

在骨折术后内植物感染中确定致病菌的相关研究

黄坤坤¹, 车晓明²

¹青海大学研究生院, 青海 西宁

²青海省人民医院骨科, 青海 西宁

收稿日期: 2023年5月26日; 录用日期: 2023年6月21日; 发布日期: 2023年6月29日

摘要

术后内植物感染(Infection after fracture fixation, IAFF)是创伤骨科常见的并发症。因其临床症状多样、手术处理复杂、医疗费用高、治疗周期长等特征, 给患者带来严重的经济负担和精神压力。因此, 早期确定致病菌对于指导术后内植物感染的治疗意义重大, 也是治愈疾病的关键所在。因此, 微生物的准确检测是临床处理IAFF的关键, 但受限于检测技术的手段和种植体表面生物膜的难以穿透, 往往使临床上很难准确地检测到致病菌, 药物也很难透过生物膜达到有效的治疗药物浓度。由于术后内植物感染疾病的复杂性、危害性和检测手段的有限性之间的矛盾, 有必要对IAFF的检测手段作一系统梳理。国内的综述多以传统常规的检测方法为主, 故本文对于新的临床常用的检测手段和方法作一综述。

关键词

骨科, 内植物, 感染, 致病菌

Correlative Study on the Identification of Pathogenic Bacteria in Implant Infection after Fracture Surgery

Kunkun Huang¹, Xiaoming Che²

¹Graduate School of Qinghai University, Xining Qinghai

²Department of Orthopedics, Qinghai Provincial People's Hospital, Xining Qinghai

Received: May 26th, 2023; accepted: Jun. 21st, 2023; published: Jun. 29th, 2023

Abstract

Infection after fracture fixation (IAFF) is a common complication in orthopedic trauma. Due to its

various clinical symptoms, complicated surgical treatment, high medical costs, long treatment cycle and other characteristics, it brings serious economic burden and mental pressure to patients. Therefore, early identification of pathogenic bacteria is of great significance for guiding the treatment of postoperative plant infection, and is also the key to cure the disease. Therefore, accurate detection of microorganisms is the key to clinical treatment of IAFF. However, due to the limitations of detection techniques and impenetrability of implant surface biofilm, it is often difficult to accurately detect pathogenic bacteria in clinical practice, and it is difficult for drugs to achieve effective therapeutic drug concentration through biofilm. Due to the contradiction between the complexity and harmfulness of postoperative plant infection diseases and the limitation of detection methods, it is necessary to make a systematic review of detection methods of IAFF. Domestic reviews mainly focus on traditional conventional detection methods, so this paper reviews the new clinical detection methods and methods.

Keywords

Orthopedics, Implant, Infection, Pathogenic Bacteria

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

IAFF 是一种严重的并发症,会导致复杂的翻修手术,尽管大多数情况是由无菌性松动引起的,但导致植入物失败的感染的发生率是不容忽视的。IAFF 的发生率在初次关节置换术中介于 0.5%和 5%之间,但在翻修病例中可能更高[1] IAFF 导致的疾病发病率具有较高的社会经济影响。临床上传统的方法是通过监测白细胞计数、血沉(ESR)、C 反应蛋白(CRP)等来检测内植物感染,但这些指标由于缺乏敏感性或特异性,只能作为辅助检查手段。准确的检测和识别致病菌,可以为指导临床实践做一重要的参考[2]。

2. IAFF 的发病机制

骨科内置物术后感染病原菌主要为铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、鲍氏不动杆菌、表皮葡萄球菌、溶血葡萄球菌(MRCNS)。骨科术后内植物感染的病原菌多存在严重的耐药性。当内植物发生感染时,细菌通常会在内固定物表面形成多糖-蛋白复合生物膜[3]。目前相关文献已经表明抗生素以及细菌释放抗原刺激机体产生的抗体不能穿透生物膜,这就为细菌提供了有利的生存环境,细菌可以免受抗生素以及宿主免疫防御系统的损伤,激活的吞噬细胞也不能杀死生物膜内的细菌。细菌的耐药性以及内植物表面生物膜的形成成为内植物植入术后感染的治疗增加了困难,因此临床医生对于更早确定致病菌的种类有了更迫切的需求。

3. IAFF 的临床表现

早期术后内植物感染,通常表现为愈合障碍、大血肿以及伴随的全身感染症状,如发热和嗜睡。许多晚期感染患者可出现轻微症状、功能受损和压力依赖性疼痛、局部肿胀和红斑或引流性窦道,多数缺乏全身表现。在晚期感染中,骨折愈合受损是经常看到的现象。综上所述,单纯的依赖患者机体表现出来的症状去选择抗生素以及解决问题的措施,对于临床医生是不严谨和科学的。

4. IAFF 的常规检测手段

4.1. 血清检测

血清白细胞计数(WBC)用于诊断许多不同的感染[4]。因此,在疑似 IAFF 病例中也需在术前进行检测。术前白细胞在区分脓毒症和无菌性翻修关节置换术中的价值方面存在不一致的数据。一些研究表明,与未感染患者相比,感染患者的血清 WBC 水平并不高[5] [6] [7] [8]此外,与血清 WBC 相比,其他血清参数在 IAFF 的诊断中显示出更好的性能[8]。

红细胞沉降率(ESR)类似于血清 CRP,是受任何全身感染或炎症影响的一般参数。因此它是 IAFF 的非特异性标记。然而 AAOS 和 MSIS 再次支持使用 ESR 来帮助 IAFF 的术前诊断[9] [10],而 EBJIS 由于其低准确性而没有将其纳入其感染的定义中。同样在低毒力生物引起的 IAFF 患者中,ESR 水平可能是正常的[11]。

血清 C 反应蛋白(CRP)是躯体在应对感染、炎症和肿瘤时产生的一种急性期反应物[6]。C 反应蛋白是受任何全身炎症性疾病影响的一般参数。因此,它不是纯粹的针对 IAFF。急性术后和急性血源性感染通常由金黄色葡萄球菌或链球菌等高毒力生物引起,通常很容易被识别[12]。在这些急性感染中,血清 CRP 水平高度升高。然而,血清 CRP 水平会受到手术中组织损伤的影响。

4.2. IAFF 的微生物学检测

另一种常规的诊断方法就是组织培养。骨与关节周围组织标本培养是用于诊断假体感染微生物学的标准方法,但这种方法既不敏感也不特异。在假体感染中,种植体相关感染通常是由微生物在种植体表面形成生物膜引起的,并不总是存在于周围组织中[13] [14]。传统的培养的方法已经很成熟,但仍有缺陷。传统培养基无法检测已形成生物膜或已被成骨细胞内化的微生物。假阴性培养不仅是选择正确抗菌治疗的挑战,而且往往是患者和外科医生焦虑的根源,他们可能会质疑诊断,因为他们无法识别病原体。因此没有正确的微生物检测和鉴定,最终的诊断是模糊的,正确的选择抗生素治疗也无法实现。

5. IAFF 的新检测方法

5.1. IL-6

白细胞介素 6 (IL-6)是一种血清生物标志物,在存在细菌感染和相关组织损伤的情况下释放。初次关节置换术后,其浓度迅速增加,在 3 至 6 小时后达到峰值。由于其 15 小时的短半衰期,IL-6 迅速恢复到正常浓度(比 CRP 快得多) [15]。据报道,IL-6 在诊断 PJI 方面具有良好的准确性 Bottner 等人[14],在 78 名接受全膝关节或髌关节置换术翻修术患者(21 例 PJI)的队列中表明,IL-6 具有非常好的敏感性和特异性,分别为 95%和 87%。但对于 IL-6 的性能还存在有争议,因此,无法给出合适的建议。需要进一步的研究来阐明 IL-6 在诊断 PJI 中的诊断价值。

5.2. PCT

降钙素原(PCT)在诊断败血症和细菌感染方面表现出良好的性能[16]。Bottner 等人[14]的研究可以显示出非常好的特异性(98%),并且在脓毒症(1.5 ng/mL)和无菌(0.1 ng/mL)病例的平均 PCT 水平之间存在统计学上的显著差异($p = 0.0033$),PCT 的敏感性较差(33%)。因此,PCT 是一个特定参数——PCT 浓度升高的患者很可能发生感染。尽管 PCT 似乎是检测全身细菌感染的良好标志物,但由于其准确性较差,不能用作诊断假体周围关节感染的术前参数。

5.3. D-二聚体和纤维蛋白原

除了炎症反应的生物标志物外,D-二聚体和纤维蛋白原水平等凝血指标也可用于检测 PJI。已发现纤

纤维蛋白原是一种更有前途的标志物, 其敏感性和特异性与传统炎症标志物相似。血浆纤维蛋白原的敏感性和特异性范围分别 76.3%~81.0%和 25.0%~86.2% [17] [18]。D-二聚体与其他生物标志物测试相结合时, 可以看出其特异性有所提高, 因为 D-二聚体本身的敏感性和特异性值分别为 67.44%和 44.09%。然而, 当与纤维蛋白原和 CRP 测试配对时, 特异性增加到 90.14%, 而敏感性下降到仅 56.10% [19]。总体而言, 血浆纤维蛋白原似乎与排除 PJI 的炎症标志物一样有效, 但 D-二聚体作为信息性生物标志物的临床相关性似乎不太乐观。

5.4. PCR

聚合酶链式反应(Polymerase chain reaction, PCR)被报道为一种快速鉴定病原体的分子方法[20]。在骨科感染的诊断中引入分子方法已经 10 多年了, 这些方法仍然是一个研究和讨论的问题。Gallo 等人[19]和 Spanghel 等人[20]研究了聚合酶链式反应(PCR)如何在 PJI 诊断中发挥重要作用。越来越多的分子生物学技术被应用于诊断假体周围感染, 其中针对细菌共有基因 16SrRNA 是目前微生物诊断的研究热点, 能有效弥补普通培养的假阴性率。通过对每个患者的几个独立样本进行聚合酶链式反应, 以及使用针对病原体毒力因子基因的特异引物和 16SrRNA 基因引物, 增加特异性, 可以减少假阳性发生率。研究应用聚合酶链式反应(PCR)技术检测细菌 DNA 特定片段的扩增来对假体周期感染而做出诊断[21]。该技术的敏感性高, 但是在细菌死亡或者已被抗生素清除的条件下, 实验结果常出现假阳性[22]。

聚合酶链式反应的另一个主要缺点是病原体鉴定可能并不简单如果使用通用引物来扩增所有存在的细菌的 16SrRNA 基因, 则必须对产生的聚合酶链式反应扩增产物进行测序并与已知序列进行比较, 这是一个漫长而昂贵的过程, 需要高质量的数据库。然而, 如果使用分类群特有的 16SrRNA 基因引物, 将无法检测到不属于调查的分类群的微生物。幸运的是, 这两种方法都得到了改进, 人类相关微生物的全面数据库已经广泛可用。

目前, 对于种植体相关的骨、关节感染患者, PCR 检测主要可以鉴定出金黄色葡萄球菌, 即使是小菌落变异感染, 以及厌氧菌[23] [24]。事实上, 通过广谱 PCR 重新发现了大纤足菌(*Finnegoldia magna*)作为假体关节感染病原体的意义[25]。PCR 也证实惠普尔滋养体是假体关节感染的病原, 没有其他典型的惠普尔病征象[26] [27] [28]。因此, 广谱 PCR 在诊断难以培养的生物体时是有用的, 特别是当病原体是罕见的或未知的。

PCR 4~6 小时就能得到明确的结果, 而培养则需要 1~14 天。术前使用抗菌药物(包括用于抑制 PJI 并在术前一个月内停止使用的抗菌药物)可能会影响培养的敏感性。与之前使用抗生素的培养相比, PCR 组受到的影响较小。在一些受试者中, 经过 1~2 个月的抗生素治疗后, PCR 呈阳性, 显示出持久性抗生素治疗后的骨骼和关节样本中的细菌 DNA [29]此外, 它还可以更快地识别和管理感染病例。在聚合酶链式反应的帮助下, 外科医生可以在诊断程序的早期阶段区分感染和非感染患者, 从而可以更加合理的使用抗生素。

6. 展望

综上所述, 微生物培养是诊断种植体相关骨、关节感染的常规方法, 但其特异性和敏感性均存在不足。分子诊断已成为传染病诊断的重要一步。目前分子诊断主要包括常规的宽范围 PCR 检测和特异性 PCR 检测。这些工具是有效的, 但存在一些缺陷, 需要在过程的所有步骤中严格执行。在植入物相关的骨和关节感染中, 当患者之前接受抗生素治疗或存在挑剔的微生物时, 分子检测已被证明在补充培养技术以识别微生物方面是有用的。以聚合酶链式反应(PCR)为基础的分子检测技术具有特异性强、灵敏度高、操作简便、耗时短的特点, 此技术已越来越多地应用于致病菌的临床检测。PCR 结果也能指导医生采取最佳的经验策略。分子检测是在跨学科基础上提高种植体相关骨和关节感染诊断的又一工具。

参考文献

- [1] Roberts, V.I., Esler, C.N. and Harper, W.M. (2007) A 15-Year Follow-Up Study of 4606 Primary Total Knee Replacements. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, **89**, 1452-1456. <https://doi.org/10.1302/0301-620X.89B11.19783>
- [2] Oethinger, M., Warner, D.K., Schindler, S.A., Kobayashi, H. and Bauer, T.W. (2011) Diagnosing Periprosthetic Infection: False-Positive Intraoperative Gram Stains. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, **469**, 954-960. <https://doi.org/10.1007/s11999-010-1589-9>
- [3] Arciola, C.R., Campoccia, D. and Montanaro, L. (2018) Implant Infections: Adhesion, Biofilm Formation and Immune Evasion. *Nature Reviews Microbiology*, **16**, 397-409. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0019-y>
- [4] Dale, D.C. (1991) A New Look at an Old Laboratory Test: The WBC Count. *Journal of General Internal Medicine*, **6**, 264. <https://doi.org/10.1007/BF02598976>
- [5] Nilsson-Augustinsson, A., Briheim, G., Herder, A., Ljunghusen, O., Wahlström, O. and Ohman, L. (2007) Inflammatory Response in 85 Patients with Loosened Hip Prostheses: A Prospective Study Comparing Inflammatory Markers in Patients with Aseptic and Septic Prosthetic Loosening. *Acta Orthopaedica*, **78**, 629-639. <https://doi.org/10.1080/17453670710014329>
- [6] Matsen Ko, L. and Parvizi, J. (2016) Diagnosis of Periprosthetic Infection: Novel Developments. *Orthopedic Clinics of North America*, **47**, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.ocl.2015.08.003>
- [7] Tubb, C.C., Polkowsi, G.G. and Krause, B. (2020) Diagnosis and Prevention of Periprosthetic Joint Infections. *Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*, **28**, e340-e348. <https://doi.org/10.5435/JAAOS-D-19-00405>
- [8] Parvizi, J., Gehrke, T. and Chen, A.F. (2013) Proceedings of the International Consensus on Periprosthetic Joint Infection. *The Bone & Joint Journal*, **95-B**, 1450-1452. <https://doi.org/10.1302/0301-620X.95B11.33135>
- [9] Shahi, A., Kheir, M.M., Tarabichi, M., Hosseinzadeh, H.R.S., Tan, T.L. and Parvizi, J. (2017) Serum D-Dimer Test Is Promising for the Diagnosis of Periprosthetic Joint Infection and Timing of Reimplantation. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, **99**, 1419-1427. <https://doi.org/10.2106/JBJS.16.01395>
- [10] Zimmerli, W. (2014) Clinical Presentation and Treatment of Orthopaedic Implant-Associated Infection. *Journal of Internal Medicine*, **276**, 111-119. <https://doi.org/10.1111/joim.12233>
- [11] Trampuz, A., Osmon, D.R., Hanssen, A.D., Steckelberg, J.M. and Patel, R. (2003) Molecular and Antibiofilm Approaches to Prosthetic Joint Infection. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, **414**, 69-88. <https://doi.org/10.1097/01.blo.0000087324.60612.93>
- [12] Costerton, J.W. (2005) Biofilm Theory Can Guide the Treatment of Device-Related Orthopaedic Infections. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, **437**, 7-11. <https://doi.org/10.1097/00003086-200508000-00003>
- [13] Wirtz, D.C., Heller, K.D., Miltner, O., Zilkens, K.W. and Wolff, J.M. (2000) Interleukin-6: A Potential Inflammatory Marker after Total Joint Replacement. *International Orthopaedics*, **24**, 194-196. <https://doi.org/10.1007/s002640000136>
- [14] Bottner, F., Wegner, A., Winkelmann, W., Becker, K., Erren, M. and Götze, C. (2007) Interleukin-6, Procalcitonin and TNF- α : Markers of Peri-Prosthetic Infection Following Total Joint Replacement. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, **89**, 94-99. <https://doi.org/10.1302/0301-620X.89B1.17485>
- [15] Vijayan, A.L., Vanimaya, R.S., Saikant, R., Lakshmi, S., Kartik, R. and Manoj, G. (2017) Procalcitonin: A Promising Diagnostic Marker for Sepsis and Antibiotic Therapy. *Journal of Intensive Care*, **5**, Article No. 51. <https://doi.org/10.1186/s40560-017-0246-8>
- [16] Klim, S.M., Amerstorfer, F., Gruber, G., Bernhardt, G.A., Radl, R., Leitner, L., Leithner, A. and Glehr, M. (2020) Author Correction: Fibrinogen—A Practical and Cost Efficient Biomarker for Detecting Periprosthetic Joint Infection. *Scientific Reports*, **10**, Article No. 13795. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-70336-z>
- [17] Xu, H., Xie, J., Huang, Q., Lei, Y., Zhang, S. and Pei, F. (2019) Plasma Fibrin Degradation Product and D-Dimer Are of Limited Value for Diagnosing Periprosthetic Joint Infection. *The Journal of Arthroplasty*, **34**, 2454-2460. <https://doi.org/10.1016/j.arth.2019.05.009>
- [18] Fenollar, F. and Raoult, D. (2004) Molecular Genetic Methods for the Diagnosis of Fastidious Microorganisms. *APMIS*, **112**, 785-807. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2004.apm11211-1206.x>
- [19] Gallo, J., Raska, M., Dendis, M., Florschütz, A.V. and Kolár, M. (2004) Molecular Diagnosis of Prosthetic Joint Infection. A Review of Evidence. *Biomedical Papers*, **148**, 123-129. <https://doi.org/10.5507/bp.2004.022>
- [20] Spanghel, M.J., Younger, A.S., Masri, B.A. and Duncan, C.P. (1998) Diagnosis of Infection Following Total Hip Arthroplasty. *Instructional Course Lectures*, **47**, 285-495.
- [21] Zimmerli, W., Trampuz, A. and Ochsner, P.E. (2004) Prosthetic-Joint Infections. *The New England Journal of Medicine*, **351**, 1645-1654. <https://doi.org/10.1056/NEJMra040181>

-
- [22] Riede, U., Graber, P. and Ochsner, P.E. (2004) Granulicatella (Abiotrophia) Adiacens Infection Associated with a Total Knee Arthroplasty. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, **36**, 761-764. <https://doi.org/10.1080/00365540410021009a>
- [23] Levy, P.Y., Fenollar, F., Stein, A., Borriore, F. and Raoult, D. (2009) *Fingoldia magna*: A Forgotten Pathogen in Prosthetic Joint Infection Rediscovered by Molecular Biology. *Clinical Infectious Diseases*, **49**, 1244-1247. <https://doi.org/10.1086/605672>
- [24] Cremniter, J., Bauer, T., Lortat-Jacob, A., Vodovar, D., Le Parc, J.M., Emile, J.F., Franc, B., Sebbag, P., Gaillard, J.L. and Heym, B. (2008) Prosthetic Hip Infection Caused by *Tropheryma whipplei*. *Journal of Clinical Microbiology*, **46**, 1556-1557. <https://doi.org/10.1128/JCM.02451-07>
- [25] Lagier, J.C., Lepidi, H., Raoult, D. and Fenollar, F. (2010) Systemic *Tropheryma whipplei*: Clinical Presentation of 142 Patients with Infections Diagnosed or Confirmed in a Reference Center. *Medicine*, **89**, 337-345. <https://doi.org/10.1097/MD.0b013e3181f204a8>
- [26] Fenollar, F., Puéchal, X. and Raoult, D. (2007) Whipple's Disease. *The New England Journal of Medicine*, **356**, 55-66. <https://doi.org/10.1056/NEJMra062477>
- [27] Trampuz, A., Piper, K.E., Jacobson, M.J., Hanssen, A.D., Unni, K.K., Osmon, D.R., Mandrekar, J.N., Cockerill, F.R., Steckelberg, J.M., Greenleaf, J.F. and Patel, R. (2007) Sonication of Removed Hip and Knee Prostheses for Diagnosis of Infection. *The New England Journal of Medicine*, **357**, 654-663. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa061588>
- [28] van der Heijden, I.M., Wilbrink, B., Vije, A.E., Schouls, L.M., Breedveld, F.C. and Tak, P.P. (1999) Detection of Bacterial DNA in Serial Synovial Samples Obtained during Antibiotic Treatment from Patients with Septic Arthritis. *Arthritis & Rheumatism*, **42**, 2198-2203. [https://doi.org/10.1002/1529-0131\(199910\)42:10<2198::AID-ANR23>3.0.CO;2-N](https://doi.org/10.1002/1529-0131(199910)42:10<2198::AID-ANR23>3.0.CO;2-N)
- [29] Canvin, J.M., Goutcher, S.C., Hagig, M., Gemmell, C.G. and Sturrock, R.D. (1997) Persistence of Staphylococcus Aureus as Detected by Polymerase Chain Reaction in the Synovial Fluid of a Patient with Septic Arthritis. *Rheumatology*, **36**, 203-206. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/36.2.203>