

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität  
München

**Vergleichende Beurteilung von Wundheilung,  
systemischen Effekten sowie mikrobiologischer  
Besiedelung offener Wunden unter besonderer  
Berücksichtigung der Vakuumtherapie**

von Rebecca Gabriele Albert

aus Mömbris

München 2021

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Chirurgie der Kleintiere

Arbeit angefertigt unter der Leitung von:

Univ.-Prof. Dr. med. vet. Andrea Meyer-Lindenberg

Mitbetreuung durch: Dr. med. vet. Mirja Nolff

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.

Berichterstatter: Univ.- Prof. Dr. Andrea Meyer-Lindenberg

Korreferent: Priv.-Doz. Dr. Rebecca Kenngott

Tag der Promotion: 06.02.2021

Meiner Familie

„Mit kleinen Hieben fällt man die großen Bäume“

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>I. EINLEITUNG.....</b>	<b>1</b>
<b>II. LITERATURÜBERSICHT.....</b>	<b>3</b>
<b>1. Definition Wunde .....</b>	<b>3</b>
<b>2. Klassifikation von Wunden .....</b>	<b>3</b>
2.1. Saubere Wunden .....	4
2.2. Sauber-kontaminierte Wunden.....	4
2.3. Kontaminierte Wunden .....	4
2.4. Infizierte Wunden.....	4
<b>3. Wundheilung .....</b>	<b>5</b>
3.1. Definition Wundheilung.....	5
3.2. Phasen der Wundheilung.....	5
3.2.1. Entzündungsphase .....	5
3.2.2. Proliferationsphase .....	6
3.2.3. Maturationsphase .....	7
<b>4. Die Wundbehandlung .....</b>	<b>8</b>
4.1. Prinzipien der Wundbehandlung.....	8
4.2. Wundlavage.....	8
4.3. Wunddebridement .....	9
4.4. Primärer Wundverschluss .....	9
4.5. Wundverschluss mit Drainage .....	10
4.6. Sekundäre Wundheilung .....	11
<b>5. Wundheilungsstörungen.....</b>	<b>11</b>
5.1. Einflussfaktoren auf die Wundheilung.....	11
5.2. Bakterielle Kontaminationen und Wundinfektionen.....	13
5.3. Bakterieller Biofilm.....	14
5.4. Weitere Wundheilungsstörungen .....	14
<b>6. Negative Pressure Wound Therapy (NPWT) .....</b>	<b>15</b>
6.1. Definition .....	15
6.2. Einsatz in der Humanmedizin .....	15
6.3. Grundlagen und Einsatz in der Tiermedizin .....	16
6.4. Wirkungsmechanismus .....	16

---

<b>7.</b>	<b>Polymerschaumstoff-Wundauflagen .....</b>	<b>18</b>
7.1.	Grundlagen der „feuchten“ Wundbehandlung .....	18
7.2.	Polymerschaumstoffauflagen .....	19
7.3.	Polymerschaumstoffauflage mit Silberbeschichtung (Acticoat Moisture Controle) 19	
<b>8.</b>	<b>Systemische Auswirkungen einer Wundinfektion .....</b>	<b>20</b>
8.1.	Von der lokalen Wundinfektion zur systemischen Auswirkung.....	20
8.2.	„Systemic Inflammatory Response Syndrom“ (SIRS) und Sepsis .....	21
8.3.	Kriterien zum Nachweis einer SIRS bzw. Sepsis beim Hund.....	22
8.3.1.	Infektionsnachweis.....	22
8.3.2.	Klinische Parameter .....	22
8.3.3.	Blutparameter .....	22
8.3.4.	Hämostase .....	25
<b>III.</b>	<b>VERÖFFENTLICHUNG NR. 1 .....</b>	<b>26</b>
<b>1.</b>	<b>Publikation.....</b>	<b>26</b>
<b>IV.</b>	<b>VERÖFFENTLICHUNG NR. 2.....</b>	<b>36</b>
<b>1.</b>	<b>Publikation.....</b>	<b>36</b>
<b>V.</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>45</b>
<b>1.</b>	<b>Wundheilung .....</b>	<b>45</b>
<b>2.</b>	<b>Mikrobiologische Besiedelung.....</b>	<b>48</b>
<b>3.</b>	<b>Systemischer Effekt.....</b>	<b>49</b>
<b>VI.</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>52</b>
<b>VII.</b>	<b>SUMMARY .....</b>	<b>54</b>
<b>VIII.</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>56</b>
<b>X.</b>	<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>74</b>

**ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

ACCP	American College of Chest Physicians
AGP	Alpha-acid Glycoprotein
AF	Atemfrequenz
Alb	Albumin
APP	Akute Phase Proteine
APR	Akute Phase Reaktion
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrom
AT	Antitrombin
BP	Blutdruck
CrP	C-reaktives Protein
DIC	Disseminierte Intravasale Coagulopathie
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ECM	Extrazelluläre Matrix
EPS	Extrazelluläre Polymer Substanz
FB	Fibrinogen
HF	Herzfrequenz
Hkt	Hämatokrit
HP	Haptoglobin
IL-1	Interleukin 1
IL-6	Interleukin 6
IL-8	Interleukin 8
KFZ	Kapilläre Füllungszeit
MMP	Metalloproteinasen
MVTR	Moisture Vapour Transmission Rate

---

NPWT	Negative Pressure Wound Therapy
NSAID	Nichtsteroidale Antiphlogistika
PLT	Thrombozyten
PT	Protrombin
ROC	Receiver operating characteristic
SAA	Serum Amyloid-A
SCCM	Society of Critical Care Medicine
SH	Schleimhaut
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrom
spp.	Subspezies
TNF	Tumornekrosefaktor
TNF-alpha	Tumornekrosefaktor-alpha
TP	Total Protein
TF-TEG	Tissue-Factor aktivierte Thrombelastografie
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor



## I. EINLEITUNG

In der Kleintiermedizin spielt die offene Wundbehandlung eine große Rolle im klinischen Alltag. So werden Tierärzte immer wieder mit offenen Wunden infolge verschiedenster Ursachen, wie zum Beispiel, Bissverletzungen, Abrahsions- und Pfählungsverletzungen, Verbrennungen, Verätzungen, etc. konfrontiert. Zudem stellen auch in der Veterinärmedizin Wundheilungsstörungen und Wundinfektionen große Probleme in der Wundtherapie dar. In diesem Zusammenhang wurde die Negative Pressure Wound Therapy (NPWT) zur Behandlung von Verbrennungsverletzungen, septischer Peritonitis, Gliedmaßenverletzungen, zur Optimierung der Wundheilung bei Hauttransplantaten und Rekonstruktionen sowie zur Behandlung großer Hautdefekte bei Hunden und Katzen eingesetzt (Pitt und Stanley 2014; Stanley et al. 2013; Spillebeen et al. 2017; Nolff und Meyer-Lindenberg 2015). Die NPWT ist ein Verfahren zur Behandlung offener Wunden und zur Förderung der Wundheilung bei Transplantaten sowie anderen Rekonstruktionen. Diese Form der Wundbehandlung gehört seit mehreren Jahren, in der Humanmedizin zu den Standardverfahren. Im Jahr 2007 wurden erste Fallbeispiele zum Einsatz der NPWT in der Kleintiermedizin veröffentlicht (Ben-Amotz et al. 2007; Guille et al. 2007). Hierbei wird in der Wunde ein Unterdruck bzw. Vakuum erzeugt, das sich über den Zeitraum der Anbringung konstant hält. Bislang konnte im Einsatz bei Hunden eine bessere Granulation, schnellere Wundverschlussraten und eine Reduktion lokaler Infektionsanzeichen beobachtet werden (Demaria et al. 2011).

In der folgenden Arbeit werden die Wundheilungsrate, der systemische Effekt sowie die mikrobiologische Besiedelung offener Wunden unter Vakuum assistierter Therapie, im Vergleich zum Standardverfahren, beurteilt. Als Standardverfahren wird das Prinzip der feuchten Wundbehandlung, unter Anbringen eines Polyurethan-Wundkissens, bezeichnet.

Da es bisher noch keine retrospektive Studien zum Vergleich der NPWT-Therapie mit einer konventionellen Behandlung von komplizierten Wunden in der zugänglichen Literatur gab, war es ein Ziel dieser Arbeit, eine prospektive klinische Studie zur Beurteilung der genauen Wirkweise der NPWT-Therapie beim Hund durchzuführen. Die Hypothesen hierbei waren, dass Wunden

unabhängig von ihrem Infektionsstatus unter NPWT schneller verschlossen werden können, die Therapie Einfluss auf die bakteriellen Besiedelung hat und dass sich ein systemischer Effekt der Therapie belegen lässt.

## **II. LITERATURÜBERSICHT**

### **1. Definition Wunde**

Eine Wunde ist eine anatomische, physiologische und funktionale Zusammenhangstrennung von Körpergewebe durch eine physische Einwirkung (Slatter 2003). Sie kann durch innere oder äußere Substanzdefekte definiert werden (Lazarus et al. 1994). Wunden können durch mechanische, thermische oder chemische Einwirkung sowie durch ionisierende Strahlung entstehen und nach ihrer Eindringtiefe in die Haut, entsprechend der AWMF Leitlinien, als Erosionen und Ulcera definiert werden. Erosionen sind oberflächliche Defekte, die sich auf die Epidermis beschränken lassen, während Ulzerationen Defekte sind, welche die komplette Dermis betreffen (Nast et al. 2006). Die Wundheilung ist der komplexe Ablauf, der nach Entstehung einer Wunde eintritt und phasenweise abläuft. Das Resultat ist ein strukturelles und funktionelles Ersatzgewebe, das den Defekt ausfüllt (Li et al. 2007). Zudem werden Wunden nach dem Ablauf ihrer Heilung in akute und chronische Wunden unterteilt. Eine akute Wunde ist eine Wunde, die im üblichen Zeitraum heilt, ohne Anzeichen einer lokalen oder generalisierten Heilungsverzögerung (Vaneau et al. 2007). Während eine chronische Wunde als eine Wunde definiert wird, welche die Wundstadien nicht regelrecht durchläuft und deshalb nicht innerhalb der erwarteten Zeit abheilt, weil bestimmte Faktoren die Abheilung verzögern. Je nach Ursache der Wunde ist die Abheilung bei chronischen Wunden nach vier bis sechs Wochen noch nicht erfolgt (Streit et al. 2008).

### **2. Klassifikation von Wunden**

Wunden können bezüglich ihrer Eigenschaften sehr unterschiedlich sein. Diese Eigenschaften können oft mit der Entstehungsursache, dem Alter der Wunde und dem daraus resultierenden Kontaminationsgrad in Verbindung gebracht werden. Von dem Kontaminationsgrad der Wunde ist deren individuelle Behandlung abhängig. Eine Wunde wird in vier verschiedene Kontaminationsgrade eingeteilt.

### **2.1. Saubere Wunden**

Zu den sauberen Wunden zählen aseptische Operationswunden, deren Wundränder glatt und ohne traumatische Einwirkung entstanden sind. Diese Wunden können primär verschlossen werden und benötigen kein Wunddebridement und kein Einlegen einer Drainage. Sie weisen eine Infektionsrate von 2 - 4,9 % auf (Pavletic 2010).

### **2.2. Sauber-kontaminierte Wunden**

Zu den sauber-kontaminierten Wunden gehören Operationswunden, bei denen es zum Beispiel zu einer Mitbeteiligung von Magen-Darmtrakt, Respirationstrakt oder Urogenitaltrakt kommt. Dazu zählen auch Wunden in Operationsfeldern die nicht die optimalen Bedingungen der Asepsis, also der Keimfreiheit, erlauben (Kropec 1992). Diese Wunden können durch gute Wundspülung gereinigt und ebenfalls primär verschlossen werden (Swaim und Henderson 1997).

### **2.3. Kontaminierte Wunden**

Wunden, die durch traumatische Einwirkung entstanden sind oder Operationswunden bei denen ein wesentlicher Bruch der Sterilität erfolgt, zählen zu den kontaminierten Wunden. Diese Wunden benötigen einen Wundverschluss mit Drainage (Swaim und Henderson 1997).

### **2.4. Infizierte Wunden**

Bei einer infizierten Wunde handelt es sich um eine Wunde, die einen Keimgehalt von > 100.000 Bakterien/Gramm Gewebe aufweisen (Pavletic 2010) und zusätzlich die typischen Entzündungsanzeichen von Rötung, Schwellung, Erwärmung, Schmerz und Funktionseinschränkung, aufweist. Zu dieser Gruppe gehören vor allem traumatische Wunden, die bereits über längeren Zeitraum bestehen, Wunden mit groben Verschmutzungen, Inzisionen von Abszessen oder Wunden mit makroskopischen Infektionsanzeichen (Swaim und Henderson 1997). Sie weisen eine postoperative Infektionsrate von 6,7-17,8 % auf und sollten nicht primär verschlossen werden, sondern benötigen ein ausgiebiges Wunddebridement und müssen anschließend mit einem geeigneten Drainagensystem verschlossen werden oder sekundär offen heilen (Pavletic 2010).

### **3. Wundheilung**

#### **3.1. Definition Wundheilung**

Eine Wunde ist eine anatomische, physiologische und funktionale Zusammenhangstrennung von Körpergewebe durch eine physische Einwirkung (Slatter 2003). Wunden können in innere und äußere Substanzdefekte eines Gewebes, mit Verlust des Gewebeszusammenhangs unterteilt werden (Lazarus et al. 1994). Der Begriff Wundheilung ist die Beschreibung der Mechanismen zur Wiederherstellung einer zusammenhängenden Einheit (Slatter 2003).

#### **3.2. Phasen der Wundheilung**

Der Heilungsprozess beginnt unmittelbar nach der Entstehung einer Wunde und läuft beim Hund wie auch beim Menschen in drei verschiedenen Phasen ab (Swaim und Henderson 1997). Die physiologische Wundheilung lässt sich in die Entzündungsphase, Proliferationsphase und die Maturationsphase unterscheiden, wobei die Phasen ineinander übergehen können und sich teilweise auch überlappen (Witte und Barbul 1997). Die Wundheilung läuft zwischen den einzelnen Säugetierspezies weitestgehend gleich ab. So sind die Phasen und die beteiligten Zellen bei den unterschiedlichen Spezies identisch. Es gibt lediglich Unterschiede hinsichtlich der Epithelisierungs- und Granulationskapazität, Kontraktionsfähigkeit und Perfusion, zwischen den einzelnen Arten (Bohling et al. 2004b). So heilen offene Wunden bei Katzen, deutlich langsamer als bei Hunden, da Katzen weniger Granulationsgewebe bilden und sich die Wunde zum größten Teil über Kontraktur verkleinert, während bei Hunden die Epithelisierung des Gewebes im Vordergrund steht (Bohling et al. 2004a). Auch bei Pferden und Ponys zeigen sich Unterschiede in der Wundheilung. Ponys weisen ein höheres Vorkommen an Myofibroblasten im Granulationsgewebe auf, was die Kontraktionskapazität der Wunde fördert (Wilmink und van Weeren 2005).

##### **3.2.1. Entzündungsphase**

Unmittelbar nach der Entstehung der Wunde kommt es zur Vasokonstriktion und somit zu einem Stoppen der Blutung. Diese Vasokonstriktion dauert nur kurz an, es folgen die Aktivierung der Thrombozyten und der Beginn der Gerinnungskaskade. Es bildet sich ein Blutkoagel, welches weitere Blutungen verhindert und gleichzeitig die Wunde gegen Infektionen schützt (Fossum 2019; Eming et al. 2007). Die danach bestehende Entzündung wird durch das Einwandern von

neutrophilen Granulozyten in die Wunde charakterisiert. Neutrophile Granulozyten bilden proinflammatorische Mediatoren (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$ ) und Proteasen (Elastasen, Proteinasen) (Weiss 1989). Diese führen zur Aktivierung und Migration weiterer Entzündungszellen. Ab Tag zwei wandern vermehrt Monozyten, über Diapedese, in die Wunde ein, die sich im Wundbereich zu Makrophagen differenzieren. Diese sind zusammen mit den neutrophilen Granulozyten für das Debridement der Wunde verantwortlich. Sie töten Mikroorganismen ab und beseitigen Fremdmaterial sowie tote Zellen durch Phagozytose (Eming et al. 2007). Die dabei entstehende Entzündung ist typischerweise gekennzeichnet durch eine Rötung, Schwellung, vermehrte Wärme und Schmerzhaftigkeit der entsprechenden Stelle. In der Regel dauert diese Phase 3 bis 5 Tage an. Die Dauer ist jedoch auch abhängig vom Ausmaß der Gewebeerstörung und von dem allgemeinen Zustand des Tieres (andere Erkrankungen, Verletzungen etc.) und von der Präsenz und Art von Bakterien (Amalsadvala und Swaim 2006; Slatter 2003). Die Makrophagen im Wundbereich sezernieren zudem Matrixmetalloproteinasen, Kollagenasen und Elastasen. Diese aktivieren die Einwanderung von Endothelvorläuferzellen in den Wundbereich und bilden somit die Grundlage für die Angiogenese und Neovaskularisation in der darauffolgenden Proliferationsphase (Eming et al. 2007).

### **3.2.2. Proliferationsphase**

Der Übertritt von der Entzündungsphase zur Proliferationsphase beginnt mit der Angiogenese und Neovaskularisation des Wundbereichs (Gurtner et al. 2008). Die Neovaskularisation bezeichnet die Bildung neuer Kapillaren aus bestehenden Gefäßen, in Regionen die nicht vaskularisiert sind. Dabei bilden Makrophagen, Zytokine (u. a. Fibroblast Growth Factor), welche die Extrazelluläre Matrix abbauen und so das Einwandern von Endothelzellen und deren Proliferation ermöglichen (Slatter 2003; Werner et al. 2007). Zusammen mit den Endothelzellen wandern auch fibroblastische Zellen in die Wunde. Diese Migration und anschließende Proliferation wird durch rezeptorgestützte Zytokinausschüttung stimuliert (Goliger und Paul 1995). Die erste Form der extrazellulären Matrix besteht strukturell aus Fibrin, Fibronectin und Hyaluron. Die Einwanderung von Fibrozyten in die extrazelluläre Matrix führt zur Aktivierung eines proteolytischen Systems, welches Pfade in der Matrix bildet und so die Einwanderung weiterer Zellen, u. a. Fibroblasten ermöglicht. Die Fibroblasten bilden eine Matrix aus Prokollagen und Kollagen Typ I, welche sich im weiteren Verlauf zu Kollagen Typ

II verändert. Zudem sind Fibroblasten verantwortlich für die Ausschüttung von Proteoglykanen und Glykoproteinen, die zusätzlich einen Teil der extrazellulären Matrix bilden. Nach der Bildung von ausreichend Granulationsgewebe gehen die Fibroblasten durch Apoptose zugrunde (Slatter 2003).

Nach abgeschlossener Fibroblastenproliferation und der Ausbildung eines Granulationsbettes kommt es zur Bildung von neuen Hautzellen vom Wundrand ausgehend, Epithelisierung genannt. Die Epithelisierung ist bei einem primären Wundverschluss nach 24-48 Stunden abgeschlossen, kann jedoch bei einer offenen Wundheilung Tage bis Wochen dauern (Pastar et al. 2014). Mithilfe körpereigener proteolytischer Enzyme, wie z. B. die Mitogen-activated-protein-Kinase, lösen sich die Basalzellen aus ihrem Verband und wandern entlang der vaskularisierten, extrazellulären Matrix zum Wundrand. Dort bilden sie eine neue Epithelschicht, die nach und nach von außen die Matrix aus Granulationsgewebe überdeckt (Jost et al. 2001). Dieser Prozess kann, wie bereits erwähnt, je nach Größe der Wunde, zwischen 48 Stunden bis mehrere Wochen dauern. Die neu gebildete Epithelschicht ist zu Beginn sehr dünn und empfindlich, nimmt aber mit der Zeit an Schichtdicke zu (Heng 2011). Zum Ende der Proliferationsphase entsteht die Wundkontraktion. Bei dieser bewegen sich die Wundränder zentripetal zum Zentrum der Wunde hin und verkleinern sie somit. Dafür verantwortlich sind Myofibroblasten. Diese entstehen aus differenzierten Fibroblasten, die kontraktile Filamente entwickeln sogenannte Aktin- und Myosinfilamente (Mori et al. 2005). Myofibroblasten sind in der Lage, Kollagen zu bilden, das sich mit dem Granulationsgewebe der extrazellulären Matrix und der Hautschicht des Wundrandes verbindet. Daraus entsteht eine Kraftausübung auf den Wundrand, die zur Kontraktion der Wunde führt (Pavletic 2010). Beim Hund kann eine Verkleinerung der Wunde von 0,6-0,75 mm/d durch diese Kontraktur erreicht werden, was allerdings stark von individuellen Faktoren wie z. B. Alter, Gewebsspannung und Lokalisation der Wunde abhängig ist. Die Kontraktionsfähigkeit der Wunde lässt mit der Zeit nach, so dass die Wunde nach sechs Wochen nicht mehr fähig ist, sich über eine Kontraktur weiter zu verkleinern (Pavletic 2010).

### **3.2.3. Maturationsphase**

Die Maturationsphase, auch Reifungsphase genannt, beginnt etwa ab dem 21. Tag und kann mehrere Monate bis Jahre andauern (Clark und Henson 2013). Diese Phase läuft ab, nachdem die Wunde bereits mit neuem Epithel bedeckt und

verschlossen ist. Dabei wird die Zellzahl im Granulationsgewebe durch Apoptose reduziert und die kollagenen Fasern verdichten und kreuzen sich vermehrt, was ein stabileres Narbengewebe zur Folge hat. Zudem werden im weiteren Verlauf Kapillaren abgebaut, was zu einer Reduktion der Rötung im Bereich der epithelisierten Narbe führt (Fossum 2019; Diegelmann et al. 1981).

## **4. Die Wundbehandlung**

### **4.1. Prinzipien der Wundbehandlung**

Das Vorgehen bei der Wundbehandlung richtet sich nach der Einteilung der Wunde anhand ihres Kontaminationsgrades (Swaim und Henderson 1997). Ziel einer Wundbehandlung ist ein vitales und gut perfundiertes Wundbett. Um dies zu erreichen, sollten folgende Schritte beachtet werden. Es soll eine weitere Kontamination der Wunde vermieden werden. Eingetretenes Fremdmaterial und Verschmutzungen müssen aus dem Wundbereich entfernt werden. Vorhandene Nekrosen und totes Gewebe ist im Rahmen eines korrekten Wunddebridementes oder einer Wundexzision zu entfernen. Der Operateur muss sich je nach Kontaminationsgrad der Wunde für ein Drainagensystem und eine geeignete Verschlussmethode entscheiden (Pavletic 2010). Zur initialen Entfernung von Mikroorganismen und Fremdmaterial muss eine ausführliche Spülung der Wunde erfolgen.

### **4.2. Wundlavage**

Dies kann nach initialer Entfernung der Haare und Verschmutzungen im Wundbereich und –Umgebung mit warmem Wasser erfolgen (Dernell 2006). Dadurch ist teilweise bereits eine besser Beurteilung der Wunde möglich. Leitungswasser kann jedoch eine zytotoxische Wirkung auf die Fibroblasten haben (Buffa et al. 1997). Deshalb eignet sich die Verwendung einer sterilen isotonischen Kochsalzlösung (NaCl) besser. Damit können Verunreinigungen entfernt und die Keimzahl mechanisch reduziert werden. Zudem ist NaCl gut gewebsverträglich und hat keine zytotoxische Wirkung (Fossum 2019). Das Ausmaß der Gewebsschädigung, Kontamination sowie die weitere Wundbehandlung und Prognose sind zudem von der Entstehungsursache abhängig (Swaim und Henderson 1997). Da besonders Wunden, die eine offene Wundbehandlung benötigen, eine starke Kontamination mit Mikroorganismen aufweisen, empfiehlt sich hierbei im Rahmen der Wundspülung eine lokale Anwendung von Antiseptika (Bowler et al.



2001). Hierfür eignet sich der Einsatz einer bakteriziden und gewebeschonenden Spüllösung, wie dies z. B. bei Polyhexanid (Wirkstoffname: Polyhexamethylen-Biguanid) der Fall ist (Assadian et al. 2010). Polyhexanid weist eine geringe Toxizität gegenüber Fibroblasten und Keratinozyten auf und es hemmt die Bakterienproliferation von Grampositiven und Gramnegativen Keimen durch Lyse der Bakterienmembran (Goertz et al. 2011; Assadian et al. 2010).

### **4.3. Wunddebridement**

Unter einem Debridement einer Wunde ist die Entfernung von avitalem und nekrotischem Gewebe zu verstehen. Man unterscheidet ein Debridement von einer Wundexzision. Mit letzterem ist die Umschneidung und Entfernung des kompletten Wundgewebes in toto gemeint (Waldron und Zimmerman-Pope 2003). Das Vorhandensein von nekrotischem Gewebe oder Fremdmaterial verhindert die Heilung der Wunde (Krahwinkel und Boothe 2006). Ein Debridement kann chirurgisch, biologisch oder chemisch durchgeführt werden (Dernell 2006). Zur initialen Wundbehandlung empfiehlt sich in der Regel das chirurgische Debridement, da dabei ein gezieltes und ausführliches Abtragen von avitalem Gewebe möglich ist. Dabei geht man schichtweise von außen nach innen vor. Zuerst wird die Haut umschnitten und die Wundränder aufgefrischt, tieferliegende Strukturen wie Muskulatur oder Fettgewebe müssen ausgiebig bis ins gesunde, gut durchblutete Gewebe revidiert werden, da diese Gewebe schnell zur fortschreitenden Nekrosebildung neigen (Dernell 2006). Oftmals wird das gesamte Ausmaß einer Wunde erst im Rahmen des Wunddebridements zum Vorschein. So ist der größte Gewebeschaden meist unter der Cutis im Bereich der darunterliegenden Subkutis und Muskulatur vorzufinden (Pavletic 2010).

### **4.4. Primärer Wundverschluss**

Die primäre Wundheilung (*Sanatio per primam intentionem*) wird von der sekundären Wundheilung (*Sanatio per secundam intentionem*) nach dem Ausmaß der Bildung von Granulationsgewebe unterschieden (Kramer 2004). Die primäre Wundheilung ist, solange der Kontaminationsgrad (Swaim und Henderson 1997) und das Defektausmaß es erlauben, die bevorzugte Heilungsform, da bei komplikationslosem Verlauf die Wundränder bereits nach ein bis zwei Tagen miteinander verkleben und es nach fünf bis zehn Tagen zur Neupithelisierung und zur Entstehung einer strichförmigen Narbe kommt. Eine Defektausfüllung mit

Granulationsgewebe ist hierbei nicht notwendig (Kramer 2004). Der Wundverschluss sollte dabei den Halsted'schen Prinzipien entsprechen (R. Haralambus und F.Jenner 2016; Cameron 1997).

Prinzipien des Wundverschlusses von William Steward Halsted (Cameron 1997) :

- Gewebeschonendes/atraumatisches Abreiten
- Hämostase bzw. Blutstillung
- Schonung der Blutzufuhr
- Asepsis
- Vermeidung von Totraumbildung
- Sorgfältige Aposition von Gewebe
- Spannungsfreier Wundverschluss

#### **4.5. Wundverschluss mit Drainage**

Bei einer Drainage handelt es sich um Implantate, die temporär in Wund- oder Körperhöhlen eingelegt werden, um Flüssigkeiten oder Gase abzuleiten (Eckert 1986). Je nach Wirkungsmechanismus unterscheidet man in passive oder aktive Drainagen (Thiede et al. 1993). Passive Drainagen sind somit Systeme, die Flüssigkeiten oder Gase entsprechend der Schwerkraft ableiten, während aktive Drainagen das Sekret aktiv durch einen Unterdruck, abtransportieren. Außerdem lassen sich Drainagensysteme zudem nach der Art ihrer Anbringung und der daraus resultierenden Beschaffenheit in offene Systeme, halb geschlossene und geschlossene Systeme unterteilen (Thiede et al. 1993; Willy et al. 2003). Drainagen, die das Wundexsudat direkt aus der Wunde, bzw. dem Nahtbereich in die Außenwelt abgeben, werden als offene Drainagen bezeichnet. Ihre Anwendung hat sich allerdings aufgrund des erhöhten retrograden Wundinfektionsrisikos als obsolet erwiesen (Willy et al. 2003). Aufgrund dessen sich sogenannte halb-offene Drainagensysteme etabliert haben, bei denen sich die Drainagenöffnung unterhalb der eigentlichen Wunde befindet. Zuletzt gibt es noch geschlossene Systeme (Willy et al. 2003). Dazu gehören die oben genannten aktiven Drainagen. Sie transportieren das Wundexsudat über einen Sog ab und leiten es direkt in einen Auffangbehälter, welcher mit der Drainage in Verbindung steht. Dazu gehört zum Beispiel die Redondrainage. Das Prinzip der Negative Pressure Wound Therapy (NPWT) basiert ebenfalls auf den Grundsätzen eines geschlossenen, aktiven Drainagensystems. Indikationen für den Einsatz von Drainagen sind kontaminierte

und infizierte Wunden (Eckert 1986), sowie Körperhöhlen mit dem Risiko von postoperativer flüssigkeits- oder Gasansammlung oder Anastomosen mit hohem Leckagerisiko z. B. Ösophagus, Rektum und Pankreas (Oertli und Harder 2002).

#### **4.6. Sekundäre Wundheilung**

Die sekundäre Wundheilung läuft bei großen Defekten ab, bei denen die Wundränder nicht spannungsfrei aneinander liegen (Kramer 2004). Bei der sekundären Wundheilung laufen die Phasen der Wundheilung regelrecht ab, allerdings dauert die Wundheilung gegenüber dem Primärverschluss wesentlich länger, da klaffende Wunden und größere Defekte mit Granulationsgewebe gefüllt werden müssen. Diese Form der Heilung kann mehrere Wochen andauern (Kramer 2004). Die sekundäre Wundheilung ist, obwohl sie funktionelle Beeinträchtigung durch z. B. Narbenkontraktur haben kann, bei Hunden eine gängige Therapie der Wundbehandlung (Waldron DR 2003). Sie läuft hauptsächlich über Granulation, Kontraktur und Neupithelisierung ab. Das Resultat ist keine strichförmige, sondern eine flächige Narbe mit teils starker Narbenkontraktur (Kramer 2004).

### **5. Wundheilungsstörungen**

#### **5.1. Einflussfaktoren auf die Wundheilung**

Es gibt eine Vielzahl an Faktoren, die die Wundheilung bei Hunden beeinträchtigen bzw. beeinflussen können. Diese können in patientenassoziierte, operationsassoziierte und andere exogene Faktoren unterteilt werden. Zu den patientenassoziierten Faktoren gehören unter anderem das Alter des Hundes, das Geschlecht, der Immun-/ Gesundheitsstatus sowie der Ernährungszustand (Brown et al. 1997). Ältere Tiere haben eine verzögerte Wundheilung (Kramer 2004). In der Humanmedizin gibt es dazu Untersuchungen die aufzeigen, dass jüngere, im Vergleich zu älteren Patienten, eine bessere Kontraktionsfähigkeit der Wunde aufweisen (Bentov und Reed 2014). Zudem nimmt im Alter die Oxygenierung des Gewebes und die Immunantwort ab (Bentov und Reed 2014). Auch endokrinologische Erkrankungen, wie Morbus Cushing, Hyperparathyreoidismus und Hypothyreose, steigern das Risiko einer Wundinfektion bei Hunden (Nicholson et al. 2002). Bislang ist ein erhöhtes Wundinfektionsrisiko durch das Bestehen einer Diabeteserkrankung beim Hund noch nicht erwiesen (Singer et al. 2007). In der Humanmedizin ist bekannt, dass Diabetespatienten aufgrund trophischer Veränderungen der Haut anfälliger für Hautdefekte sind und eine verlangsamte

Reepithelisierung und eingeschränkte Leukozyteninfiltration in der Wundheilung haben (Vairamon et al. 2009). Zustände einer Mangelernährung können auch beim Hund durch eine Hypoproteinämie, insbesondere durch eine Hypoalbuminämie, eine Reduktion der Kollagenproduktion, Angiogenese und Fibroblastenproliferation verursachen und somit die Wundheilung stören. Ebenso kann sich ein Mangel an Glucose, welcher als Energielieferant für Leukozyten und Fibroblasten dient, negativ auf die Wundheilung auswirken (Amalsadvala und Swaim 2006; Swaim und Henderson 1997). Des Weiteren beeinflussen das Alter der Wunde, die Kontamination der Wunde, die Vaskularisation bzw. Perfusion des Wundgebietes und Lokalisation der Wunde die Heilungstendenz (Fossum 2019). So können Wunden in Bereichen, die starken Bewegungen ausgesetzt sind (z. B. in Gelenksnähe), in ihrer Heilung beeinträchtigt sein und benötigen eine zusätzliche Immobilisierung. Durch sich wiederholende Traumata, aufgrund von Bewegungen im Wundbereich, wird die Mikro- und Makroarchitektur der Wunde beeinträchtigt und so der Heilungsverlauf verlangsamt oder sogar gestört (Swaim und Henderson 1997). Bislang konnte in der Tiermedizin, der Begriff der chronischen Wunde noch nicht exakt definiert werden. In der Humanmedizin versteht man unter einer chronischen Wunde eine Wunde, die nicht entsprechend dem regulären Ablauf heilt (Pavletic 2010). Beim Hund wurden chronische Wunden ab einem Alter von über drei Monate definiert (Mustoe et al. 2006).

Zu den operationsassoziierten Faktoren beim Hund gehören vor allem die Operations- und Anästhesiedauer sowie die Einhaltung der intraoperativen Asepsis. Ebenso steigt mit der Anzahl der im Operationssaal anwesenden Personen und mit dem Einbringen von Fremdmaterial in die Wunde, das Risiko einer Wundinfektion (Eugster et al. 2004). Findet eine Rasur des Hundes im Rahmen der Operationsvorbereitung vor dem Einleiten der Narkose statt, so kann sich das postoperative Wundinfektionsrisiko durch Keimvermehrung auf der rasierten Haut, um das Dreifache erhöhen (Brown et al. 1997).

Als weitere exogene Faktoren sind vor allem Medikamente zu nennen, welche die Wundheilung beim Hund negativ beeinflussen. Insbesondere Glukokortikoide unterdrücken die Entzündungsphase der Wundheilung und stören die Bildung von Granulationsgewebe und die darauf folgende Wundkontraktur (Löscher 2016). In einer Studie mit Ratten wird der negative Einfluss von Nicht-Steroidalen Antiphlogistika (NSAIDs) auf die Wundheilung in der Veterinärmedizin

beschrieben (Dimmen et al. 2009). Bislang gibt es diesbezüglich keine ausreichende Datenlage zum Hund. Aus einer humanmedizinischen Studie ist allerdings bekannt, dass NSAIDs die Angiogenese hemmen, indem die Migration von Endothelzellen und Entzündungszellen in den Wundbereich gehemmt wird (Tarnawski und Jones 2003). Auch Zytostatika hemmen im chemotherapeutischen Einsatz die Proteinsynthese und wirken sich somit negativ auf die Proliferationsphase der Wundheilung aus (Amalsadvala und Swaim 2006).

## **5.2. Bakterielle Kontaminationen und Wundinfektionen**

Bakterielle Wundinfektionen sind häufig verantwortlich für Wundheilungsstörungen. Dabei unterscheidet man verschiedene Stadien der Wundbesiedlung durch Keime. Bei einer Kontamination befinden sich zwar Bakterien auf der Wundoberfläche, vermehren sich aber nicht und lösen keine Reaktion beim Wirtstier aus (Swaim und Henderson 1997). Bei einer Kolonisation vermehren sich die Keime auf der Wundoberfläche, lösen aber keine Reaktion beim Wirt aus. Bei der Infektion vermehren sich die Keime und lösen eine lokale oder systemische Reaktion aus (Bowler et al. 2001). Hierbei spielen vor allem Keime eine Rolle, die aufgrund ihrer Virulenz und Resistenz problematisch zu behandeln sind und häufig für Wundinfektionen verantwortlich sind. Diese Keime werden unter dem Begriff ESKAPE-Gruppe zusammengefasst (Rice 2008). Dazu zählen folgende Keime: *Enterobacter spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecium* (Rice 2008). Die Resistenzen dieser Bakterien nehmen jährlich weltweit zu (Mulani et al. 2019).

So ist weniger die Anzahl der Keime, wie lange Zeit angenommen, sondern viel mehr die Art der Bakterien und die Pathogenität der Keime ausschlaggebend für die Entstehung einer Wundinfektion (Rice 2008). Eine Wundinfektion ist durch eine verlängerte inflammatorische Phase charakterisiert, was folglich zum Ausbleiben bzw. zur Verzögerung der Heilung führt (Hatz 1993). Pathophysiologisch kennzeichnet eine Wundinfektion hauptsächlich eine verzögerte bzw. gehemmte Fibroblastenproliferation an den Wundrändern und eine erhöhte Bildung bakterieller Kollagenasen, welche die Wunde destabilisieren (Bucknall, 1980).

### **5.3. Bakterieller Biofilm**

Bei einem Biofilm handelt es sich um eine Gesellschaft von Bakterien, die sich mit einer extrazellulären Matrix in der Wunde ansammeln und dadurch widerstandsfähiger gegen die Immunantwort des Wirtes und gegen Therapien werden (Costerton et al. 1994). Sie schaffen sich sozusagen einen eigenen mikroskopischen Lebensraum. Ein Biofilm entsteht dann, wenn sich Bakterien in der Wunde ansiedeln und sich zu sogenannten Kolonien bzw. Bakterienverbänden zusammenschließen, in denen die Bakterien reifen und sich verbreiten (Percival et al. 2015). Die Bakterienkolonien binden an die Wundoberfläche und bilden eine Extrazelluläre Polymer Substanz (EPS), aus der eine Extrazelluläre Matrix (EM) entsteht. Dies erhöht die mechanische Stabilität der Bakterienverbände und verbessert die Nährstoffversorgung und Proliferation der darin lebenden Bakterien. Dadurch sind sie resistenter gegen die körpereigene Abwehr sowie gegen Antibiotika (Percival et al. 2015). Wann ein Biofilm entsteht ist von mehreren Faktoren wie zu Beispiel der Oberflächenbeschaffenheit, dem Nährstoffaufkommen und der Temperatur abhängig (Ryu et al. 2004). Zum Wund-Biofilm bei Hunden gibt es derzeit nur wenig Untersuchungen. Die meisten befassen sich mit der Bildung eines Biofilms bei orthopädischen Implantaten (Alhag et al. 2008; Soontornvipart et al. 2003). Ein Fallbericht zeigt, dass auch bei Hunden der bakterielle Biofilm in einer Wunde zu schwerwiegenden Wundinfektion und Wundheilungsstörung führt (Swanson et al. 2014).

### **5.4. Weitere Wundheilungsstörungen**

Neben einer Wundinfektion gibt es noch zahlreiche andere Arten der Wundheilungsstörungen. Zu den häufigsten gehören eine Serombildung, ein Wundhämatom und eine Nahtdehiszens (Pavletic 2010). Bei einem Serom handelt es sich um einen mit seröser Flüssigkeit gefüllten Hohlraum, der infolge eines Traumas durch kapilläre Leckage oder Verletzung der Lymphgefäße entstanden ist (Pavletic 2010). Ein Wundhämatom entsteht durch eine Blutung im Wundbereich. Je nach Ausmaß der Blutung resorbiert sich das Hämatom von selbst oder muss chirurgisch versorgt werden. Sowohl das Wundhämatom, als auch das Serom werden von einem erhöhten Infektionsrisiko begleitet (Amalsadvala und Swaim 2006). Ein weitere Wundheilungsstörung, die aufgrund verschiedener Ursachen entstehen kann, ist die Wunddehiszens. Dabei kommt es partiell oder vollständig zu einer fehlerhaften Verklebung und ausbleibenden Heilung der Wunde.

Ursächlich dafür kann z. B. eine zu hohe Spannung auf den Wundbereich, falsches bzw. zu schwaches Nahtmaterial, eine Flüssigkeitsansammlung mit Mazeration im Wundbereich oder eine ungünstige Lokalisation des Nahtmaterials sein, indem die Fäden entweder zu nah am Wundrand oder ohne Berücksichtigung der Perfusion des Wundrandes gesetzt werden (Pavletic 2010).

## **6. Negative Pressure Wound Therapy (NPWT)**

### **6.1. Definition**

Eine Negative Pressure Wound Therapy (NPWT) ist ein Verfahren der offenen Wundheilung, bei dem über ein geschlossenes System in einem Wundbett ein Unterdruck erzeugt wird. Dieser Unterdruck wird konstant aufrechterhalten. Das dabei entstehende Vakuum führt dazu, dass extravaskuläres Wundsekret aktiv abtransportiert und die Bildung von Granulationsgewebe angeregt wird (Scalise et al. 2016). Daher wird diese Therapie auch oft als Vakuumtherapie bezeichnet (Morykwas et al. 1997; Armstrong und Lavery 2005; Thompson 2008). Es gibt die NPWT, die einen kontinuierlichen Unterdruck aufrechterhält und die nicht kontinuierliche NPWT. Dazu existieren aktuell zwei Varianten, die intermittierende NPWT und die dynamisch variable NPWT. Bei der intermittierenden NPWT wechselt das System innerhalb eines programmierten Zeitraumes zwischen einem fix eingestellten Unterdruck und keinem Unterdruck. Dagegen variiert das System bei dem dynamisch variablen System zwischen einem hohen und einem niedrigeren Unterdruck. Zusätzlich gibt es noch die NPWT mit Irrigation. Dabei wird eine Wundspüllösung über die Pumpe in die Wunde instilliert und nach einer festgelegten Einwirkzeit wieder abgesaugt. Dieses System eignet sich zur lokalen Wundbehandlung mit einer antibakteriellen Wundspüllösung. Hierzu zählen vor allem bakteriell infizierte, offene Wunden (Gabriel 2012).

### **6.2. Einsatz in der Humanmedizin**

In den vergangenen Jahrzehnten wurde die NPWT zur Behandlung chronischer und akuter Wunden, aber auch im Rahmen geplanter chirurgischer Eingriffe, in der Humanmedizin immer populärer und gehört mittlerweile zum Standardverfahren im Bereich der Wundtherapie (Morykwas et al. 1997; Thompson 2008; Armstrong und Lavery 2005). Die NPWT wird im Rahmen der offenen Wundtherapie sowie bei der Förderung der Wundheilung von chirurgisch verschlossenen Wunden verwendet (Wild et al. 2007). Es bestehen in der Humanmedizin sehr viele

Indikationen zum Einsatz einer NPWT, so z. B. bei allen chronischen, infizierten sowie akut, traumatische Wunden (Kaplan et al. 2009; Rhee et al. 2015). Zudem findet sie häufig Anwendung nach Sternotomien in der Herzchirurgie, bei offenen, septischen Abdomen, bei Abszessen und nach plastischer Chirurgie (Hauttransplantaten und Lappenplastiken), um die Adaptation zu fördern. Des Weiteren kommt sie häufig bei Verbrennungen, Dekubitus, Ulcus cruris, diabetischem Fußsyndrom und nach einer Dermafasziotomie bei dem Kompartementsyndrom, zum Einsatz (Wild et al. 2007). Bisher gelten lediglich freiliegende Viszera, enterale Oberflächen, enterale Fisteln, maligne Tumore, freiliegende Gefäße, Nerven und Sehnen, unbehandelte Osteomyelitis und Bereiche mit erhöhter Blutungsgefahr als Kontraindikation für eine NPWT (Wild et al. 2007).

### **6.3. Grundlagen und Einsatz in der Tiermedizin**

In der Kleintiermedizin wurden 2007 erste Einsätze wissenschaftlich dokumentiert (Ben-Amotz et al. 2007; Guille et al. 2007). Dabei konnte erstmals retrospektiv, auch bei Hunden mit Wunden an den Extremitäten, eine schnellere Wundheilung, stärkere Granulationstendenz und eine Reduktion des peripheren Wundödems beschrieben werden (Ben-Amotz et al. 2007). Im Jahre 2007 wurde ebenfalls ein Fallbericht eines sechs Wochen alten Tigers veröffentlicht, welcher aufgrund eines nicht verheilenden Epigastrica Caudalis Flap mit einer NPWT erfolgreich therapiert wurde (Lafortune et al. 2007). In den darauffolgenden, durchgeführten experimentellen und retrospektiven Studien, mit Hunden und Katzen, konnte eine schnellere Granulationstendenz, bessere Behandlung lokaler Infektionen und eine schnellere Wundverschlussrate, im Vergleich zu herkömmlichen Wundauflagen, belegt werden (Demaria et al. 2011; Nolff et al. 2015; Nolff et al. 2016). In der Kleintiermedizin hat sich die NPWT mittlerweile, als Verfahren zur Optimierung des infizierten Wundbettes, vor einem chirurgischen Wundverschluss erwiesen (Pitt und Stanley 2014).

### **6.4. Wirkungsmechanismus**

Wie vorne erwähnt, handelt es sich bei der NPWT um ein Unterdrucksystem, das über ein geschlossenes System ein Vakuum erzeugt. Das erzeugte Vakuum kann auf -75 bis -150 mmHg eingestellt werden. Aktuell gibt es keine genauen Richtlinien bezüglich des optimalen Unterdrucks. In einer Studie mit Schweinen



konnte beobachtet werden, dass die Wundkontraktion und der Abtransport des Wundexsudates, bis zu einem gewissen Punkt, schrittweise mit steigendem Unterdruck, ebenfalls ansteigt (Borgquist et al. 2011). Die maximale Wundkontraktur wurde bei einem Unterdruck von -75mmHg beobachtet, während das Maximum an abtransportiertem Wundexsudation bei -125mmHg erreicht wurde. So eignet sich ein Vakuum mit -125mmHg besonders zur initialen Wundtherapie, bei Wunden mit großer Wundhöhle und viel Exsudat (Borgquist et al. 2011). Dieses System wird in der Veterinärmedizin, vor allem bei Wunden eingesetzt, die nicht primär verschlossen werden können, um die Wundheilung zu fördern. Es findet allerdings auch Einsatz bei Brandverletzungen, Abszessen, Nekrosen, Hautlappenplastiken, freien Hauttransplantaten und geschlossenen Operationswunden (Stanley 2017).

Nach initialem Debridement und Lavage der Wunde wird ein Polyurethanschwamm, als direkte Wundauflage, in eine bzw. auf eine offene Wunde gebracht. Die Wunde inklusive Schwamm oder Gaze wird dann mit einer Okklusionsfolie luftdicht abgeklebt. Über ein Loch in der Okklusionsfolie wird ein Verbindungselement, das sogenannte Trackpad, angebracht, welches über einen Schlauch mit dem Pumpsystem verbunden ist. Das über den Unterdruck abgeleitete Wundexsudat wird in einem Kanister aufgefangen und gespeichert. Der Polyurethanschwamm muss in Intervallen zwischen 48 und 72 Stunden gewechselt werden (Stanley 2017). Für den Wechsel der Wundauflage und der Klebefolie ist bei Hunden, in der Regel, eine Narkose notwendig (Pitt und Stanley 2014).

Die Wirkungsmechanismen der NPWT sind bis vor kurzem vor allem in der Humanmedizin beschrieben worden. Speziell bei Hunden sind in den letzten Jahren Studien und Fallbeispiele angefertigt worden, die eine bessere Granulation der Wunde, einen schnelleren Wundverschluss, eine stärkere Wundkontraktur sowie eine bessere Neovaskularisation zeigten (Demaria et al. 2011); (Stanley et al. 2013; Nolff et al. 2015). Durch das Anlegen eines Vakuums kommt es zur Kontraktion der Wunde (Nolff et al. 2015). Der Unterdruck in der Wunde führt zudem zu veränderten Druckverhältnisse zwischen interstitiellem und kapillarem Druck. Wenn der interstitielle Druck niedriger wird als der kapillare Druck, führt dies zu einer besseren kapillaren Durchblutung und Oxygenierung im Bereich der Wunde und einer Reduktion des Wundödems (Demaria et al. 2011).

Beim Menschen sind noch weitere Wirkungsmechanismen bekannt, die bei Hunden

bislang nicht untersucht wurden, wobei man allerdings von einer ähnlichen Wirkung ausgeht. NPWT fördert die Expression von Wachstumsfaktoren und Zytokinen in der Wunde. So wird der Heilungsprozess unter NPWT so modelliert, dass die Heilung mit einer weniger ausgeprägten Entzündungsphase abläuft (Glass et al. 2014). Unter NPWT ist ein frühzeitiger Anstieg und Peak an Interleukin-10, Interleukin-1 $\beta$ , Interleukin-8 und eine längere Aufrechterhaltung des Interleukin-6 Levels sowie eine Reduktion von Tumornekrosefaktor (TNF) in infizierten Wunden zu beobachten (Kilpadi et al. 2006; Liu et al. 2014a). Im Wundsekret konnte eine höhere Konzentration von Interleukin-8 und Vasular Endothelial Growth Factor (VEGF) gemessen werden. Infolgedessen kommt es zu einer verbesserten Akkumulation von neutrophilen Granulozyten und zur Angiogenese, was die Neovaskularisation beschleunigt (Labler et al. 2009). Die verbesserte Neovaskularisation ist mittlerweile auch beim Hund beschrieben (Nolff et al. 2018). Die mechanische Kraft, die durch den Unterdruck auf die Wunde wirkt, führt dazu, dass die Kraft von der Peripherie der Wunde auf das Zentrum wirkt und folglich eine Makrodeformation und daraus eine Verkleinerung der Wunde entsteht (Voinchet und Magalon 1996). Neben dem Effekt der Makrodeformation ist ebenfalls die sogenannte Mikrodeformation zu beobachten. Dabei wird davon ausgegangen, dass durch die mechanische Zugeinwirkung durch das angelegte Vakuum, die Proliferation von Fibroblasten stark verbessert wird. Zudem kommt es zur morphologischen Veränderung der Fibroblasten und einer gesteigerten Genexpression (Type 1 collagen  $\alpha$  1, Fibroblast Growth Factor 2, Transforming Growth Factor  $\beta$  1) (Lu et al. 2011; Nuutila et al. 2013). Zur Auswirkung der NPWT auf die bakterielle Besiedelung einer Wunde gibt es kontroverse Ergebnisse (Patmo et al. 2014). So konnte bei Ziegen mit einer Pseudomonasinfektion eine Reduktion der Bakterienzahl unter NPWT beobachtet werden, während in anderen Studien beim Menschen keine Reduktion der Bakterien unter NPWT festzustellen war (Braakenburg et al. 2006; Yusuf et al. 2013).

## **7. Polymerschaumstoff-Wundauflagen**

### **7.1. Grundlagen der „feuchten“ Wundbehandlung**

Der Begriff „moist“ stammt aus dem englischsprachigen und bedeutet „feucht“. Die „feuchte“ Wundheilung kommt bei der Sekundärheilung, im Rahmen der offenen Wundtherapie, zum Einsatz. Trocknet die Oberfläche einer offenen Wunde aus, bildet

sich Schorf, welcher die Epithelisierung verzögert. Bleibt die Wunde allerdings in einem feuchten Milieu fördert das die Epithelisierung (WINTER 1962; Swaim et al. 2000). Die Feuchtigkeitsverdunstungsrate, oder auch Moisture Vapour Transmission Rate (MVTR) genannt, einer Wundauflage, bestimmt ihr Fähigkeit, Feuchtigkeit zurückzuhalten und wurde als Definition einer „feuchten“ Wundauflage bestimmt (Bolton et al. 2000). So verbesserte eine feuchte Umgebung das Einwandern von Leukozyten in die Wunde. Außerdem sind im Wundsekret Zytokine und Wachstumsfaktoren enthalten, die die Bildung von Granulationsgewebe, die Angiogenese und die Reepithelisierung fördern (Fossum 2019). Eine feuchte Wunde hat somit bessere Abwehrmechanismen, durch eine bessere Hydratation, Leukozytenaktivität, gesteigerte phagozytierende Fähigkeiten, weniger Zelltod durch Austrocknung des Gewebes und niedrigere pH-Werte (Fossum 2019; Field und Kerstein 1994).

## **7.2. Polymerschaumstoffauflagen**

Die Polymerschaumstoffauflagen gehören zu den Hydropolymeren und bestehen aus Polyurethanplatten. Es sind okklusive, semipermeable und nicht adhäsive Wundauflagen, die im Rahmen der offenen Wundbehandlung ihren Einsatz finden (Fossum 2019). Sie sind hydrophil, speichern das abgegebene Wundexsudat, und bewirken somit eine optimale Voraussetzung für eine feuchte Wundheilung. Sie verbessern aufgrund dieser Eigenschaft die Granulation und Epithelisierung von Wunden (Abramo et al. 2008; Swaim et al. 2000).

## **7.3. Polymerschaumstoffauflage mit Silberbeschichtung (Acticoat Moisture Controle)**

Acticoat Moisture Control ist eine Polymerschaumstoffauflage mit einer Silberbeschichtung, als Wirkstoff, zur Behandlung offener Wunden. Die Wundauflage besteht aus einem Polymerschaumstoff mit einer Silberbeschichtung (Arıcan et al. 2013; Guthrie et al. 2014). Der Hersteller des Acticoat Moisture Controle postuliert eine antibakterielle Wirkung, von bis zum sieben Tagen, nach Anbringung, durch die Freisetzung von Silbersulfadiazin. Bereits 1984 wurde ein positiver Effekt bei der Behandlung von Pseudomonas infizierten Brandwunden mit der lokalen Anwendung von Silbersulfadiazinen beim Mensch beschrieben (Kaiser et al. 1984). Kommt die Silberbeschichtung mit einer feuchten Umgebung in Kontakt, zerfallen die nanokristallinen Silberkomplexe und es bilden sich freie

Silberionen (Ag<sup>+</sup>), die an Proteine und Enzyme in den Membranen der Bakterien sowie an deren DNA binden und somit die bakterielle Funktion beeinträchtigen (Ovington 2004). Zudem hat Silber einen anti-inflammatorischen Effekt, indem es die Aktivität der Metalloproteinasen (MMP) im Wundexsudat reduziert, die bei chronischen, nicht heilenden Wunden über längeren Zeitraum erhöht ist (Walker et al. 2007). Explizit bei Hunden gibt es bislang keine Untersuchungen einer antibakteriellen Wirkung von Silber bei offenen Wunden.

## **8. Systemische Auswirkungen einer Wundinfektion**

### **8.1. Von der lokalen Wundinfektion zur systemischen Auswirkung**

Die Wundheilung besteht aus vielen einzelnen Komponenten, die über komplexe Interaktionen ein funktionelles Gleichgewicht bilden. Kommen diese Interaktionen ins Ungleichgewicht, kann es zu einer verzögerten oder gestörten Wundheilung kommen. Wunden, die älter sind als drei Monate, werden in der Humanmedizin als chronische Wunden bezeichnet (Nunan et al. 2014). Beim Hund gibt es bislang keine Definition einer chronischen Wunde. Durch eine Gewebshypoxie, ein repetitives Trauma, eine beeinträchtigte Immunantwort oder eine bakterielle Infektion kommt es zu einem pathologischen Ablauf in der Wundheilung (Stojadinovic et al. 2008). Diese Wunden haben eine verlängerte und stärker ausgeprägte inflammatorische Phase. Eine exzessive Proliferation von neutrophilen Granulozyten in der inflammatorischen Phase führt zu einer Überproduktion von reaktiven Sauerstoffverbindungen, die von neutrophilen Granulozyten bei der Phagozytose, freigesetzt werden. Diese übermäßige Produktion von reaktiven Sauerstoffverbindungen führt zur Destabilisierung der ECM (Diegelmann und Evans 2004; Demidova-Rice et al. 2012). Zudem setzen neutrophile Granulozyten Elastasen frei, welche die Bildung von den Wachstumsfaktoren PDGF und TNF- $\beta$ , verringern. Dies beeinflusst die Zellmigration und reduziert die Proliferation von Fibroblasten und die Kollagensynthese, was wiederum zur Verlängerung der inflammatorischen Phase und zum ausbleibenden Übertritt in die Proliferationsphase führt (Mast und Schultz 1996). Dabei kommt es zuerst zu einer lokalen Wundinfektion, die sich im weiteren Verlauf systemisch etablieren kann. Durch eine lokale Entzündung oder Infektion werden vermehrt proinflammatorische Zytokine produziert (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ ). Bei einer vermehrten systemischen Produktion dieser proinflammatorischen Zytokine

kommt es zu einem Systemic Inflammatory Response Syndrom (SIRS). Dies kann durch das Eindringen und durch die Vermehrung von Mikroorganismen in den Körper, entstehen (Matsuda und Hattori 2006).

## **8.2. „Systemic Inflammatory Response Syndrom“ (SIRS) und Sepsis**

Unter einem „Systemic Inflammatory Response Syndrom“ (SIRS) versteht man eine Entzündungsreaktion im Körper, die auf systemischer Ebene abläuft (Levy et al. 2003b). Sie kann infolge einer Infektion entstehen, aber auch eine nicht infektiöse Ursache haben (Brady und Otto 2001). Im Jahre 1992 wurde vom American College of Chest Physicians (ACCP) und der Society of Critical Care Medicine (SCCM) eine Sepsisguideline für den Menschen veröffentlicht, die als mögliche Auslöser einer SIRS, lokale und/oder systemische Infektionen, Pankreatitis, Ischämie, Trauma, hämorrhagischen Schock, Neoplasien oder immunologisch bedingte Organschädigungen beschreibt (Levy et al. 2003a). Ebenfalls wurde von der ACCP/SCCM 1992 festgelegt, dass mindestens zwei der folgenden Kriterien vorliegen müssen, um eine SIRS zu definieren: Fieber oder Hypothermie, Tachykardie, Tachypnoe und Leukozytose oder Leukopenie oder ein erhöhter Anteil an stabkernigen neutrophilen Granulozyten (Weiss et al. 2009). Die Sepsis ist festgelegt als SIRS in Folge einer Infektion (Levy et al. 2003b).

Meist wird der Ablauf einer Sepsis in zwei unterschiedliche Phasen eingeteilt (Brady und Otto 2001). Zu Beginn der Sepsis befinden sich die Patienten in einer durch TNF- $\alpha$  induzierten hyperdynamischen Phase, welche durch hyperämische Schleimhäute, Tachykardie, Fieber, Vasodilatation, pochende Pulsqualität und erhöhte Gefäßpermeabilität gekennzeichnet ist. Dieser Phase schließt sich die hypodynamische Phase, mit blassen Schleimhäuten, verlängerter Kapilläre Füllungszeit (KFZ) und schlechter Pulsqualität, an (Brady und Otto 2001). Eine schwere Sepsis kann in einen septischen Schock resultieren, welcher aufgrund eines starken Blutdruckabfalls zur Minderperfusion und zu Organschäden führen kann (Bone et al. 1992). Spezifische Referenzwerte für die oben genannten SIRS-Kriterien beim Hund wurden erstmals 1994 festgelegt (Purvis und Kirby 1994) und seit dem immer wieder überarbeitet (Hauptman et al. 1997; Brady und Otto 2001; Laforcade et al. 2003).

### **8.3. Kriterien zum Nachweis einer SIRS bzw. Sepsis beim Hund**

#### **8.3.1. Infektionsnachweis**

Bei Hunden zählen Wundinfektionen wie auch beim Menschen zur Prädisposition für das Entstehen einer Sepsis (Laforcade et al. 2003). Beim Hund handelt es sich um eine Sepsis, sobald ein mikrobiologischer oder histopathologischer Erregernachweis positiv ist und mindesten zwei der auch beim Menschen genannten SIRS-Parameter vorhanden sind (Levy et al. 2003b). In der Veterinärmedizin sind die häufigsten Sepsiserreger, ähnlich wie in der Humanmedizin, gramnegative gefolgt von grampositiven Erregern (Laforcade et al. 2003). *E. coli* wird als gramnegativer Keim im Rahmen einer Sepsis am häufigsten isoliert und ist somit der hauptverantwortliche Erreger einer Sepsis beim Hund, gefolgt von *Streptokokken spp.* als zweithäufigstem Erreger (Greiner et al. 2007). Neben Wundinfektionen sind Peritonitis, Pyometra, Pyelonephritis, Pneumonie und Endokarditis die häufigsten Sepsisherde beim Hund (King et al. 1994). Zudem kann eine Sepsis neben bakteriellen Erregern, auch von Pilzen, Viren oder anderen Mikroorganismen ausgelöst werden (Annane et al. 2003; Martin et al. 2003).

#### **8.3.2. Klinische Parameter**

Im Zuge einer SIRS oder Sepsis können eine veränderte Körpertemperatur, Tachypnoe, Tachykardie, hyperämische Schleimhäute und eine verkürzte kapilläre Füllungszeit (KFZ) als klinische Symptome auftreten. Die Studienlänge diesbezüglich umfasst hauptsächlich Untersuchungen aus der Humanmedizin, wobei beim Mensch Fieber wesentlich häufiger als eine Hypothermie auftritt (Kreger et al. 1980). Als Auswirkung einer schlechteren Durchblutung der Lunge kommt es zu einer Tachypnoe. Beim Mensch kommt es in einigen Fällen zu einer akuten Schädigung von Lungengewebe durch eine Sepsis (Balk und Bone 1989). Diese akute Lungenschädigung wird als Acute Respiratory Distress Syndrom (ARDS) bezeichnet und kommt beim Hund nur selten vor (Hardie et al. 1987). Weitere Symptome einer SIRS oder Sepsis sind Tachykardie und zu Beginn in der hyperdynamischen Phase eine verkürzte Kapilläre Füllungszeit (KFZ) und hyperämische Schleimhäute. In der hypodynamischen Phase zeigt sich eine verlängerte KFZ mit blassen Schleimhäuten (Brady und Otto 2001).

#### **8.3.3. Blutparameter**

Der am häufigsten untersuchte Parameter hinsichtlich einer systemischen

Entzündung sind die Leukozyten. So kann eine Leukozytose, eine Leukopenie oder auch eine Linksverschiebung bei unveränderter Leukozytenzahl auf eine Inflammation oder Infektion hinweisen (Laforcade et al. 2003). Referenzwerte hinsichtlich einer systemischen Entzündung beim Hund beziehen sich auf eine Leukozytose von über 16.000 Zellen/ $\mu$ l, eine Leukopenie von unter 6.000 Zellen/ $\mu$ l oder eine Linksverschiebung mit einem Anstieg von stabkernigen neutrophilen Leukozyten von über 3% (Laforcade et al. 2003). Diese Referenzwerte variierten in vorliegenden Studien leicht (Brady und Otto 2001; Hardie et al. 1987). Die Glucose ist ein weiterer Parameter der durch eine Sepsis deutlich beeinflusst werden kann. Zu Beginn einer Sepsis kommt es durch eine gesteigerte Glykogenolyse zum Anstieg der Blutglucose. Im weiteren Verlauf kommt es allerdings durch einen erhöhten Glucoseverbrauch des Gewebes zu einer Hypoglykämie (Brady und Otto 2001). Durch die verminderte Durchblutung im Rahmen einer fortschreitenden SIRS/Sepsis und die daraus resultierende Gewebshypoxie fällt vermehrt Lactat an, welches im Blutplasma nachgewiesen werden kann (Shirey und Sivilotti 1999). In einer Studie über eine Lactatmessung bei Hunden mit septischer Peritonitis erwies sich das Plasmalaktat als prognostischer Faktor (Cortellini et al. 2015). Weitere Blutparameter zur Beurteilung von Entzündungsvorgängen im Körper sind die Akute-Phase-Proteine (APPs). Sie sind Teil der unspezifischen Immunantwort und finden in der Humanmedizin bereits seit Jahren als Indikatoren für Entzündungsreaktionen und Infektionen Anwendung (Kushner und Rzewnicki 1994).

Auch in der Veterinärmedizin konnten bestimmte APPs als Biomarker für verschiedene systemische Erkrankungen bzw. Infektionen identifiziert werden (Eckersall und Bell 2010). Die Akute-Phase-Reaktion (APR) ist eine Immunreaktion des Körpers auf systemische Entzündungsprozesse, Infektionen, Neoplasien und Gewebeschädigungen (Trauma, Noxen, chirurgische Eingriffe, etc.). Die APR läuft ebenfalls im Rahmen der Wundheilung (Entzündungsphase) standardmäßig ab. Dabei sezernieren durch Phagozytose aktivierte Makrophagen und Monozyten eine Vielzahl an Zytokinen. Die für den Ablauf des Entzündungsprozesses wichtigsten Zytokine, die die Bildung und Ausschüttung der APPs induzieren, sind hierbei Interleukin IL-1, IL-6 und TNF- $\alpha$  (Dinarello 2011). Die Leber bildet und sezerniert die APPs, Haptoglobin (HP), Serum-Amyloid-A (SAA), C-reactives Protein (CrP),  $\alpha$ 1-Acid-Glycoprotein (AGP) und Fibrinogen

(FB) im Rahmen der Entzündungsreaktion (Eckersall 1995). Die Ausschüttung von APPS aus der Leber ist zwischen den verschiedenen Spezies unterschiedlich. So werden infolge einer APR bei Mensch und Hund vermehrt CrP, bei der Katze AGP und SAA, bei Rindern HP und bei Pferden SAA ausgeschüttet (Cray et al. 2009). Die klinischen Symptome während einer APR sind Fieber und das Entstehen einer Leukozytose (Kushner und Rzewnicki 1994). Als noch spezifischer, in Hinblick auf eine Gewebsschädigung, einer Infektion oder eine systemische Entzündung, hat sich der quantitative Nachweis von CrP erwiesen. Das CrP ist ein Protein, das an Phosphocholin bindet, welches Bestandteil der Polysaccharidkapsel von zugrunde gehenden Zellen und Mikroorganismen ist (Volanakis 2001). Es wird nach Induktion durch IL-6 von der Leber gebildet. Das an die Autoantigene gebundene CrP aktiviert über sogenannte Fc $\gamma$ -Rezeptoren, neutrophile Granulozyten zur Phagozytose (Mold et al. 2002). Das CrP hat sich beim Hund als Verlaufsmessung zur objektiven Beurteilung des Heilungsverlaufes von Wunden erwiesen (Knapp et al. 2009). So zeigten Hündinnen mit Komplikationen wie Rötung, Sekretion oder Infektionen nach Ovariohysterektomie erst einen Abfall des CrP-Wertes nach erfolgreicher Behandlung der Wundsituation. Das CrP hat sich somit als Marker für frühe postoperative Wundinfektionen bei Hunden gezeigt (Dąbrowski et al. 2007). Bei Hunden mit SIRS oder Sepsis ist nicht die Höhe der CRP-Messung sondern der Verlauf ausschlaggebend. So steht eine kontinuierliche Abnahme des CrP-Wertes im Zusammenhang mit einem positiven Verlauf einer Sepsis oder SIRS (Gebhardt et al. 2009).

CrP ist somit ein geeigneter Indikator zur Beurteilung der Wundheilung und von systemischen Entzündungsreaktionen oder einer Sepsis beim Hund. Allerdings gibt es eine Vielzahl weitere Faktoren, welche die CrP Ausschüttung beim Hund beeinflussen können. Zum Beispiel zeigen Hunde unmittelbar nach dem jagdlichen Gebrauch einen erhöhten CrP-Spiegel im Blut (Casella et al. 2013). Das CrP steigt außerdem nach operativen Eingriffen abhängig vom Grad der chirurgischen Gewebstraumatisierung, innerhalb von 24 Stunden nach dem Eingriff an (Christensen et al. 2015). Zudem führen auch lymphatische Tumorerkrankungen beim Hund, wie zum Beispiel eine Leukämie oder ein Lymphom zum CrP-Anstieg infolge einer APR (Mischke et al. 2007).

Albumin und Transferrin sind APPs die während einer APR in geringerem Maße exprimiert werden, als im physiologischen Zustand. Sie werden als negative APPs,



bezeichnet. So tritt eine Hypoalbuminämie häufig im Rahmen einer SIRS oder Sepsis auf. Dafür verantwortlich ist die gesteigerte Gefäßpermeabilität und die reduzierte Albuminsynthese in der Leber (Brady und Otto 2001).

#### **8.3.4. Hämostase**

Als Hämostase wird der Ablauf der physiologischen Blutgerinnung infolge einer lokalen Verletzung bezeichnet (Engelhardt et al. 2015). Bei einer Sepsis oder SIRS läuft dieser Mechanismus nicht lokal, sondern systemisch ab. Die Gerinnungskaskade wird aktiviert und es kommt zu einer Hemmung bzw. einem erhöhten Verbrauch der endogenen Antikoagulanzen Antitrombin (AT) und Protrombin (PT). Dieser erhöhte Verbrauch induziert eine Hemmung der Fibrinolyse (Fourrier et al. 1992). Im physiologischen Zustand besteht ein Gleichgewicht zwischen der Gerinnungsaktivierung und dem gerinnungshemmenden System (Mischke und Nolte 1992). Kommt dieses System aufgrund einer übermäßigen Aktivierung der Gerinnungskaskade z. B. durch eine Sepsis, aus dem Gleichgewicht, sodass die Kapazität des gerinnungshemmenden Systems überschritten wird, kann es Infolge zur Entstehung einer disseminierten intravasalen Koagulopathie (DIC) kommen (Mischke und Nolte 1992). Dabei konnte eine Abnahme der Thrombozytenzahl, verlängerte Gerinnungszeiten (PT und aPTT), vermehrtes Vorkommen an Fibrinolyseprodukten, reduzierte Fibrinogenkonzentration und AT-Aktivität sowie ein vermehrtes Vorkommen von Erythrozytenfragmenten bei Hunden mit einer DIC beobachtet werden (Mischke und Nolte 1992). Zur Diagnosestellung beim Hund zeigte sich eine erniedrigte AT-Aktivität sowie die passenden klinischen Anzeichen in Kombination mit einer Sepsis oder SIRS als sensitivster Hinweis einer DIC (Bateman et al. 1999). Weitere Untersuchungen ergaben neben der erniedrigten AT-Aktivität bei Hunden mit einer DIC, zur Diagnosesicherung eine Hyperkoagulation, welche mithilfe der Tissue-Factor aktivierten Trombelastografie (TF-TEG) bestimmt wurden (Wiinberg et al. 2008).

### **III. VERÖFFENTLICHUNG NR. 1**

#### **1. Publikation**

**Titel:** Comparison of Negative Pressure Wound Therapy and Silver Coated- Foam Dressings in Open Wound Treatment in Dogs: A Prospective Controlled Clinical Trail.

**Autoren:** \*Mirja C. Nolff, \*Rebecca Albert, Sven Reese, Andrea Meyer-Lindenberg

**Zeitschrift:** Journal of Veterinary Comparative Orthopaedics and Traumatology

\*combined first author

# Comparison of Negative Pressure Wound Therapy and Silver-Coated Foam Dressings in Open Wound Treatment in Dogs: A Prospective Controlled Clinical Trial

Mirja C. Nollff<sup>1,\*</sup> Rebecca Albert<sup>1,\*</sup> Sven Reese<sup>2</sup> Andrea Meyer-Lindenberg<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department for Clinical Veterinary Medicine, Clinic for Small Animal Surgery and Reproduction, Ludwig-Maximilians University, Munich, Bayern, Germany

<sup>2</sup> Department for Basic Veterinary Sciences, Ludwig-Maximilians University, Munich, Bayern, Germany

Address for correspondence Mirja Christine Nollff, DrMedVet, DECYS, Clinic for Small Animal Surgery and Reproduction, Ludwig-Maximilians-University, Veterinärstrasse 13, 80539 Munich, Bayern, Germany (e-mail: m.nollff@lmu.de).

Vet Comp Orthop Traumatol 2018;31:229–238.

## Abstract

**Objectives** To evaluate negative pressure wound therapy (NPWT) for treatment of complicated wounds in dogs.

**Study Type** Prospective randomized clinical study

**Materials and Methods** Dogs ( $n = 26$ ) undergoing open-wound treatment were randomly assigned to one of two groups: Group A ( $n = 13$ ) NPWT; Group B ( $n = 13$ ) silver-coated foam dressing. Pairs of patients were matched based on wound conformation, localization, and underlying cause and compared in terms of duration of previous treatment, development of wound size (wound planimetry), time to closure, bacterial bio-burden and complications. Wound dressing changes were performed every 3 days during the first 9 days of therapy for both groups. Statistical analysis was performed.

**Results** Pre-treatment signalment and bacterial status were comparable between groups. Total time to closure was significantly ( $p = 0.018$ ) shorter in Group A (14.2 days) compared with Group B (28.6 days), and wound planimetry on days 3, 6 and 9 showed significant greater reduction in total wound area for Group A at all-time points ( $p < 0.05$ ). Furthermore, wounds in Group A showed less progression of local infection than did wounds in Group B ( $p = 0.01$ ).

**Conclusion** NPWT-treated wounds showed faster closure, improved macro-deformation and less local signs of infection.

## Keywords

- ▶ negative pressure wound therapy
- ▶ polyurethane foam
- ▶ wound bioburden
- ▶ open wound management
- ▶ wound
- ▶ wound planimetry
- ▶ dog

\* Both authors contributed equally to the completion of the manuscript.

## Introduction

The potential of negative pressure wound therapy (NPWT) for facilitating open-wound healing has been recognized for some time.<sup>1–10</sup> Recently, numerous case reports and case studies,<sup>11–19</sup> reviews,<sup>20–23</sup> experimental<sup>24,25</sup> and clinical studies<sup>26,27</sup> have been published which demonstrate the value of NPWT for wound healing in small animal patients.

The available experimental and retrospective clinical trials in dogs and cats demonstrated faster granulation, effective local infection control and improved closure rates.<sup>25–27</sup> However, so far there are no prospective randomized clinical trials available that objectively compare NPWT to control treatment for the management of open wounds in dogs using wound planimetry. This is, in part, because clinical wounds are rarely completely comparable. Location, underlying cause and age

received  
March 6, 2017  
accepted after revision  
February 14, 2018  
published online  
June 11, 2018

© 2018 Georg Thieme Verlag KG  
Stuttgart · New York

DOI <https://doi.org/10.1055/s-0038-1639579>  
ISSN 0932-0814.

influence healing to some degree.<sup>28,29</sup> Despite this obstacle, it is critical that clinical trials are performed if we are to obtain reliable information on the benefits of various treatment options under clinical conditions. Wounds in experimental designs are highly replicable, but rarely resemble the problems we face in clinical reality. Soft tissue trauma, ischaemia and infection may complicate healing in a clinical setting. In addition, systemic disease such as shock or sepsis may further compromise the patient's ability to heal.<sup>28,29</sup> In light of these considerations, the aim of this study was to prospectively evaluate the outcome of NPWT when used for open-wound therapy in clinical cases in dogs, and to compare it to a standard treatment protocol. With this prospective randomized study, we wanted to eliminate some of the limitations of recent retrospective studies, such as lack of randomization, lack of objective wound planimetry and prospective data acquisition.

### Materials and Methods

The study was performed between July 2014 and September 2016 after approval of the ethics commission of the faculty for Clinically Applied Veterinary Medicine of the Ludwig Maximilians University, Munich (22-27-02-2014). Inclusion criteria consisted of dogs with open wounds due to traumatic tissue loss, infection or a combination of both in which previous attempts at surgical (delayed) primary closure had failed. These wounds were regarded as complicated. Patients that were presented with wound-healing complications after oncological surgery were included only if wide margins were achieved in the initial surgery and no signs of neoplasia were detectable in tissue debrided at day 0. Dogs were randomly assigned to one of two treatment groups using numerical lists generated by Excel (Microsoft Corporation; Redmond, Washington, United States). With respect to the expected difference in contraction and healing, two separate lists were used for randomization: one for wounds located on the body ( $n = 16$ ) and one for extremity wounds ( $n = 10$ ). If a patient had two separate wounds, each wound was treated as assigned by the randomization for that particular location.

### Treatment Protocols

After owner consent, a detailed wound history was obtained and wounds were classified as being acute ( $< 3$  months) or chronic ( $> 3$  months) as defined previously.<sup>30</sup> The patients underwent a clinical examination and further diagnostic testing if necessary. Haematology and serum biochemical analysis were obtained for all patients. After this initial workup, dogs were randomly assigned to one of the two treatment protocol groups.

In both groups, wounds were treated while dogs were under general anaesthesia by lavage using polyhexanide biguanide (Prontosan; B. Braun, Melsungen, Germany) and surgical debridement.

In Group A, a NPWT foam (V.A.C. GranuFoam; TracPad; V.A.C., KCI, Wiesbaden, Germany) was fitted to the wound. If pockets or loose skin were present, the foam was inserted into the pocket beneath the skin. The foam was covered by an adhesive NPWT drape (V.A.C. GranuFoam; TracPad; V.A.C., KCI, Wiesbaden, Germany), a TracPad (Sensa TracPad) (V.A.C. Gran-

ufoam; TracPad; V.A.C., KCI, Wiesbaden, Germany) was applied and the wound was connected to a portable NPWT device (V.A.C. GranuFoam; TracPad; V.A.C., KCI, Wiesbaden, Germany). NPWT was performed at a continuous pressure of  $-125$  mm Hg. Dressing changes were performed every 3 days during the first 9 days, and every 2 to 3 days thereafter depending on the condition and granulation activity of the wounds.

In Group B, the wounds were initially covered using a foil-coated foam dressing (ALLEYVIN Cavity; Smith & Nephew GmbH, Hamburg, Germany) sutured to the surrounding skin using polypropylene sutures (Premilene 2.0; B. Braun, Melsungen, Germany). In wounds where pockets were present and the skin was undermined without direct contact to the wound surface, pockets were closed using single poly-p-dioxanone sutures (MonoPlus, B. Braun, Melsungen, Germany) and the skin was secured to the underlying tissue using position sutures (polypropylene), which were removed once adaptation between skin and the underlying wound surface occurred (Premilene 2.0; B. Braun, Melsungen, Germany).

Planned dressing changes were performed every 3 days during the initial 9 days. Thereafter, dressing changes were performed as needed (once the dressings were completely saturated with fluid). If the dressings were saturated with wound exudation before the planned dressing change, they were replaced as needed and additional dressing changes were recorded. Once wound exudation had decreased to a level which allowed the dressings to be left in place for more than 24 hours, the dressing was changed to silver coated foam (Acticoat Moisture Control; Smith & Nephew GmbH, Hamburg, Germany).

Dressing changes in both groups were performed under general anaesthesia unless no further debridements were necessary and the patient tolerated the change well while awake. Wound lavage using polyhexanide biguanide was repeated at each dressing change in both groups.

Surgical wound reduction by secondary closure was permitted in both groups after day 9. Closure was allowed if the following prerequisites were fulfilled: full granulation of the entire wound, reduced wound discharge (Group A:  $< 300$  mL within 3 days, Group B: no saturation of dressing within 3 days) and closure achievable without necessitating undermining of the wound edges or reconstruction of any kind. Surgery (time from first cut/dressing removal to completion of new dressing application) as well as anaesthesia time (time from induction to extubation) was documented.

Antibiotic drug treatment in both groups was initiated at induction of anaesthesia as necessary based on the result of the microbiological culture. However, if previous antibiotic treatments were already installed, these were continued until culture results were available.

Analgesia was performed based on the degree of the injury using either fentanyl–ketamine–lidocaine constant rate infusion (CRI) or pure fentanyl CRI (between 1 and 3 days) followed by transdermal fentanyl. In cases where prolonged analgesia was needed, this was achieved by administering tramadol orally (5 mg/kg TID). No non-steroidal anti-inflammatory drugs or cortisone were permitted. Additional treatment was performed as needed.



**Fig. 1** Planimetry was performed using a standard marker placed next to the wound surface.

Outcome measures were recorded in terms of total time to closure, relative reduction of wound size with respect to wound size at day 0, development of wound bioburden and complications observed during therapy and after closure.

#### Wound Planimetry

Digital images of the wounds were obtained prior to dressing application on day 0, and after removal of the dressings on days 3, 6 and 9. Measurements were taken by using a marker placed directly next to the wound (→ Fig. 1). In large wounds with a multiplanar surface, a surgical compress was cut to match the wound surface and used as a template. The images were then exported to the V.A.C. Ultra (NPWT device with incorporated planimetry software) (V.A.C. <sup>ULTA</sup>; KCI, Wiesbaden, Germany) and wound planimetry was performed using the planimetry program by the principal investigator (M.C.N.). Due to the unique pattern that is created within the granulation tissue of the wounds by NPWT, blinding was not possible. The mean wound area, out of three repeated measurements per wound, was used for further evaluation. Wound depth was measured at the deepest point, the most superficial point and an intermediate depth; the approximate wound volume was calculated by multiplying the wound surface area by the mean of the three depth measurements.

#### Microbiological Evaluation

After debridement, a first culture swab (Sterile transport swab; Sarstedt AG & Co, Sarstedt, Germany or Transsystem, Hain Lifescience GmbH, Nehren, Germany) was obtained and routinely analysed by an accredited institute. Bacterial species were determined using matrix-assisted laser desorption ioni-

sation with time-of-flight analysis. Phenotypic antibiotic resistance was assessed according to the Clinical and Laboratory Standards Institute guidelines (CLSI VET01 document<sup>31</sup>). All isolates were tested for susceptibility to doxycycline, sulfonamide-trimethoprim, amoxicillin-clavulanic acid, cephalothin, cefovecin, nitrofurantoin, enrofloxacin, marbofloxacin, gentamicin, imipenem, ampicillin and amikacin. Multi-drug resistance (MDR) was defined as resistance to three or more major antibiotic classes, and extended drug resistance (XDR) as resistance to all but three of the tested antibiotic classes.<sup>32</sup> Repeated wound swabs were taken routinely on days 6 and 12 if the wound was still open.

#### Follow-up

If a patient developed serious life-threatening complications such as uncontrollable infection or deterioration of the wound, it was excluded from the study, and classified as a therapy dropout. Patients were followed for at least 8 weeks after closure (follow-up lasted between 3 months and 3 years). Just before completion of this manuscript, all owners were re-contacted by phone to document if any subsequent complications to final follow-up were observed.

#### Statistical Analysis

Statistical analysis was performed using SPSS (SPSS 20.0; IBM, Munich, Germany) and MedCalc (MedCalc Software; Ostend, Belgium). After completion of randomized data collection, matched pairs based on wound localization and cause were created within the created dataset. Categorical variables were expressed as frequency, and continuous data were expressed as median and range. Paired *t*-tests were used to assess differences between groups for continuous parameters. A McNemar test was used to compare categorical variables. To acknowledge therapy dropouts, time to closure was calculated using a Kaplan–Meier curve. Significance was set at  $p < 0.05$ .

#### Results

A total of 26 wounds (in 23 dogs) were enrolled in the study (→ **Supplementary Appendix A**, available in online version only).

#### Patient History

Mean age of patients in Group A was 65.2 months (range: 8–160 months), and mean body weight was 27.8 kg (range: 5.5–93 kg). The corresponding patients in Group B had a mean age of 82.5 months (range 16–142 months), and a mean body weight of 37.2 kg (range 9–93 kg). A total of 7/13 patients in Group A and 4/13 patients in Group B had were febrile on initial presentation. No significant differences were found between the groups. Further details and comorbidities are listed in → **Supplementary Appendix A** (available in online version only).

Two dogs were presented with multiple wounds, and one dog developed two separate wounds at different time points. The majority of wounds (11/13 in both groups) were acute, and the most frequent cause for open-wound treatment was uncontrollable infection (10/13 in Group A; 11/13 in Group B), with



**Table 1** Characterization of previous treatment of patients before inclusion in the study

	Group A (n = 11)	Group B (n = 11)
Previous treatment/ number of patients	11	11
Antibiotic treatment	11	11
Based on culture	4	3
without culture	7	8
Antiseptic pre-treatment (polyhexanid)	3	2
Monotherapy	8	7
Two antibiotic medications	2	3
Three antibiotic medications	1	1
Surgical pre-treatment	11	11
Surgical debridement with drains	4	4
Surgical debridement without drains	2	4
Open wound treatment	5	2
Mean duration of previous treatment	94.6 days (range 2–665)	78.7 days (range 1–274)

surgical site infections in 7/13 cases in Group A and 8/13 cases in Group B.

Eleven dogs from each group had received previous antibiotic medication and surgical treatment before presentation. Local wound antiseptics were used only rarely. Further details are given in **Table 1**. The mean of previous treatment duration was 94.6 days in Group A (range: 2–665 days) and 78.7 days in Group B (range: 1–274 days). No significant differences were found between the groups.

#### Surgical Procedure and Follow-up Treatment

##### Anaesthesia

The mean anaesthesia time at initial debridement (Group A 120 minutes [range: 25–270 minutes]; Group B 114.4 minutes [range: 0–279 minutes]) was comparable in both groups. One patient in Group B was treated without general anaesthesia by using local tissue blocks due to severe underlying heart disease.

At day 3, the mean anaesthesia time was significantly ( $p = 0.001$ ) shorter for Group B (30 minutes [range: 0–34 minutes]; Group A [85.7 (range: 53–120 minutes)]). In 5/13 patients in Group B and none out of Group A dressing changes were possible without general anaesthesia. Mean anaesthesia time at day 6 was comparable (Group A 70.3 minutes [range: 0–105 minutes]; Group B 53.8 minutes [range: 0–146 minutes]). Dressing changes could be performed without general anaesthesia in one patient in Group A and four patients in Group B.

##### Surgical Procedure

The mean surgical time (Group A 55.73 minutes [range: 30–130 minutes]; Group B 61.5 minutes [range: 15–219 minutes]) at initial debridement was comparable in both groups. Necrotic tissue and skin that needed debridement were present in 9/13 wounds in both groups.

At day 3, mean surgery time ( $p = 0.004$ ) was significantly shorter in Group B (19.8 minutes [range: 15–35 minutes]) compared with Group A (43 minutes [range: 10–80 minutes]). Residual necrotic tissue was visible and debrided in 6/13 patients in both groups; however, the amount of residual necrosis that needed debridement was considerably less in the Group A patients.

At day 6, patients in Group B suffered significantly more wound deterioration and necrosis (Group A 2/13; Group B 8/13), and required significantly more frequent ( $p = 0.004$ ) and more extensive debridements compared with Group A (Group A 2/13; Group B 9/13). Mean surgery time at day 6 for Group A (37.5 minutes [range: 15–65 minutes]) was not significantly different from surgery time at day 6 for Group B (26.7 minutes [range: 15–65 minutes]).

##### Bacterial Culture

The majority of wounds (9/13 Group A and 10/13 Group B) tested positive at initial debridement in both groups. Three patients in both groups that initially tested positive became negative during treatment, and one out of four patients in Group A that initially tested negative became positive during treatment, compared with three out of three patients in Group B. None of these differences were significant. The median number of bacterial species isolated at initial debridement was one in both groups (range 0–9 Group A; range 0–3 Group B). Repeated bacterial culture results at day 6 were available for 12 dogs in both groups. The median number of isolated bacteria was one in both groups (0–4 Group A; 0–3 Group B). While a variety of different bacteria were detected initially, later cultures produced a more selective flora with increased MDR rates, and even produced bacteria classified as XDR. Further details are provided in **Table 2**.

##### Antimicrobial Treatment

The majority of cases (Group A  $n = 9$ , Group B  $n = 7$ ) were initially treated with amoxicillin/clavulanic acid monotherapy. One patient was presented with a wound infected with extended drug resistant bacteria (Group A); thus, no antibiotic medication was administered. Adjustments of therapy were performed in four cases in Group A and six cases in Group B according to an antibiogram. Further details are given in **Table 3**.

##### Hospitalization

Patients in Group A were hospitalized for a mean of 20 days (range 9–59 days) compared with 15 days (range 1–30 days) in Group B. This difference was not significant.

##### Treatment Results

Wound closure was achieved in 11 of 13 patients in Group A and 9 of 13 patients in Group B; therefore, no significant

**Table 2** Overview of the isolated bacteria in both groups at day 0, 6 and 12

Bacteria species	Group A (NPWT)			Group B (Foam)		
	Day 0	Day 6	Day 12	Day 0	Day 6	Day 12
<i>Acinetobacter baumannii</i>					1	1
<i>Actinomyces canis</i>	1			1		
<i>Bacteroides pyogenes</i>				1		
<i>Brevibacillus</i>					1	
<i>Coryneforme</i>				1	1	1
<i>Escherichia coli</i>		2		1	1	1
<i>Enterobacter spp.</i>				2		
<i>Enterococcus avium</i>	1					
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	2	1	1	2	
<i>Fusebacterium</i>				1		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>					1	
<i>Moraxella spp.</i>						1
<i>Mycobacterium spp.</i>					1	
<i>Neisseria weaveri</i>	1					
<i>Neisseria zoodegmatis</i>	1					
<i>Pasteurella aerogenes</i>	1					
<i>Pasteurella canis</i>	1			1		
<i>Pasteurella multocida</i>				1		
<i>Pluralibacter georgiae</i>	1	1				
<i>Proteus mirabilis</i>	1	1		1		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	1	3		2	2
<i>Staphylococcus aureus</i>				1		
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	3	2	1	2	2	3
<i>Staphylococcus weaveri</i>		1				
<i>Streptococcus canis</i>	2	1		2		
<i>Streptococcus minor</i>	1					
<i>α-Haemolytic Streptococci</i>	1					
Total number of isolates per group/day	17	11	5	16	12	9
Number of MDR isolates ( $\leq 3$ antibiotic classes)	1	2	1	5	1	2
Number of XDR isolates ( $\geq 4$ antibiotic classes)	2	1	2	1	6	2

Abbreviations: MDR, multi-drug resistant bacteria; NPWT, negative pressure wound therapy; XDR, extended drug resistance.

difference in closure rate was detected. Mean total time to closure was shorter in patients from Group A (14.2 days, range: 6–34 days) compared with corresponding patients from Group B (28.7 days, range: 5–75 days). A Kaplan–Meier analysis showed that this difference was significant ( $p = 0.018$ ) (–Fig. 2).

Wounds in Group A showed a highly significant superior reduction in wound size as well as wound volume compared with wounds in Group B at all-time points. Further details are given in –Table 4. The effect of treatment on wound surface regarding body region (extremity versus body as described in Material and Methods) is given in –Fig. 3. All wounds in the NPWT were significantly smaller at any measured time point. However, when wounds were divided into body and extre-

mity, it became clear that the effect was different. All wounds in Group B initially became bigger, finally approaching the initial area by day 9, in contrast body wounds in NPWT quickly became smaller, while extremity wounds basically stayed the same size initially to show a slower decrease in area by day 9 (–Fig. 3).

#### Complications

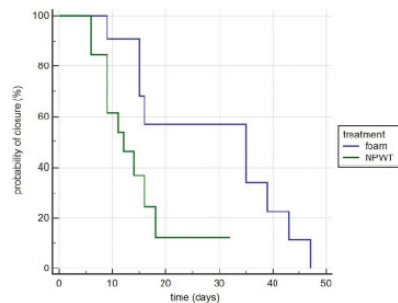
The complication rates in Group A (6/13) and Group B (9/13) were not significantly different. Progressing infection under open therapy was significantly ( $p = 0.01$ ) more frequently observed in Group B patients (9/13) than in Group A (1/13). Further complications observed under therapy included the formation of indolent pockets ( $n = 1$  Groups A and B),

**Table 3** Antibiotic and antiseptic treatment of the patients after inclusion in the study given in number of patients treated

	Group A (n = 13)	Group B (n = 13)
<b>Antibiotic treatment at initiation of therapy</b>	12	13
<b>Monotherapy</b>	10	11
Amoxicillin/Clavulanic acid	9	7
Amoxicillin	1	1
Cephalexin		2
Marbofloxacin		1
<b>Multiple antibiotic medications</b>	0	2
Amoxicillin/clavulanic acid + metronidazole	1	1
Amoxicillin/clavulanic acid + enrofloxacin	1	
Amoxicillin/clavulanic acid + marbofloxacin	0	1
<b>Adjusted during treatment</b>	4	6
Amoxicillin/clavulanic acid	0	1
Marbofloxacin	3	4
Metronidazole	0	1
Doxycycline	1	0
<b>Antiseptic treatment during therapy</b>	13	13
Polyhexanide	13	13
Acetic acid	0	1

development of systemic sepsis (n = 1 Group A, n = 2 Group B), skin irritation (n = 3 Group A, n = 6 Group B), skin necrosis (n = 1 Groups A and B), dressing leakage (n = 4 Group A) and ingrowth of the NPWT foam (n = 3 Group A).

Within Group A, one dog developed severe thromboembolism of the entire vasculature of the lower limb and paw,



**Fig. 2** Kaplan-Meier curve showing the difference in probability of closure related to treatment time between groups.

resulting in necrosis as confirmed by histopathology. Therapy was discontinued at day 13 and the limb was amputated. The second patient had a severe soft tissue infection and osteomyelitis of the os unguatum of the fourth left hind digit. The dog removed the dressing and caused severe automutilation during therapy; therefore, high amputation of the toe followed at day 32. The wound finally healed, but the dog developed septic myocarditis and died.

Within Group B, therapy had to be discontinued due to progressing wound infection at day 4 in one patient, as well as due to severe ongoing panniculitis and systemic sepsis in two more patients at days 7 and 10. In the fourth patient, large volumes of wound discharge necessitated multiple dressing changes per day. As wound excretion did not decline by day 10 and no real granulation occurred, this patient was removed from the study and transitioned to NPWT treatment, resulting in decline of discharge and smooth granulation of the wound.

One patient in each group died due to wound-related causes (severe infection), while in both groups one patient that was successfully treated died due to unrelated reasons (intra-abdominal haemorrhage and end-stage cardiac disease) at 3 and 6 months after wound closure.

Complications that occurred after closure were observed in 2/11 patients in Group A and 4/9 patients in Group B, including residual wound excretion (n = 2 Group B), dehiscence (n = 1 Group A, n = 2 Group B), recurring infection (n = 1 Group A, n = 3 Group B), fistula formation (n = 2 Group B) and change in hair (coat) colour (n = 1 Group A). None of these complication types occurred significantly more often in either group.

**Cost and Economy**

Patients treated with NPWT required significantly fewer dressing changes until closure than patients in Group B; however, these had to be performed under general anaesthesia. In uncomplicated cases, costs were lower in silver-coated foam-treated patients (shorter hospital stay, dressing changes without anaesthesia). However, the complications in this group resulted in major costs compared with complications in the NPWT group; thus, the mean total cost until end of treatment (due to closure or death) for all was 3.6% less in patients treated with NPWT compared with silver coated foam.

**Discussion**

Numerous publications have reported the beneficial effect of NPWT treatment on the healing of complicated wounds in humans and animals.<sup>1-27</sup> The principle of 'moist wound healing', which led to the development of polyurethane foam dressings, aims to support the needs of wound healing with respect to temperature, moisture, osmolarity and gas exchange.<sup>33-35</sup> In addition, the age of the wound may be a concern, as chronic wounds already display a disturbed healing response. Unfortunately, a 'chronic' wound is poorly defined in veterinary medicine and currently there are no sources available to determine a cut-off time. In contrast, a wound has been defined as 'chronic' in human medicine if it is older than 3 months.<sup>30</sup> This seems to be a very long time for



**Table 4** Residual wound area and volume was significantly lower at day 3, 6 and 9 in group A (NPWT)

	Day	Mean		Median		Standard deviation	Cohen-d	p Value
		NPWT	Foam	NPWT	Foam			
Residual wound area %	0	100	100	100	100			
	3	74	131.2	69.4	108.7	68.45	-1.23	0.001
	6	74.6	97.1	54.6	83.9	46.27	-0.46	0.011
	9	51.9	106.5	37.7	88.6	41.77	-0.88	0.006
Residual wound volume %	0	100	100	100	100			
	3	68.2	150.6	58	108.2	121.30	-0.88	0.031
	6	64.4	94.2	47.9	93.3	45.29	-0.53	0.006
	9	35.7	92.4	37.2	47.9	71.08	-1.06	0.014

Abbreviation: NPWT, negative pressure wound therapy.

healing in dogs; however, due to the lack of a veterinary definition, we categorized our wounds into 'acute' and 'chronic' based on the existing definition. Silver-coated foam dressings promote wound healing by preventing maceration of the peri-wound skin area and reducing clinical signs of wound infection and the size of the wound area.<sup>36</sup>

Negative pressure wound therapy results in a uniform reduction in interstitial oedema due to active fluid drainage, and thus to a reduction in interstitial pressure and an increase in blood flow within the tissue under the sponge.<sup>3,8,9</sup> This increase

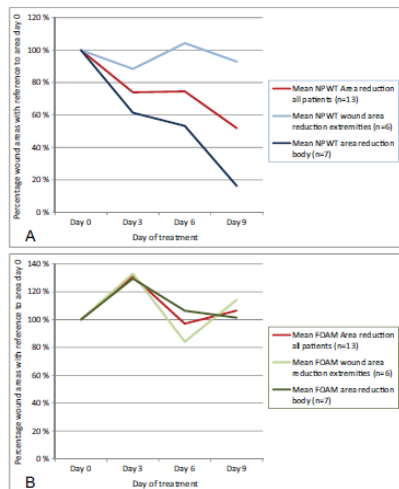
of up to 50% in perfusion levels can be achieved up to 1.5 cm under the sponge, and the effect of the negative pressure can extend as far as 3 cm under the sponge at a setting of -125 mm Hg.<sup>3,8</sup> Negative pressure wound therapy is also known to result in a significant increase in tissue granulation when compared with control groups using standard open-wound management in dogs, pigs and humans.<sup>3,25,37</sup> This effect is thought to be due to the enhancement of fibroblast proliferation due to mechanical cell deformation.<sup>10</sup> Several trials have demonstrated that NPWT treatment accelerates wound healing compared with conventional dressings in human medicine,<sup>38</sup> and some corresponding veterinary studies indicate a comparable effect.<sup>25-27</sup> Unfortunately, objective data on the efficacy of NPWT in open-wound treatment compared with standard treatment protocols are sparse in veterinary patients.<sup>25</sup>

Wounds can be very heterogeneous: the age of the patient; the size, age, and location of the wound; and the presence of infection are parameters that strongly influence healing.<sup>28-30</sup> To compensate for this potential bias, matched pairs of patients were assigned after randomized patient acquisition was completed for the evaluation of outcome parameters. The current study provides objective, controlled data on the effect of NPWT treatment for complicated wounds in dogs.

**Bacterial Decontamination**

As previously described in a retrospective study,<sup>26</sup> the main reason for open-wound treatment in this study was uncontrollable infection. The majority of wounds had been pre-treated in this study, with a slightly longer (non-significant) period of pre-treatment in the NPWT group. Previous antibiotic treatment did not decontaminate the wounds of most patients, as the majority (9/13 in Group A and 10/13 in Group B) were presented with bacterial wound infections. It is generally accepted that wounds will harbour bacteria on their surface (colonization); however, once colonization progresses to critical colonization or even infection, this can interfere with healing.

Previous clinical trials in dogs and cats already have shown that there is no great difference between NPWT- and foam-treated patients in terms of bacterial clearance.<sup>26,27</sup> These findings agree with the results of the current study, in which tailored systemic antibiotic therapy, local wound antiseptics



**Fig. 3** Development of wound area (described as percentage of wound area at day 0). The effect of macro-contraction is more obvious in body wounds than in extremity wounds in negative pressure wound therapy (NPWT)-treated wounds (A). Foam-treated wounds showed less reduction in either extremity or body wounds than did NPWT-treated wounds. In addition, differences between extremity and body wounds were not as profound (B).

Downloaded by LMU München. Copyrighted material.

additional debridements needed at days 6 and 9. Due to this fact, surgery and anaesthesia time can be compared again, since the gain in time by the shorter dressing application is offset by the increased duration of wound care needed during the dressing changes if NPWT is not used.

One patient in Group B was treated with local anaesthetics. We should acknowledge that this could potentially have a negative effect on healing, as has been described in various cases in human medicine.<sup>45</sup> However, despite the use of local anaesthetics and the condition of this patient (heart disease precluding general anaesthesia), the wound in this patient showed the highest wound contraction and fastest healing time in this group. This most likely reflects the numerous factors that influence healing; it also demonstrates a major limitation of this study, since it is impossible to address all these factors properly under clinical conditions. One drawback of NPWT treatment was the increased hospitalization time. This reflects the complexity of the treatment, as the pumps must be controlled every 2 hours, and many dog owners do not feel comfortable with this responsibility. However, newer smaller devices may eliminate this limitation in the future.

On the contrary, NPWT treatment requires less dressing changes, significantly reducing time and effort as well as stress for the patients, as the dressings can stay in place for up to 3 days. Although more expensive when compared with a successfully treated case with other modalities, the reduced cost of occurring complications under treatment also results in an overall beneficial economic situation.

#### Complications

Apart from the faster control of infection, no significant differences regarding complications were found between the two treatment groups. However, it is important to emphasize that failure to control wound infection was the main reason for wounds failing to close, and the only cause of death during therapy. Several cases that were excluded from the study due to progressing infection and wound deterioration in Group B were treated using NPWT after exclusion. We found that failure to control infection early during treatment increased the treatment time required later.

Another important finding was that in three NPWT cases the dressing interval of 3 days was too long, resulting in ingrowth of the NPWT sponge which had to be removed surgically afterwards. These removals resulted in wound size increase in all cases. Therefore, the interval for dressing changes recommended by the manufacturer of 2 to 3 days should be seriously considered when treating dogs. This manufacturer's advice is based on studies in rabbits, pigs and humans. This is the first study using dogs that documents the effect of dressing-change interval on ingrowth. Based on our findings, we recommend a dressing-change interval of less than 3 days to reduce the risk of tissue ingrowth.

#### Limitations

The current study is not without limitations. Of these the following were considered major: The investigation of wound healing under clinical conditions is cumbersome and difficult, due to the many factors influencing healing. Nevertheless, clinical

studies are warranted, as these special circumstances cannot be addressed in experimental situations. We attempted to minimize this problem by creating matched pairs based on wound parameters; although this matching process can only approximate 'vastly comparable' situation, it will not lead to the creation of truly homogenous cases given the incidence of such wounds. In addition, all measurements were conducted by the main investigator, and unfortunately blinding was not possible since NPWT creates a typical pattern on the surface of the wound that is immediately recognizable. This poses another drawback and introduces bias to the study design. Finally, this is the first clinical NPWT study that included wound planimetry. We decided to include area measurements as well as volume. However, the volume function of the device has not been validated before. It has to be stated that this does not reflect the true volume of the wound, but rather a semiquantitative measurement. True determination of wound volume is difficult, and currently no measurement method allows accurate determination.

#### Conclusion

From the results of this study, we conclude that NPWT allows faster wound closure and effective control of local infection compared with foam dressing, resulting in a shorter treatment time. One potential drawback is the increased time of hospitalization, as well as the increased time needed for dressing changes as well as the need for anaesthesia during dressing changes.

#### Conflict of Interest

None.

#### Author contributions

Mirja C. Nolff contributed to the conception of the study, study design, acquisition of data, and data analysis and interpretation. Rebecca Albert contributed to acquisition of data, and data analysis and interpretation. Sven Reese contributed to the conception of the study, and data analysis and interpretation. Andrea Meyer-Lindenberg contributed to study design, and data analysis and interpretation. All authors drafted and revised and approved the submitted manuscript.

#### Acknowledgement

The study was partly funded by the 'Gesellschaft zur Förderung Kynologischer Forschung e.V'.

#### References

- 1 Rozhdestvin VA, Nurgaliev TN, Kiverov SV. Vacuum-aspiration in the treatment of stab wounds of soft tissues. *Ortop Traumatol Protez* 1987;32:32-36
- 2 Voinchet V, Magalon G. [Vacuum assisted closure. Wound healing by negative pressure] [Article in French]. *Ann Chir Plast Esthet* 1996;41(05):583-589
- 3 Morykwas MJ, Argenta LC, Shelton-Brown EI, McGuirt W. Vacuum-assisted closure: a new method for wound control and treatment: animal studies and basic foundation. *Ann Plast Surg* 1997;38(06):553-562
- 4 Isago T, Nozaki M, Kikuchi Y, Honda T, Nakazawa H. Effects of different negative pressures on reduction of wounds in negative pressure dressings. *J Dermatol* 2003;30(08):596-601

- 5 Jones SM, Banwell PE, Shakespeare PG. Advances in wound healing: topical negative pressure therapy. *Postgrad Med J* 2005;81(956):353–357
- 6 Argenta LC, Morykwas MJ, Marks MW, DeFranzo AJ, Molnar JA, David LR. Vacuum-assisted closure: state of clinic art. *Plast Reconstr Surg* 2006;117(7, Suppl):1275–1425
- 7 Banwell P, Téot L. Topical negative pressure (TNP): the evolution of a novel wound therapy. *J Tissue Viability* 2006;16(01):16–24
- 8 Wackenfors A, Gustafsson R, Sjögren J, Algotsson L, Ingemansson R, Malmström M. Blood flow responses in the peristernal thoracic wall during vacuum-assisted closure therapy. *Ann Thorac Surg* 2005;79(05):1724–1730, discussion 1730–1731
- 9 Wackenfors A, Sjögren J, Gustafsson R, Algotsson L, Ingemansson R, Malmström M. Effects of vacuum-assisted closure therapy on inguinal wound edge microvascular blood flow. *Wound Repair Regen* 2004;12(06):600–606
- 10 McNulty AK, Schmidt M, Feeley T, Kieswetter K. Effects of negative pressure wound therapy on fibroblast viability, chemotactic signaling, and proliferation in a provisional wound (fibrin) matrix. *Wound Repair Regen* 2007;15(06):838–846
- 11 Bertran J, Farrell M, Fitzpatrick N. Successful wound healing over exposed metal implants using vacuum-assisted wound closure in a dog. *J Small Anim Pract* 2013;54(07):381–385
- 12 Owen L, Hotston-Moore A, Holt P. Vacuum-assisted wound closure following urine-induced skin and thigh muscle necrosis in a cat. *Vet Comp Orthop Traumatol* 2009;22(05):417–421
- 13 Mullally C, Carey K, Seshadri R. Use of a nanocrystalline silver dressing and vacuum-assisted closure in a severely burned dog. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)* 2010;20(04):456–463
- 14 Guille AE, Tseng LW, Orsher RJ. Use of vacuum-assisted closure for management of a large skin wound in a cat. *J Am Vet Med Assoc* 2007;230(11):1669–1673
- 15 Ben-Amotz R, Lanz OI, Miller JM, Filipowicz DE, King MD. The use of vacuum-assisted closure therapy for the treatment of distal extremity wounds in 15 dogs. *Vet Surg* 2007;36(07):684–690
- 16 Pitt KA, Stanley BJ. Negative pressure wound therapy: experience in 45 dogs. *Vet Surg* 2014;43(04):380–387
- 17 Nollf MC, Meyer-Lindenberg A. Necrotising fasciitis in a domestic shorthair cat—negative pressure wound therapy assisted debridement and reconstruction. *J Small Anim Pract* 2015;56(04):281–284
- 18 Nollf MC, Layer A, Meyer-Lindenberg A. Negative pressure wound therapy with instillation for body wall reconstruction using an artificial mesh in a Dachshund. *Aust Vet J* 2015;93(10):367–372
- 19 Nollf MC, Peper K, Meyer-Lindenberg A. Treatment of a perforating thoracic bite wound in a dog with negative pressure wound therapy. *J Am Vet Med Assoc* 2016;249(07):794–800
- 20 Kirkby KA, Wheeler JL, Farese JP, et al. Surgical views: vacuum-assisted wound closure: clinical applications. *Compend Contin Educ Vet* 2010;32(03):E1–E6, quiz E7
- 21 Kirkby K, Wheeler J, Farese J, et al. Surgical views: vacuum-assisted wound closure: application and mechanism of action. *Compend Contin Educ Vet* 2009;31(12):E1–E5, E7, quiz E6
- 22 Nollf MC, Meyer-Lindenberg A. [Negative Pressure Wound Therapy (NPWT) in small animal medicine. Mechanisms of action, applications and indications] [Article in German]. *Tierarztl Prax Ausg K Klientiere Heimtiere* 2016;44(01):26–37, quiz 38
- 23 Howe LM. Current concepts in negative pressure wound therapy. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2015;45(03):565–584
- 24 Coutin JV, Lanz OI, Magnin-Bissel GC, et al. Cefazolin concentration in surgically created wounds treated with negative pressure wound therapy compared to surgically created wounds treated with nonadherent wound dressings. *Vet Surg* 2015;44(01):9–16
- 25 Demaria M, Stanley BJ, Hauptman JG, et al. Effects of negative pressure wound therapy on healing of open wounds in dogs. *Vet Surg* 2011;40(06):658–669
- 26 Nollf MC, Fehr M, Bolling A, et al. Negative pressure wound therapy, silver coated foam dressing and conventional bandages in open wound treatment in dogs. A retrospective comparison of 50 paired cases. *Vet Comp Orthop Traumatol* 2015;28(01):30–38
- 27 Nollf MC, Fehr M, Reese S, Meyer-Lindenberg AE. Retrospective comparison of negative pressure wound therapy and silver-coated foam dressings in open-wound treatment in cats. *J Feline Med Surg* 2017;19(06):624–630
- 28 Amalsadvala T, Swaim SF. Management of hard-to-heal wounds. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2006;36(04):693–711
- 29 Pavletic M. Basic principles of wound healing. In: Pavletic M, ed. *Atlas of Small Animal Reconstructive Surgery*. Philadelphia, PA: J. B. Lippincott; 1993:11–18
- 30 Mustoe TA, O'Shaughnessy K, Kloeters O. Chronic wound pathogenesis and current treatment strategies: a unifying hypothesis. *Plast Reconstr Surg* 2006;117(7, Suppl):355–415
- 31 Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals, 4th ed. Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2013
- 32 Gandolfi-Decristoforis P, Regula G, Petrini O, Zinsstag J, Schelling E. Prevalence and risk factors for carriage of multi-drug resistant *Staphylococci* in healthy cats and dogs. *J Vet Sci* 2013;14(04):449–456
- 33 Campbell BG. Dressings, bandages, and splints for wound management in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2006;36(04):759–791
- 34 Bolton LL, Monte K, Pirone LA. Moisture and healing: beyond the jargon. *Ostomy Wound Manage* 2000;46(1A, Suppl):515–625, quiz 635–645
- 35 Fahie MA, Shettko D. Evidence-based wound management: a systematic review of therapeutic agents to enhance granulation and epithelialization. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2007;37(03):559–577
- 36 Kotz P, Fisher J, McCluskey P, Hartwell SD, Dharma H. Use of a new silver barrier dressing, ALLEVYN Ag in exuding chronic wounds. *Int Wound J* 2009;6(03):186–194
- 37 Morykwas MJ, Falser BJ, Pearce DJ, Argenta LC. Effects of varying levels of subatmospheric pressure on the rate of granulation tissue formation in experimental wounds in swine. *Ann Plast Surg* 2001;47(05):547–551
- 38 Blume PA, Walters J, Payne W, Ayala J, Lantis J. Comparison of negative pressure wound therapy using vacuum-assisted closure with advanced moist wound therapy in the treatment of diabetic foot ulcers: a multicenter randomized controlled trial. *Diabetes Care* 2008;31(04):631–636
- 39 Lalliss SJ, Stinner DJ, Waterman SM, Branstetter JG, Masini BD, Wenke JC. Negative pressure wound therapy reduces pseudomonas wound contamination more than *Staphylococcus aureus*. *J Orthop Trauma* 2010;24(09):598–602
- 40 Weed T, Ratliff C, Drake DB. Quantifying bacterial bioburden during negative pressure wound therapy: does the wound VAC enhance bacterial clearance? *Ann Plast Surg* 2004;52(03):276–279, discussion 279–280
- 41 Mouës CM, Vos MC, van den Bemd GJ, Stijnen T, Hovius SE. Bacterial load in relation to vacuum-assisted closure wound therapy: a prospective randomized trial. *Wound Repair Regen* 2004;12(01):11–17
- 42 Nollf MC, Reese S, Fehr M, Denning R, Meyer-Lindenberg A. Assessment of wound bio-burden and prevalence of multi-drug resistant bacteria during open wound management. *J Small Anim Pract* 2016;57(05):255–259
- 43 Weese JS. A review of multidrug resistant surgical site infections. *Vet Comp Orthop Traumatol* 2008;21(01):1–7
- 44 Saxena V, Hwang CW, Huang S, Eichbaum Q, Ingber D, Orgill DP. Vacuum-assisted closure: microdeformations of wounds and cell proliferation. *Plast Reconstr Surg* 2004;114(05):1086–1096, discussion 1097–1098
- 45 Brower MC, Johnson ME. Adverse effects of local anesthetic infiltration on wound healing. *Reg Anesth Pain Med* 2003;28(03):233–240

## **IV. VERÖFFENTLICHUNG NR. 2**

### **1. Publikation**

**Titel:** Evaluation of systemic effects of Negative Pressure Wound Therapy in open wound treatment in dogs.

**Autor:** Rebecca Albert, Sven Reese, Andrea Meyer-Lindenberg, Mirja C. Nolff

**Zeitschrift:** Journal of Veterinary Comparative Orthopaedics and Traumatology  
Open



## Evaluation of Systemic Effects of Negative Pressure Wound Therapy in Open Wound Treatment in Dogs

Rebecca Albert<sup>1</sup> Sven Reese<sup>2</sup> Mirja C. Nollff<sup>1</sup> Andrea Meyer-Lindenberg<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Clinic for Small Animal Surgery and Reproduction, Ludwig-Maximilians University, Munich, Germany

<sup>2</sup>Department for Basic Veterinary Sciences, Ludwig-Maximilians University, Munich, Germany

Address for correspondence: Rebecca Albert, Clinic for Small Animal Surgery and Reproduction, Ludwig-Maximilians-University, Veterinärstrasse 13, 80539 Munich, Germany (e-mail: rebecca.albert@chir.vetmed.uni-muenchen.de).

VCOT Open 2019;2:e1–e8.

### Abstract

**Objectives** The aim of this study was to evaluate the systemic effect of negative pressure wound therapy (NPWT) on the treatment of complicated wounds in dogs.

**Materials and Methods** Dogs undergoing open wound treatment were randomly assigned to one of two groups: NPWT ( $n = 11$ ) or polyurethane foam dressing ( $n = 11$ ). Rectal temperature, heart rate as well as haematocrit, thrombocytes, leucocyte count, band neutrophils, C-reactive protein (CrP), total protein and albumin were recorded daily from the beginning of therapy (day 0) until day 5, as well as on day 10. The effect of treatment on systemic parameters was evaluated as well as the prognostic power of the individual parameters with regard to successful wound closure.

**Results** A more profound systemic decrease was found in total protein under NPWT. This difference was non-significant. Patients with non-successful closure displayed a non-significant trend towards lower initial leucocyte and thrombocyte counts and significantly higher CrP values on days 4, 5 and 10 ( $p < 0.05$ ) compared with successfully treated patients. Receiver operating characteristic analysis revealed an optimal cutoff value of 70.2 mg/L at day 4 (sensitivity 80; specificity of 85.7).

**Conclusion** There might be an increased loss of protein in NPWT-treated patients, which does not affect albumin levels, otherwise no systemic effects were detected compared with the control treatment. The parameter with the best sensitivity and specificity to detect serious complications (no wound closure achieved) was CrP at day 4.

### Keywords

- ▶ negative pressure wound therapy
- ▶ polyurethane foam
- ▶ Creactive protein
- ▶ prognostic values for wound closure

### Introduction

The first phase of wound healing, namely the inflammatory phase, involves three major components for healing: inflammatory cells, inflammatory mediators and thrombocytes.<sup>1,2</sup> The process is quite similar between species,<sup>2</sup> but differences in healing capacity have been described for different species including dogs and cats, as well as horse and ponies.<sup>3–6</sup> The current knowledge of physiological and delayed wound healing in dogs has mainly been transferred from facts generated in humans,<sup>7</sup> with a lack of species-specific pathophysiological studies of healing. Studies in humans and pigs have suggested

that negative pressure wound therapy (NPWT) exerts profound effects on the wound including cytokine—and even gene modification.<sup>8,9</sup> The systemic effect of this therapy is still under debate with a very few studies investigating this aspect. A study of diabetic ulcers in man found no effect on systemic leucocytes with a beneficial effect on C-reactive protein (CrP) development under therapy.<sup>10</sup> Interestingly, clinical trials in dogs and cats suggest that there might be an impact on systemic infection, especially development of systemic signs of systemic inflammatory response syndrome and sepsis in patients treated with NPWT. Nollff and colleagues retrospectively detected improved infection control and fewer cases

received  
July 30, 2018  
accepted after revision  
May 2, 2019

DOI <https://doi.org/10.1055/s-0039-1693007>.  
ISSN 2625-2325.

© 2019 Georg Thieme Verlag KG  
Stuttgart · New York

License terms





with progressing signs of sepsis under NPWT compared with polyurethane foam treatment in dogs and cats.<sup>11,12</sup> But so far, there are no prospective randomized studies available to underline and quantify this effect. It is generally accepted that a wound is a local problem that should have little systemic impact,<sup>1</sup> which might be one of the reasons why systemic impacts of treatment are not frequently investigated. However, previous studies demonstrated that one of the main reasons for open wound treatment in dogs and cats is uncontrollable infection frequently linked with systemic signs of sepsis.<sup>11,12</sup> In contrast to chronic wounds of other origin, this subtype of wounds represents a group in which systemic effects frequently complicate the situation. Failure to control local and systemic infection are the main reasons for unsuccessful treatment of these patients.<sup>11,12</sup>

Wound infection—especially early stages—is not always easily differentiated from normal healing. The presence of bacteria alone is not helpful, since the bacterial bioburden can be present without major harm of the patient.<sup>13</sup> Therefore, it seems reasonable to investigate if there are systemic factors, measurable in a clinical examination or in a standard blood test, which might be influenced by treatment—and furthermore—if any of those actually qualify as prognostic factors to identify ongoing infection and potentially predict unsuccessful treatment. This is why we decided to restrict our focus for systemic inflammation on the following parameters. The aim of this study was to evaluate the effect of NPWT on several systemic parameters and to compare it to a foam dressing treatment protocol to identify differences. Furthermore, the prognostic value of rectal temperature, heart rate, leucocyte count, band neutrophil count, haematocrit, thrombocyte count, total protein, albumin and CrP on day 0–5 and 10 was evaluated. The hypothesis was that NPWT would positively influence several systemic parameters such as signs of infection. Furthermore, we suggested that prolonged signs of infection such as progressive leucocytosis, CrP increase, an increase in temperature or heart rate would be related to unsuccessful wound closure after open wound treatment and if one or more of these parameters could be employed as a prognostic factor for a successful wound healing.

### Materials and Methods

The study was performed between July 2014 and September 2016 after approval of the ethic commission of the faculty (22–27–02–2014). Dogs were included if they were presented with injuries requiring open wound treatment due to traumatic tissue loss or infection if previous attempts of closure had failed. Patients were assigned to one of two treatment groups using random numerical lists generated by Excel (Microsoft Corporation; Redmond, Washington, United States) (→ **Supplementary Appendix Table 1**, available in online version only).

### Treatment Protocols

After owner consent, the patients underwent a general clinical examination, and further diagnostic steps if necessary. A haematology, serum chemistry profile as well as CrP were obtained from all patients before initiation of therapy. All

wounds were then debrided and lavaged, while the patient was under general anaesthesia using polyhexanide biguanide (Prontovet; B. Braun, Melsungen, Germany). In Group A, NPWT was performed at a continuous pressure of –125 mm Hg (V.A.C. GranuFoam; TracPad; ActiVAC, KCI, Wiesbaden, Germany). In Group B, the wounds were initially covered using a foil-coated foam dressing (ALLEYVIN Cavity; Smith & Nephew GmbH, Hamburg, Germany) sutured to the surrounding skin and changed as needed. Once wound exudation had decreased to a level which allowed the dressings to be left in place for more than 24 hours, the dressing was changed to silver-coated foam (Acticoat Moisture Control; Smith & Nephew GmbH). Planned dressing changes were performed every 3 days during the first 9 days, and every 2 to 3 days thereafter in both groups. All patients received treatment with amoxicillin/clavulanic acid at a dose of 12.5 mg/kg three times a day (intravenously as long as venous catheters were present, followed by oral administration). Antibiotic treatment was adjusted based on the results of microbiological culture if needed. Analgesia was performed based on the degree of the injury either using fentanyl-ketamine-lidocaine constant rate infusion for 3 days followed by transdermal fentanyl or a pure fentanyl constant rate infusion for 12 hours, followed by transdermal fentanyl. In cases where prolonged analgesia was needed, this was achieved by administering tramadol orally (5 mg/kg three times a day). No non-steroidal drugs or cortisone were permitted in any patient during treatment. Additional treatment was performed as needed based on the severity of the condition of the patients.

### Special Investigated Parameters

The following parameters were assessed at day 0 to 5 as well as day 10: rectal body temperature (°C), heart rate (BPM), leucocyte count (10<sup>9</sup>/L), band neutrophil count (10<sup>9</sup>/L), CrP (mg/L), haematocrit (%), thrombocyte count (10<sup>9</sup>/L), total protein (g/L) as well as albumin (g/L). Complications were defined as severe local deterioration of the wound, increased exudation, increased infection or necrosis of surrounding areas or systemic infections precluding closure under therapy. If successful management of the wounds was not achieved under the randomized treatment option, treatment was changed to the most successful potential alternative (foam → NPWT, NPWT → NPWT with instillation of a solution, NPWT → amputation in case of a limb injury) and patients were classified as 'unsuccessful closure achieved under therapy'. Wounds were considered successfully treated if complete closure was achieved and no complications necessitating further surgical treatment developed within 6 weeks after closure.

### Statistical Analysis

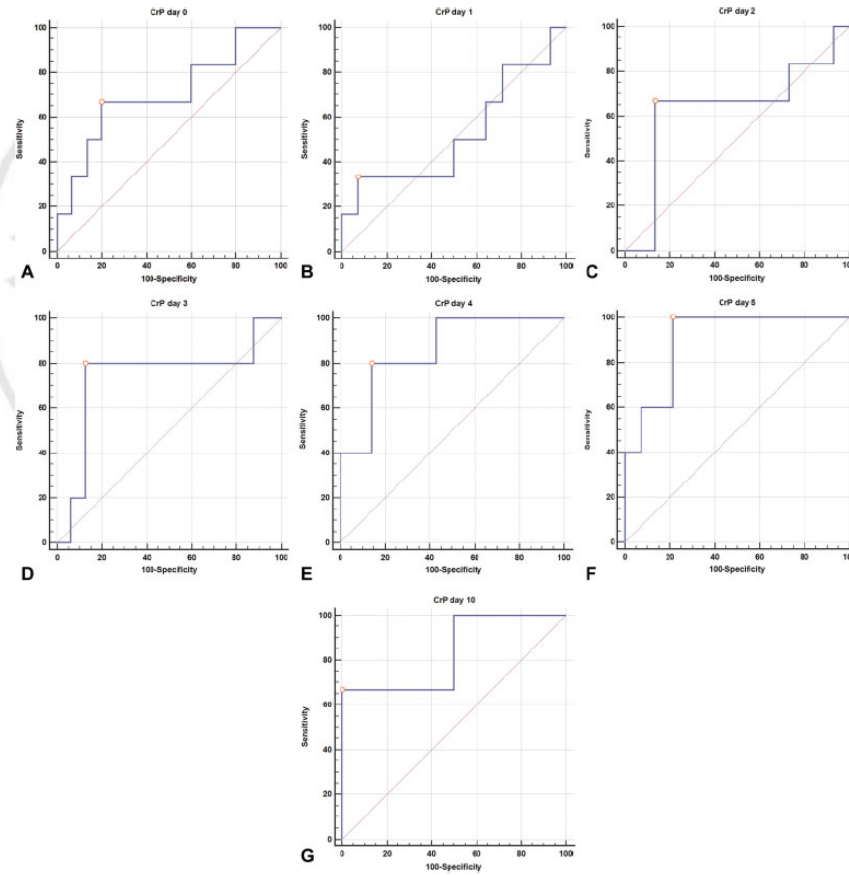
Statistical analysis was performed using G-power 3.1 (G-Power 3.1; Heinrich Heine University, Düsseldorf, Germany), BIAS for windows 11 (BIAS for windows 11; Goethe University, Frankfurt, Germany), SPSS (SPSS 20.0; IBM, Munich, Germany) and MedCalc (MedCalc Software; Ostend, Belgium). Effect size (Cohen's-d) and power were calculated for all parameters with regard to treatment (NPWT vs. foam) and wound closure (closure vs. non-closure). Parameters with an

appropriate power ( $>0.8$ ) were tested for normality using Shapiro-Wilk test. Significance was set at  $p < 0.05$  and evaluated using *t*-test for independent means in normally distributed data. Non-normally distributed data were tested using the Mann-Whitney U test. Finally, cutoff values were determined using receiver operating characteristic analysis for parameters that reached significance ( $\rightarrow$  Fig. 1).

### Results

A total of 21 dogs with 22 wounds located at the different body areas including the trunk as well as the extremities were enrolled within the study. One dog developed two

separate wounds at different time points and was thus included twice, resulting in a total of 11 wounds included per group. There were no significant differences between groups regarding the mean age (NPWT: 69 months [range: 8–160 months], foam: 92 months [range: 54–152 months]), weight (NPWT: 40.6 kg [range: 5.5–93 kg], foam 40.8 kg [range: 10.8–93 kg]) or wound localization. The majority of patients showed signs of local infection on initial wound evaluation (NPWT 9/11, foam 8/11) and nine patients per group had positive initial bacterial cultures. Further details regarding the patients and wound types can be found in  $\rightarrow$  **Supplementary Appendix Table 1** (available in online version only).



**Fig. 1** Receiver operating characteristic analysis illustrating sensitivity and specificity of Creactive protein (CrP) on day 0 (A), day 1 (B), day 2 (C), day 3 (D), day 4 (E), day 5 (F) and day 10 (G) with respect to closure. CrP at day 4 yielded the most reliable combined sensitivity and specificity.

**Comparison of Systemic Parameters within Treatment Groups**

None of the parameters tested showed significant differences within the treatment groups. Patients in both groups initially showed mild leucocytosis and mildly increased band neutrophil counts, especially at days 1 and 2 after surgery, which normalized during the course of treatment in both groups. In contrast to leucocytes, mean CrP increase was profound, with a peak after the initial debridement and slow decrease during the time of the study; however, in contrast to leucocytes, mean CrP did not reach normal values during the course of observation. Total protein already showed a minimal decrease in the NPWT group at day 0, and further decreased mildly in both groups during the observation period. Mean total protein as well as albumin on day 0 was within normal limits with a slow decrease in both groups with a nadir at day 5 followed by an increase at day 10. Interestingly, total protein was the parameter with the largest detected treatment associated effect (Cohen's-d between 0.6 and 1) at all days, while no effect of treatment (Cohen's-d 0–0.2) was detectable regarding albumin development throughout the whole time. Due to the relative small detected effects, none of the tested parameters reached a sufficient power (>0.8) for further testing. However, within the group of tested parameters, the largest effects of therapy were detected for total protein.

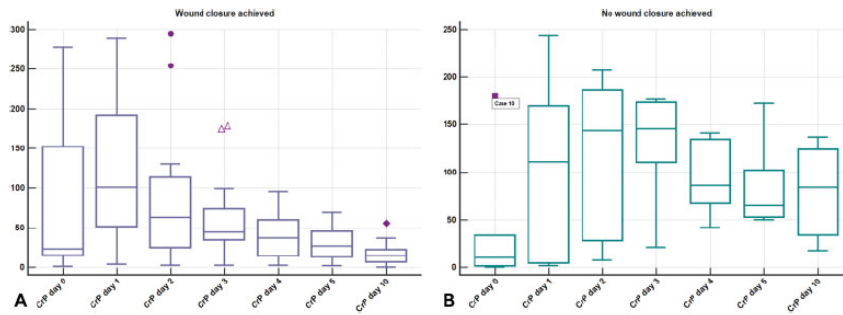
**Comparison of Systemic Parameters With Regard to Closure**

Wound closure under initial therapy was achieved in 16/22 wounds. Six out of twenty wounds developed serious complications precluding closure under the chosen regimen. Within the wounds treated with NPWT, one dog developed severe thromboembolism of the entire vasculature of the lower limb and paw, resulting in necrosis as confirmed by histopathology. Therapy was discontinued at day 13 and the limb was amputated. The second patient had a severe soft tissue infection and osteomyelitis of the distal phalanx bone of the fourth left hind digit. The dog removed the dressing and caused severe auto-mutilation during therapy; therefore, high amputation of the

toe followed at day 32. The wound finally healed, but the dog developed septic myocarditis and died.

Within wounds treated with a foam dressing, therapy had to be discontinued due to progressive wound infection at day 4 in one patient, as well as due to severe ongoing panniculitis and systemic sepsis in two more patients at days 7 and 10. In the fourth patient, large volumes of wound discharge necessitated multiple dressing changes per day. As wound excretion did not decline by day 10 and no real granulation occurred, this patient was removed from the study and transitioned to NPWT treatment, resulting in decline of discharge and smooth granulation of the wound. One patient in each group died due to wound-related causes (severe infection), while in both groups one patient that was successfully treated died due to unrelated reasons (intra-abdominal haemorrhage and end-stage cardiac disease) at 3 and 6 months after wound closure.

The majority of patients showed signs of local infection (17/23) and positive bacterial culture, on initial wound evaluation with no significant differences detected between groups. Mean leucocyte counts were increased at day 0 and 1 in patients in which closure was successful, while they stayed within normal limits in patients where no closure was achieved. Band neutrophils also tended to be higher in patients with successful closure, indicating a more profound immune reaction. However, neither the leucocyte count at day 1 nor the band neutrophil count at days 1 and 2 was significant (power > 0.85). In contrast to this, an initial increase in CrP was evident in both groups; however, while patients in which no closure was achieved started with a lower CrP compared with 'closed' patients, values after debridement at day 0 became comparable, with a trend of constant decrease in patients with successful closure, with slower decrease or even increase in non-closed patients (→ Fig. 2). The difference in CrP levels in patients with no closure was achieved was significant for day 4, 5 and 10 ( $p < 0.05$ ). The highest sensitivity (80) and specificity (85.71) were reached for a cutoff value of >70.2 mg/L at day 4. Cutoff values at day 5 and day 10 did not reach equally reliable predictive values for positive and negative outcome (→ Table 1).



**Fig. 2** Boxplot graphs of C-reactive protein (CrP) development in patients with successful wound closure (A) and those patients where no closure was achieved (B).



**Table 1** Differences between the evaluated parameters (mean and standard deviation) in patients where closure was achieved versus patients where no successful closure was achieved under the chosen therapy as well as p-value and effect size

Day	Closure no closure p-value effect size	HR (BPM)	Temp (°C)	CrP (mg/L)	WBC (10 <sup>9</sup> /L)	Band's (10 <sup>9</sup> /L)	Htk (%)	Platelets (10 <sup>9</sup> /L)	Protein (g/L)	Albumin (g/L)
0	Closure	99.3 ± 22.8	38.5 ± 0.5	83.6 ± 99.7	21.6 ± 16.5	3.2 ± 6.5	38.5 ± 5.3	334.25 ± 178.2	61.7 ± 11.2	32.2 ± 10.4
	No closure	97.7 ± 21.1	38.5 ± 0.3	39.2 ± 69.8	10.2 ± 6.2	1 ± 1.8	41.5 ± 6.6	248.0 ± 93.99	67.2 ± 7.5	33.6 ± 6.7
	p-Value	0.880	0.829	0.334	0.064	0.475	0.282	0.255	0.284	0.770
1	Cohen's d	0.09	0	0.5	0.9	0.5	0.5	0.6	0.6	0.1
	Closure	102.2 ± 16.7	38.4 ± 0.6	118.7 ± 89.1	21.1 ± 10.8	1.3 ± 1.7	36.8 ± 8.2	270.7 ± 106.6	57.3 ± 9.2	28.4 ± 5.3
	No closure	100.6 ± 20.1	38.7 ± 0.5	106.7 ± 95.1	10.2 ± 4.7	0.7 ± 1.1	38.1 ± 8.1	232.6 ± 71.7	58.4 ± 13.9	39.3 ± 17.1
2	p-Value	0.551	0.829	0.789	0.064	0.462	0.717	0.898	0.949	0.054
	Cohen's d	0.11	0	0.13	1.18	1	0.25	0.44	0.65	0.87
	Closure	100.8 ± 15.4	38.3 ± 0.4	86.8 ± 85.2	16.8 ± 7.4	2.2 ± 3.9	37.2 ± 4.5	320.8 ± 246.8	59.7 ± 7.4	27.9 ± 4.9
3	No closure	106.1 ± 27.8	38.4 ± 0.7	119.4 ± 82.8	16.3 ± 7.5	0.5 ± 0.4	38.6 ± 9.6	212.5 ± 84.1	64.1 ± 8.5	30.5 ± 7.1
	p-Value	0.525	0.607	0.381	0.885	0.254	0.686	0.250	0.271	0.381
	Cohen's d	0.27	0	0.39	0	3*	0.14	0.66	0.66	0.52
4	Closure	105.2 ± 16.6	38.4 ± 0.3	61.4 ± 50.8	15.1 ± 5.3	1.1 ± 1.2	36.9 ± 5.8	350.3 ± 196.3	60.1 ± 9.4	27.4 ± 5.5
	No closure	100 ± 11.8	38.3 ± 0.7	131.1 ± 63.7	12.4 ± 4.2	0.4 ± 0.4	38.7 ± 8.5	227.3 ± 53.6	67.9 ± 10.2	29.6 ± 7.9
	p-Value	0.936	0.166	0.130	0.379	0.335	0.651	0.177	0.187	0.553
5	Cohen's d	0.36	0	1.23*	0.66	1	0.3	0.86	0.73	0.32
	Closure	103.4 ± 23.3	38.3 ± 0.4	40.8 ± 29.9	13.7 ± 4.3	0.8 ± 1.9	37.4 ± 5.9	321.1 ± 109.5	59.5 ± 10.4	27.1 ± 5.7
	No closure	96.7 ± 16.6	38.5 ± 0.2	95.4 ± 41.2	14.3 ± 7	2.5 ± 4.4	33.7 ± 7.6	231.7 ± 98.6	64.1 ± 7.5	28.3 ± 6.4
10	p-Value	0.836	0.258	0.005 <sup>b</sup>	0.851	0.230	0.955	0.191	0.324	0.785
	Cohen's d	0	0	1.54*	0.17	0.68	0.65	0.87	0.48	0.18
	Closure	102 ± 17.3	38.4 ± 0.4	31.4 ± 21.2	13.6 ± 3.9	0.5 ± 0.9	37.9 ± 6.6	362.6 ± 212.2	60.7 ± 11.1	27.1 ± 5.2
10	No closure	102.7 ± 16.5	38.7 ± 0.9	83.9 ± 50.6	15.1 ± 7	0.8 ± 0.8	33.1 ± 5.9	215 ± 89.3	66 ± 5.4	28.3 ± 4.4
	p-Value	0.461	0.213	0.007 <sup>b</sup>	0.775	0.527	0.305	0.059	0.323	0.679
	Cohen's d	0.35	0	1.35*	0.42	0	0.89	0.9	0.49	0.18
10	Closure	98.6 ± 17.4	38.4 ± 0.4	16.8 ± 15.4	11.5 ± 4.4	0.1 ± 0.1	37.9 ± 6.1	340.3 ± 137.8	61.1 ± 10.2	29.2 ± 4.2
	No closure	106 ± 28.6	38.7 ± 1.1	79.5 ± 59.9	9 ± 0.3	0 ± 0	33.1 ± 4.2	230 ± 119.6	66.8 ± 6.8	26.5 ± 3.3
	p-Value	0.558	0.521	0.002 <sup>b</sup>	0.462	0.527	0.226	0.234	0.226	0.324
10	Cohen's d	0.34	0	1.46*	0.75	0	0.78	0.86	0.6	0.84

Abbreviations: Band's, band neutrophil count; CrP, C-reactive protein; HR, heart rate; Htk, haematocrit; Temp, rectal temperature; WBC, white blood count.  
 Note: Values where strong effects were detected are given in bold. Columns marked in bold: parameters where a major effect was detected (Cohen's d > 0.8).  
<sup>a</sup>Power of > 85% achieved.  
<sup>b</sup>Values where significance was achieved.

**Table 2** Youden index J, associated criterion, sensitivity, specificity and significance level for CrP differed by day

Day	Youden index J	Associated criterion (CrP mg/dL)	Sensitivity	Specificity	Significance level of p-value (area 0.5)
0	0.4667	<15.26	66.67	80.00	0.1692
1	0.2619	<4.4	33.33	92.86	0.8859
2	0.5333	>130.4	66.67	86.67	0.4216
3	0.6750	>99.1	80	87.5	0.1546
4	0.6571	>70.2	80	86.71	0.0002
5	0.7857	>45.1	100	78.57	>0.0001
10	0.6667	>55.8	66.67	100	0.054

Abbreviation: CrP, C-reactive protein.

Thrombocytes were lower in non-closed patients at all time points. Protein and albumin both showed mild decreases during treatment; however, values tended to be higher in non-closed patients. A summary of mean values, standard deviation, effect size and *p*-value reached for all tested parameters can be found in **Table 2**.

### Discussion

To consider the fact that open wounds can be very heterogeneous in size, location and presence of infection, the wounds were treated as assigned by randomization. To minimize the diversity of wounds and to keep the groups comparable, we tried to include patients with comparable wounds, according to localization and origin (**Supplementary Appendix Table 1**, available in online version only), so that there was no kind of over- or under-representation of a particular type of wound.

The aim of the present study was to evaluate the systemic effect of NPWT for the treatment of complicated wounds.

Based on the results of the present study, we cannot fully support the hypothesis that NPWT would positively influence signs of systemic infection. This finding is especially interesting compared with previous studies, which documented fewer cases with progressing systemic inflammation under NPWT treatment compared with foam.<sup>12</sup> This might have been overestimated previously due to study design (retrospective nature, lack of randomization). However, in contrast to the retrospective reports<sup>12,14</sup> only few patients in our study showed a systemic inflammation at the beginning or during therapy. It might, therefore, also be possible that systemic effects of NPWT might become more obvious in patients that already exhibit more profound systemic signs at initiation of therapy.

We were only able to detect minor effects of NPWT for all tested parameters with exception of protein loss; therefore, this parameter might be worth further investigation. There is currently only one additional study available that investigated protein losses under NPWT treatment in humans.<sup>15</sup> The authors recorded a median total protein loss of  $25 \pm 17$  g/d in patients treated with NPWT for the management of open abdomens and  $8 \pm 5$  g/d for soft tissue wounds. Unfortunately, these authors did not correlate total protein losses in wound exudates to systemic values.<sup>15</sup> It is questionable, if the

observed systemic difference in total protein in our study is really related to NPWT treatment, or rather to the fact that the mean protein score at day 0 was lower in NPWT-treated patients compared with the foam treated patients. It is, therefore, not certain if the observed lower total protein in NPWT was really related to the therapy regimen or rather represents an effect of uneven randomization between groups.

Our second hypothesis was that prolonged systemic signs of inflammation would be present in patients where successful closure was not supported. Wound healing is a complex process of inflammation followed by proliferation and tissue maturation.<sup>1,2</sup> While inflammation plays a major part in initiation of this cascade, it becomes detrimental if it persists.<sup>16</sup> There are three components representing the cornerstones for successful healing: cells of the immune system (e.g. polymorphonuclear leucocytes, monocytes, macrophages, mast cells, T-cells), inflammatory pathways (e.g. interleukin-1 $\beta$ , tumour necrosis factor) as well as the coagulation system (e.g. thrombocytes, contact activation pathway, tissue factor pathway).<sup>2,16</sup> With regard to this knowledge, we found some interesting trends: patients with higher initial leucocyte, band neutrophil counts and thrombocyte counts were more likely to achieve closure.

Leucocytes have an important role in wound healing; they prevent spread of infection by bacterial decontamination and initiate the healing response by secretion of mediators important for fibroblast recruitment.<sup>1,2,16,17</sup> After activation of the complement system, platelet degranulation and ongoing bacterial degradation attract neutrophils to the scene.<sup>18</sup> The observed phenomenon of initially higher counts of leucocytes in patients with successful closure might indicate a better or faster immune response leading to a positive effect on subsequent wound healing. Similar observations have been made in horses before,<sup>3</sup> but not in dogs. In ponies, leucocytes produce more inflammatory mediators, resulting in improved local defence, faster cellular debridement, and a faster transition to the repair phase, with more wound contraction.<sup>3</sup> Our results may indicate that delayed and insufficient leucocyte recruitment might be one of the steps leading to progressing local infection and delayed healing. However, further studies elucidating the principal pathways and effects on healing in dogs would be needed to verify this finding.

Besides inflammatory cell types, the coagulation cascade is an integral part of the inflammatory phase.<sup>2</sup> While these cells are mostly recognized due to their role in haemostasis, they serve as an important source for over 300 different growth factors including chemokines and cytokines (platelet derived growth factor, transforming growth factor- $\beta$ 1 and  $\beta$ 2, fibroblast growth factor, epithelial growth factor etc.).<sup>19</sup> Activated thrombocytes modulate phagocytosis, production of neutrophil extracellular traps and oxidative burst in neutrophils, thereby contributing to the host immune reaction.<sup>20</sup> Furthermore, they modulate early events in wound healing including neovascularization and recruitment of fibroblasts.<sup>19,21</sup> Finally, platelets localize and adhere to sites of bacterial lesions.<sup>20</sup> Many of their cytokines actually have direct antibacterial effects and activated platelets can directly bind and internalize bacteria themselves.<sup>20,22</sup> In the present study, thrombocyte counts were decreased in patients who did not achieve closure, and although we did not reach sufficient power to investigate if this was significant, a major effect was detected. Thrombocytopenia indicates recruitment towards the focus of infection and has been documented in severe bacterial infections in humans before.<sup>21</sup> Our finding that patients with non-successful closure exhibited lower systemic thrombocyte counts might therefore indicate a more severe state of infection combined with a depletion of thrombocytes. However, one major limitation of this study is that we did not correlate systemic and local levels of leucocytes or thrombocytes and their mediators. Further studies seem warranted to further elucidate this interesting connection. While the detected changes in leucocyte and thrombocyte counts were only trends, significant effects were detected for CrP. Contrary to inflammatory cells, the acute phase protein CrP is a product of inflammation that does not exert any positive effect on wound healing itself, but rather acts as a marker for the severity of inflammation caused by infectious and non-infectious origin.<sup>23</sup> C-reactive protein is one of the major acute phase proteins in dogs.<sup>24–26</sup> It is a pattern recognition molecule that binds to pathogens (bacterial-membrane) and cells undergoing death.<sup>23</sup> It is mainly generated by the liver where the production of positive acute phase proteins is increased, while albumin synthesis is decreased by interleukin-6 and interleukin 1 $\beta$ .<sup>23</sup> Besides the liver, small amounts can also be secreted by activated monocytes and lymphocytes.<sup>23</sup> Aggregated CrP efficiently activates the complement system through direct interaction with the classic pathway, which is triggered by activation of the C1-complex and enhances phagocytosis, and thus represents an important part of the first line of defence in the host.<sup>23</sup> One major advantage of CrP is that it rises markedly and rapidly once infection is present or after surgical trauma.<sup>24,27</sup> Numerous authors have advocated the inclusion of CrP in standard inflammatory panels in dogs, as it reacts quicker and more profoundly than leucocytes.<sup>25,27,28</sup> As seen in previous studies investigating pyometra or sepsis,<sup>26,27,29,30</sup> we were able to detect that CrP more reliably documented the failure to control local infection and subsequent non-successful wound closure compared with leucocytes. We also found that it is not only the absolute value at the beginning of

therapy, but rather the development over time that made the difference. Similar to Dabrowski and colleagues, who investigated CrP as a marker for surgical site infections after pyometra surgery in bitches<sup>31</sup>, we found that values estimated at day 4 had the highest prognostic value. This is in part due to the fact that CrP is increased by surgical trauma, it will rise as fast as 6 hours after surgery and peak around 12 to 24 hours after completion.<sup>31,32</sup> Therefore, monitoring CrP at day 1 is of little value if taken alone; however, if taken as a reference value for further development, it might become useful. Based on the results of our study, laboratory evaluations at day 1 and 4 after surgery seem most warranted for monitoring of inflammation.

It is interesting that total protein and albumin values did not differ markedly between patients with successful or non-successful closure, even if they represent one of the factors known to influence wound healing.<sup>2</sup> This might be due to the fact that these values will only be altered in severely ill patients, and are thus not sensitive enough to mirror subtle changes in local wound infections. There are several limitations to this study, including sample size, differences in wounds (localization, reason, size) and the lack to correlate systemic and local factors, which should be addressed in future studies. Investigation of wound exudate in dogs might be warranted, as it might resemble a more accurate and less invasive source for monitoring of local processes.

## Conclusion

From the results of this study, we conclude that several parameters seem interesting regarding further investigation of their prognostic power in wound closure, including leucocyte and thrombocyte count as well as total protein. Among the tested parameters, CrP seems to be the most valuable parameter regarding the prediction of successful wound closure, with a cutoff value of 70.2 mg/L at day 4 reaching the highest sensitivity and specificity.

## Author Contribution

Rebecca Albert and Mirja C. Nollf contributed to conception of study, study design, acquisition of data and data analysis and interpretation. Sven Reese contributed to data analysis and interpretation. Andrea Meyer-Lindenberg contributed to conception of study and study design. Rebecca Albert and Mirja C. Nollf and Andrea Meyer-Lindenberg drafted, revised and approved the submitted manuscript.

## Conflict of Interest

The senior author acts as key opinion leader for Kinetic Concepts Inc. Germany. Kinetic Concepts Inc. was not involved in any part of this study; no financial associations exist.

## Acknowledgment

The authors want to thank the 'Gesellschaft zur Förderung Kynologischer Studien' for partly funding the patients involved in this study.

## References

- 1 Pavletic MM. Wound management principles and techniques. *Vet Q* 1997;19(Suppl 1):22–24
- 2 Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, Longaker MT. Wound repair and regeneration. *Nature* 2008;453(7193):314–321
- 3 Wilmink JM, van Weeren PR. Second-intention repair in the horse and pony and management of exuberant granulation tissue. *Vet Clin North Am Equine Pract* 2005;21(01):15–32
- 4 Wilmink JM, Nederbragt H, van Weeren PR, Stolk PW, Barneveld A. Differences in wound contraction between horses and ponies: the in vitro contraction capacity of fibroblasts. *Equine Vet J* 2001;33(05):499–505
- 5 Bohling MW, Henderson RA, Swaim SF, Kincaid SA, Wright JC. Comparison of the role of the subcutaneous tissues in cutaneous wound healing in the dog and cat. *Vet Surg* 2006;35(01):3–14
- 6 Bohling MW, Henderson RA, Swaim SF, Kincaid SA, Wright JC. Cutaneous wound healing in the cat: a macroscopic description and comparison with cutaneous wound healing in the dog. *Vet Surg* 2004;33(06):579–587
- 7 Volk SW, Bohling MW. Comparative wound healing—are the small animal veterinarian's clinical patients an improved translational model for human wound healing research? *Wound Repair Regen* 2013;21(03):372–381
- 8 Glass GE, Murphy GF, Esmaili A, Lai LM, Nanchahal J. Systematic review of molecular mechanism of action of negative-pressure wound therapy. *Br J Surg* 2014;101(13):1627–1636
- 9 Nuutila K, Siltanen A, Peura M, et al. Gene expression profiling of negative-pressure-treated skin graft donor site wounds. *Burns* 2013;39(04):687–693
- 10 Dzieciuchowicz Ł, Kruszyna Ł, Krasieński Z, Espinosa G. Monitoring of systemic inflammatory response in diabetic patients with deep foot infection treated with negative pressure wound therapy. *Foot Ankle Int* 2012;33(10):832
- 11 Nollf MC, Fehr M, Reese S, Meyer-Lindenberg AE. Retrospective comparison of negative pressure wound therapy and silver-coated foam dressings in open-wound treatment in cats. *J Feline Med Surg* 2017;19(06):624–630
- 12 Nollf MC, Fehr M, Bolling A, et al. Negative pressure wound therapy, silver coated foam dressing and conventional bandages in open wound treatment in dogs. A retrospective comparison of 50 paired cases. *Vet Comp Orthop Traumatol* 2015;28(01):30–38
- 13 Weed T, Ratliff C, Drake DB. Quantifying bacterial bioburden during negative pressure wound therapy: does the wound VAC enhance bacterial clearance? *Ann Plast Surg* 2004;52(03):276–279, discussion 279–280
- 14 Stanley BJ, Pitt KA, Weder CD, Fritz MC, Hauptman JG, Stefcik BA. Effects of negative pressure wound therapy on healing of free full-thickness skin grafts in dogs. *Vet Surg* 2013;42(05):511–522
- 15 Hourigan LA, Hourigan L, Linfoot JA, et al. Loss of protein, immunoglobulins, and electrolytes in exudates from negative pressure wound therapy. *Nutri Clin Pract* 2010;25(05):510–516
- 16 Eming SA, Krieg T, Davidson JM. Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. *J Invest Dermatol* 2007;127(03):514–525
- 17 Pitzer GB, Patel KG. Proper care of early wounds to optimize healing and prevent complications. *Facial Plast Surg Clin North Am* 2011;19(03):491–504
- 18 Grose R, Werner S. Wound-healing studies in transgenic and knockout mice. *Mol Biotechnol* 2004;28(02):147–166
- 19 Golebiewska EM, Poole AW. Platelet secretion: from haemostasis to wound healing and beyond. *Blood Rev* 2015;29(03):153–162
- 20 Jenne CN, Urrutia R, Kubus P. Platelets: bridging hemostasis, inflammation, and immunity. *Int J Lab Hematol* 2013;35(03):254–261
- 21 McNicol A, Israels SJ. Beyond hemostasis: the role of platelets in inflammation, malignancy and infection. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets* 2008;8(02):99–117
- 22 Yeaman MR. Platelets: at the nexus of antimicrobial defence. *Nat Rev Microbiol* 2014;12(06):426–437
- 23 Black S, Kushner I, Samols D. C-reactive protein. *J Biol Chem* 2004;279(47):48487–48490
- 24 Kjelgaard-Hansen M, Strom H, Mikkelsen LF, Eriksen T, Jensen AL, Luntang-Jensen M. Canine serum C-reactive protein as a quantitative marker of the inflammatory stimulus of aseptic elective soft tissue surgery. *Vet Clin Pathol* 2013;42(03):342–345
- 25 Kjelgaard-Hansen M, Jacobsen S. Assay validation and diagnostic applications of major acute-phase protein testing in companion animals. *Clin Lab Med* 2011;31(01):51–70
- 26 Christensen MB, Eriksen T, Kjelgaard-Hansen M. C-reactive protein: quantitative marker of surgical trauma and post-surgical complications in dogs: a systematic review. *Acta Vet Scand* 2015;57:71
- 27 Christensen MB, Langhorn R, Goddard A, et al. Comparison of serum amyloid A and C-reactive protein as diagnostic markers of systemic inflammation in dogs. *The Canadian veterinary journal*. *Can Vet J* 2014;55(02):161–168
- 28 Cerón JJ, Martínez-Subiela S, Ohno K, Caldin M. A seven-point plan for acute phase protein interpretation in companion animals. *Vet J* 2008;177(01):6–7
- 29 Karlsson I, Wernersson S, Ambrosen A, et al. Increased concentrations of C-reactive protein but not high-mobility group box 1 in dogs with naturally occurring sepsis. *Vet Immunol Immunopathol* 2013;156(1–2):64–72
- 30 Gebhardt C, Hirschberger J, Rau S, et al. Use of C-reactive protein to predict outcome in dogs with systemic inflammatory response syndrome or sepsis. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)* 2009;19(05):450–458
- 31 Mathon DH, Paliere S, Meynaud-Collard P, et al. Laparoscopic-assisted coloproxy and sterilization in male dogs: short-term results and physiologic consequences. *Vet Surg* 2011;40(04):500–508
- 32 Nevill B, Leisewitz A, Goddard A, Thompson P. An evaluation of changes over time in serum creatine kinase activity and C-reactive protein concentration in dogs undergoing hemilaminectomy or ovariectomy. *J S Afr Vet Assoc* 2010;81(01):22–26



## V. DISKUSSION

### 1. Wundheilung

Im Rahmen dieser beiden Studien wurden die Wundheilung, der systemische Effekte sowie die mikrobiologische Besiedelung von offenen Wunden unter Vakuum-assistierter Wundtherapie, im Vergleich zum silberbeschichteten Wundkissen bei Hunden untersucht. Ziel der Arbeit war es, die beiden Verfahren hinsichtlich der oben genannten Kriterien zu vergleichen mit der Hypothese, dass die Wundheilung unter NPWT schneller abläuft und es so zum früheren Wundverschluss kommt, als in der Vergleichsgruppe. Eine weitere Hypothese der Arbeit war, dass die NPWT einen positiven Effekt auf systemische Entzündungsparameter hat und dass Patienten, die mit einem silberbeschichtete Polymerschaumkissen behandelt werden, dementsprechend stärkere systemische Entzündungsanzeichen aufweisen. Die dritte Hypothese war, dass die NPWT sich positiv auf die mikrobiologische Besiedelung von Wunden auswirkt und so zu einer Dekontamination von Wunden beiträgt.

Die erste Hypothese bezüglich einer besseren Wundheilung und eines daraus resultierenden schnelleren Wundverschlusses unter NPWT, im Vergleich zur Kontrollgruppe, konnte bestätigt werden. Die mittlere Verschlusszeit der Wunden in Gruppe A (NPWT) war signifikant kürzer als in Gruppe B (Polymerschaum). Wunden, die mittels NPWT behandelt wurden, zeigten zudem zu jedem Messzeitpunkt eine signifikant größere Reduktion der Wundfläche und des -volumens als in der Vergleichsgruppe. Nicht nur die Reduktion der Wundfläche und des -volumens in Bezug auf die ursprüngliche Wundgröße, sondern auch die absolute Wundgröße war zu jedem Therapiezeitpunkt in Gruppe A kleiner. Prinzipiell ist somit zu sagen, dass die Wundheilung im Vergleich der beiden Verfahren unter NPWT als schneller zu beurteilen ist. Diese Erkenntnis stimmt mit den bisherigen Forschungsergebnissen bezüglich der verbesserten und schnelleren Wundheilung unter NPWT überein (Morykwas et al. 1997; Morykwas et al. 2006; Nolff et al. 2015; Demaria et al. 2011). In Abhängigkeit der Lokalisation (Stamm/Extremitäten) war zu erkennen, dass unter NPWT ein Unterschied zwischen Stamm- und Extremitätenwunden herrschte. Stammwunden zeigen eine deutlich schnellere Verkleinerung der Wundgröße unter NPWT als im Vergleich zu

Extremitätenwunden. Dieser Effekt war unter Therapie mittels Polymerschäum nicht zu beobachten. Diesbezüglich gibt es bei Hunden keine spezifischen Untersuchungen hinsichtlich der Unterschiede des Heilungsverlaufes zwischen Extremitätenwunden und Stammwunden unter NPWT. Eine Studie beschreibt die bessere und schnellere Konditionierung des Wundbettes bei traumatischen Extremitätenwunden von Hunden mittels NPWT im Vergleich zu herkömmlichen Wundauflagen. Allerdings wurden in dieser Studie die Wunden für eine nachfolgende Hauttransplantation konditioniert (Ben-Amotz et al. 2007). Prinzipiell lässt sich dieser Unterschied eventuell damit erklären, dass die Wunde unter NPWT dreidimensional bleiben darf, das heißt, Wundränder müssen nicht am Untergrund adaptiert werden, um die Bewegung der Wundränder und die Bildung einer Wundhöhle zu vermeiden (Pavletic 2010). Da bei der Vakuumtherapie der Polyurethanschwamm direkt in die Wundhöhle eingebracht wird und die Wundränder über ein Vakuum stabilisiert werden, kommt es zum Effekt der Makrodeformation und dadurch zu einer Stabilisierung und Verkleinerung der Wunde über das System (Voinchet und Magalon 1996). Diese Wirkung ist demnach vor allem bei einer Wundhöhle vorhanden. Da es sich bei Extremitätenwunden eher um flächige Wunden, als um große Wundhöhlen handelt, kann der Unterschied der NPWT in der Wundheilungsrate zwischen Stamm- und Extremitätenwunden eventuell damit erklärt werden. Zudem ist die Kontraktur der Wunde in Gebieten mit lockerer Haut größer. Dies lässt sich eher in Stammregionen vorfinden als an Extremitäten, an denen die Haut straff anliegt und somit weniger Kontraktionskapazität hat (Swaim SF, Hinkle SH, Bradley DM 2001). Aufgrund der geringen Datenlage zum Hund lohnen sich diesbezüglich weiteren Untersuchungen. Des Weiteren konnte im Rahmen dieser Studie herausgefunden werden, dass die Wunden in der Gruppe B in den ersten neun Tagen nach initialem Wunddebridement, an Wundfläche zunahm, bis sie am Tag neun die ursprüngliche Wundgröße erreichten und danach erst eine Reduktion verzeichnet wurde. Diese initiale Wundvergrößerung wurde bereits in anderen Untersuchungen zum Thema lokale Allicinapplikation bei offenen Wunden bei Hunden beobachtet werden (Sardari et al. 2006). In dieser Studie konnte erst ab dem siebten Therapietag eine Verkleinerung der Wunde, bei initialer Vergrößerung beobachtet werden. Ebenso in einer weiteren Studie zur sekundären Wundheilung bei Ponys und Pferden zeigte sich innerhalb der ersten Woche nach Entstehung der Wunde eine initiale Größenzunahme dieser (Wilmink und van Weeren 2005). Somit

korreliert dieses Ergebnis der initialen Größenzunahmen unter silberbeschichtetem Polymerschäumkissen mit den Untersuchungsergebnissen aus bisherigen Studien zur sekundären Wundheilung. Dies lag vermutlich an den Hautspannungslinien, welche die Wundränder trotz Adaptation voneinander weg bewegen (Pavletic 2010). Zudem wird die Beteiligung einer Restbewegung auf die Wundränder in Betracht gezogen. Dass dieser Effekt unter NPWT nicht zu beobachten ist könnte an der Makrodeformation und der besseren Granulation unter NPWT liegen (Morykwas et al. 2006). Unter herkömmlicher Wundtherapie ist die sekundäre Wundheilung beim Hund mit einer stärkeren Kontraktur verbunden (Swaim et al. 2001).

Als generell problematisch bei der Beschreibung von Wunden, ist ihre objektive Beurteilung und die Vergleichbarkeit der Wunden bei einer prospektiven Studie. Aufgrund ihrer Beschaffenheit weisen Wunden häufig eine große Heterogenität auf. So sind die meisten Wunden hinsichtlich ihrer Lokalisation, Größe, Ursache und Dauer sehr unterschiedlich. Um die Variabilität im Rahmen der vorliegenden Studie zu minimieren, wurden die Wunden hinsichtlich ihrer Behandlungsverfahren randomisiert. Im weiteren Verlauf wurden sie dann, nach Randomisierung, in Abhängigkeit von der Ursache und Lokalisation ähnliche bzw. vergleichende Paare gebildet, um bestimmte Wunden bzw. Lokalisationen nicht über- oder unterrepräsentiert darzustellen. Auch die Größe der unterschiedlichen Wunden ist teilweise schwer zur erfassen. So gibt die Wundfläche meist keinen Hinweis auf das Volumen und zeigt somit oft keinen realistischen dreidimensionalen Eindruck der tatsächlichen Wundgröße. Hierzu wurden Wundfläche und –Volumen mittels der Planimetriesoftware der VAC Ultra berechnet, um möglichst genaue Daten zur tatsächlichen Wundgröße erheben. Dies wird auch von (Rogers et al. 2010) so beschrieben und angewendet. Zudem ist das Alter der Wunden oft unterschiedlich. Da es bislang in der Veterinärmedizin keine Definition bezüglich akuter und chronischer Wunden beim Hund gibt, wurden in dieser Studie die humanmedizinischen Definitionsangaben angewendet. Somit wurde eine Wunde, die älter als 3 Monate ist, als chronische Wunde definiert (Mustoe et al. 2006).

## 2. Mikrobiologische Besiedelung

Eine weitere Hypothese, dass sich die NPWT auf die bakteriellen Besiedelung der Wunde auswirkt und somit zur Dekontamination beiträgt, konnte nicht bestätigt werden. Die in der ersten Studie erlangten Ergebnisse zeigten keinen Unterschied hinsichtlich der bakteriellen Besiedelung der Wunden in den beiden Gruppen sowie keine Reduktion der bakteriellen Besiedelung der Wunden unter NPWT. Dieses Erkenntnis stimmt mit den Ergebnissen von vergangenen Untersuchungen überein (Nolff et al. 2015). Allerdings gibt es hierzu auch kontroverse Ergebnisse in der Literatur. So zeigten humanmedizinische Studien und eine Studie an Mäusen einen positiven Effekt hinsichtlich der bakteriellen Dekontamination von Wunden unter NPWT (Weed et al. 2004; Morykwas et al. 1997; Liu et al. 2014b). Eine weitere Untersuchung von akuten Wunden bei Hunden verzeichnete hingegen an einem der Therapietage sogar einen signifikant höheren Bakteriennachweis unter NPWT verzeichnete (Demaria et al. 2011). Bei Ziegen konnte ein selektiv positiver Effekt bezüglich der Reduktion der Bakterienzahl bei Wundinfektionen mit *Pseudomonas aeruginosa* unter NPWT verzeichnet werden. Dieser Effekt ließ sich allerdings bei Wundinfektionen mit *Staphylococcus aureus* nicht beobachten (Lalliss et al. 2010). Ein Großteil der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Wunden wies zu Therapiebeginn eine bakterielle Wundinfektion auf (Gruppe A 9/13 und Gruppe B 10/13). Im weiteren Verlauf konnte zwar eine Reduktion der Infektionsanzeichen unter NPWT nachgewiesen werden, aber eben in beiden Gruppen kein Unterschied hinsichtlich einer bakteriellen Dekontamination. Lediglich ein Unterschied zwischen den Gruppen in der initialen Anzahl der Bakterienspezies war zu beobachten. In Gruppe A konnten zu Therapiebeginn 0-9 verschiedene Bakterienspezies isoliert werden während in Gruppe B zu diesem Zeitpunkt nur 0-3 Spezies nachgewiesen wurden. Im Therapieverlauf nahm die Bakterienvielfalt in den Folgeuntersuchungen ab, während die Resistenzlage im Therapieverlauf in den beiden Gruppen zunahm. So sind zwar zu einem späteren Zeitpunkt weniger verschiedene Bakterienspezies in den Wunden nachzuweisen, allerdings weisen die vorhandenen Bakterienspezies stärkere Resistenzen auf. Obwohl sich auch in dieser Studie keine Dekontamination der Wunden unter NPWT zeigt, konnten jedoch 11/13 Wunden nach der NPWT erfolgreich verschlossen werden. Somit konnten auch Wunden verschlossen werden, die weiterhin eine bakterielle Besiedelung aufwiesen, wie dies auch bei vorherigen Untersuchungen beschrieben wurde (Nolff



et al. 2015). Durch eine bessere Perfusion des Wundgebietes und ein gesundes Granulationsbett kann somit die Heilung auch unter bakterieller Kontamination erfolgen (Wackenfors et al. 2004; Morykwas et al. 1997). Außerdem zeigten bisherige Untersuchungen beim Kleintier unter NPWT, trotz persistierender bakterieller Wundbesiedelung, eine Reduktion lokaler Infektionsanzeichen (Demaria et al. 2011; Nolff et al. 2015). Da 11 Patienten je Gruppe, der eigenen Studie, antibiotisch vorbehandelt wurden und bei 11/13 in Gruppe A und 9/13 in Gruppe B bakterielle Infektionen zu Therapiebeginn vorlagen, ist zu vermuten, dass der Einsatz systemischer Antibiotika nicht ausschlaggebend für einen erfolgreichen Wundverschluss ist, sondern die lokale Wundbehandlung eine größere Bedeutung hinsichtlich einer Konditionierung kontaminierter und infizierter Wunden hat und dadurch positiven Einfluss auf den Wundverschluss nimmt. Diesbezüglich gibt es noch keine Untersuchung, welche die NPWT bei infizierten Wunden ohne den zusätzlichen Einsatz systemischer Antibiotika untersucht. Eine solche Untersuchung ist kritisch zu sehen, sobald sich Anzeichen einer systemischen Infektion zeigen.

### **3. Systemischer Effekt**

Die dritte Hypothese, dass die NPWT sich positiv auf systemische Infektionsanzeichen auswirkt, konnte nicht bestätigt werden. In der zweiten eigenen Studie, konnte diesbezüglich kein Unterschied innerhalb der beiden Gruppen festgestellt werden. In einer anderen Studie zur Sepsis bei Mäusen, die durch eine Wundinfektion von Brandwunden mit *Pseudomonas aeruginosa* induziert wurde, konnte eine Reduktion der Mortalität unter NPWT festgestellt werden. Eine lokale Reduktion der Keimzahl führte zu einer positiven Auswirkung auf die vorhandene Sepsis (Liu et al. 2014b). Allerdings könnte dies, wie bisherige Untersuchungsergebnisse zeigen, eventuell nur selektiv für Infektionen mit *Pseudomonas aeruginosa* gelten (Lalliss et al. 2010). Weitere Untersuchungen zum Einsatz der NPWT bei Wundinfektionen bei Katzen, zeigte einen nicht signifikanten Unterschied bezüglich der Reduktion von Fieber, lokalen Infektionsanzeichen und Sepsis, im Vergleich zum Wundkissen (Nolff et al. 2017). Obwohl die Hypothese nicht bestätigt werden konnte, erlangte das CrP, als systemischer Entzündungsparameter, eine der wichtigsten Erkenntnisse dieser Arbeit. Das CrP steigt infolge von Verletzungen des Weichteilgewebes (chirurgischer Eingriff, akute Wunden, etc.) an und ist insbesondere bei

Wundinfektionen als Biomarker zu nennen (Jukic et al. 2015). Das CrP konnte bereits 2009 als sensitiver Parameter für postoperative Wundinfektion beim Hund detektiert werden (Knapp et al. 2009). Im Rahmen der eigenen Arbeit konnte innerhalb der beiden Behandlungsverfahren kein Unterschied in der CrP-Messung festgestellt werden. Jedoch zeigte sich das CrP als prognostisch hilfreich in Bezug auf einen erfolgreichen Wundverschluss. Ein Cut-off-Wert von 70,2 mg/L an Tag vier (Sensitivität 80, Spezifität 85,7) war signifikant für das Erreichen eines erfolgreichen Wundverschlusses. Das heißt, bei Wunden, die an Tag 4 einen Cut-off-Wert von über 70,2 mg/L aufwiesen, konnte unter der entsprechenden Therapie keinen Wundverschluss erzielt werden. Die erhöhten CrP-Werte bei Patienten, bei denen unter der jeweiligen Therapiemethode kein Wundverschluss möglich war, sind wahrscheinlich auf persistierenden Entzündungsanzeichen und eine verlängerte inflammatorische Phase zurückzuführen. Dass die Entzündungsreaktion eine wichtige Rolle im Rahmen der Wundheilung hat, und dass persistierende Entzündungsanzeichen ein Hinweis für eine nicht heilende Wunde sein können, wurde bereits beschrieben (Eming et al. 2014). Da das CrP ebenfalls infolge eines operativen Gewebetraumas ansteigt (Ceron et al. 2005), besteht durch ein erfolgtes Wunddebridement eine Beeinflussung des CrP-Wertes. Im Gegenzug dazu konnte allerdings in einer Studie, die den CrP Verlauf im Vergleich zwischen Patienten mit Hemilaminektomie und Ovariohysterektomie, kein signifikanter Unterschied beobachtet werden (Nevill et al. 2010) obwohl ein unterschiedliches Gewebetrauma vorlag. Diesbezüglich besteht daher die Annahme, dass die Beeinflussung des CrP Wertes durch eine bestehende Wundinfektion und die daraus resultierende Entzündung größer ist. Zudem mussten in der eigenen Studie Wunden, die nach initialer Wundrevision keine Infektionsanzeichen aufwiesen, im weiteren Verlauf nicht erneut debridiert werden. Lediglich bei Wunden mit persistierenden Entzündungsanzeichen waren mehrere Wunddebridements nötig.

Neben dem beobachteten Effekt auf das CrP hatten Patienten, die mit einer NPWT therapiert wurden, initial sowie an jedem anderen gemessenen Zeitpunkt ein niedrigeres Totalprotein (TP). Dies widerspricht den Untersuchungsergebnissen, die diesbezüglich in der Humanmedizin bei Fußulzera vorliegen (Birgit Rosenberg 2011). Im Rahmen der humanmedizinischen Studie zeigte sich das Totalprotein im Serum bei NPWT-Patienten stets etwas größer als im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Dabei sind mittlere Totalproteinverluste bei offenen Wunden unter NPWT mit  $8 \pm 5$  g/d bei Hunden bekannt. Es können Verlustraten des TPs von bis zu  $2,9$  g/dl - Fläche des Wundexsudatvolumens, berechnet werden (Hourigan et al. 2010). Dabei sind Kriterien zu nennen, von denen die Produktion der Wundexsudatmenge abhängig sind, wie z. B. Wundfläche und Volumen. So weisen Stammwunden meist ein größeres Wundvolumen auf als Gliedmaßenwunden, womit eine Lokalisation bzw. das Wundvolumen, den Totalproteinverlust gegebenenfalls beeinflusst. Ebenso steigt die Produktion von Wundsekret bei Vorliegen einer Wundinfektion, was dadurch ebenfalls den Proteinverlust beeinflussen kann. Zudem sind Komorbiditäten, Ernährungszustand und das Fressverhalten als Faktoren zu nennen, die sich auf die Serumkonzentration des Totalproteins, unter Therapie, auswirken können.

## VI. ZUSAMMENFASSUNG

Ziel dieser Arbeit war die vergleichende Beurteilung von Wundheilung, systemischem Effekt und mikrobieller Besiedelung offener Wunden unter Vakuum-assistierter Wundtherapie im Vergleich zum silberbeschichteten Wundkissen, beim Hund. Aus einem Patientenstamm von 23 Hunden mit insgesamt 26 Wunden wurden zwei Studien durchgeführt. Die erste Studie befasst sich mit der Wundheilungsrate und mikrobiellen Besiedelung der Wunden unter beiden Therapieformen. Hierfür wurden alle 23 Hunde erfasst, wovon ein Hund zweimal als Patient aufgenommen wurde, da er zweimal mit verschiedenen Wunden, zu unterschiedlichen Zeitpunkten, vorstellig wurde. Zudem wies ein weiterer Hund zwei Wunden zum selben Zeitpunkt auf, welche nach Randomisierung beide mit unterschiedlichen Therapieformen behandelt wurden. Die zweite Studie befasst sich mit der systemischen Auswirkung der Negative Pressure Wound Therapy im Vergleich zur Behandlung mit Polymerschaumkissen. Dafür wurden 22 Hunde mit je 11 Patienten in Gruppe A (NPWT) und Gruppe B (silberbeschichtetes Polymerschaumkissen) untersucht. Die Vorbereitung der Wunden für beide Therapieformen erfolgte in im Rahmen dieser Arbeit gleich, mit initialem Wunddebridement und der Entfernung vorhandener Nekrosen. Die Wechsel erfolgten innerhalb der ersten zehn Therapietage an jedem dritten Tag. Dabei wurden Wundgröße und -volumen dokumentiert. Zudem fand an den erste fünf Therapietagen sowie an Tag zehn eine Erhebung von systemischen Parametern (HF, AF, BD, Hkt, Alb, Eiweiß, PLT, Leukozyten, stabkernigen neutrophilen Granulozyten und CrP) statt. Bei jedem zweiten Wechsel wurde ein mikrobiologischer Verlauf mittels Tupfer-Probennahme aus der Wunde untersucht. Vorbehandlung, Signalement und mikrobiologische Besiedelung waren innerhalb der Gruppen vergleichbar. Vollständige Verschlusszeit war in Gruppe A mit 14,2 Tage signifikant kürzer ( $p = 0.018$ ) als in Gruppe B mit 28,6 Tagen. Die Wundplanimetrie an Tag 3,6 und 9 zeigte eine signifikant größere Reduktion der ursprünglichen Wundfläche in Gruppe A ( $p < 0.05$ ). Zudem zeigten die Wunden innerhalb der Gruppe A deutlich weniger progressive Infektionsanzeichen, als die Wunden in Gruppe B ( $p = 0.01$ ). Wunden, die mittels NPWT behandelt wurden, zeigten somit einen schnelleren Wundverschluss, verbesserte Makrodeformation sowie weniger Infektionsanzeichen. Eine bakterielle Dekontamination unter einem

der beiden Verfahren war nicht zu beobachten. Hinsichtlich des systemischen Effektes konnte im Vergleich der beiden Verfahren keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der oben genannten Parameter beobachtet werden, lediglich der Verlust des Totalproteins war unter VAC-Therapie durchschnittlich, nicht signifikant, größer. Allerdings zeigten sich bezüglich eines erfolgreichen Wundverschlusses unter den jeweiligen Therapieverfahren interessante Erkenntnisse. Ein nicht signifikanter Trend zeigte sich bei Patienten, bei denen kein erfolgreicher Wundverschluss erreicht wurde. Sie wiesen initial geringere Leukozyten- und Thrombozytenzahlen auf. Das gemessene CrP im Blutserum, war bei Patienten mit nicht erfolgreichem Wundverschluss, an Tag vier, fünf und zehn signifikant ( $p < 0.05$ ) höher. Mithilfe einer ROC- Analyse konnte ein Cutoff-Wert des CrPs an Tag vier mit 70.2mg/L als prognostisch für einen erfolgreichen Wundverschluss ermittelt werden (Sensitivität 80; Spezifität 85.7). Offene Wunden, die an Tag vier einen CrP-Wert über 70,2 mg/L aufwiesen, konnten unter dem jeweiligen Therapieverfahren nicht erfolgreich verschlossen werden. Damit stellt die Messung des CrPs ein hervorragendes Diagnostikum zur Verlaufskontrolle in der Wundtherapie dar und könnte zukünftig den Heilungsverlauf einer Wunde frühzeitig erkennen lassen und die Therapie verbessern.

## VII. SUMMARY

The aim of this work was the comparative assessment of wound healing, systemic effect and microbial colonisation of open wounds under NPWT in comparison to the silver-coated polymer foam in dogs. Two studies were made from a patient base of 23 dogs with a total of 26 wounds. The first study deals with the wounds at different times. In addition, another dog had two wounds at the same time, which after randomization were both treated with different forms of therapy. The second study deals with the systemic impact of NPWT compared to a control group. 22 dogs total with 11 patients each were examined in group A (NPWT) and group B (silver-coated polymer foam). The preparation of the wounds is the same for both forms of therapy, with initial wound debridement and the removal of existing necrosis. Wound dressing changes were made and documented every third day within the first ten days of wound therapy and Wound size and volume were documented. In addition, systemic parameters (HF, AF, BD, hct, alb, protein, PLT, leukocytes, rodlike neutrophilic granulocytes and CrP) were collected on the first five days of therapy as well as on day ten. At every 2nd change, a microbiological course was examined using swab samples close to the wound. Pretreatment, signaling and microbiological colonization were comparable within the groups. Complete closure time was significantly shorter in group A with 14.2 days ( $p = 0.018$ ) than in group B with 28.6 days. Wound planimetry on day three, six and nine showed a significantly larger reduction of the original wound area in group A ( $p < 0.05$ ). In addition, wounds within group A showed significantly fewer progressive signs of infection than wounds in group B ( $p = 0.01$ ). Wounds treated with NPWT showed faster wound closure, improved macrodeformation and fewer signs of infection. No bacterial decontamination was observed under either procedure. With regard to the systemic effect, no significant differences could be observed between the two procedures with regard to the above-mentioned parameters; only the total protein loss was on average greater (not significant) under NPWT. However, interesting findings regarding successful wound closure were found among the respective therapy methods. A non-significant trend was observed in patients who did not achieve successful wound closure. Initially they showed lower numbers of leukocytes and thrombocytes and CrP in blood serum was significantly ( $p < 0.05$ ) higher on days four, five and ten with unsuccessful wound closure. By means of a

---

ROC analysis (Receiver operating characteristic analysis), a cut-off value of the CrP on day four of 70.2mg/L could be determined as prognostic for successful wound closure (sensitivity 80; specificity 85.7). Open wounds with a CrP value above 70.2 mg/L on day four could not be successfully closed under the respective therapy procedure.

**VIII. LITERATURVERZEICHNIS**

- Abramo, F.; Argiolas, S.; Pisani, G.; Vannozzi, I.; Miragliotta, V. (2008):** Effect of a hydrocolloid dressing on first intention healing surgical wounds in the dog: a pilot study. In: *Australian veterinary journal* 86 (3), S. 95–99. DOI: 10.1111/j.1751-0813.2007.00243.x.
- Alhag, M.; Renvert, S.; Polyzois, I.; Claffey, N. (2008):** Re-osseointegration on rough implant surfaces previously coated with bacterial biofilm: an experimental study in the dog. In: *Clinical oral implants research* 19 (2), S. 182–187.
- Amalsadvala, T.; Swaim, S. F. (2006):** Management of hard-to-heal wounds. In: *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice* 36 (4), S. 693–711. DOI: 10.1016/j.cvsm.2006.02.002.
- Annane, D.; Aegerter, P.; Jars-Guincestre, MC. ; Guidet, B. (2003):** Current epidemiology of septic shock: the CUB-Réa Network. In: *American journal of respiratory and critical care medicine* 168 (2), S. 165–172. DOI: 10.1164/rccm.2201087.
- Armstrong, D. G.; Lavery, L. A. (2005):** Negative pressure wound therapy after partial diabetic foot amputation: a multicentre, randomised controlled trial. In: *The Lancet* 366 (9498), S. 1704–1710. DOI: 10.1016/S0140-6736(05)67695-7.
- Assadian, O.; Brill, F.H.H.; Eberlein, T.; Hbner, N.-O.; Kaehn, K.; Kramer, A. (2010):** Polihexanide - A New Option for Wound Treatment. 1. Aufl. Basel: Karger (Skin Pharmacology and Physiology, 23.2010,1).
- Balk, R. A.; Bone, R. C. (1989):** The septic syndrome. Definition and clinical implications. In: *Critical care clinics* 5 (1), S. 1–8.
- Bateman, S. W.; Mathews, K. A.; Abrams-Ogg, A. C.; Lumsden, J. H.; Johnstone, I. B.; Hillers, T. K.; Foster, R. A. (1999):** Diagnosis of disseminated intravascular coagulation in dogs admitted to an intensive care unit. In: *Journal of the American Veterinary Medical Association* 215 (6), S. 798–804.
- Ben-Amotz, R.; Lanz, O. I.; Miller, J. M.; Filipowicz, D. E.; King, M. D. (2007):** The use of vacuum-assisted closure therapy for the treatment of distal extremity wounds in 15 dogs. In: *Veterinary surgery : VS* 36 (7), S. 684–690. DOI: 10.1111/j.1532-950X.2007.00321.x.



- Bentov, I.; Reed, M. J. (2014):** Anesthesia, microcirculation, and wound repair in aging. In: *Anesthesiology* 120 (3), S. 760–772. DOI: 10.1097/ALN.0000000000000036.
- Rosenberg, B. (2011):** Expression von Wachstumsfaktoren unter Vakuumversiegelungstherapie in chronischen Wunden. Online verfügbar unter urn:nbn:de:bvb:29-opus-30750.
- Bohling, M. W.; Henderson, R. A.; Swaim, S. F.; Kincaid, S. A.; Wright, J. C. (2004a):** Cutaneous wound healing in the cat: a macroscopic description and comparison with cutaneous wound healing in the dog. In: *Veterinary surgery : VS* 33 (6), S. 579–587. DOI: 10.1111/j.1532-950X.2004.04081.x.
- Bohling, M. W.; Henderson, R. A.; Swaim, S. F.; Kincaid, S. A.; Wright, J. C. (2004b):** Cutaneous wound healing in the cat: a macroscopic description and comparison with cutaneous wound healing in the dog. In: *Veterinary surgery : VS* 33 (6), S. 579–587. DOI: 10.1111/j.1532-950X.2004.04081.x.
- Bolton, L. L.; Monte, K.; Pirone, L. A. (2000):** Moisture and healing: beyond the jargon. In: *Ostomy/wound management* 46 (1A Suppl), 51S-62S; quiz 63S-64S.
- Bone, R. C.; Sibbald, W. J.; Sprung, C. L. (1992):** The ACCP-SCCM consensus conference on sepsis and organ failure. In: *Chest* 101 (6), S. 1481–1483. DOI: 10.1378/chest.101.6.1481.
- Borgquist, O.; Ingemansson, R.; Malmsjö, M. (2011):** The influence of low and high pressure levels during negative-pressure wound therapy on wound contraction and fluid evacuation. In: *Plastic and reconstructive surgery* 127 (2), S. 551–559. DOI: 10.1097/PRS.0b013e3181fed52a.
- Bowler, P. G.; Duerden, B. I.; Armstrong, D. G. (2001):** Wound microbiology and associated approaches to wound management. In: *Clinical microbiology reviews* 14 (2), S. 244–269. DOI: 10.1128/CMR.14.2.244-269.2001.
- Braakenburg, A.; Obdeijn, M. C.; Feitz, R.; van Rooij, I. A. L. M.; van Griethuysen, A. J.; Klinkenbijn, J. H. G. (2006):** The clinical efficacy and cost effectiveness of the vacuum-assisted closure technique in the management of acute and chronic wounds: a randomized controlled trial. In: *Plastic and reconstructive surgery* 118 (2), 390-7; discussion 398-400. DOI:

10.1097/01.prs.0000227675.63744.af.

**Brady, C. A.; Otto, C. M. (2001):** Systemic Inflammatory Response Syndrome, Sepsis, and Multiple Organ Dysfunction. In: *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 31 (6), S. 1147–1162. DOI: 10.1016/S0195-5616(01)50097-2.

**Brown, D. C.; Conzemius, M. G.; Shofer, F.; Swann, H. (1997):** Epidemiologic evaluation of postoperative wound infections in dogs and cats. In: *Journal of the American Veterinary Medical Association* 210 (9), S. 1302–1306.

**Buffa, E. A.; Lubbe, A. M.; Verstraete, F. J.; Swaim, S. F. (1997):** The effects of wound lavage solutions on canine fibroblasts: an in vitro study. In: *Veterinary surgery : VS* 26 (6), S. 460–466. DOI: 10.1111/j.1532-950x.1997.tb00517.x.

**Cameron, J. L. (1997):** William Stewart Halsted. Our surgical heritage. In: *Annals of surgery* 225 (5), S. 445–458.

**Casella, S.; Fazio, F.; Russo, C.; Giudice, E.; Piccione, G. (2013):** Acute phase proteins response in hunting dogs. In: *J VET Diagn Invest* 25 (5), S. 577–580. DOI: 10.1177/1040638713495851.

**Ceron, J. J.; Eckersall, P. D.; Martýnez-Subiela, S. (2005):** Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. In: *Veterinary clinical pathology* 34 (2), S. 85–99. DOI: 10.1111/j.1939-165x.2005.tb00019.x.

**Christensen, M. B.; Eriksen, T.; Kjelgaard-Hansen, M. (2015):** C-reactive protein: quantitative marker of surgical trauma and post-surgical complications in dogs: a systematic review. In: *Acta Vet Scand* 57 (1). DOI: 10.1186/s13028-015-0164-5.

**Clark, R. A. F.; Henson, P. M. (Hg.) (2013):** Molecular and cellular biology of wound repair. [Place of publication not identified]: Springer-Verlag New York.

**Cortellini, S.; Seth, M.; Kellett-Gregory, L. M. (2015):** Plasma lactate concentrations in septic peritonitis: A retrospective study of 83 dogs (2007-2012). In: *J Veter Emer Crit* 25 (3), S. 388–395. DOI: 10.1111/vec.12234.

**Costerton, J. W.; Lewandowski, Z.; DeBeer, D.; Caldwell, D.; Korber, D.; James, G. (1994):** Biofilms, the customized microniche. In: *Journal of bacteriology* 176 (8), S. 2137–2142. DOI: 10.1128/jb.176.8.2137-2142.1994.

- Cray, C.; Zaias, J.; Altman, N. H. (2009):** Acute phase response in animals: a review. In: *Comparative Medicine* 59 (6), S. 517–526.
- Dąbrowski, R.; Wawron, W.; Kostro, K. (2007):** Changes in CRP, SAA and haptoglobin produced in response to ovariohysterectomy in healthy bitches and those with pyometra. In: *Theriogenology* 67 (2), S. 321–327. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2006.07.019.
- Demaria, M.; Stanley, B. J.; Hauptman, J. G.; Steficek, B. A.; Fritz, M. C.; Ryan, J. M. et al. (2011):** Effects of negative pressure wound therapy on healing of open wounds in dogs. In: *Veterinary surgery : VS* 40 (6), S. 658–669. DOI: 10.1111/j.1532-950X.2011.00849.x.
- Demidova-Rice, T. N.; Hamblin, M. R.; Herman, I. M. (2012):** Acute and impaired wound healing: pathophysiology and current methods for drug delivery, part 1: normal and chronic wounds: biology, causes, and approaches to care. In: *Advances in skin & wound care* 25 (7), S. 304–314. DOI: 10.1097/01.ASW.0000416006.55218.d0.
- Dernell, W. S. (2006):** Initial wound management. In: *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 36 (4), S. 713–738. DOI: 10.1016/j.cvsm.2006.04.003.
- Diegelmann, R. F.; Cohen, I. K.; Kaplan, A. M. (1981):** The role of macrophages in wound repair: a review. In: *Plastic and reconstructive surgery* 68 (1), S. 107–113. DOI: 10.1097/00006534-198107000-00025.
- Diegelmann, R. F.; Evans, M. C. (2004):** Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. In: *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library* 9, S. 283–289. DOI: 10.2741/1184.
- Dimmen, S.; Engebretsen, L.; Nordsletten, L.; Madsen, J. E. (2009):** Negative effects of parecoxib and indomethacin on tendon healing: an experimental study in rats. In: *Knee surgery, sports traumatology, arthroscopy : official journal of the ESSKA* 17 (7), S. 835–839.
- Dinarello, C. A. (2011):** Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. In: *Blood* 117 (14), S. 3720–3732. DOI: 10.1182/blood-2010-07-273417.
- Eckersall, P. D. (1995):** Acute phase proteins as markers of inflammatory

- lesions. In: *Comparative Haematology International* 5 (2), S. 93–97. DOI: 10.1007/BF00638925.
- Eckersall, P. D.; Bell, R. (2010):** Acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. In: *Veterinary journal (London, England : 1997)* 185 (1), S. 23–27. DOI: 10.1016/j.tvjl.2010.04.009.
- Eckert, P. (Hg.) (1986):** Drainagen und Drainagetechniken in der operativen Medizin. Indikationen, Technik, Material. Munich, s.l.: J.F. Bergmann-Verlag.
- Eming, S. A.; Krieg, T.; Davidson, J. M. (2007):** Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. In: *The Journal of investigative dermatology* 127 (3), S. 514–525. DOI: 10.1038/sj.jid.5700701.
- Eming, S. A.; Martin, P.; Tomic-Canic, M. (2014):** Wound repair and regeneration: mechanisms, signaling, and translation. In: *Science translational medicine* 6 (265), 265sr6. DOI: 10.1126/scitranslmed.3009337.
- Engelhardt, W.; Breves, G.; Diener, M.; Gäbel, G. (Hg.) (2015):** Physiologie der Haustiere. 5., vollständig überarbeitete Auflage. Stuttgart: Enke.
- Eugster, S.; Schawalder, P.; Gaschen, F.; Boerlin, P. (2004):** A prospective study of postoperative surgical site infections in dogs and cats. In: *Veterinary surgery : VS* 33 (5), S. 542–550. DOI: 10.1111/j.1532-950X.2004.04076.x.
- Field, C. K.; Kerstein, M. d. (1994):** Overview of wound healing in a moist environment. In: *The American Journal of Surgery* 167 (1), S2-S6. DOI: 10.1016/0002-9610(94)90002-7.
- Fossum, T. W. (Hg.) (2019):** Small animal surgery. Unter Mitarbeit von Laura Pardi Duprey. Fifth edition. Philadelphia, PA: Elsevier.
- Fourrier, F.; Chopin, C.; Goudemand, J.; Hendrycx, S.; Caron, C.; Rime, A. et al. (1992):** Septic shock, multiple organ failure, and disseminated intravascular coagulation. Compared patterns of antithrombin III, protein C, and protein S deficiencies. In: *Chest* 101 (3), S. 816–823. DOI: 10.1378/chest.101.3.816.
- Gabriel, A. (2012):** Integrated negative pressure wound therapy system with volumetric automated fluid instillation in wounds at risk for compromised healing. In: *International wound journal* 9 Suppl 1, S. 25–31. DOI: 10.1111/j.1742-481X.2012.01014.x.
- Gebhardt, C.; Hirschberger, J.; Rau, Stefanie; A., Gisela; Krainer, K.;**

- Schweigert, F. J. et al. (2009):** Use of C-reactive protein to predict outcome in dogs with systemic inflammatory response syndrome or sepsis. In: *J Veter Emer Crit* 19 (5), S. 450–458. DOI: 10.1111/j.1476-4431.2009.00462.x.
- Glass, G. E.; Murphy, G. F.; Esmaeili, A.; Lai, L-M; Nanchahal, J. (2014):** Systematic review of molecular mechanism of action of negative-pressure wound therapy. In: *The British journal of surgery* 101 (13), S. 1627–1636. DOI: 10.1002/bjs.9636.
- Goertz, O.; Hirsch, T.; Ring, A.; Steinau, H. U.; Daigeler, A.; Lehnhardt, M.; Homann, H. H. (2011):** Influence of topically applied antimicrobial agents on muscular microcirculation. In: *Annals of plastic surgery* 67 (4), S. 407–412. DOI: 10.1097/SAP.0b013e318209a5fc.
- Goliger, J. A.; Paul, D. L. (1995):** Wounding alters epidermal connexin expression and gap junction-mediated intercellular communication. In: *Molecular Biology of the Cell* 6 (11), S. 1491–1501.
- Greiner, M.; Wolf, G.; Hartmann, K. (2007):** Bacteraemia and antimicrobial susceptibility in dogs. In: *The Veterinary record* 160 (15), S. 529–530. DOI: 10.1136/vr.160.15.529.
- Guille, A. E.; Tseng, L. W.; Orsher, R. J. (2007):** Use of vacuum-assisted closure for management of a large skin wound in a cat. In: *Journal of the American Veterinary Medical Association* 230 (11), S. 1669–1673. DOI: 10.2460/javma.230.11.1669.
- Gurtner, G. C.; Werner, S.; Barrandon, Y.; Longaker, M. T. (2008):** Wound repair and regeneration. In: *Nature* 453 (7193), S. 314–321. DOI: 10.1038/nature07039.
- Guthrie, H. C.; Martin, K. R.; Taylor, C.; Spear, A. M.; Whiting, R.; Macildowie, S. (2014):** A pre-clinical evaluation of silver, iodine and Manuka honey based dressings in a model of traumatic extremity wounds contaminated with *Staphylococcus aureus*. In: *Injury* 45 (8), S. 1171–1178. DOI: 10.1016/j.injury.2014.05.007.
- Haralambus R.; Jenner R. (2016):** Zur „lex artis“ ausgewählter Routinetätigkeiten in derPferdechirurgie. In: *Wiener Tierärztlicheh Monatsschrift - Veterinary Medicine Austria* (103).

**Hardie, E. M.; Rawlings, C. A.; Shotts, E. B.; Waltman, D. W.; Rakich, P. M. (1987):** Escherichia coli-induced lung and liver dysfunction in dogs: effects of flunixin meglumine treatment. In: *American journal of veterinary research* 48 (1), S. 56–62.

**Hatz (1993):** Wundheilung und Wundmanagement. Ein Leitfaden für die Praxis. Berlin, Heidelberg, s.l.: Springer Berlin Heidelberg.

**Hauptman, J. G.; Walshaw, R.; Olivier, N. B. (1997):** Evaluation of the sensitivity and specificity of diagnostic criteria for sepsis in dogs. In: *Veterinary surgery : VS* 26 (5), S. 393–397. DOI: 10.1111/j.1532-950x.1997.tb01699.x.

**Heng, M. C. Y. (2011):** Wound healing in adult skin: aiming for perfect regeneration. In: *International journal of dermatology* 50 (9), S. 1058–1066. DOI: 10.1111/j.1365-4632.2011.04940.x.

**Hourigan, L. A.; Hourigan, L.; Linfoot, J. A.; Linfoot, J.; Chung, K. K. (2010):** Loss of protein, immunoglobulins, and electrolytes in exudates from negative pressure wound therapy. In: *Nutrition in clinical practice : official publication of the American Society for Parenteral and Enteral Nutrition* 25 (5), S. 510–516. DOI: 10.1177/0884533610379852.

**Jost, M.; Huggett, T. M.; Kari, C.; Rodeck, U. (2001):** Matrix-independent survival of human keratinocytes through an EGF receptor/MAPK-kinase-dependent pathway. In: *Molecular Biology of the Cell* 12 (5), S. 1519–1527. DOI: 10.1091/mbc.12.5.1519.

**Jukic, T.; Ihan, A.; Stubljar, D. (2015):** Dynamics of inflammation biomarkers C-reactive protein, leukocytes, neutrophils, and CD64 on neutrophils before and after major surgical procedures to recognize potential postoperative infection. In: *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation* 75 (6), S. 500–507. DOI: 10.3109/00365513.2015.1057759.

**Kaiser, W.; Lieth, H. von der; Potel, J.; Heymann, H. (1984):** Tierexperimentelle Untersuchungen zur lokalen Anwendung von Silbersulfadiazin, Cefsulodin und PVP-Jod bei Brandwunden. In: *Infection* 12 (1), S. 31–35. DOI: 10.1007/bf01641022.

**Kaplan, M.; Daly, D.; Stemkowski, S. (2009):** Early intervention of negative pressure wound therapy using Vacuum-Assisted Closure in trauma patients:

impact on hospital length of stay and cost. In: *Advances in skin & wound care* 22 (3), S. 128–132. DOI: 10.1097/01.ASW.0000305451.71811.d5.

**Kilpadi, D. V.; Bower, C. E.; Reade, C. C.; Robinson, P. J.; Sun, Y.; Zeri, R. (2006):** Effect of Vacuum Assisted Closure Therapy on early systemic cytokine levels in a swine model. In: *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society* 14 (2), S. 210–215. DOI: 10.1111/j.1743-6109.2006.00112.x.

**King, L. G.; Stevens, M. T.; Ostro, E. N. So.; Diserens, D.; Ravi Shankar, J. (1994):** A Model For Prediction Of Survival In Critically III Dogs. In: *J Veter Emer Crit* 4 (2), S. 85–99. DOI: 10.1111/j.1476-4431.1994.tb00119.x.

**Knapp, A.; Schrödl, W.; Grevel, V.; Oechtering, G. (2009):** Konzentration des C-reaktiven Proteins (CRP) im Blutserum bei Hunden mit postoperativen Wundheilungsstörungen. In: *Tierarztl Prax Ausg K* 37 (01), S. 21–27. DOI: 10.1055/s-0038-1622737.

**Krahwinkel, D. J.; Boothe, H. W. (2006):** Topical and systemic medications for wounds. In: *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 36 (4), S. 739–757. DOI: 10.1016/j.cvsm.2006.04.001.

**Kramer, M. (Hg.) (2004):** Kompendium der Allgemeinen Veterinärchirurgie. Hannover: Schlütersche (Vet-Kolleg).

**Kreger, B. E.; Craven, D. E.; McCabe, W. R. (1980):** Gram-negative bacteremia. In: *The American Journal of Medicine* 68 (3), S. 344–355. DOI: 10.1016/0002-9343(80)90102-3.

**Kropec, A. (1992):** Epidemiologie und Verhütung von Wundinfektionen. In: Franz Daschner (Hg.): *Praktische Krankenhaushygiene und Umweltschutz*. Berlin, Heidelberg, s.l.: Springer Berlin Heidelberg, S. 105–114.

**Kushner, I.; Rzewnicki, D. L. (1994):** The acute phase response: General aspects. In: *Baillière's Clinical Rheumatology* 8 (3), S. 513–530. DOI: 10.1016/S0950-3579(05)80113-X.

**Labler, L.; Rancan, M.; Mica, L.; Härter, L.; Mihic-Probst, D.; Keel, M. (2009):** Vacuum-assisted closure therapy increases local interleukin-8 and vascular endothelial growth factor levels in traumatic wounds. In: *The Journal of trauma* 66 (3), S. 749–757. DOI: 10.1097/TA.0b013e318171971a.

- Laforcade, A. M. de; Freeman, L. M.; Shaw, S. P.; Brooks, M. B.; Rozanski, E. A.; Rush, J. E. (2003):** Hemostatic changes in dogs with naturally occurring sepsis. In: *Journal of veterinary internal medicine* 17 (5), S. 674–679. DOI: 10.1111/j.1939-1676.2003.tb02499.x.
- Lafortune, M.; Fleming, G. J.; Wheeler, J. L.; Göbel, T.; Mozingo, D. W. (2007):** Wound management in a juvenile tiger (*Panthera tigris*) with vacuum-assisted closure (V.A.C. Therapy). In: *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 38 (2), S. 341–344. DOI: 10.1638/1042-7260(2007)038[0341:WMIAJT]2.0.CO;2.
- Lalliss, S. J.; Stinner, D. J.; Waterman, S. M.; Branstetter, J. G.; Masini, B. D.; Wenke, J. C. (2010):** Negative pressure wound therapy reduces pseudomonas wound contamination more than Staphylococcus aureus. In: *Journal of orthopaedic trauma* 24 (9), S. 598–602. DOI: 10.1097/BOT.0b013e3181ec45ba.
- Lazarus, G. S.; Cooper, D. M.; Knighton, D. R.; Percoraro, R. E.; Rodeheaver, G.; Robson, M. C. (1994):** Definitions and guidelines for assessment of wounds and evaluation of healing. In: *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society* 2 (3), S. 165–170. DOI: 10.1046/j.1524-475X.1994.20305.x.
- Levy, M. M.; Fink, M. P.; Marshall, J. C.; Abraham, E.; Angus, D.; Cook, D. (2003a):** 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. In: *Intensive care medicine* 29 (4), S. 530–538.
- Levy, M. M.; Fink, M. P.; Marshall, J. C.; Abraham, E.; Angus, D.; Cook, D. (2003b):** 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. In: *Critical care medicine* 31 (4), S. 1250–1256. DOI: 10.1097/01.CCM.0000050454.01978.3B.
- Li, J.; Chen, J.; Kirsner, R. (2007):** Pathophysiology of acute wound healing. In: *Clinics in dermatology* 25 (1), S. 9–18. DOI: 10.1016/j.clindermatol.2006.09.007.
- Liu, D.; Zhang, L.; Li, T.; Wang, G.; Du, H.; Hou, H. (2014a):** Negative-pressure wound therapy enhances local inflammatory responses in acute infected soft-tissue wound. In: *Cell biochemistry and biophysics* 70 (1), S. 539–547. DOI: 10.1007/s12013-014-9953-0.



**Liu, Y.; Zhou, Q.; Wang, Y.; Liu, Z.; Dong, M.; Wang, Y. (2014b):** Negative pressure wound therapy decreases mortality in a murine model of burn-wound sepsis involving *Pseudomonas aeruginosa* infection. In: *PloS one* 9 (2), e90494. DOI: 10.1371/journal.pone.0090494.

**Löscher, W. (Hg.) (2016):** Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin. Unter Mitarbeit von Getu Abraham. 4., vollständig überarbeitete Auflage. 4. vollständig überarbeitete Auflage: Enke Verlag.

**Lu, F.; Ogawa, R.; Nguyen, D. T.; Chen, B. ; Guo, D. ; Helm, D. L. (2011):** Microdeformation of three-dimensional cultured fibroblasts induces gene expression and morphological changes. In: *Annals of plastic surgery* 66 (3), S. 296–300. DOI: 10.1097/SAP.0b013e3181ea1e9b.

**Martin, G. S.; Mannino, D. M.; Eaton, S.; Moss, M. (2003):** The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. In: *The New England journal of medicine* 348 (16), S. 1546–1554. DOI: 10.1056/NEJMoa022139.

**Mast, B. A.; Schultz, G. S. (1996):** Interactions of cytokines, growth factors, and proteases in acute and chronic wounds. In: *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society* 4 (4), S. 411–420. DOI: 10.1046/j.1524-475X.1996.40404.x.

**Matsuda, N.; Hattori, Y. (2006):** Systemic inflammatory response syndrome (SIRS): molecular pathophysiology and gene therapy. In: *Journal of pharmacological sciences* 101 (3), S. 189–198. DOI: 10.1254/jphs.crj06010x.

**Mischke, R.; Nolte, I. (1992):** Labordiagnostik und Differentialdiagnose der Verbrauchskoagulopathie beim Hund. In: *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift* 105 (12), S. 401–410.

**Mischke, R.; Waterston, M.; Eckersall, P. D. (2007):** Changes in C-reactive protein and haptoglobin in dogs with lymphatic neoplasia. In: *The Veterinary Journal* 174 (1), S. 188–192. DOI: 10.1016/j.tvjl.2006.05.018.

**Mold, C.; Baca, R.; Du C., Terry W. (2002):** Serum amyloid P component and C-reactive protein opsonize apoptotic cells for phagocytosis through Fcγ receptors. In: *Journal of autoimmunity* 19 (3), S. 147–154. DOI: 10.1006/jaut.2002.0615.

**Mori, L.; Bellini, A.; Stacey, M. A.; Schmidt, M.; Mattoli, S. (2005):**

Fibrocytes contribute to the myofibroblast population in wounded skin and originate from the bone marrow. In: *Experimental cell research* 304 (1), S. 81–90. DOI: 10.1016/j.yexcr.2004.11.011.

**Morykwas, M. J.; Argenta, L. C.; Shelton-Brown, E. I.; McGuirt, W. (1997):** Vacuum-assisted closure: a new method for wound control and treatment: animal studies and basic foundation. In: *Annals of plastic surgery* 38 (6), S. 553–562.

**Morykwas, M. J.; Simpson, J.; Pungler, K.; Argenta, A.; Kremers, L.; Argenta, J. (2006):** Vacuum-assisted closure: state of basic research and physiologic foundation. In: *Plastic and reconstructive surgery* 117 (7 Suppl), 121S-126S. DOI: 10.1097/01.prs.0000225450.12593.12.

**Mulani, M. S.; Kamble, E. E.; Kumkar, S. N.; Tawre, M. S.; Pardesi, K. R. (2019):** Emerging Strategies to Combat ESKAPE Pathogens in the Era of Antimicrobial Resistance: A Review. In: *Frontiers in microbiology* 10, S. 539. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00539.

**Mustoe, T. A.; O'Shaughnessy, K.; Kloeters, O. (2006):** Chronic wound pathogenesis and current treatment strategies: a unifying hypothesis. In: *Plastic and reconstructive surgery* 117 (7 Suppl), 35S-41S. DOI: 10.1097/01.prs.0000225431.63010.1b.

**Nast, A.; Kopp, I. B.; Augustin, M.; Banditt, KB; Boehncke, WH; Follmann, M. (2006):** S3-Leitlinie zur Therapie der Psoriasis vulgaris. In: *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft = Journal of the German Society of Dermatology : JDDG* 4 Suppl 2, S1-126. DOI: 10.1111/j.1610-0387.2006.06172.x.

**Nevill, B.; Leisewitz, A.; Goddard, A.; Thompson, P. (2010):** An evaluation of changes over time in serum creatine kinase activity and C-reactive protein concentration in dogs undergoing hemilaminectomy or ovariohysterectomy. In: *Journal of the South African Veterinary Association* 81 (1), S. 22–26. DOI: 10.4102/jsava.v81i1.90.

**Nicholson, M.; Beal, M.; Shofer, F.; Brown, D. C. (2002):** Epidemiologic evaluation of postoperative wound infection in clean-contaminated wounds: A retrospective study of 239 dogs and cats. In: *Veterinary surgery : VS* 31 (6), S. 577–581. DOI: 10.1053/jvet.2002.34661.

- Nolff, M.; Albert, R.; Wohlsein, P.; Baumgärtner, W.; Reese, S.; Meyer-Lindenberg, A. (2018):** Histomorphometrische Beurteilung der MMP-9 und CD31 Expression während der Wundheilung unter Unterdrucktherapie beim Hund. In: *Schweizer Archiv für Tierheilkunde* 160 (9), S. 525–532. DOI: 10.17236/sat00173.
- Nolff, M. C.; Fehr, M.; Bolling, A.; Dening, R.; Kramer, S.; Reese, S.; Meyer-Lindenberg, A. (2015):** Negative pressure wound therapy, silver coated foam dressing and conventional bandages in open wound treatment in dogs. A retrospective comparison of 50 paired cases. In: *Veterinary and comparative orthopaedics and traumatology : V.C.O.T* 28 (1), S. 30–38. DOI: 10.3415/VCOT-14-05-0076.
- Nolff, M. C.; Reese, S.; Fehr, M.; Dening, R.; Meyer-Lindenberg, A. (2016):** Assessment of wound bio-burden and prevalence of multi-drug resistant bacteria during open wound management. In: *The Journal of small animal practice* 57 (5), S. 255–259. DOI: 10.1111/jsap.12476.
- Nolff, M. C.; Meyer-Lindenberg, A. (2015):** Negative pressure wound therapy augmented full-thickness free skin grafting in the cat: outcome in 10 grafts transferred to six cats. In: *Journal of feline medicine and surgery* 17 (12), S. 1041–1048.
- Nolff, M. C.; Fehr, M.; Reese, S.; Meyer-Lindenberg, A. E. (2017):** Retrospective comparison of negative pressure wound therapy and silver-coated foam dressings in open-wound treatment in cats. In: *Journal of feline medicine and surgery* 19 (6), S. 624–630. DOI: 10.1177/1098612X16645141.
- Nunan, R.; Harding, K. G.; Martin, P. (2014):** Clinical challenges of chronic wounds: searching for an optimal animal model to recapitulate their complexity. In: *Disease models & mechanisms* 7 (11), S. 1205–1213. DOI: 10.1242/dmm.016782.
- Nuutila, K.; Siltanen, A.; Peura, M.; Harjula, A.; Nieminen, T.; Vuola, J. (2013):** Gene expression profiling of negative-pressure-treated skin graft donor site wounds. In: *Burns : journal of the International Society for Burn Injuries* 39 (4), S. 687–693. DOI: 10.1016/j.burns.2012.09.014.
- Oertli, D.; Harder, F. (2002):** Drainage der Bauchhöhle. In: J. R. Siewert, F. Harder und M. Rothmund (Hg.): *Praxis der Viszeralchirurgie*, Bd. 40. Berlin,

Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, S. 149–153.

**Ovington, L. G. (2004):** The truth about silver. In: *Ostomy/wound management* 50 (9A Suppl), 1S-10S.

**Pastar, I.; Stojadinovic, O.; Yin, N. C.; Ramirez, H.; Nusbaum, A. G.; Sawaya, A. (2014):** Epithelialization in Wound Healing: A Comprehensive Review. In: *Advances in wound care* 3 (7), S. 445–464. DOI: 10.1089/wound.2013.0473.

**Patmo, A. S. P.; Krijnen, P.; Tuinebreijer, W. E.; Breederveld, R. S. (2014):** The Effect of Vacuum-Assisted Closure on the Bacterial Load and Type of Bacteria: A Systematic Review. In: *Advances in wound care* 3 (5), S. 383–389. DOI: 10.1089/wound.2013.0510.

**Pavletic, M. M. (2010):** Atlas of small animal wound management and reconstructive surgery. 3rd ed. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell.

**Percival, S. L.; McCarty, S. M.; Lipsky, B. (2015):** Biofilms and Wounds: An Overview of the Evidence. In: *Advances in wound care* 4 (7), S. 373–381. DOI: 10.1089/wound.2014.0557.

**Pitt, K. A.; Stanley, B. J. (2014):** Negative pressure wound therapy: experience in 45 dogs. In: *Veterinary surgery : VS* 43 (4), S. 380–387. DOI: 10.1111/j.1532-950X.2014.12155.x.

**Purvis, D.; Kirby, R. (1994):** Systemic Inflammatory Response Syndrome: Septic Shock. In: *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 24 (6), S. 1225–1247. DOI: 10.1016/S0195-5616(94)50136-0.

**Rhee, S. M.; Valle, M. F.; Wilson, L. M.; Lazarus, G.; Zenilman, J. M.; Robinson, K. A. (2015):** Negative pressure wound therapy technologies for chronic wound care in the home setting: A systematic review. In: *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society* 23 (4), S. 506–517.

**Rice, L. B. (2008):** Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: no ESKAPE. In: *The Journal of infectious diseases* 197 (8), S. 1079–1081. DOI: 10.1086/533452.

**Rogers, L. C.; Bevilacqua, N. J.; Armstrong, D. G.; Andros, G. (2010):** Digital planimetry results in more accurate wound measurements: a comparison to

standard ruler measurements. In: *Journal of diabetes science and technology* 4 (4), S. 799–802. DOI: 10.1177/193229681000400405.

**Ryu, J-H; Kim, H.; Frank, J. F.; Beuchat, L. R. (2004):** Attachment and biofilm formation on stainless steel by *Escherichia coli* O157:H7 as affected by curli production. In: *Letters in applied microbiology* 39 (4), S. 359–362. DOI: 10.1111/j.1472-765X.2004.01591.x.

**Sardari, K.; Dehgan, M. M.; Mohri, M.; Emami, M. R.; Mirshahi, A.; Maleki, M. et al. (2006):** Macroscopic aspects of wound healing (contraction and epithelialisation) after topical administration of allicin in dogs. In: *Comp Clin Pathol* 15 (4), S. 231–235. DOI: 10.1007/s00580-006-0634-2.

**Scalise, A.; Calamita, R.; Tartaglione, C.; Pierangeli, M.; Bolletta, E.; Gioacchini, M. (2016):** Improving wound healing and preventing surgical site complications of closed surgical incisions: a possible role of Incisional Negative Pressure Wound Therapy. A systematic review of the literature. In: *International wound journal* 13 (6), S. 1260–1281.

**Shirey, T.; Sivilotti, M. (1999):** Reaction of lactate electrodes to glycolate. In: *Critical care medicine* 27 (10), S. 2305–2307. DOI: 10.1097/00003246-199910000-00050.

**Singer, G. H. S.; Ethridge, B. L.; Aldana, S. I. (2007):** Primary and secondary effects of parenting and stress management interventions for parents of children with developmental disabilities: a meta-analysis. In: *Mental retardation and developmental disabilities research reviews* 13 (4), S. 357–369. DOI: 10.1002/mrdd.20175.

**Slatter, D. H. (Hg.) (2003):** Textbook of small animal surgery. 3. ed. Philadelphia, Pa.: Saunders.

**Soontornvipart, K.; Nečas, A.; Dvořák, M. (2003):** Effect of Metallic Implant on the Risk of Bacterial Osteomyelitis in Small Animals. In: *Acta Vet. Brno* 72 (2), S. 235–247. DOI: 10.2754/avb200372020235.

**Spillebeen, A. L.; Robben, J. H.; Thomas, R.; Kirpensteijn, J.; van Nimwegen, S. A. (2017):** Negative pressure therapy versus passive open abdominal drainage for the treatment of septic peritonitis in dogs: A randomized, prospective study. In: *Veterinary surgery : VS* 46 (8), S. 1086–1097.

- Stanley, B. J. (2017):** Negative Pressure Wound Therapy. In: *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice* 47 (6), S. 1203–1220. DOI: 10.1016/j.cvsm.2017.06.006.
- Stanley, B. J.; Pitt, K. A.; Weder, C. D.; Fritz, M. C.; Hauptman, J. G.; Steficek, B. A. (2013):** Effects of negative pressure wound therapy on healing of free full-thickness skin grafts in dogs. In: *Veterinary surgery : VS* 42 (5), S. 511–522. DOI: 10.1111/j.1532-950X.2013.12005.x.
- Stojadinovic, A.; Carlson, J. W.; Schultz, G. S.; Davis, T. A.; Elster, E. A. (2008):** Topical advances in wound care. In: *Gynecologic oncology* 111 (2 Suppl), S70-80. DOI: 10.1016/j.ygyno.2008.07.042.
- Streit, M.; Mayer, D.; Traber, J. (2008):** Definitionen von Wunden: Akute und chronische Wunden.
- Swaim, S. F.; Gillette, R. L.; Sartin, E. A.; Hinkle, S. H.; Coolman, S. L. (2000):** Effects of a hydrolyzed collagen dressing on the healing of open wounds in dogs. In: *American journal of veterinary research* 61 (12), S. 1574–1578. DOI: 10.2460/ajvr.2000.61.1574.
- Swaim, S. F.; Henderson, R. A. (1997):** Small animal wound management. 2nd ed. Baltimore, Md.: Williams & Wilkins.
- Swaim SF, Hinkle SH, Bradley DM (2001):** Wound contraction: basic and clinical factors. In: *Compendium* (23:20–24).
- Swanson, E. A.; Freeman, L. J.; Seleem, M. N.; Snyder, P. W. (2014):** Biofilm-infected wounds in a dog. In: *Journal of the American Veterinary Medical Association* 244 (6), S. 699–707. DOI: 10.2460/javma.244.6.699.
- Tarnawski, A. S.; Jones, M. K. (2003):** Inhibition of angiogenesis by NSAIDs: molecular mechanisms and clinical implications. In: *Journal of molecular medicine (Berlin, Germany)* 81 (10), S. 627–636. DOI: 10.1007/s00109-003-0479-y.
- Thiede, A.; Engemann, R.; Imhof, M. (1993):** Drainagetechniken und Drainageprinzipien in der visceralen Chirurgie. In: *Der Chirurg; Zeitschrift für alle Gebiete der operativen Medizin* 64 (2), S. 90–95.
- Thompson, G. (2008):** An overview of negative pressure wound therapy (NPWT). In: *British journal of community nursing* 13 (6), S23-4, S26, S28-30.

DOI: 10.12968/bjcn.2008.13.Sup3.29469.

**Vairamon, S. J.; Babu, M.; Viswanathan, V. (2009):** Oxidative stress markers regulating the healing of foot ulcers in patients with type 2 diabetes. In: *Wounds : a compendium of clinical research and practice* 21 (10), S. 273–279.

**Vaneau, M.; Chaby, G.; Guillot, B.; Martel, P.; Senet, P.; Téot, L.; Chosidow, O. (2007):** Consensus panel recommendations for chronic and acute wound dressings. In: *Archives of dermatology* 143 (10), S. 1291–1294. DOI: 10.1001/archderm.143.10.1291.

**Voinchet, V.; Magalon, G. (1996):** Le vacuum assisted closure. La cicatrisation par pression d'air négative. In: *Annales de chirurgie plastique et esthétique* 41 (5), S. 583–589.

**Volanakis, J. (2001):** Human C-reactive protein: expression, structure, and function. In: *Molecular immunology* 38 (2-3), S. 189–197. DOI: 10.1016/s0161-5890(01)00042-6.

**Wackenfors, A.; Sjögren, J.; Gustafsson, R.; Algotsson, L.; Ingemansson, R.; Malmsjö, M. (2004):** Effects of vacuum-assisted closure therapy on inguinal wound edge microvascular blood flow. In: *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society* 12 (6), S. 600–606. DOI: 10.1111/j.1067-1927.2004.12602.x.

**Waldron D. R., Zimmerman-Pope I. N. (2003):** Superficial skin wounds. In: *Textbook of small animal surgery*. Slatter DH. Hg. v. editor. NY: Saunders, zuletzt aktualisiert am 02.06.2020, zuletzt geprüft am 02.06.2020.

**Walker, M.; Bowler, P. G.; Cochrane, C. A. (2007):** In vitro studies to show sequestration of matrix metalloproteinases by silver-containing wound care products. In: *Ostomy/wound management* 53 (9), S. 18–25.

**Weed, T.; Ratliff, C.; Drake, D. B. (2004):** Quantifying bacterial bioburden during negative pressure wound therapy: does the wound VAC enhance bacterial clearance? In: *Annals of plastic surgery* 52 (3), 276-9; discussion 279-80. DOI: 10.1097/01.sap.0000111861.75927.4d.

**Weiss, M.; Huber-Lang, M.; Taenzer, M.; Traeger, L.; Altherr, J.; Kron, M. (2009):** Different patient case mix by applying the 2003 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS sepsis definitions instead of the 1992

ACCP/SCCM sepsis definitions in surgical patients: a retrospective observational study. In: *BMC medical informatics and decision making* 9, S. 25.

**Weiss, S. J. (1989):** Tissue destruction by neutrophils. In: *The New England journal of medicine* 320 (6), S. 365–376. DOI: 10.1056/NEJM198902093200606.

**Werner, S.; Krieg, T.; Smola, H. (2007):** Keratinocyte-fibroblast interactions in wound healing. In: *The Journal of investigative dermatology* 127 (5), S. 998–1008. DOI: 10.1038/sj.jid.5700786.

**Wiinberg, B.; Jensen, A. L.; Johansson, P. I.; Rozanski, E.; Tranholm, M.; Kristensen, A. T. (2008):** Thromboelastographic evaluation of hemostatic function in dogs with disseminated intravascular coagulation. In: *Journal of veterinary internal medicine* 22 (2), S. 357–365. DOI: 10.1111/j.1939-1676.2008.0058.x.

**Wild, T.; Otto, F.; Mojarrad, L.; Kellner, M.; Göttinger, P. (2007):** Vakuumversiegelung--Grundlagen, Indikationen, Kontraindikationen und Kostenbilanz. In: *Therapeutische Umschau. Revue therapeutique* 64 (9), S. 495–503. DOI: 10.1024/0040-5930.64.9.495.

**Willy, C.; Sterk, J.; Gerngross, H.; Schmidt, R. (2003):** Drainagen in der Weichteilchirurgie. Was ist "evidence based"? In: *Der Chirurg; Zeitschrift für alle Gebiete der operativen Medizin* 74 (2), S. 108–114. DOI: 10.1007/s00104-002-0581-7.

**Wilmink, J. M.; van Weeren, P. R. (2005):** Second-intention repair in the horse and pony and management of exuberant granulation tissue. In: *The Veterinary clinics of North America. Equine practice* 21 (1), S. 15–32. DOI: 10.1016/j.cveq.2004.11.014.

**Winter, G. D. (1962):** Formation of the scab and the rate of epithelization of superficial wounds in the skin of the young domestic pig. In: *Nature* 193, S. 293–294. DOI: 10.1038/193293a0.

**Witte, M. B.; Barbul, A. (1997):** General principles of wound healing. In: *The Surgical clinics of North America* 77 (3), S. 509–528.

**Yusuf, E.; Jordan, X.; Clauss, M.; Borens, O.; Mäder, M.; Trampuz, A. (2013):** High bacterial load in negative pressure wound therapy (NPWT) foams used in the treatment of chronic wounds. In: *Wound repair and regeneration* :



---

*official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society 21 (5), S. 677–68*

## **X. DANKSAGUNG**

Am Ende dieser Untersuchungen ist, es mir ein großes Bedürfnis mich bei all denjenigen zu bedanken die mich bei dieser Promotion unterstütz haben.

Frau Professor Dr. Andrea Meyer-Lindenberg gilt mein großer Dank für die Überlassung des Themas und die Betreuung. Ihre Unterstützung und ihr Vertrauen in mich hat mich über die letzten Jahre stets begleitet und mir den Einstieg in die Kleintierchirurgie ermöglicht. Mit ihrem Rat und ihren Erfahrungen stand sie mir sowohl klinisch als auch wissenschaftlich immer zur Seite.

Dr. Mirja Christine Nolff danke ich zutiefst für die Mitbetreuung und Ihre überragenden Kenntnisse im Bereich der Wundtherapie. Ohne Sie wäre diese Arbeit nie zustande gekommen. Sie trug wesentliches zum Gelingen dieser Dissertation bei. Mit ihrem wissenschaftliches Engagement stand sie mir immer helfend zur Seite.

Den Mitarbeiter der Chirurgischen und Gynäkologischen Kleintierklinik, für ihr Mitwirken an der Studie und für ihre Hilfe bei der Erhebung der Daten und der Mitbetreuung der Patienten.

Prof. Dr. Sven Reese, danke ich für die Hilfe bei der statistischen Bearbeitung der Daten und bei deren Auswertung.

Meinen Freunden Catharina von Eckartsberg und Anna Döring für die anhaltenden Motivation und für ihre Geduld bei Hilfestellungen und Ratschlägen. Danke ohne euch hätte ich das nicht geschafft.

---

Mein letzter und innigster Dank gilt meiner Familie, meinen Eltern Sabine und Michael Albert, meiner Frau Anne sowie meinen Großeltern. Ohne euch wäre dieser Weg für mich nicht möglich gewesen. Ihr habt mir immer gezeigt, dass ich mit euch an meiner Seite, alles erreichen kann was ich mir vornehme. Danke für die liebevolle Unterstützung und das ihr immer an mich geglaubt habt.