

# Komplexní diagnostika infekce u revizních operací totálních endoprotéz velkých kloubů

## Comprehensive Diagnosis of Infection in Revision Total Replacements of Large Joints

K. KOUDELA Jr.<sup>1</sup>, L. GEIGEROVÁ<sup>2</sup>, O. HES<sup>3</sup>, K. KOUDELA Sr.<sup>1</sup>

1 Klinika ortopedie a traumatologie pohybového ústrojí FN a LF UK Plzeň

2 Ústav mikrobiologie FN a LF UK Plzeň

3 Šiklův patologicko-anatomický ústav FN a LF UK Plzeň

### ABSTRACT

#### PURPOSE OF THE STUDY

To make comprehensive diagnoses of the infections associated with revision total knee and hip arthroplasties in our group of patients

#### MATERIAL AND METHODS

From September 2002 till November 2004, a group of 69 patients undergoing revision total joint replacement (65 hips and four knees) were evaluated. The period between primary and revision surgery ranged from 6 months to 25 years. The patients were examined for CRP, erythrocyte sedimentation rate (ESR) and white blood cell (WBC) counts. The samples of their periprosthetic tissue were assessed for biopsy and microbial findings. The removed prosthetic components were sonicated. The samples were cultured in both aerobic and anaerobic conditions for 16 days. A finding of more than 10 neutrophils per viewing field was taken as a positive biopsy result. The definition of an infection was based on the detection of a microorganism with the identical phenotype in two or more samples.

#### RESULTS

Before surgery, 13 patients had a suspected infection which was subsequently diagnosed. A positive culture result in at least one of the collected samples was found in 48 patients; of these, a positive culture finding of a phenotypically identical microorganism in two or three samples was in 32 patients, who thus met the definition of infection. The average values for the whole group were: CRP, 16 mg/L (1-109); ESR, 25 mm/h (3-110); peripheral WBC count,  $6.2 \times 10^9/L$  (3.6-11.6). The microorganisms most frequently growing in culture were coagulase-negative staphylococci and propionibacteria accounting for 41 % and 29 % of the total isolates obtained, respectively. From the total number of samples, positive culture results were obtained in 36 % of sonicate femoral components; 40 % of sonicate acetabular cups, 51 % of periprosthetic tissues and 48 % of swabs. In these positive microbial cultures strictly anaerobic microorganisms were found in 41 % of femoral component, 49 % acetabular component and 42 % periprosthetic tissue samples and in 27 % of swabs taken at arthroto-my. Prolonged cultivation of the 151 isolates initially obtained yielded 81 (54%) isolates which would have failed to be detected by primary culture.

The results of laboratory tests in the patients with negative culture findings, in those with a phenotypically identical microorganism found in one sample, and in those with positive findings in two or more samples were: CRP, 4.3mg/L; 9.8mg/L; and 21.7mg/L, respectively; ESR, 13.5mm/h; 20.1mm/h; and 33.0mm/h, respectively; and WBC counts,  $6.27 \times 10^9/L$ ;  $6.25 \times 10^9/L$ ; and  $6.16 \times 10^9/L$ , respectively.

The t-test was used for the statistical analysis of CRP, ESR and WBC count values, and it revealed a significant differences between the patients with negative microbial findings and those with positive microbial findings in two and more samples in all three values, i.e., CRP ( $p=0.01$ ), ESR ( $p=0.01$ ) and WBCs ( $p=0.96$ ). Biopsy findings showed a sensitivity of 62.5 % and a specificity of 91 % in relation to the microbial findings.

#### DISCUSSION

Our results as well as relevant literature data suggest that microorganisms may survive on implant surfaces even in the cases regarded as aseptic. They often grow slowly and, theoretically, can have an adverse effect on the longevity of revision arthroplasty. However, because of current endoprosthetic practices and the ubiquitous presence of microorganisms, contamination of some samples cannot be excluded.

#### CONCLUSIONS

In our group of patients, the CRP and ESR values proved to be useful in making the diagnosis of infection. For this purpose, WBC counts in blood samples were not sensitive enough. Biopsy findings had low sensitivity, but appeared to be a specific marker of infection. Prolonged cultivations of samples and cultivation under anaerobic conditions resulted in a marked increase in isolates obtained, as compared with the routine cultivation technique.

**Key words:** infection, total joint replacement, sonication, biopsy, frozen section, prolonged cultivation.

## ÚVOD

Uvolnění totální endoprotézy (TEP) je významným problémem moderní ortopedie. Typy selhání endoprotézy lze rozdělit na: aseptické (neinfekční) a septické (infekční).

Příčinou tzv. aseptického selhání je otěrová nemoc (20), která je způsobena mikročásticemi materiálu uvolněnými při každodenním mechanickém zatížení TEP. Tyto částice způsobují aktivaci buněk imunitního systému vedoucí k produkci zánětlivých působků, s následnou stimulací osteoklastů a osteolýzou (18). Množství otěrových částic koreluje s rozsahem osteolýzy na rentgenovém snímku (rtg) (20), ale významnou roli hraje i individuální reakce organismu na otěrové částice, jak bylo prokázáno studiem polymorfismu některých cytokinů (5).

Příčinou septického uvolnění je přítomnost a působení mikroorganismů na povrchu a v okolí TEP. V současné době neexistuje žádná univerzálně široce akceptovaná definice periprotetické infekce. Septické, tj. infekční uvolnění lze dle Coventryho (2) dělit na: 1. peroperační kontaminaci operační rány, která následně probíhá dále jako časný nebo pozdní (mitigovaný) infek; 2. infekci hematogenní cestou s akutním či neakutním nástupem příznaků. V roce 1993 Estrada a Tsukayama (4) navrhli ke Coventryho klasifikaci přidat další skupinu – tzv. „pozitivní intraoperační mikrobiologické kultury“, a to na základě nálezů pozitivních peroperačních kultivačních nálezů ze vzorků odebraných při reimplantacích totálních endoprotéz u jinak zjevně aseptických uvolnění (dle ostatních vyšetření a laboratorních výsledků). Přežívání mikroorganismů na povrchu endoprotézy je realizováno jejich schopností strategické tvorby biofilmu na povrchu implantátu (24, 27). Pro možnost přechodného přežívání mikroorganismů, eventuálně dlouhodobě probíhající subklinickou infekci v okolí endoprotézy (7), svědčí práce prokazující přítomnost pro eukaryotickou buňku cizích lipopolysacharidů – endotoxinů na povrchové membráně endoprotéz bez klinického a mikrobiologických známek infektu (16). Riziko vzniku infekce narůstá s nárůstem počtu pacientů s komorbiditami a zejména revmatickými zánětlivými onemocněními (16, 23).

Výskyt periprotetické infekce poklesl zavedením nových metod z původních 10 % na současných 1–3 %, v některých souborech i méně než 1 % (17). Otázkou zůstává, zda podstatou některých tzv. aseptických uvolnění není mikrobiálními agens či jeho produkty (16). Pro tento fakt by svědčila následující fakta: 1. cement s antibiotikem (ATB) „chrání“ TEP před tzv. aseptickým uvolněním (delší přežívání cementovaných implantátů, pokud je do cementu přidáno ATB); 2. pozitivní kultivační průkaz mikroorganismů v překvapivě vysokém procentu vyjmutých TEP; 3. případy, kdy kultivační mikrobiologický nálezn byl negativní, ale bioptické vyšetření vykazovalo akutní zánětlivé změny; 4. vliv bakteriálních endotoxinů a příbuzných molekul na ovlivnění kostní resorpce u částicové nemoci (1, 10). Skutečný výskyt periprotetické infekce se zdá být podhodnocen.

Důležitost rozlišit septické uvolnění od aseptického je zásadní kvůli diametrálně odlišné strategii operačního výkonu a následné léčby (8, 12, 13, 26), proto se cílem naší práce stalo rozšíření diagnostiky infekce TEP za použití námi dostupných metod se zaměřením na obtížně diagnostikovatelný mitigovaný infek.

## SOUBOR PACIENTŮ A METODIKA

Od září 2002 do listopadu 2004 jsme na našem pracovišti prospektivně sledovali skupinu 69 pacientů, u kterých byla provedena revizní operace TEP. Indikace k výměně TEP byla na základě zhodnocení rentgenových snímků, kde byly nalezeny pokročilé známky uvolnění, a na základě jednotlivých subjektivních stesků pacienta na progredující bolesti a zhoršení stavu kloubu. U 6 pacientů byly indikací příznaky akutního infektu TEP (sekrece a zarudnutí z rány, zvýšená tělesná teplota a výrazná elevace markerů zánětu, eventuálně posun v bílém krevním obraze, bolesti), u dalších 7 pacientů bylo předběžné podezření vyjádřeno jen na základě mírné elevace zánětlivých markerů – C-reaktivní protein (CRP), sedimentace (FW), počet leukocytů v krvi (WBC), na rtg rychlé progresse lokalizované osteolýzy (tzv. scalloping) a klinického nálezu (noční a klidové bolesti bez ohledu na zatížení kloubu) a krátké době od primoinplantace.

Z celkového množství 69 revizních operací TEP kyčelního a kolenního kloubu bylo 65 revizí TEP kyčelního kloubu a 4 revize TEP kolenního kloubu, 47 bylo levostranných a 22 pravostranných. Průměrná doba od předchozího operačního výkonu byla 10 let v rozsahu 6 měsíců až 25 let.

Jako definici infekce jsme si pro potřeby studie určili pozitivní kultivační nálezn fenotypicky stejného mikroorganismu z dvou a více odebraných vzorků.

Před operačním výkonem byly u pacientů hodnoceny hodnoty WBC, CRP a FW. Laboratorní hodnoty byli k dispozici od praktického lékaře, eventuálně byly doplněny na našem pracovišti. Za patologické hodnoty ve smyslu možné přítomnosti infekce jsme považovali CRP >10mg/l, FW > 30/h, WBC >10x10<sup>9</sup>/l. Revizní operace probíhaly na operačních sálech s laminárním prouděním. Příprava operačního pole se prováděla standardním způsobem: odmaštění operačního pole s následnou dezinfekcí 1% jodovou tinkturou. Rouškování bylo realizováno pomocí jednorázových lepících neprodyšných roušek v kombinaci s bavlněnými. Členové operačního týmu byli oblečeni ve sterilních bavlněných pláštích, pod nimiž byli zředu chráněni gumovou zástěrou.

V průběhu výkonu byl prováděn odběr vzorků na histopatologické vyšetření a mikrobiologické vyšetření.

## Odběr a zpracování vzorků na histopatologické vyšetření

V průběhu výkonu byly odebrány vzorky z pseudokapsuly, z rozhraní mezi femorální komponentou (cementem) a kostí a mezi acetabulární komponentou (cementem) a kostí, celkem tedy 3–4 vzorky z míst nejpoděřejších z případné infekce. Vzorky byly trans-

portovány do laboratoře bez fixačního média, kde byly zmrazeny, krájeny mikrotomem na 3–4 µm a po natážení na sklíčko barveny ultrarapid technikou. Výsledek byl hlášen na operační sál. Následovalo standardní zpracování vzorků formou fixovaného materiálu.

V odebraných vzorcích byl sledován počet polynukleárů (neutrofilů) na zorné pole s velkým zvětšením (400 x). Počet polynukleárů signifikantní pro infekci byl zvolen na 10 polynukleárů na zorné pole v 5 polích (14), započteny byly polynukleáry u nichž byly nalezeny jasné buněčné okraje. Pokud nebyly tyto okraje přítomny, pak byly započítávány polynukleáry s trojlaločným jádrem a přítomností alespoň zbytků cytoplasmy.

### Odběr a zpracování vzorků na mikrobiologické vyšetření

Po artrotomii byl proveden rutinní stěr z kloubní dutiny, dále byly odebrány vzorky tkáně z pseudokapsuly a následně byly vyjmuty komponenty TEP a umístěny do sterilní rukavice. Z oblasti pod komponentami TEP byly odebrány vzorky periprotetické tkáně. Umístění komponent do chirurgických sterilních rukavic bylo provedeno za účelem minimalizace kontaktu s nástroji a rukavicemi členů operačního týmu. Vzduch z rukavice nebyl odsáván pro krátkou dobu mezi odběrem a zpracováním vzorků a kvůli snížení rizika kontaminace špičkou sávky. Vzorky tkáně byly vloženy do sterilních zkumavek. Následně byly odebrané vzorky umístěny do sterilního „anaerobního válce“.

Teprve po odebrání všech mikrobiologických vzorků byla podávána ATB profylaxe.

*Metodika zpracování v mikrobiologické laboratoři dle Běbrové, Pilňáčka (19):*

V mikrobiologické laboratoři byly vzorky tkáně zpracovány v anaerobním boxu, tkáň byla homogenizována. Roztok byl inokulován na tuhá a tekutá média. Po dezinfekci ultrazvukové lázně byly do ní vloženy komponenty endoprotézy ve skleněných nádobách s Ringeroým roztokem a sonikací po dobu 5 minut. Sonikát byl inokulován na tuhá a tekutá média a do BACTEK lahvičky. Inokulum na tuhých půdách bylo rozlito na povrch agaru.

Stěr byl rozočkován na tuhá média.

Inkubace probíhala při 37 °C aerobně a anaerobně (tuhá média byla odečítána 1. až 7. den, na tuhá média byly bujony vyočkovány 7. a 14. den na 48 hod.).

Finální výsledek byl tedy k dispozici za 16 dní. O průběžných výsledcích kultivace jsme se průběžně informovali telefonicky.

### VÝSLEDKY

Z celkového počtu 69 revizních TEP, bylo předoperačně vysloveno podezření na infekci u 13 pacientů na základě výsledků laboratorních vyšetření, klinického a rtg nálezu, z toho u 6 TEP byl předpokládán akutní infekt.

Pozitivní kultivační nález alespoň v jednom vzorku byl u 48 pacientů, z toho pozitivní kultivační nález fenotypicky stejného mikroorganismu ve dvou a více vzor-

cích u 32 pacientů, ti tedy splnili námi stanovenou definici infekce TEP. U všech 13 pacientů, u nichž byl infekt předoperačně předpokládán, byl i prokázán. Průměrné CRP celé skupiny bylo 16mg/l (1–109), průměrná FW byla 25 mm/hodinu (3–110), průměrný počet leukocytů v periferní krvi byl  $6,2 \times 10^9/l$  (3,6–11,6). Spektrum a četnost zachycených mikroorganismů ukazuje tabulka 1. Spektrum a četnost zachycených mikroorganismů z jednotlivých typů odebraných vzorků (femorální komponenta, acetabulární komponenta, vzorky tkáně, stěr z artrotomie znázorňují tabulky 2, 3, 4, 5.

V tabulce 6 jsou shrnuty průměrné hodnoty CRP, FW a WBC ve skupině s negativním kultivačním nálezem, ve skupině s pozitivním nálezem v jednom vzorku (v této skupině jsou zahrnuti i pacienti, u kterých byl nalezen větší počet mikroorganismů v různých vzorcích, ale fenotypicky stejný se nevyskytl více než v jednom vzorku). Při statistickém zpracování T-testem byl zjištěn při porovnání skupiny s negativní kultivačním nálezem se

Tab. 1. Spektrum a četnost zachycených mikroorganismů ze všech odebraných vzorků z 69 revizních operací TEP.

Zachycený mikroorganismus	Četnost	% z celkového počtu zachycených mikroorganismů
Staphylococcus epidermidis	21	29 %
Propionibacterium species (sp.)	21	29 %
Corynebacterium sp.	13	18 %
Staphylococcus capitis, saprophyticus, warneri, pasteurii, hominis	9	12 %
Staphylococcus aureus	2	3 %
Enterococcus faecalis	2	3 %
Ralstonia pickettii	2	3 %
Streptococcus oralis	1	1 %
Bacillus sp.	1	1 %
Peptostreptococcus sp.	1	1 %
Celkem	73	100 %

Tab. 2. Femorální komponenta: z celkového počtu 66 odebraných vzorků jich bylo 24 pozitivních, tj. 36 %. Čistě anaerobní mikroorganismy, které by tedy nebyly zachyceny klasickou aerobní kultivací 13, tj. 40,6 % z celkového počtu 32 zachycených mikroorganismů. Jen z pomnožení (nikoliv z primokultivace) bylo zachyceno 18 mikroorganismů, tj. 56,3 % z celkového počtu 32 zachycených mikroorganismů.

Mikroorganismus	Četnost	% z celkového počtu vzorků	% z kultivačně pozitivních vzorků
Propionibacterium sp.	10	15,2 %	41,7 %
Staph. epidermidis	9	13,6 %	37,5 %
Ostatní koaguláza negativní stafylokoky	3	4,5 %	20,8 %
Corynebacterium sp.	5	7,6 %	12,5 %
Ralstonia pickettii	2	3,0 %	8,3 %
Enterococcus faecalis	1	1,5 %	4,2 %
Staphylococcus aureus	1	1,5 %	4,2 %
Peptostreptococcus sp.	1	1,5 %	4,2 %
Celkem	32		



Tab. 3. Acetabulární komponenta: z celkového počtu 69 odebraných vzorků jich bylo 27 pozitivních, tj. 40 %. Čistě anaerobní mikroorganismy, které by tedy nebyly zachyceny klasickou aerobní kultivací 17, tj. 48,6 % z celkového počtu 35 zachycených mikroorganismů. Jen z pomnožení (nikoliv z primokultivace) bylo zachyceno 14 mikroorganismů, tj. 40 % z celkového počtu 35 zachycených mikroorganismů.

Mikroorganismus	Četnost	% z celkového počtu vzorků	% z kultivačně pozitivních vzorků
Staph. epidermidis	13	19,4 %	48,2 %
Ostatní koaguláza negativní stafylokoky	4	6,0 %	40,7 %
Propionibacterium sp.	11	16,4 %	14,8 %
Corynebacterium sp.	3	4,5 %	11,1 %
Ralstonia pickettii	1	1,5 %	3,7 %
Enterococcus faecalis	1	1,5 %	3,7 %
Staphylococcus aureus	1	1,5 %	3,7 %
Streptococcus sp.	1	1,5 %	3,7 %
Celkem	35		

Tab. 4. Vzorky tkáně z pseudokapsuly a periprotetické tkáně: z celkového počtu 69 odebraných vzorků jich bylo 35 pozitivních, tj. 50,7 %. Čistě anaerobní mikroorganismy, které by tedy nebyly zachyceny klasickou aerobní kultivací 18, tj. 41,9 % z celkového počtu 43 zachycených mikroorganismů. Jen z pomnožení (nikoliv z primokultivace) bylo zachyceno 18 mikroorganismů, tj. 41,9 % z celkového počtu 43 zachycených mikroorganismů.

Mikroorganismus	Četnost	% z celkového počtu vzorků	% z kultivačně pozitivních vzorků
Staph. epidermidis	15	21,7 %	42,9 %
Ostatní koaguláza negativní stafylokoky	5	7,2 %	42,9 %
Propionibacterium sp.	15	21,7 %	14,3 %
Corynebacterium sp.	5	7,2 %	14,3 %
Enterococcus faecalis	2	2,9 %	5,7 %
Staphylococcus aureus	1	1,4 %	2,9 %
Celkem	43		

Tab. 5. Stěr z artrotomie z celkového počtu 69 odebraných vzorků jich bylo 33 pozitivních, tj. 47,8 %. Čistě anaerobní mikroorganismy, které by tedy nebyly zachyceny klasickou aerobní kultivací 11, tj. 26,8 % z celkového počtu 41 zachycených mikroorganismů. Jen z pomnožení (nikoliv z primokultivace) bylo zachyceno 31 mikroorganismů, tj. 75,6 % z celkového počtu 41 zachycených mikroorganismů.

Mikroorganismus	Četnost	% z celkového počtu vzorků	% z kultivačně pozitivních vzorků
Staph. epidermidis	13	18,8 %	39,4 %
Propionibacterium sp.	9	13,0 %	27,3 %
Ostatní koaguláza negativní stafylokoky	4	5,8 %	12,1 %
Corynebacterium sp.	9	13,0 %	27,3 %
Enterococcus faecalis	1	1,5 %	3,0 %
Staphylococcus aureus	2	2,9 %	6,1 %
Streptococcus sp.	1	1,5 %	3,0 %
Peptostreptococcus sp.	1	1,5 %	3,0 %
Bacillus sp.	1	1,5 %	3,0 %
Celkem	41		

Tab. 6. Průměrné hodnoty CRP, FW a WBC ve skupině s negativním kultivačním nálezem, ve skupině s pozitivním nálezem v jednom vzorku a s pozitivním nálezem ve dvou a více vzorcích (fenotypicky stejný mikroorganismus).

	Negativní kultivační nález	Fenotypicky stejný mikroorganismus jen v jednom vzorku	Fenotypicky stejný mikroorganismus ve 2 a více vzorcích
CRP [mg/l]	4,3 (1–19)	9,75 (1–38)	21,7 (1–109)
FW [mm/hod]	13,5 (3–38)	20,1 (2–92)	33,0 (3–110)
WBC [ $10^9/l$ ]	6,27 (3,9–10,5)	6,25 (4,1–11,6)	6,16 (3,6–8,8)

skupinou s nálezem stejného mikroorganismu ve dvou a více vzorcích pro CRP  $p=0,01$ , FW  $p=0,01$  a WBC  $p=0,96$ . Pro CRP a FW se jednalo o statisticky významné rozdíly. Při porovnání skupiny s negativním mikrobiologickým nálezem a s pozitivním nálezem v jednom vzorku byly hodnoty pro CRP  $p=0,2$ , FW  $p=0,18$  a WBC  $p=0,68$ . Při zhodnocení skupiny s pozitivním mikrobiologickým nálezem v jednom vzorku oproti skupině, kde byl nalezen fenotypicky stejný mikroorganismus ve 2 a více vzorcích pro CRP  $p=0,11$ , FW  $p=0,23$ , WBC  $p=0,71$ . Senzitivita a specifita biotického vyšetření byla 62,5 % a 91 % ve vztahu k mikrobiologickému vyšetření.

## DISKUSE

V našem souboru jsme zjistili vysoký počet pozitivních kultivačních nálezů. Tabulka 7 shrnuje porovnání našich výsledků s výsledky Tunneyho z roku 1998 (25), Pilňáček+Bébrové z roku 2002 (19). V podstatě jsme dosáhli podobných výsledků (50 % x 48 %) jako Pilňáček a Bébrová (19) při mikrobiologickém vyšetření sonikátu komponent endoprotézy, což odpovídá použití identické metodiky. Častěji byl pozitivní kultivační výsledek u odebraných vzorků tkáně. Proč bylo dosaženo tak výrazně rozdílných výsledků oproti práci Tunneyho (25), kde byla použita velmi podobná metodika, si lze vysvětlit snad jen tím, že byla užita rutinně předoperační ATB profylaxe, zatímco v našem případě byla odložena až po odběru mikrobiologických vzorků.

Nejčastěji zachyceným mikroorganismem v našem souboru byl Staphylococcus epidermidis, který spolu s ostatními koaguláza negativními stafylokoky tvořil 41 % z celkového počtu zachycených mikroorganismů, následovala převážně anaerobní Propionibacterium species s 29 % a Corynebacterium s 18 %. Význam a dominance vykultivovaných koaguláza negativních stafylokoků je všeobecně akceptována (25). Pokud pomineme (Staphylococcus aureus a Enterococcus faecalis), patří ostatní vykultivované mikroorganismy mezi tzv. oportunní patogeny, které jsou běžnými komenzály kůže, vlasů a sliznic pacienta či operačního týmu. Oproti ostatním autorům (21) byly v našem souboru častěji vykultivovány mikroorganismy druhu Propionibacterium species, jejich vyšší záhyt byl způsoben delší dobou kultivace. Pomalý růst a z toho plynoucí jen relativně

Tab. 7. Porovnání našich výsledků s výsledky Tunneyho (25), Pilnáčka+Bébrové (19).

Autor	Tunney	Pilnáček + Bébrová	Náš soubor
Počet pacientů	120 (8,8 let po implantaci)	12	69 (10,6 let po implantaci)
Podezření z infektu	6 (jen u 2 pozitivní kultivace z tkáně)	0	13 (19 %)
Pozitivní kultivační nález	26 (21 %) TEP 5 (4,2 %) tkáň 5 (4,2 %) z TEP	6 (50 %) TEP 5 (41 %) tkáň 3 (25 %) z TEP a tkáň	33 (48%) TEP (acetabulum+lemur) 35 (51 %) tkáň 33 (48 %) stěr – pozitivita v 1 vzorku 48 (70 %) – stejný mikroorganismus ve 2 a více vzorcích 32 (46 %)
Staph. epidermidis	10 (38 %)	+	21 (44 %)
Staph. aureus	2 (7,7 %)	+	2 (4 %)
Ostatní koaguláza negativní stafylokoky	6 (23 %)	+	9 (19 %)
Streptococcus	1 (3,8 %)	+	1 (2 %)
Enterococcus			2 (4 %)
Peptostreptococcus			1 (2 %)
Tyčky	0	–	36 (75 %)
Anaerobi	19 (73%) 2	+	37 (77%)
Více mikroorganismů zachycených od jednoho pacienta	6 (23 %)	3 (25 %)	21 (44 %)

*Poznámka: „TYČKY“ v našem souboru: Corynebacterium species, Ralstonia Picketii, Bacillus species; + znamená zachyceny, ale není znám počet, – znamená nezachyceny, výsledek není k dispozici.*

malé obtíže, a tedy i obtížná diagnostika jsou při periprotetické infekci těmito mikroorganismy charakteristické (28).

Problém dle našeho názoru vyvstává při snaze o odlišení kontaminace od skutečného infektu či kolonizace implantátu. Problematiku výskytu kontaminace při implantaci TEP analyzoval ve své práci Davis (3). Ve své práci odebral celkem 755 vzorků při 100 primárních alopplastikách kolenního a kyčelního kloubu na čistém sále v s laminárním prouděním a zjistil kontaminaci minimálně jednoho vzorku při 63 operacích, tj. v 63 %, dvou a více vzorků v 28 %, kultivace trvaly pouze 48 hodin. Operace ve zcela aseptickém prostředí lze ve světle této studie označit za iluzi.

Vzhledem k posloupnosti, v jakém jsme vzorky odebírali (tj. prvním byl stěr z artrotomie, následoval vzorek pseudokapsuly, poté byla odstraněna femorální komponenta, dále jamka, následovaly odběry vzorků periprotetické tkáně a nakonec vzorky tkáně pod femorální komponentou), by se dal očekávat nárůst případné kontaminace úměrně dle pořadí odebraných vzorků, výsledky tomu však spíše nenasvědčují (stěr 47,8 %, femorální komponenta 36 %, acetabulární komponenta 40 %, vzorky tkáně 50,7 % pozitivních nálezů – viz tabulky 2–5). Přičemž vysoká četnost pozitivního kultivačního nálezu ze vzorku tkáně je způsobena tím, že se jedná o vzorky odebírané v průběhu celého odstraňování komponent TEP (tj. z pseudokapsuly, periprotetické tkáně pod jamkou i femorální komponentou). Dalším faktem vylučujícím skutečnost, že se jedná pouze o kontaminující mikroorganismy jsou hodnoty CRP a FW,

které byly výrazně vyšší u skupiny s fenotypicky stejným mikroorganismem zachyceným ve dvou a více vzorcích. Vždy je však třeba zvažovat i jiný důvod elevací těchto hodnot (především u uroinfektů, revmatických onemocnění, dně).

Dle četnosti zachycených mikroorganismů z jednotlivých druhů odebíraných vzorků se v našem souboru nepodařilo jednoznačně prokázat výraznější přínos sonikace komponent. Je zde však patrný častější záchyt koaguláza negativních stafylokoků na acetabulární komponentě, která byla ve většině případů z polyetyleny, což svědčí pro atraktivnost tohoto semikrystalického povrchu pro tento typ mikroorganismů oproti ocelovým femorálním komponentám (viz tabulka 2, 3). Podobný výskyt koaguláza negativních stafylokoků jako z acetabulární komponenty byl zjištěn ve vzorcích odebraných z periprotetické tkáně a ze stěru z artrotomie (viz tabulka 4, 5).

U peroperační biopsie byla zjištěna senzitivita 62,5 % a specificita 91 %, což odpovídá rozsahu uváděnému v literatuře, který je 18–100 %, nicméně většina studií dosahuje senzitivity 80–85 % a specificity 90–95 %. Nižší senzitivitu přičítáme na vrub možnému kultivačnímu záchytu subklinických infekcí, které nevyvolávaly dostatečnou buněčnou odezvu, aby splnily diagnostická kritéria pro histopatologickou diagnostiku infekce, a možným falešně pozitivním mikrobiologickým nálezům.

V našem souboru byl odebírána větší počet vzorků na mikrobiologické vyšetření. Literární údaje týkající se počtu odebraných vzorků na mikrobiologické vyšetření

jsou u jednotlivých autorů odlišné. Počet odebraných vzorků tkáně se dle literatury obvykle pohybuje kolem 5, v některých speciálních případech i 10 a více (22, 28). Více vzorků zajistí vyšší senzitivitu tohoto vyšetření, ale přinese i více falešně pozitivních výsledků (22), které je třeba následně eliminovat. Navíc je odběr většího počtu vzorků logisticky náročnější a výsledek může být snadno zatížen sériovou chybou – postupnou kontaminací (pokud nebudeme při každém odběru používat nový nástroj).

Definice periprotetické infekce, tak jak byla použita pro potřeby této studie (dva a více vzorků s pozitivním nálezem fenotypicky stejného mikroorganismu), se jeví jako insuficientní. Díky rychlému a kvalitnímu mikrobiologickému zpracování a odložené aplikaci ATB profylaxe jsme dosáhli dobré senzitivity, nicméně však na úkor specificity. Eliminace falešně pozitivních výsledků si vyžádá definici infekce TEP posílit laboratorními, histologickými, radiologickými a klinickými kritérii (9, 15). Pravděpodobně však ani senzitivita této definice nebyla absolutní, mimo náš soubor jsme stejnou metodikou prováděli reimplantaci u pacienta revmatika, který po implantaci TEP měl zcela normální laboratorními markery, hraniční byla jen hodnota dle náběru CRP 9–13 mg/l, kde při opakovaných revizních operacích kolenního kloubu byl zjištěn pozitivní kulturační nález, vždy pouze ve vzorcích ze sonikátu jedné z komponent TEP (vždy tedy jen jeden vzorek). Jednalo se o *Staphylococcus hemolyticus*, který postupně s léčbou a reoperacemi nabýval na rezistenci. Na rtg se po operačním výkonu po několika měsících začala objevovala radio-lucentní zóna pod tibiální komponentou, která však výrazněji neprogredovala. Pacient si subjektivně vždy stěžoval na pálivou bolest v kloubní šterbině prakticky vznikající bezprostředně po operačním výkonu. Zde se při retrospektivním hodnocení zjevně jednalo o mitigo-vaný infekt, který byl vždy zachycen jen díky sonikaci komponent TEP.

Efekt použití rutinní prolongované aerobní a anaerobní kultivace vyplývá z tabulek 2–5, kdy bez prolongované kultivace by nebylo zachyceno 40–75 % mikroorganismů a bez anaerobní 27–49 % anaerobů (dle typu vzorku).

V současné době se jeví jako neoptimálnější řešení, při jakémkoliv podezření na infekci TEP (elevace CRP, FW, suspektní rtg nález, klidové a noční bolesti, časný nástup potíží po primoinplantaci) se pokusit již předoperačně identifikovat mikroorganismus pomocí punkce kloubu (někdy i opakovaně). To umožní časnou diagnostiku infektu již před operačním výkonem s tím, že následná cílená a časná léčba nám zajistí lepší výsledek (11). Slibná se zdají být např. tzv. „Liestalská kritéria“ postulovaná na základě klinických studií (15), která dle klinického nálezu a výsledků cytologického a mikrobiologického vyšetření punktátu určují další postup léčby infektu. S tímto názorem jsou ve shodě i jiní autoři, kteří referují podobné postupy (9). V případě obtížně kultivovatelných mikroorganismů či již podaných ATB může pomoci PCR diagnostika (6).

## ZÁVĚR

Námi prezentovaná metoda rozšířené diagnostiky infekce nám detekovala větší počet pozitivních kulturačních výsledků, pomohla nám ozřejmit některé skryté a subklinické infekce TEP, nicméně nám též přinesla větší počet falešně pozitivních výsledků, které nebylo možné za použití námi stanovené definice periprotetické infekce jednoznačně vyselektovat.

V souladu s doporučením ostatních autorů, navrhuje-me hodnotit výsledky mikrobiologických kulturačních nálezů a všech dostupných testů laboratorních a histopatologických vyšetření komplexně.

## Literatura

1. BAUER, T. W., PARVIZI, J., KOBAYASHI, N., KREBS, V.: J. Bone Jt Surg., 88-A: 869–882, 2006.
2. COVENTRY, M. B.: Treatment of infections occurring in total hip surgery. Orthop. Clin. N. Amer., 6: 991–1003, 1975.
3. DAVIS, N., CURRY, A., GAMBHIR, A. K., PANIGRAHI, H., WALKER, C. R., WILKINS, E. G., WORSLEY, M. A., KAY P. R.: Intraoperative bacterial contamination in operations for joint replacement. J. Bone Jt Surg., 81-B: 886–889, 1999.
4. ESTRADA, R., TSUKAYAMA, D. T., GUSTILO, R. G.: Management of THA infections. A prospective study of 108 cases. Orthop. Trans., 17: 1114–1115, 1993–1994.
5. GALLO, J., MRÁZEK, F., PETŘEK, M.: BMC Med. Genet., 10: 109, 2009.
6. GALLO, J., SAUER, P., DENDIS, M., LOVEČKOVÁ, Y., KOLÁŘ, M., ZAPLETALOVÁ, J., JANOUT, V.: Molekulární diagnostika infekcí kloubních náhrad. Acta Chir. orthop. Traum. čech., 73: 85–91, 2006.
7. GALLO, J., SMIŽANSKÝ, M., KOLÁŘ, M.: Recidiva nebo reinfekce TEP kyčelního kloubu? Příspěvek k diskusi o patogenezi periprotetické infekce. Acta Chir. orthop. Traum. čech., 76: 243–246, 2009.
8. GALLO, J., SMIŽANSKÝ, M., RADOVÁ, L., POTOMKOVÁ, J.: Porovnání léčebných postupů používaných v terapii infekce kloubních náhrad kyčle a kolena. Acta Chir. orthop. Traum. čech., 76: 302–329, 2009.
9. GHANEM, E., PARVIZI, J., STEHEN, R., BURNETT, J., SHARKEY, P. F., KESHAVARZI, N., AGGARWAL, A., BARRACK, R. L.: Cell Count and Differential of Aspirated Fluid in the Diagnosis of Infection at the Site of Total Knee Arthroplasty. J. Bone Jt Surg., 90-A: 1637–1643, 2008.
10. GREENFIELD, E. M., BI, Y., FAGAN, A. A., GOLDBERG, V. M., NALEPKA, J. L., SEABOLD, J. M.: Does endotoxin contribute to aseptic loosening of orthopedic implants? J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater., 72: 179–185, 2005.

11. JAHODA, D., POKORNÝ, D., NYČ, O., BARTÁK, V., HROMÁDKA, R., LANDOR, I., SOSNA, A.: Acta Chir. orthop. Traum. čech., 75:422–428, 2008.
12. KRBEČ, M., ČECH, O., DŽUPA, V., PACOVSKÝ, V., KLÉZL, Z.: Infekční komplikace totální náhrady kyčelního kloubu. Acta Chir. orthop. Traum. čech., 71: 179–188, 2004.
13. LANDOR, I., VAVŘÍK, P., JAHODA, D.: Obecné principy léčby infekce kloubních náhrad. Acta Chir. orthop. Traum. čech., 72: 183–191, 2005.
14. LONNER, J. H., DESAI, P., DICESARE, P. E., STEINER, G., ZUCKERMAN, J. D.: The reliability of analysis of intraoperative frozen sections for identifying active infection during revision hip or knee arthroplasty. J. Bone Jt Surg., 78-A:1553–1558, 1996.
15. MAURER, T. B., OCHSNER, P. E.: Infected knee arthroplasty. A treatment algorithm at the Kantonsspital Liestal, Switzerland. Orthopäde, 35: 917–918, 920–928, 2006.
16. NALÉPKA, J. L., LEE, M. J., KRAAY, M. J., MARCUS, R. E., GOLDBERG, V. M., CHEN, X., GREENFIELD, E. M.: Clin. Orthop., 451:229–235, 2006.
17. PEERSMAN, G., LASKIN, R., DAVIS, J., PETERSON, M.: Infection in total knee replacement. A retrospective review of 6489 total knee replacements. Clin. Orthop., 392: 15–23, 2001.
18. PETRUŠKA, J., DURČANSKÝ, D., MAKAREVIČ, E., KUBOVIČOVÁ, E., PIVKO, J.: Morfologicko-funkční charakteristika periartikulárního tkaniva po endoprotéze bedrového kloubu: histologické, cytochemické a elektronmikroskopické aspekty. Acta Chir. orthop. Traum. čech., 75: 375–381, 2008.
19. PILNÁČEK, J., BÉBROVÁ, E.: Komplexní bakteriologické vyšetření při revizních operacích. 6. národní kongres ČSOT, Praha, 2002.
20. POKORNÝ, D., ŠLOUF, M., HORÁK, Z., JAHODA, D., ENTLICHER, G., EKLOVÁ, S., SOSNA, A.: Metodika sledování distribuce otěrových částic UHMWPE v okolních tkáních u TEP kyčelního kloubu. Acta Chir. orthop. Traum. čech., 73: 243–250, 2006.
21. SEGAWA, H., TSUKAYAMA, D. T., KYLE, R. F.: Infection after total knee arthroplasty. A retrospective study of the treatment of eighty-one infections. J. Bone Jt Surg., 81-A: 1434–1445, 1999.
22. SCHÄFER, P., FINK, B., SANDOW, D., MARGULL, A., BERGER, I., FROMMELT, L.: Prolonged bacterial culture to identify late periprosthetic joint infection: a promising strategy. Clin. Infect. Dis., 47:1403–1409, 2008.
23. TOMÁŠ, T.: Pacient – rizikový faktor infekce totální endoprotézy. Acta Chir. orthop. Traum. čech., 75: 451 – 456, 2008.
24. TOMÁŠ, T., PAZOUŘEK, L.: Periprotetický infekt–biofilmový aspekt. Ortopedie, 1: 13–18, 2008.
25. TUNNEY, M. M., PATRICK, S., GORMAN, S. P., NIXON, J. R., ANDERSON, N., DAVIS, R. I., HANNA, D., RAMAGE, G.: Improved detection of infection in hip replacements. A currently underestimated problem. J. Bone Jt Surg., 80-B: 568–572, 1998.
26. VAVŘÍK, P., LANDOR, I., JAHODA, D.: Zkušenosti s léčbou infektu aloplastiky kolenního kloubu. Acta Chir. orthop. Traum. čech., 67:121–127, 2000.
27. WATNICK, P., KOLTER, R.: Biofilm, city of microbes. J. Bacteriol., 182:2675–2679, 2000.
28. ZAPPE, B., GRAF, S., OCHSNER, P. E., ZIMMERLI, W., SENDI, P.: Propionibacterium spp. in prosthetic joint infections: a diagnostic challenge. Arch. Orthop. Trauma Surg., 28: 1039–1046, 2008.

MUDr. Karel Koudela, Ph.D.  
KOTPÚ FN Plzeň Lochotín  
Alej Svobody 80  
304 60 Plzeň  
Tel. 377103942  
E-mail: k.koudela@seznam.cz

Tato studie byla podpořena grantem MSM 0021620819.