss, etc.) sowie dem Verhalten einzelner Zellverbände auch unter dem Einfluss verschiedenster Promotoren und Inhibitoren involvieren praktisch immer auch Untersuchungen zu histologischen Veränderungen der Wundzone und später des Narbengewebes. Solche Untersuchungen müssen an Tiermodellen durchgeführt werden (Baschong 1998).

In-vitro Untersuchungen eignen sich ausgezeichnet, um den Effekt eines bestimmten Agens auf einzelne Zelltypen zu erforschen. Sie sind relativ kosteneffektiv, schnell und bequem für den Wissenschaftler. Im Bereich der Wundheilungsforschung können sie einen Vorab-Überblick über die mögliche Effektivität einzelner Behandlungen, besonders in Bezug auf antimikrobielle und heilungsfördernde Agenzien liefern (Perez und Davis 2008).

Folgender verkürzter Überblick kann im Detail der Veröffentlichung von Davidson (2001) entnommen werden:

Akute Wundmodelle sind meist mit In- oder Exzisionen der Haut verbunden, wobei Inzisionsmodelle entweder primär oder sekundär heilen, ohne dass Gewebe entnommen

wird, während bei der Exzision unterschiedliche Hautschichten umfassende Gewebestücke entnommen werden, welche von der Teilentnahme der Epidermis mittels eines Klebebands (TesaFilm-Präparat) über Spalthautentnahme bis zur Vollhautentnahme reichen können. Bei letzterer werden Epidermis und Dermis komplett entnommen und die Exzision bis in das subkutane Fett oder auf die Faszie vertieft. Dieses Modell bietet nach Aussage von Davidson (2001) die Vorteile eines signifikanten Wundvolumens, Beteiligung aller dermalen Komponenten, Epithelisierung lediglich an den Wundrändern und die Möglichkeit, chemische, histologische und zellkulturelle Analysen durchzuführen.

Die meisten der derzeit gängigen Wundheilungsmodelle, welche sich mit dermalen Wundheilung beschäftigen, sind vor allem für die akute Wundheilung repräsentativ (Bernatchez, Parks et al. 1998).

Ein ausgefeiltes Exzisions-Wundmodell wird so beispielsweise von Singer und McClain (2003) entwickelt, die es sich zum Ziel gesetzt haben, ein porcines Wundmodell zu entwickeln und zu validieren, welches die durchschnittliche Reepithelisierungsdauer von Spalt- und Vollhautwunden unterschiedlicher Tiefe bestimmbar macht.

Hinrichsen und Mitarbeiter (1998) untersuchen in einem von ihnen entwickelten porcinen Wundmodell den Einfluss der Lage von Vollhautwunden hinsichtlich Wundkontraktion, Heilungsdauer und Narbenform unter unterschiedlichen Wundauflagen.

Mit dem Ziel, ein ideales Tiermodell zur Erforschung hypertropher Narbenbildung zu entwickeln, beurteilen Ramos und Kollegen (2008) die Narbenbildung und Wundheilung unterschiedlicher Tierarten (Mäuse, Ratten, Hamster, Meerschweinchen, Kaninchen und Schweine), bevor sie es schließlich am Roten Duroc Schwein etablieren können.

Wundkammermodelle und Verbrennungs-/Erfrierungsmodelle aufgrund thermischer, chemischer oder radioaktiver Beeinflussung können ebenfalls der Erforschung der akuten Wundheilung dienen. So forschen Cribbs und Kollegen (1998) an der Entwicklung eines standardisierten Wundmodells zu Verbrennungswunden bei Mäusen, Singer und McClain (2003) entwickeln ein porcines Exzisionswundmodell und Daniel und Mitarbeiter (1985)

veröffentlichen die Erkenntnisse ihrer Studie zu experimentell erzeugten Druckgeschwüren am Schwein.

Ein stets wachsender Anteil der Wundheilungsforschung beschäftigt sich heutzutage auch mit der Untersuchung der verzögerten Wundheilung.

Ein verzögertes Wundmodell, welches das langsame, komplizierte Abheilen einer wundheilungsgestörten Läsion nachahmen würde, könnte wesentlich bessere Aussagen zum positiven Effekt einer Behandlungsform ermöglichen (Bernatchez et al. 1998).

Die meisten Studien konzentrieren sich nach Davidson (2001) daher darauf, einzelne Segmente des Problems in reproduzierbarer Form zu isolieren, um erst eine Verzögerung der Wundheilung zu demonstrieren und dann in einem weiteren Schritt Möglichkeiten der Heilungsverbesserung aufzuzeigen. Dabei sind metabolische Manipulationen, wie zum Beispiel diabetisch, chemisch, genetisch veränderte und nutritiv oder pharmakologisch beeinflusste, die gängigsten.

Die Entwicklung eines derart komplexen Tiermodells ist ein hochkompliziertes Unterfangen. Im Versuch, den natürlich ablaufenden Wundheilungsprozess zu verlangsamen und so potentiell förderliche Behandlungsmethoden zu identifizieren, wurden bereits zahlreiche Modelle zur verzögerten Wundheilung entwickelt.

Beispielsweise werden von Greenhalgh und Mitarbeitern (1990) Wunden bei genetisch veränderten diabetischen Mäusen gesetzt. Gal und Kollegen (2008) forschen an der Wundheilung bei diabetischen und mit Kortikosteroiden behandelten Ratten. Ein Modell zur Verursachung chronischer Hautulzera durch die Injektion einer Chemikalie beim Meerschweinchen entwickeln Manna und Mitarbeiter (1982). Swaim und Mitarbeiter (1993) stellen ein ähnliches Modell zur Erforschung von Druckulzera am Hundebein vor. Wunden auf unterernährten Ratten, wie von Tanaka und Kollegen (1994) beschrieben, werden ebenso untersucht wie solche, deren Heilungsverlauf durch Bestrahlung verlangsamt werden soll, wie Mustoe und Mitarbeitern (1989) beschreiben.

Aufgrund der im Kapitel 1.4. ausgeführten zahlreichen anatomischen Übereinstimmungen oder starker Ähnlichkeiten von porciner und humaner Hautstruktur wird im Bereich der porcinen Wundmodelle unter anderem besonders daran geforscht, den Heilungsverlauf von Wunden unter Versuchsbedingungen zu verzögern. Unter anderem wird untersucht, wie sich gezielt verursachte Druckstellen auf porciner Haut, beschrieben von Daniel und Kollegen (1985), oder, wie von Chvapil und Chvapil (1992) erforscht, durch Bestrahlung manipulierte Spalthaut- und Vollhautwunden beim Schwein hinsichtlich der Heilung verhalten. Bernatchez und Mitarbeiter (1998) greifen den Ansatz der Bestrahlung in ihrer Versuchsreihe auf und charakterisieren die histologischen Entwicklungen porciner Vollhautwunden über einen Zeitraum von 4 Wochen.

Auch diabetische porcine Wundmodelle kommen in der Forschung zum Einsatz. So vergleichen Hirsch und Kollegen (2008) die erhöhte Infektanfälligkeit von Wunden bei diabetischen und nicht-diabetischen Yucatan-Minischweinen. Auch Spielmann (2009) macht sich ein diabetisches porcines Wundheilungsmodell zunutze, wenn er den Effekt von adenoviraler Gentherapie auf infizierte Wunden untersucht.

Die experimentell induzierte Heilungsverzögerung durch gezielte Wundinfektion von Hautwunden ist ebenfalls Gegenstand der tierexperimentellen Wundheilungsforschung. Bucknall führt 1980 eine Studie zum Effekt lokaler Wundinfektion bei Ratten durch, welche mit *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli* und *Proteus mirabilis* infiziert werden. Wright und Kollegen (2002) inokulieren porcine Vollhautwunden mit *Pseudomonas aeruginosa*, *Fusobacterium sp.* und koagulase-negativen Staphylokokken, um die Effekte nanokristallinen Silbers als Wundtherapeutikum zu untersuchen.

Da ein bakterieller Einfluss auf die Wundheilung eine unter Umständen massive Störung bedeuten kann, scheint die infektiös bedingte Heilungsverzögerung einen guten Ausgangspunkt für die Etablierung eines solchen Großtiermodells zu bieten.

1.9. Zielsetzung der Studie

Da es insgesamt angedacht ist, die Entstehung einer chronischen Wunde zu verhindern und/oder eine chronische Wunde in eine akute Wunde zu überführen, existieren derzeit

bei der Behandlung von infizierten Wunden und Problemwunden verschiedene therapeutische Ansätze, wobei verschiedene Gruppen von Wundtherapeutika eingesetzt werden.

Die hier vorgestellte Studie hat sich zum Ziel gesetzt, ein valides Großtiermodell zur Untersuchung von infektionsbedingt verzögerter Wundheilung zu entwickeln.

Es soll so eine Möglichkeit geschaffen werden, verschiedene lokal anwendbare Therapieoptionen in der human- und veterinärmedizinischen Wundbehandlung chronisch schlecht oder nicht heilender Wunden untereinander zu vergleichen und ihre verschiedenen Wirkweisen einander gegenüberzustellen. Beispielhaft wird im Rahmen der Studie das Verfahren der idealfeuchten Wundheilung mittels einer Produktkombination untersucht.

Über diese Studie hinausgehende Zielsetzung könnte sein, anhand der Vorlage des hier etablierten Modells sowohl für die Human- als auch für die Tiermedizin interessante Varianten und weiterführende Studien abzuleiten, um die Möglichkeiten der Versorgung von schlecht heilenden und/oder chronischen Wunden weiter zu optimieren.

2. Material und Methoden

2.1. Versuchstiere

Als Versuchstiere werden für das Projekt sieben Minischweine der Rasse „Troll“ verwendet.

Alle Tiere sind im Alter zwischen 12 und 24 Monaten, 4 Tiere sind männlich (kastriert), 3 Tiere sind weiblich (unkastriert).

Die Tiere wiegen zwischen 48 und 65 kg ($\bar{\varnothing}$ 56,7 \pm 8,3 kg) bei einer Schulterhöhe von etwa 50 cm und sind mit subcutan implantierten Mikrochips gekennzeichnet.

Die Schweine wurden in der Tierversuchsanlage der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf eigens zu Versuchszwecken gezüchtet und werden vor Versuchsbeginn in Kleingruppen à drei bis sechs gleichaltriger Tiere beider Geschlechter gehalten.

Nach Versuchsbeginn werden die jeweils im Versuch stehenden Tiere in 200 x 200 cm messenden Einzelboxen in unmittelbarer räumlicher Nähe zu ihren Artgenossen gehalten.

Sie erhalten Wasser ad libidum und 3 x pro Tag spezielles Pelletfutter für Minischweine (Ssniff®). Die Tierräume sind klimatisiert bei dauerhaft 20° Celcius, einer durchschnittlichen Luftfeuchtigkeit von 50% und einem 12-stündigen Hell-Dunkel-Rhythmus mit Kunstlicht von 6 Uhr morgens bis 6 Uhr abends.

2.2. Die Experimente

Die Versuche sind vom Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen (LANUV) genehmigt worden (Aktenzeichen: 8.87-50.10.34.08.294 Projektnummer: 294/08) und werden in der Tierversuchsanlage der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf durchgeführt.

Auf sieben Schweinen werden insgesamt 56 Vollhautwunden mit jeweils 4 cm Durchmesser operativ gesetzt und der Verlauf für vier Wochen an insgesamt acht Terminen dokumentiert. Der Tag der initialen Wundsetzung gilt hierbei als Tag 0.

Verbandswechsel und Probenentnahmen erfolgen am 3./4., 7., 10./11., 14., 17./18. und 21. Tag. Am 24. Tag erfolgt die letzte Datengewinnung mit anschließender Euthanasie des jeweiligen Tieres.

Die Untersuchungsergebnisse des Schweins 01 („Pilotschwein“) fließen nicht in die statistische Auswertung mit ein. Es dient zur Optimierung der Methodik.

2.2.1. Narkose, Analgesie und Euthanasie

Die Prämedikation erfolgt im Anschluss an die tagesscharfe Gewichtsbestimmung über zwei separate Injektionen unter Fixation durch Hilfspersonen:

Ketamin (Ketavet[®]) in der Dosis 10 mg/kg KGW (Körpergewicht) als i.m. (intramuskuläre) Injektion caudal des Ohrgrunds und Azaperon (Stresnil[®]) in der Dosis 5 mg/kg KGW als Mischspritze mit 0,02 bis 0,04 mg/kg KGW Atropin (Atropinsulfat[®]) ebenfalls als i.m. Injektion caudal des Ohrgrunds.

Im Anschluss wird zur weiteren Narkoseeinleitung bis Wirkungseintritt Thiopental in der Dosis 0,5 mg/kg KGW intravenös verabreicht.

Nach der Operationsvorbereitung und Intubation erfolgt die Einleitung der Inhalationsnarkose über initial 2% Isofluran zeitgleich zur intravenösen Eingabe von 0,03 mg/kg KGW Piritramid (Dipidolor[®]).

Zur Aufrechterhaltung der Narkose wird dann 1% Isofluran im Gemisch mit Lachgas und Sauerstoff (Verhältnis 2:1) per inhalationem verabreicht. Das Atemzugvolumen beträgt 400 bis 450 ml bei einer Atemfrequenz von 10 bis 12 Atemzügen pro Minute.

Abweichend dazu werden die Tiere für die Dauer des Bandswechsels anstatt per inhalationem nur intravenös mit Thiopental (Trapanal[®]) in der Dosis 5 mg/kg KGW und Ketamin (Ketavet[®]) in der Dosis 10 mg/kg KGW im narkotisierten Zustand gehalten. Die Sedation erfolgt stets nach demselben Schema wie oben beschrieben.

Unmittelbar postoperativ erfolgt die Analgesie mit Meloxicam (Metacam®) in der Dosierung 0,2 mg/kg KGW per injectionem s.c., an allen darauffolgenden Tagen des Versuchs p.o. über die Nahrung mit Meloxicam (Metacam®) in der Dosierung 0,1 mg/kg KGW.

Nach Ablauf der 28-tägigen Untersuchungsphase werden alle Tiere im Anschluss an die letzten Probenentnahmen durch intravenöse Verabreichung von 50 mg/kg KGW Phenobarbital (Narcofen®) schmerzlos euthanasiert und der Tierkörperbeseitigung zugeführt.

Eine Übersicht der im Rahmen der Studie angewandten Medikamente findet sich im Anhang: Annex V.

2.2.2. *Ablauf des initialen Eingriffs-Wundsetzung*

Zu Beginn jeden Eingriffs wird das zu operierende Tier von mehreren Personen im Tierraum aus seiner Box auf eine vergitterte Viehwaage geleitet und das tagesaktuelle Gewicht gemessen und dokumentiert (Anhang: Annex I).

Sobald die Sedation nach ca. 10 bis 15 Minuten eingetreten und ein Anheben und Transportieren des Schweines auf einem Rollwagen möglich ist, wird das Tier in die Operationsvorbereitung verbracht.

Dort erfolgt zunächst in Bauchlage das Legen eines venösen Zuganges in die V. auricularis caudalis, durch welchen jeweils zwei Probenröhrchen EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid)- und Serumblut entnommen werden. Uhrzeit, Lokalisation, entnehmende Person etc. werden dabei dokumentiert (Anhang: Annex II).

Es wird sofort im Anschluss an die Entnahme aus einem EDTA-Röhrchen ein kleines Blutbild mittels eines Vet ABC® erstellt, welches folgende Parameter erfasst:

- Leukozyten (WBC- white blood corpuscles),
- Erythrozyten (RBC- red blood corpuscles),

- Hämoglobin (HGB),
- Hämatokrit (HCT),
- Thrombozyten (PLT- platelets),
- mittleres Erythrozyteneinzelvolumen (MCV- mean corpuscular volume),
- mittleres korpuskuläres Hämoglobin (MCH- mean corpuscular hemoglobine volume),
- mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration (MCHC- mean corpuscular hemoglobine concentration),
- Erythrozytenverteilungsbreite (RDW- red blood cell distribution width) und
- durchschnittliches Thrombozytenvolumen (MPV- mean platelet volume).

Des Weiteren wird ein Differentialblutbild mit folgenden Parametern in prozentualen (%) und absoluten (#) Werten erstellt:

- Lymphozyten,
- Monozyten und
- Granulozyten.

Nach weiterer intravenöser Narkoseeinleitung und zeitgleichem Beginn einer Infusion von 5%iger Glucose-Lösung wird das Tier in Rückenlage endotracheal intubiert, dann in Bauchlage der gesamte dorsale Bereich der Haut vom Ohrgrund bis zum Schwanzansatz mit einer Schermaschine großflächig geschoren und zunächst mit Hautreiniger (Octenisan[®]), im Anschluss daran mit Hautdesinfektion (Octenisept[®]) behandelt (Abbildung 3).



Abbildung 3: **Operationsvorbereitung:** Erste Reinigung des gesamten dorsalen Bereichs des geschorenen, generalanästhesierten Tieres in Bauchlage; der intravenöse Zugang erfolgte in der linken Vena auricularis caudalis, die Schur wird mit einer Schermaschine großflächig von Ohrgrund bis Schwanzansatz durchgeführt, zur Reinigung kommt Octenisan® Hautreiniger zum Einsatz.

Nach Beendigung dieser Vorbereitungen wird das Tier auf einem Rollwagen in den Operationsaal verbracht, auf den OP-Tisch umgelagert und in Bauchlage mit den Gliedmaßen am Tisch fixiert.

Der gesamte vormals rasierte, gereinigte und desinfizierte Rückenbereich wird vom Operateur mit sterilen, in Octenisept® getränkten Kompressen zweimal für die Dauer von jeweils zwei Minuten desinfiziert. Unmittelbar im Anschluss folgt ein Handschuhwechsel.

Die OP-Fläche wird mit sterilen Abdecktüchern unter Aussparung des eigentlichen OP-Feldes komplett bedeckt. Lediglich der Kopfbereich des Tieres bleibt zur Überprüfung der Narkosetiefe und zur intravenösen Medikamentenapplikation unbedeckt.

Die angedachte Lage und Verteilung der Wunden auf dem Tier wird vor dem Setzen derselben ausgemessen und markiert. Dabei wird als cranialer Anhaltspunkt eine gedachte Linie zwischen den beiden Spinae scapulae gezogen, von welcher zunächst entlang der Medianen 5 cm in Richtung caudal gemessen wird. Paraspinal dieses Punktes wird im Abstand von 6 cm bilateral der jeweilig angedachte Mittelpunkt der kreisförmigen Wunde markiert. Danach werden die anderen Wunden jeweils im Abstand von 9 cm zwischen den

angedachten Mittelpunkten in caudaler Verlaufsrichtung mittels gelber steriler Kanülen im jeweiligen Mittelpunkt markiert (Abbildung 4).

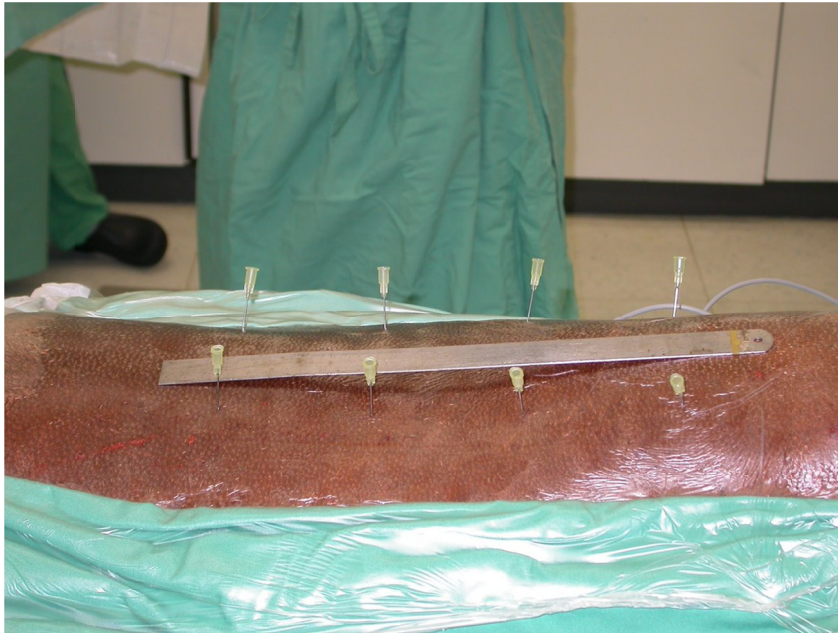


Abbildung 4: **Markieren der Wundverteilung** im Operationsfeld mittels steriler Kanülen; cranialer Anhaltspunkt ist die gedachte Linie zwischen den Spinae scapulae, davon ausgehend werden die Markierungen in caudaler Richtung beidseits paraspinal bilateral symmetrisch mit jeweils 6 cm Abstand voneinander in den jeweiligen Mittelpunkten der zu setzenden kreisförmigen Läsionen gesetzt.

Nach dem Ausmessen des OP-Feldes wird die Wunde mit Hilfe einer sterilen Stanze (Abbildung 5), welche einen geschliffenen scharfen Rand besitzt, per Hand durch Drehen des Instrumentes bei zeitgleicher leichter Druckausübung gesetzt.



Abbildung 5: **Exzisionsstanze** zum Zwecke der Wundsetzung (Durchmesser: 4cm); die Stanze besteht aus rostfreiem Edelstahl, besitzt am unteren Ende einen geschliffenen scharfen Rand und ist sterilisierbar.

Nach Inzision der Wundränder wird der Gewebekonus mittels eines Skalpells entfernt.

Die Wunde misst 4 cm im Durchmesser, bei einer Tiefe von 1 cm. Sie erfasst sowohl Epidermis als auch Dermis bis auf das subkutane Fettgewebe, der darunter liegende Muskel bleibt in toto erhalten. Blutstillung wird durch Kompression und Ligatur von blutenden Gefäßen mittels resorbierbarem Nahtmaterial der Stärke 4-0 (Vicryl®) erreicht. Die frische Wunde wird zur Größenbestimmung unter Zuhilfenahme eines sterilen Maßbandes fotografiert (Abbildung 6).



Abbildung 6: **Frisch gesetzte Wunde** mit sterilem Maßband zur initialen Größen- und Zustandsdokumentation, der Durchmesser der Wunde beträgt 4 cm, der mittels eines Skalpell bereits entnommene Gewebekonus umfasst Epidermis und Dermis und erreicht das subkutane Fettgewebe.

Aus dem entnommenen Gewebekonus wird mit einer Einwegbiopsiestanze (Biopsy Punch[®]) mit einem Durchmesser von 4 mm jeweils im Zentrum der Probe eine Kontrollbiopsie entnommen, welche direkt im Anschluss an den Eingriff in einem sterilen Kryoröhrchen zur weiteren Diagnostik ins Labor verbracht wird (weitere Untersuchungen - Kapitel 2.3.1.).

Zur Überprüfung des initialen Keimgehalts der frischen Wunde wird dieser unmittelbar nach Exzision des Gewebekonus durch Auflegen von drei unbeimpften Testplättchen mittels einer sterilen chirurgischen Pinzette auf den Wundgrund bestimmt. Nach 60 Sekunden Einwirkzeit werden diese wieder aus der Wunde entnommen und in sterilen Rundbodenkryoröhrchen mit 500 μ l (Mikroliter) phosphatgepufferter Salzlösung (PBS (phosphate buffered saline)-Lösung) unmittelbar nach Beendigung des Eingriffs zur weiteren Diagnostik ins Labor verbracht (weitere Untersuchungen - Kapitel 2.3.2.).

Bei dreien der insgesamt sieben Schweine (Schwein 5-7) werden alle Wunden mit einer Keimsuspension beimpft, welche eine standardisierte Konzentration von 10^7 Keimen/ml eines bestandsintern isolierten E. coli Stammes enthält.

Dieser E. coli-Stamm wurde vor Versuchsbeginn aus Nasenschleimhautabstrichen der in der Tierversuchsanlage der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf lebenden, zu Versuchszwecken bestimmten Minischweinen gewonnen. Dazu wurden mittels steriler Wattetupfer (PEHA[®] Wattestäbchen steril) Nasenschleimhautabstriche von Tieren genommen, die in unmittelbarer räumlicher Nähe zu den im Versuch genutzten Schweinen aufgestellt waren. Diese Proben wurden danach auf MacConkey-Agarplatten (Firma BioMérieux) ausgestrichen und aus den nach 24 Stunden Bebrütung gewachsenen Kolonien über mehrere weitere Anzüchtungen reine E. coli-Kolonien isoliert. Daraus wurde eine Suspension mit einem Gehalt von 10^7 Keimen/ml erstellt.

Die frischen Vollhautwunden werden während des initialen Eingriffs durch langsames Aufträufeln einmalig mit jeweils 500 µl der so erstellten Suspension infiziert, wobei pro Wunde 60 Sekunden Einwirkzeit gewährt und auf eine homogene Verteilung der Suspension im Wundgrund geachtet wird.

Nach dieser Einwirkzeit der Keimsuspension wird abermals von der Wunde eine mikrobiologische Probe mittels BD Sensi Discs[®] entnommen, welche Aufschluss über die tatsächlich vorhandene Gesamtkeimkonzentration im Wundgrund unmittelbar nach Infektion geben soll.

In der Folge wird die Wunde mit Mepilex[®] in zwei passformgenauen, speziell zugeschnittenen Lagen bedeckt, wobei die obere Schicht zusätzlich mit Prolene[®], einem Polypropylen-Nahtmaterial in der Stärke 2-0 USP, mit Einzelheften an den Wundrändern fixiert wird (Abbildung 7).



Abbildung 7: **Fertig präparierte und mit Mepilex® bedeckte Wunde** nach schriftlicher und bildlicher Dokumentation des Wundzustandes und der Wundeigenschaften; Applikation und Befestigung des Mepilex® erfolgt in zwei passformgenauen Lagen übereinander, die obere Lage wird mit Prolene®, einem nichtresorbierbaren Polypropylen-Nahtmaterial in der Stärke 2-0 USP mit Einzelheften an den Wundrändern fixiert.

Nach Beendigung jeder einzelnen Wunde wird der komplette Instrumentensatz verworfen und ein frischer, steriler Satz Instrumente von dem vorbereiteten OP-Tisch aufgenommen (Abbildung 8).



Abbildung 8: **Steril vorbereiteter OP-Tisch vor Beginn eines Eingriffs oder Verbandwechsels**; es liegen jeweils zwei Instrumentensätze vor; im Bild oben (links beginnend): anatomische und chirurgische Pinzetten, Biopsiestanzen, Präparierscheren, Nadelhalter, Einmalskalpelle, steriles Maßband, Schalen mit Octenisept- und Octenisept-getränkten Tupfern, Einmalskalpelle, Biopsiestanzen, Präparierscheren, Nadelhalter, anatomische und chirurgische Pinzetten; Mitte: (links beginnend): Prolene® Nadel-Faden-Kombinationen, 1ml Spritzen, Kanülen zur Inokkulation, Probenröhrchen, Kompressen, 1ml Spritzen, Kanülen, Nadel-Faden-Kombinationen; vorne im Bild (links beginnend): Mepilex® und Mepilex-Lite®, Tupfer, steriles Abdecktuch.

Die Vorgehensweise wiederholt sich wie beschrieben bei allen acht Wundlokalisationen.

Nach Abschluss dieses Vorganges wird auf alle acht – nunmehr mit Mepilex® verschlossenen – Wunden eine Lage Mepilex-Lite® aufgebracht.

Diese werden zur besseren Haftung zusätzlich mit Sprühkleber (Adhesive Spray®) fixiert. Dazu wird eine dünne Sprühschicht ringförmig um die Wunden aufgebracht, ohne dass dabei das Spray mit den Wundrändern in Kontakt kommt.

Das gesamte Operationsfeld wird danach mit Tegaderm Folie® bedeckt, welche mit Leukoplast® an den Rändern zusätzlich fixiert wird (Abbildung 9).



Abbildung 9: **Schwein postoperativ in Generalanästhesie und Seitenlage mit fertig applizierter Wundabdeckung**; die Wunden sind jeweils einzeln mit zwei passformgenauen Lagen Mepilex® bedeckt, darüber folgen eine einfache Lage Mepilex-Lite® und eine darauf liegende Schicht Tegaderm Folie®, welche an den Rändern mit Leukoplast®- Streifen zusätzlich fixiert wird.

Alle Tiere tragen für den gesamten Zeitraum des Versuchs rückenlange Westen aus Baumwollmischgewebe (Mikro Fleece-Hundedecke, Felix Bühler GmbH), welche den Tieren im Anschluss an das Aufbringen des Verbands während der Narkoseausleitung angelegt werden. Diese dienen dem Schutz vor grober Verschmutzung, Scheuern und Eigenmanipulation des Tieres am eigentlichen Verband.

Das operierte Tier wird nach Wiedereintreten der Spontanatmung auf einem Rollwagen zum Aufwachen unter tierärztlicher Beaufsichtigung zurück in seine Box verbracht, wo

zusätzlich bis zum völligen Wachzustand eine Wärmezufuhr durch Rotlicht erfolgt (Abbildung 10).



Abbildung 10: narkotisiertes, extubiertes Schwein postoperativ in der Aufwachphase mit (Hunde-)Weste unter Rotlicht; um zu verhindern, dass die kurzbeinigen Tiere über den vorderen Saum stolpern, wird dieser mehrfach umgeschlagen und mit Klebeband fixiert.

2.2.3. Ablauf des Verbandswechsels mit Wundkontrolle und Probenentnahme

Alle Wundauflagen werden im 3-/4-Tagesrhythmus unter sterilen Operationsbedingungen durch frische ersetzt.

Sedation, Transport, Blutentnahme und Narkoseeinleitung erfolgen dabei wie in 2.2.1 und 2.2.2. beschrieben.

Nach Abnahme der Weste und Entfernen des Verbands (bis auf die festgenähten Mepilex[®]) wird der gesamte Bereich im Umfeld der Wunden mit Octenisan[®] und Octenisept[®] gereinigt, um die intakte Haut von eventuell ausgetretenen Wundexsudatrückständen zu befreien und eine Keimverschleppung in die Wunden zu vermeiden.

Falls aufgrund stark nachgewachsener Beborstung notwendig, wird der Bereich um die Wunden mit einer Schermaschine vor der Reinigung nachgeschoren, die dabei anfallenden

Borsten werden mit einem Handstaubsauger zeitgleich dazu direkt an der jeweils im Scherprozess befindlichen Stelle abgesaugt.

Die Tiere werden im Anschluss in den Operationssaal verbracht und dort in Bauchlage auf dem Operationstisch fixiert. Der gesamte dorsale Bereich des Rückens, insbesondere der Bereich in unmittelbarer Wundumgebung wird vom Operateur mit sterilen, in Octenisept® getränkten Kompressen zweimalig für jeweils eine Minute desinfiziert. Dabei kommen die desinfizierenden Kompressen nicht mit den Wundrändern in Kontakt. Es folgt ein steriler Handschuhwechsel.

Die Operationsfläche wird mit sterilen Abdecktüchern unter Aussparung des eigentlichen OP-Feldes komplett bedeckt. Lediglich der Kopfbereich des Tieres bleibt zur Überprüfung der Narkosetiefe und zur Medikamentenapplikation unbedeckt (Abbildung 11).



Abbildung 11: mit sterilen Tüchern abgegrenztes Wundfeld bei Verbandswechsel vor steriler Probenentnahme und Wundkontrolle; die Wunden sind jeweils noch mit zwei Lagen Mepilex® bedeckt, welche mittels Prolene® Fäden befestigt sind; diese werden im Anschluss in der Verlaufsrichtung von cranial nach caudal einzeln nacheinander und unter Durchführung von Handschuh- und Instrumentenwechseln nach jeder Wunde bildlich und schriftlich dokumentiert, dabei erfolgen histologische und mikrobiologische Probenentnahmen.

Nachfolgend wird jede Wunde einzeln nacheinander durch Entfernen der Prolene® Fäden von der alten Doppelschicht Mepilex® befreit und im direkten Anschluss makroskopisch beurteilt.

Der Heilungsverlauf und der Zustand der jeweiligen Wunde werden fotografisch und schriftlich dokumentiert, wobei Granulationsfortschritt, Färbung und Konsistenz besondere Bedeutung zukommt.

Sodann wird die Wunde, wie in den Kapiteln 2.3.1. und 2.3.2. beschrieben, mikrobiologisch und histologisch beprobt (Anhang: Annex III und IV), mit Octenisept® desinfiziert, unter Einblendung eines sterilen Maßbandes fotografiert und wieder mit frischem Mepilex® in zwei passformgenauen Lagen bedeckt (Detailbeschreibung - Kapitel 2.2.2.).

Nach Beurteilung und Behandlung jeder Wunde erfolgt ein kompletter Wechsel des Instrumentariums. Dieses Vorgehen wird für alle acht Wunden auf dem Tier angewandt (Abbildung 12) und ist standardisiert bei jedem Verbandswechsel dasselbe. Die weitere Wundbedeckung, Nachsorge und Aufwachphase des Tieres erfolgt wie im Kapitel 2.2.2. für den initialen Eingriff beschrieben.



Abbildung 12: mit sterilen Abdecktüchern begrenztes Wundfeld bei Verbandswechsel nach Probenentnahme und Dokumentation; alle Wunden sind einzeln mit einer passformgenauen Doppellage Mepilex® bedeckt, welche jeweils mit Prolene® Einzelheften am Wundrand fixiert wurden; es folgt dann die weitere Abdeckung mit einer Lage Mepilex-Lite® und einer darüber liegenden Schicht Tegaderm Folie® (nicht im Bild).

2.3. Die Untersuchungsparameter

2.3.1. Wundgröße und -morphologie

Die makroskopischen Veränderungen der Wunden werden bei jedem Verbandswechsel (Tag 3, 7, 10, 14, 17, 21 und 24) post operationem schriftlich und fotografisch

dokumentiert. Die Wundzonen werden zunächst manuell ausgemessen und danach visuell auf Granulationsgewebe, Epithelneubildung, Detritus, Fibrinbeläge oder Eiterauflagerungen hin begutachtet.

In der Folge werden alle Bilder mit der Wunddokumentationssoftware JalomedWD[®], welche von der Jalomed GmbH entwickelt und speziell für dieses Projekt angepasst und nutzbar gemacht wurde, weiter ausgemessen und katalogisiert.

Das Programm errechnet anhand der Fotodokumentation für jede Wunde zu jedem Zeitpunkt die Wundfläche und Wundbeschaffenheit und ordnet den einzelnen Wunden zudem die dazugehörigen histologischen und mikrobiologischen Daten zu. Dies ermöglicht einen guten Überblick über den Heilungsverlauf jeder Wunde unter direkter Berücksichtigung der dazugehörigen Parameter.

Der Vermessung liegt eine Aufrasterung des Fotos in einzelne Pixel zugrunde. Über eine Maßstabsbemessung auf dem Foto wird die Fläche eines Pixels bestimmt. Die Anzahl der Pixel innerhalb eines gekennzeichneten Bereichs wird erhoben und die Gesamtfläche aus dem Produkt Pixelfläche und Anzahl errechnet. Die Genauigkeit ist abhängig von der Auflösung des Fotos. Bei einem Foto z.B. einer zum Studienzeitpunkt gebräuchlichen Digitalkamera der Auflösung 2.560 x 1.920 Pixel beträgt die Pixelzahl 4.915.200 (4,9 Megapixel). Abweichungen ergeben sich theoretisch aus der Größe eines Pixels und treten nur am Randbereich des gekennzeichneten Bereichs auf. Dieser Effekt hebt sich aber durch positive und negative Abweichung weitgehend auf.

2.3.2. Keimzahl im Wundgrund

Alle Wunden werden beim initialen Eingriff (Tag 0) und bei jedem Verbandswechsel (Tag 3, 7, 10, 14, 17, 21 und 24 post operationem) mikrobiologisch untersucht, um genauen Aufschluss über die Entwicklung der Keimbelastung im Zusammenhang mit dem Heilungsverlauf zu erhalten.

Hierzu wird in jeder Wunde die Keimzahl mittels unbeimpfter Antibiotikaplättchen (BD Sensidiscs[®]) erfasst.

Zur semiquantitativen Erfassung der Keimzahl sind pro Wunde 3 Testplättchen vorgesehen. Die Testplättchen haben einen Durchmesser von ca. 8 mm und befinden sich in 500 µl PBS-Lösung in Eppendorf-Reaktionsgefäßen mit Rundboden. Mittels steriler anatomischer Pinzetten werden die Plättchen aus dem Reaktionsgefäß genommen und im gleichmäßigen Abstand zueinander auf der Wunde verteilt (Abbildung 13).

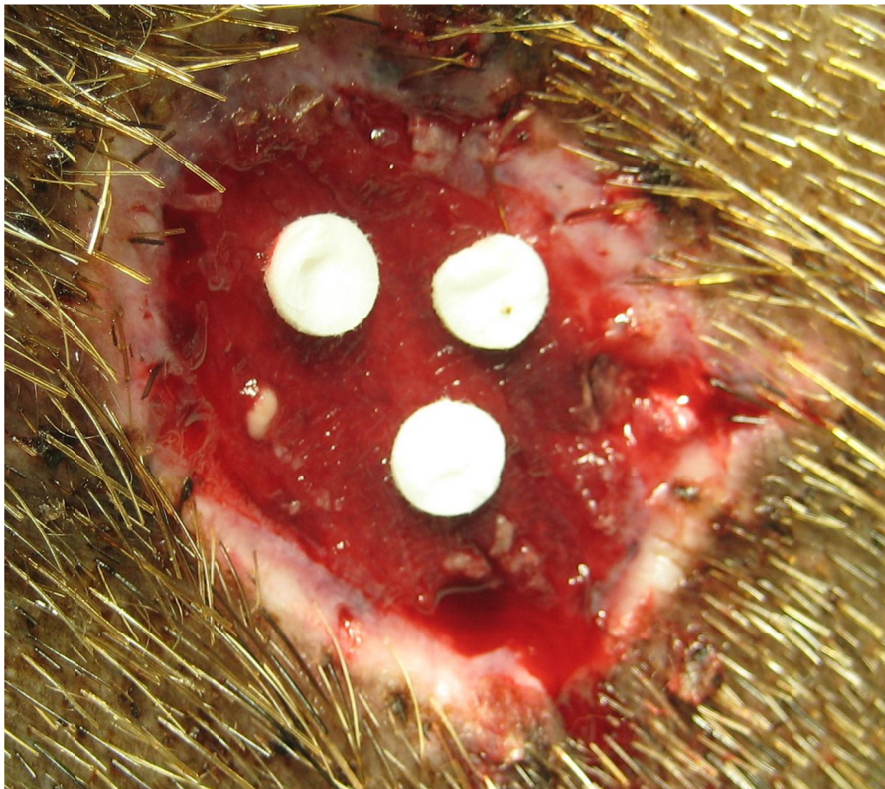


Abbildung 13: **BD Sensidiscs® zur Keimzahlbestimmung im Wundgrund**; zur semiquantitativen Erfassung der Keimzahl kommen pro Wunde und Probenentnahme drei Testplättchen zum Einsatz, diese sind jeweils 8 mm groß, werden mittels einer sterilen Pinzette einzeln aus der Pufferlösung genommen, für eine Kontaktzeit von 60 Sekunden auf den Wundgrund aufgebracht und im Anschluss sofort in die Pufferlösung zurückgelegt.

Nach 60 Sekunden Kontaktzeit werden diese in die PBS-Lösung zurückgelegt, wobei die Plättchen frei von Fibrin- und Eitergewebe sind. Die mikrobiologische Auswertung erfolgt unmittelbar nach Beendigung der Probenentnahmen. Hierzu wird der Inhalt der Eppendorf Reaktionsgefäße durch Vortexen gemischt, um eine möglichst homogene Verteilung der Bakterien in der PBS-Lösung sicherzustellen.

Es werden Rundboden-MicroWell Platten mit 8 x 12 Reaktionseinheiten (Beschriftung: A-H x 1-12) zur Aufstellung der Verdünnungsreihen benutzt. Dabei wird jede Reaktionseinheit

(Well) mit 90 µl befüllt. Dann werden 10 µl der Wundprobe aus dem Eppendorf-Reaktionsgefäß mittels Eppendorf-Pipette in die oberste Well gegeben.

Danach wird wie folgt vorgegangen:

- a) Sicherstellung der homogenen Verteilung der 10 µl in der sterilen 90 µl PBS Lösung;
- b) Wechsel des Pipetten-Aufsatzes;
- c) Entnahme von 10 µl aus den 100 µl des ersten Wells und Transfer in die darunter liegende sterile 90 µl PBS-Lösung.

Es folgt ein Wiederholen der Schritte a) bis c) in das jeweils darunter liegende Well, so dass sich in Well H eine 10^8 -fach verdünnte Bakterienlösung befindet.

Zur Anzucht und anschließender Auswertung werden Mac-Conkey-Nährböden mit den Verdünnungsreihen beimpft, die Agarplatten werden in zwei Hälften aufgeteilt und von außen beschriftet.

10 µl aus den Verdünnungen A bis D sowie E bis H werden mit Eppendorf-Pipetten nebeneinander auf die sich gegenüber liegenden Seiten aufgetragen und durch Schwenken der Platte zur Mittellinie hin verteilt. Es entstehen jeweils vier nebeneinander liegende Proben der unterschiedlich verdünnten Bakterienlösung, so dass eine Kolonisation möglich wird. Jede Probenentnahme aus dem Well erfordert dabei einen Wechsel des Pipetten-Aufsatzes.

Die Platten werden über Nacht bei 37°Celsius bebrütet. Eine Semiquantifizierung erfolgt nach 24 Stunden durch Auszählung der entstandenen Kolonien.

Der Nachweis von *E. coli* in der Wunde und die Bestimmung weiterer prominenter Keime erfolgt nach folgendem Schema: Der zu bestimmende Keim wird von der bebrüteten Platte isoliert und mittels 3-Ösen-Ausstrich auf eine neue Agarplatte aufgebracht. Es folgt eine erneute 24 Stunden dauernde Anzucht bei 37°C. Eine reine Kolonie wird mithilfe eines

Wattestäbchens (PEHA[®] Wattestäbchen steril) entnommen und in ein Reagenzglas mit 3 ml 0,45%iger NaCl-Lösung eingebracht. Die beimpfte Testbouillon wird dann mit 0,45%iger Kochsalzlösung solange verdünnt, bis die Suspension gemäß der McFarland-Skala zur Trübungsmessung von Bakteriensuspensionen einen Wert zwischen 0,57 und 0,62 erreicht.

Die weitere Auswertung erfolgt mit einem Vitek 2 XL 120[®], einem vollautomatisierten System zur Resistenzbestimmung und Identifizierung klinisch relevanter Keime.

Dieses ist in der Lage, gramnegative und grampositive Keime sowie Hefen zu identifizieren und Empfindlichkeitstests durchzuführen. Es beinhaltet einen sogenannten „Densichek“ zur Einstellung der Keimdichte gemäß McFarland und eine „Standard Smart Carrier Station“, einen Mini-Arbeitsplatzcomputer mit Barcode-Leseinheit zur Erfassung der Probeninformationen.

Die Ergebnisse liegen am darauffolgenden Tag vor.

2.3.3. *Histologische Veränderungen der Wundzone/Granulation*

Ab dem zweiten Verbandswechsel (Tag 7 nach der OP) werden aus den Randgebieten des Wundgrundes mittels einer 4 mm durchmessenden Biopsiestanze (Biopsy Punch[®]) ca. 7 mm lange zylinderförmige Gewebeproben entnommen (Abbildung 14).

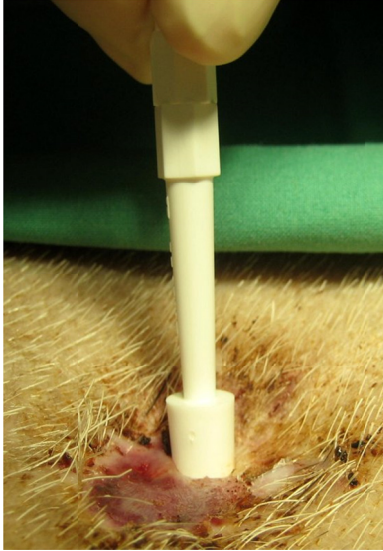


Abbildung 14: **Biopsieentnahme mittels Biopsiestanze:** ab dem zweiten Verbandswechsel am Tag 7 post operationem werden zum Zwecke der histologischen Untersuchung aus den Randgebieten des Wundgrundes jeder Wunde mittels einer 4 mm durchmessenden Biopsiestanze (Biopsy Punch®) ca. 7 mm lange zylinderförmige Gewebeprobe entnommen; dabei wird im Uhrzeigersinn vorgegangen, um keine Stelle an zwei aufeinanderfolgenden Verbandswechseln doppelt zu biopsieren, die Entnahmestellen werden schriftlich dokumentiert.

Man beginnt dabei am cranialen Punkt der Wunde, welcher zweckmäßig als „12-Uhr-Punkt“ bezeichnet wird. Bei jedem Verbandswechsel wird dann im Uhrzeigersinn voranschreitend am Wundrand entlang bei „3“, „6“ und „9 Uhr“ jeweils eine Biopsie entnommen; die Biopsieentnahmestellen werden jedes Mal dokumentiert. So wird gewährleistet, dass keine Stelle bei zwei aufeinanderfolgenden Verbandswechseln biopsiert wird und es so zu einer Verfälschung der Ergebnisse kommt (Anhang: Annex VI).

Die entnommenen Gewebeprobe werden zunächst in wässriger Formalinlösung mit 4% Formaldehydgehalt fixiert.

Bevor die Gewebe jedoch in das Paraffin gelegt werden können, müssen Schritte der Entwässerung durchgeführt werden. Hierfür wird zuerst das Fixierungsmittel in Wasser ausgewaschen. Danach erfolgt die eigentliche Entwässerung mit einer in der Konzentration aufsteigenden Alkoholreihe, nämlich Isopropanol 20%, 40%, 60%, 80%, 90% und schließlich 100%.

Es folgt eine Inkubation in dem Intermediärmedium Xylol und danach das Einbringen der Gewebe in das heiße Paraffin. Aus dem heißen Paraffin werden die Gewebe in Blöckchen eingegossen und sind nach dem Erkalten schneidefertig.

Hierzu werden die Paraffin-Blöckchen zuerst auf -20°C gekühlt. Nach mindestens zwei Stunden Lagerung bei -20°C werden dann mit dem Mikrotom $\sim 4\ \mu\text{m}$ dicke Schnitte angefertigt. Die erhaltenen Schnitte werden zuerst auf einem Kaltwasserbad (ca. 20°C) aufgefangen und dann auf einem Heißwasserbad (ca. 45°C) gestreckt, um glatt auf einen Objektträger aufgezogen werden zu können. Die aufgezogenen Schnitte werden über Nacht bei etwa 37°C bis 45°C getrocknet und können am nächsten Morgen für histologische Untersuchungen angefärbt werden.

Die HE-Färbung (Hämatoxylin-Eosin-Färbung) stellt dabei die Routine-Färbung der Wahl dar. Hämatoxylin färbt die Zellkerne und Zytoplasmaanteile, die reich an rauhem endoplasmatischem Retikulum sind, blauviolett. Eosin färbt andere Zytoplasmaanteile sowie faserige extrazelluläre Komponenten rot. Es erfolgt zuerst die Kernfärbung mit Hämalaun nach Mayer für 5 bis 10 Minuten. Danach wird das Präparat für 10 bis 15 Minuten unter fließendem Leitungswasser ($\text{pH} > 7$) „gebläut“, dabei kommt es zur Farbveränderung von Rot nach Blau und zur Stabilisierung der Farbe durch pH-Wert-Änderung.

Die Cytoplasmafärbung in 0,1%igem wässrigem Eosin folgt für 1 bis 5 Minuten direkt im Anschluss, dann wird das Präparat in Aqua dest. gespült. In einer aufsteigenden Ethanolreihe (70%, 96%, 100%) wird das Präparat dehydriert, anschließend wird es durch Schwenken in Xylol (30-60 Sekunden) vollends von Ethanol befreit und noch etwas aufgehellt. Im letzten Schritt folgt das Eindecken der Schnitte in xylollöslichem Eindeckmedium und die Bedeckung mit einem Deckglas. Man erhält so ein Dauerpräparat, welches zur weiteren Untersuchung genutzt werden kann.

In der Folge wird die Epitheldicke jeder Wunde zu jedem Zeitpunkt unter dem Mikroskop bei 1,5facher Vergrößerung unter Zuhilfenahme der AxioVisionLE[®] Software der Firma Zeiss an drei verschiedenen Stellen des Biopsieschnittes ausgemessen und fotografiert. Man erhält einen Mittelwert, der Aufschluss über die Epitheldicke im Zusammenhang mit dem jeweiligen Stadium der Wundheilung gibt. AxioVisionLE[®] ist eine Software, die der Betrachtung und einfachen Bearbeitung von Bildern im Zeiss Bildformat (ZVI) dient. Dieses

Bildformat wurde speziell für Aufgaben im Bereich der Lichtmikroskopie entwickelt und speichert alle wichtigen Aufnahmeeinstellungen und Messdaten, wie zum Beispiel Maßstab und Aufnahmeparameter zusammen mit dem Bild in einer kompakten Datei. Bilder werden am Mikroskop aufgenommen und dann mittels der Software analysiert und verarbeitet. So lassen sich Gewebe und Zellstrukturen präzise vermessen.

2.3.4. Blutwerte

Jeweils 2 Serum- und 2 EDTA-Blut Röhrchen (insgesamt 30 ml Blut) werden entnommen. Es wird sofort im Anschluss an die Entnahme aus einem EDTA-Röhrchen ein kleines Blutbild mittels eines Vet ABC[®] (Abbildung 15) erstellt, welches folgende Parameter erfasst: WBC, RBC, HGB, HCT, PLT, MCV, MCH, MCHC, RDW, MPV. Des Weiteren wird ein Differentialblutbild mit folgenden Parametern in prozentualen (%) und absoluten (#) Werten erstellt: Lymphozyten, Monozyten und Granulozyten.



Abbildung 15: Blutwertemessgerät Vet ABC[®]; aus EDTA Blut werden direkt im Anschluss an die Blutabnahme im Rahmen der Operations- und Anästhesievorbereitung ein kleines Blutbild und ein Differentialblutbild erstellt.

2.3.5. Der Wollina-Score

Während der Wundkontrollen mit Verbandswechsel werden die Wunden makroskopisch mittels eines Punktesystems nach dem Wollina-Score beurteilt.

Bewertungsgrundlage sind dabei die folgenden Faktoren:

- Granulation, wobei eine makroskopisch nicht sichtbare Granulation den Wert 0, Granulation über $\frac{1}{4}$ der Wundfläche den Punktwert 1, Granulation über $\frac{1}{2}$ der Wundfläche den Punktwert 2, Granulation über $\frac{2}{3}$ der Wundfläche den Punktwert 3 und komplette Granulation bis Hautniveau den Punktwert 4 erhält;
- Wundfärbung, wobei eine blasse Färbung mit dem Punktwert 0, eine pinke Färbung mit dem Punktwert 1 und eine hellrote Färbung mit dem Punktwert 2 beurteilt wird; und
- Wundkonsistenz, bei der zwischen schwammiger Konsistenz mit der Punktebewertung 0 und fester Konsistenz mit dem Wert 1 unterschieden wird.

Nach diesem Schema ergibt sich für jede Wunde zu jedem Zeitpunkt der Betrachtung ein Wert zwischen 0 und 7 Punkten, der eine statistisch auswertbare Aussage zum makroskopischen Zustand der Wunde liefert.

2.4. Wundauflagen

2.4.1. Vorgehensweise bei Wundabdeckung

Als standardisierte Wundbehandlung werden alle Wunden mit drei verschiedenen Verbandsmaterialien versorgt:

Als direkte Auflage auf den Wundgrund wird Mepilex[®] (Abbildung 16) in doppelter Lage verwendet, welches mit einigen Einzelheften an den Wundrändern befestigt wird (Kapitel 2.4.2.)

Darauf liegt eine Schicht Mepilex Lite[®] (Abbildung 17), welches die Wundränder großzügig überlappt (Kapitel 2.4.3.). Als oberste Schicht wird Tegaderm[®] Folie (Abbildung 18) von der Rolle aufgebracht, welche den gesamten Bereich aller Wunden einheitlich bedeckt und für den garantierten Sitz an den Rändern mit Leukoplast befestigt wird (Kapitel 2.4.4.).

Im hier beschriebenen Versuch wurden alle Wunden standardisiert über den gesamten Beobachtungszeitraum hinweg mit zwei übereinander liegenden Lagen Mepilex[®] passgenau bedeckt. Dies erforderte ein individuelles Zuschneiden jeder Mepilex[®]-Auflage unter sterilen Bedingungen und passend zu jeder einzelnen Wunde.

Nach Reinigung, Débridement und Desinfektion der Wunde wird von dem jeweiligen Zuschnitt die Schutzfolie entfernt und mit der haftenden Seite auf die Wunde aufgeklebt. Mit dem darüber liegenden Zuschnitt wird genauso verfahren.

Da die Mepilex[®] Zuschnitte in den Wunden aufgrund der körperlichen Bewegung der Tiere während der zwischen den Verbandswechseln liegenden mehrtägigen Intervalle gefährdet sind zu verrutschen, werden sie zusätzlich mit Einzelheften aus Prolene[®] an den Wundrändern befestigt.

2.4.2. Mepilex[®]

Bei Mepilex[®] handelt es sich um einen silikonbeschichteten Schaumverband, der das Exsudat effektiv absorbiert und so ein feuchtes Wundmilieu aufrechterhält (Abbildung 16). Er kann ohne Verbandswechsel für mehrere Tage auf der Wunde verbleiben. Beim Entfernen werden durch die sehr sanfte Silikon-Hafttechnologie keine Epidermiszellen mit abgerissen.



Abbildung 16: **Produktbild Mepilex[®] (Firma Mölnlycke Health Care)**; ein silikonbeschichteter Schaumverband, der das Exsudat effektiv absorbiert und so ein feuchtes Wundmilieu aufrechterhält; er kann ohne Verbandswechsel für mehrere Tage auf der Wunde verbleiben; er eignet sich vor allem für die Behandlung von exsudierenden und sekundär heilenden Wunden.

Mepilex[®] ist von der Firma Mölnlycke Health Care entwickelt worden und für die Behandlung von exsudierenden und sekundär heilenden Wunden vorgesehen. Mepilex[®] verändert den pH-Wert der Wunde nicht und verursacht keine Mazerationen an den Wundrändern oder im Wundgrund.

2.4.3. Mepilex lite[®]

Bei Mepilex lite[®] handelt es sich um einen dünnen, silikonbeschichteten Schaumstoffverband (Abbildung 17).



Abbildung 17: **Produktbild Mepilex lite[®] (Firma Mölnlycke Health Care)**; der Verband weist denselben strukturellen Aufbau wie der Mepilex[®] Verband auf, ist allerdings nur ca. 1/3 so dick; er ist für die Behandlung von nicht oder nur leicht exsudierenden Wunden geeignet oder dient als äußere Verbandsschicht bei austamponierten Wunden.

Er ist ebenfalls von der Firma Mölnlycke Health Care entwickelt worden und weist denselben strukturellen Aufbau wie der oben bereits beschriebene Mepilex[®] Verband auf, ist allerdings nur ca. 1/3 so dick. Mepilex lite[®] ist von Seiten des Herstellers für die Behandlung von nicht oder nur leicht exsudierenden Wunden geeignet oder dient als äußere Verbandsschicht bei austamponierten Wunden. Die Safetac-Beschichtung versiegelt dabei die Wundränder, verhindert den Austritt von Wundexsudat und die Entstehung von Mazerationen der umliegenden Haut. Bei den Verbandswechsels wurde das Mepilex lite[®] vorsichtig von der Seite her abgezogen.

2.4.4. Tegaderm Folie

Die von der Firma 3M Health Care entwickelte Tegaderm® Folie ist eine transparente, beschichtete Folie, welche auf einer Seite haftet (Abbildung 18).

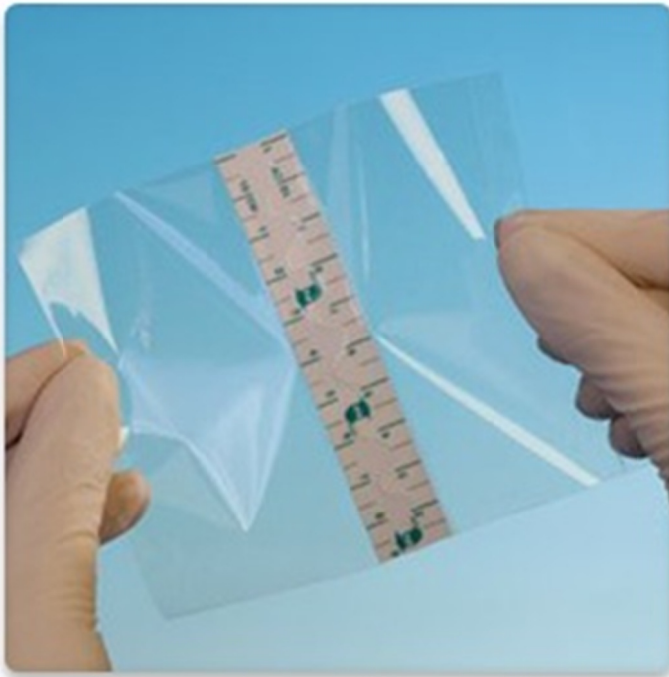


Abbildung 18: **Produktbild Tegaderm® (Firma 3M Healthcare)**; durchsichtige selbsthaftende Folie, die speziell zur Kontrolle von Wunden, Wundumgebung und Exsudat konzipiert wurde und zur Außenwelt hin als Barriere gegen äußere Kontamination dient; durch ihre dünne Struktur passt sie sich der Kontur der Haut flexibel an.

Die durchsichtige Folie wurde speziell dafür konzipiert, eine Kontrolle von Wunden, Wundumgebung und Exsudat während der Tragezeit des Verbands zu ermöglichen. Sie ist beschichtet, um die Reibung auf Oberflächen zu reduzieren und ist zudem wasserdampfdurchlässig. Darüber hinaus wirkt die Folie als wirkungsvolle Barriere gegen äußere Kontamination durch Flüssigkeiten, Bakterien und Viren. Sie ist so dünn, dass sie sich der Kontur der Haut flexibel anpasst.

3. Ergebnisse

Auf 7 Schweinen werden insgesamt 56 Vollhautwunden mit jeweils 4 cm Durchmesser, wie im Kapitel 2 (Material und Methoden) beschrieben, operativ gesetzt und der Verlauf für vier Wochen an insgesamt acht Terminen dokumentiert.

Die acht Wunden des Schweines 1 (S01-„Pilotschwein“) fließen nicht mit in die statistische Auswertung ein, da die davon gewonnen Daten erwartungsgemäß wegen ablaufsbedingter Komplikationen zu Beginn der Etablierung des Modells keine vollständig vergleichbaren Werte hervorbrachten, es dient lediglich zur Optimierung der Methodik.

Für die wissenschaftliche Untermauerung des hier zu etablierenden Modells stehen demnach 24 nicht-infizierte Wunden (S02-S04) und 24 infizierte Wunden (S05-S07) auf insgesamt 6 Schweinen zur Auswertung zur Verfügung.

Alle Wunden werden nach einem identischen Schema mit Mepilex[®] und Tegaderm[®] im Rahmen einer idealfeuchten Wundversorgung behandelt. Verbandswechsel erfolgen am 3./4., 7., 10./11., 14., 17./18. und 21. Tag. Am 24. Tag erfolgt die letzte Datengewinnung mit anschließender Euthanasie des jeweiligen Tieres.

Es werden somit Verbandswechsel in einem Rhythmus von durchschnittlich 3,5 Tagen vorgenommen.

In der Ergebnisbewertung werden folgende Parameter erhoben:

- Wundfläche (JalomedWD[®] Software);
- Gehalt von E. coli im Wundgrund (Labor);
- Granulationsgewebedicke (AxioVisionLE[®]);
- Leukozytenzahl im Blut (Vet ABC[®]);
- Wollina-Score (JalomedWD[®] Software).

3.1. Wundfläche

(Beispielhafte Darstellung anhand Schwein S03 - nicht-infiziert)

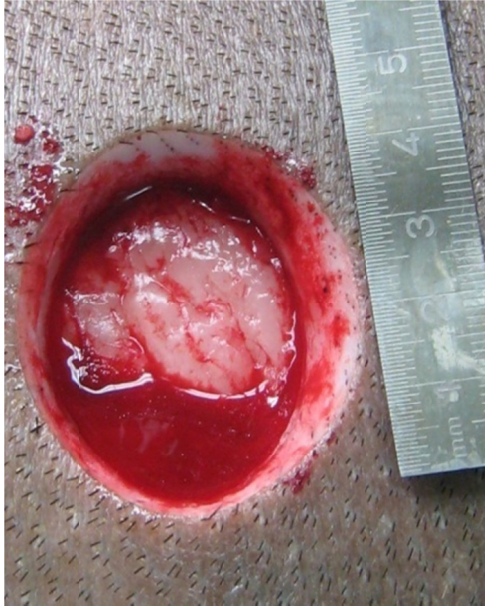


Abbildung 19: **Wunde Tag 0**; Tag der initialen Wundsetzung.

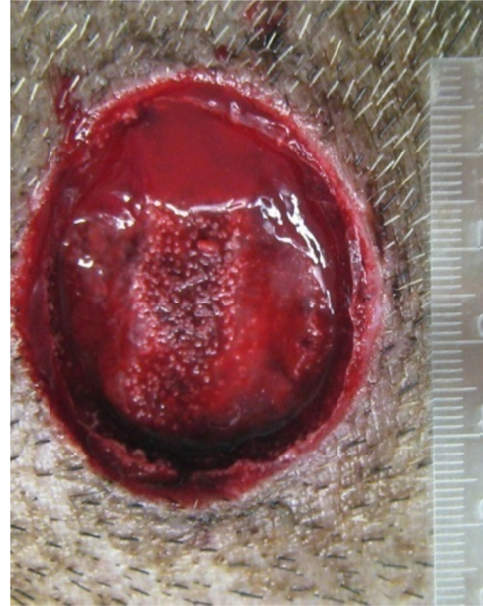


Abbildung 20: **Wunde VW 1 (Tag 3)**; erster Verbandswechsel und Probenentnahme.

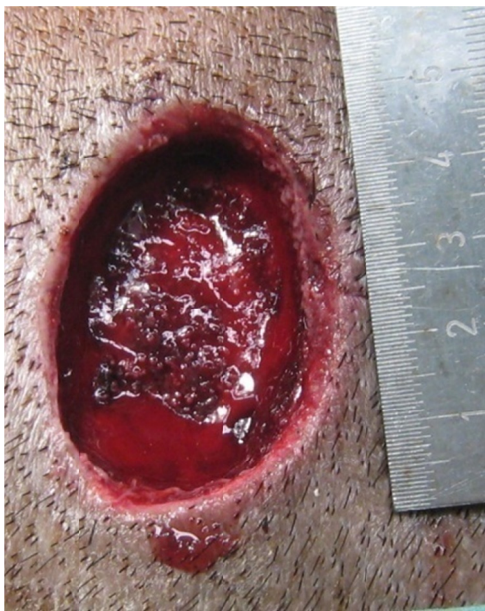


Abbildung 21: **Wunde VW 2 (Tag 7)**; zweiter Verbandswechsel und Probenentnahme; eine Reduktion der Wundfläche ist erkennbar.



Abbildung 22: **Wunde VW 3 (Tag 10)**; dritter Verbandswechsel und Probenentnahme; die flächenmäßig weiter verkleinerte Wunde weist eine geringere Tiefe auf.



Abbildung 23: **Wunde VW 4 (Tag 14)**; vierter Verbandswechsel und Probenentnahme; die Wunde hat Hautniveau erreicht, eine deutliche Reduktion der Wundfläche und eine beginnende Epithelisierung der Wundränder ist erkennbar.



Abbildung 24: **Wunde VW 5 (Tag 17)**; fünfter Verbandswechsel und Probenentnahme; die Wundfläche ist maßgeblich verringert, die Epithelisierung der Wundränder schreitet voran.



Abbildung 25: **Wunde VW 6 (Tag 21)**; sechster Verbandswechsel und Probenentnahme; die Wundfläche ist deutlich verringert, die Epithelisierung wird ausgeprägter.

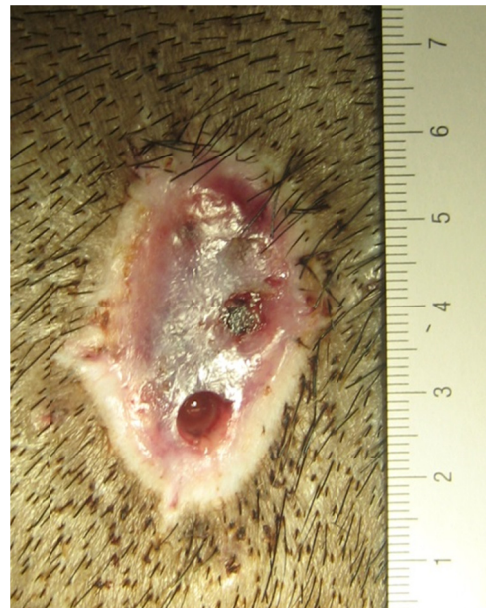
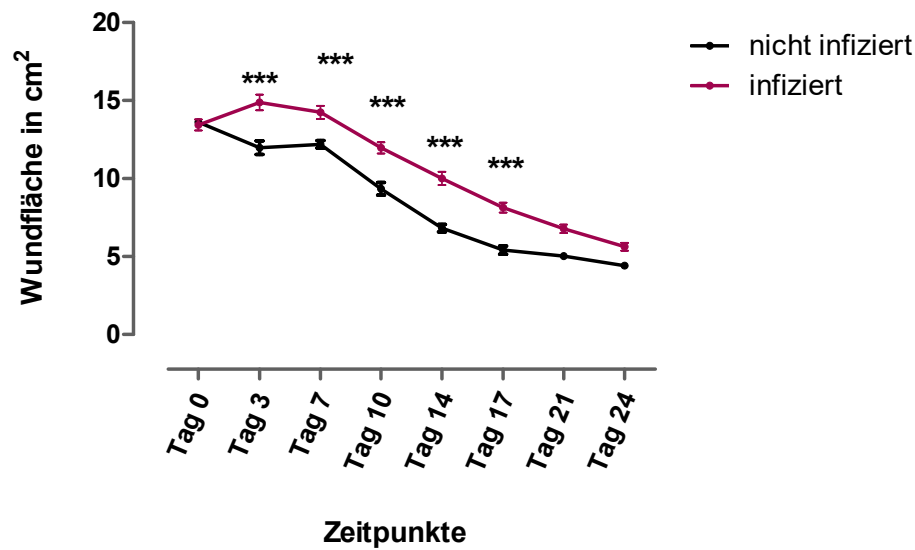


Abbildung 26: **Wunde Euthanasietag (Tag 24)**, siebter und letzter Tag der Probenentnahme; die Wundfläche ist durchschnittlich auf circa 25% der initialen Wundfläche verringert.



*** : $p < 0,001$

Abbildung 27: **Wundfläche: vergleichender Verlauf der infizierten und nicht-infizierten Wunden**; x-Achse: Zeitpunkte der Datengewinnung und Dokumentation von Tag 0 bis Tag 24, y-Achse: durchschnittliche Wundfläche der infizierten (rot) und nicht-infizierten Wunden (schwarz) in cm^2 ; der Signifikanzwert p liegt zu den mit Sternen gekennzeichneten Zeitpunkten bei unter 0,001, es kann nach Durchführung eines ungepaarten Zweistichproben t- Tests mit einem gewählten Konfidenzintervall von 95% ein signifikanter statistischer Unterschied festgestellt werden.

Anhand der Abbildung 27 ist die zeitlich unterschiedliche Reduktion der Wundflächen deutlich erkennbar. Während die Wundflächen am Tag des initialen Eingriffs naturgemäß alle so gut wie identisch groß sind, ist ein statistisch bedeutsamer Unterschied der Flächenverläufe zwischen nicht-infizierten und infizierten Wunden zwischen den Tagen 3 und 17 (Abbildung 20-24) zu sehen.

Während die initiale Wundfläche am Tag 0 (Abbildung 19) mit $\emptyset 13,62 \text{ cm}^2 \pm 2,068 \text{ cm}^2$ bei den nicht-infizierten und $\emptyset 13,44 \text{ cm}^2 \pm 1,86 \text{ cm}^2$ bei den infizierten Wunden nur einen vernachlässigbar kleines Delta aufweist, zeigt die Verlaufskurve schon am Tag des VW 1 (Tag 3) eine deutlich unterschiedliche Tendenz auf. Während die nicht-infizierten Wunden bereits eine signifikante Verringerung der Wundflächen auf durchschnittlich $11,38 \text{ cm}^2 \pm 2,76 \text{ cm}^2$ aufweisen, hat sich die durchschnittliche Wundfläche der infizierten auf $14,99 \text{ cm}^2 \pm 2,26 \text{ cm}^2$ erhöht. Zum Termin des VW 2 (Tag 7) sind die Flächen der nicht-infizierten Wunden mit durchschnittlich $12,1 \text{ cm}^2 \pm 1,44 \text{ cm}^2$ mehr oder weniger gleich groß geblieben, wohingegen die infizierten Wunden eine Verringerung ihrer Wundfläche auf $14,03 \text{ cm}^2 \pm 1,95 \text{ cm}^2$ aufweisen.

Der Verlauf der Wundflächenverkleinerung läuft ab dem VW 2 (Tag 7) parallel ab, die infizierten Wunden sind dabei durchschnittlich bis zur Messung am VW 5 (Tag 17) konstant größer. Am Ende der Untersuchungsphase (Tag 24) (Abbildung 26) beträgt die durchschnittliche Wundfläche der infizierten Wunden $5,63 \text{ cm}^2 \pm 1,14 \text{ cm}^2$ und die der nicht-infizierten $4,40 \text{ cm}^2 \pm 0,94 \text{ cm}^2$ (Annex VII).

Nach Durchführung eines ungepaarten Zweistichproben t-Tests mit einem gewählten Konfidenzintervall von 95% kann ein signifikanter statistischer Unterschied festgestellt werden.

3.2. Granulation

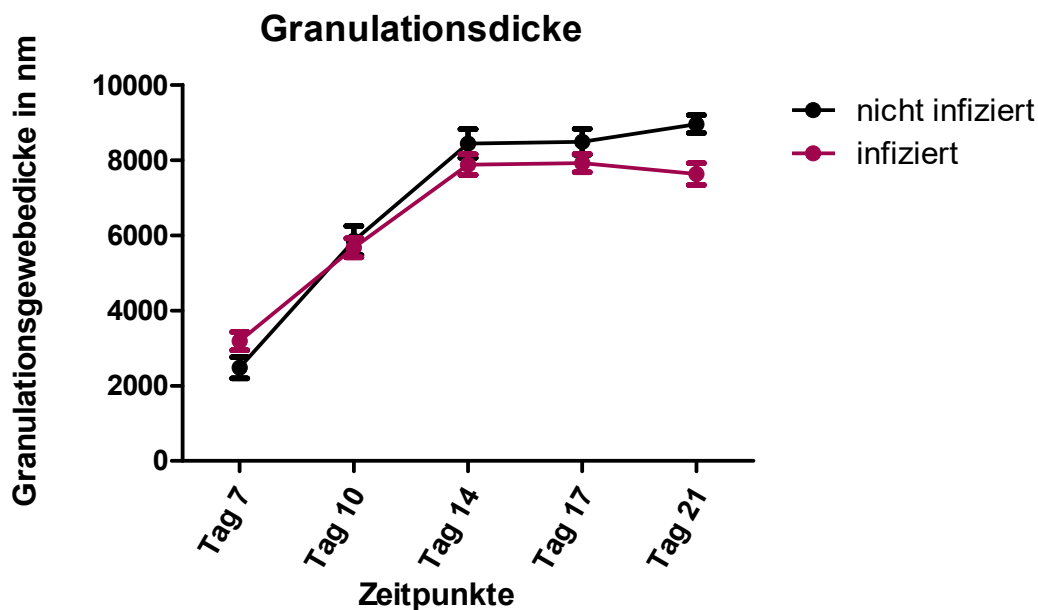


Abbildung 28: Granulationsdicke: vergleichender Verlauf der Granulation der infizierten und nicht-infizierten Wunden; x-Achse: Zeitpunkte der Datengewinnung und Dokumentation innerhalb des Zeitraums von Tag 7 bis Tag 21, y-Achse: durchschnittliche Granulationsgewebedicke der infizierten (rot) und nicht-infizierten Wunden (schwarz) in Nanometer (nm).

Zu Beginn der Messungen zum Zeitpunkt des VW 2 (Tag 7) ist die Dicke des Granulationsgewebes der nicht-infizierten Wunden mit durchschnittlich $2479 \text{ nm} \pm 682 \text{ nm}$ geringfügig geringer als die der infizierten Wunden mit $3188 \text{ nm} \pm 1580 \text{ nm}$. Bereits beim darauffolgenden VW 3 (Tag 10) dreht sich dieses Verhältnis um. Die nicht-infizierten Wunden sind mit einer mittleren Granulationsgewebedicke von durchschnittlich $5857 \text{ nm} \pm 1725 \text{ nm}$ nun geringfügig stärker granuliert als die infizierten mit $5668 \text{ nm} \pm 1219 \text{ nm}$.

Diese Tendenz bleibt erhalten, zum Zeitpunkt des VW 6 (Tag 21) sind die nicht-infizierten Wunden mit einer Dicke von durchschnittlich $8955 \text{ nm} \pm 1312 \text{ nm}$ stärker granuliert als die infizierten mit durchschnittlich $7632 \text{ nm} \pm 1435 \text{ nm}$ (Abbildung 28 und Annex IX).

3.3. Keimgehalt (E. coli)

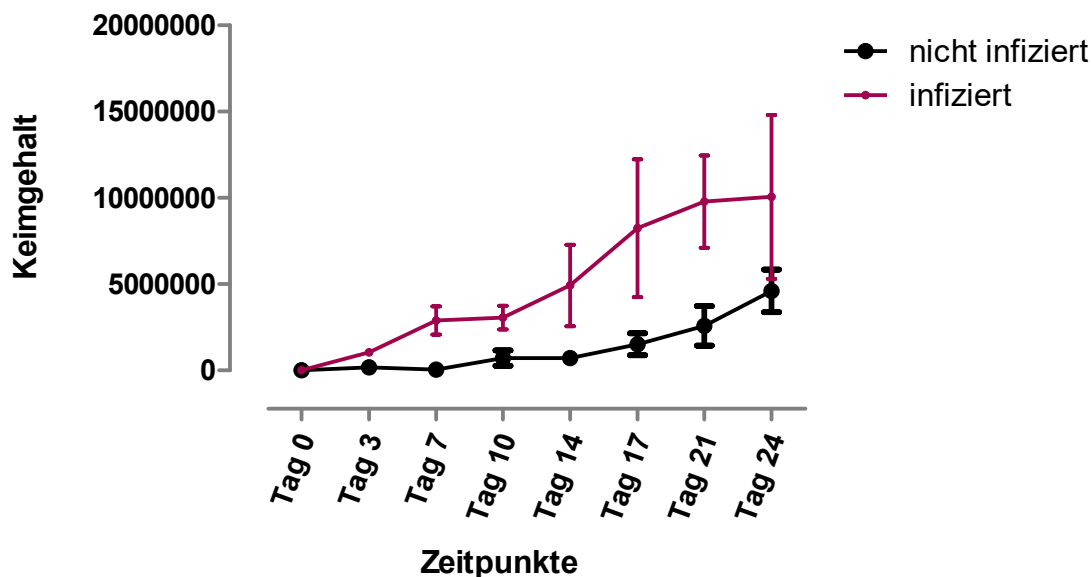


Abbildung 29: E. coli im Wundgrund: vergleichender Verlauf der infizierten und nicht-infizierten Wunden; x-Achse: Zeitpunkte der Datengewinnung und Dokumentation von Tag 0 bis Tag 24, y-Achse: durchschnittlicher Gehalt an E. coli im Wundgrund der infizierten (rot) und nicht-infizierten Wunden (schwarz) in absoluten Zahlen.

Der Gehalt an E. coli steigt bei den infizierten Wunden ab Tag 0 (Tag der Infektion) stetig an. Von durchschnittlich 1.04×10^6 am Tag des ersten VW (Tag 3) erhöht sich der Keimgehalt stetig bis zu einem Wert von durchschnittlich $1,0 \times 10^7$ am letzten Probenentnahmetag (Tag 24). Auch die nicht-infizierten Wunden weisen einen stetig zunehmenden Keimgehalt auf, dieser liegt mit $4,6 \times 10^6$ am letzten Probeentnahmetag jedoch erheblich niedriger (Abbildung 29 und Annex VIII).

3.4. Leukozyten

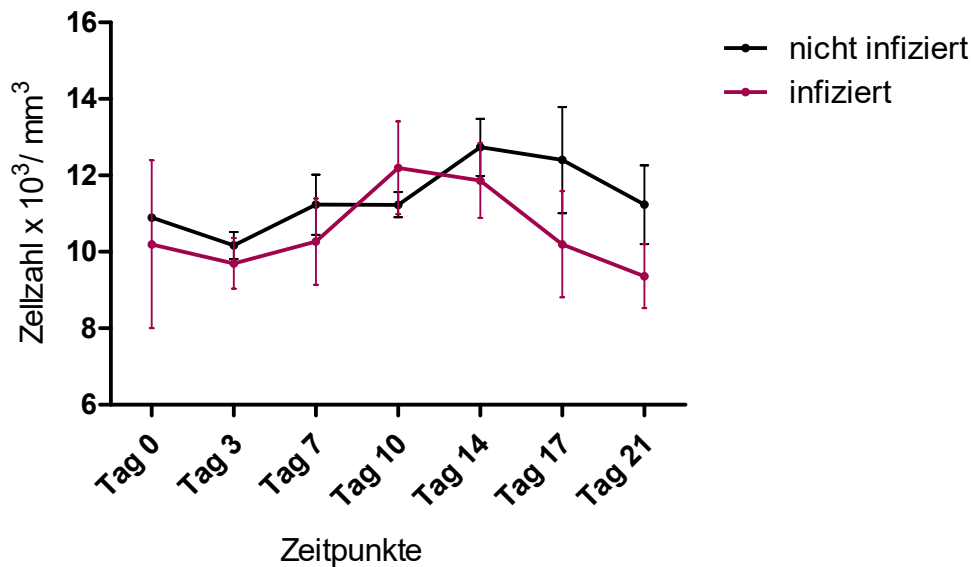


Abbildung 30: **Leukozytengehalt im Blut: vergleichender Verlauf der infizierten und nicht-infizierten Tiere**; x-Achse: Zeitpunkte der Datengewinnung und Dokumentation von Tag 0 bis Tag 21, y-Achse: durchschnittliche Zellzahl x 10³/mm³ im Blut der mit infizierten (rot) und nicht-infizierten Wunden (schwarz) versehenen Tiere.

Die Anzahl der Leukozyten nimmt bei allen Tieren einen ähnlichen Verlauf, lediglich am Tag 10 (VW 3) liegen die Tiere mit den infizierten Wunden mit $12,2 \times 10^3/\text{mm}^3$ etwas höher als die nicht-infizierten mit $11,23 \times 10^3/\text{mm}^3$.

Alle Tiere steigen in ihren Leukozytenzahlen zwischen Tag 3 und Tag 14 etwas an, um dann zu Tag 17 parallel wieder abzusinken. An Tag 21 liegen die infizierten Tiere mit $9,37 \times 10^3/\text{mm}^3$ etwas unter ihrem Anfangswert von $10,2 \times 10^3/\text{mm}^3$, während die nicht-infizierten Tiere mit $11,23 \times 10^3/\text{mm}^3$ etwas oberhalb von ihrem Anfangswert von $10,9 \times 10^3/\text{mm}^3$ liegen (Abbildung 30).

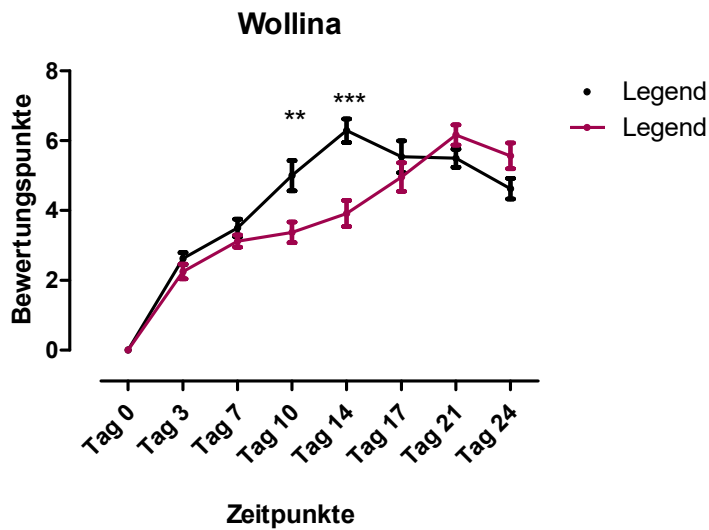
3.5. Wollina-Score

Abbildung 31: **Wollina-Score: vergleichender Verlauf der infizierten und nicht-infizierten Wunden**; x-Achse: Zeitpunkte der Datengewinnung und Dokumentation von Tag 0 bis Tag 24, y-Achse: Gesamtbewertungspunktzahl nach Wollina-Score der infizierten (rot) und nicht-infizierten Wunden (schwarz); zu den mit Sternen versehenen Zeitpunkten weisen die Ergebnisse nach Durchführung eines ungepaarten Zweistichproben t-Tests mit einem gewählten Konfidenzintervall von 95% einen signifikanten statistischen Unterschied auf (Tag 10: $p < 0,031$ und Tag 14: $p < 0,0001$).

Der Wollina-Score der nicht-infizierten Tiere steigt schon ab dem Tag der initialen Operation (Tag 0) signifikant schneller an als der der infizierten (Abbildung 31). Das deutlichste Delta ist an Tag 14 festzustellen, wo ein Score von 6,3 bei den nicht-infizierten Tiere einem Score von 3,9 bei den infizierten gegenübersteht. Zwischen Tag 17 und Tag 21 kommt es zu einem Wechsel der Verhältnisse, am Ende der Versuchsreihe steht ein Score von 5,56 bei den infizierten einem geringeren Score von 4,625 bei den nicht-infizierten gegenüber.

Nach Durchführung eines ungepaarten Zweistichproben t-Tests mit einem gewählten Konfidenzintervall von 95% kann ein signifikanter statistischer Unterschied an Tag 10 ($p < 0,031$) und Tag 14 ($p < 0,0001$) festgestellt werden.

4. Diskussion

4.1. Grundidee

Es wird in der Literatur in zunehmendem Maße über Wundheilungsstudien berichtet, die sich unter Zuhilfenahme von in-vivo Wundmodellen speziell mit Wundinfektion beschäftigen. Bucknall erforscht in seiner Studie 1980 den Effekt lokaler Wundinfektion bei Ratten, welche mit *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli* und *Proteus mirabilis* infiziert wurden. Svedman und Mitarbeiter (1989) vergleichen das Entzündungsverhalten von experimentell mit *Staphylococcus aureus* und *Staphylococcus hyicus* infizierten porcinen Vollhautwunden. Wright und Kollegen (2002) inokkulieren porcine Vollhautwunden mit *Pseudomonas aeruginosa*, *Fusobacterium sp.* und koagulase-negativen Staphylokokken, um die Effekte nanokristallinen Silbers als Wundtherapeutikum zu untersuchen. Singer und McClain (2003) erforschen die epidermalen Reaktionen und das Vernarbungsverhalten von persistierend mit *Staphylococcus aureus* infizierten porcinen Brandwunden unter dem Einfluss verschiedener Wundtherapeutika. Spielmann (2009) untersucht die Wirksamkeit der adenoviralen Gentherapie mit humanem Beta Defensin 3 an mit *Staphylococcus aureus* infizierten Hautwunden auf diabetischen Schweinen und kann erstmals ein valides präklinisches Großtiermodell für die infizierte diabetische Wundheilung etablieren.

Die Grundidee des in der hier vorgestellten Studie zu etablierenden Modells ist, eine gezielte Heilungsverzögerung durch experimentelle Infektion von Vollhautwunden zu verursachen. Insgesamt 48 Wunden, von denen eine Hälfte als „normal-heilend“ und die andere Hälfte als „manipuliert-heilend“ bezeichnet werden kann, werden dokumentiert.

Es wird in der Literatur bis dato kein porcines Exzisionsmodell mit folgenden Kenndaten erwähnt: Insgesamt 48 großflächige Vollhautwunden (\emptyset 4 cm) werden über einen Zeitraum von 24 Tagen in zwei gleich großen Gruppen unter identischen Wundauflagen einander vergleichend gegenübergestellt. Bei der einen Gruppe handelt es sich um 24 nativ abheilende Wunden, die andere Gruppe besteht aus derselben Anzahl gezielt infizierter, also manipuliert-abheilender Wunden. Die gewählten Parameter (Veränderung der

Wundflächen, Dicke des Granulationsgewebes, Keimzahl an der Wundoberfläche, Wollina-Score, Entzündungsparameter im weißen Blutbild) werden in der vorgestellten Form bei allen Wunden auf dieselbe Weise dokumentiert. Obschon die Anzahl der neu entwickelten Modelle im Bereich porciner in-vivo Wundmodelle in der Humanmedizin ständig wächst, handelt es sich in diesem Fall um ein bislang so nicht durchgeführtes Konzept. Die Vorteile des hier zu etablierenden Modells liegen unter anderem in der vergleichsweise großen Wundfläche (4cm) und –tiefe (1cm). Durch die vollständige Entnahme des die Epidermis und Dermis umfassenden Gewebekonus entsteht eine tiefe, bis auf das subkutane Fettgewebe reichende Läsion, die garantiert sekundär abheilt. Ein Primärverschluss ist bei einer derartigen Wunddimension ausgeschlossen, da nach Keller (2010) dies nur bei gut durchbluteten, keimarmen Wunden mit glatten, sauberen und nahezu lückenlos aneinanderliegenden Wundrändern der Fall sein kann. Die Phasen der sekundären Wundheilung entsprechen denen der primären, die Entzündungsreaktion ist jedoch stärker, es bildet sich mehr Granulationsgewebe und es kann mehrere Wochen dauern, bis der Defekt von unten vollständig granuliert ist; sekundäre, also verzögerte Wundheilung findet bei Wunden mit klaffenden Wundrändern oder mit hohem Risiko einer bakteriellen Besiedlung statt (Keller 2010). Da es sich im Ansatz der vorgestellten Studie um die Etablierung eines verzögerten Wundmodells handelt, ist die Schaffung garantiert sekundär abheilender, nicht-infizierter Wunden unverzichtbar.

Durch die Etablierung eines festen Behandlungsstandards und dessen identischer Anwendung bei zwei gleich großen Vergleichsgruppen von Wunden, deren einziger Unterschied darin besteht, dass die eine Gruppe mit einem fakultativ pathogenen Keim in standardisierter Weise und identischer Keimkonzentration gezielt infiziert wird, während die andere nicht-manipuliert abheilt, ergibt sich eine sehr gute Vergleichbarkeit der verschiedenen Heilungsverläufe. Es können so direkte Rückschlüsse auf den Einfluss der Wundinfektion auf den Heilungsfortschritt gezogen werden.

Der im vorgestellten Ansatz gewählte Keim ist ein ubiquitär vorkommender, in der Nasenschleimhaut der Tiere residenter fakultativ pathogener Wundkeim, die Gefahr einer potentiellen Durchseuchung des gesamten Versuchstierbestandes besteht also nicht.

Dadurch ist das Modell in der Durchführung unproblematischer und weniger aufwändig als bei der Verwendung eines pathogeneren Fremdkeims. Seine Reproduzierbarkeit wird verbessert. In der Literatur liegt zum Zeitpunkt dieser Studie noch kein porcines Vollhautwundmodell zur Wundheilung infizierter Wunden vor, bei dem ein E. coli Stamm zum Einsatz kommt.

Die Verwendung gesunder Versuchstiere ohne systemische Grunderkrankungen wie zum Beispiel Diabetes erleichtert die Auswertung und verbessert die Vergleichbarkeit der gewonnenen Daten. Bei einer eventuell auftretenden Heilungsverzögerung müssen nicht die möglichen zusätzlichen Auswirkungen der Grunderkrankung auf die Wundheilung mit in Betracht gezogen werden, die bei den verschiedenen Tieren individuell unterschiedlich sein können. Alle in der vorgestellten Studie zum Einsatz gekommenen Tiere sind zu jedem Zeitpunkt frei von einer systemischen Infektion (Kapitel 4.5.5) und gelten als gesund. Daraus ergibt sich ein weiterer Vorteil des vorgestellten Ansatzes: Die Tiere müssen lediglich analgetisch abgedeckt werden, die unter Umständen aufwändige Verabreichung weiterer Medikamente entfällt.

Die Lokalisation der Wunden im dorsalen Rumpfbereich, in geringer Nähe zur Wirbelsäule und bei bilateraler Symmetrie bietet die Möglichkeit der relativ einfachen Wundversorgung und Abdeckung. Zudem wird eine Eigenmanipulation der Tiere an den Wunden so verhindert, die beschriebene Abdeckung des Verbands mittels modifizierter Hundewesten (Kapitel 2.2.2) stellt eine unkomplizierte und sichere Methode dar, die Wunden vor Außeneinflüssen wie Knabbern, Scheuern oder eindringendem grobem Schmutz zu schützen. Eine Fixierung der Tiere ist so nicht notwendig, die Westen erlauben natürliche Bewegung im Versuchstall und sind jederzeit ohne großen Aufwand auszutauschen und zu reinigen. Bei Einzelhaltung in Sichtkontakt zu Artgenossen und unter Analgesie wird so eine tiergerechte stressarme Haltung der im Versuch stehenden Tiere gewährleistet, was den Umgang mit den Versuchstieren maßgeblich vereinfacht.

4.2. E. coli als Wundkeim

Bei dem in dieser Studie experimentell verwendeten Wundkeim handelt es sich um ein gramnegatives, fakultativ anaerobes Stäbchen aus der Familie der Enterobacteriaceae und der Gattung Escherichia, einem Isolat der Spezies Escherichia coli.

Dieser Keim kommt natürlicherweise im Magen-Darmtrakt von Mensch und Tier vor und gilt als häufigster Erreger bakterieller Infektionen beim Menschen, kann also als fakultativ pathogen bezeichnet werden. Die wichtigsten Koliinfektionen, neben intestinalen Infektionen, sind nach Kayser und Böttger (2010) Harnwegsinfektionen, Cholezystitis, Appendizitis, Peritonitis und postoperative Wundinfektionen. Für eine Statistikerhebung werden von Ebrecht und Mitarbeitern (2005) über einen Zeitraum von einem Jahr alle vom Hund stammenden Wundtupfer bakteriologisch ausgewertet, die mit dem Verdacht auf eine postoperative Wundinfektion in einem Labor eingegangen waren. Insgesamt handelt es sich um 110 Wundtupfer, die bakteriologisch sowohl auf aerobe als auch auf anaerobe Keime untersucht werden. Aus den 50 Tupfern mit positivem bakteriologischem Wachstum werden hauptsächlich Staphylococcus intermedius (26,0%), Escherichia coli (19,0%) und Pseudomonas spp. (15,7%) isoliert. Der Anteil an Escherichia coli mit haemolysierenden Eigenschaften und Acinetobacter spp. macht jeweils 3,4% aus. Häufig werden auch Mischinfektionen der oben aufgeführten Bakterien angetroffen (Ebrecht et al. 2005).

E. coli verursacht pyogene Wundinfektionen. Diese sind morphologisch durch eine lokalisierte abzedierende Infektion mit eitriger Gewebeeinschmelzung, Fluktuation, einem Granulationsgewebewall oder einer Abzessmembran als Abgrenzung gegen das gesunde Gewebe gekennzeichnet (Dietz und Thein 2004). Diese morphologischen Eigenschaften verbessern möglicherweise die makroskopische Beurteilbarkeit der infizierten Wunden im vorgestellten Versuch.

4.3. Verbandsmaterialien

Die verwendeten Verbandsmaterialien und ihre konkrete Anwendung wurden bereits im Kapitel 2 (Material und Methoden) beschrieben. Die charakteristischen Eigenschaften der

ausgewählten Produkte im Verhältnis zu einigen anderen Produkten bzw. deren Grundsubstanzen sollen hier diskutiert werden.

Ziel bei der Verwendung solcher Materialien ist die Erhaltung eines idealfeuchten Wundmilieus der Wunden ohne Mazeration der Wundränder.

Im beschriebenen Versuch kommen zwei aufeinanderliegende Polyurethanschäume (Mepilex[®] und Mepilex lite[®]) und eine darüber liegende semipermeable Folie (Tegaderm[®]) zur Anwendung.

Bei Mepilex[®] handelt es sich um einen silikonbeschichteten Schaumverband aus offenporigem, feingeschäumtem Polyurethan, der das Exsudat effektiv absorbiert und so ein feuchtes Wundmilieu aufrechterhält. Er kann ohne Verbandswechsel für mehrere Tage auf der Wunde verbleiben. Beim Entfernen werden durch die sehr sanfte Silikon-Hafttechnologie keine Epidermiszellen mit abgerissen. Ähnlich Schwämmen saugen die porenreichen Schäume mittels Kapillarkraft große Mengen von Flüssigkeit auf, durch Feinporigkeit und glatte Oberflächen verkleben die Verbandsstoffe nicht mit dem Wundgrund. Die Verbände selbst geben keine Feuchtigkeit ab, daher sind mäßig bis stark sezernierende Wunden Indikationen für ihren Einsatz.

In der Literatur wird von der Verwendung von PU-Schäumen auf infizierten Wunden abgeraten, wie Piatek et al. (2012c) feststellen, da okklusive Wundauflagen die Bildung feuchter Kammern mit einem hohen Infektionsrisiko begünstigen. Obwohl semiokklusive Verbände durch ihre definierte Saugkapazität einen Sekretstau verhindern können und den Gasaustausch in gewissem Umfang erlauben und dieser sich mit zunehmender Sättigung der Materialkomponenten durch das aufgenommene Sekret noch verstärkt, wird die Anwendung interaktiver Wundauflagen auf infizierten Wunden nur unter Vorbehalt der strengen Beachtung entsprechender Produkthinweise als funktional anerkannt. Im vorliegenden Fall jedoch spielte diese Erkenntnis keine wichtige Rolle, da es sich um eine vergleichende Studie handelt. Die absolute Qualität des Heilungsfortschritts ist im beschriebenen Fall zweitrangig, es soll lediglich die relative Heilungstendenz von infizierten und nicht-infizierten Wunden im Vergleich unter denselben standardisierten Bedingungen

betrachtet und beurteilt werden. Im Rahmen der vorgestellten Studie wird als allgemeingültiger Standard eine definierte, zeitgemäße Produktkombination verwandt, die dem derzeitigen „gold-standard“, der idealfeuchten Wundheilung, entspricht.

Als andere Produktgruppe aus der Rubrik der semiokklusiven, nicht-adhäsiven Wundauflagen, welche sich zum Einsatz bei stark exsudierenden Wunden eignet, wären aus Braunalgen hergestellte Alginat (z.B. Calcium/Calcium-Natrium-Alginat) als Absorbantien und zur Auffüllung von Totraum denkbar. Diese bilden bei Kontakt mit Wundexsudat ein hämostatisch wirkendes Gel, welches epithelisierungs- und granulationsfördernde Eigenschaften besitzt (Hedlund 2009). Bakterien und Zelltrümmer werden darin fest eingeschlossen und eine Tamponade der Wunde erreicht, der hohe Calciumgehalt unterstützt die Blutgerinnung und fördert die Zellproliferation (Braun 2010). Im beschriebenen Fall soll jedoch lediglich die Aufrechterhaltung eines idealfeuchten Milieus sichergestellt werden, eine aktive Förderung der Heilung durch die Wundaufgabe wird in dieser Versuchsanordnung nicht angestrebt.

Ebenfalls während der Entzündungsphase häufig zum Einsatz kommen in der heutigen Zeit sogenannte Hydrogele, dreidimensionale hydrophile Polymere mit einem hohen Anteil an gebundenem Wasser (60-95%), welche aus Gelatine oder Polysacchariden in Verbindung mit einem Polymer bestehen (Stashak et al. 2004). Da diese jedoch mit Einsetzen der Granulation abgesetzt werden sollen, weil sie die Bildung überschießender Granulation fördern können (Hedlund 2009), erscheint ihre Verwendung im Rahmen dieser Studie nicht sinnvoll.

Semipermeable, transparente Folienverbände schützen das Wundgebiet vor dem Eindringen von Nässe und Bakterien, erlauben jedoch gleichzeitig einen ausreichenden Gas- und Wasserdampfaustausch, wodurch ein Austrocknen der Wunde verhindert werden kann (Braun 2010).

Die wesentliche Funktion von Folienverbänden liegt in der Aufrechterhaltung eines feuchten Milieus. Bei Defektwunden wird durch die Abdeckung mit Wundfolien eine Zurückhaltung des Wundexsudats in der Wunde erreicht. Dieses liefert die

Nährstoffversorgung für die an der Wundheilung beteiligten Zellen. Obwohl das Haupteinsatzgebiet semipermeabler Folien nicht- oder nur schwach sezernierende Wunden sind, werden sie zunehmend als sekundäre Wundauflagen verwendet (Piatek et al. 2012c), da sie aufgrund ihrer selbstklebenden Eigenschaften auch zur Fixierung anderer Wundauflagen geeignet sind.

Das im beschriebenen Fall eingesetzte Tegaderm[®], eine semipermeable Folie, besteht aus einer Polyurethanfolie, die mit einem hypoallergenen Polyacrylatkleber beschichtet ist. Das Material ist wasserdampf- und sauerstoffdurchlässig, wobei die Wasserdampfdurchlässigkeit so gesteuert ist, dass zum einen die Wunde nicht austrocknet, zum anderen aber die Haut des Wundrandes vor Mazeration geschützt ist und der Verband vor einer vorzeitigen Ablösung durch Transpirationsstaunässe bewahrt bleibt.

4.4. Erläuterungen zur Optimierung der Methodik

Das erste Schwein S01, welches im Rahmen der Experimente beprobt wird, geht mit den dabei gewonnenen Daten nicht in die wissenschaftliche Auswertung ein, sondern dient lediglich als „Pilotschwein“, anhand dessen Abläufe entwickelt und standardisiert werden.

4.4.1. Sedation und Narkosevorbereitung

Vor Beginn der Versuchsreihe ist geplant, die Verbandswechsel in Sedation vorzunehmen, um den Tieren mehrere Vollnarkosen zu ersparen. Diese Methode erweist sich als nicht durchführbar, da die Sedation allein kein störungsfreies Arbeiten unter sterilen Bedingungen zulässt. Es wird zur Optimierung der Methodik bei jeder Wundkontrolle mit Verbandswechsel standardmäßig eine Vollnarkose durchgeführt, deren genauer Ablauf dem Kapitel 2 entnommen werden kann.

4.4.2. Vorbereitung des Operationsfeldes

Die Schaffung einer sterilen Hautwunde ist medizinisch nicht möglich, da jede offene Wunde als bakteriell besiedelt oder kontaminiert gilt (Grey et al. 2008). Um sich der Keimfreiheit weitestmöglich anzunähern, soll in der Ursprungsplanung der rassetypisch behaarte Rücken des Schweins S01 zuerst mit einer Schermaschine geschoren und in der

Folge mit handelsüblichen Einmalrasierern nass rasiert werden. Dieser Prozess stellt sich als ausgesprochen zeitaufwendig und hinsichtlich der Sterilität als kontraindiziert heraus, da die Depilation bis kurz über die oberste Hautschicht zahlreiche kleine Läsionen in dieser verursacht und somit aufgrund der in der Haut ubiquitär vorhandenen Erreger zu einer erhöhten Erregerbelastung des Operationsfeldes führen könnte. Übereinstimmend damit sei angemerkt, dass Harbarth (2006) in seinen Untersuchungen feststellen kann, dass laut mehrerer humanmedizinischer Studien die Wundinfektionsrate bei Entfernung der Haare mit einem Einmalrasierer von Hand gegenüber der elektrischen Rasur erhöht ist und elektronenmikroskopische Aufnahmen nach der Rasur schwerwiegende traumatische Hautveränderungen aufzeigen, die den Austritt der residenten Flora beziehungsweise das Wachstum von exogenen Erregern begünstigen.

In Kenntnis dieser Tatsache kommt man in der beschriebenen Studie zu dem Schluss, dass eine gründliche Schur mit anschließender Reinigung und mehrmaliger Desinfektion des Operationsfeldes über jeweils zwei Minuten die bestmögliche, konstant zu haltende Keimarmut gewährleisten würde. Die Peripherie der Wunden wird bei den Verbandswechseln nach Bedarf sorgfältig erneut ausgeschoren, gereinigt und desinfiziert.

4.4.3. Anlegen der Schutzwesten

Bei den für die Wunden verwendeten Schutzwesten handelt es sich um Hundedecken der Marke Felix Bühler. Da diese generell auf Hundekörper zugeschnitten sind, werden einige Modifikationen nötig, um sie an die Schweine anzupassen:

Um zu verhindern, dass die sehr kurzbeinigen Tiere vorne über den Saum stolpern, wird dieser mehrfach umgeschlagen und mit Klebeband fixiert. Die Kreuzgurte am Bauch werden nach dem Verschließen ebenfalls mit Klebeband fixiert. An den Westen werden außerdem hinten an der Innenseite schräg über Eck breite Gummibänder eingenäht, welche die Weste am Bein halten und so rutschfester gestalten. Da die Westen aus leichtem Fleecematerial, atmungsaktiv und feuchtigkeitsausleitend sind, scheint der Störfaktor bei den Tieren minimal zu sein. Die Westen sind bei 90° Celsius waschbar und daher als hygienisch unbedenklich einzustufen. Keines der Tiere zieht sich eine solche

Weste im Laufe der Versuche aus, was die Wundruhe und die Haltbarkeit der Wundauflagen maßgeblich verbessert.

4.5. Kritische Betrachtung der ermittelten Daten

4.5.1. *Reduktion der Wundfläche*

Es kann ein signifikant unterschiedlicher Verlauf bezüglich der Wundflächenveränderung bei den nicht-infizierten Wunden im Vergleich zu den infizierten besonders in der Anfangsphase (Tag 0-3-7) beobachtet werden. Bei annähernd gleicher Ausgangssituation am Tag 0 (\emptyset 13,61 cm² nicht-infiziert vs. \emptyset 13,44 cm² infiziert) kommt es zu einer deutlich unterschiedlichen Entwicklung der Wundfläche.

Eine deutliche Vergrößerung bei den infizierten steht zunächst einer deutlichen Verkleinerung bei den nicht-infizierten Wunden zum Zeitpunkt des VW 1 gegenüber. Erst ab dem VW 2 am Tag 7 beginnen sich die Verläufe allmählich parallel zueinander zu entwickeln, wobei die Wundfläche der infizierten Wunden jedoch im Durchschnitt über die gesamte Zeit in jedem Einzelvergleich mit einem Plus von rund 2 cm² stets den größeren Wert aufweist.

Möglicherweise könnte der erhöhte chemotaktische Reiz der infizierten im Vergleich zu den nicht-infizierten Wunden in diesem Versuch bei den infizierten Wunden zu einer Verlängerung der ersten beiden Wundheilungsphasen (exsudativ/resorptiv) in dem Zeitraum zwischen Tag 0 und Tag 7 geführt haben. Nach Eindringen der Erreger in die frische Wunde kommt es zu einer hochgradigen Entzündungsreaktion, die die Wundheilung beeinflusst. Die Sekretion von Enzymen durch Entzündungszellen zerstört die Wundmatrix, verlängert die Entzündungsphase und verzögert den Übergang in die fibroblastische Phase der Gewebereparatur (Kramer 2004). Die Vergrößerung der infizierten Wunden unmittelbar im Anschluss an die Infektion ist also offenbar der Tatsache geschuldet, dass die im Wundheilungsablauf zuerst eintretende exsudative Phase und die daraus nach einigen Stunden sich entwickelnde resorptive Phase im Falle einer Wundinfektion verstärkt stattfinden.

In der exsudativen Phase des Wundheilungsverlaufs kommt es zur Bildung von Fibrin und zum Einstrom von Thrombozyten, die zusammen ein sichtbares Gerinnsel bilden. Letztere sezernieren Wachstumsfaktoren, welche Makrophagen und Fibroblasten aktivieren. Die Steuerung der weiteren biologischen Vorgänge erfolgt über die bereits freigesetzten Mediatoren beziehungsweise Zytokine, die einen Einstrom zellulärer Strukturen bewirken. In der daraus entstehenden resorptiven Phase entstehen Fibrinabbauprodukte, die zu einer Aktivierung der Chemotaxis führen. Dabei kommt es schon nach 24 bis 48 Stunden zur Einwanderung von Leukozyten und Makrophagen in die Wunde (Inflammation). Diese zellulären Bestandteile sind in der Lage, avitales Gewebe durch fermentative Vorgänge zu autolysieren und abzutragen (Kujath und Michelsen 2008). Die infizierten Wunden im beschriebenen Versuch erleiden aufgrund der verstärkten Phagozytose einen größeren Gewebeverlust, durch die starke Exsudation und die Enzymfreisetzung kommt es zu einer Gewebeaufweichung, die zunächst zu einer Vergrößerung der Wundfläche führt, welche zum Zeitpunkt des VW 1 evident wird. Bakterien zerstören durch die von ihnen gebildeten Zytokine neu gebildete Zellen des Granulationsgewebes, okkludieren durch Plasmakoagulase die Kapillaren, vermindern dadurch die lokale Durchblutung und unterbinden so die Nachschubwege von Stoffen, die für die Geweberegeneration nötig sind (Krech und Traber 2010). Die vergleichsweise stärkere lokale Immunantwort der infizierten Wunden kann offensichtlich den nicht-infizierten gewissermaßen einen „Vorsprung“ im vergleichenden Heilungsverlauf geben. Die „sauberen“ Wunden verkleinern zunächst ihre Wundfläche, da ihre resorptive Phase ohne Zwischenfälle und Schwierigkeiten abläuft.

Im Zeitraum zwischen VW 1 und VW 2 (Tag 3 bis Tag 7) schreitet die Wundflächenverkleinerung bei den infizierten Wunden in geringem Maß fort, die Wunden verkleinern sich durchschnittlich um $0,95 \text{ cm}^2$, während sie bei den nicht-infizierten Wunden vorübergehend stagniert beziehungsweise eine minimale Vergrößerung der durchschnittlichen Wundfläche um $0,7 \text{ cm}^2$ erkennbar ist. In der Literatur konnte für dieses Phänomen keine valide wissenschaftliche Erklärung gefunden werden. Es müssten zur Abklärung dieser Beobachtung weitere Untersuchungen durchgeführt werden, um abgrenzen zu können, ob es sich um eine Gesetzmäßigkeit oder um eine ablaufsbedingte

Verschiebung des entsprechenden Wertes handelt. Die Grunderkenntnis einer insgesamt nur geringgradigen Veränderung der Wundfläche im Zeitraum zwischen VW 1 und VW 2 bleibt davon jedoch unberührt. In den ersten drei bis 5 Tagen wird die Heilung von exsudativen und resorptiven Vorgängen bestimmt (Hedlund 2009). In der Proliferationsphase zwischen dem dritten und dem zehnten Tag nach Wundsetzung wird stark vaskularisiertes Granulationsgewebe ausgebildet. Es besteht vorwiegend aus Fibroblasten, die um neu gebildete Kapillaren angeordnet sind (Piatek und Tautenhahn 2012a). Diese versorgen das Gewebe mit dem notwendigen Sauerstoff. Der Abbau der primären Blutgerinnsel erfolgt durch Faktoren des Fibrinolyse-Systems, verschiedene Matrixmetalloproteinasen bauen die extrazelluläre Matrix um (Kujath und Michelsen 2008). Das Granulationsgewebe wächst, vom Wundrand ausgehend, etwa 0,4 bis 1 mm pro Tag (Hedlund 2009). Im Anschluss an den VW 2 am Tag 7 ist bei beiden Wundtypen bis zum VW 5 am Tag 17 eine signifikante Verkleinerung der Wundflächen zu beobachten, die bei beiden Wundtypen annähernd parallel abläuft. Die nicht-infizierten Wunden reduzieren ihre Fläche in dieser Zeit von durchschnittlich $12,72 \text{ cm}^2$ um $7,3 \text{ cm}^2$ auf durchschnittlich $5,42 \text{ cm}^2$, während die Fläche der infizierten Wunden von durchschnittlich $14,04 \text{ cm}^2$ bei VW 2 um $6,27 \text{ cm}^2$ auf durchschnittlich $7,77 \text{ cm}^2$ zum Zeitpunkt des VW 5 reduzieren. Diese Tendenz lässt sich durch die nun eingetretene fortschreitende Epithelisierung aller Wunden erklären. Erst nachdem ein Gewebedefekt aufgefüllt ist, kann die Reepithelisierung stattfinden (Piatek und Tautenhahn 2012a). Bei den infizierten Wunden verkleinert sich die Wundfläche in etwas geringerem Ausmaß als bei den nicht-infizierten, im Durchschnitt sind die nicht-infizierten Wunden zum Zeitpunkt des VW 5 am Tag 17 $2,35 \text{ cm}^2$ kleiner als die infizierten Wunden, was die Heilungsverzögerung der mit *E. coli* inokulierten Wunden deutlich aufzeigt. Die Tatsache, dass sich während der darauffolgenden Phase zwischen VW 5 am Tag 17 bis zum VW 7 am 24. Tag nach Wundsetzung die Wundflächen der infizierten Wunden mit einer Flächenverringering von $\pm 2,5 \text{ cm}^2$ erheblich stärker reduzieren als die der nicht-infizierten Wunden, welche nur noch eine Reduktion von durchschnittlich $1,01 \text{ cm}^2$ aufweisen, untermauert den Eindruck, dass die gezielte Infektion der Hautwunden von Schwein S05 bis Schwein S07 eine Heilungsverzögerung verursacht hat. Zum Zeitpunkt der letzten Beprobung und

Wundkontrolle am Tag 24 haben sich die Wundflächen beider Wundtypen mit einer Differenz von nur noch durchschnittlich $0,8 \text{ cm}^2$ fast vollständig einander angenähert. Es kann anhand dieser Daten hergeleitet werden, dass die Verzögerung der Heilung durch die gezielte Infektion vor allem die exsudative, resorptive und proliferative Phase der Wundheilung betrifft, während die reparative Phase verzögert, aber regelrecht abzulaufen scheint.

Die Vermessung der Wundflächen erfolgt mithilfe der JalomedWD[®] Wunddokumentationssoftware, die von der Jalomed GmbH entwickelt und zusätzlich speziell auf dieses Projekt zugeschnitten wird. Das Jalomed- Wunddokumentationssystem basiert auf einer logischen, einfach nachzuvollziehenden Programmstruktur und Bedienerführung, alle Parameter sind im Baukastensystem frei zusammenstellbar (Eberlin 2006). Anhand der Fotodokumentation ist das Programm in der Lage, für jede Wunde zu jedem Zeitpunkt die Wundfläche zu berechnen und die zur Wunde gehörenden histologischen und mikrobiologischen Daten individuell zuzuordnen. Es entsteht so zu jeder Wunde zu jedem Zeitpunkt ein detaillierter Steckbrief. Dieser kann einzeln betrachtet oder mit den zu anderen Zeitpunkten erhobenen Daten zu einem Wundverlauf über den gesamten Zeitraum der Wunddokumentation zusammengefügt werden. Wundzustandsveränderungen können so in ihrem Verlauf dargestellt und damit der Behandlungserfolg sichtbar gemacht werden (Eckardt 2005).

Es können entweder nur die Länge und die Breite bestimmt oder Flächenberechnungen nach zeichnerischem Umfahren der Wunde durchgeführt werden, und es ist möglich, die Anteile verschiedener Gewebearten, zum Beispiel Granulationsgewebe, zu bestimmen (Eberlin 2006).

Die Entwicklung der Wundflächen kann mit Hilfe der JalomedWD[®] Software klinischen Ansprüchen genügend dokumentiert werden. Die besondere Eignung der JalomedWD[®] Wunddokumentationssoftware ergibt sich hierbei zum einen aus dem geringen Schulungsbedarf im Umgang mit der Software, zum anderen durch die große Flexibilität und Möglichkeiten der Anpassung der Dokumentationsstiefe des Programms an die

individuellen Bedürfnisse des Anwenders. Die im Rahmen softwaregestützter Wunddokumentation einzigartige Möglichkeit der Bewertung des Heilungsfortschritts anhand des Wundbewertungssystems nach U. Wollina, dem sogenannten Wollina-Score, ist ein weiteres Argument, das im Rahmen der vorgestellten Studie den Ausschlag für die Nutzung der JalomedWD® Software gibt. Nach intensiver Einarbeitungsphase erweist sich die Wunddokumentationssoftware JalomedWD® für den Zweck der vorgestellten Studie als gut geeignet und stellt ein wertvolles beschreibendes Hilfsinstrument für den klinischen Verlauf dar.

4.5.2. Granulationsfortschritt

Der Granulationsfortschritt der Wunden wurde anhand der erstellten Biopsien, welche in Paraffin gegossen, per Mikrotom geschnitten und HE (Hämatoxylin-Eosin)-gefärbt wurden, dokumentiert. Die detaillierte Vorgehensweise hierzu kann in Kapitel 2.3.3. nachgelesen werden. Um vergleichbare Werte nach einem einheitliche Bemessungsschema zu erhalten, kam in der vorgestellten Studie die AxioVisionLE® Software der Firma Zeiss zum Einsatz. Die AxioVisionLE® Software der Firma Zeiss ist ein leistungsstarkes und flexibles Bildbearbeitungs- und Analysesystem für die Mikroskopie. Mit AxioVisionLE® können die Einstellungen von motorisierten Zeiss Mikroskopen verwendet werden, die im vorgestellten Projekt aufgrund der labortechnischen Gegebenheiten zum Einsatz kommen. Bei 1,5-facher Vergrößerung wurden die Biopsieschnitte unter dem Mikroskop abfotografiert und nach Übertragung auf den Computer im Zeiss Bildformat (ZVI) jeweils an drei verschiedenen Stellen ausgemessen. AxioVisionLE® bietet eine große Anzahl an verschiedenen Messwerkzeugen; Messparameter wie Länge, Abstand, Fläche oder andere können dabei individuell festgelegt und für den Nutzer oder die Arbeitsgruppe gespeichert werden. Die Bilder können am PC digital bearbeitet werden. AxioVisionLE® unterstützt dabei eine Vielzahl gängiger Bildformate, in denen die Bilder auch zusätzlich zum Zeiss Bildformat (ZVI) gespeichert werden können. Verschiedene Bildeigenschaften, z.B. Helligkeit und Kontrast eines Bildes können angepasst werden. So ermöglicht die Software eine präzise Beurteilung jedes einzelnen Bildes auf dem Monitor und bietet gleichzeitig die Möglichkeit der Speicherung aller wichtigen Aufnahmeeinstellungen und Messdaten.

Es entstanden so im vorgestellten Projekt in übersichtlicher Form geordnete, qualitativ hochwertige Aufnahmen der Biopsieschnitte, die eine sehr gute Bewertung des Granulationsfortschritts möglich machten.

Die Veränderung der Wundfläche ist in Relation zu setzen mit der Dicke des Granulationsgewebes, welches bei der sekundären Wundheilung die Aufgabe hat, den Gewebedefekt aufzufüllen, da erst danach die Reepithelisierung, welche die Wundfläche verkleinert, stattfinden kann. Das für die sekundäre Wundheilung charakteristische Granulationsgewebe wurde von Letterer als eine vorübergehend primitive Gewebeeinheit, sog. Histion, bezeichnet (Piatek und Tautenhahn 2012a). Diese wird nach Erfüllung ihrer Aufgabe als Wundkeimgewebe und Leegerüst anschließend in den Mutterboden mit einbezogen und schrittweise größtenteils in Narbengewebe umgebaut. Granulationsgewebe ist ein Komplex aus Fibroblasten, vaskulären Endothelzellen mit Neovaskularisation und Makrophagen inmitten einer Matrix aus Kollagen und Fibrin (Knottenbelt 2006). Es liegen zum Zeitraum Tag 0 bis Tag 7 keine Werte zur Granulationsgewebedicke vor, da die zu diesem Zwecke am Tag des VW 1 entnommenen Proben trotz vorsichtigster Handhabung keine verwertbare Konsistenz aufweisen. Das Gewebe des Wundgrunds zeigt sich zu diesem Zeitpunkt in der Konsistenz zu schwammig und zu weich, um aussagekräftige Proben gewinnen zu können. In der Literatur wird der Beginn der Bildung von Granulationsgewebe mit dem 4. Tag nach der Verwundung angegeben (Clark 1996), was die Bedeutung der nicht durchführbaren Beprobung relativiert, da die Proben demnach ohnehin nicht aussagekräftig genug gewesen wären. So beginnt die vergleichende Beurteilung der Granulationsgewebedicke unserer Studie erst mit der Probenentnahme zum Zeitpunkt des VW 2 und endet mit VW 5, da die Granulation dann bei allen Wunden als abgeschlossen angesehen wurde.

Zum Zeitpunkt des VW 2 weisen die infizierten Wunden eine etwas stärkere Granulation als die „sauberen“ Wunden auf. Ein Blick auf den Zustand der Wundflächen zu diesem Zeitpunkt zeigt eine deutlich größere Wundfläche bei den infizierten Wunden. Als Hypothese zur Erklärung dieses Phänomens wäre denkbar, dass bei den infizierten Wunden zunächst ein schnellerer, aber ungerichteter Gewebeersatz als Reaktion auf einen

zuvor stärker ausgeprägten Gewebeverlust stattgefunden hat. Dieser stärkere Gewebeverlust könnte durch eine infektionsbedingt vermehrte Phagozytose der infizierten Wunde während der exsudativen und resorptiven Phase entstanden sein. Bucknall beschrieb 1980 anhand seiner Studien an infizierten Hautwunden bei Ratten, dass das untersuchte Granulationsgewebe der infizierten Wunden am Tag 7 nach Wundsetzung zellärmer gewesen sei. Die Fibroblasten schienen weniger aktiv zu sein und die Anordnung der kollagenen Fasern wurde im infizierten Granulationsgewebe in gewundener, „verwirbelter“ Form vorgefunden anstatt in gerader, organisierter wie im Granulationsgewebe der nicht-infizierten (Bucknall 1980). Das neugebildete Granulationsgewebe könnte also von lockererer und zerbrechlicherer Beschaffenheit als das im Rahmen der unbelastet ablaufenden Wundheilung bei den nicht-infizierten Wunden sein. Da es sich um Vollhautwunden mit erheblicher Tiefe handelt, also ein großer Gewebedefekt vorliegt, muss das neu gebildete Granulationsgewebe jedoch stabil sein, um die Neubildung des Epithels auf Hautniveau adäquat zu ermöglichen. Als Hypothese wird davon ausgegangen, dass diese "nachträgliche Stabilisierung" etwas verzögert beginnt, da sich zum Zeitpunkt des VW 3 anhand der gewonnenen Daten ein Wechsel der Tendenz in der Granulation abzeichnet. Die nicht-infizierten Wunden granulieren noch etwas verstärkt bis zum nächsten Kontrollzeitpunkt am VW 4 (Tag 14), während die Granulation der infizierten Wunden sich etwas abschwächt. Es wäre hypothetisch denkbar, dass die Umbauphase des lockereren und schlechter kapillarisierten, weil „zu schnell“ gewachsenen Granulationsgewebes um den 10. Tag stattfindet.

Wird die sekundäre Wundheilung gestört, kann es insbesondere beim Großtier zur Granulationsgewebekonstruktion über das normale Maß hinaus kommen. Dieses zu viel und zu schnell gewachsene Gewebe besteht am Anfang aus lockerem Granulationsgewebe und wird später zu festem Narbengewebe. Ätiologisch für das ungerichtete und zu starke Wachstum des Granulationsgewebes werden chronische Reize (z.B. zu viel Bewegung) oder externe Reize (z.B. Verunreinigungen) oder iatrogene Ursachen (z.B. vergessenes Nahtmaterial, falsche Wundbehandlung) angenommen (Kramer 2004).

Im Gesamtüberblick ist zusammenzufassen, dass in der vorgestellten Studie eine signifikante Beeinflussung des Granulationsfortschritts mithilfe einer gezielten Wundinfektion offenbar nicht möglich gewesen ist. Beim Vergleich des quantitativen Granulationsfortschritts beider Wundtypen lässt sich keine richtungsweisende Aussage treffen.

4.5.3. *Entwicklung des Keimgehalts im Wundgrund*

Im Zusammenhang mit dem Heilungsverlauf der infizierten und nicht-infizierten Wunden der vorgestellten Studie soll ausschließlich der Gehalt an *E. coli* in den Wunden kritisch betrachtet werden, da dessen Konzentrationsveränderung für die Aussage der Studie als maßgeblich angesehen wird und seine Konzentration fortlaufend dokumentiert wird.

Da nach aktuellem Stand der Wissenschaft ab einer Zahl von 10^5 Bakterien pro Gramm Gewebe die Wundheilung auch ohne klinische Infektionszeichen bereits negativ beeinflusst werden kann (Steinsträsser et al. 2008), sollte sich die für diese Studie gewählte Konzentration von 10^7 Keimen (*E. coli*) pro Milliliter Suspension als ausreichend erweisen.

Die Inokulation der Wunden erfolgt am Tag der Wundsetzung (Tag 0) mit jeweils 500 µl einer frisch hergestellten Keimsuspension, welche eine standardisierte Konzentration von 10^7 Keimen/ml eines bestandsinternen isolierten *E. coli* Stammes aufweist. Dieser wird vor Versuchsbeginn aus Nasenschleimhautabstrichen der in der Tierversuchsanlage der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf lebenden, zu Versuchszwecken bestimmten Minischweine gewonnen.

E. coli sind Erreger pyogener Wundinfektionen. Die Wundeiterung verhindert die Primärheilung, das Gewebe zerfällt, nach 6-8 Stunden haben sich die Erreger dem Milieu angepasst. Ihre Toxine wirken gewebeschädigend und töten Leukozyten ab. Nach dem Zerfall der Bakterien werden Endotoxine frei; die durch Exsudation ins Gewebe gelangten neuen Leukozyten arbeiten gegen die Erreger (Hyperleukozytose). Es kommt zur Phagozytose, der zugrunde gehende Leukozyt wird zum Eiterkörperchen (Dietz und Thein 2004).

Im Versuch fällt ein insgesamt Anstieg des Keimgehaltes sowohl bei den nicht-infizierten als auch bei den infizierten Wunden auf. Der für dieses Projekt gewählte Keim wird aus Nasenschleimhautabstrichen der vor Ort lebenden Schweine entnommen und auf MacConkey-Agar angezüchtet, da so eine Durchseuchung des von Außeneinflüssen isoliert gehaltenen Tierbestandes mit Fremdkeimen vermieden wird. Es handelt sich also um einen natürlicherweise in der Hautflora der Tiere existierenden, nach Aussage von Miethke und Wagner (2012) fakultativ pathogenen Keim. Dies hat sowohl Vor- als auch Nachteile: Unter Ausschluss jeglicher Kontaminationsgefahr des gesamten Versuchstierbestandes, welche bei Verwendung eines potentiell viel pathogeneren Fremdkeimes ein hohes Risiko mit sich gebracht und die Durchführung der Studie um ein vielfaches aufwändiger gemacht hätte, kann trotz allem eine gezielte lokale Infektion der Wunden mit einem fakultativ pathogenen Wundkeim hervorgerufen werden. Diesen Vorteilen, die in der Versuchsplanung zur Auswahl des benutzten Keims führten, steht das Problem gegenüber, dass es sich um einen residenten Keim der natürlichen Haut- und Schleimhautflora der verwendeten Versuchstiere handelt. Dieser Umstand schließt somit eine genaue Differenzierung des Inokulationskeims gegenüber physiologisch auf den Tieren vorhandenen *E. coli*, die gegebenenfalls durch Manipulation an den Wunden und der umliegenden Haut (Scheuern, etc.) in die Wunde hätten gelangen können, aus. Durch intensive Schur, Reinigung und mehrfache Desinfektion des gesamten OP-Felds bei jedem Eingriff, standardisierte Mehrfachbedeckung der Wunden mit einer festgelegten Abfolge von sterilen Wundauflagen und Klebeband, Verwendung von kochbaren Baumwollwesten, steriler chirurgischer Arbeitsweise im OP mit Instrumentenwechsel und Durchführung aller möglichen hygienischen Maßnahmen wird versucht, den Einfluss der resident vorhandenen Keime auf die Wunden so weit wie möglich zu verhindern. Des Weiteren kann ein geringfügiger ablaufbedingter Einfluss des Probentransportes auf die Keimzahlen trotz schnellstmöglicher Kühlung und Weiterverwertung der entnommenen Proben nicht ausgeschlossen werden.

Eine offene Wunde ist immer mit den Erregern der Umgebung, die potenziell pathogen sein können, kontaminiert (Kujath und Michelsen 2008). Durch die stetige Vermehrung der Bakterien in der Wunde, die durch die lokale antiseptische Behandlung zwar reduziert,

jedoch auch aufgrund der fehlenden Antibiotikatherapie nicht verhindert werden konnte, kam es zu einer zunehmenden Besiedelung aller Wunden. Dies erklärt sich über das Phänomen residenter Keime der Haut, welche zu keinerlei Entzündungsreaktionen führen.

Die Grenzen zwischen bakterieller Besiedelung und Infektion einer Wunde sind fließend. Es handelt sich bei den Erregern einer Wundinfektion in der Regel um physiologische Hautkeime, durchsetzt von aggressiveren Keimen der transienten Flora wie *Staphylococcus aureus*, *betahämolisierenden Streptokokken*, *Pseudomonasarten* und anderen gramnegativen Stäbchenbakterien. Die Auswirkungen der oberflächlichen Wundinfektion in Form eines Biofilms auf die Wundheilung sind wenig untersucht (Krech und Traber 2010).

Auch die im Versuch nicht gezielt infizierten Wunden zeigen eine geringfügige, gegen Ende der Studie leicht zunehmende Besiedelung mit *E. coli*, die jedoch weit hinter der gezielt manipulierten Wunden zurückbleibt und keinen Effekt zu haben scheint. Der Nachweis von Bakterien in Wunden bedeutet nicht, dass eine Wunde infiziert ist: In Wunden finden sich immer Mikroorganismen, da sie nie steril sind. Die Keime gelangen auf verschiedenen Wegen in die Wunde: so können Bakterien aus der Umwelt, z.B. *Klostridien*, oder aus benachbarter Haut, z.B. *Staphylokokken*, in die Wunde gelangen, wie Streit und Mayer (2009) feststellen. Auch Wright und Kollegen (2002) beschreiben dieses Phänomen im Rahmen ihrer Wundheilungsstudie an kontaminierten porcinen Hautwunden. Die Grundaussage der Studie bezüglich der Etablierung eines gezielt verzögerten Heilungsmodells bleibt trotz geringerer Pathogenität und residentem Vorhandensein des Inokulationskeims dieselbe, da die infizierten Wunden nachgewiesenermaßen verzögert abheilen und einen viel höheren Gehalt an *E. coli* aufweisen.

4.5.4. *Wundbewertung nach dem Wollina-Score*

Ein bislang eher weniger bekannter Parameter wird im Verlauf der Studie angewandt und mit seiner Hilfe der Heilungsfortschritt bewertet. Der sogenannte Wollina-Score, entwickelt von Uwe Wollina und im Jahre 2001 erstmals veröffentlicht (Schmidt et al. 2001), gilt derzeit in der Medizin als einziger etablierter Score zur standardisierten

makroskopischen Bewertung sekundär heilender oder chronischer Wunden nach einem festen System. Wundheilung ist ein dynamischer Prozess, für den es bis zu diesem Zeitpunkt noch kein standardisiertes Beurteilungsverfahren gibt. Besonders bei chronischen Wunden kommen vor allem subjektiver Eindruck, Fotodokumentation und planimetrische Messungen zur Anwendung (Schmidt et al. 2001).

Es handelt sich beim Wollina-Score um einen standardisierten klinischen Erfahrungswert, der den Zustand einer chronischen oder einer sekundär heilenden Wunde auf der Grundlage der Ausprägung des Granulationsgewebes, der Wundfärbung und der Konsistenz mithilfe eines Punktesystems bewertet (Abbildung 32):

Parameter		Punkte
Granulation	keine	0
	¼ der Wundfläche	1
	½ der Wundfläche	2
	2/3 der Wundfläche	3
	Komplette Wundfläche	4
Farbe	blass	0
	pink	1
	hellrot	2
Konsistenz	schwammig	0
	solide	1
Maximum	Gesamtpunktzahl	7

Abbildung 32: **Wollina-Score Bewertungsgrundlage (nach Schmidt et al. 2002)**; es handelt sich um einen standardisierten klinischen Erfahrungswert, der den Zustand einer chronischen oder einer sekundär heilenden Wunde auf der Grundlage der Ausprägung des Granulationsgewebes, der Wundfärbung und der Konsistenz mithilfe eines Punktesystems bewertet.

Der Score wurde mit Hilfe von nicht-invasiver und kontaktfreier Spektroskopie an chronischen, arteriellen und gemischten Ulcerae cruris entwickelt. Der klinische Zustand der Wunden wurde dabei anhand des Wollina-Scores dokumentiert. Die so gewonnenen

Ergebnisse wurden dann anhand der spektrometrischen Analysen, welche mit einem neuartigen Photodiodenzeilen-Spektrometer im sichtbaren und infraroten Bereich des Spektrums (400-1600nm) mit einer Auflösung von 5nm erstellt wurden, bewertet. Die Wundspektren waren dabei hauptsächlich abhängig von der Absorption von Hämoglobin und Wasser. Im Rahmen der Kreuzvalidierung waren so 69% der getroffenen Vorhersagen des Wollina-Scores korrekt (Schmidt et al. 2001).

In der vorliegenden Studie wird der Score mithilfe der JalomedWD[®]-Wundbeurteilungssoftware ermittelt, welche den Score als Werkzeug zur Wundbeurteilung anbietet. Im Rahmen des softwaregestützten Beurteilungssystems hat die bewertende Person die Möglichkeit, die Wunde auf die in den Score einfließenden Parameter (Granulation, Farbe, Konsistenz) hin einzeln zu bewerten. Aus diesen Angaben errechnet die Wundbeurteilungssoftware den Wollina-Score jeder einzelnen Wunde durch Addition der erreichten Punkte der einzelnen Parameter. In diesem Fall erweist sich die Wundbeurteilung mit der JalomedWD[®] Software als hilfreiches Mittel zur klinischen Beurteilung des Wundverlaufs.

In der vorliegenden Studie untermauert der Wollina-Score die bereits über Wundfläche und Granulationsgewebepdicke gewonnenen Ergebnisse zusätzlich. Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den nicht-infizierten und den infizierten Wunden kann an Tag 10 ($p < 0,0031$) und Tag 14 ($p < 0,0001$) den deutlich verzögerten Heilungsverlauf und die unterschiedliche Qualität des Granulationsgewebes verdeutlichen. Mit dem Ziel der Objektivierung eines bisher rein subjektiv gehandhabten Themengebietes, der Wundbeurteilung, ist die Anwendung des Wollina-Scores als Messgröße auch für die Zukunft der veterinärmedizinischen Wundbehandlung hochinteressant.

Der Wollina-Score ermöglicht in der vorgestellten Studie eine wertvolle Möglichkeit der vergleichenden Bewertung des Heilungsverlaufs der nicht-infizierten und infizierten Wunden im Zeitraum bis zum VW 4 am Tag 14 der Studie. Die in der Studie ab VW 4 (Tag 14) erhobenen Daten stellen einen Wechsel der Heilungstendenzen dar und lassen annehmen, der Heilungsverlauf der nicht-infizierten Wunden sei nach dieser Zeit rückläufig

gewesen. Tatsächlich liegt dem jedoch aller Wahrscheinlichkeit nach ein anderer Umstand zugrunde: Der Wollina-Score wurde ursprünglich zur standardisierten Bewertbarkeit chronischer beziehungsweise sekundär heilender Wunden entwickelt. Die zur Ermittlung des Wollina-Scores herangezogenen Parameter (Granulationsfortschritt, Farbe und Wundkonsistenz) können also nur für jenen Zeitraum der Wundheilung als aussagekräftig betrachtet werden, in dem per definitionem hauptsächlich Wundreinigung und Granulationsgewebebildung stattfinden. Nach Piatek und Tautenhahn (2012a) sind dies vor allem die Resorptionsphase, welche zwischen dem ersten und dem vierten Tag nach Wundentstehung stattfindet, und die Proliferationsphase, welche um den dritten Tag nach Wundentstehung, die Resorptionsphase anfangs überlappend, beginnt und um den zehnten Tag in der Überlappung mit der sich anschließenden Reparationsphase zum Ende kommt. Die den Wollina-Score charakterisierenden Parameter erlauben so eine gegebenenfalls vergleichende Beurteilung des Heilungsfortschritts der nicht-infizierten und infizierten Wunden in diesem Zeitraum. Da die Granulation in der Fachliteratur um den zehnten Tag als abgeschlossen angesehen wird, sollten die in Bezug auf den Wollina-Score gewonnenen Daten in Korrelation zum Granulationsverlauf gesetzt und somit ab VW 4 (Tag 14) nicht mehr als für den Heilungsfortschritt aussagekräftig angesehen werden.

4.5.5. *Betrachtung des Leukozytengehalts*

Im Verlaufe des Projekts können bei allen Tieren geringgradige Schwankungen im Differentialblutbild festgestellt werden. Im beschriebenen Versuch werden die weißen Blutkörperchen in ihrer Gesamtheit (WBC= Leukozyten), die Lymphozyten, Monozyten und Granulozyten jeweils in ihrer Gesamtzahl gemessen und die Leukozytenkonzentration im Blut als allgemein anerkannter Indikator für Entzündungsreaktionen mit systemischem Ausmaß detaillierter betrachtet.

Diese weist jedoch beim Vergleich der infizierten mit den nicht-infizierten Schweinen keine signifikanten Unterschiede auf und bewegt sich bei beiden Gruppen im Referenzbereich ($10-22 \times 10^9/l$) (Kraft und Dürr 2013). So wird deutlich, dass die gezeigte Heilungsverzögerung nicht auf eine systemische Infektion der Tiere mit den infizierten Wunden zurückzuführen ist. Physiologischerweise unterliegt die Leukozytenkonzentration

wie auch alle anderen Blutparameter gewissen individuellen Schwankungen, die auch durch äußere Umstände hervorgerufen werden können.

Psychischer Stress allein führt bei Schweinen zu sofortigem Anstieg aller Blutzellen infolge Adrenalinausschüttung und Milzentspeicherung (Geist 2006). In Kombination mit physischer Belastung wie Fluchtversuchen, Abwehrbewegungen etc. kommt es kurzfristig zu sehr starken Veränderungen zahlreicher Blutmesswerte, beim Abferkeln, bei Rangordnungskämpfen und beim Transport. Blutentnahmestress ist beispielsweise vor allem durch das unvermeidliche Fixieren der Tiere eine starke kombinierte psychische und physische Belastung. Der unvermeidbare Stress im Zusammenhang mit der Blutentnahme ist die bedeutsamste Ursache physiologischer Variationen der Blutmesswerte beim Schwein (Plonait und Bickhardt 1988) und könnte auch im vorliegenden Fall zu ablaufsbedingten leichten Verschiebungen der Leukozytenkonzentrationen geführt haben. Wichtigste und primär bedeutsame Erkenntnis der Auswertung der Entzündungsparameter im Verlaufe dieser Studie ist jedoch, dass keines der Tiere zu irgendeinem Zeitpunkt eine deutliche systemische Infektion oder eine Septikämie aufweist. Die aufgezeigte Heilungsverzögerung scheint ausschließlich auf den Effekt der lokalen Wundinfektion mit *E. coli* zurückführbar zu sein.

4.6. Therapeutischer Nutzen des Modells

4.6.1. Übertragbarkeit

Obwohl die potentielle Übertragbarkeit von im Tierversuch gewonnenen Daten in den letzten Jahren häufiger öffentlich von der Gesellschaft in Frage gestellt wird und sich immer mehr Methoden durchsetzen, die ohne Tierversuch auskommen sollen, scheinen Tierexperimente für die Erforschung chronischer Erkrankungen und ihrer Behandlungsmöglichkeiten nach wie vor unverzichtbar. Komplexe Erkrankungen, zum Beispiel entzündliche Prozesse, können nicht vollständig in Zellkulturen nachgeahmt werden (Spielberg 2010).

Sullivan und Mitarbeiter (2001) bewerten 25 verschiedene Wundtherapien und zeigen, dass bei mit Humanstudien vergleichbaren Studien am Tier eine 78%ige Übereinstimmung

zum Schwein, jedoch nur eine 53%ige Vergleichbarkeit zu Modellen anderer Kleinsäuger vorliegt. Daher liegt die Untersuchung von Wundheilungsmechanismen am Schwein zum Zwecke der Übertragbarkeit auf den Menschen besonders nahe (Hirsch et al. 2008).

4.6.2. Relevanz des Modells für die Human- und Veterinärmedizin

Zwei Prozent der Bevölkerung entwickeln im Laufe des Lebens eine chronische Wunde mit einer wundbezogenen Mortalität von ungefähr 2,5%. In Deutschland leiden aktuell circa vier Millionen Patienten an chronischen Wunden (Steinsträsser et al. 2008). Insbesondere Wundschmerz, Wundgeruch und eine eingeschränkte Mobilität führen zu starken körperlichen, aber auch psychischen Belastungen der Betroffenen (Fuhrmann und Schütz 2009). Die Therapie der verzögerten oder chronisch unterbrochenen Wundheilung gestaltet sich nach wie vor schwierig.

Die Änderung der Altersstruktur in Deutschland wird in Zukunft zu einer deutlichen Zunahme chronischer Wunden führen, was den Forschungsbedarf auf diesem Gebiet weiter erhöht.

Das vorgestellte Modell könnte in der humanmedizinischen Forschung einen wichtigen Beitrag bei der Entwicklung und dem Vergleich von Wundtherapeutika leisten, die die Rückführung von schlecht heilenden oder chronischen Wunden in akute Wunden mit verbesserter Heilungstendenz und der Chance auf Komplettabheilung ermöglichen sollen.

Auch in der Tiermedizin gehören Wunden aller Art zum klinischen Alltag. Dabei steigen die Anforderungen an eine gute und adäquate Wundtherapie mit der stets zunehmenden Relevanz der Tiere als Familienmitglied. Im Jahr 2011 besaßen in Deutschland etwa 9,85 Millionen Menschen mindestens einen Hund und 8,86 Millionen mindestens eine Katze (Anonym 2013b).

Ob Bisse, Weideverletzungen oder postoperative Betreuung, die Versorgung unterschiedlicher Wunden gehört sowohl in der Klein- als auch in der Großtierpraxis zum tierärztlichen Alltag. Dabei setzt sich die in der Humanmedizin bereits etablierte feuchte Wundheilung auch zunehmend in der Veterinärmedizin durch (Braun 2009). Ein

vorrangiges Ziel in der tiermedizinischen Wundbehandlung ist es, die Regeneration und Reparation des Gewebes zu unterstützen und zu beschleunigen.

Wunden, die nur durch sekundäre Wundheilung heilen können, stellen sowohl in der Humanmedizin als auch in der Tiermedizin häufig ein großes Problem dar. Nicht primär heilende Wunden entstehen häufig infolge von großflächigen Gewebsverlusten, die beispielsweise bei Autounfällen, Bissen, Verbrennungen oder Tumoroperationen vorkommen. Des Weiteren können Manipulationen durch den Patient selbst (Lecken und Beißen/Nagen), an Wunden, die eigentlich primär heilen könnten, sowie Infektionen des Wundbereichs zum Ausbleiben einer *Sanatio per primam* (primären Wundheilung) führen (André 2007).

Beispielsweise bei Pferden schlägt ein primärer Wundverschluss traumatischer Wunden in drei von vier Fällen fehl. Die sekundäre Wundheilung ist deshalb – trotz bekannter Komplikationen wie schlechter Wundkontraktion, Hypergranulation und langsamer Epithelisierung – als Versorgungsstandard für traumatische Wunden beim Pferd anzusehen (Braun 2010). Trotz der verlängerten Heilungszeit und den oft sowohl kosmetisch als auch funktionell nicht optimalen Resultaten ist die Sekundärheilung eine in der Veterinärmedizin unverzichtbare Methode zur Behandlung von Wunden (Waldron und Zimmermann-Pope 2002).

Für den Patienten bedeuten sie in den meisten Fällen eine sehr lange Behandlungsdauer, welche für den Patientenbesitzer in der Regel mit einem hohen zeitlichen wie finanziellen Aufwand einhergeht. Aus diesem Grund wird eine ganze Reihe verschiedener Behandlungs- und Verbandstechniken eingesetzt, um die Zeit bis zum Abheilen der Wunden möglichst kurz zu halten.

Aufgrund der positiven Erfahrungen mit der modernen Wundversorgung chronischer Wunden in der Humanmedizin wurden in den letzten Jahren neue Möglichkeiten der feuchten Wundversorgung entwickelt und den Erfordernissen der Versorgung akuter Wunden sowie denen der Veterinärmedizin angepasst (Braun 2009).

Als Großtiermodell lässt diese Studie auch Rückschlüsse auf die Behandlung verzögert heilender Wunden in der Veterinärmedizin zu. Trotz der strukturellen Hautunterschiede zwischen den einzelnen Tierarten können Erkenntnisse übertragen und weiterentwickelt werden. Die Wundheilung tierischer Wunden könnte so verbessert und der Verlauf beschleunigt werden.

5. Zusammenfassung

Die hier vorgestellte tierexperimentelle Studie folgt dem Ansatz, ein reproduzierbares Großtiermodell zu etablieren, welches in weiterer Entwicklung einen Beitrag leisten soll, die Rücküberführung schlecht heilender/chronischer Wunden in akute Wunden mit realen Heilungsaussichten zu ermöglichen.

Um diesen Anspruch zu erfüllen, ist die Etablierung eines in-vivo Tiermodells vonnöten, welches unter Versuchsbedingungen eine verzögerte Wundheilung simulieren kann.

Da sich die Haut des Schweines für Wundheilungsmodelle erwiesenermaßen aufgrund weitreichender struktureller Gemeinsamkeiten mit der menschlichen Haut besonders eignet, wählt man als Versuchstier das Münchener Minischwein (Troll-Minischwein) und standardisiert zunächst den Ablauf der Wundsetzung und der nachfolgenden Wundkontrollen und Probenentnahmen über einen Zeitraum von 24 Tagen an einem „Pilotschwein“, später Schwein 01 genannt. Die dabei gewonnenen Ergebnisse fließen nicht in die Auswertung mit ein.

Im Anschluss werden insgesamt sechs Schweine gemäß dem dann etablierten Standard mit je acht Wunden versehen, wodurch insgesamt 48 identische Vollhautwunden entstehen. Die Wunden von dreien der Tiere werden mit einem spezifischen Wundkeim (*E. coli*) in einer Konzentration von 10^7 /ml gezielt infiziert. Alle Wunden werden in identischer Weise nach dem Prinzip der idealfeuchten Wundheilung versorgt, die Verbandsmaterialien werden alle 3,5 Tage gewechselt und der Heilungsverlauf anhand mehrerer Parameter dokumentiert.

Die vergleichende Betrachtung der Wundfläche, Granulationsgewebedicke, der Keimzahl im Wundgrund und des Verlaufes des Wollina-Scores zeigen eine Verzögerung des Heilungsfortschrittes insbesondere in den ersten sieben Tagen nach Wundsetzung bei den infizierten Wunden.

Folgende Ergebnisse werden ermittelt:

Die initiale Wundfläche beträgt am Tag 0 \emptyset $13.62 \text{ cm}^2 \pm 2,068 \text{ cm}^2$ bei den nicht-infizierten und \emptyset $13.44 \text{ cm}^2 \pm 1,86 \text{ cm}^2$ bei den infizierten Wunden, am Ende der Untersuchungsphase (Tag 24) beträgt die durchschnittliche Wundfläche der infizierten Wunden $5,63 \text{ cm}^2 \pm 1,14 \text{ cm}^2$ und die der nicht-infizierten $4,40 \text{ cm}^2 \pm 0,94 \text{ cm}^2$.

Zu Beginn der Messungen der Granulationsgewebedicke zum Zeitpunkt des VW 2 (Tag 7) ist die Dicke des Granulationsgewebes der nicht-infizierten Wunden mit durchschnittlich $2479 \text{ nm} \pm 682 \text{ nm}$ geringfügig geringer als die der infizierten Wunden mit $3188 \text{ nm} \pm 1580 \text{ nm}$. Zum Zeitpunkt des VW 6 (Tag 21) sind die nicht-infizierten Wunden mit einer Dicke von durchschnittlich $8955 \text{ nm} \pm 1312 \text{ nm}$ stärker granuliert als die infizierten mit durchschnittlich $7632 \text{ nm} \pm 1435 \text{ nm}$.

Der Gehalt an E. coli im Wundgrund steigt bei den infizierten Wunden ab Tag 0 (Tag der Infektion) stetig an. Von durchschnittlich 1.04×10^6 am Tag des ersten VW (Tag 3) erhöht sich der Keimgehalt stetig bis zu einem Wert von durchschnittlich $1,0 \times 10^7$ am letzten Probenentnahmetag (Tag 24). Auch die nicht-infizierten Wunden weisen einen stetig zunehmenden Keimgehalt auf, dieser liegt mit $4,6 \times 10^6$ am letzten Probeentnahmetag jedoch erheblich niedriger.

Die Anzahl der Leukozyten im Blut nimmt bei allen Tieren einen ähnlichen Verlauf, alle Tiere steigen in ihren Leukozytenzahlen zwischen Tag 3 und Tag 14 etwas an, um dann zu Tag 17 parallel wieder abzusinken. An Tag 21 liegen die infizierten Tiere mit $9,37 \times 10^3/\text{mm}^3$ etwas unter ihrem Anfangswert von $10,2 \times 10^3/\text{mm}^3$, während die nicht-infizierten Tiere mit $11,23 \times 10^3/\text{mm}^3$ etwas oberhalb von ihrem Anfangswert von $10,9 \times 10^3/\text{mm}^3$ liegen.

Der Wollina-Score der nicht-infizierten Wunden steigt schon ab dem Tag der initialen Wundsetzung (Tag 0) signifikant schneller an als der der infizierten. Das deutlichste Delta ist an Tag 14 festzustellen, wo ein Score von 6,3 bei den nicht-infizierten Tieren einem Score von 3,9 bei den infizierten gegenübersteht.

Es kann aus diesen Ergebnissen der durchgeführten Experimente gefolgert werden, dass die angestrebte Verzögerung der Wundheilung durch die gezielte Infektion der Wunden vor allem in der exsudativen, resorptiven und proliferativen Phase der Wundheilung stattfindet, während die reparative Phase zwar dementsprechend verzögert, aber regelrecht abzulaufen scheint. Eine Heilungsverzögerung aufgrund einer systemischen Infektion kann dabei durch regelmäßig durchgeführte Blutbildkontrollen und das Fehlen klinischer Anzeichen ausgeschlossen werden.

Das vorgestellte Modell kann in weiterführenden Studien nun dazu verwandt werden, die Heilungsverzögerung durch systemische oder andere Einflussnahme weiter zu fördern, um die Entwicklung eines chronischen Wundmodells anzustreben. Weitere Untersuchungen an einem solchen Modell könnten wichtige Erkenntnisse für eine erfolgreiche und heilungsfördernde Behandlung schlecht oder gar nicht heilender Wunden in der Human- und Tiermedizin bringen.

6. Summary

The present survey follows the approach of establishing a reproducible large animal wound model which, after some further development, could contribute to the idea of turning chronic or impaired-healing wounds back into acute wounds, which can then develop a re-invigorated tendency to heal.

In order to achieve this goal it is necessary to establish an in- vivo animal wound model, which simulates delayed wound-healing under experimental conditions.

Due to the large amount of structural similarities between porcine and human skin, for the realization of this survey the so-called "Troll-Minischwein", also known as Munich Mini swine, was chosen as laboratory animal. To start with, a standardized procedure of wounding, dressing change, sample collection and documentation is developed over a period of 24 days by means of a "pilot pig", later called Pig No.1. The data gained from this first pig does not get included in the final overall evaluation of the study.

In the follow-up phase of the initial stage, six pigs are provided with eight full-skin wounds, each according to the previously established standard, overall creating an amount of 48 identical wounds. A total of 24 wounds on three pigs are then systematically contaminated with a defined amount (10^7 /ml) of bacteria from a specific microbial strain of E. coli.

All wounds are then supplied in an identical scheme with identical dressing materials providing for moist wound healing. Dressing changes take place at an average of every 3,5 days, on which occasions several parameters representing the healing progress are being documented.

Progress of wound size, thickness of granulation tissue, bacterial count on the wound bed and change of the Wollina-Score show a delay of wound healing during the first seven days after the initial wound creation.

Following results can be established:

Initially on Day 0, the average wound surface measures $\emptyset 13,62 \text{ cm}^2 \pm 2,068 \text{ cm}^2$ in the non-contaminated and $\emptyset 13,44 \text{ cm}^2 \pm 1,86 \text{ cm}^2$ in the contaminated wounds. On day 24, thus at the very end of the examination phase, the average wound size of the non-contaminated measures $\emptyset 4,40 \text{ cm}^2 \pm 0,94 \text{ cm}^2$ and amounts to $\emptyset 5,63 \text{ cm}^2 \pm 1,14 \text{ cm}^2$ in the contaminated wounds.

At the beginning of measuring of the granulation tissue thickness on Day 7, the aforementioned came up to $2479 \text{ nm} \pm 682 \text{ nm}$ in case of the non-contaminated and up to $3188 \text{ nm} \pm 1580 \text{ nm}$ with the contaminated wounds. On Day 21, the non-contaminated wounds show stronger granulation at an average thickness of $8955 \text{ nm} \pm 1312 \text{ nm}$ than the contaminated wounds, which present an average granulation tissue thickness of $7632 \text{ nm} \pm 1435 \text{ nm}$.

The bacterial count of *E. coli* in the wound bed of the contaminated wounds constantly increases from Day 0 onwards. Starting at an average count of $1,04 \times 10^6$ on Day 3, it rises up to an average count of $1,0 \times 10^7$ on the last day of the study, Day 24. The bacterial count of $4,6 \times 10^6$ *E. coli* in the wound bed of the non-contaminated wounds on Day 24, , the last day of the examination phase, does by far not reach the bacterial count level of the contaminated wounds.

Leucocyte blood count takes a very similar course in all six animals throughout the complete examination phase. In every animal, regardless of the condition of the wounds it is being provided with, leucocyte count shows a steady rise between Day 3 and Day 14, and also decreases in the same way after Day 17. On Day 21, the animals with non-contaminated wounds present an average leukocyte count of $11,23 \times 10^3/\text{mm}^3$, which is slightly above their average Day 0 reading of $10,9 \times 10^3/\text{mm}^3$. Corresponding to this, the animals with contaminated wounds present themselves with a slightly diminished count of $9,37 \times 10^3/\text{mm}^3$ in comparison to their Day 0 initial count of $10,2 \times 10^3/\text{mm}^3$. In an overall observation, these variations are to be evaluated as clinically insignificant.

The Wollina-Score of the non-contaminated wounds from Day 0 increases considerably more than to be observed in the contaminated wounds. The most explicit distinction is to be found on Day 14, when the non-contaminated wounds show an average score of 6,3, whereas the contaminated wounds present an average score of 3,9.

By means of the aforementioned results, the following conclusion can be drawn:

The aspirated delay in wound healing by specifically contaminating wounds takes place mainly during the exsudative, resorptive and proliferative stage of wound healing, whereas the reparative stage seems to proceed in an altogether slightly delayed, but regular manner. The possibility of delayed healing due to a systemic infection could be excluded by regular blood counts and the absence of any clinical signs of systemic disease.

The featured model could now be used for other surveys which aim to further delay wound healing through systemic or other influences in order to strive for the establishment of a chronic wound model. Follow-up studies on the base of the presented survey and the knowledge obtained could contribute greatly to a deeper and more profound understanding of delayed or absent wound healing and help with the treatment of those wounds.

Anhang

Annex I: 4-Wochenplan zur Dokumentation der personellen Zuständigkeiten

	Datum	Narkose	Operateur	Zuständigkeit/ Betreuung	Zuständige Doktoranden
Woche 1	<u>Tag 0</u> (OP)				
	<u>Tag 3</u> (VW 1)				
Woche 2	<u>Tag 7</u> (VW 2)				
	<u>Tag 10</u> (VW 3)				
Woche 3	<u>Tag 14</u> (VW 4)				
	<u>Tag 17</u> (VW 5)				
Woche 4	<u>Tag 21</u> (VW 6)				
	<u>Tag 24</u> (Euthanasie)				

Annex II: Blutentnahmeprotokoll zur Dokumentation der Versuchsdurchführung und personeller Zuständigkeit der Entnahme

Schwein Nr:	Tag 0	Tag 3	Tag 7	Tag 10	Tag 14	Tag 17	Tag 21	Tag 24
Datum								
Zeit								
Ort								
Person								
EDTA (Menge ml)								
Serum (Menge ml)								

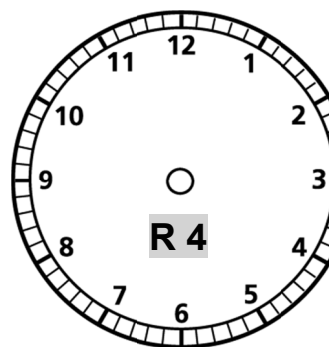
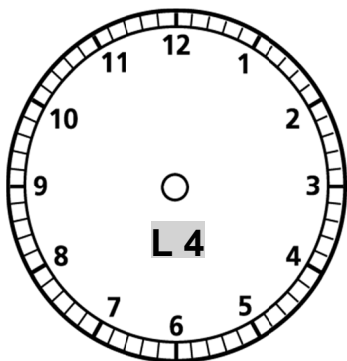
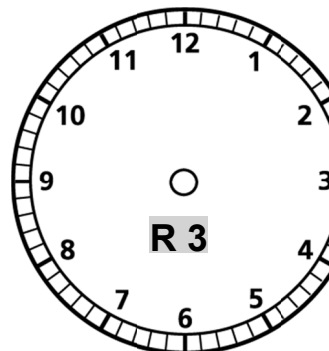
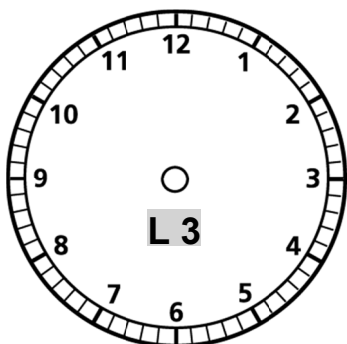
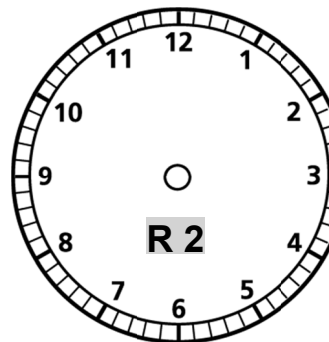
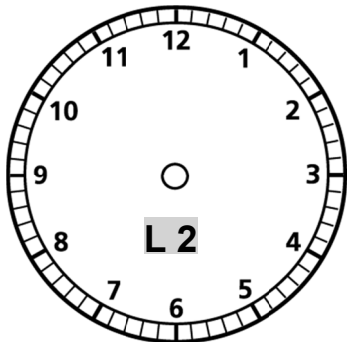
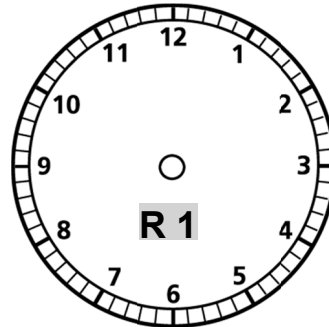
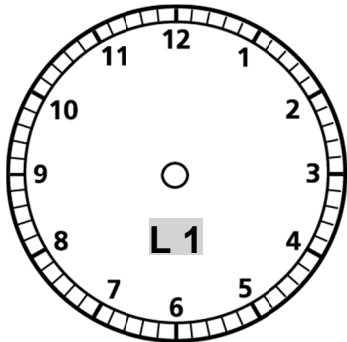
**Annex III: Mikroskopische Probenentnahme – Dokumentation der Versuchsdurchführung
und personeller Zuständigkeiten pro Wunde**

Schwein Nr	Tag 0	Tag 3	Tag 7	Tag 10	Tag 14	Tag 17	Tag 21	Tag 24
Datum								
Uhrzeit								
Links 1								
Links 2								
Links 3								
Links 4								
Rechts 1								
Rechts 2								
Rechts 3								
Rechts 4								
Transport								
Labor								

Annex IV: Biopsie-Entnahme-Schema – detaillierte Dokumentation der Entnahmestellen
pro Tier und Zeitpunkt

Schwein: _____

Datum: _____



Annex V: Übersicht der angewandten Medikamente

Wirkstoff	Name	Hersteller	Dosierung (Schwein) und Darreichungs- form	Wirkung
Atropin	Atropinsulfat [®]	Braun	0,02 bis 0,04 mg/kg KGW i.m.	Parasympato- lytikum
Azaperon	Stresnil [®]	Janssen Pharmaceutika	2-5 mg/kg KGW i.m.	Sedativum
Diazepam	Valium [®]	Roche	0,25 mg/kg KGW i.v.	Ataraktikum
Fentanyl	Fentanyl-Janssen [®]	Janssen Pharmaceutika	0,03 -0,05 mg/kg KGW i.v.	Neurolept- analgetikum
Ketamin	Ketavet [®]	Pfizer	10 mg/kg KGW i.v.	Allgemein anaesthetikum
Meloxicam	Metacam [®]	Boehringer Ingelheim	0,1 mg/kg KGW i.m. /p.o.	Nicht-steroidales Antiphlogistikum
Pentobarbital	Narcoren [®]	Merial	50 mg/kg KGW i.v.	Barbiturat, Narkotikum
Thiopental	Trapanal [®]	Atlanta Pharma Deutschland	5-10 mg /kg KGW i.v.	Narkotikum

Abkürzungslegende:

- i.m. intramuskulär
i.v. intravenös
kg Kilogramm
KGW Körpergewicht
mg Milligramm;
p.o. per os

Annex VI: Material und Geräte – operativer Abschnitt

1. Material	
Einwegskalpelle	<p style="text-align: center;">Feather disposable scalpel No 15 Stainless steel blade with plastic handle Feather Safety Razor CO. LTD. FEATHER BLDG. 5th FL., 5-2, Dojima 1-chome, Kita-ku, Osaka 530-0003, Japan TEL: +81664525518 FAX: +81664525651</p>
Klebeband	<p style="text-align: center;">Tesa 4541- flexibles offenes Gewebeband tesa SE Quickbornstr. 24 20253 Hamburg Deutschland</p>
Kryoröhrchen	<p style="text-align: center;">Nalgene cryoware Sterile Cryogenic Vials Thermo Fisher Scientific International Department 75 Panorama Creek Drive Rochester, NY 14625 U.S.A.</p>
Hautdesinfektion	<p style="text-align: center;">octenisept[®] wässriges Wund-und Schleimhautantiseptikum Schülke & Mayr GmbH Robert-Koch Str. 2, 22851 Norderstedt Deutschland Telefon +49(0)40 521 00-0 Telefax +49(0)40 521 00-318 E-Mail: info@schuelke.com</p>
Nahtmaterial -resorbierbar-	<p style="text-align: center;">Vicryl 4-0 V1226 Resorbierbares Nahtmaterial aus Polyglactin mit Nadel Johnson & Johnson MEDICAL GmbH</p> <p style="text-align: center;">Robert-Koch-Straße 1 D-22851 Norderstedt Deutschland Telefon: +49 (0) 40 5297 01 Fax: +49 (0) 40 5297 5379 E-Mail: Callcenter@ethde.jnj.com</p>

<p>Nahtmaterial -nicht-resorbierbar-</p>	<p>Prolene 0 EH 7920 Nicht-resorbierbares Nahtmaterial aus Polypropylen mit Nadel Johnson & Johnson MEDICAL GmbH Robert-Koch-Straße 1 D-22851 Norderstedt Deutschland Telefon: +49 (0) 40 5297 01 Fax: +49 (0) 40 529 7 5379 Callcenter@ethde.jnj.com</p>
<p>Wundauflage 1: Mepilex</p>	<p>Mepilex[®] Absorbierender silikonbeschichteter Schaumverband mit Safetac[®] Technologie Mölnlycke Health Care GmbH Max-Planck-Str. 15 40699 Erkrath-Unterfeldhaus Deutschland Tel.: +49 (0) 211 92088-0 Fax: +49 (0) 211 92088-170 www.molnlycke.com www.safetac.com</p>
<p>Wundauflage 2: Mepilex lite</p>	<p>Mepilex[®] Lite Dünnere silikonbeschichteter Schaumverband mit Safetac[®] Technologie Safetac[®] Technologie Mölnlycke Health Care GmbH Max-Planck-Str. 15 40699 Erkrath-Unterfeldhaus Deutschland Tel.: +49 (0) 211 92088-0 Fax: +49 (0) 211 92088-170 www.molnlycke.com www.safetac.com</p>
<p>Wundauflage 3: Tegaderm Matrix</p>	<p>Tegaderm Matrix[®] Matrix-Verband mit PHI™ 3M Medica Zweigniederlassung der 3M Deutschland GmbH Hammfelddamm 11 41453 Neuss Deutschland Tel: +49 (0) 213114-4414 Fax: +49 (0) 213114-4479 www.3MMedica.com</p>
<p>Infusionslösung: Ringer-Lactat</p>	<p>Ringer-Lactat-Lösung (DAB7) Fresenius Kabi AG Corporate Communications 61346 Bad Homburg v.d.H. Deutschland Tel.: +49 (0) 6172 -686 -0</p>

	<p>Fax: +49 (0) 6172 -686 -7367 e-mail: communication@fresenius-kabi.com</p>
Biopsiestanzen	<p>Stiefel[®] Biopsy Punch; 4mm Stiefel Laboratorium GmbH Ein Unternehmen der GSK-Gruppe Muehlheimer Straße 231 63075 Offenbach am Main Deutschland Tel: +49 (0) 69 98 40 42 -0 Fax: +49 (0) 69 98 40 42 -50</p>
Schweinefuttermittel	<p>ssniff[®] Futtermittel für Minipigs ssniff Spezialdiäten GmbH Ferdinand-Gabriel-Weg 16 D-59494 Soest Deutschland Tel. +49(0)29 21 9658-0 Fax +49(0)29 21 9658-40</p>
2. Geräte	
Narkosegerät (mit Narkoseüberwachung)	<p>Sulla 808V Ventilog 2 Typ 1774 Fabr. No.: 2008 Drägerwerk AG & Co. KGaA Moislinger Allee 53-55 23542 Lübeck Deutschland Telefon: +49 (0) 451-882 0 Fax:+49 (0) 451-882 2080 E-Mail: info@draeger.com</p>
	<p>Datex Capnomac Ultima Type ULT-V-33-06 Datex-Ohmeda Division 1Instrumentarium Corp. P.O.Box 900, FIN-00031 Datex-Ohmeda, Finland. Tel. +358 10 394 11 1 Fax. +358 9 146 3310 www.datex-ohmeda.com.</p>
	<p>Eagle 4000 patient monitor Typ: HEGL4CNB-20= SH Marquette Hellige Munzinger Str.3 79111 Freiburg Deutschland</p>

Blutanalysegerät	<p>Vet ABC Animal Blood Counter Model: ABC Vet Serien-Nr.: 812 AB 5558 ABX France</p> <p>Rue du Caducée Parc Euromedecine 34184 Montpellier Frankreich</p>
------------------	---

Annex VII: Wundfläche (cm²) – Einzelergebnisse der Schweine 2-7 zu jedem Untersuchungszeitpunkt in tabellarischer Form

Schwein	Tag 0	Tag 3/4	Tag 7	Tag 11	Tag 14	Tag 18	Tag 21	Tag 24
2	14,00	14,64	11,77	6,63	6,34	5,30	4,99	2,36
	12,59	14,11	13,03	7,59	6,26	5,61	5,36	3,64
	14,92	15,78	12,27	9,94	5,43	6,23	5,34	3,79
	13,09	12,76	12,69	7,68	5,67	5,58	6,22	5,61
	15,05	13,93	11,34	6,87	4,98	4,23	3,68	3,23
	14,81	13,41	13,55	7,25	6,11	4,82	5,78	5,21
	14,73	14,10	11,20	10,27	8,26	7,15	3,94	4,93
	13,37	13,60	11,71	6,86	5,18	2,94	4,29	4,43
3	12,79	12,91	13,06	10,66	6,44	7,99	6,54	4,91
	13,17	13,54	10,99	11,17	6,95	6,77	6,96	6,23
	12,54	9,54	10,04	7,72	7,90	5,30	6,84	4,85
	14,16	9,87	14,39	9,48	6,83	4,82	6,20	5,20
	15,49	13,65	13,81	9,19	8,06	7,25	5,89	5,34
	14,31	13,85	12,02	10,81	7,88	5,99	6,63	4,22
	13,58	8,79	11,25	9,99	8,48	4,98	5,78	5,39
	12,20	11,31	11,09	8,81	6,97	4,80	5,22	5,56
4	13,13	10,85	13,48	11,81	7,35	7,16	6,08	3,64
	13,35	11,30	16,18	15,28	9,30	5,65	5,33	3,29
	14,12	8,73	12,58	11,10	6,57	4,57	6,33	3,68
	14,09	10,17	12,73	9,71	7,34	5,67	5,45	4,85
	14,05	9,64	14,81	9,27	5,66	2,80	5,59	3,67
	13,71	11,42	14,12	7,97	5,07	4,65	4,53	4,03
	14,12	8,93	13,09	10,12	7,56	4,40	5,10	3,75
	12,69	10,62	14,18	8,14	7,12	5,33	5,21	4,00
5	15,72	14,33	14,23	12,05	8,90	7,21	5,80	5,20
	16,93	15,48	15,96	13,96	11,19	7,74	6,36	3,88
	12,80	15,90	11,67	12,42	8,03	7,74	5,80	4,67
	11,88	14,71	12,83	11,44	8,00	6,83	5,36	4,75
	12,46	12,79	17,51	12,47	8,57	5,12	4,86	4,07
	12,47	14,98	15,45	9,74	11,10	6,88	6,45	4,33
	12,20	14,38	13,68	11,65	6,71	6,80	5,71	3,44
	11,71	14,52	13,45	11,67	8,81	6,10	5,80	4,11

6	16,70	16,78	14,48	11,70	9,90	6,76	5,85	4,71
	16,01	17,39	15,93	9,28	7,73	6,93	5,18	4,57
	12,95	12,47	10,26	12,86	10,48	7,01	6,06	5,34
	10,83	14,94	13,87	11,52	10,58	8,32	6,34	4,25
	14,85	17,39	12,69	14,03	9,59	6,66	5,75	5,06
	11,65	15,10	14,33	8,84	9,30	8,43	5,72	4,53
	11,35	14,18	11,20	11,11	8,18	7,15	5,74	5,55
	10,86	18,28	15,50	11,92	7,00	7,45	6,43	5,48
7	13,73	18,24	15,01	14,46	10,25	8,59	5,36	5,92
	13,45	18,02	14,86	11,91	11,24	9,62	7,16	7,48
	11,51	11,04	12,28	9,11	7,00	7,58	6,15	6,17
	13,23	11,16	11,96	10,79	9,77	9,28	6,96	6,91
	14,21	17,18	17,84	15,64	14,46	9,06	8,41	7,21
	15,91	16,54	15,15	11,69	9,39	8,48	7,68	5,82
	12,16	11,02	15,11	12,08	10,53	9,37	8,43	7,22
	12,35	12,98	11,60	12,67	12,71	11,44	9,12	

Annex VIII: Keimgehalt E. coli - Einzelergebnisse der Schweine 2-7 zu jedem Untersuchungszeitpunkt in tabellarischer Form

Schwein	Tag 0	Tag 3/4	Tag 7	Tag 11	Tag 14	Tag 18	Tag 21	Tag 24
2	0,00	11000,00	0,00	32833,00	675000,00	46833,00	2000,00	1100000,00
	0,00	75000	7500	500	13500	3000	0	7000
	0,00	1500,00	2000,00	47500,00	3000,00	0,00	11250,00	750000,00
	0,00	4500,00	1000,00	57500,00	37500,00	1000,00	2500,00	62500,00
	0,00	1800000	4500	500	302500	450000	100000	2450000
	0,00	127500,00	4750,00	5000,00	29000,00	120000,00	1100000,00	270000,00
	0,00	10000,00	15500,00	0,00	80000,00	1050000,00	24000,00	2000,00
	0,00	70000,00	38250,00	60000,00	0,00	4000,00	4000,00	42500,00
3	0,00	92500,00	9000,00	8666667,00	650000,00	5500000,00	2650000,00	325000,00
	0,00	65000,00	20000,00	215000,00	227500,00	97500,00	55000,00	5875000,00
	0,00	145000,00	2000,00	147500,00	8250000,00	3275000,00	3350000,00	3250000,00
	0,00	65000,00	0,00	65000,00	1933333,00	152500,00	1275000,00	1625000,00
	0,00	40000,00	29500,00	8250,00	725000,00	77500,00	1750000,00	14500000,00
	0,00	23250,00	317500,00	85000,00	1350000	57500	19250000	17000000
	0,00	0,00	9000,00	6750000,00	1525000,00	110000,00	21250000,00	8500000,00
	0,00	0,00	90000,00	6500,00	142500,00	27250,00	207500,00	2350000,00
4	0,00	73500,00	50000,00	7000,00	11000,00	5000000,00	143333,00	22633333,00
	0,00	650000,00	278333,00	7000,00	15500,00	6000000,00	39666,00	10000000,00
	0,00	5000,00	1000,00	29750,00	575000,00	117500,00	40000,00	6750000,00
	0,00	1000,00	4750,00	11250,00	77500,00	9500,00	197500,00	2225000,00
	0,00	235000,00	132666,00	725000,00	500,00	4500,00	5250000,00	750000,00
	0,00	815000,00	15750,00	70000,00	3500,00	850000,00	1250000,00	6000000,00
	0,00	34666,00	7500,00	82500,00	27250,00	127500,00	3350000,00	350000,00
	0,00	48500,00	36000,00	26666,00	245000,00	13250000,00	550000,00	3650000,00
5	0,00	1425000,00	925000,00	6000000,00	5250000,00	28666666,00	10500000,00	2966666,00
	0,00	1650000,00	300000,00	3175000,00	20000000,00	95000000,00	12500000,00	15500000,00
	0,00	1125000,00	800000,00	305000,00	425000,00	7750000,00	650000,00	3825000,00
	0,00	460000,00	1150000,00	2025000,00	3500000,00	42500,00	27333333,00	3133333,00
	0,00	120000,00	400000,00	900000,00	425000,00	8500000,00	700000,00	725000,00
	0,00	450000,00	750000,00	610000,00	42500,00	70000,00	75025,00	900000,00
	0,00	350000,00	3083333,00	1300000,00	3500000,00	5500000,00	25500000,00	500000,00
	0,00	1025000,00	1475000,00	600000,00	1050000,00	500,00	650000,00	286666,00

6	0,00	1150000,00	7750000,00	6500000,00	1275000,00	7000000,00	62500,00	255000,00
	0,00	375000,00	4766666,00	1150000,00	2000000,00	23000,00	80000,00	3850000,00
	0,00	425000,00	8750000,00	3500000,00	5750000,00	875000,00	72500,00	2575000,00
	0,00	2275000,00	225000,00	65000,00	70000,00	1125000,00	92500,00	5500000,00
	0,00	800000,00	9500000,00	1175000,00	1175000,00	975000,00	1075000,00	11000000,00
	0,00	925000,00	16250000,00	7750000,00	2533333,00	5250000,00	62500,00	1100000,00
	0,00	100000,00	162500,00	130000,00	37500,00	6250,00	4500,00	7500000,00
	0,00	3533333,00	775000,00	500000,00	45000,00	24666,00	4750000,00	127500,00
7	0,00	2075000,00	400000,00	1500000,00	160000,00	1300000,00	5000000,00	9500000
	0,00	2675000,00	5750000,00	1925000,00	11500000,00	7000000,00	9500000,00	44250000
	0,00	850000,00	550000,00	400000,00	270000,00	1525000,00	25000000,00	850000000
	0,00	500000,00	3000000,00	1175000,00	291667,00	82500,00	28000000,00	14500000
	0,00	22250,00	675000,00	300000,00	2966667,00	4250000,00	16250000,00	105000000
	0,00	2450000,00	975000,00	450000,00	55000000,00	15000000,00	5250000,00	110000
	0,00	82500,00	125000,00	100000,00	750000,00	6500000,00	16500000,00	132500
	0,00	95000,00	1000000,00	250000,00	350000,00	1500000,00	95000	875000

Annex IX: Granulation (nm) - Einzelergebnisse der Schweine 2-7 zu jedem Untersuchungszeitpunkt in tabellarischer Form

Schwein	Tag 0	Tag 3/4	Tag 7	Tag 11	Tag 14	Tag 18	Tag 21	Tag 24
2	0,00	466,00	3948,00	6392,00	6759,00	7344,00	7309,00	7441,00
	0,00	590,00	6234,00	7512,00	7814,00	8506,00	6155,00	8443,00
	0,00	0,00	0,00	0,00	10805,00	9497,00	10411,00	8959,00
	0,00	0,00	0,00	0,00	4249,00	6105,00	7191,00	7286,00
	0,00	921,00	0,00	4735,00	6161,00	7196,00	7786,00	8249,00
	0,00	979,00	0,00	10349,00	8217,00	10619,00	8601,00	7302,00
	0,00	0,00	0,00	0,00	5325,00	6694,00	7749,00	7819,00
	0,00	0,00	0,00	0,00	6146,00	7615,00	9836,00	9018,00
3	0,00	0,00	3538,00	6371,00	6706,00	9986,00	10330,00	7167,00
	0,00	0,00	3319,00	9383,00	6706,00	5991,00	8219,00	7525,00
	0,00	0,00	3152,00	3645,00	6320,00	7919,00	8934,00	8722,00
	0,00	0,00	3558,00	7180,00	6796,00	7296,00	8846,00	9405,00
	0,00	0,00	2935,00	3945,00	8897,00	5677,00	9713,00	3556,00
	0,00	0,00	3612,00	5155,00	9870,00	10444,00	9576,00	6911,00
	0,00	0,00	3869,00	5859,00	10611,00	8901,00	9284,00	7790,00
	0,00	0,00	3026,00	4885,00	9656,00	8997,00	8708,00	8295,00
4	0,00	0,00	1795,00	6178,00	7157,00	7552,00	8301,00	6337,00
	0,00	0,00	2851,00	2862,00	7961,00	9034,00	10001,00	7740,00
	0,00	0,00	2009,00	4475,00	8638,00	9675,00	9943,00	8213,00
	0,00	0,00	2426,00	3211,00	7466,00	9378,00	9487,00	6415,00
	0,00	0,00	3752,00	6546,00	7911,00	6224,00	10812,00	7954,00
	0,00	0,00	1935,00	3882,00	7671,00	8131,00	11344,00	8199,00
	0,00	0,00	2549,00	6936,00	8221,00	7556,00	7073,00	9490,00
	0,00	0,00	2986,00	5942,00	8204,00	6951,00	10001,00	7740,00
5	0,00	0,00	2802,00	5563,00	6613,00	6991,00	9852,00	9491,00
	0,00	0,00	3598,00	3065,00	9781,00	8701,00	10826,00	11306,00
	0,00	0,00	2168,00	6908,00	7315,00	6964,00	9690,00	9660,00
	0,00	0,00	1698,00	6255,00	8601,00	6012,00	10334,00	8179,00
	0,00	0,00	3530,00	4259,00	8929,00	9142,00	7382,00	7351,00
	0,00	0,00	3508,00	5965,00	7990,00	9990,00	8195,00	8585,00
	0,00	0,00	3218,00	6049,00	7225,00	9930,00	6501,00	7467,00
	0,00	0,00	2954,00	4272,00	7881,00	8724,00	5851,00	8731,00

Anhang

6	0,00	0,00	3916,00	6413,00	7578,00	7095,00	7284,00	8416,00
	0,00	0,00	4262,00	7849,00	9164,00	7908,00	6540,00	7134,00
	0,00	0,00	4028,00	6969,00	8095,00	6843,00	7528,00	8165,00
	0,00	0,00	3848,00	6114,00	7008,00	8526,00	5598,00	7062,00
	0,00	0,00	3353,00	5829,00	4279,00	7289,00	7696,00	10561,00
	0,00	0,00	3460,00	6575,00	8920,00	7366,00	7607,00	9621,00
	0,00	0,00	4281,00	5916,00	6692,00	6161,00	6438,00	8010,00
	0,00	0,00	6973,00	5941,00	8039,00	8622,00	6348,00	10268,00
7	0,00	0,00	2743,00	5645,00	7039,00	8689,00	6849,00	7676,00
	0,00	0,00	228,00	4217,00	5332,00	9247,00	9832,00	8002,00
	0,00	0,00	5826,00	6225,00	8761,00	7105,00	6709,00	7827,00
	0,00	0,00	3923,00	3993,00	7277,00	7590,00	8160,00	8516,00
	0,00	0,00	2103,00	3420,00	6275,00	7666,00	7492,00	7848,00
	0,00	0,00	4876,00	6026,00	10344,00	9858,00	8118,00	8553,00
	0,00	0,00	7513,00	5748,00	7576,00	9596,00	8114,00	9307,00
	0,00	0,00	2361,00	7330,00	8351,00	8541,00	6887,00	8724,00

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Schichten der normalen humanen Haut (aus: Thomas: Histologie: Begleitbuch für die Kurse Histologie und Histopathologie, 2006 - mit freundlicher Genehmigung des Autors)	9
Abbildung 2:	Verlauf der primären und sekundären Wundheilung (modifiziert nach: Knottenbelt: Wundversorgung in der Pferdepraxis, 2006 - mit freundlicher Genehmigung des Verlages) ..	21
Abbildung 3:	Operationsvorbereitung	44
Abbildung 4:	Markieren der Wundverteilung	45
Abbildung 5:	Exzisionsstanze	46
Abbildung 6:	Frisch gesetzte Wunde.....	47
Abbildung 7:	Fertig präparierte und mit Mepilex® bedeckte Wunde	49
Abbildung 8:	Steril vorbereiteter OP-Tisch vor Beginn eines Eingriffs oder Verbandwechsels	49
Abbildung 9:	Schwein postoperativ in Generalanästhesie und Seitenlage mit fertig applizierter Wundabdeckung	50
Abbildung 10:	narkotisiertes, extubiertes Schwein postoperativ in der Aufwachphase	51
Abbildung 11:	mit sterilen Tüchern abgegrenztes Wundfeld bei Verbandswechsel vor steriler Probenentnahme und Wundkontrolle	53
Abbildung 12:	mit sterilen Abdecktüchern begrenztes Wundfeld bei Verbandswechsel nach Probenentnahme und Dokumentation	54
Abbildung 13:	BD Sensidiscs® zur Keimzahlbestimmung im Wundgrund.....	56
Abbildung 14:	Biopsieentnahme mittels Biopsiestanze	59
Abbildung 15:	Blutwertemessgerät Vet ABC®	61
Abbildung 16:	Produktbild Mepilex® (Firma Mölnlycke Health Care - mit freundlicher Genehmigung zur Bildnutzung)	63
Abbildung 17:	Produktbild Mepilex lite® (Firma Mölnlycke Health Care - mit freundlicher Genehmigung zur Bildnutzung).....	64
Abbildung 18:	Produktbild Tegaderm® (Firma 3M Healthcare - mit freundlicher Genehmigung zur Bildnutzung)	65
Abbildung 19:	Wunde Tag 0	67
Abbildung 20:	Wunde VW 1 (Tag 3)	67
Abbildung 21:	Wunde VW 2 (Tag 7)	67
Abbildung 22:	Wunde VW 3 (Tag 10)	67

Abbildung 23: Wunde VW 4 (Tag 14)	68
Abbildung 24: Wunde VW 5 (Tag 17)	68
Abbildung 25: Wunde VW 6 (Tag 21)	68
Abbildung 26: Wunde Euthanasietag (Tag 24).....	68
Abbildung 27: Wundfläche: vergleichender Verlauf der infizierten und nicht-infizierten Wunden	69
Abbildung 28: vergleichender Verlauf der Granulation der infizierten und nicht-infizierten Wunden	70
Abbildung 29: <i>E. coli</i> im Wundgrund: vergleichender Verlauf der infizierten und nicht-infizierten Wunden ..	71
Abbildung 30: Leukozytengehalt im Blut: vergleichender Verlauf der infizierten und nicht-infizierten Tiere..	72
Abbildung 31: Wollina-Score: vergleichender Verlauf der infizierten und nicht-infizierten Wunden	73
Abbildung 32: Wollina-Score Bewertungsgrundlage (nach Schmidt et al. 2002)	92

Literaturverzeichnis

- Ackermann, M. R. (2007). Chronic Inflammation and Wound Healing. Pathologic basis of veterinary disease. M. D. McGavin und J. F. Zachary. St. Louis, Mo., Mosby Elsevier: 153-193.
- Ahne, W. (2007). Versuchstiere. Tierversuche- Im Spannungsfeld von Praxis und Bioethik. Stuttgart, Schattauer Verlag: 15-18.
- Allam, S. und Heidemann, E. (1974). "Isolation, characterization and comparative studies of the N-terminal peptides from soluble pig skin collagen." FEBS Letters 39(2): 187-189.
- André, N. (2007). "Sekundäre Wundheilung in der Kleintiermedizin: Die erfolgreiche Anwendung der Tissuepor® Wundauflage." Der Praktische Tierarzt 88(5): 327-330.
- Anonym (1997). "Ärzteblatteigenbericht: Chronische Wunden: Feuchtes Milieu fördert Wundheilung." Deutsches Ärzteblatt 94(47): A-3204.
- Anonym (2012). Grundgesetz für die Bundesrepublik Deutschland vom 23. Mai 1949 (BGBl. S. 1), zuletzt geändert durch das Gesetz vom 11. Juli 2012 (BGBl. I S. 1478).
- Anonym (2013a). Tierschutzgesetz in der Fassung der Bekanntmachung vom 18. Mai 2006 (BGBl. I S. 1206, 1313), zuletzt geändert durch Artikel 4 Absatz 90 des Gesetzes vom 7. August 2013 (BGBl. I S. 3154).
- Anonym (2013b). Statista: Verbreitetste Haustiere in Deutschland von 2010 bis 2014 (Haustierbesitzer in Millionen), Statista, <http://de.statista.com/statistik/daten/studie/182518/umfrage/besitzer-von-haustieren-nach-haustierart/> (zuletzt besucht am 18.11.2014).
- Baschong, W. (1998). "Wundheilungsmodelle- Möglichkeiten und Grenzen." Hartmann WundForum 1: 16-19.
- Becker, H. D. und Coerper, S. (2012). Wunde, Wundheilung und Wundbehandlung. Chirurgie. J. R. Siewert. Berlin Heidelberg, Springer: 57-75.
- Bernatchez, S. F., Parks, P. J. et al. (1998). "Histological characterization of a delayed wound healing model in pig." Wound Repair Regen 6(3): 223-233.
- BMELV (2013). Versuchstierzahlen 2012. www.bmel.de/DE/Tier/Tierschutz/_texte/TierschutzTierforschung.html, Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (zuletzt besucht am 18.11.2014).
- Bowler, P. (1998). "The anaerobic and aerobic microbiology of wounds: a review." Wounds(10): 170-178.

- Braun, M. (2009). Gilt der Grundsatz "Hauptsache die Wunde ist trocken" noch? Norderstedt, Schluetersche Verlagsgesellschaft, www.vetline.de/gilt-der-grundsatz-hauptsache-die-wunde-ist-trocken-noch/150/3252/68210 (zuletzt besucht am 18.11.2014).
- Braun, M. (2010). "Phasengerechter Einsatz von Wundauflagen." *Der praktische Tierarzt* 91(10): 885-889.
- Bronaugh, R. L. und Stewart, R. F. (1985). "Methods for in vitro percutaneous absorption studies IV: The flow-through diffusion cell." *J Pharm Sci* 74(1): 64-67.
- Bucknall, T. E. (1980). "The effect of local infection upon wound healing: an experimental study." *Br J Surg* 67(12): 851-855.
- Chvapil, M. und Chvapil, T. (1992). Wound healing models in the miniature Yucatan pig. Swine as models in biomedical research. M. Swindle, Iowa State University Press, Ames (Iowa): 265-288.
- Clark, R. A. F. (1996). Wound repair: Overview and general considerations. The molecular and cellular biology of wound repair. R. A. F. Clark. New York, Plenum Press: 13-35.
- Cramer, H.-J. (1988). Tiere in der Arzneimittelforschung- Nutzen und Grenzen von Tierversuchen und anderen experimentellen Modellen. Frankfurt/ Main, Bundesverband der pharmazeutischen Industrie, Abt. Presse und Öffentlichkeitsarbeit: 5-8.
- Cribbs, R. K., Luquette, M. H. et al. (1998). "A standardized model of partial thickness scald burns in mice." *J Surg Res* 80(1): 69-74.
- Daniel, R. K., Wheatley, D. et al. (1985). "Pressure sores and paraplegia: an experimental model." *Ann Plast Surg* 15(1): 41-49.
- Davidson, J. M. (2001). "Experimental animal wound models." *Wounds* 13(1): 9-23.
- Dettmers, A. E., Rempel, W. E. et al. (1965). "Selection for small size in swine." *J Anim sci* 24: 216-220.
- Dettmers, A. E., Rempel, W. E. et al. (1971). "Response to recurrent mass selection for small size in swine." *J Anim Sci* 33(6): 1212-1215.
- DFG (1984). Der Tierversuch als wissenschaftliche Methode; Tierexperimentelle Forschung und Tierschutz. Mitteilung III der Kommission für Versuchstierforschung. Weinheim, Wiley-VCH: 17-22.
- DFG (1991). Novellierung des Tierschutzgesetzes 1986. Information für den Forscher. Weinheim, Wiley-VCH.

- Dietz, O. und Thein, P. (2004). Chirurgische Infektionslehre. Lehrbuch der allgemeinen Chirurgie für Tiermediziner. O. Dietz und K.-F. Litzke. Stuttgart, Enke Verlag. 1: 37-62.
- Drexhage, H. A., Mullink, H. et al. (1979). "A study of cells present in peripheral lymph of pigs with special reference to a type of cell resembling the Langerhans cell." *Cell Tissue Res* 202(3): 407-430.
- Dyson, M., Young, S. et al. (1988). "Comparison of the effects of moist and dry conditions on dermal repair." *J Invest Dermatol* 91(5): 434-439.
- Eberlein, T., Glau, S. et al. (2006). "Qualität sichtbar machen - Rechtssicherheit gewährleisten: Entwicklung eines neuen Wunddokumentationssystems." *Pflegezeitschrift H.6*: 359- 361.
- Ebrecht, D., Winterhoff, N. et al. (2005). "Bedeutung koagulase-negativer Staphylokokken bei caninen postoperativen Wundinfektionen." *Praktischer Tierarzt* 86(7): 470-473.
- Eckardt, N. (2005). "Aus der Praxis für die Praxis: Neues Wunddokumentationsprogramm". *Heilberufe* 6: 66.
- Eckert, R. L. (1992). The structure and function of skin. *Pharmacology of the skin*. H. Mukhtar. Boca Raton, CRC Press: 3-12.
- Elias, P. M. (1983). "Epidermal lipids, barrier function, and desquamation." *J Invest Dermatol* 80 Suppl: 44s-49s.
- Emori, T. G. und Gaynes, R. P. (1993). "An overview of nosocomial infections, including the role of the microbiology laboratory." *Clin Microbiol Rev* 6(4): 428-442.
- Falanga, V. (1988). "Occlusive wound dressings. Why, when, which?" *Arch Dermatol* 124(6): 872-877.
- Fuhrmann und Schütz (2009). *Moderne Wundversorgung in Deutschland*. www.nationale-expertendebatte.de/?dl_id=3 (zuletzt besucht am 18.11.2014).
- Fürst, A. (2002). *Entwicklung eines flexiblen Epidermistransplantats zur Behandlung von Vollhautwunden am Schwein*. Abteilung für Plastische- und Handchirurgie, Städtisches Krankenhaus München- Bogenhausen. München, Technische Universität München. Inauguraldissertation: 99.
- Furter, S. und Jasch, K. C. H. (2007). *Aufbau und Funktion der Haut*. Crashkurs Dermatologie. Stuttgart, Urban & Fischer Verlag/ Elsevier GmbH: 1-9.
- Gal, P., Kilik, et al. R. (2008). "Simple method of open skin wound healing model in corticosteroid-treated and diabetiv rats: standardization of semi-quantitative and quantitative histological assessments." *Veterinari Medicina* 53(12): 652-659.

- Garrett, B. und Garrett, S. B. (1997). "Cellular communication and the action of growth factors during wound healing." *J Wound Care* 6(6): 277-280.
- Geist, A. (2006). Durchflusszytometrische Untersuchungen der Leukozytenphänotypen aus dem Blut von Schweinen unter besonderer Berücksichtigung postoperativer Veränderungen. Klinik für Kleintiere, Innere Medizin und klinische Laboratoriumsdiagnostik der Justus-Liebig-Universität Gießen, Zentrale Klinische Forschung der Universitätsklinik der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg im Breisgau. Giessen, Freiburg. Inauguraldissertation: 137.
- Georgiev, S. und Schoen, A. (1973). "[Behaviour of the dwarf pig during various degrees of air humidity and heat load]." *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 86(11): 208-213.
- Geubbels, E. L., Mintjes-de Groot, A. J. et al. (2000). "An operating surveillance system of surgical-site infections in The Netherlands: results of the PREZIES national surveillance network. Preventie van Ziekenhuisinfecties door Surveillance." *Infect Control Hosp Epidemiol* 21(5): 311-318.
- Greenhalgh, D. G., Sprugel, K. H. et al. (1990). "PDGF and FGF stimulate wound healing in the genetically diabetic mouse." *Am J Pathol* 136(6): 1235-1246.
- Grehn, M. (1985). "Epidemiologische Fragen bei Staphylokokkeninfektionen." *Schweiz Rundsch Med Prax* 74(43): 1172-1174.
- Grey, J. E., Enoch, S. et al. (2008). Die Beurteilung einer Wunde. Ärztliche Wundversorgung- Das ABC der Wundheilung. J. E. Grey und K. G. Harding. München, Elsevier Urban und Fischer: 1-10.
- Grünberg, W. (1992). Der Tierversuch als Methode der biomedizinischen Forschung. Experimentelle Chirurgie. L. Kronberger. Stuttgart, Enke Verlag: 18-24.
- Güttner, J., Bruhin, H. et al. (1993). Wörterbuch der Versuchstierkunde. Jena, Gustav Fischer Verlag.
- Habermehl, K.-H. (2005). Haut und Hautorgane. Anatomie der Haussäugetiere: Kreislaufsysteme, Haut und Hautorgane. Nickel, Schummer und Seiferle. Stuttgart, Parey Verlag. 3: 508-510.
- Hackbarth, H. und Lückert, A. (2002). Das Tierschutzgesetz. Tierschutzrecht; Leitfaden für die Praxis. Heidelberg, Hütig Jehle Rehm: 21-187.
- Hackett, R. P. (1983). "Delayed Wound Closure A Review and Report of Use of the Technique on Three Equine Limb Wounds." *Veterinary Surgery* 12(1): 48-53.
- Harbarth, S. J. (2006). Postoperative Wundinfektionen. Praktische Krankenhaushygiene und Umweltschutz. F. Daschner, M. Dettenkofer, U. Frank und M. Scherrer. Heidelberg, Springer Medizin Verlag. 1: 62-77.

- Hau, J. (2003). Animal models. Handbook of laboratory animal science. J. Hau und G. L. Van Hoosier. Boca Raton, Fla., CRC Press: 1-9.
- Hedlund, C. S. (2009). Haut. Chirurgie der Kleintiere. T. W. Fossum. München Jena, Urban & Fischer: 173-275.
- Held, J. R. (1983). "Appropriate animal models." Ann N Y Acad Sci 406: 13-19.
- Hennemann, L. (2012) "Weniger Mäuseelend." Die Zeit Online. www.zeit.de/2012/40/Tierversuche-Forschung-Ethik-Tierschutz (zuletzt besucht am 18.11.2014).
- Hinrichsen, N., Birk-Sorensen, L. et al. (1998). "Wound contraction in an experimental porcine model." Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg 32(3): 243-248.
- Hirsch, T., Spielmann, M. et al. (2008). "Enhanced susceptibility to infections in a diabetic wound healing model." BMC Surg 8: 5-13.
- Hübler, C. (2009). Wundbehandlung bei Hund und Katze- Unter besonderer Berücksichtigung von Biss- und Abrasionsverletzungen. Klinik für Kleintiere, Chirurgie Giessen, Justus Liebig Universität Giessen. Inaugural-Dissertation: 129.
- Hutchinson, J. J. und Lawrence, J. C. (1991). "Wound infection under occlusive dressings." J Hosp Infect 17(2): 83-94.
- Hutchinson, J. J. und McGuckin, M. (1990). "Occlusive dressings: a microbiologic and clinical review." Am J Infect Control 18(4): 257-268.
- Jannasch, O. und Lippert, H. (2012). Wunde, Wundheilung und Wundbehandlung; Chirurgie: mit integriertem Fallquiz- 40 Fälle nach neuer AO; Siewert, J.R., Stein, H. J. et al. Berlin, Springer Verlag: 57-75.
- Jones, V., Grey, J. E. et al. (2006). "Wound dressings." BMJ 332(7544): 777-780.
- Junqueira, L., Carneiro, J. et al. (2004). Haut. Histologie- neue Approbationsordnung. Heidelberg, Springer Verlag: 305-319.
- Kayser, F. H. und Böttger, E. C. (2010). Bakterien als Krankheitserreger. Taschenlehrbuch Medizinische Mikrobiologie. F. Kayser, E. Böttger, R. Zinkernagel et al. Stuttgart, Georg Thieme Verlag. 1: 245-355.
- Keller, C. (2010) Wunden und chirurgische Infektionen. Chirurgie Orthopädie Urologie- Lehrbuch für Pflegeberufe; zur Mühlen, M. und Keller, C.; München, Elsevier GmbH/ Urban & Fischer Verlag: 32-63.

- King, I. A. und Tabiowo, A. (1980). "The dermis is required for the synthesis of extracellular glycosaminoglycans in cultured pig epidermis." *Biochim Biophys Acta* 632(2): 234-243.
- Kiritsy, C. P., Lynch, A. B. et al. (1993). "Role of growth factors in cutaneous wound healing: a review." *Crit Rev Oral Biol Med* 4(5): 729-760.
- Klaus, G. und Buhr, M. (1969). *Philosophisches Wörterbuch. d. v. d. w. buch.* Leipzig, Buhr, Manfred.
- Knottenbelt, D. (2006). *Faktoren der verzögerten Wundheilung. Wundversorgung in der Pferdepraxis.* München, Elsevier GmbH / Urban & Fischer Verlag: 25-34.
- Kraft, W. und Dürr, U. M. (2013). *Hämatologie. Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin,* Stuttgart, Schattauer Verlag: 79-156.
- Kramer, A. und Hoffmann, G. (2006). "GMS Krankenhaushygiene Interdisziplinär - die infizierte Promblemwunde." *GMS Krankenhaushygiene Interdisziplinär* 1(1): 1-3.
- Kramer, M. (2004). *Wundheilung. Lehrbuch der allgemeinen Chirurgie für Tiermediziner.* O. Dietz und L.-F. Litzke. Stuttgart, Enke Verlag. 1: 27-34.
- Krech, T. und Traber, J. (2010). "Bakterien in chronischen Wunden." *Ars Medici* 23: 960-964.
- Krizek, T. J. und Robson, M. C. (1975). "Biology of surgical infection." *Surg Clin North Am* 55(6): 1261-1267.
- Kujath, P. und Michelsen, A. (2008). "Wunden - von der Physiologie zum Verband." *Deutsches Ärzteblatt*(13): 239-248.
- Liebich, H.-G. (2009). *Allgemeine Körperdecke (Integumentum commune). Funktionelle Histologie der Haussäugetiere: Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis.* Stuttgart, Schattauer Verlag. 1: 345-368.
- Lins, W. (1999). *Haut, Hautanhangsgebilde. Histologie - Zytologie, allgemeine Histologie, mikroskopische Anatomie.* J. Fanghänel. Berlin, de Gruyter: 307-321.
- Lippert, H. (2012). *Geschichte der Wundheilung. Wundatlas- Kompendium der komplexen Wundbehandlung.* H. Lippert. Stuttgart, Georg Thieme Verlag: 17-21.
- Manna, V., J. Bem, et al. (1982). "An animal model for chronic ulceration." *Br J Dermatol* 106(2): 169-181.
- Martin, P. (1997). "Wound healing -- aiming for perfect skin regeneration." *Science* 276(5309): 75-81.

- Mast, B. A. und Schultz, G. S. (1996). "Interactions of cytokines, growth factors, and proteases in acute and chronic wounds." *Wound Repair Regen* 4(4): 411-420.
- McAnulty, P. A. (2012). History and development of Miniature, Micro- and Minipig. The minipig in biomedical research. Boca Raton, CRC Press/Taylor & Francis: 3-17.
- Meurer, D. und Wolf, S. (2007). Wundheilung im Bereich der Haut. Allgemeine Pathologie; Kompendium für die Veterinärmedizin. Stuttgart, Schattauer Verlag: 233-235.
- Meyer, W. (1996). "Bemerkungen zur Eignung von Schweinehaut als biologisches Modell für die Haut des Menschen." *Der Hautarzt* 47(3): 178-182.
- Meyer, W., Neurand, K. et al. (1981). "Elastic fibre arrangement in the skin of the pig." *Arch Dermatol Res* 270(4): 391-401.
- Meyer, W., Neurand, K. et al. (1982). "Collagen fibre arrangement in the skin of the pig." *J Anat* 134(Pt 1): 139-148.
- Meyer, W., Schwarz, R. et al. (1978). "The skin of domestic mammals as a model for the human skin, with special reference to the domestic pig." *Curr Probl Dermatol* 7: 39-52.
- Meyrat, R. (2007). "Wundheilung- Zusammenfassung des Vortrages an der Neujahresfortbildung 2007 des Ärztevereins Werdenberg- Sargans und der Liechtensteinischen Ärztekammer." *Röhrliposcht - Labormedizinisches Zentrum Dr. Risch* (54): 4-7.
- Miethke, T. und Wagner, H. (2012). Chirurgische Infektionslehre. Chirurgie. J. R. Siewert, Berlin, Springer Verlag. 1.6: 75- 99.
- Molnar, L. (2002). "Wundheilung beim Pferd: Narbe, Caro luxurians, Hauttransplantation." *Der praktische Tierarzt* 83(7): 618-621.
- Müller, W. (2004). "Spalthaut- und Vollhautplastiken." *Mund Kiefer Gesichtschirurg* 4(Suppl 1): 314-321.
- Mustoe, T. A., Purdy, J. et al. (1989). "Reversal of impaired wound healing in irradiated rats by platelet-derived growth factor-BB." *Am J Surg* 158(4): 345-350.
- Odland, G. F. (1958). "The fine structure of the interrelationship of cells in the human epidermis." *J Biophys Biochem Cytol* 4(5): 529-538.
- Odland, G. F. (1983). The structure of the skin. Biochemistry and physiology of the skin. L. A. Goldsmith. New York, Oxford University Press. 1: 3-63.
- Paetz, B. (2009). Wunden. Chirurgie für Pflegeberufe. B. Paetz. Stuttgart, Georg Thieme Verlag. 1: 15-35.

- Pavletic, M. M. (1993). The Integument. Textbook of small animal surgery. D. H. Slatter. Philadelphia, Saunders. 1: 260-280.
- Pees, M. (2011). Gefieder- und Hautveränderungen. Leitsymptome bei Papageien und Sittichen. M. Pees. Stuttgart, Enke Verlag: 152-181.
- Perez, R. und Davis, S. (2008). "Relevance of Animal models for wound healing." Wounds 20(1): 3-8.
- Piatek, S. und Tautenhahn, J.(2012a). Physiologie der Wundheilung. Wundatlas-Kompodium der komplexen Wundbehandlung. H. Lippert. Stuttgart, Georg Thieme Verlag. 1: 44-49.
- Piatek, S. und Tautenhahn, J. (2012b). Wundkomplikationen. Wundatlas- Kompodium der komplexen Wundbehandlung. H. Lippert. Stuttgart, Georg Thieme Verlag: 58-69.
- Piatek, S., Tautenhahn, J. et al. (2012c). Lokalbehandlung sekundär heilender Wunden. Wundatlas- Kompodium der komplexen Wundbehandlung. H. Lippert. Stuttgart, Georg Thieme Verlag: 76-131.
- Piatek, S., Tautenhahn, J. et al. (2012d). Pathogenese und Therapie chronischer Wunden. Wundatlas- Kompodium der komplexen Wundbehandlung. H. Lippert. Stuttgart, Georg Thieme Verlag: 307-357.
- Plonait, H. und Bickhardt, K. (1988). Blutkrankheiten. Lehrbuch der Schweinekrankheiten. Berlin, Paul Parey Verlag: 117-132.
- Protz, K. (2005). "Moderne Wundaufgaben unterstützen den Heilungsprozess." Geriatrie Journal 4/05: 3333-3339.
- Puhlmann, J. (2005). "Expression von porzinen endogenen Retroviren in metastasierenden Melanomen und Melanomzelllinien von Troll Schweinen." Technische Fachhochschule Berlin, Diplomarbeit zur Erlangung des akademischen Grades einer Diplom-Ingenieurin (FH).
- Ramos, M. L., Gragnani, A. et al. (2008). "Is there an ideal animal model to study hypertrophic scarring?" J Burn Care Res 29(2): 363-368.
- Reichert, T. (2006) "Forschung an Tieren." Uni Saarland, Seminararbeit: 55.
- Riedel, S. (2003). "Vergleichende Untersuchungen zur dermalen Penetration und Permeation in Diffusionszellen." Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie Hannover, Tierärztlichen Hochschule Inauguraldissertation: 102-111.
- Rose, C. und Rozée, B. (2012). Hauttransplantation. Chirurgie Basisweiterbildung: In 100 Schritten durch den Common Trunk. K.-W. Jauch, W. Mutschler und M. Wichmann, Stuttgart, Springer Verlag. 1: 209-215.

- Russell, W. M. S., Burch, R. L. et al. (1959). The Sources, Incidence, and Removal of inhumanity. The principles of humane experimental technique. London, Methuen: 4:238.
- Rytz, U. (2004). Wunde, Wundheilung. Kompendium der allgemeinen Veterinärchirurgie. M. Kramer. Hannover, Schlütersche. 1: 274-277.
- Sambras, H. (2011). Farbatlas der Nutztierassen: 263 Rassen in Wort und Bild. Stuttgart, Eugen Ulmer GmbH. 1: 304- 323.
- Scharffetter-Kochanek, K., Schüller, J. et al. (2003). "Das chronisch venöse Ulcus cruris." JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft 1(1): 58-68.
- Schmidt, W. D., Liebold, K. et al. (2001). "Contact-free spectroscopy of leg ulcers: principle, technique, and calculation of spectroscopic wound scores." J Invest Dermatol 116(4): 531-535.
- Schumpelick, V., Bleese, N. M. et al. (2010). Prä-, intra- und postoperative Phase, Begutachtung. Kurzlehrbuch Chirurgie. Stuttgart, Georg Thieme Verlag. 1: 3-123.
- Singer, A. J. und S. A. McClain (2002). "Persistent wound infection delays epidermal maturation and increases scarring in thermal burns." Wound Repair Regen 10(6): 372-377.
- Singer, A. J. und McClain, S. A. (2003). "Development of a porcine excisional wound model." Acad Emerg Med 10(10): 1029-1033.
- Smola, H., Eming, S. et al. (2001). "Wundheilung und Wundheilungsstörungen: Moderne Konzepte zur Pathophysiologie und Therapie." Deutsches Ärzteblatt 98(43).
- Smolle, J. (1998). Grundlagen der Dermatologie. Dermatologie und Venerologie. B. M. Henz, H. Kerl, T. Rosenbach und W. Sterry. Berlin, Walter de Gruyter. 1: 1-18.
- Spielberg, P. (2010). "Tierversuche in der medizinischen Forschung: Druck von allen Seiten." Deutsches Ärzteblatt 107(36).
- Spielmann, M. (2009). Adenovirale Gentherapie mit humanem Beta Defensin 3 im infizierten Wundmodell am diabetischen Schwein. Handchirurgie- Zentrum. Bochum, Ruhr- Universität. Inauguraldissertation: 92.
- Stashak, T. S., Farstvedt, E. et al. (2004). "Update on wound dressings: Indications and best use." Clinical Techniques in Equine Practice 3(2): 148-163.
- Steible, J. I. (2001). Der Hund als Tiermodell in der Parodontologie am Beispiel der rekonstruktiven Parodontitistherapie. Institut für Tierschutz und Verhalten; Institut für Versuchstierkunde, Zentrallaboratorium. Hannover, Tierärztliche Hochschule. Inauguraldissertation: 9-71.

- Steinsträsser, L., Hasler, R. et al. (2008). "Therapieoptionen der Zukunft bei chronischen Wunden." *Chirurg*(79): 555-559.
- Streit, M. und Mayer, D. (2009). "Infektionen chronischer Wunden." *Zeitschrift für Wundheilung*(3): 160-176.
- Striowsky, E. (2012). *So sind Minischweine. Minischweine: Haltung, Pflege, Erziehung.* Stuttgart, Franckh-Kosmos Verlags-GmbH & Co KG: 10-24.
- Sullivan, T. P., Eaglstein, W. H. et al. (2001). "The pig as a model for human wound healing." *Wound Repair Regen* 9(2): 66-76.
- Svedman, P., Ljungh, A. et al. (1989). "Staphylococcal wound infection in the pig: Part I. Course." *Ann Plast Surg* 23(3): 212-218.
- Swaim, S. F., Bradley, D. M. et al. (1993). "The greyhound dog as a model for studying pressure ulcers." *Decubitus* 6(2): 32-35, 38-40.
- Swaim, S. F. und Henderson, R. A. (1997). *Small animal wound management.* Baltimore, Md., Williams & Wilkins: 18-56.
- Swaim, S. F., Renberg, W. C. et al. (2013). *Verbandsmanagement in der Kleintierpraxis: Verbände, Gipse und Schienen.* Hannover, Schlütersche Verlagsgesellschaft: 7-17.
- Szycher, M. und Lee, S. J. (1992). "Modern wound dressings: a systematic approach to wound healing." *J Biomater Appl* 7(2): 142-213.
- Talukdar, A. H., Calhoun, M. L. et al. (1972). "Microscopic anatomy of the skin of the horse." *Am J Vet Res* 33(12): 2365-2390.
- Tanaka, H., Kitoh, Y. et al. (1994). "[Development of a new delayed healing model of an open skin wound and effects of M-1011G (ointment gauze containing 5% lysozyme hydrochloride) on the model]." *Nippon Yakurigaku Zasshi* 104(2): 121-131.
- Tautenhahn, J. und Piatek, S. (2012). *Störfaktoren der Wundheilung. Wundatlas-Kompendium der komplexen Wundbehandlung.* H. Lippert. Stuttgart, Georg Thieme Verlag. 1: 50-57.
- Thomas, C., Aumüller, G. et al. (2006). *Haut- Weichteile. Histologie- Begleitbuch für die Kurse Histologie und Histopathologie.* C. Thomas. Marburg, KVM Dr. Kolster Produktions- und Verlags. GmbH. 1: 299-374.
- Thomas, S. (1990). *Functions of a wound dressing. Wound management and dressings.* London, Pharmaceutical Press: 9-19.
- van Zutphen, L. F. M. (1995). *Tiermodelle. Grundlagen der Versuchstierkunde- Ein Beitrag zum tierschutzgerechten Umgang mit Versuchstieren und zur Qualität*

- tierexperimenteller Ergebnisse. L. F. M. van Zutphen, V. Baumanns und A. C. Beynen. Stuttgart, Fischer: 171-177.
- Waldron, D. und Zimmermann-Pope, N. (2003). Superficial skin wounds. Textbook of small animal surgery. D. H. Slatter. Philadelphia, W.B. Saunders: 259-273.
- Walters, M. C., 3rd, Roe, F. et al. (2003). "Contributions of antibiotic penetration, oxygen limitation, and low metabolic activity to tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms to ciprofloxacin and tobramycin." *Antimicrob Agents Chemother* 47(1): 317-323.
- Weiß, J., Becker, K. et al. (2009). Versuchsplanung und -durchführung. Tierpflege in Forschung und Klinik. Stuttgart, Enke Verlag: 340-393.
- Welsch, U. und Deller, T. (2010). Haut. Sobotta Lehrbuch Histologie. München, Urban & Fischer Verlag / Elsevier GmbH. 1: 465: 483.
- Wennemuth, G. (2012). Haut (Integumentum commune, Cutis). Taschenatlas Histologie. G. Wennemuth. Stuttgart, Urban & Fischer Verlag/Elsevier GmbH. 1: 184-194.
- Weyrauch, K. D., Smollich, A. et al. (2009). Haut und Hautorgane (Integumentum commune). Histologie- Kurs für Veterinärmediziner. Stuttgart, Enke Verlag. 1: 133-141.
- Winter, G. D. (1962). "Formation of the scab and the rate of epithelization of superficial wounds in the skin of the young domestic pig." *Nature* 193: 293-294.
- Wintzer, H.-J. und Dämmrich, K. (1993). Traumatologie. Allgemeine Chirurgie für Tierärzte und Studierende. H. Schebitz, W. Brass und H.-J. Wintzer. Berlin, Paul Parey Verlag: 34-55.
- Wollina, U., Berger, U. et al. (1991). "Immunohistochemistry of porcine skin." *Acta Histochem* 90(1): 87-91.
- Wright, J. B., Lam, K. et al. (2002). "Early healing events in a porcine model of contaminated wounds: effects of nanocrystalline silver on matrix metalloproteinases, cell apoptosis, and healing." *Wound Repair Regen* 10(3): 141-151.

Danksagung

Mein Dank gilt an erster Stelle meinem externen Doktorvater und Betreuer Professor Dr. med. vet. Martin Sager, Leiter der Tierversuchsanlage der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, für die Überlassung des Dissertationsthemas, die Einbindung in das Forschungsteam und die wissenschaftliche Förderung. Seine herzliche, geduldige Unterstützung in allen Phasen der Entstehung dieser Arbeit, das immerwährend offene Ohr und viele konstruktive Anregungen haben die Umsetzung dieses Projekts maßgeblich geprägt.

Bei Herrn Professor Dr. Dr. h.c. Martin Kramer, Klinik für Kleintiere, Justus-Liebig-Universität Gießen, der als interner Betreuer die Realisierung dieser Arbeit erst möglich machte, möchte ich mich herzlich für seine freundliche Geduld und die stets prompte und prägnante Beantwortung aller auftretenden Fragen danken.

Ganz herzlich danke ich dem gesamten Team der Tierversuchsanlage der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, insbesondere Frau Iris Schrey, für die sehr angenehme Zusammenarbeit und die große Hilfsbereitschaft während der Durchführung der Studie.

Dem Team des zell- und molekularbiologischen Labors der Klinik für Unfall- und Handchirurgie, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, insbesondere Frau Jutta Schneider und Frau Samira Seghrouchni, danke ich herzlich für ihren unermüdlichen Einsatz und ihre tatkräftige Unterstützung.

Besonderer Dank gilt unserer Arbeitsgruppe WUTZ, insbesondere Frau Dr. med. Ulla Stumpf, für die intensive und produktive Zusammenarbeit während der Durchführung des experimentellen Teils der Studie und der Ergebnisauswertung.

Aus tiefstem Herzen danke ich meiner Familie, insbesondere meinen geliebten Eltern und meinem phantastischen Ehemann, die mich in allen Phasen dieser Arbeit mit unerschütterlicher Liebe und Ausdauer auf jede denkbare Weise unterstützt und gefördert haben.

Selbstständigkeitserklärung

Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der "Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis" niedergelegt sind, eingehalten."

Mülheim an der Ruhr, den 25.06.2015

Inga Grehn-Kraft



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
STAUFENBERGRING 15
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890
redaktion@doktorverlag.de
www.doktorverlag.de

ISBN: 978-3-8359-6452-5



9 783835 1964525

Cover picture: © avtorpainter @ fotolia.de