

УДК 616.728.2-018.4-078

Мікробіологічні та серологічні показники у хворих з асептичною нестабільністю елементів ендопротеза кульшового суглоба та їх діагностична оцінка

С.І. Бідненко, О.Б. Лютко, Л.В. Рябоконт,
К.В. Вітрак, О.М. Сулима

ДУ «Інститут травматології та ортопедії АМН України», Київ

The article deals with detection of the rate and species composition of causative agents of a latent infection or contamination of periprosthetic tissues of the hip joint with revealing of their antibiotic sensitivity. Microorganisms were found in 43.5% of patients in cultures and in 65.2% of cases by means of microscopes. Microflora was presented by Gram-positive microorganisms: coagulase-negative staphylococci, including those with SCVs phenotype, catalase-negative cocci of Gemella spp. genus, coryneforms, which were identical in different samples from the same patient. A high individually different sensitivity to antibiotics and a high resistance of the revealed species of microorganisms to methicillin are shown. The information value of patients' blood serum as to dynamics and level of antibodies to the revealed cultures was assessed. Such concepts as «infection» and «contamination» of tissues around the unstable component of the endoprosthesis were clearly differentiated depending upon the intensity of indices.

Работа посвящена определению частоты и видового состава возбудителей скрытой инфекции или контаминации околопротезных тканей тазобедренного сустава с определением их чувствительности к антибиотикам. Микроорганизмы в культуре выявлены у 43,5%, микроскопически — у 65,2% больных. Микрофлора представлена грамположительными микроорганизмами: коагулазонегативными стафилококками, включая с SCVs фенотипом, каталазонегативными кокками рода Gemella spp., коринеформными бактериями, идентичными в разных образцах от одного больного. Показана индивидуальная чувствительность к антибиотикам и высокая метициллинорезистентность выделенных видов микроорганизмов. Определена информативность в сыворотке крови больных динамики и уровня антител к выделенным культурам. В зависимости от выраженности показателей четко разграничены понятия «инфекция» и «контаминация» тканей вокруг нестабильного компонента эндопротеза.

Ключові слова: асептична нестабільність ендопротеза, мікрофлора навколопротезних тканин, чутливість до антибіотиків, діагностичні критерії

Вступ

Асептична нестабільність компонентів ендопротеза складає 80% від усіх ускладнень первинного ендопротезування, які потребують повторного хірургічного лікування. Клінічно та рентгенологічно впевнено відрізнити асептичну чи септичну нестабільність неможливо [4, 6, 8, 12].

Доведено, що за умов наявності ранньої інфекції, навіть негнійної, навколо металевого імплантата, кістка не росте в нього, відбувається резорбція тканини і імплантат легко зміщується [7, 8, 10, 12, 14]. Тому виявлення прихованої інфекції чи кон-

тамінації за наявності нестабільності ендопротеза вважають ключем до успішної ревізії тотальної артропластики, пропонуючи використовувати для цього всі можливі засоби, у тому числі обов'язкове бактеріологічне дослідження, нові скрінінгові методи [2, 3, 8] та визначення рівня і динаміки антимікробних антитіл. У процесі виконання мікробіологічного дослідження треба передбачати розширення видового спектру досліджуваних мікроорганізмів за рахунок виявлення нетрадиційних їх видів та фенотипових різновидів, як наприклад SCVs колонії стафілококів [1, 9, 11, 13].

Мета дослідження: визначити частоту контамінації (інфікування) навколопротезних тканин кульшового суглоба у хворих з ревізійним втручанням з приводу асептичної нестабільності з урахуванням видового складу та фенотипових особливостей мікроорганізмів, їх чутливості до антибіотиків і специфічних серологічних показників у хворих. Дати оцінку одержаних показників в аспекті діагностики та оптимізації консервативного лікування зазначених ускладнень.

Матеріал і методи

Мікробіологічно обстежено грануляційні тканини навколо нестабільних компонентів ендопротеза, які було видалено у 46 хворих з асептичною нестабільністю компонентів ендопротеза кульшового суглоба. Зразки матеріалу брали під час ревізійного ендопротезування з капсули біля нестабільного штучного суглоба, западини та стегнової кістки окремо (114 зразків).

Посів на поживні середовища з наступним виділенням чистих культур мікроорганізмів з ідентифікацією виконано відповідно до чинних методичних матеріалів, стосовно *Gemella* spp. та SCVs фенотипу стафілококів — з літературними джерелами [9, 11, 13]. Одним з основних методів дослідження для виявлення мікроорганізмів вважали ретельну бактеріоскопію нативних мазків за Грамом (не менше 300 полів зору).

Чутливість виділених культур до 18 сучасних антибактеріальних препаратів вивчали диск-дифузійним методом за Кербі-Бауером та методом серійних розведень у бульоні (для SCVs фенотипу стафілококів) згідно з наказом № 167 МОЗ України (2007 р.). Ступінь чутливості оцінювали з урахуванням критеріїв CLSI.

Серологічні дослідження проводили в динаміці спостереження у 38 хворих.

У всіх хворих досліджували концентрацію С-реактивного білка методом аглютинації латексних часточок виробництва «Human Wiesbaden» (Germany). У разі виділення культур мікроорганізмів з патологічного матеріалу проводили реакцію аглютинації (РА) з живою та грітою культурами ізольованих мікроорганізмів.

Результати і їх обговорення

Мікроскопія пофарбованого за Грамом нативного препарату операційного матеріалу виявила наявність мікроорганізмів у 30 (65,2%) з 46 хворих та в 63 (55,3%) з 114 зразків матеріалу. Усі виявлені мікроорганізми були грампозитивними і представлені

в 11 з 46 хворих одночасно коками та паличками. Як правило, число виявлених мікроорганізмів було невеликим. У семи хворих грампозитивні коки — у значній кількості. Палички за морфологією — корінеформні.

Культуральне дослідження дозволило виділити мікроорганізми у 43,5% хворих, в кожному третьому зразку операційного матеріалу. Монокультури виділено від 16 з 20 хворих, у 8 з них — одночасно з 2–4 зразків, як правило, ідентичні з усіх проб від одного хворого.

За видами виділених мікроорганізмів стафілококи виявлено у восьми хворих, *Enterococcus faecalis* — у одного. Від восьми хворих виділено анаеробні чи факультативно анаеробні корінеформні бактерії в моно- чи змішаній з коками культурі, орієнтовно ідентифіковані як *Arachnia propionica*, *Rothia dentocariosa*, *Arcanobacterium haemolyticum*, *Eubacterium* spp., *Corynebacterium* spp.

Від семи хворих (15 зразків матеріалу) виділені мікроорганізми, які за комплексом ознак ідентифіковані нами як *Gemella haemolysans* (8 штамів) та *Gemella morbilorum* (7 штамів).

Від восьми хворих (10 зразків) виділені стафілококи. При цьому через 24–48 год. у прямому посіві лише у двох хворих вирости типові для стафілокока колонії. У шести пацієнтів, поряд з типовими, вирости дуже дрібні, білуваті колонії без гемолізу, або лише дрібні колонії. За мікроскопією культури являли собою суміш грампозитивних, грамваріабельних і навіть грамнегативних коків, які слабо росли на жовточно-сольовому агарі, з негативними тестами на плазмокоагулазу, лецитиназу активність та ферментацію маніту, але всі культури були каталазопозитивні, оксидазонегативні. Для ідентифікації був додатково використаний специфічний для стафілококів тест на чутливість до батуміну за допомогою дисків «Діастаф» [2], за результатом якого всі культури належали до стафілококів.

За наявними ознаками культури з дрібними колоніями були нами визначені як SCVs фенотип стафілококів. Через 2–4 пасажі такі культури на кров'яному агарі реверсували до нормального розміру колоній з типовими ферментативними, гемолітичними та іншими властивостями відповідно до виду батьківського штаму.

У коків *Gemella* spp. максимальна чутливість відзначена до глікопептидів, лінезоліду, цефазоліну, гатіфлоксацину, у межах 75–85,7% — дорифампіцину та цiproфлоксацину. Особливу увагу звертає на себе висока частота метицилінорезистентних культур *Gemella* spp.: 70% серед *G. haemolysans*

і половина культур — серед *G. morbilorum*. Враховуючи належність *Gemella* spp. до грампозитивних коків, нині вважаємо доцільним звертати увагу на наявність їх метицилінорезистентності і вносити певні корективи в антибіотикотерапію зумовлених ними запальних процесів.

Виділені корінеформні грампозитивні бактерії об'єднували різні види мікроорганізмів. Їх чутливість до антибактеріальних препаратів дуже індивідуальна. Так, *Arachnia propionica* були резистентні навіть до глікопептидів (ванкоміцину, тейкопланіну) та лінезоліду. Всі виділені штами були чутливі лише до амоксициліну/клавуланату.

Чутливість до антибіотиків коагулазонегативних стафілококів, загалом, була традиційною. Всі штами були чутливі до глікопептидів, рифампіцину, лінезоліду, гатіфлоксацину, а до амоксициліну та доксицикліну — лише половина виділених культур. Метицилінорезистентними виявились понад половина штамів коагулазонегативних стафілококів.

Враховуючи виділення від шістьох хворих (вісім зразків матеріалу) SCVs фенотипу стафілококів та дані літератури щодо більшої резистентності цих форм до антибіотиків, особливо до аміноглікозидів, ми порівняли чутливість до гентаміцину, оксациліну та амоксициліну шістьох пар культур стафілококів від шістьох хворих — з колоніями нормального розміру та їх SCVs варіантів, застосовуючи диск-дифузійний метод. За цих умов виявили тенденцію до більшої резистентності SCVs фенотипу до взятих антибіотиків. Для трьох пар *S. haemolyticus* встановлено, що MIC гентаміцину субкультур з нормальними розмірами колоній була 0,2–1,6 мкг/м, а їх SCVs фенотипів — 0,8–6,4 мкг/м, тобто в чотири рази більшою, що свідчить про необхідність подальшого дослідження етіологічної ролі цих фенотипів в ортопедичних запаленнях.

Оскільки лише культуральним дослідженням та мікроскопією нативного матеріалу розрізнити інфекцію та контамінацію тканини складно, нами додатково було використано серологічні тести, а саме: визначення концентрації в сироватці крові С-реактивного білка (С-РБ) та реакції аглютинації сироваткою крові хворого виділеної від нього культури мікроорганізмів. Дослідження проводили напередодні чи в день операції з видалення ендопротеза (16 хворих) та в різні терміни після операції: від двох тижнів до 1–2 років (22 хворих).

Результати показали, що в день операції у $\frac{3}{4}$ хворих концентрація С-РБ була ≥ 12 мг/л, що свідчить про наявність запального процесу різної активності, серед них у 12,5% — високої (48–96 мкг/л).

Після операції нормалізацію рівня С-РБ у значній кількості хворих спостерігали лише в перші 1–3 міс (55,6% хворих), але при цьому частка хворих з високою концентрацією С-РБ зросла до 32,3%.

У подальшому кількість хворих з діагностичними рівнями С-РБ збільшувалась і через 1–2 роки досягла 75% хворих, як і під час операції. Особливо тривожним є факт збільшення кількості хворих з високими концентраціями С-РБ до 50,0%, що в чотири рази перевищило кількість таких хворих під час операції. Було відмічено суттєво збільшену частоту (у 2,5 рази) високих концентрацій С-РБ (48–96 мкг/л) саме у хворих з виділенням культури порівняно з хворими із позитивною мікроскопією без виділення культур — 37,5% проти 16,7%, що може об'єктивно свідчити про більшу активність запального процесу в цій групі.

Реакція аглютинації з аутоштамами була поставлена у дев'яти хворих. Принципово важливо, незважаючи на нечисленність досліджень, що у семи хворих з виділенням культур з операційного матеріалу була наявна позитивна реакція аглютинації з аутоштамами: *S. aureus* — 1:640 (1 хворий), *S. haemolyticus* — 1:320 (4 хворих), *Gemella haemolysans* — 1:160 (2 хворих). Такі результати підтверджують роль виділених мікроорганізмів у запальному процесі.

Узагальнивши отримані нами клінічні та лабораторні результати, урахувавши загальноприйняті мікробіологічні та серологічні показники наявності інфекційно-запального процесу, ми розробили принципи диференціювання характеру присутності мікроорганізмів — інфекції чи контамінації — завдяки оцінці діагностичної значущості отриманих результатів, їх вираженості та варіантів комбінації (табл.).

За комплексною оцінкою власного клінічного матеріалу у 36% хворих з асептичною нестабільністю компонентів ендопротеза виявлено інфекцію навколопротезних тканин, у 32,6% хворих — контамінацію тканин.

Діагностика наявності інфекційного процесу в ділянці протезованого суглоба є підставою для невідкладної ревізії, застосування масованої антибіотикотерапії залежно від виділеної культури з метою попередження інфекційно-запального ускладнення після ревізійного втручання. Контамінованість ділянки протезованого суглоба може бути підставою для профілактичного застосування антибіотиків у післяопераційному періоді, спрямованого клініко-лабораторного спостереження за станом хворого після ревізійного втручання протягом тривалого часу.

Таблиця. Діагностична оцінка мікробіологічних та серологічних показників у разі ревізійного втручання за умов нестабільності ендопротеза

Оцінка	Показники								Рекомендації
	Виділення культури мікроорганізмів		Позитивна мікроскопія		Наявність поліморфно-ядерних лейкоцитів	Концентрація С-РБ, мг/л		Діагностичні титри антитіл в реакції аглютинації з виділеною культурою мікроорганізмів	
	зразки		зразки			≤ 24	≥ 48		
	1	≥ 2	1	≥ 2					
Інфекція		+	+/-	+	+	+	+/-	+	Відповідна антибіотикотерапія
	+		+	+/-	+		+	+	
				+	+		+		
Контамінація	+		+		-	+/-		-	Антибіотикопрофілактика: глікопептиди рифампіцин + фторхінолони диспансерний клініко-лабораторний нагляд
			+		-	+/-			
				+	-	+/-			

Висновки

В навколоротезних тканинах у хворих з асептичною нестабільністю ендопротеза кульшового суглоба мікроорганізми в культурі виявлено у 43,5%, мікроскопічно — у 65,2% хворих.

Мікрофлора навколоротезних тканин представлена грампозитивними мікроорганізмами: коагулазонегативними стафілококами, у тому числі з SCVs фенотипом, каталазонегативними коками роду *Gemella* spp., корінеформними бактеріями, ідентичними в різних зразках від одного хворого.

Для чутливості до антибіотиків виділених видів мікроорганізмів характерна індивідуальна різноманітність за високої метицилінорезистентності з тенденцією до підвищеної резистентності у фенотипів стафілококів.

За оцінкою показників комплексного мікробіологічного та серологічного дослідження у 36% хворих з так званою асептичною нестабільністю компонентів ендопротеза виявлено інфекцію навколоротезних тканин і рекомендовано відповідну чи спрямовану проти метицилінорезистентних мікроорганізмів антибіотикотерапію; у 32,6% хворих виявлено контамінацію тканин і рекомендовано адекватну антибіотикопрофілактику інфекції.

Література

- Сучасні аспекти етіологічної діагностики параротезної інфекції після ендопротезування кульшового та колінного суглобів / С.І. Бідненко, М.П. Грицай, О.Б. Лютко та ін. // Вісн. ортопед., травматол. та протез. — 2008. — № 1(56). — С. 22–27.
- Хирургическое лечение деформирующего артроза тазобедренного сустава воспалительной природы / В.В. Маловичко, Е.В. Огарев, З.И. Уразильдеев и др. // Вестн. травматол. и ортопед. им. Н.И. Приорова. — 2008. — № 4. — С. 32–40.
- Науменко З.С. Характеристика микрофлоры у больных с заболеваниями крупных суставов / З.С. Науменко, Е.А. Волокитина, И.В. Годовых // Гений ортопедии. — 2008. — № 3. — С. 32–34.
- Ревизионное эндопротезирование при асептической нестабильности вертлужной компонента / Г.М. Кронтор, М.И. Дарчук, О.П. Пулбере и др. // Ортопед. травматол. — 2008. — № 4. — С. 67–70.
- Ефективність діагностичних дисків з батуміном при індикації стафілококів / В.В. Смирнов, Л.М. Чуркіна, Г.А. Носенко, С.І. Бідненко // Лікарська справа. — 2002. — № 5–6. — С. 27–31.
- Шерепо Н.К. Асептическая нестабильность протеза как основная проблема тотального эндопротезирования тазобедренного сустава: пути решения / Н.К. Шерепо, К.М. Шерепо // Вестн. травматол. и ортопед. им. Н.И. Приорова. — 2007. — № 1. — С. 43–47.
- Cameron H.U. The effect of early infection on bone ingrowth into porous metal implants / H.U. Cameron, B.T. Yoneda, R.M. Pillar // Acta Orthopaed. Belg. — 1977. — Vol. 43. — P. 71–74.
- Fuerst M. The value of preoperative knee aspiration and arthroscopic biopsy in revision total knee arthroplasty / M. Fuerst, W. Fink, W. Ruther // J. Orthop. Ihre Grenzgeb. — 2005. — Vol. 143 (1). — P. 36–41.
- Extra-abdominal infections due to *Gemella* species / J.M. Garcia-Lechuz, O. Cuevas-Lobato, S. Hemamgomez et al. // Int. J. Infect. Dis. — 2002. — Vol. 6. — P. 78–82.
- Evaluation of measures to decrease intra-operative bacterial contamination in orthopaedic implant surgery / B.A. Knobben, J.K. Van Horn, H.C. Vander Meij, H.J. Busscher // J. Hosp. Infect. — 2006. — Vol. 62. — P. 174–180.
- McNamara P.J. Staphylococcus aureus small colony variants, electron transport and persistent infections / P.J. McNamara, R.A. Proctor // Intern. J. Antimicrobial Agents. — 2000. — № 14. — P. 117–122.
- Musil D. Our experience with revision total knee arthroplasty / D. Musil, J. Stehlik, M. Starek // Acta Chir. Orthop. Traumatol. Cech. — 2005. — Vol. 72. — P. 6–15.
- Staphylococcal Small Colony Variants Have Novel Mechanisms for Antibiotic Resistance / R.A. Proctor, B. Kahl, V.Ch. Eiff, P.E. Vaudaux // Clin. Infect. Dis. — 1998. — Vol. 27 (Suppl 1). — P. 568–574.
- Szczesny G. Septic loosening of hip and knee prosthesis / G. Szczesny, J. Babiak, M. Kowalewski // Chir. Nazzadow Ruchu Ortop. Pol. — 2005. — Vol. 70. — P. 179–184.