

Dagmara Strzelec-Nowak^{1*}, Agnieszka Bogut¹, Justyna Niedźwiadek¹,
Maria Koziół-Montewka¹, Agnieszka Sikora¹

¹Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, ul. Chodźki 1, 20-093 Lublin

Wpłynęło w lipcu 2012 r.

1. Wstęp. 2. Diagnostyka. 3. Obluzowanie aseptyczne. 4. Obluzowanie septyczne. 5. Subpopulacje SCV. 6. Biofilm bakteryjny. 7. Hodowla bakteriologiczna. 8. Sonikacja. 9. Płyn stawowy. 10. Okołooperacyjna profilaktyka. 11. Podsumowanie

Microbiological diagnostics of prosthetic hip joint infections

Abstract: A prosthetic hip joint loosening – septic or aseptic, is a consequence of a host defence against a foreign body material. Aseptic loosening is connected with small wear debris peeling of from material the implant is composed of. Prosthetic hip joint infection is one of the most serious complications of hip arthroplasty, which is associated with biofilm growing on the implant's surface and the presence of small colony variants (SCV) of microorganisms. Culture of microorganisms from removed orthopedic implants combined with sonication is simple and useful method to differentiate aseptic type of loosening from bacterial infection. Another simple way is to estimate synovial fluid leukocyte count and percentage of neutrophils. All the mentioned methods, distinguishing two types of implant loosening, are very important in order to administer the appropriate antimicrobial treatment.

1. Introduction. 2. Diagnostics. 3. Aseptic failure. 4. Prosthetic joint infection. 5. SCV subpopulation. 6. Bacterial biofilm. 7. Microbiological culture. 8. Sonication. 9. Synovial fluid. 10. Perioperative prophylaxis. 11. Summary

Słowa kluczowe: obluzowanie aseptyczne, obluzowanie septyczne, płyn stawowy, proteza, sonikacja

Key words: Aseptic failure, Prosthetic joint infection, synovial fluid, prosthesis, sonication

1. Wstęp

Skonstruowanie protezy stawu biodrowego to jeden z najważniejszych etapów w rozwoju chirurgii ortopedycznej. Sztuczny wszczep poprawia jakość życia pacjentów cierpiących z powodu bólu w obrębie stawu pozwalając na normalne funkcjonowanie. Pierwotna wymiana stawu biodrowego uwalnia pacjenta od bólu i niedogodności w dość krótkim czasie. Operacje kolejne, tzw. rewizyjne ze względu na ponowną ingerencję chirurgiczną charakteryzują się znacznie obniżoną efektywnością w stosunku do zabiegów pierwotnych [32]. Mimo wielu istotnych zalet, zabiegi protezoplastyki obciążone są jednak dużym ryzykiem komplikacji. Do niedawna za główną przyczynę braku stabilności protezy uznawano podłoże aseptyczne polegające na złuszczeniu cząsteczek materiałów z których wykonana jest proteza, co prowadzi do osteolizy w obrębie implantu. Coraz częściej mówi się jednak o infekcyjnej przyczynie obluzowania, czyli zakażeniu w obrębie stawu [5, 15].

2. Diagnostyka

Do podstawowych metod diagnostycznych u pacjentów z obluzowaniem protezy stawu biodrowego możemy zaliczyć: diagnostykę obrazową, humoralną i bakteriologiczną. Diagnostyka obrazowa to badania scyntygra-

ficzne pozwalające na ocenę aktywności przemian kostnych we wczesnym okresie obluzowania oraz badania rentgenowskie, pozwalające na rozpoznanie obluzowań późnych. Dodatkowo uzupełnieniem wymienionych jest tomografia komputerowa. Powyższe metody nie dają jednak całkowitej pewności w kwestii różnicowania typu obluzowania protezy. Więcej informacji dostarcza wykonanie USG stawu biodrowego – obrazuje ono płyn stawowy z obecnością krwiaka (we wczesnym okresie po operacji) lub treści ropnej (w późnym okresie po operacji). Badania humoralne pozwalają na ocenę odpowiedzi immunologicznej organizmu, poprzez aktywność przeciwciał oraz innych związków i czynników pojawiających się w odpowiedzi na antygen. Najczęściej stosowaną metodą mikrobiologiczną jest klasyczny posiew na podłożach hodowlanych. Ze względu na trudności w różnicowaniu typu obluzowania nadal trwają badania nad opracowaniem szybkiej, prostej i bezpiecznej metody identyfikacji okołoprotezowej infekcji [24, 41].

3. Obluzowanie aseptyczne

Definicja obluzowania aseptycznego oparta jest na braku objawów klinicznych zakażenia u pacjenta, takich jak przetoka czy naciek zapalny tkanek miękkich oraz na ujemnych wynikach hodowli z zastosowaniem konwencjonalnych metod diagnostyki mikrobiologicznej.

* Autor korespondencyjny: e-mail: dagmara.strzelec@gmail.com

Osteoliza stanowiąca długotrwałą dysfunkcję protezy związana jest z nagromadzeniem w przestrzeni pomiędzy implantem a kością drobin zużycia, które stanowią cel dla komórek układu immunologicznego gospodarza – makrofagów. Makrofagi w odpowiedzi na ciało obce uwalniają liczne mediatory reakcji zapalnej, które stymulują resorpcję kości przy udziale osteoklastów. W wyniku prowadzonej przez makrofagi fagocytozy dochodzi do powstania ziarniniakowej warstwy tkankowej lub błony. Nagromadzenie cząstek powoduje powiększanie się ziarniny z jednoczesnym zanikiem naczyń krwionośnych i powstającymi zmianami martwiczymi. Jeśli ziarnina osiąga rozmiary powodujące rozerwanie torebki stawowej proces zapalny rozprzestrzenia się również poza staw. Mikrocząsteczki materiału z którego wykonana jest proteza mogą mieć wielkość od kilku nanometrów do kilku milimetrów – te neutralizowane są przez fagocytozę przy udziale osteoblastów, fibroblastów lub makrofagów, bądź mniejsze: od 0,05 do 1 μm – te eliminowane są na drodze pinocytozy lub fagocytozy [14, 19, 32]. Najmniejsze cząsteczki są najczęściej rozpuszczalne, charakteryzuje je również możliwe toksyczne działanie na organizm gospodarza. Są one absorbowane w stawie, gromadzone w węzłach chłonnych lub rozprzestrzeniane w organizmie wraz z krwią, np. kobalt, chrom, nikiel, które w konsekwencji mogą prowadzić do groźnych powikłań jak nowotwory, nefropatia, krwotoki [7, 32, 33].

4. Obluzowanie septyczne

Coraz częściej pojawiają się opinie mówiące o tym, że obluzowania typowo aseptyczne zdarzają się rzadko, gdyż ujemne wyniki standardowej hodowli, będące, jak wspomniano wyżej, jednym z podstawowych kryteriów branych pod uwagę w diagnozowaniu obluzowań aseptycznych, wcale nie wykluczają obecności mikroorganizmów na elementach protezy oraz w materiale tkankowym znajdującym się w najbliższym jej sąsiedztwie [15, 21].

Charakterystycznym objawem infekcji okołoprotezowej jest ból w okolicy stawu oraz widoczne w obrazie radiologicznym obluzowanie, któremu nie towarzyszą typowe objawy infekcji.

Źródłem zakażenia implantów stawu biodrowego może być szereg czynników. Po pierwsze zanieczyszczenie tkanek chorego podczas zabiegu chirurgicznego czynnikami egzogennymi. Mimo przestrzegania zasad aseptycznego postępowania oraz działań antybakteryjnej profilaktyki okołoprotezowej podczas zabiegu mikroorganizmy mogą dostawać się do otwartych ran z flory bytującej okresowo na nożach chirurgicznych, rękawicach, uchwytach lamp operacyjnych. Bardzo często źródłem zakażenia jest powietrze w sali operacyjnej zwłaszcza system klimatyzacyjny, ilość osób na sali,

czas trwania zabiegu. Nie bez znaczenia są wykonywane zabiegi dożylnego podawania leków i płynów krwiozastępczych. Do czynników pochodzenia endogenego na pierwszym miejscu należy wskazać występujące u pacjenta przewlekłe zakażenia np. przyzębia, układu moczowego, pokarmowego czy skóry oraz wszelkie zmiany prowadzące do upośledzenia odporności. Zdolność bakterii do bytowania w skórze oraz zasiedlania tkanek głębokich organizmu może być przyczyną rozwoju infekcji w wyniku dostania się patogenów przez mikro- i makrouszkodzenia skóry. Szczególnie groźne jest rozprzestrzenianie się bakterii wraz z chłonką, zwłaszcza z dystalnych części kończyn u pacjentów po zabiegu operacyjnym u których mogło dojść do uszkodzenia przedwężłowych naczyń chłonnych [34].

„Ciała obce” dla organizmu jak protezy stawowe, są szczególnie podatne na kolonizację bakteryjną, ponieważ są one pozbawione mikrokrążenia, które pełni bardzo ważną rolę w działaniu mechanizmów obronnych układu immunologicznego organizmu gospodarza oraz w dostarczaniu terapeutycznych dawek antybiotyków [37, 42]. Ta zwiększona podatność na zakażenia związane z obecnością protez stawowych związana jest też z tzw. lokalnym defektem granulocytarnym. Aktywacja neutrofilów obserwowana na powierzchni wszczepionych biomateriałów powoduje uwalnianie z ludzkich neutrofilów peptydów, które przyczyniają się do inaktywacji granulocytów. Należy jednak zaznaczyć, że do infekcji może dojść nie tylko podczas zabiegu operacyjnego, ale podczas całego okresu pozostawiania implantu w organizmie pacjenta [42].

U pacjentów po zabiegach rewizji implantu stawu biodrowego najczęściej izolowanymi drobnoustrojami są Gram-dodatnie ziarniaki, mianowicie gronkowce koagulazo-ujemne CNS (*coagulase-negative staphylococci*), *Staphylococcus aureus*, paciorkowce oraz enterokoki. Są one czynnikami etiologicznymi ok. 65% zakażeń okołoprotezowych [8, 9, 12]. Szacuje się, że ogółem gronkowce CNS stanowią 30–43% mikroorganizmów związanych z patogenezą infekcji endoprotez, zaś gronkowiec złocisty jest czynnikiem etiologicznym 12–23% tego typu zakażeń [38, 42].

Tlenowe pałeczki Gram-ujemne, takie jak *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* i *Pseudomonas aeruginosa* odpowiedzialne są za ok. 6% zakażeń. Kolejną grupę drobnoustrojów stanowią beztlenowce, włączając bakterie z rodzaju *Propionibacterium*; ich udział w etiologii zakażeń okołoprotezowych sięga 4%. Grzyby odpowiedzialne są za ok. 1% infekcji endoprotez stawu biodrowego i kolanowego. Należy również wspomnieć, że 4–27% zakażeń okołoprotezowych ma charakter mieszany, a w około 7% wyniki hodowli pozostają ujemne, pomimo wystąpienia objawów klinicznych sugerujących infekcyjny charakter dysfunkcji endoprotezy, takich jak treść ropna w obrębie protezy, ostry stan zapalny tkanek znajdujących się

w sąsiedztwie implantu widoczny w obrazie histopatologicznym lub obecność przetoki [4, 8].

Innym typem obłuzowania jest typ pozornie aseptyczny – wywołany przez cząsteczki materiału złuszczone z protezy, lecz posiadające na swojej powierzchni LPS bakteryjny. Droga ta nie jest do końca zbadana i poznana, a więc jest trudna do wykrycia [15].

5. Subpopulacje SCV

Trudności diagnostyczne zakażeń okołoprotezowych jako przyczyny obłuzowań, wynikają głównie z obecności na powierzchni lub w najbliższym sąsiedztwie implantu drobnoustrojów trudnych do wykrycia i eradykacji, np. w postaci biofilmu, w tym także obecności subpopulacji drobnoustrojów SCV (*small colony variants*). Jest to szczególnie istotne, ponieważ prawidłowe rozróżnienie między zakażeniem a obłuzowaniem aseptycznym pozwala na określenie rodzaju dalszego postępowania terapeutycznego. Małe warianty kolonii tzw. SCV są występującymi naturalnie subpopulacjami bakteryjnymi o nietypowych, wyróżniających się cechach wyrażanych fenotypowo, takich jak powolny wzrost, tworzenie bardzo drobnych kolonii, odmiennych morfologicznie od kolonii charakterystycznych dla szczepów o fenotypie dzikim oraz swoiste właściwości biochemiczne, a także znaczną opornością na antybiotyki (aminoglikozydy, sulfametoksazol-trimetoprim). Ta odmienność form SCV jest główną przyczyną problemów w hodowli oraz identyfikacji. Subpopulacje SCV cechują się również nietypową właściwością – mogą bytować wewnątrz komórek gospodarza, takich jak komórki nabłonka, śródbłonna, co zapewnia im ochronę przed działaniem układu immunologicznego gospodarza, a zwłaszcza takich jego składników jak przeciwciała czy elementy układu dopełniacza. SCV mogą powstawać w wyniku spontanicznej selekcji podczas przebiegu zakażenia, są jednak stosunkowo niestabilne i mogą ulegać rewersji do fenotypu „normalnego”, charakteryzującego się szybkim wzrostem. Odmienny potencjał patogenny form SCV sprawia, że zakażenie ma zazwyczaj charakter przewlekły, latentny lub nawracający. Szczególną cechą charakteryzującą SCV jest auktotrofia wobec takich związków jak hemina, metadion, tiamina, tymidyna. W konsekwencji powoduje to zaburzenie oksydacyjnej fosforylacji oraz powstanie ATP w wyniku zakłócenia transportu elektronów [22, 29–31].

6. Biofilm bakteryjny

Bakterie rosnące w postaci biofilmu chronione są przed działaniem leków antibakteryjnych oraz mechanizmami odpornościowymi układu immunologicznego

organizmu gospodarza. Wynika to między innymi ze spowolnienia tempa wzrostu mikroorganizmów, które przechodząc w tzw. stacjonarną fazę wzrostu wskutek niewystarczającej penetracji substratów metabolicznych, takich jak glukoza czy tlen prowadzą do nagromadzenia końcowych produktów przemiany materii. Bakterie tworzące biofilm osadzone są na polimerowej macierzy o ujemnym ładunku, która ogranicza dyfuzję dużych cząsteczek, takich jak leki przeciwbakteryjne, enzymy, czy składniki dopełniacza. Ponadto niektóre subpopulacje bakterii mogą różnicować się do form zbliżonych do bakteryjnych spor, co powoduje wzrost oporności na antybiotyki. Wspomniane cechy bakterii w biofilmie, zwłaszcza oporność na antybiotyki powoduje zmniejszoną penetrację leków do wnętrza komórek, dzięki czemu stosowanie terapii antybiotykami nie zawsze przynosi terapeutyczne wyniki jakie obserwuje się przy zwalczaniu drobnoustrojów nie tworzących biofilmu.

Żywotność sztucznych stawów, w tym protez stawów biodrowych zależy od tak zwanego zjawiska – *race for the surface*, czyli zależności między tempem adhezji i wzrostem drobnoustrojów w postaci biofilmu a integracją tkankową implantu. Tuż po implantacji powierzchnia protezy zostaje pokryta warstwą białek surowicy krwi oraz płytek krwi. Albumina – główny białkowy składnik surowicy – ulega szybkiemu zdeponowaniu na powierzchni implantu, zapobiegając niespecyficznemu aktywacji neutrofilów i osadzaniu się białek macierzy zewnątrzkomórkowej na biomateriale [1, 16, 40]. Warto wspomnieć, że gronkowce, które są najczęstszymi czynnikami etiologicznymi zakażeń okołoprotezowych, wytwarzają adhezyny MSCRAMMs, które wykazują zdolność wiązania białek macierzy pozakomórkowej, takich jak fibronektyna, fibrynogen, fibryna, kolagen, laminina, witronektyna, trombospondyna, elastyna, sialoproteina kości. W wyniku interakcji wspomnianych białek z komórkami bakterii ulegają one adhezji do powierzchni implantu [25, 40]. Nawiązując do wspomnianego „wyścigu o powierzchnię” można stwierdzić, że bakteryjna kolonizacja powierzchni zostaje zatrzymana wówczas, gdy komórki gospodarza – makrofagi i fibroblasty „okażą się silniejsze” i szybciej zadziałają. Jeśli natomiast mechanizmy obronne okażą się wolniejsze od tempa bakteryjnej adhezji powierzchnia implantu zostanie bardzo szybko pokryta biofilmem. Zaburzenie swoistej homeostazy między układem immunologicznym a adhezją bakterii prowadzi do osteolizy i zaburzeń w zrastaniu się kości [1, 35]. Mechanizmy wirulencji bakterii m.in. toksyny uniemożliwiają prawidłowe funkcjonowanie komórek odpowiedzialne są za brak integracji implantu i naturalnych elementów stawu doprowadzając w konsekwencji do obłuzowania wszczepu. Ponieważ „przyjmowanie się” protezy jest procesem długotrwałym, stąd jeśli komórki bakteryjne

dostaną się do organizmu pacjenta podczas zabiegu operacyjnego zwiększa się prawdopodobieństwo powstania biofilmu. W konsekwencji mikroorganizmy mają dużą szansę przeżycia w obrębie biofilmu, nawet jeśli ulegają ekspozycji na leki przeciwbakteryjne. Prowadzi to do rozwoju przewlekłej reakcji zapalnej [16].

7. Hodowla bakteriologiczna

Podstawową metodą kwalifikacji typu obluźowania są wyniki hodowli mikrobiologicznej materiałów pobranych od pacjenta. Materiałami mogą być: płyn stawowy, ziarnina, wymieniane elementy protezy (przy operacjach rewizyjnych), ale też mięśnie i tkanki otaczające implant. Ze względu na różnorodność mikroorganizmów hodowla prowadzona jest na różnych podłożach i w różnych warunkach hodowlanych. Najczęściej wykorzystuje się podłoża takie jak: podłoże Chapmana, podłoże MacConkey, podłoże Sabouraud, podłoże Casmana, podłoże BHI.

W celu hodowli powinno pobierać się przynajmniej trzy fragmenty tkanek i, o ile to możliwe, należy zaprzestać antybiotykoterapii na co najmniej dwa tygodnie przed planowanym zabiegiem [3, 37]. Inne źródła rekomendują pobranie 5 lub 6 próbek tkanek co pozwala osiągnąć wymaganą czułość i specyficzność hodowli [2] biorąc pod uwagę niewielką liczbę komórek drobnoustrojów w tego typu materiałach. Zalecana jest również przedłużona (trwająca do 14 dni) hodowla materiałów klinicznych, w celu zwiększenia detekcji czynników etiologicznych infekcji okołoprotezowych [28]. Drobnoustroje jak gronkowce, paciorkowce, enterokoki, czy *Enterobacteriaceae*, charakteryzują się wzrostem na podłożach hodowlanych w ciągu pierwszego tygodnia inkubacji, ale drobnoustroje takie jak *Propionibacterium acnes* wymagają dłuższego czasu hodowli i ich wzrost uzyskiwany jest z reguły w ciągu drugiego tygodnia inkubacji materiałów tkankowych. Materiały tkankowe powinny być inkubowane warunkach tlenowych i bez-tlenowych; hodowle w kierunku grzybów i mykobakterii nie muszą być stosowane rutynowo; powinny być raczej zarezerwowane dla sytuacji szczególnych. Izolacja wirulentnego drobnoustroju, takiego jak gronkowiec złocisty, może świadczyć o aktywnym procesie infekcyjnym [26].

Metoda hodowli materiałów na tradycyjnych podłożach mikrobiologicznych nie zawsze daje wyniki pozytywne co związane jest ze wspomnianym już biofilmem. Bakterie w takiej postaci są trudniejsze do izolacji, ze względu na formułowaną przez nie „swoistą”, niemal nierozzerwalną niszę [9, 41].

Stąd jedną ze skutecznych metod coraz częściej stosowaną do rozbijania biofilmu i izolacji pojedynczych komórek bakteryjnych jest działanie ultradźwiękami w procesie zwanym sonikacją [13, 17, 36].

8. Sonikacja

Sonikacja polega na działaniu ultradźwięków w kąpieli wodnej na elementy protezy usunięte podczas zabiegu rewizji, umieszczone w jałowych pojemnikach. Proces wzbogacony jest o kilkukrotny etap worteksowania zwiększającego ilość pęcherzyków powietrza wzmacniających zjawisko kawitacji czyli pozwalającego na odrywanie fragmentów biofilmu z powierzchni. Płyn sonikacyjny może być wykorzystany do założenia hodowli bakteryjnej oraz analiz molekularnych [13, 17, 23, 36].

Metoda sonikacji połączona z hodowlą uzyskanego w tym procesie płynu, jest jedną z metod zalecanych w diagnostyce zakażeń okołoprotezowych, ze względu na wysoką czułość w porównaniu z tradycyjną hodowlą materiałów tkankowych pobieranych śródoperacyjnie. Mimo wielu zalet tej metody, pewnym ograniczeniem jest wrażliwość niektórych żywych bakterii na ultradźwięki. Wynika to ze stresu jakiemu poddawane są *in vivo* podczas usuwania i transportu protezy do laboratorium, w porównaniu do szczepów typowo laboratoryjnych pozbawionych wrażliwości na ultradźwięki. Być może wynika to także z silnej adaptacji „biofilmowych” bakterii do warunków panujących w tym specyficznym „ekosystemie”, tak że zastosowanie podłoży odżywczych i procedur diagnostycznych mających na celu ich izolację, może nie zapewniać warunków wystarczających dla wzrostu w warunkach *in vitro*. Ponadto, rozcieńczenie ważnych bakteryjnych molekuł sygnałowych, takich jak laktonów N-acyl homoserynowych w przypadku bakterii Gram-ujemnych oraz feromonów peptydowych w przypadku bakterii Gram-dodatnich, których krytyczne stężenia są kluczowe dla bakteryjnego wzrostu, może stanowić o trudnościach napotykanych przy próbach ich izolacji z materiałów klinicznych. Bakterie rosnące przez długi czas w postaci biofilmu – chronione przed działaniem układu immunologicznego organizmu gospodarza, mogą wykazywać zmniejszone zdolności adaptacyjne do nowych warunków zewnętrznych [18, 39].

Hodowla materiałów tkankowych oraz płynu stawowego pobieranych śródoperacyjnie stosowane samodzielnie charakteryzują się niewielką czułością. Uzupełnienie zatem tych metod etapem wstępnej sonikacji stanowi cały proces diagnostyczny dokładniejszym i skuteczniejszym, pozwalając na wykrycie drobnoustrojów związanych zarówno z powierzchnią implantu jak i bytujących w jego sąsiedztwie [23, 36, 37, 38].

9. Płyn stawowy

Bardzo ważnym materiałem diagnostycznym jest płyn stawowy. Mimo iż badanie płynu wykonuje się głównie w przebiegu chorób reumatycznych jak reumatoidalne zapalenie stawów, jego analiza mikroskopowa

pozwała w prosty i szybki sposób zróżnicować typ septyczny obłuzowania od aseptycznego.

Płyn, określaný jako „płynna tkanka łączna” stanowi środowisko stawu, dostarczając substancji odżywczych dla chrząstki stawowej a także nadając jej śliskość oraz pełni funkcje amortyzujące pracę stawu. Jest to mieszanina składników osocza – elektrolitów, cukru, kwasu moczowego, białek i kwasu hialuronowego oraz związków wytwarzanych w stawie. Komórkami jakie można znaleźć w płynie są głównie monocyty (30–70%), limfocyty (25–30%), granulocyty obojętnochłonne (6–25%), a także makrofagi, komórki LE, synowioocyty, plazmocyty, fibroblasty, oraz liczne kryształki np. moczanu sodowego, pirofosforanu wapniowego, apatyty, szczawiany wapniowe, krople cholesterolu, lipidy .

Płyn fizjologiczny ma barwę słomkową lub żółtą, jest przejrzysty, uszkodzenie naczyń krwionośnych podczas pobierania lub uraz z krwawieniem do jamy stawowej powoduje krwistoczerwone zabarwienie płynu. Zabarwienie mleczne świadczy o nagromadzeniu się lipidów lub kryształów, natomiast o infekcji bakteryjnej – zabarwienie zielonkawe, lub szare. Możemy wyróżnić 3 typy płynu stawowego:

- niezapalny,
- zapalny,
- septyczny.

Płyn stawowy pobierany jest poprzez nakłucie stawu lub śródoperacyjnie podczas zabiegu chirurgicznego do jałowych probówek – z antykoagulantem EDTA oraz bez antykoagulantu. Analiza powinna być wykonana jak najszybciej, najlepiej do 4 h od pobrania, ze względu na spadek ilości neutrofilów – po 24 h przechowywania aktywność spada o 31%, po 72 h już o 78%. Płyn bez antykoagulantu przeznaczony jest do badań bakteriologicznych na tradycyjnych podłożach hodowlanych, natomiast z EDTA do badań mikroskopowych, tj. oznaczenie liczby leukocytów wraz z wykonaniem rozmazu barwionego metoda May-Grunwald-Giemsa i określeniem % składu komórek, zwłaszcza granulocytów obojętnochłonnych oraz wykonania preparatów: bezpośredniego i barwionego metodą Grama [10, 43].

Oznaczanie liczby leukocytów oraz procentowego udziału neutrofilów w płynie stawowym jest wstępną, szybką, prostą i dokładną metodą ułatwiającą różnicowanie obłuzowań aseptycznych i zakażeń okołoprotezowych. Granulocyty obojętnochłonne stanowią pierwszą linię obrony organizmu w przypadku infekcji bakteryjnej, i to właśnie one jako pierwsze pojawiają się w miejscu toczącego się procesu zapalnego. W literaturze można spotkać różne wartości progowe wskazujące na proces infekcyjny, najczęściej pojawiającą się wartością cut off jest 1700 leukocytów/ μ l płynu stawowego i 65% neutrofilów, co charakteryzuje się czułością rzędu odpowiednio 94% i 97% oraz specyficznością rzędu 88% i 98% [10, 37, 41, 44].

10. Okołooperacyjna profilaktyka

Zabiegi ortopedyczne obok zabiegów chirurgicznych w obrębie jamy brzusznej obarczone są największą liczbą okołooperacyjnych zakażeń [20]. Trudności w leczeniu okołoprotezowych infekcji stawu biodrowego związane są nie tylko z formowaniem się biofilmu ale przede wszystkim opornością bakterii na stosowane antybiotyki. Okołooperacyjna profilaktyka antybiotykowa powinna zostać wstrzymana do momentu pobrania materiałów tkankowych do hodowli – ekspozycja na antybiotyki może prowadzić bowiem do fałszywie ujemnych wyników [3, 35, 37]. W szpitalach praktykowane jest podawanie pacjentowi antybiotyków 24-godziny przed reoperacją, w wielu przypadkach nie zapewnia to jednak eliminacji bakterii [35]. Rozważając odpowiedni schemat leczenia antybiotykami należy brać pod uwagę takie właściwości jak stopień penetracji antybiotyku, spektrum jego działania, czy skuteczność. Stąd podczas zabiegów rewizyjnych polecane jest stosowanie w miejscu operowanym gąbki kolagenowej zawierającej 200 mg siarczanu gentamycyny, o właściwościach bakteriobójczych wobec bakterii Gram-dodatnich oraz Gram-ujemnych. Gentamycyna należąca do naturalnych antybiotyków produkowana jest przez *Micromonospora purpurea*. Wykazuje działanie hamujące biosyntezę białek bakteryjnych, zwłaszcza u takich bakterii jak pałeczki Gram-ujemne, gronkowce oraz prątki gruźlicy [6, 11, 27].

Podanie miejscowe gąbki pozwala na uzyskanie wyższych stężeń gentamycyny w tkance kostnej, płynie stawowym i otaczających tkankach niż droga doustna. Jest to szczególnie ważne w przypadku tych drobnoustrojów, które charakteryzują się wyższym wskaźnikiem MIC a które to najczęściej odpowiadają za okołoprotezowe infekcje. Efekt działania gąbki widoczny jest już po kilku godzinach i utrzymuje się przez kilka dni po zabiegu. Stężenie gentamycyny jest wysokie, lecz nie wywołuje efektu toksycznego, jest więc wolne od działań niepożądanych. Istotną cechą jest samoistne wchłanianie się kolagenowej gąbki oraz zawartej w niej gentamycyny w sposób parenteralny gdyż antybiotyk ten nie ulega wchłanianiu po podaniu doustnym [20, 27].

11. Podsumowanie

Obluzowanie implantów stawów biodrowych to główne następstwo zabiegów protezoplastyki. W zależności od przyczyny może ono przebiegać na drodze septycznej bądź aseptycznej. Formowanie biofilmu na powierzchni wszczepu oraz obecność trudno wykrywalnych małych wariantów kolonii SCV to podstawowe przyczyny septycznej drogi obłuzowania. Naturalne złuszczenie się cząstek materiału z którego wykonana jest proteza wskutek codziennego „użytkowania” prowadzi

do osteolizy a ta do obluzowania aseptycznego implantu. Bardzo istotne z punktu wdrożenia odpowiedniego leczenia jest rozróżnienie typu obluzowania, stąd w ostatnich latach prowadzone są poszukiwania prostych i szybkich testów diagnostycznych. Jednym z nowocześniejszych jest poddawanie pobranych od pacjenta materiałów procesowi sonikacji tak aby rozbić ewentualny biofilm i zwiększyć prawdopodobieństwo dodatknej hodowli, która w stosunku do materiałów nie poddanych temu procesowi nie zawsze pozwala na wykrycie obecności drobnoustrojów.

Piśmiennictwo

- Arciola C.R.: Still stuck in the slime. *Int. J. Artif. Organs*. **31**, 749–751 (2008)
- Atkins B.L., Athanasou N., Deeks J.J.: Prospective evaluation of criteria for microbiological diagnosis of prosthetic-joint infection at revision arthroplasty. *J. Clin. Microbiol.* **36**, 2932–2939 (1998)
- Bauer T.W., Parvizi J., Kobayashi N., Krebs V.: Current Concepts Review. Diagnosis of periprosthetic infection. *J. Bone Joint Surg.* **88-A**, 869–882 (2006)
- Berbari E.F., Marculescu C., Sia I., Lahr B.D., Hanssen A.D., Steckelberg J.M., Gullerud R., Osmon D.R.: Culture-negative prosthetic-joint infection. *Clin. Infect. Dis.* **45**, 1113–1119 (2007)
- Blacha J.: Wpływ procesów obluzowania sztucznych stawów biodrowych i operacji rewizyjnych na miejscowy i systemowy poziom wybranych cytokin i wskaźników wzrostu. Rozprawa habilitacyjna, Katedra i Klinika Ortopedii i Traumatologii, Uniwersytet Medyczny Lublin 2008
- Bratzle D.W., Hunt D.R.: The surgical infection prevention and surgical care improvement Project: national initiatives to improve outcomes for patients having surgery. *Clin. Infect. Dis.* **3**, 322–330 (2006)
- Chen F.S., Scher D.M., Clancy R.M., Vera-Yu A., Di Cesare P.E.: In vitro and in vivo activation of polymorphonuclear leukocytes in response to particulate debris. *J. Biomed. Mater. Res.* **48**, 904–912 (1999)
- Cobo J., Del Pozo J.L.D.: Prosthetic joint infection: diagnosis and management. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* **9**, 787–802 (2011)
- Del Pozo J.L., Patel R.: Infection associated with prosthetic joints. *N. Engl. J. Med.* **361**, 787–794 (2009)
- Dougados M.: Synovial fluid cell analysis. *Bailliere's Clin. Rheumatol.* **10**, 519–534 (1996)
- Dzierżanowska D.: Antybiotykoterapia praktyczna. Alfa-medica press, Bielsko Biala 2008
- Esposito S., Leone S.: Prosthetic joint infections: microbiology, diagnosis, management and prevention. *Int. J. Antimicrob. Agents*, **32**, 287–293 (2008)
- Esteban J., Gomez-Barrena E., Cordero J., Martín-de-Hijas N.Z., Kinnari T.J., Fernandez-Roblas R.: Evaluation of quantitative analysis of cultures from sonicated retrieved orthopedic implants in diagnosis of orthopedic infection. *J. Clin. Microbiol.* **46**, 488–492 (2008)
- Hallab N.J., Jacob J.J.: Biologic effects of implant debris. *Bull. NYU Hosp. Jt. Dis.* **67**, 182–188 (2009)
- Hoenders C.C.S.M., Harmsen M.C., van Luyn M.J.: The local inflammatory environment and microorganisms in "aseptic" loosening of hip prostheses. *J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater.* **86**, 291–301 (2008)
- Hogdall D., Hvolris J.J., Christensen L.: Improved detection methods for infected hip joint prostheses. *APMIS*, **118**, 815–823 (2010)
- Holinka J., Bauer L., Hirschl A.M., Granninger W., Windhager R., Presterl E.: Sonication cultures of explanted components as an add-on test to routinely conducted microbiological diagnostics improve pathogen detection. *J. Orthopaedic Res. Apr.* **29**, 617–622 (2011)
- Ince A., Rupp J., Frommelt L., Katzer A., Gille J., Löhr J.F.: Is "aseptic" loosening of the prosthetic cup after Total hip replacement due to nonculturable bacterial pathogens in patients with low-grade infection? *Clin. Infect. Dis.* **39**, 1599–1603 (2004)
- Ingham E., Fisher J.: The role of macrophages in osteolysis of total joint replacement. *Biomaterials*, **26**, 1271–1286 (2005)
- Jaworska-Gromaszek I., Kozioł-Montewka M., Niedźwiadek J., Ligęza J., Rudzki S., Mazurkiewicz T.: Skuteczność gąbki kolagenowej zawierającej 200 mg siarczanu gentaminy w profilaktyce i leczeniu zakażeń miejsca operowanego. *Sepsis*, **3**, 93–96 (2010)
- Marczyński W., Białecki J., Rapała K., Lachowicz W., Warzocha A.: Przyczyny septycznego obluzowania protez stawów biodrowych. *Sepsis*, **3**, 105–108 (2009)
- Melter O., Radojević B.: Small colony variants of *Staphylococcus aureus* – review. *Folia Microbiol.* **55**, 548–558 (2010)
- Monsen T., Lovgren E., Widerstrom M., Wallinder L.: In vitro effect of ultrasound on bacteria and suggested protocol for sonication and diagnosis of prosthetic infections. *J. Clin. Microbiol.* **47**, 2496–2501 (2009)
- Niedźwiadek J., Kozioł-Montewka M., Strzelec-Nowak D., Bogut A., Blacha J., Mazurkiewicz T., Marczyński W., Rak J., Macias J.: Mikrobiologiczne i immunologiczne przyczyny septycznego i aseptycznego obluzowania implantów stawu biodrowego. *Sepsis*, **4**, 197–203 (2011)
- O'Gara J.P.: *ica* and beyond: biofilm mechanisms and regulation in *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiol. Lett.* **270**, 179–188 (2007)
- Parvizi J., Segreti J. et al.: New definition for periprosthetic joint infection. *J. Arthroplasty*, **26**, 1136–1138 (2011)
- Patzlaff M.M.: Clinical appraisal of collagen-gentamicin implant. P.S.S.T November, 1–70 (2001)
- 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)
- Sendi P., Frei R., Maurer T.B., Trampuz A., Zimmerli W., Graber P.: *Escherichia coli* variants in periprosthetic joint infection: diagnostic challenges with sessile bacteria and sonication. *J. Clin. Microbiol.* **48**, 1720–1725 (2010)
- Sendi P., Proctor R.A.: *Staphylococcus aureus* as an intracellular pathogen: the role of small colony variants. *Trends Microbiol.* **17**, 54–58 (2008)
- Sendi P., Rohrbach M., Graber P., Frei R., Ochsner P., Zimmerli W.: *Staphylococcus aureus* small colony variants in prosthetic joint infection. *Clin. Infect. Dis.* **43**, 961–967 (2006)
- Słomiński J.: Aseptyczne obluzowanie panewki protezy stawu biodrowego. Rozprawa habilitacyjna, Klinika Ortopedii, Warszawski Instytut Medyczny, Warszawa 2006
- Szarek A.: Ocena zużycia metalowych głów endoprotez stawu biodrowego usuniętych z organizmu ludzkiego z powodu aseptycznego obluzowania. *Inż. Biomater.* **11**, 6–10 (2008)
- Szczęśny G., Babiak I., Kowalewski M., Górecki A.: Septyczne obluzowania protez stawów biodrowego i kolanowego. *Chir. Narządów Ruchu Ortop. Pol.* **70**, 179–184 (2005)

35. Trafny E.A.: Rola bakterii w zakażeniach w ortopedii. *Sepsis*, **2**, 123–127 (2009)
36. Trampuz A, Patel R. i wsp.: Sonication of removed hip and knee prostheses for diagnosis of infection. *N. Eng. J. Med.* **357**, 654–663 (2007)
37. Trampuz A., Widmer A.F.: Infections associated with orthopedic implants. *Curr. Opinion Infect. Dis.* **19**, 349–356 (2006)
38. Trampuz A., Zimmerli W.: Prosthetic joint infections: update in diagnosis and treatment. *Swiss Med. Wkly.* **135**, 243–251 (2005)
39. Tunney M.M., Patrick S., Curran M.D., Ramage G., Hanna D., Nixon J.R., Gorman S.P., Davis R.I., Anderson N.: Detection of prosthetic hip infection at revision arthroplasty by immunofluorescence microscopy and PCR amplification of the bacterial 16S rRNA gene. *J. Clin. Microbiol.* **37**, 3281–3290 (1999)
40. Widmer A.: New developments in diagnosis and treatment of infection in orthopedic implants. *Clin. Infect. Dis.* **33** (Suppl. 2), S94–106 (2001)
41. Zimmerli W.: Prosthetic-joint-associated infections. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, **20**, 1045–1063 (2006)
42. Zimmerli W., Trampuz A., Ochsner P.E.: Prosthetic joint infections. *N. Engl. J. Med.* **351**, 1645–1654 (2004)
43. Zimmermann-Górska I., Białkowska-Puszczewicz G., Puszczewicz M.: Badanie płynu stawowego, Skrypt dla studentów analityki medycznej. Poznań 1997
44. Zmistowski B., Restrepo C., Huang R., Hozack W.J., Parvizi J.: Periprosthetic joint infection diagnosis: A complete understanding of white blood cell count and differential. *J. Arthroplasty* **Apr. 27** (2012)