

Joanna Nowicka<sup>1\*</sup>, Marzenna Bartoszewicz<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra i Zakład Mikrobiologii, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu,  
ul. Chałubińskiego 4, 50-368 Wrocław

Wpłynęło w marcu 2014 r.

1. Wstęp. 2. Zakażenia związane z wytwarzaniem biofilmu. 3. Czynniki ryzyka powikłań infekcyjnych związane ze stosowaniem biomateriałów. 3.1. Czynniki związane z pacjentem. 3.2. Czynniki związane z zabiegiem operacyjnym. 4. Podział zakażeń wokół implantów. 5. Najczęstsze czynniki etiologiczne zakażeń związanych ze stosowaniem biomateriału. 5.1. *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* i inne CNS. 5.2. *Pseudomonas aeruginosa*. 5.3. *Propionibacterium acnes*. 5.4. *Streptococcus pyogenes*. 5.5 *Candida albicans*. 6. Rozpoznanie infekcji związanych ze stosowaniem biomateriałów. 7. Profilaktyka antybiotykowa okołoperacyjna. 8. Podsumowanie

### Orthopedic surgery infections related to the use of biomaterials

**Abstract:** In spite of recent advances in diagnostics and therapy, musculoskeletal infections still remain a huge problem. Etiological agents of infections associated with the use of biomaterials on orthopedic and surgical orthopedic wards are often the microbes included in the patient's own flora and these commonly found in hospitals. The present paper discusses the risk factors and most common etiological agents of these types of infections.

1. Introduction. 2. Infections associated with biofilm formation. 3. Risk factors for complications following biomaterial-related infections. 3.1. Patient-related factors. 3.2. Surgical procedure-related factors. 4. Infections classified with regard to implants. 5. The most common etiological agents of infections associated with the use of biomaterial. 5.1. *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* and other CNS. 5.2. *Pseudomonas aeruginosa*. 5.3. *Propionibacterium acnes*. 5.4. *Streptococcus pyogenes*. 5.5 *Candida albicans*. 6. Detection of biomaterial-associated infections. 7. Perioperative antibiotic prophylaxis. 8. Summary

**Key words:** biofilm, biomaterials, orthopedic surgery infections

**Słowa kluczowe:** biofilm, biomateriały, zakażenia na oddziale ortopedycznym

## 1. Wstęp

Implantacja „elementów obcych” czyli biomateriałów do organizmu pacjenta stanowi podstawę leczenia na oddziałach urazowo-ortopedycznych.

Biomateriał to substancja albo kombinacja różnych substancji (syntetycznych lub naturalnych), która może być użyta w celu uzupełnienia lub zastąpienia tkanek narządu ruchu w celu usprawnienia ich funkcji. Może więc służyć do wytworzenia implantów, czyli umieszczonych, częściowo lub całkowicie, pod powierzchnią nabłonka przyrządów medycznych. Implant pozostający przez różny czas w organizmie człowieka, może składać się z jednego lub kilku biomateriałów [41, 67, 70].

Stosowanie w ortopedii implantów, różnego rodzaju, w wielu przypadkach umożliwia normalne funkcjonowanie pacjentów. Infekcje i stany zapalne kości i stawów dotyczą milionów ludzi na całym świecie. U osób powyżej 50-tego roku życia tego rodzaju infekcje stanowią ponad połowę wszystkich chorób przewlekłych [54]. Dla osób cierpiących np. z powodu zwyrodnienia stawu biodrowego, zastąpienie własnego stawu sztucznym czyli wprowadzenie implantu stawu biodrowego uwalnia chorego od ogromnych dolegliwości bólowych i daje szansę na poprawę standardu życia [35, 69].

Należy jednak pamiętać, o tym że tego rodzaju zabiegi niosą ze sobą ryzyko powikłań infekcyjnych.

Częstość powikłań uzależniona jest od rodzaju zabiegu. Dane literaturowe pokazują, że po endoprotezoplastyce biodra wynoszą poniżej 1% (choć niektórzy autorzy podają że od 2–3%) [69], po alloplastyce kolana poniżej 2%, geoplastyce około 10–40%, operacji zespolenia złamania zamkniętego w granicach 8–9% a po operacji zespolenia otwartego około 10% [3, 25]. Powikłania po zabiegach z pilnych wskazań są częstsze (~10%) niż po zabiegach planowanych (0,5–2,5%) [24]. W przypadku zabiegów planowanych kwalifikacja do zabiegu operacyjnego i badanie chorego odbywają się na długo przed (kilka miesięcy) zabiegiem co daje możliwość właściwej oceny stanu ogólnego chorego, przeprowadzenie odpowiednich konsultacji (reumatologicznej, diabetologicznej itp.) czy wyleczenia istniejących infekcji [69]. Do zabiegu planowanego chory jest w stanie się odpowiednio przygotować co zmniejsza ryzyko powikłań infekcyjnych.

Co ważne, zakażenia w okolicy wprowadzonych implantów ortopedycznych, często wywołane przez własną florę organizmu pacjenta, związane są przede wszystkim z wytworzeniem struktur biofilmu na powierzchni biomateriału. Tego typu zakażenia mogą pro-

\* Autor korespondencyjny: Katedra i Zakład Mikrobiologii, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, ul. Chałubińskiego 4, 50-368 Wrocław; tel. (71) 784 12 97; fax.71 784 01 17; e-mail: joanna.nowicka@umed.wroc.pl

wadzić do przedłużonej antybiotykoterapii, reoperacji, utraty kończyny a nawet do śmierci pacjenta [7].

Dane literaturowe pokazują, że obecnie grupą biomateriałów dość szeroko stosowaną w ortopedii są metale i stopy metali: stal austeniczna (głównie chromowo-niklowo-molibdenowa), tytan i stopy tytanu (Ti6Al4V oraz Ti6Al7Nb), czy stopy z pamięcią kształtu. Swoje zastosowanie mają również materiały kompozytowe, materiały ceramiczne czy materiały węglowe (warstwy diamentowe i diamentowopodobne). Dosyć ciekawą grupą materiałów są materiały resorbowalne, tzw. polimery resorbowalne [67, 30]. Warto zaznaczyć, że podejmowane są próby tworzenia nowych biomateriałów, które nie będą podatne na adhezję drobnoustrojów albo dokonuje się modyfikacji powierzchni już tych istniejących z zastosowaniem różnych związków o działaniu przeciwdrobnoustrojowym [5, 61].

## 2. Zakażenia związane z wytwarzaniem biofilmu

Bakterie przystosowały się do życia na powierzchni implantów w wielokomórkowej strukturze otoczonej warstwą substancji organicznych i nieorganicznych. Obecnie wiele drobnoustrojów jest zdolna do wytworzenia struktur biofilmu stwarzając sobie idealne warunki do bytowania w ustroju gospodarza. Bakterie żyjące pod postacią tej „zorganizowanej społeczności” chronione są przed mechanizmami obronnymi ustroju gospodarza (zaburzone procesy chemotaksji, opsonizacji, fagocytozy, zahamowana blastogeneza komórek B i T) czy penetracją związków o działaniu przeciwdrobnoustrojowym, szczególnie antybiotyków [43, 62].

Wytworzenie struktury biofilmu zależy w dużej mierze od zdolności adhezyjnych drobnoustroju, rodzaju biomateriału ale także od integracji implantu z tkanką (np. kostną) czyli odpowiedzi organizmu na wprowadzony biomateriał. Proces integracji jest złożony i kilkietapowy. Ważnym wydaje się adsorpcja białek – jak fibronektyna, witronektyna, osteopontyna, sialoproteiny kości, trombospontyna, kolagen typu I – na implancie, która zachodzi po kontakcie implantu z płynami ustrojowymi. Szczególną rolę odgrywają tutaj białka matrix zewnątrzkomórkowego, które umożliwiają adhezję osteoblastów i fibroblastów i znacznie wpływają na proces osteointegracji [1, 37]. Niektóre drobnoustroje mają zdolność wiązania białek macierzy zewnątrzkomórkowej i tym samym adherowania do biomateriału. Odbywa się więc specyficzny rodzaj konkurencji o powierzchnię implantu, która zachodzi między osteoblastami, fibroblastami i mikroorganizmem. Wygrana tych pierwszych doprowadzi do zahamowania adhezji bakterii, wygrana mikroorganizmów prowadzi do wytworzenia biofilmu [24, 63], co sprzyja utrzymaniu się drobnoustrojów w miejscu zakażenia

i może zaburzyć proces osteointegracji (tworzenie połączeń kość – powierzchnia implantu) [4, 71].

Tworzenie biofilmu to proces złożony, zapoczątkowany przyleganiem bakterii do „sztucznej powierzchni”. Pierwszy, odwracalny etap adhezji zapoczątkowany jest zbliżaniem się drobnoustrojów do biomateriału na odległość mniejszą niż 1 nm. Biorą w nim udział siły fizyczne, hydrofobowe, napięcia powierzchniowego czy wiązania van der Waalsa [6, 14]. W „fazie unieruchomienia” – drugi, nieodwracalny etap – zachodzi wiązanie zewnątrzkomórkowych struktur bakterii z odpowiednimi białkowymi receptorami komórkowymi. W kolejnych fazach następuje pobudzenie zaadherowanych mikroorganizmów do rozmnażania (trzeci etap) i wytwarzanie zewnątrzkomórkowego śluzu (czwarty etap) czyli substancji o charakterze polimerów, co w konsekwencji prowadzi do wytworzenia struktur biofilmu [6, 73]. Niektóre mikroorganizmy opuszczają utworzony biofilm, kolonizują inną powierzchnię dążąc do wytworzenia struktur biofilmu w zupełnie innym, nowym miejscu [6], co może prowadzić do zakażeń narządowych i ogólnoustrojowych [43].

Infekcje okołoprotezowe i wytworzenie struktur biofilmu mogą doprowadzić do procesu obłuzowania protezy, będący konsekwencją osteolizy tkanki kostnej w najbliższym sąsiedztwie biomateriału [64]. Za taki stan odpowiedzialne są zaktywowane, przez cytokiny, osteoklasty. W ich aktywacji ważną rolę odgrywają, między innymi, wydzielane w odpowiedzi na infekcję bakteryjną interleukina-1 czy czynnik martwicy nowotworów [64]. Istotne są również wydzielane przez drobnoustroje substancje, szczególnie zewnątrzkomórkowe (LPS, leukotoksyny, cytolizyny), które poprzez oddziaływanie na komórki układu immunologicznego ustroju gospodarza mogą doprowadzić do zapalnego procesu ropnego [64].

Postępujące zakażenie w okolicy implantu może niszczyć kość w miejscu kontaktu z implantem, najczęściej poprzez rozwój ziarniny zapalnej [24].

Najczęstsze objawy infekcji toczonej się w okolicy wprowadzonego biomateriału to ból stawu, obecna treść ropna i stan zapalny tkanek w okolicy implantu, obecność przetoki, gorączka, w badaniu RTG widoczne obłuzowanie [63]. Czasami jedynym objawem jest ból stawu czy obłuzowanie protezy [27]. Septyczne obłuzowanie protezy wydłuża proces leczenia, może doprowadzić do wymiany lub usunięcia endoprotezy, amputacji kończyny czy nawet śmierci pacjenta [64].

## 3. Czynniki ryzyka powikłań infekcyjnych związane ze stosowaniem biomateriałów

Częstość zakażeń mających związek ze stosowaniem biomateriałów zależy w dużej mierze od czynników zależnych od pacjenta ale również z wykonywanym

zabiegiem, a tu szczególnie istotne są właściwe przygotowanie pacjenta (głównie pola operacyjnego) przed zabiegiem, oraz właściwe przygotowanie operatora [38].

### 3.1. Czynniki związane z pacjentem

Nie bez znaczenia jest ogólny stan fizjologiczny pacjenta (waga, wiek, niedożywienie lub otyłość, palenie papierosów). Zmniejszona wydolność układu immunologicznego u osób starszych (powyżej 65 roku życia) sprzyja zakażeniom. Podobnie wpływa stan odżywienia i waga pacjenta: niedożywienie czy otyłość czynią organizm bardziej podatny na powikłania infekcyjne poprzez zaburzoną syntezę kolagenu i białek biorących udział w mechanizmach odpornościowych ustroju gospodarza [59]. Skąpe unaczynienie tkanki tłuszczowej uwalniającej cytokiny prozapalne sprzyja zakażeniom jak również niski poziom albuminy w surowicy będący wyznacznikiem ciężkiego niedożywienia [23].

Istotne są również choroby towarzyszące, takie jak zaburzenia metaboliczne. Cukrzyca trzykrotnie zwiększa ryzyko zakażenia [8, 23]. Kontrola poziomu cukru w trakcie zabiegu operacyjnego może być kluczowa dla zapobiegania powikłaniom infekcyjnym [8]. James i wsp. wykazali, że otyłość jak i cukrzyca zwiększają ryzyko infekcji okołoprotezowych. Badacze zanalizowali 7181 przypadków operacji pierwotnej wymiany stawu biodrowego i kolanowego przeprowadzonych z powodu choroby zwyrodnieniowej stawów. Częstość infekcji okołoprotezowych była większa u osób z nadwagą (4,66%) w porównaniu do osób z normalną masą ciała (0,37%). Zaobserwowano także, że u osób z przedoperacyjnym poziomem glukozy  $\geq 6,9$  mmol/L tego rodzaju infekcje występowały częściej niż u osób z poziomem glukozy  $< 6,9$  mmol/L [28]. Cukrzyca zdiagnozowana podczas zabiegu operacyjnego około dwukrotnie zwiększała ryzyko infekcji, przy czym częściej infekcje występowały u pacjentów poddanych wymianie stawu kolanowego niż biodrowego [28].

Choroby nowotworowe, leczenie immunosupresyjne czy inne choroby zaburzające funkcjonowanie układu immunologicznego osłabiają znacznie odporność ustroju gospodarza [59]. Ponadto wyżej wymienione choroby mogą zmieniać stan odżywienia komórek (w okolicy rany) częściowo przez obniżenie perfuzji tkankowej [59]. Obniżenie ciśnienia parcjalnego tlenu w tkankach (poniżej 30 mmHg) sprzyja rozwojowi zakażenia poprzez osłabienie aktywności makrofagów i leukocytów [38].

Powikłaniom sprzyjają choroby reumatoidalne (reumatoidalne zapalenie stawów), choroby tkanki łącznej czy naczyń włosowatych. Nie bez znaczenie są również niewydolność wątroby czy nerek [3]. Endoprotezoplastyka u pacjentów w schyłkowej niewydolności nerek wiąże się z dużym ryzykiem powikłań co

wynika z zaburzeń wodno-elektrolitowych, zaburzeń metabolicznych, towarzyszących chorób układu krążenia i zaburzonemu funkcjonowaniu układu immunologicznego czyli większej podatności na infekcje [60].

Palenie tytoniu zaburza funkcjonowanie układu immunologicznego, zarówno mechanizmów odporności humoralnej jak i komórkowej. Należy pamiętać o tym, że choroby przewlekłe, będące konsekwencją długotrwałego palenia, zwiększają ryzyko różnych powikłań (układu krążenia, nerwowego, oddechowego), mogą także zaburzyć proces gojenia się ran [46], głównie poprzez obniżoną zdolność hemoglobiny do przeniesienia tlenu [23]. Palenie papierosów zwiększa częstość infekcji ran pooperacyjnych pacjentów oddziałów ortopedycznych (po zabiegach operacyjnych) w porównaniu do osób niepalących [46], osoby palące są bardziej podatne na zakażenia bakteryjne i wirusowe [57]. Abstynencja w paleniu papierosów przed zabiegiem operacyjnym obniża ryzyko powikłań infekcyjnych [23].

Nasell i wsp. przeprowadzili analizę częstości powikłań infekcyjnych pacjentów (906) poddanych leczeniu operacyjnemu z powodu ostrego złamania kostki. Podział pacjentów na palących i niepalących pokazał sześciokrotnie wyższe prawdopodobieństwo wystąpienia zakażenia rany po zabiegu operacyjnym u palaczy [40]. Lubbeke i wsp. wykazali silny związek pomiędzy paleniem papierosów i rewizją po całkowitej endoprotezoplastyce stawu biodrowego. Autorzy przyjmując dwa kryteria: rodzaj endoprotezy (z metalowym i ceramiczno-polietylenowym łożyskiem) oraz palenie papierosów, wykazali, że rewizja w przypadku endoprotez z metalowym łożyskiem była 4x wyższa u palaczy w porównaniu do pacjentów niepalących. Wykazano wysoką zależność pomiędzy paleniem a uszkodzeniem endoprotezy ale tylko z metalowy łożyskiem. Takiej zależności nie wykazano w przypadku łożyska ceramiczno-polietylenowego [34].

Ogromny wpływ na zakażenia po wprowadzeniu ciała obcego mogą mieć infekcje toczące się w organizmie pacjenta np. zakażenie układu moczowego, infekcje zębów, dziąseł, zatok, skóry. Może dojść do translokacji drobnoustrojów i wywołania zakażenia w miejscu operowanym, nawet jeżeli infekcja dotyczy narządu odległego od rany operacyjnej [66]. Bardzo niebezpieczne są procesy przewlekłe toczące się w okolicy skóry kończyn, które to niszczą barierę ochronną, jaką jest skóra, stanowią wrota wnikania dla drobnoustrojów bytujących na skórze ale także tych pochodzących ze środowiska [69]. Jeśli podczas zabiegu operacyjnego doszło do uszkodzenia przedwężłowych naczyń chłonnych, transportowane, do okolicznych węzłów chłonnych, wraz z chłonką, drobnoustroje są „zagrożeniem” dla implantu [69].

Nosicielstwo *S. aureus* w przedsionku nosa ma znaczenie w pooperacyjnych powikłaniach. Szacunkowo

ocenia się, że w Polsce 20–40% populacji to nosiciele *S. aureus*, wśród personelu medycznego odsetek ten jest jeszcze większy i może sięgać nawet 90% [66].

Chorzy u których stwierdzono obecność gronkowca złocistego w przedsionku nosa muszą być poddani eradycji *S. aureus* z zastosowaniem maści mupirocynowej, a każda infekcja powinna być wyleczona.

Kolonizacja szczepami szpitalnymi (przy długiej hospitalizacji) może mieć istotny wpływ na zakażenie. Skóra jest podatna na osiedlanie się flory przejściowej co w przypadku „układu” pacjent-środowisko szpitalne może mieć kluczowe znaczenie. Bakterie wchodzące w skład flory przejściowej, a pochodzące ze środowiska szpitalnego, są odporne na antybiotyki, często wielooporne. Źródłem drobnoustrojów są, w tym przypadku głównie środowisko ale także personel czy inni pacjenci. Już po 48 h skóra chorego jest kolonizowana przez drobnoustroje środowiska szpitalnego a ryzyko wystąpienia zakażenia wzrasta wraz z wydłużeniem się czasu pobytu pacjenta w szpitalu przed zabiegiem [59].

Pedersen i wsp. analizując czynniki ryzyka infekcji po endoprotezoplastyce stawu biodrowego wykazali zwiększoną częstość infekcji u mężczyzn. Często ze względu na większy stopień urazu chirurgicznego i martwicy tkanek mężczyźni są bardziej narażeni na infekcję aniżeli kobiety. Współistnienie u mężczyzn takich chorób jak udar, choroby wątroby, cukrzyca, rak zwiększa ryzyko zakażenia protezy stawu biodrowego [48].

### 3.2. Czynniki związane z zabiegiem operacyjnym

Niewątpliwie bardzo istotnym czynnikiem mającym wpływ na zakażenia jest właściwe, lub bardziej należałoby powiedzieć, niewłaściwe przygotowanie pola operacyjnego.

Częstymi czynnikami etiologicznymi zakażeń związanych z wprowadzeniem biomateriałów są drobnoustroje wchodzące w skład flory fizjologicznej pacjenta, zarówno stałej jak i wspomnianej wcześniej flory przejściowej. *S. epidermidis* wiedzie tutaj prym i wymieniany jest jako jeden z najczęstszych czynników etiologicznych tego typu zakażeń. Skórę człowieka pokrywają drobnoustroje w ilości  $10^2$ – $10^6$  kom/cm<sup>2</sup>. Bakterie tlenowe i względnie beztlenowe pokrywają warstwę rogową naskórka, bakterie beztlenowe dominują w głębszych warstwach mieszków włosowych i gruczołów łojowych. Antyseptyka skóry jest konieczna ponieważ doprowadza do zmniejszenia liczby drobnoustrojów ale należy pamiętać o tym, że nie usunie stałej flory pacjenta całkowicie. Proces odnowy flory fizjologicznej skóry może stanowić problem przy zabiegach długotrwałych, wielogodzinnych, z którymi często mamy do czynienia na oddziałach ortopedycznych [66, 39]

Dzień przed zabiegiem i w dniu operacji pacjent powinien zażyć kąpieli całego ciała z zastosowaniem preparatów do dezynfekcji skóry [45].

Czynnikiem sprzyjającym zakażeniom może być zbyt wczesne mechaniczne usuwanie owłosienia przed zabiegiem operacyjnym [59]. Jest ono konieczne, może jednak sprzyjać wnikaniu drobnoustrojów obecnych na skórze pacjenta czy z rąk personelu poprzez tworzenie mikrouszkodzeń skóry. Sprzyja także rozwojowi zakażeń skóry. Usuwanie owłosienia powinno się odbyć w dniu zabiegu, tuż przed operacją. Im więcej czasu minie od momentu usunięcia owłosienia do wykonania zabiegu operacyjnego tym ryzyko zakażenia będzie większe (tuż przed operacją – ryzyko zakażenia rzędu 3%; więcej niż 24 h przed zbiegiem operacyjnym – ryzyko zakażenia 20%) [8]. Niektórzy autorzy zamiast golenia, zalecają depilację (najlepiej chemiczną) lub strzyżenie [59].

Właściwe „przygotowanie operatora” do zabiegu operacyjnego, a szczególnie mycie chirurgiczne rąk, to kolejna ważna kwestia w temacie zakażeń. Dłonie operatora to ważne „źródło” drobnoustrojów wywołujących zakażenia miejsca operowanego, dlatego zbyt krótkie i niewłaściwe mycie rąk zwiększa ryzyko zakażenia [8]. Chirurgiczne mycie rąk powinno być prowadzone najlepiej z użyciem alkoholowego płynu do dezynfekcji rąk o przedłużonym działaniu.

Ponieważ szacunkowo 25% rękawiczek ulega rozszczelnieniu już po 20 minutach trwającego zabiegu operacyjnego, według WHO, należy również zmieniać rękawiczki w trakcie operacji po 2–3 godzinach [38, 8].

Zabieg operacyjny, szczególnie długotrwały, podwyższa ryzyko zakażenia tym bardziej jeżeli towarzyszy temu utrata dużej ilości krwi. Tkanka niedotleniona, martwicza to idealne miejsce do namnażania się drobnoustrojów, szczególnie beztlenowych [59, 72]. Poza tym wraz z wydłużaniem się czasu trwania zabiegu operacyjnego rośnie ryzyko zanieczyszczenia rany drobnoustrojami [59], które mogą pochodzić, np. z sali operacyjnej (system klimatyzacyjny może być źródłem drobnoustrojów), od operatorów i innych członków wchodzących w skład zespołu operującego (nie bez znaczenia jest ilość osób na sali operacyjnej) czy narzędzi chirurgicznych (np. nóż chirurgiczny) [23, 63, 64].

Warto może zaznaczyć, że dostanie się drobnoustrojów na ranę nie jest równoznaczne z infekcją ale tylko wtedy kiedy prawidłowo działa układ immunologiczny. Zaburzone funkcjonowanie mechanizmów obronnych ustroju gospodarza może doprowadzić do rozwinięcia pełnoobjawowego zakażenia [69].

### 4. Podział zakażeń wokół implantów

Zakażenia ujawniające się do miesiąca od zabiegu operacyjnego określamy mianem wczesnych (ostrzych), ujawniające się do 2 lat od zabiegu – późnych (przewlekłych), natomiast te które ujawniają się powyżej 2 lat od zabiegu operacyjnego określane są jako późne, krwiopochodne [4, 66]. Za zakażenia wczesne odpowiedzialne

są drobnoustroje pochodzące najczęściej ze środowiska, zanieczyszczające implanty (np. endoprotezę czy śruby do zespolenia kości) w trakcie trwającego zabiegu operacyjnego (zakażenia egzogenne, zewnątrzpochodne). Za zakażenia późne często odpowiedzialne są drobnoustroje pochodzące z innych ognisk infekcji organizmu człowieka, np. infekcji układu moczowego (zakażenia endogenne, wewnątrzpochodne). Infekcje późne, krwiopochodne często ujawniają się po długim czasie odpowiedniego funkcjonowania implantu [4].

Podział na zakażenia ostre, przewlekłe i powolne (późne) opiera się na nasileniu objawów klinicznych podczas zakażenia [4]. Infekcja późna to rodzaj zakażenia przewlekłego (słabo zaznaczone objawy kliniczne infekcji) z objawami powolnego obłuzowania endoprotezy [66]. Zakażenie wczesne charakteryzuje się dobrze zarysowanymi objawami (przetoka drenująca, rozejście się rany, zaburzone gojenie rany, ból stawu, podwyższona temperatura) i na ogół nie jest trudne do rozpoznania. W przeciwieństwie do zakażeń o charakterze przewlekłym, w którym, z powodu zmienionego metabolizmu bakterii bytujących w strukturze biofilmu, objawy są nietypowe, niespecyficzne a także słabo zaznaczone (np. ból stawu) [27, 66].

## 5. Najczęstsze czynniki etiologiczne zakażeń związanych ze stosowaniem biomateriału

Tego typu infekcje najczęściej wywołane są przez drobnoustroje wchodzące w skład flory fizjologicznej skóry: gronkowce, zarówno CNS (przede wszystkim *S. epidermidis*) jak i *S. aureus* dominują – ogółem są przyczyną 50–70% tego typu infekcji [3].

Gronkowce koagulazoujemne są przyczyną ok. 40% zakażeń związanych ze stosowaniem endoprotez a *S. aureus* odpowiada za 10–20% tego rodzaju infekcji [63].

Za około 20% zakażeń odpowiadają paciorkowce (głównie  $\beta$ -hemolityczne), 15–20% pałeczki Gram-ujemne z rodziny *Enterobacteriaceae* (*E. coli*, *Proteus* spp., *Klebsiella* spp.) a także *P. aeruginosa*. Inne drobnoustroje: *Corynebacterium* spp., *Enterococcus* spp., *Bacillus* spp., *Propionibacterium* spp. izolowane są znacznie rzadziej (ok 7–10% zakażeń) [27].

Za 1% infekcji okołoprotezowych odpowiadają grzyby [59]. Od 4–27% zakażeń może być wywołana jednocześnie przez różne drobnoustroje (charakter mieszany) [63].

### 5.1. *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* i inne CNS

Za ogromne zdolności adhezyjne gronkowców, czyli pierwszy etap tworzenia biofilmu, odpowiadają związane kowalencyjnie z peptydoglikanem białka

powierzchniowe określane mianem MSCRAMM (Microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules). Umożliwiają one adhezję gronkowców do białek macierzy komórkowej gospodarza (fibronektyny, fibrynogenu, elastyny, kolagenu i witronektyny) [18, 55]. Ponieważ biomateriał w ustroju gospodarza zostaje pokryty przez białka pochodzące z osocza lub tkanki łącznej [18] a białka MSCRAMM, mają zdolność wiązania białek ECM (extracellular matrix proteins) możliwa jest adhezja do biomateriału [18, 43]. Dobrze poznanym białkiem MSCRAMM u gronkowców jest białko wiążące fibrynogen (SdrG u *S. epidermidis* i ClfA u *S. aureus*) [36], białko wiążące kolagen (SdrF) u *S. epidermidis* [18] oraz białko wiążące fibronektynę (FnBPA i FnBPB u *S. aureus*, Embp u *S. epidermidis*) [10, 21, 22].

SdrG (119 kDa) i ClfA (118 kDa) inicjują przyleganie do powierzchni opłaszczonych fibrynogenem [18]. SdrG ma dodatkowo zdolność do agregacji płytek krwi [18]. Domena A tego białka składa się z trzech poddomen N1, N2 i N3 a rejon wiążący ligand znajduje się między domeną N2 i N3. Białko wiążące fibrynogen (SdrG/Fbe) *S. epidermidis* łączy się z łańcuchem  $\beta$  fibrynogenu według mechanizmu „dock, lock and latch” [58]. ClfA u *S. aureus* składa się również z trzech poddomen (N1, N2 i N3), domeny N2N3 odpowiadają za wiązanie fibrynogenu. Nie wiadomo jaka jest struktura i rola poddomeny N1. McCormac i wsp. przypuszczają, że poddomena ta wpływa na transport i powierzchniową lokalizację ClfA [36].

SdrF, składa się z wiążącej ligand domeny A oraz z domeny B. W domenie A podobnie jak u wyżej wymienionych białek można wyróżnić 3 poddomeny, a miejsce wiążące ligand znajduje się na domenie N2 [2].

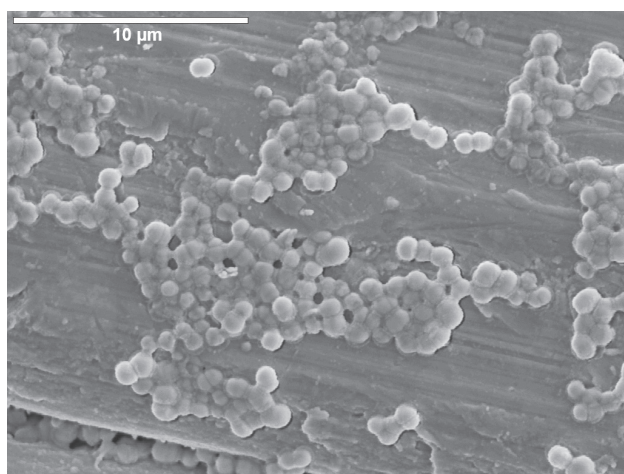
FnBPA i FnBPB promują tworzenie biofilmu przez niektóre metycylinooporne szczepy *S. aureus* [21, 22]. U białek wiążących fibronektynę stwierdzono podobną budowę jak u ClfA, i również wiązanie z odpowiednim ligandem odbywa się z udziałem poddomeny N2 i N3 [22].

U *S. epidermidis* stwierdzono obecność białka wiążącego fibronektynę Embp. Jest to duże białko, 420 kDa, które bierze udział w pierwszym etapie tworzenia biofilmu, ale także chroni *S. epidermidis* przed fagocytozą w makrofagach [10, 49]. Udział tego białka w tworzeniu biofilmu i dodatkowo ochrona przed mechanizmami obronnymi ustroju gospodarza czyni to białko ważnym markerem chorobotwórczości w zakażeniach związanych z wprowadzeniem implantów. Christner i wsp. odkryli, że izoforma Embp wiąże fibronektynę, a także może zapoczątkować akumulację biofilmu przez *ica-ADBC* i *aap*-negatywne izolaty [18].

W proces tworzenia biofilmu gronkowców oprócz wyżej wymienionych białek zaangażowane są również

inne adhezyny. Między innymi: białka SSP-1 i SSP-2 (Staphylococcal Surface Proteins) [20], adhezyna AtlE (autolisyn E), adhezyna Aae (autolysin/adhesin Aae) [49, 43]. Autolizyna AtlE, o masie 140 kDa, wiąże witronektynę [74, 53] i reguluje pierwszy etap adhezji. Mechanizm działania związany jest najprawdopodobniej z oddziaływaniem hydrofobowym z powierzchnią nieożywioną [6]. Adhezyna ta składa się z powtarzalnej sekwencji aminokwasów i zawiera dwie domeny, amidazową i N-acetyloglukozamidazową, o aktywności enzymatycznej [6].

Istotną rolę podczas kolonizacji powierzchni biomateriałów przez gronkowce odgrywa śluz wytwarzany przez te drobnoustroje [73, 19]. Śluz chroni również drobnoustroje przed mechanizmami ochronnymi ustroju gospodarza, umożliwiając przeżycie gronkowców w zakażonym organizmie [73] (Rys. 1).



Rys. 1. Biofilm *S. epidermidis* utworzony na tytanowym wkręcie do kości korowej. Mikroskop elektronowy (powiększenie 5000x).

W procesie akumulacji (druga faza tworzenia biofilmu) i produkcji śluzu przez gronkowce ogromną rolę odgrywa polisacharydowy antygen PIA (polysaccharide intercellular antigen) – produkt ekspresji operonu *icaADBC* [17, 44]. Ekspresja genów *icaA*, *icaD* oraz *icaC* jest konieczna dla syntezy polisacharydowego antygeny [16]. PIA to  $\beta$ -1,6-glukozaminoglikan zbudowany z 130 reszt  $\beta$ -1,6-N-acetylo-D-glukozaminy ( $\beta$ -1,6-GlcNAc) oraz ze składających się na frakcję anionową nieacetylowane reszty D-glukozaminy (fosforanu i reszty bursztynianu) [6]. Antygen ten odpowiada między innymi za elektrostatyczne interakcje pomiędzy bakteriami i wydaje się, że jego rola jest kluczowa w tworzeniu biofilmu gronkowcowego ale nie zawsze konieczna. Jak pokazują badania niektórych autorów, kliniczne szczepy *S. epidermidis*, odpowiedzialne za zakażenia związane z tworzeniem biofilmu, tylko w 33–52% są *icaADBC* pozytywne [50, 56]. W literaturze opisano także szczepy *S. aureus* zdolne do tworze-

nia biofilmu u których nie wykryto obecności genów operonu *ica* [33]. Przypuszcza się że, u takich szczepów (*ica*-negatywnych) w tworzenie biofilmu na tym etapie zaangażowane są białko Aap (accumulation-associated protein) u *S. epidermidis* i jego „odpowiednik” SasG (Staphylococcus aureus surface protein G) u *S. aureus*. Wydaje się, że białka te przejmują funkcję PIA [33].

Białko Aap, o masie 220-kDa zawiera N-terminalną domenę B i domenę A i najprawdopodobniej odgrywa rolę w zapoczątkowaniu adhezji lub we wczesnym etapie dojrzewania biofilmu [18]. Może o tym świadczyć fakt, że przy zastosowaniu poliklonalnych przeciwciał anti-Aap w stosunku do wzorcowego szczepu *S. epidermidis* RP62A, produkującego PIA, zaobserwowano zahamowanie w 87% tworzenia biofilmu [18]. SasG, odpowiednik białka Aap u *S. aureus* promuje tworzenie biofilmu niezależnie od PIA i najprawdopodobniej odgrywa rolę w fazie akumulacji a nie w fazie przylegania [21].

Tworzenie biofilmu i akumulację, przy nieobecności PIA, może indukować również białko Bap (biofilm-associated protein) lub jego homolog Bhp (biofilm-associated protein homolog). Obecność białka Bap stwierdzono u szczepów *S. aureus* izolowanych od krów z mastitis, natomiast obecność Bhp udało się wykazać u szczepów *S. epidermidis* pochodzących od ludzi [33]. Wykazano, że białko Bhp indukuje tworzenie biofilmu i akumulację przy nieobecności PIA [18, 49]. Warto dodać, że białko Aap wytwarzane jest przez prawie 90% szczepów *S. epidermidis*, podczas gdy białko Bhp przez około 15–45% izolatów [18].

Ważne dla odpowiedniego funkcjonowanie biofilmu, za przebieg wielu procesów metabolicznych drobnoustrojów tworzących biofilm odpowiedzialne są autoinduktory (cząsteczki sygnałowe) dzięki którym drobnoustroje „porozumiewają” się ze sobą. Swobodna dyfuzja cząsteczek sygnałowych między komórkami bakteryjnymi pozwala na komunikację ale również na określenie liczebności komórek w biofilmie. Takie zjawisko określane jest w literaturze jako QS – quorum sensing i polega na uzależnieniu ekspresji genów od zagęszczenia, czyli liczebności komórek drobnoustrojów w populacji [6, 32]. Rolę cząsteczek sygnalizacyjnych u bakterii G-dodatnich, w tym u gronkowców, pełnią oligopeptydy. Gronkowiec złocisty może „wykorzystywać” wyżej wymieniony mechanizm, między innymi, do regulowania wytwarzanie białka wiążącego kolagen i białka wiążącego fibronektynę. Ważne wydają się tu dwa loci regulatorowe: system agr (accessory gene regulator) i system sar (staphylococcal accessory gene regulator) [31].

Istotne są również dwuskładnikowe systemy regulacyjne odpowiedzialne za komunikację pomiędzy komórkami drobnoustrojów. Nie do końca poznano mechanizmy działania wszystkich tych systemów ale

ich rola w tworzeniu biofilmu wydaje się bezsporna. U *S. aureus* odkryto 17 takich systemów, a najważniejsze z nich to: ArlRS, GraRS, WalKR, LytSR i SaeRS. Ten ostatni wykryto również u *S. epidermidis* [42].

## 5.2. *Pseudomonas aeruginosa*

U pałeczek *Pseudomonas aeruginosa* w pierwszym etapie tworzenia biofilmu, czyli przylegania do powierzchni, ważną rolę odgrywa zdolność ruchu tych drobnoustrojów. Zmiany w genach kodujących ruch skutkują trudnościami w tworzeniu struktur biofilmu – szczepy z defektem poruszania się nie są w stanie tworzyć warstwy pojedynczych komórek (monolayer) na powierzchni. W początkowej fazie tworzenia biofilmu biorą również udział fimbrie, szczególnie typu I i IV [6]. Najprawdopodobniej zdolność ruchu wynikająca z obecności rzęsek, ma znaczenie w promowaniu adhezji a obecność fimbrii typu IV jest kluczowa dla międzykomórkowej agregacji [16].

Głównym składnikiem egzopolisacharydu pałeczek ropy błękitnej jest kwas alginianowy ( $\beta$ -1,4-Dmannuronowy) oraz C-5 epimer kwasu guluronowego. Wytwarzanie kwasu alginianowego pozostaje pod kontrolą genu *algACD*. Gen *algC* jest kluczowy w produkcji kwasu alginianowego, jego aktywacja odbywa się podczas tworzenia biofilmu na fazie stałej [13, 16]. Proces aktywacji rozpoczyna już się 15 minut po osadzeniu pałeczek na stałej powierzchni, rośnie w ciągu kolejnych 2 godzin i następnie zaczyna spadać. Ekspresja genu *algC* u tych pałeczek *P. aeruginosa* które tworzą biofilm jest znacznie większa, prawie dziewiętnaście razy, w porównaniu do pałeczek które występują w formie planktonowej [13, 16]. Te pałeczki ropy błękitnej u których nie dochodzi do ekspresji wyżej wymienionego genu posiadają większą zdolność oddzielenia się od struktury biofilmu [6, 16].

Na dojrzewanie biofilmu u tych pałeczek mają wpływ acylowane laktony homoseryny, których wytwarzanie pozostaje pod kontrolą genów *lasI*. Szczepy *P. aeruginosa* z mutacją w genach *lasI* nie są zdolne do wytworzenia właściwych struktur biofilmu. Synteza pozakomórkowej cząsteczki sygnałowej N-(3-okso-dodekanylo)-laktanu homoseryny (3-okso-C<sub>12</sub>-AHL) pozostaje pod kontrolą produktów genu *lasI*. Gdy w środowisku pałeczek *P. aeruginosa* stężenie laktanu rośnie zostaje on pobrany przez bakterie i połączony z 3-okso-C<sub>12</sub>-AHL z aktywatorem transkrypcji LasR.

Działanie systemu składającego się z białka regulatorowego RhIR i autoinduktora N-butyrylolaktanu homoseryny (C<sub>4</sub>-AHL) oparte jest na takiej samej zasadzie – gdy stężenie cząsteczki C<sub>4</sub>-AHL będzie odpowiednio wysokie nastąpi jej wnikanie do komórki i połączenie z aktywatorem transkrypcji (RhI).

W obu przypadkach połączenie z aktywatorem transkrypcji doprowadza do powstania kompleksów, które mają zdolność aktywowania ekspresji wielu genów u pałeczek *P. aeruginosa* [6].

## 5.3. *Propionibacterium acnes*

Zakażenia wywołane przez *P. acnes*, który stanowi florę fizjologiczną skóry (występują w miejscach bogatych w gruczoły łojowe: czoło, skrzydełka nosa, klatka piersiowa, plecy) dotyczą głównie młodych ludzi u których drobnoustroj ten odpowiedzialny jest za zapalenie mieszków włosowych, czyli trądzik pospolity. Coraz częściej mówi się o tym, że jest to również ważny czynnik etiologiczny zakażeń związanych ze stosowaniem biomateriałów [66].

W 2003 roku wykazano, że ta beztlenowa pałeczka, może tworzyć biofilm, zarówno *in vivo* jak i *in vitro*, i że komórki w strukturze biofilmu są bardziej odporne na antybiotyki aniżeli te występujące w formie planktonowej [52]. Większe zdolności do produkcji biofilmu obserwuje się w przypadku tych szczepów, które pochodzą z głębokich zakażeń inwazyjnych, aniżeli tych pochodzących ze skóry od zdrowych osób [26]. Obecnie niewiele wiadomo na temat mechanizmów, genów i czynników mających wpływ na jego tworzenie, niewiele wiadomo również na temat składu chemicznego utworzonej struktury biofilmu. Aktywność enzymatyczna *P. acnes* wpływa znacznie na proces kolonizacji a także rozprzestrzeniania się procesu chorobowego. Ważną rolę w tym względzie odgrywa między innymi lipaza, której zwiększone wytwarzanie stwierdzono w fazie wzrostu biofilmu [11, 26, 66]. Poza tym u *P. acnes* stwierdzono obecność genów kodujących UDP-N-acetylo-glukozaminy-2-epimerazy i glikozylotransferazy a wiedząc, że biofilmy różnych drobnoustrojów w większości składają się z węglowodanów można przypuszczać, że geny te u *Propionibacterium* mają udział w tworzeniu biofilmu [26].

Badania pokazują, że jak w przypadku innych drobnoustrojów tak i tutaj zdolność tworzenia biofilmu związana jest ze składem podłoża wzrostowego. Pozwala to przypuszczać, że aktywacja genów odpowiedzialnych za wytwarzanie składników biofilmu i w tym przypadku podlega wpływom środowiska [26]. Wykazano również, że osocze ludzkie działa hamująco na tworzenie biofilmu przez *P. acnes*. Jaki jest tego mechanizm i które składniki osocza ludzkiego mają działanie hamujące pozostaje pod znakiem zapytania.

## 5.4. *Streptococcus pyogenes*

Zdolności adhezyjne paciorkowców w dużej mierze wynikają z budowy ściany komórkowej tych drobnoustrojów. Obecność w ścianie komórkowej kwasu

lipotejchojowego, który odgrywa ważną rolę w fizjologii bakterii i właściwym ich „funkcjonowaniu”, przyczynia się również do nadania im hydrofobowych właściwości powierzchni, co jak wiadomo ma znaczenie w adhezji do struktur zarówno żywych jak i nieżywych [65].

Istotne są również inne, ważne komponenty ściany komórkowej tych drobnoustrojów czyli białka powierzchniowe. U *Streptococcus pyogenes*, najważniejszego czynnika etiologicznego zakażeń u ludzi z tej grupy paciorkowców [65, 66], określane są one częstą mianem – rodzina białek M [12]. Najważniejszą rolę odgrywa tutaj białko M, kodowane przez gen *emm*, typowo-swoiste białko występujące przede wszystkim u szczepów zjadliwych. Przez niektórych uważane za najważniejszy wyznacznik chorobotwórczości *S. pyogenes*. Białko to o  $\alpha$ -helikalnej budowie, zakotwiczone jest w ścianie komórkowej bakterii za pomocą C-końca a transportowane na zewnątrz komórki przy udziale sortazy [65]. W literaturze opisanych jest około 90 serotypów tego białka [65]. Białko to chroni *S. pyogenes* przed mechanizmami obronnymi ustroju gospodarza, głównie przed fagocytozą, ma swój udział w przebiegu wielu postaci klinicznych zakażeń wywołanych przez te drobnoustroje, wpływa między innymi na rozwój paciorkowcowego wstrząsu toksycznego.

Poza białkiem M ważne są M-podobne białka powierzchniowe a tu szczególnie białko Mrp (M-related protein) i białko Enn (another M-like protein). Kompleks genów obejmujący nadrodzinę genu *emm* koduje wytwarzanie białek M-podobnych [12].

Nie do końca jest poznany mechanizm wpływu rodziny białek M na proces tworzenia biofilmu. Wiadomo że białko M jest w stanie tworzyć kompleksy z kwasem lipotejchojowym co w znacznym stopniu potęguje silne właściwości hydrofobowe powierzchni komórek paciorkowców i nasila ich zdolności adhezyjne. Przypuszcza się, że białka te mogą również potęgować interakcję, poprzez N-koniec, pomiędzy komórkami paciorkowców i promować ich agregację [12, 65].

Istotną rolę w procesie tworzenia biofilmu odgrywa inna struktura powierzchniowa czyli otoczka składająca się z kwasu hialuronowego [65]. Badania Cho i wsp. wykazały, że kwas hialuronowy otoczki nie jest wymagany w pierwszym etapie tworzenia biofilmu ale najprawdopodobniej jego obecność istotna jest w fazie agregacji i dojrzewania jego struktur [9, 65].

Istotne w procesie tworzenia biofilmu, ale również w patogenezie wielu zakażeń wywołanych przez paciorkowce są dwuskładnikowe systemy regulacyjne. Ważną rolę odgrywa tutaj system CovRS (inna nazwa CsrRS) wykryty po raz pierwszy u *S. pyogenes*. System ten odpowiedzialny jest za ekspresję wielu genów związanych z chorobotwórczością tych drobnoustrojów, m.in. genów: *ska* (streptokinase), *sagA* (streptolysin S), *speB* (cyste-

inę protease B) a także operonu *has* (hyaluronic acid capsule synthesis). Inaktywacja genu *covR* powoduje utratę szczepe do zdolności tworzenia biofilmu [42].

### 5.5. *Candida albicans*

W literaturze jest wiele doniesień i opracowań na temat tworzenia biofilmu przez bakterie, niewiele jest natomiast danych dotyczących tworzenia biofilmu przez grzyby a obecnie wiadomo, że grzyby szczególnie rodzaju *Candida* mają zdolność do tworzenia jego struktur. Tak jak u bakterii jest to proces wieloetapowy.

W procesie tworzenia biofilmu u *C. albicans* można wyróżnić kilka faz, najczęściej: wczesną, pośrednią i dojrzewania [15, 47].

W trwającej do 11 godzin fazie wczesnej można zaobserwować adhezję, czyli przyleganie komórek grzyba do sztucznej powierzchni. Mikrokolonie można zaobserwować po ok. 3 godzinach, po ok. 4 komórki grzyba zaczynają filamentować co doprowadza do tworzenia pseudostrzępek i strzępek. Strzępki sąsiadujących ze sobą mikrokolonii zaczynają się łączyć, doprowadzając do uzyskania sieci przestrzennej składającej się z wzajemnie przenikających się nitkowatych form. W proces adhezji zaangażowane są adhezyny na powierzchni komórek grzyba, które rozpoznają odpowiednie receptory w u stroju gospodarza (np. fibrynogen, kolagen, elastyna, laminina, witronektyna) i tak jak u bakterii na tym etapie biorą udział nieswoiste oddziaływania, jak wiązanie Van der Waalsa, elektrostatyczne czy napięcia powierzchniowego. Zdolności adhezyjne mogą zmieniać się zależnie od warunków hodowli i rodzaju zastosowanego podłoża [68]. Czynniki ułatwiającymi tworzenie stabilnych połączeń między komórką grzyba a biomateriałem są białka ustroju gospodarza, które pokrywają wprowadzony do organizmu implant.

W fazie pośredniej, następuje wydzielanie zewnątrzkomórkowej macierzy, która składa się głównie z polisacharydów ściany komórkowej.

W ostatniej fazie obserwuje się natomiast znaczny przyrost substancji pozakomórkowych, które całkowicie otaczają komórki grzyba. Grubość dojrzałego biofilmu zawiera się pomiędzy 60–350  $\mu\text{m}$  a czas potrzebny na jego wytworzenie wynosi ok. od 72 do 96 godzin [15, 29]. Na utworzoną błonę biologiczną składają się różne formy morfologiczne grzyba zanurzone w macierzy zewnątrzkomórkowej (głównie białka, polisacharydy, węglowodany). Kluczowym czynnikiem w formowaniu biofilmu jest regulator proteinowy *Efg1* [51].

W wytwarzaniu biofilmu *Candida albicans* ważną rolę odgrywają autoinduktory produkowane przez te drobnoustroje. Najlepiej poznany jest farnezoł, alkohol należący do terpenów. Może on uniemożliwiać dojrzewanie biofilmu poprzez zdolność oddziaływania



z receptorami komórkowymi komórek grzyba (blastospor) i zahamowanie ich przekształcenia do pseudosrępek. Może chronić komórki przed działaniem nadtlenu wodoru a także stymulować komórki grzybów do wytwarzania chlamydospor. Inny autoinduktor tyrozol, wpływa na fazę pośrednią tworzenia biofilmu i stymuluje grzyba do wytwarzanie strzępek. „Czuwa” nad spadkiem ekspresji genów niezbędnych do replikacji DNA [32].

## 6. Rozpoznanie infekcji związanych ze stosowaniem biomateriałów

Przy typowych objawach infekcji badanie fizykalne, zebranie dokładnych informacji na temat aktualnego stanu zdrowia pacjenta jak i zastosowanego leczenia są bardzo pomocne dla postawienia właściwego rozpoznania.

W rozpoznaniu infekcji okołoprotezowych pomocne będzie badanie mikrobiologiczne. Materiał pochodzący od pacjenta (np. płyn stawowy, wymieniany implant, fragmenty tkanek otaczające implant) posiewa się na podłoża bakteriologiczne i inkubuje w różnych warunkach – pamiętając o tym, że czynnikami etiologicznymi tego rodzaju zakażeń są drobnoustroje o różnych wymaganiach wzrostowych. Dla lepszej izolacji drobnoustrojów z utworzonego na biomateriale biofilmu zaleca się sonifikację i posiew uzyskanego płynu sonifikacyjnego, który może być również zastosowany do analiz molekularnych [63, 64].

Nie zaleca się pobieranie wymazu poprzez przetokę ponieważ hodowla w tym przypadku umożliwi identyfikację drobnoustrojów kolonizujących i uzyskania wyników fałszywie dodatnich [27].

Hodowla materiału śródoperacyjnego (tkanki zmienione zapalnie, płyn z okolicy endoprotezy, wycinki z torebki stawowej) daje możliwość identyfikacji czynnika etiologicznego zakażenia (czułość 37–61%) ale również obarczona jest ryzykiem uzyskania wyników fałszywie dodatnich. Zaleca się pobranie materiału z 5–6 miejsc. Identyfikacja tego samego drobnoustroju z minimum 3 daje możliwość właściwego rozpoznania, dodatni wynik tylko z jednego miejsca jest niewystarczający do postawienia właściwej diagnozy [63, 27].

W rozpoznaniu infekcji będzie pomocne oznaczenie poziomu markerów zapalnych (CRP, OB, interleukina 6 czy prokalcytonina) [27].

Badania obrazowe nie zawsze będą pomocne, jako wstępne badanie przesiewowe może być zastosowana scyntygrafia [27].

Dosyć istotne są badania histopatologiczne i cytologiczne. W płynie stawowym oznacza się często liczbę leukocytów i granulocytów. Oznacza się również ilość leukocytów w zamrożonej tkance okołostawowej [27].

## 7. Profilaktyka antybiotykowa okołoperacyjna

Zapobieganie zakażeniom to właściwie stosowana antybiotykowa profilaktyka okołoperacyjna.

Antybiotyk powinien być podany na 30 minut przed rozpoczęciem zabiegu operacyjnego (nie wcześniej niż 2 godziny przed zabiegiem). Na ogół stosuje się jednorazowe podanie antybiotyku, przy zabiegu trwającym dłużej niż 3 godziny zaleca się podanie dodatkowej dawki (dożylnie). Ponieważ najczęstsze czynniki etiologiczne zakażeń związanych z wprowadzeniem implantów to gronkowce, zaleca się wybranie antybiotyku, który w swoim spektrum będzie miał te drobnoustroje. Przy wszczępieniu endoprotezy stawu biodrowego zaleca się cefazolinę, cefuroksym lub wankomycynę, którą podaje się w przypadku dużej izolacji MRSA (metycylinyoporny *S. aureus*) w oddziale lub stwierdzonego nosicielstwa MRSA u pacjenta. Przy wprowadzeniu endoprotez innych niż stawu biodrowego zaleca się cefazolinę lub wankomycynę. Cefazolinę podaje się jednorazowo, wyjątkowo można podać drugą dawkę po 8 godzinach, wankomycynę w pojedynczej dawce [3, 38].

## 8. Podsumowanie

Obecnie wiadomo, że prawie 95% drobnoustrojów może bytować w swoim środowisku naturalnym nie pod postacią pojedynczych komórek tylko pod postacią zorganizowanej społeczności jaką jest biofilm. Tak też jest często w ustroju gospodarza podczas toczącego się procesu chorobowego. Bakterie w biofilmie są bardziej odporne na działanie związków przeciwdrobnoustrojowych, szczególnie antybiotyków, chronione są również przed mechanizmami obronnymi gospodarza [43].

Implantacja biomateriałów (endoprotezy, wkrety) to podstawa leczenia na oddziale urazowo-ortopedycznym. Czasami jest to zabieg konieczny np. przy zespoleniu złamania otwartego. Często zastosowanie biomateriału np. endoprotezy stawu biodrowego daje szansę chorym na normalne funkcjonowanie, poprawia jakość ich życia. Należy jednak pamiętać o tym, że obecność biomateriału niesie ze sobą ryzyko powikłań infekcyjnych, w szczególnych przypadkach zagrażających życiu [54].

Należy rozważyć czy korzyści z przeprowadzonego zabiegu np. implantacji stawu znacznie przewyższają ryzyko powikłań i związanych z tym następstw. Wszystko należy rozpatrywać indywidualnie, biorąc pod uwagę wiek pacjenta, chorobę podstawową, choroby towarzyszące a także rodzaj zabiegu jak i rodzaj biomateriału, który będzie implantowany w ustroju gospodarza.

Znajomość czynników ryzyka tego typu zakażeń, czynników etiologicznych i ich wyznaczników choro-

botwórczości jak również mechanizmów doprowadzających do wytworzenia struktur biofilmu jest konieczna do walki z tego rodzaju infekcjami.

## Piśmiennictwo

- Anselme K.: Osteoblast adhesion on biomaterials. *Biomaterials*, **21**, 667–681 (2000)
- Arrecubieta C., Toba F.A., von Bayern M., Akhshi H., Denga M.C., Naka Y., Lowy F.D.: SdrF, a *Staphylococcus epidermidis* surface protein, contributes to the initiation of ventricular assist device driveline-related infections. *PLoS Pathog.* **5**, 1–13 (2009)
- Babiak I., Górecki A.: Zakażenia szpitalne na oddziale chirurgii ortopedycznej – pacjenci dorośli (w) Zakażenia szpitalne na oddziałach zabiegowych, red. M. Bulanda, Polskie Towarzystwo Zakażeń Szpitalnych, Kraków, 2008, s. 145–161
- Babiak I., Kowalewski M., Szczęsny G., Górecki A.: Specyfika zakażeń na oddziałach urazowo-ortopedycznych. Wskazania terapeutyczne. *Zakażenia*, **3**, 70–76 (2004)
- Bahl S., Shreyas P., Trishul M.A., Suwas S., Chatterjee K.: Enhancing the mechanical and biological performance of a metallic biomaterial for orthopedic applications through changes in the surface oxide layer by nanocrystalline surface modification. *Nanoscale*, **7**, 7704–7716 (2015)
- Baranowska K., Rodziewicz A.: Molekularne interakcje w biofilmach bakteryjnych. *Kosmos*, **57**, 29–38 (2008)
- Bartoszewicz M., Rygiel A., Krzemiński M., Przondo-Mordarska A.: Penetracja wybranego antybiotyku i antyseptyku w biofilmie tworzonym na stalowych wszczepach stosowanych w ortopedii. *Ortop. Traumatol. Rehabil.* **3**, 310–318, (2007)
- Bigos M., Denys A., Dutkiewicz Z., Łysakowska M., Marciniak R., Orszulak-Michalak D., Michalak J., Moczulski D., Polański A.: Zakażenia szpitalne. Wybrane zagadnienia, red. A. Denys, Wolters Kluwer Polska, Warszawa, 2012, s. 180–182
- Cho K.H., Caparon M.G.: Patterns of virulence gene expression differ between biofilm and tissue communities of *Streptococcus pyogenes*. *Mol. Microbiol.* **57**, 1545–1556 (2005)
- Christner M., Rohde H. i wsp.: The giant extracellular matrix-binding protein of *Staphylococcus epidermidis* mediates biofilm accumulation and attachment to fibronectin. *Mol. Microbiol.* **75**, 187–207 (2010)
- Coenye T., Peeters E., Nelis H.J.: Biofilm formation by *Propionibacterium acnes* is associated with increased resistance to antimicrobial agents and increased production of putative virulence factors. *Res. Microbiol.* **158**, 386–392 (2007)
- Courtney H.S., Ofek I., Penfound T., Victor Nizet, Morgan A. Pence, Kreikemeyer B., Podbielbski A., Hasty D.L., Dale J.B.: Relationship between Expression of the Family of M Proteins and Lipoteichoic Acid to Hydrophobicity and Biofilm Formation in *Streptococcus pyogenes*. *PLoS ONE*, **4**, 1–10 (2009)
- Czaczyk K., Myszka K.: Mechanizmy warunkujące oporność biofilmów bakteryjnych na czynniki antymikrobiologiczne. *Biotechnologia*, **1**, 40–52 (2007)
- Czaczyk K.: Factors affecting the adhesion of microorganism to solid surfaces. *Post. Mikrobiol.* **43**, 267–283 (2004)
- Dorocka-Bobkowska B., Konopka K.: Powstawanie biofilmu *Candida* i jego znaczenie w patogenie zakażeń przewlekłych – przegląd piśmiennictwa. *Dent. Med. Probl.* **40**, 405–410 (2003)
- Dunne W.M.: Bacterial Adhesion: Seen Any Good Biofilms Lately? *Clin. Microbiol. Rev.* **15**, 155–166 (2002)
- Esteban J., Molina-Manson D., Spiliopoulou I., Cordero-Ampuero J., Fernandez-Roblas R., Foka A., Gomez-Barrena E.: Biofilm development by clinical isolates of *Staphylococcus* spp. from retrieved orthopedic prostheses. *Acta Orthop.* **81**, 674–679 (2010)
- Fey P.D., Olson M.E.: Current concepts in biofilm formation of *Staphylococcus epidermidis*. *Future Microbiol.* **5**, 917–933 (2010)
- Gad G.F., El-Feky M.A., El-Rehewy M.S., Hassan M.A., Abollella H., El-Baky R.M.: Detection of *icaA*, *icaD* genes and biofilm production by *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* isolated from urinary tract catheterized patients. *J. Infect. Dev. Ctries.* **3**, 342–351 (2009)
- Gatermann S., Kreft B., Marre R., Wanner G.: Identification and characterization of a surface-associated protein (Ssp) of *Staphylococcus saprophyticus*. *Infect. Immune.* **60**, 1055–1060 (1992)
- Geoghegan J. A., Corrigan R. M., Gruszka D. T., Speziale P., O’Gara J. P., Pots J. R., Foster T. J.: Role of Surface Protein SasG in Biofilm Formation by *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.* **192**, 5663–5673 (2010)
- Geoghegan J.A., Monk I.R., O’Gara J.P., Foster T.J.: Subdomains N2N3 of Fibronectin Binding Protein A Mediate *Staphylococcus aureus* Biofilm Formation and Adherence to Fibrinogen Using Distinct Mechanisms. *J. Bacteriol.* **195**, 2675–2683 (2013)
- Gospodarek E., Szopiński J., Mikucka A.: Zakażenia miejsca operowanego – postaci kliniczne, czynniki ryzyka, profilaktyka, etiologia, diagnostyka. *Forum Zakażeń*, **4**, 275–282 (2013)
- Górecki A., Babiak I.: Leczenie zakażeń w obrębie narządu ruchu. Antybiotyki w profilaktyce i leczeniu zakażeń, red. W. Hryniewicz, J. Meszaros, PZWŁ, Warszawa 2001, s. 732–770
- Górecki A., Marczyński W., Babiak I.: Zasady profilaktyki, rozpoznawania i leczenia nieswoistych zakażeń kości i stawów. *Ortop. Traumatol. Rehab.* **4**, 396–415 (2008)
- Holmberg A., Lood R., Mörgelin M., Söderquist B., Holst E., Collin M., Christensson B., Rasmussen M.: Biofilm formation by *Propionibacterium acnes* is a characteristic of invasive isolates. *Clin. Microbiol. Infect.* **15**, 787–795 (2009)
- Hryniewicz W., Małydyk P., Ozorowski T., Babiak I., Krogulec Z.: Profilaktyka, diagnostyka i terapia zakażeń w ortopedii. Narodowy Instytut Leków, Warszawa, 2013, s. 16–25
- Jämsen E., Nevalainen P., Eskelinen A., Huotari K., Kalliovalkama J., Moilanen T.: Obesity, diabetes, and preoperative hyperglycemia as predictors of periprosthetic joint infection: a single-center analysis of 7181 primary hip and knee replacements for osteoarthritis. *J. Bone. Joint. Surg. Am.* **94**, 1–9 (2012)
- Kaczala M., Gmyrek J., Mnichowska-Polanowska M., Giedrys-Kalemba S.: Patomechanizm zakażenia *Candida* w stomatopatiach protetycznych. *Czas. Stomat.* **2008**, **61**, 886–893 (2008)
- Klimaszewska K.: Zastosowanie biomateriałów w medycynie na przykładzie endoprotezy stawu biodrowego. Wybrane zagadnienia z inżynierii materiałowej. Politechnika Lubelska, Lublin, 2013, s. 91–104
- Kołodziej J., Jankowski S.: Systemy międzykomórkowej sygnalizacji u bakterii. *Adv. Clin. Exp. Med.* **14**, 343–348 (2005)
- Koźłan B.: Analiza zjawiska biofilmu – warunki jego powstawania i funkcjonowania. *Ochrona Środowiska*, **33**, 3–14 (2011)
- Kuthan R.T., Łuczak M., Młynarczyk G.: Wytwarzanie biofilmu przez metacyclino-oporne szczepy *Staphylococcus aureus*. *Post. Nauk. Med.* **10**, 862–868 (2011)
- Lübbecke A., Rothman K.J., Garavaglia G., Barea C., Christofilopoulos P., Stern R., Hoffmeyer P.: Strong association between smoking and the risk of revision in a cohort study of patients with metal-on-metal total hip arthroplasty. *J. Orthop. Res.* **32**, 762–768 (2014)
- Majda A., Walas K., Gawełek A.: Jakość życia pacjentów z chorobą zwyrodnieniową stawów biodrowych. *Probl. Piel.* **21**, 29–37 (2013)
- McCormack N., Foster T.J., Geoghegan J.A.: A short sequence within subdomain N1 of region A of the *Staphylococcus aureus*

- MSCRAMM clumping factor A is required for export and surface display. *Microbiology*, **160**, 659–670 (2014)
37. Meyer U., Büchter A., Wiesmann H.P., Joos U., Jones D.B.: Basic reactions on osteoblasts on structured material surfaces. *Eur. Cell Mater.* **9**, 39–49 (2005)
  38. Montewka M., Skrzek A., Plewik D., Rudzki S., Wysokiński A., Koziół-Montewka M.: Zakażenia miejsca operowanego – charakterystyka czynników ryzyka, endogennych źródeł zakażenia i metody zapobieganie. *Post. Mikrobiol.* **51**, 227–235 (2012)
  39. Muszyński Z.: Drobnoustroje skóry człowieka – wskazówki dla kosmetologów. *Homines Hominibus*, **6**, 55–64 (2010)
  40. Näsell H., Ottosson C., Törnqvist H., Lindé J., Ponzer S.: The impact of smoking on complications after operatively treated ankle fractures- a follow-up study of 906 patients. *J. Orthop. Trauma*. **25**, 748–755 (2011)
  41. Nowacki J., Dobrzański L.A., Gustavo F.: *Implanty śródszpikowe w osteosyntezie kości długich*. Open Access Library. International OCSCO World Press, Gliwice, 2012, s. 52
  42. Nowak A., Tyski S.: Dwuskładnikowe systemy regulacyjne ziarenkowców Gram-dodatnich i ich rola w tworzeniu biofilmu. *Post. Mikrobiol.* **51**, 265–276 (2012)
  43. Nowicka J., Bartoszewicz M., Rygiel A.: Czynniki wirulencji i chorobotwórczość gronkowców koagulazo-ujemnych. *Forum Zakażeń*, **3**, 83–89 (2012)
  44. Nuryastuti T., Krom B.P., Aman A.T., Busscher H.J., van der Mei H.C.: Ica-expression and gentamicin susceptibility of *Staphylococcus epidermidis* biofilm on orthopedic implant biomaterials. *J. Biomed. Mater. Res. A*. **96**, 365–371 (2011)
  45. Odom-Forren J.: Preventing surgical site infections. *Nursing*, **36**, 58–63 (2006)
  46. Paszkiewicz-Mes E.: Palenie tytoniu w aspekcie powikłań występujących po za biegu operacyjnym. *Probl. Hig. Epidemiol.* **93**, 249–255 (2012)
  47. Pathak A.K., Sharma S., Shrivastva P.: Multi-species biofilm of *Candida albicans* and non-*Candida albicans* *Candida* species on acrylic substrate. *J. Appl. Oral Sci.* **20**, 70–75 (2012)
  48. Pedersen A.B., Svendsson J.E., Johnsen S.P., Riis A., Overgaard S.: Risk factor for revision due to infection after primary total hip arthroplasty. *Acta Orthop.* **81**, 542–547 (2010)
  49. Piette A., Verschraegen G.: Role of coagulase-negative staphylococci in human disease. *Vet. Microbiol.* **134**, 45–54 (2009)
  50. Qin Z., Yang X., Yang L., Jiang J., Ou Y., Molin S., Qu D.: Formation and properties of in vitro biofilms of ica-negative *Staphylococcus epidermidis* clinical isolates. *J. Med. Microbiol.* **56**, 83–93 (2007)
  51. Ramage G., Saville S.P., Thomas D.P., Lopez-Ribot J.L.: *Candida albicans*: an update. *Eukaryot. Cell.* **4**: 633–638 (2005)
  52. Ramage G., Tunney M.M., Patrick S., Gorman S.P., Nixon J.R.: Formation of *Propionibacterium acnes* biofilms on orthopaedic biomaterials and their susceptibility to antimicrobials. *Biomaterials*, **24**, 3221–3227 (2003)
  53. Reiter K.C., Sant'Anna F.H., d'Azevedo P.A.: Upregulation of icaA, atlE and aap genes by linezolid but not vancomycin in *Staphylococcus epidermidis* RP62A biofilms. *Int. J. Antimicrob. Agents*. **43**, 248–253 (2014)
  54. Ribeiro M., Monteiro F.J., Ferraz M.P.: Infection of orthopedic implants with emphasis on bacterial adhesion process and techniques used in studying bacterial-material interactions. *Biomatter*, **2**, 176–194 (2012)
  55. Sadowska B., Różalska B.: Gronkowce – na co jeszcze je stać? *Post. Mikrobiol.* **49**, 173–178 (2010)
  56. Schommer N.N., Christner M., Hentschke M., Ruckdeschel K., Aepfelbacher M., Rohde H.: *Staphylococcus epidermidis* uses distinct mechanisms of biofilm formation to interfere with phagocytosis and activation of mouse macrophage-like cells 774A.1. *Infect. Immun.* **79**, 2267–2276 (2011)
  57. Scolaro J.A., Schenker M.L., Yannascoli S., Baldwin K., Menta S., Ahn J.: Cigarette smoking increases complications following fracture: a systemic review. *J. Bone Joint. Surg. Am.* **96**, 674–681 (2014)
  58. Sellman B.R., Timofeveya Y., Nanra J., Scott A., Fulginiti J.P., Matsuka Y.V., Baker S.M.: Expression of *Staphylococcus epidermidis* SdrG increases following exposure to an *in vivo* environment. *Infect. Immun.* **76**, 2950–2957 (2008)
  59. Sikora A., Koziół-Montewka M.: Zakażenia miejsca operowanego: aspekty kliniczne i mikrobiologiczne. *Wiad. Lek.* **63**, 221–229 (2010)
  60. Skowronek M., Dutka J.: Endoprotezoplastyka stawów u pacjentów przewlekle dializowanych. Kwalifikacja, czynniki ryzyka i korzyści. *Przegl. Lek.* **69**, 667–669 (2012)
  61. Slane J., Vivanco J., Rose W., Ploeg H.L., Squire M.: Mechanical, material, and antimicrobial properties of acrylic bone cement impregnated with silver nanoparticles. *Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl.* **48**, 188–196 (2015)
  62. Solati S.M., Tajbakhsh E., Khamesipour F., Gugnani H.C.: Prevalence of virulence genes of biofilm producing strains of *Staphylococcus epidermidis* isolated from clinical samples in Iran. *AMB. Expr.* **5**, 2–5 (2015)
  63. Strzelec-Nowak D., Bogut A., Niedźwiadek J., Koziół-Montewka M., Sikora A.: Mikrobiologiczna diagnostyka zakażeń implantów stawu biodrowego. *Post. Mikrobiol.* **51**, 219–225 (2012)
  64. Szczepny G., Babiak I., Kowalewski M., Górecki A.: Septyczne obluźowanie protez stawów biodrowego i kolanowego. *Chir. Narządów Ruchu Ortop. Pol.* **70**, 179–184 (2005)
  65. Szczypa K., Wilemska J., Hryniewicz W., Sitkiewicz I.: Mechanizmy wirulencji *Streptococcus pyogenes*. *Post. Mikrobiol.* **51**, 3–15 (2012)
  66. Szewczyk E.M., Dudkiewicz B., Kwaszewska A., Lisiecki P., Różalska M., Sobiś-Glinkowska, Szarapińska-Kwaszewska J., Szemraj J., Szemraj M., Wysocki P.: Diagnostyka bakteriologiczna. red. E. M. Szewczyk, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2013
  67. Świczko-Żurek B., Zieliński A., Ossowska A., Sobieszczyk A.: Biomateriały. Politechnika Gdańska, Gdańska, 2011, s. 4–13
  68. Uzunoglu E., Bicer A.Z.Y., Dolapci I., Dogan A.: Biofilm-forming ability and adherence to poly-(methyl-methacrylate) acrylic resin materials of oral *Candida albicans* strains isolated from HIV positive subjects. *J. Adv. Prosthodont.* **6**, 30–34 (2014)
  69. Widuchowski J., Kusz D., Pierzchała A., Widuchowski W.: Alloplastyka całkowita stawu kolanowego. *Wiad. Lek.* **57**, 166–170 (2004)
  70. Williams D.F.: *Definitions in biomaterials*. Amsterdam-Oxford-New-York-Tokyo, Elsevier, 1987
  71. Wróbel E., Witkowska-Zimny M., Przybylski J.: Biologiczne mechanizmy procesu osteointegracji. *Ortop. Traumatol. Rehabil.* **12**, 401–409 (2010)
  72. Wróbel M., Zdrojowy R., Dembowski J., Kołodziej A., Małkiewicz B., Musioł D., Wróbel E.: Zapobieganie zakażeniom u chorych leczonych operacyjnie. *Prz. Urol.* **43**, 57–62 (2007)
  73. Wróblewska J., Ciok-Pater E., Sękowska A., Gospodarek E.: Porównanie trzech metod oceny wytwarzania śluzu przez *Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus epidermidis*. *Med. Dośw. Mikrobiol.* **62**, 303–308 (2010)
  74. Zdzlik D., Dominiak A., Gałkowska H., Interewicz B., Olszewski W.L., Stelmach E., Łuczak M., Machowski Z.: Charakterystyka molekularna szczepów *Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus epidermidis* wyizolowanych z materiału klinicznego. *Med. Dośw. Mikrobiol.* **58**, 269–274 (2006)