

Методологические особенности микробиологической диагностики инфекций протезированных суставов

О.В. Шнейдер, А.Н. Рукина, В.Л. Разоренов

**ФГБУ «РНИИТО им. Вредена»
Санкт-Петербург**

28/09/2012

Современная концепция эффективной терапии ПЭПИ - комбинация хирургического лечения и антибактериальной терапии

- * распространение молекулярных методов - дорого, нестандартизовано (чувствительность и специфичность за исполнителем)**
- * культуральный метод - незаменим для определения чувствительности к антибактериальным препаратам и подтверждения результатов молекулярных исследований**

Трудно поддающиеся лечению микроорганизмы

- ✱ **MRSA**
- ✱ **Enterococci**
- ✱ **Ps. aeruginosa фторхинолон-резистентные**
- ✱ **Грибы**
- ✱ **SCV Staphylococci**
- ✱ **полирезистентные штаммы**

**ИХ ВЫДЕЛЕНИЕ ОПРЕДЕЛЯЕТ НЕ ТОЛЬКО ВЫБОР
АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ НО И ХИРУРГИЧЕСКУЮ ТАКТИКУ**

Объективные трудности микробиологической диагностики инфекции протезированных суставов

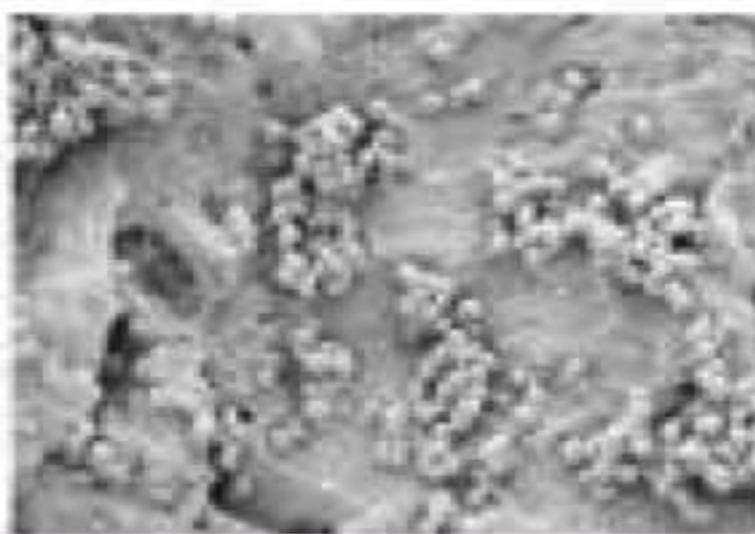
- * хронический вялотекущий характер инфекции - требования к образцу для исследования**
- * роль трудно-культивируемых т.н. прихотливых и анаэробных микроорганизмов - использование качественных высоко питательных сред и скорость доставки в лабораторию**
- * формирование биопленок на поверхности имплантов - способ обработки пробы**
- * роль мало вирулентных микроорганизмов (CNS, Propionebacterium, Corinebacterium) - необходимость подтверждения клинической значимости**

**ОЦЕНИТЬ ДИАГНОСТИЧЕСКУЮ ИНФОРМАТИВНОСТЬ МЕТОДА
УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ОБРАБОТКИ УДАЛЕННЫХ ИМПЛАНТОВ ПРИ
РЕВИЗИОННОМ ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИИ КРУПНЫХ СУСТАВОВ В СРАВНЕНИИ
С МЕТОДОМ ВЗЯТИЯ МНОЖЕСТВЕННЫХ БИОПТАТОВ ПЕРИПРОТЕЗНЫХ
ТКАНЕЙ ДЛЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ
ПАРАЗНДОПРОТЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ**

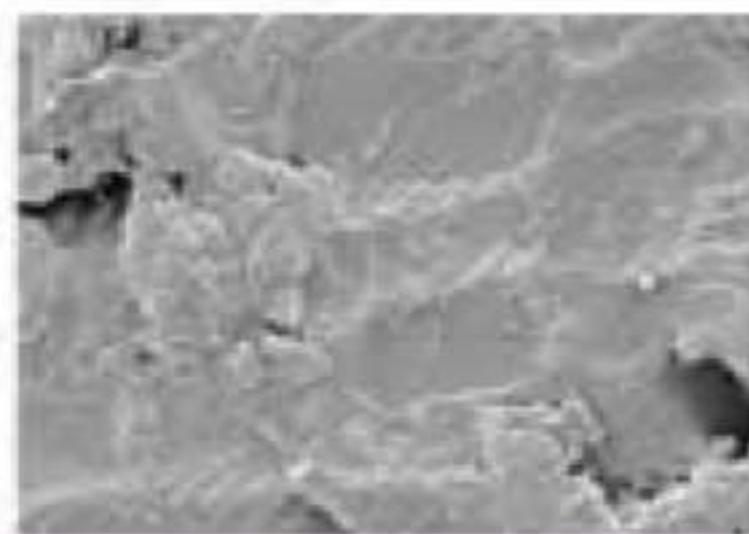
Staphylococcus epidermidis Biofilm on Polycarbonate
Coupons Scanning Electron Microscopy



Soaking



Scraping



Sonication

Trampus A. et al N Engl J Med 2007; 357:654-663

Magnification x 4.00k, WD=14.4 mm

Микробиологическое исследование удаленных конструкций с УЗ обработкой

конструкции помещали в стерильные герметичные контейнеры с добавлением 400 мл. стерильного физиологического р-ра



ультразвуковая обработка в течение 5 минут при частоте 40 ± 2 кГц и плотности 0.22 ± 0.04 Ватт/см²

полученную жидкость по 0,5 мл высевали на плотные среды для аэробных и анаэробных микроорганизмов



Микробиологическое исследование множественных тканевых биоптатов



- ❖ биоптаты от 3 до 5 от каждого пациента
- ❖ помещали в отдельный флакон с 4 мл. бульона для культивирования прихотливых и анаэробных микроорганизмов
- ❖ с последующим высевом на плотные среды для аэробных и анаэробных микроорганизмов при появлении видимого роста или на 7-е сутки инкубации.



В исследование включены:

удаленные эндопротезы 178		цементные спейсеры 93	
101 пациент с диагнозом «Нестабильность ЭП» (77 ТБ, 24 КС)	77 пациента - 1 этап ревизионного ЭП при ПЭПИ, удаление ЭП, установка спейсера (53 ТБ, 19 КС)	62 - 2 этап ревизионного ЭП - удаление спейсера, установка ЭП (45 ТБ, 17 КС)	31 - рецидив инфекции после 2 этапа - переустановка спейсера (23 ТБ, 8 КС)
2 выявлен инфекционный процесс	5 - гистологические признаки гнойного воспаления отсутствовали	4 - выявлен инфекционный процесс	2 - гистологические признаки гнойного воспаления отсутствовали

Критерии диагностики ПЭПИ

наличие как минимум одного признака:

- ✱ **свищевых ходов**
- ✱ **гнойного отделяемого**
- ✱ **гистологических признаков острого воспаления (> 5 нейтрофильных лейкоцитов в п/зр.)**
- ✱ **положительный результат микробиологического исследования (в случае выделения маловирулентных микроорганизмов только при наличии гистологических признаков гнойного воспаления)**

диагностическая ценность двух методов при выполнении резэндопротезирования крупных суставов

удаленные ЭП		
	ГСИ +	ГСИ-
+ рост	71	7
нет роста	3	98
Чувствительность 94,67%		
Специфичность 93,33 %		

тканевые биоптаты		
	ГСИ+	ГСИ -
+ рост	70	14
нет	4	91
Чувствительность 96,05%		
Специфичность 86,66%		

удаленные спейсеры		
	ГСИ +	ГСИ-
+ рост	30	1
нет роста	3	59
Чувствительность 96,00%		
Специфичность 93,33 %		

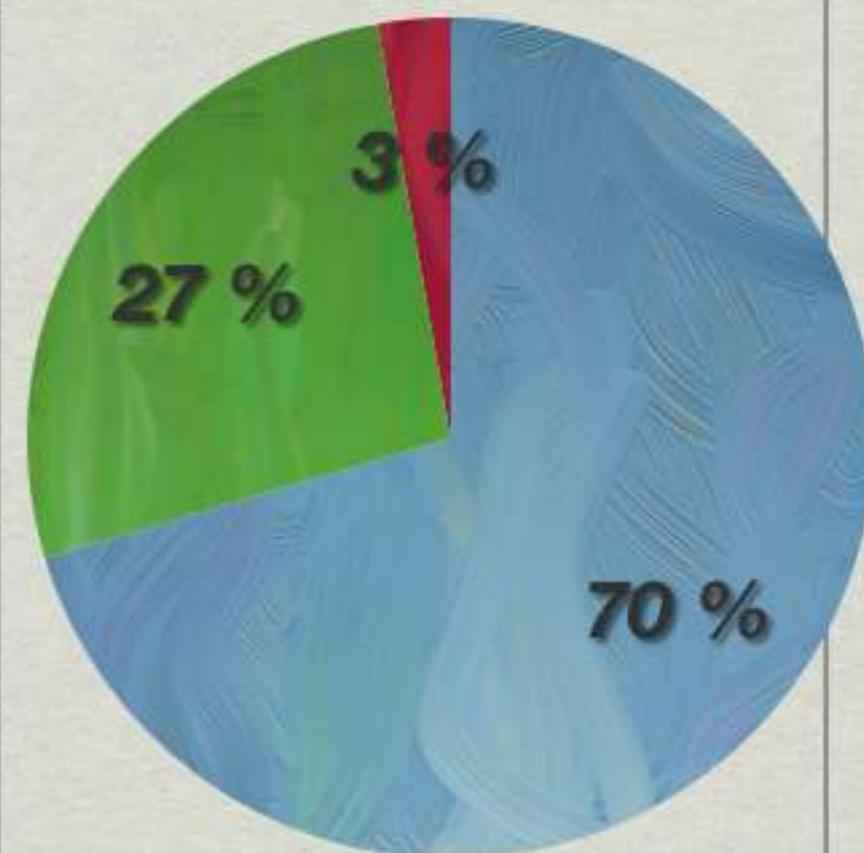
тканевые биоптаты		
	ГСИ+	ГСИ-
+ рост	30	8
нет	3	52
Чувствительность 96,05%		
Специфичность 86,66%		

Метод МТБ уступает по специфичности за счет более высокой частоты контаминации образцов микрофлорой кожных покровов

Частота выделения микроорганизмов при ПЭПИ

Грам + кокки	MSSA 27,52%
	MRSA 11,93%
	MSSE 1,8%
	MRSE 13,76%
	Enterococci 9,17%
Грам - бациллы	энтеробактерии 10,09%
	неферментирующие 17,43%
Анаэробы	Propionebacterium, Peptostreptococci

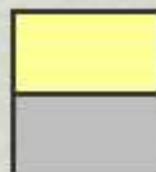
- Грам +
- Грам -
- Анаэробы



7,5% СЛУЧАЕВ - ПОЛИМИКРОБНОЙ ЭТИОЛОГИИ

результаты микробиологического исследования при ревизионном эндопротезировании по поводу нестабильности

	тканевых биоптатаов	удаленных ЭП
	в 88 случаях (87,12%) идентичные результаты	
1,9 %	MSSE	MRSE 10 ³
	-	MRSE 10 ²
7,9 %	MRSE	-
	Candida intermedia	-
	MRSE	-
	Bifidobacterium	-
	St. hominis	-
	MSSE	-
	Propionebacterium	-
	Enterococcus pallens	-
2,9 %	-	MRSE 10 ³
	-	MRSE < 5 КОЕ
	-	St. hominis 10 ²

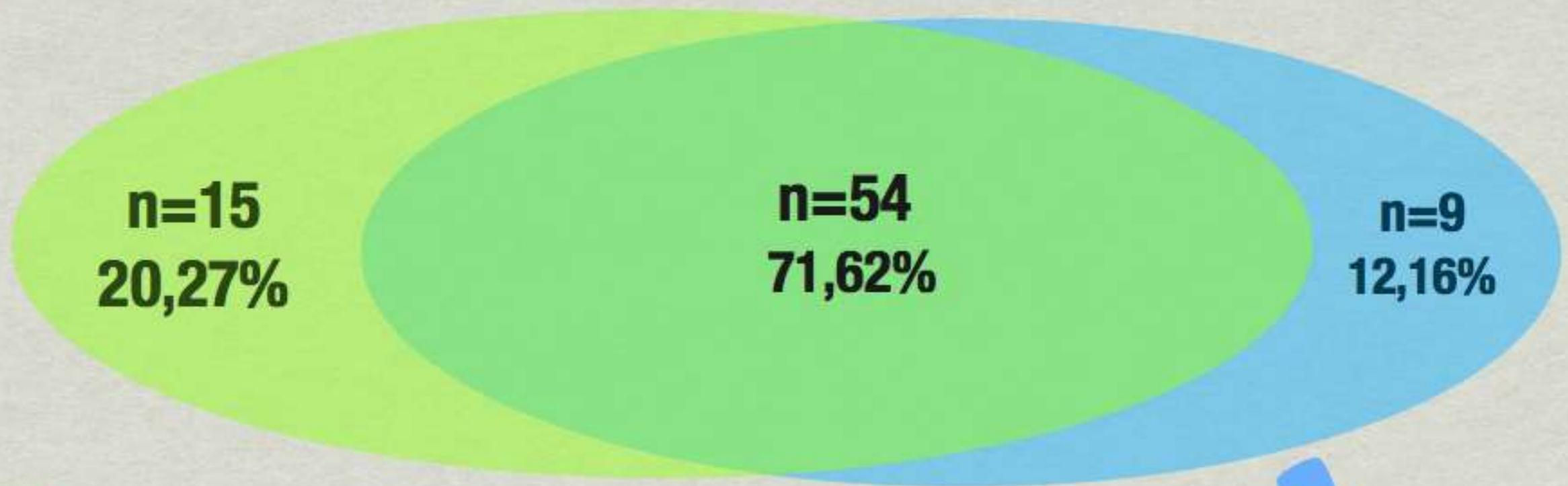


параэндопротезная инфекция
асептическая нестабильность

результаты микробиологического исследования на 1 этапе реЭП при ПЭПИ

	тканевых биоптатаов		удаленных ЭП
	51	2	53 случая (68,83%) идентичные результаты
7,79 %	E. coli		E coli + Kl. pneumonia
	MSSE		MSSE + Alcaligines fecalis
	MSSA		MSSA + Acinetobacter
	MRSE		MRSE + St. maltophilia
	MSSA		MSSA + Ps. aeruginosa
	MRSE		MRSE + Acinetobacter
5,55 %	-		MSSE 10³ KOE
	-		Str. Agalactiae
	-		Corynebacterium spp. 10² KOE
	-		MSSE 10² KOE
4,16 %	MSSA, Corynebacterium		Str. Agalactiae
	MRSA, Enterococcus fecalis, Acinetobacter		Str. dysgalactiae
	Kl. pneumonia, Acinetobacter, St. lugdunensis		Str. Phocae
	MRSE		-
	MSSE		-
	MRSE		MSSE
7,79 %	Propionebacterium sp		-
	Ps. aeruginosa		-
	MSSA + Acinetobacter		-
	MRSE+MRSA		MRSE
	MRSE+Ps. aeruginosa		MRSE
	Propionebacteruim		-

Сопоставление результатов микробиологического исследования МТБ и удаленных ЭП при ПЭПИ



-  метод У30 удаленных имплантов
-  исследование тканевых биоптатов

- **распространенный инфекционный процесс, остеомиелит, неоднократные ревизии в анамнезе - полимикробная этиология**
- **ранняя инфекция (<3 мес)**

результаты микробиологического исследования при при выполнении 2 этапа реЭП при ПЭПИ

в среднем 3,4мес. с момента установки

	тканевые биоптаты	удаленные СПЕЙСЕРЫ
	в 52 случаях (83,87%) идентичные результаты	
4,84 %	-	St. maltophilia MRSE 10³
	-	Ps. aeruginosa
	-	MRSE 10³
9,68 %	Propionebacterium	-
	MSSE	-
	Corynebacterium	-
	Propionebacterium	-
	Corynebacterium	-
	Propionebacterium	-
1,6 %	MSSE	-



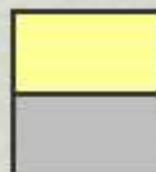
выявлен активный инфекционный процесс

нет гистологических признаков активной инфекции

результаты микробиологического исследования при переустановке спейсера в связи с рецидивом инфекции

в среднем 4,3 мес. с момента установки

	тканевые биоптаты	удаленных СПЕЙСЕРОВ
	23 случая 70,12 % идентичные результаты в двух методах	
16,12 %	MRSA, Propionebacterium	
	MSSA, Acinetobacter	MSSA
	MRSA, Acinetobacter	MRSA
	MSSA, Acinetobacter	-
	MRSA	St. capitis
6,45 %	MRSE	-
	MRSE, MSSE	-
3,23 %	MSSE	St. maltophilia



выявлен активный инфекционный процесс

нет гистологических признаков активной инфекции

Выводы:

Микробиологическое исследование жидкости после УЗО удаленных имплантов

- ✦ более информативно для микробиологической диагностики ПЭПИ – при ревизионном ЭП по поводу нестабильности или отсроченной и поздней ПЭПИ
- ✦ на этапе удаления спейсера при выполнении 2 этапа реЭП

Микробиологическое исследование множественных тканевых биоптатов

- ✦ более информативно у пациентов перенесших неоднократные ревизионные вмешательства по поводу глубокой инфекции протезированных суставов
- ✦ в случаях ранних инфекционных осложнений ЭП (до 3-х месяцев после имплантации)
- ✦ при переустановке цементных антимикробных спейсеров в связи с рецидивом инфекции

КОМПЛЕКСНЫЙ ПОДХОД ДЛЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ДИАГНОЗА ПЭПИ

- * предоперационная пункция
- * интраоперационно взятые тканевые биоптаты
- * удаленная конструкция



**МИКРОБИОЛОГ СОПОСТАВЛЯЕТ ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ
ИССЛЕДОВАНИЯ ВСЕХ ПРОБ ДАННОГО ПАЦИЕНТА,
ОЦЕНИВАЕТ КЛИНИЧЕСКУЮ ЗНАЧИМОСТЬ ВЫДЕЛЕННЫХ
МАЛОВИРУЛЕНТНЫХ ШТАММОВ В ВИДЕ ЗАКЛЮЧЕНИЯ**



ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Результат микробиологического исследования при ПЭПИ с заключением микробиолога

РосНИИ травматологии и ортопедии им. Р.Р.Вредена

Бактериологический анализ № 6526

Дата поступления	03.09.2012
Больной	
№ истории болезни	14130
Отделение	IV отделение
Биоматериал	биоптат тканевой
Диагноз	Глубокая инфекция в области хирургического вмешательства

№№	Выделенные микроорганизмы	KOE/г
[1]	Staphylococcus epidermidis	-

Антибиотикограмма **	[1]		
Бензилпенициллин	R		
Гентамицин	S		
Клиндамицин	S		
Линезолид	S		
Моксифлоксацин	S		
Оксациллин	S		
Рифампин	R		
Скрининг Цефокситин	S		
Тетрациклин	S		
Триметоприм/Сульфаметоксазол	S		
Фосфомицин	S		
Ципрофлоксацин	S		
Эритромицин	S		

Комментарий

Доставлены компоненты эндопротеза и 5 тканевых биоптатов.
 В ЭП-роста микрофлоры не выявлено.
 В 4-ех тк.биоптатах-рост S.epidermidis.
 Для подтверждения этиологической значимости, результат необходимо сопоставить с гистологической картиной.

Дата выдачи: 10.09.2012

Врач:

** S - чувствителен, I - умеренно-устойчив, R - устойчив



МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ УДАЛЕННЫХ КОНСТРУКЦИЙ С УЗ ОБРАБОТКОЙ

- ✦ **более информативно для имплант-ассоциированных инфекций** (до 20% случаев позволяет выявить дополнительно клинически значимых возбудителей ПЭПИ, что существенно влияет на выбор антимикробной терапии)
- ✦ **позволяет дать полуколичественную оценку**–заключение о клинической значимости выделенных маловирулентных штаммов или контаминации образца



Культуры полученные от одного пациента из тканевых биоптатов и жидкости после УЗО удаленного эндопротеза

- ✦ **окончательный результат в более короткие сроки**–предварительный на следующие сутки
- ✦ **нетрудоемко, не требует дорогостоящего оборудования**

**рекомендовано для диагностики имплант-ассоциированных инфекций
в рутинной практике бактериологических лабораторий**