

髋关节置换后感染的微生物学分析和生物被膜研究

郝立波¹ 韩黎² 王岩¹ 周勇刚¹ 王继芳¹ 孟玉芬²

(中国人民解放军总医院骨科 北京 100853)¹

(中国人民解放军总医院感染管理科 北京 100853)²

摘要: 对髋关节置换后感染病例的微生物学结果进行研究, 分析细菌培养结果、药敏结果、术前和术中培养结果符合率和生物被膜形成情况。发现术前和术中培养阳性率较低, 分别为 77.1% 和 78.5%, 术前和术中培养结果符合率也不高, 仅为 59.1%; 表皮葡萄球菌和金黄色葡萄球菌占术前和术中培养比例分别为 56.2% 和 46%, 细菌对青霉素、氨苄西林、苯唑西林的耐药比例很高, 表皮葡萄球菌形成大量生物被膜。上述结果表明目前的细菌学诊断手段准确性不高, 应改进取材和培养方法, 提高诊断准确性; 髋关节置换后感染细菌中高毒力菌株和耐药菌株比例高, 细菌可形成大量生物被膜, 是引起感染难治的主要因素。

关键词: 人工髋关节置换, 感染, 细菌培养

中图分类号: R687.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2005) 04-0124-05

The Microbiological Analysis and Biofilm Study of Infected Hip Joint Replacement Patients

HAO Li-Bo¹ HAN Li² WANG Yan¹ ZHOU Yong-Gang¹
WANG Ji-Fang¹ MENG Yu-Fen²

(Department of Orthopedic, China PLA General Hospital, Beijing 100853)¹

(Department of Infection Control & Research, China PLA General Hospital, Beijing 100853)²

Abstract: Review the microbiological result of infected total hip replacement cases we found that positive rate of preoperative and intraoperative culture is only 77.1% and 78.5%, and the coincidence rate of preoperative and intraoperative culture results only 59.1%. In all organisms about 56.2% and 46% is *staphylococcus* of preoperative and intraoperative culture respectively. *Staphylococcus* can form massive biofilm. The result shows that in total hip replacement infection, the accurate rate of preoperative and intraoperative culture is low and need to improve, and the virulent and resistance organisms maintain a high rate lead to it is hard to cure.

Key words: Total hip replacement, Infection, Bacterial culture

人工髋关节置换术已经成为治疗髋关节疾病的标准手术, 而髋关节置换后感染通常被称为“灾难性并发症”, 其治疗困难, 易导致死亡或残疾, 报告的死亡率在 7% ~ 62% 之间。引起感染的细菌多为凝固酶阴性葡萄球菌、金黄色葡萄球菌、G⁻杆菌等, 而且此类感染的典型特征为形成生物被膜。该被膜可起到保护细菌和对抗机体及抗生素作用的效果, 从而增加细菌的毒力和抵抗力。因此详细了解髋关节置换后感染的细菌毒力、耐药性以及生物被膜形成情况等细菌学诊断指标对指导临床抗生素选择及治疗极为重要^[1], 但目前国内还没有这方面大组病例的详细资料, 本文总结我院收治的

通讯作者 Tel: 010-66937100, E-mail: Libo_h@hotmail.com

收稿日期: 2004-10-28, 修回日期: 2004-12-16

髋关节置换后感染病例,着重分析微生物学培养结果,为该并发症的诊断和治疗提供参考。

1 材料与方法

1.1 病例选择和诊断标准

本组共43例,选自1975年5月~2004年12月,均经临床明确诊断为人工髋关节置换术后感染。当前较为公认的临床诊断标准包括:(1)置换关节曾有明确的关节感染症状;(2)如有窦道则确诊;(3)如无窦道,术前关节穿刺培养或术中培养为阳性则确诊;(4)术中病理明确为化脓性感染可确诊。

1.2 术前、术中细菌培养和药敏分析

术前取样:如果患者已形成窦道,则用硅胶管沿窦道穿入关节腔,透视下注入造影剂,确定硅胶管已进入关节腔后,抽取关节液注入普通培养管培养;如果患者没有形成窦道,则透视下用心包穿刺针穿入髋关节,透视下注入造影剂,确定穿刺针在关节腔内后抽取关节液,注入普通培养管培养。

术中取样:治疗手术中采用髋关节后外侧入路常规显露髋关节,暴露假体后,用无菌棉签在假体表面沾取关节液后放入普通培养管内。

将所有标本接种血平板,37℃培养过夜。进行单菌落分离,经富集培养后,取一定量菌用0.45%的无菌生理盐水稀释,浓度达1.0 mol/L(用麦氏比浊管或电子比浊仪测量)。利用VITEK-AMS,自动微生物分析仪的GNI卡,进行各菌株生化反应鉴定及抗生素敏感性实验(同时)。抗生素包括青霉素、苯唑西林、氨苄西林、哌拉西林、先锋V、先锋必、贝司特克、泰能、庆大霉素、环丙沙星、复方新诺明、万古霉素,并对生化及药敏实验结果进行分析。

1.3 生物被膜染色分析

手术中取假体周围被膜组织,用10%福尔马林固定后进行HE染色、革兰氏染色和奥辛兰染色,分析感染性生物被膜形成情况,奥辛兰染色中红色为细胞外粘多糖物质。

2 结果

2.1 关节感染症状

关节感染症状主要包括:发热、疼痛和窦道形成。其中12例病人曾有发热症状,所有病例均有髋部疼痛,30例病人有窦道形成。入院后实验室检查:白细胞计数平均为 $6.56 \times 10^9/L$,ESR平均为39.3mm/h,CRP平均为2.4mg/dL,所有病人入院时白细胞计数均在正常水平,ESR和CRP均增高。

2.2 细菌培养结果

43例患者中术前培养35例,阳性27例(其中混合感染病例5例),阴性8例,阳性率77.1%;术中培养42例,阳性33例(其中混合感染17例),阴性9例,阳性率78.5%,对两组阳性率进行统计学分析 $P > 0.05$,没有显著的统计学差异。43例患者中有34例术前术中均行细菌培养,22例术前术中培养均为阳性,其中结果一致的13例,结果部分相同的4例病人,结果完全不同的5例,符合率59.1%。术前和术中培养的细菌学结果见表1,葡萄球菌占术前和术中培养细菌的比例分别为56.2%和46%。

药敏结果见表2, 细菌对青霉素、氨苄西林、苯唑西林的耐药比例很高, 而泰能和万古霉素尚无耐药菌株。

表1 术前及术中培养阳性的细菌株数及构成比

细菌名称	术前		术中	
	株数	构成比例 (%)	株数	构成比例 (%)
金黄色葡萄球菌	5	15.6	8	16.0
表皮葡萄球菌	13	40.6	15	30.0
白色葡萄球菌	2	6.3	4	8.0
腐生葡萄球菌	1	3.1	0	0
大肠杆菌	2	6.3	5	10.0
鲍氏不动杆菌	3	9.4	2	4.0
热带念珠菌	1	3.1	1	2.0
类白喉杆菌	1	3.1	1	2.0
异型枸橼酸杆菌	1	3.1	1	2.0
阴沟肠杆菌	2	6.3	2	4.0
沙门氏菌	1	3.1	2	4.0
费劳地枸橼酸杆菌	0	0	2	4.0
粪肠球菌	0	0	2	4.0
克雷白氏菌属	0	0	1	4.0
绿脓杆菌	0	0	3	6.0
革兰氏染色阳性杆菌	0	0	1	2.0
总计	32	100.00	50	100.00

表2 常用药物的药敏结果

药物	总菌株数	敏感株数	耐药株数	耐药率 (%)
青霉素	23	5	18	78.3%
苯唑西林	19	10	9	47.4%
氨苄西林	13	2	11	84.6%
哌拉西林	12	10	2	16.7%
先锋 V	20	15	5	25.0%
先锋必	11	11	0	0
贝司特克	8	6	2	25.0%
泰能	10	10	0	0
庆大霉素	33	17	16	48.5%
环丙沙星	14	12	2	14.3%
复方新诺明	19	7	12	63.2%
万古霉素	11	11	0	0

2.3 窦道形成与细菌培养结果之间的关系

本组病人中共 30 例有窦道形成, 根据术中培养结果分析窦道形成与细菌培养结果之间的关系, 30 例窦道形成的病人中 9 例为一种细菌感染, 16 例为混合感染, 5 例培养阴性; 12 例无窦道的病人中 7 例为一种细菌感染, 1 例为混合感染, 4 例培养阴性。分析混合感染与窦道形成之间的关系, $P < 0.05$, 说明窦道形成与混合感染有直接关系。

2.4 生物被膜观察结果

38 例病人术中取材行病理检查, 其中 5 例病理为急性炎性改变, 24 例为慢性炎性改变, 9 例为急性和慢性炎性改变。病理检查发现表皮葡萄球菌感染的假体周围组织形成大量生物被膜, 被膜内有大量的革兰氏染色阳性细菌, 基质内有大量的细胞外粘多糖物质 (图 1)。

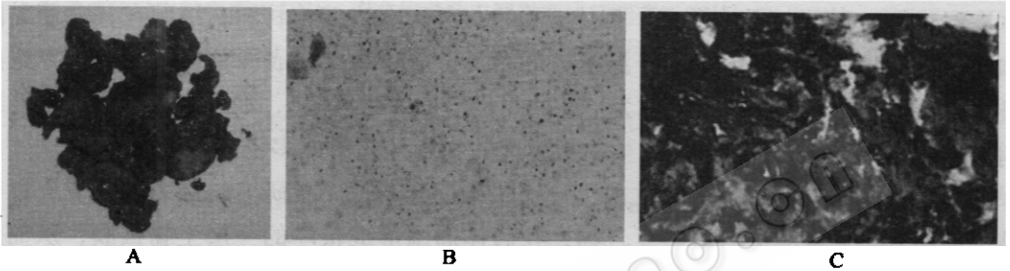


图 1 表皮葡萄球菌生物被膜

- A 病人感染假体周围形成大量的感染性生物被膜, B 革兰氏染色显示被膜内有大量阳性球菌 ($\times 20$), C 奥辛兰染色显示被膜基质内有大量细胞外粘多糖物质 ($\times 40$)

3 讨论

3.1 细菌培养在髌关节置换后感染诊断中的应用

细菌培养结果是髌关节置换后感染诊断和治疗的基础, 非常重要。但是, 由于髌关节置换感染后病人常常应用大量抗生素, 细菌培养阳性率较低, 一般在 60% ~ 80% 之间^[2]。本组术前和术中培养的阳性率分别仅为 77.1% 和 78.5%。多数作者建议培养取材时取多个标本, 一般应取 3 ~ 5 个标本, 如果 2 个以上标本培养出相同细菌, 则可确定人工髌关节感染的菌株^[3]。术前窦道培养和关节穿刺培养是主要的两种术前培养方法, 但是, 窦道与外界相通时培养结果不一定准确; 穿刺培养中放置穿刺针在技术上有难度, 有时不能抽出液体, 可能导致培养结果假阴性; 而术前术中培养细菌的符合率并不很高, 本组仅为 59.1%; 这说明依目前的术前培养结果作为髌关节置换后感染准确的细菌学依据并不可靠。建议所有怀疑髌关节置换后感染病例均进行术前关节穿刺培养, 穿刺过程中应反复抽吸关节液, 取 3 ~ 5 个标本送培养, 如果无法抽出液体, 可向关节内注入生理盐水后再进行抽吸^[4], 以提高准确性。

3.2 髌关节置换后感染的细菌学特征

革兰氏染色阳性球菌是髌关节置换后感染的主要菌种。Fitzgerlad 等^[5]报道, 髌关节感染病例中革兰氏染色阳性球菌占 76%, 其中表皮葡萄球菌和金黄色葡萄球菌占

45%，草绿色链球菌、D族溶血性链球菌和肠球菌等其他革兰氏染色阳性球菌占14%。本组病例结果与上述结果类似，本组中表皮葡萄球菌、金黄色葡萄球菌分别占术前培养和术中培养细菌的56.2%和46%。另外，本组中革兰氏阴性杆菌的比例较高，如大肠杆菌、绿脓杆菌、沙门氏菌等。在髋关节置换后感染中，细菌毒力是影响治疗和预后的重要因素，一般认为D族溶血型链球菌、革兰氏染色阴性细菌、耐青霉素葡萄球菌和混合感染为高毒力感染^[6]，从本组结果来看，培养中除没有D族溶血型链球菌外，革兰氏染色阴性细菌、耐青霉素葡萄球菌和混合感染均占很高比例。这说明髋关节置换后感染的细菌中高毒力细菌和耐药细菌占较高比例，这也是髋关节置换后感染难治的原因之一。

3.3 假体周围感染性生物被膜

对于慢性髋关节置换后感染，如果不取出假体和骨水泥，几乎不可能彻底消灭假体周围感染。Gristina等^[7]指出，假体或生物材料可充当基体材料，细菌在其表面黏附和增殖，同时与宿主细胞竞争分泌蛋白或糖类，与生物材料表面整合或结合，导致感染难以治愈，他们将这种现象称为“生物材料表面聚集竞争”，如果细菌获胜，就能黏附在假体表面并形成生物被膜，生物被膜内的细胞外基质或多糖-蛋白质复合物进一步保护细菌免受抗生素或宿主的攻击，导致感染迁延不愈。本研究结果表明，表皮葡萄球菌能够分泌大量的多糖蛋白复合物，在假体周围形成很厚的一层生物被膜，从而起到保护细菌和对抗机体及抗生素作用的效果。多糖-蛋白质复合物能增强微生物的黏附能力；降低宿主防御和抗生素的效率；改变细菌的表型。对于微生物这种生存和保护机制，可以考虑以下几种治疗方法：首先，通过改变生物材料表面的性能，使之具有更好的生物相容性，能够接受组织细胞，进而通过健康组织细胞和材料表面之间的相互作用对抗微生物，使假体受到保护，这是对抗微生物黏附和感染一种思路；另外也急需研究能够穿透生物被膜的新型抗生素；第三，开发机械性清除假体表面生物被膜的方法，也能提高治疗效果。

4 结论

髋关节置换后感染的细菌中高毒力菌株和耐药菌株比例较高，表皮葡萄球菌可形成大量生物被膜，是引起感染难以治愈的主要因素；目前的细菌学诊断手段准确性不高，应改进取材和培养方法以提高诊断准确性。

参考文献

- [1] Salvati F A, Gonzalez Della Valle A, Masri B A, *et al.* Instr Course Lect, 2003, 52: 223 ~ 245.
- [2] Pandey R, Berendi A R, Athanasou N A. Arch Orthop Trauma Surg, 2000, 120 (10): 570 ~ 574.
- [3] Hanssen A D, Spanghel M J. Clin Orthop, 2004, 420: 63 ~ 71.
- [4] Tsukayama D T, Goldberg V M, Kyle R. J Bone Joint Surg Am, 2003, 85-A Suppl 1: S75 ~ 80.
- [5] Fitzgerald Jr Rh. J Am Acad Orthrop Surg, 1995, 33: 2.
- [6] Kilgus D J, Howe D J, Strang A. Clin Orthop, 2002, 404: 116 ~ 124.
- [7] Garvin K L, Hanssen A D. J Bone Joint Surg Am, 1995, 77 (10): 1576 ~ 1588.