

Роль микробиологического обследования в диагностике и лечении перипротезной инфекции

Н. Л. Анкин^{1,2}, Т. М. Петрик¹, В. В. Поточилова¹, С. А. Солодаренко¹, В. А. Ладыка^{1,2}

¹Киевская областная клиническая больница,

²Национальная медицинская академия последилового образования имени П. Л. Шупика, г. Киев

Role of microbiological examination in diagnosis and treatment of periprosthetic infection

N. L. Ankin^{1,2}, T. M. Petryk¹, V. V. Potochilova¹, S. A. Solodarenko¹, V. A. Ladyka^{1,2}

¹Kiev's Regional Clinical Hospital,

²Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kiev

Реферат

Цель. Определение оптимальной тактики микробиологического обследования пациента с перипротезной инфекцией (ППИ) путем оценки достоверности результатов бактериологических исследований в пред- и послеоперационном периоде.

Материалы и методы. На базе Ортопедо-травматологического центра Киевской обласной клинической больницы на протяжении 2016 – 2018 гг. обследованы 32 пациента с подозрением на наличие ППИ. Во время предоперационной подготовки всем пациентам провели бактериологическое исследование, в ходе которого их разделили на две группы: 1-я – 23 пациента, которым проводили бактериологическое исследование посевов из свищевого хода; 2-я – 9 пациентов, которым осуществляли пункционный забор материала, так как свищевое отверстие у них отсутствовало.

Результаты. Из 147 предоперационных посевов у 83 (56,5%) определены грамположительные кокки; у 49 (33,3%) – грамотрицательные палочки; рост микроорганизмов не определялся в 15 (10,2%) посевах. У 22 (68,7%) пациентов выделена монокультура, у 10 (31,3%) – два и больше микроорганизмов.

Выводы. Диагностика ППИ является сложной и требует мультидисциплинарного подхода, предполагающего тесное сотрудничество ортопедов и микробиологов.

Ключевые слова: эндопротезирование; перипротезная инфекция; диско-диффузионный метод; минимальные ингибирующие концентрации; сонификация.

Abstract

Objective. Determination of optimal tactics of microbiological investigation in patient, suffering periprosthetic infection (PPI), using estimation of trustworthiness of the bacteriological investigations results in preoperative and postoperative periods.

Materials and methods. On the base of Orthopedic-Traumatological Centre of Kiev's Regional Clinical Hospital through 2016 – 2018 yrs 32 patients were examined with suspicion on presence of PPI. Two Groups of patients were formatted, in whom during preoperative preparation bacteriological investigation was accomplished: Group I – 23 patients, in whom bacteriological investigation of cultures from fistula was done; Group II – 9 patients, in whom the material for culture was taken by puncture, because the fistula aperture in them was absent.

Results. Of 147 preoperative cultures in 83 (56.5%) Gram-positive cocci were revealed, and in 49 (33.3%) – Gram-negative bacteria; while in 15 (10.2%) cultures the development of microflora was not proved. In 22 (68.7%) cases a monoculture was separated, while in 10 (31.3%) – two and more microorganisms.

Conclusion. Diagnosis of PPI constitutes a complex task and demands application of multidisciplinary approach, which supposes close cooperation of physicians-orthopedics and microbiologists.

Keywords: periprosthetic infection; microbiological investigation; diagnosis; treatment.

Эндопротезирование, которое в значительной степени способствует улучшению качества жизни пожилых людей, является одной из наиболее распространенных плановых хирургических процедур в развитых странах [1, 2]. Однако даже при соблюдении образцовых мер предосторожности инфекционные осложнения, связанные с эндопротезом, возникают у 1 – 3% пациентов при первичном протезировании и у 9 – 15% пациентов при ревизионном протезировании [3 – 5]. Перипротезная инфекция (ППИ) обуславливает наиболее частую причину ревизии эндопротезов в течение первых 5 лет после первичной имплантации.

Цель исследования: определение оптимальной тактики микробиологического обследования пациентов с ППИ путем оценки достоверности результатов бактериологических исследований в пред- и послеоперационном периоде.

Материалы и методы исследования

В период с 2016 по июль 2018 г. в Киевской областной клинической больнице обследованы 32 пациента с подозрением на наличие ППИ. Основными критериями для контроля были следующие симптомы: боль; рентге-

нологические признаки расшатывания эндопротеза; наличие лабораторных признаков воспаления.

Предоперационная подготовка включала бактериологическое исследование, в ходе которого всех пациентов разделили на две группы: 1-ю – 23 пациента, которым проводили бактериологическое исследование посевов из свищевого хода, и 2-ю – 9 пациентов, которым осуществляли пункционный забор материала, так как свищевое отверстие у них отсутствовало.

В последующем всем пациентам было выполнено ревизионное оперативное вмешательство с взятием как минимум трех образцов перипротезных тканей для бактериологического исследования, окончательным результатом которого считали интраоперационные образцы.

Для выделения чистых культур факультативно–анаэробных бактерий использовали стандартизированные питательные среды промышленного производства, которые разрешены в Украине, имеют сертификат качества и инструкцию к использованию, а именно: 5% кровяной агар, желточно–солевой агар, агар эндо, энтерококк агар, шоколадный агар.

Микроорганизмы идентифицировали на микробиологическом анализаторе VITEK 2 compact 15 (Франция). Чувствительность выделенных культур микроорганизмов к антибактериальным препаратам (АБП) определяли с помощью бактериологического анализатора VITEK 2 compact 15 (Франция), а также диско–диффузионным методом с использованием стандартных коммерческих дисков и АБП производства HiMedia (Индия). Результаты интерпретировали в соответствии с рекомендациями CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute) и EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing).

Определяли чувствительность микроорганизмов к следующим антибиотикам: гентамицин, линезолид, ципрофлоксацин, амикацин, нетилмицин, азтреонам, фосфомицин, тейкопланин, ванкомицин, тайгециклин, левофлоксацин, тетрациклин, офлоксацин, имипенем, меропенем, пиперацилин/тазобактам, ампициллин, цефтриаксон, цефподоксим, доксициклин, колистин, цефепим, цефтазидим, тобрамицин. После установления минимальных ингибирующих концентраций (МИК) индивидуально рассчитывали дозы препаратов для лечения.

Результаты

Из 147 предоперационных посевов у 83 (56,4%) определены грамположительные кокки, у 49 (33,4%) – грамотрицательные палочки, у 15 (10,2%) посевах рост не определялся (см. рисунок).

Из 32 пациентов у 22 (68,7%) выделена монокультура, у 10 (31,3%) – два и больше микроорганизмов.

Данные бактериологического исследования до и во время операции совпали у 9 (39,1%) пациентов 1-й группы и у 8 (88,9%) пациентов 2-й группы. Кроме этого, в 1-й группе у 10 (43,5%) пациентов при бактериологическом анализе интраоперационных образцов выявлена микст-инфекция, хотя во время предоперационной диагности-

ки у них был определен один микроорганизм. У 4 (17,4%) пациентов зафиксированы абсолютно разные микроорганизмы в пред- и интраоперационных посевах. У 1 пациента 2-й группы при исследовании пункционного материала микроорганизмы не определялись в отличие от интраоперационных образцов.

Препарат для антибиотикотерапии выбирали на основании данных интраоперационных посевов с наиболее низкими показателями МИК.

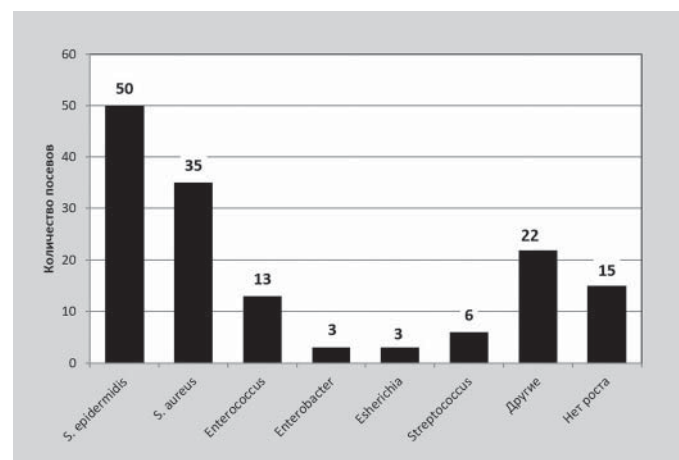
Обсуждение

Оптимальный результат лечения ППИ напрямую зависит от своевременной диагностики и идентификации возбудителя, что является ключевым фактором для выбора врачом необходимой тактики с назначением пациенту адекватной и эффективной антибактериальной терапии.

Согласно консенсусу, который провозгласили более чем 500 экспертов в 2013 г. в Филадельфии [4], для установления диагноза ППИ необходимо наличие одного из таких критериев: выявлены организмы с идентичным фенотипом и не менее чем двумя положительными перипротезными культурами; есть фистула, связанная с суставом; подтверждены не менее трех из шести перечисленных факторов: повышенные скорость оседания эритроцитов и показатель С-реактивного белка в сыворотке крови; повышенный уровень лейкоцитов в синовиальной жидкости; положительная реакция на тест–полоске на эстеразу лейкоцитов; увеличенный показатель нейтрофильных гранулоцитов в синовиальной жидкости (%); положительное заключение гистологического исследования перипротезной ткани; одна отдельная положительная культура.

Как видим, выявление и фенотипирование микроорганизма является основным и единственно достаточным критерием для постановки диагноза ППИ.

Клинические проявления ППИ становятся все более вариabельными [6, 7]. Вызывающие ее микроорганизмы образуют колонии, покрытые биопленкой, которую можно описать как структурированную агрегацию микробных клеток одного или нескольких видов, заключенных в са-



Результаты бактериологического исследования.

мопроизвольную матрицу и прикрепленных к биотической или абиотической поверхности. Матрица биопленки состоит из экзополисахаридов, белков, тейхоевых кислот, липидов и внеклеточной дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК). Для эффективного обнаружения инфекции, спрятанной под биопленкой, применяют молекулярные способы исследования, а также метод сонификации.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) и флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH) – популярные молекулярные методы, способные идентифицировать патогены с вероятностью 80 – 100%. FISH как цитогенетический метод применяют для детекции и определения положения специфической последовательности ДНК на метафазных хромосомах или в интерфазных ядрах *in situ* [8]. Использование молекулярных методов в медицинской микробиологии ограничено тремя факторами: высокая стоимость; значительная зависимость от квалификации врача–лаборанта; чувствительность к загрязнению образцов.

Сонификация – обработка ультразвуковыми волнами имплантатов или фрагментов тканей – более дешевый и доступный метод, увеличивающий шансы на обнаружение инфекции [3]. При применении сонификации через жидкую среду, содержащую удаленный протез, распространяются ультразвуковые волны. Это создает микроскопические пузырьки воздуха, которые затем взрываются, генерируя высокую энергию, достаточную для того, чтобы разрушить прилипающую биопленку и выпустить бактерии в жидкость. Далее проводится ее бактериологическое исследование с выделением возбудителя инфекции.

Для исследования промывных вод можно использовать серию экспериментальных методов, таких как ПЦР и микроскопия. Согласно литературным данным чувствительность культур перипротезной ткани и обработанных ультразвуком жидкостных культур составляла 61 и 79% соответственно [1, 3, 4]. Исходя из этого, выделение возбудителя инфекции (или группы возбудителей) и определение их чувствительности к антимикробным препаратам является ключевым методом диагностики, обеспечивающим подбор необходимой антибактериальной терапии.

Получение ложнонегативных или неполных бактериологических результатов может отрицательно сказаться на эффекте лечения и привести к повторным хирургическим вмешательствам. В нашей практике был получен один ложнонегативный результат исследования пунктата, что можно объяснить наличием биопленки, расположенной в костно–эндопротезном пространстве, из–за чего она практически не взаимодействовала с суставной жидкостью. Важным дополнительным исследованием, которое рекомендуется проводить во всех случаях, является цитологический анализ суставного аспирата.

Несоответствие дооперационных посевов из свищевого хода и интраоперационных данных подтверждает целесообразность проведения этих исследований, а тем более использования как основания для постановки диагноза и выбора антибиотикотерапии.

Из 15 негативных результатов восемь получены при исследовании мазков, взятых с поверхности компонентов эндопротеза при ревизионном хирургическом вмешательстве. Данный факт также связан с биопленкой – внеклеточной мембраной, отделяющей колонию микроорганизмов от внешней среды. Обработка ультразвуком (сонификация) удаленных компонентов эндопротеза приводит к деструкции, ассоциированной с имплантатом микробной биопленки, и тем самым обеспечивает возможность эффективного бактериологического исследования.

На наш взгляд, ключевыми для улучшения бактериологической диагностики являются такие этапы: забор нескольких образцов тканей с места инфекционного процесса; обеспечение своевременной доставки образцов в лабораторию в адекватных транспортных средах; обработка ультразвуком удаленных компонентов эндопротеза с последующим бактериологическим исследованием; пролонгация инкубационного периода до 14 дней с целью выявления микст–инфекции, а также нечасто встречающихся микроорганизмов, например *Propionibacterium acnes*.

Выводы

1. Диагностика перипротезной инфекции является сложной и требует мультидисциплинарного подхода, предусматривающего тесное сотрудничество ортопедов и микробиологов.

2. Для более точного выявления возбудителя при перипротезной инфекции следует избегать забора материала для бактериологического исследования из свищевого хода.

3. Лучшим методом забора материала для бактериологического исследования в предоперационном периоде является пункция сустава либо биопсия околосуставных тканей. Забор как минимум трех образцов тканей в процессе ревизионного оперативного вмешательства – обязательное условие, обеспечивающее минимизацию количества ложнонегативных результатов.

4. Сонификация удаленных компонентов протеза – перспективный метод для выявления микроорганизмов, покрытых биопленками.

5. Определение минимальных ингибирующих концентраций имеет превосходство над диско–диффузионным методом, так как позволяет более точно выбрать оптимальный чувствительный антимикробный препарат.

Подтверждения

Финансирование. За счет авторов статьи.

Вклад авторов. Все авторы внесли одинаковый вклад в эту работу. Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Конфликт интересов. Авторы информируют об отсутствии потенциальных и явных конфликтов интересов при написании и издании статьи.

Согласие на публикацию. Все авторы дали согласие на публикацию этой рукописи.

References

1. Vinkler T, Trampush A, Renc N, Perka K, Bozhkova SA. Klassifikacija i algoritm diagnostiki i lechenija periproteznoj infekcii tazobedrennogo sustava. *Travmatologija i ortopedija Rossii*. 2016(1):33–45. [In Russian].
2. Kates S, Borens O, editors. Principles of Orthopedic Infection Management. Davos: AO Publishing; 2017. 496 p.
3. Filippenko VA, Marushhak AP, Bondarenko SE. Periproteznaja infekcija: diagnostika i lechenie. Chast' 1 (obzor literatury). *Ortopediya, travmatologija i protezirovanie*. 2016(2):102–10. doi: 10.15674/0030–598720162102–110. [In Russian].
4. Parvizi J, Gehrke T, Chen AF. Proceedings of the international consensus on periprosthetic joint infection. *Bone Joint J*. 2013 Nov;95–B(11):1450–2. doi: 10.1302/0301–620X.95B11.33135.
5. Tria AJ, Bingham J, Spangehl MJ, Clarke HD, Gehrke T, Zahar A, et al. Management of the Infected Total Knee Arthroplasty. In: *Complex Cases in Total Knee Arthroplasty*. Cham: Springer; 2018:179–206. doi: 10.1007/978–3–319–69380–4
6. Ivanov PP, Kornilov NN, Kuljaba TA. Revizionnye hirurgicheskie vmeshtatel'stva pri periproteznoj infekcii kolennogo sustava (obzor literatury). *Kafedra travmatologii i ortopedii*. 2017;21(1):35–43. [In Russian].
7. Parvizi J, Gehrke T. Definition of periprosthetic joint infection. *J Arthroplasty*. 2014;29(7):1331–4. doi: 10.1016/j.arth.2014.03.009.
8. Kolotij AD, Jurov IJu, Demidova IA, Kurinnaja OS, Kravec VS, Zeleznova MA, et al. Klassicheskaja citogenetika v jepohu vysokorazreshajushhh molekulyarno–citogeneticheskikh tehnologij. *Rossijskij vestnik perinatologii i pediatrii*. 2018(4):206–7 doi: 10.21508/1027–4065–congress–2018. [In Russian].