



UNIVERSITATEA
LUCIAN BLAGA
— DIN SIBIU —



Școala doctorală interdisciplinară

Domeniul de doctorat: **Medicină**

TEZĂ DE DOCTORAT

**Diagnosticul și Managementul infecțiilor
asociate biofilmului din implanturile
ortopedice**

rezumat

doctorand:

RAREȘ-MIRCEA BÎRLUȚIU

conducător științific:

Prof. univ. dr. MANUELA MIHALACHE

<i>Mulțumiri</i>	1
<i>Cuprins</i>	2
<i>PARTE TEORETICĂ</i>	5
<i>1. INTRODUCERE – SCURT ISTORIC AL BIOFILMULUI BACTERIAN ȘI AL INFECȚIILOR ASOCIATE BIOFILMULUI.</i>	6
<i>2. BIOFILMUL BACTERIAN – FORMĂ EMERGENTĂ DE VIAȚĂ A BACTERIILOR.</i>	7
2.1 Comunicările intercelulare din biofilm sau cell-to-cell communication/quorum sensing.....	10
2.2 Eterogenitatea și interacțiunile sociale	11
2.3 Impactul economic al biofilmului.....	12
2.4 Infecțiile cronice. Etape de dezvoltare și evidențiere ale biofilmului.....	13
<i>3. ACTUALITĂȚI ÎN STUDIUL BIOFILMULUI BACTERIAN.</i>	8
3.1 Practici de diagnostic curente	17
3.2 Îmbunătățirea diagnosticului actual: Dificultăți și considerații	17
3.3 Metode de diagnostic	19
3.4 Concluzii	25
<i>4. INFECȚIILE PERIPROTETICE.</i>	9
4.1 Introducere.....	9
4.2 Definiție și clasificări.....	9
4.3 Tablou clinic	11
4.4 Microbiologie.	11
4.5 Diagnosticul paraclinic al infecțiilor asociate implanturilor ortopedice - imagistica medicală la implementare în rutină.....	12
4.6 Infection-specific tracers	44
4.7 Viitorul. SPECT / CT. Flourine18-fluoride-PET	45
4.8 Diagnosticul paraclinic al infecțiilor asociate implanturilor ortopedice – diagnosticul de laborator.....	12
4.9 Managementul terapeutic.....	14
4.10 Concluzii.....	14
<i>5. ROLUL BIOMARKERILOR ÎN DIAGNOSTICUL INFECȚIILOR PERIPROTETICE.</i>	59

5.1	Biomarkerii serici	59
5.2	Biomarkerii din lichidul sinovial	60
6.	<i>EXISTĂ O SCHIMBARE A ETIOLOGIE INFECȚIILOR PERIPROTETICE? MDR-EB?... 64</i>	
	<i>CONTRIBUȚIA PERSONALĂ.....</i>	<i>16</i>
1.	<i>MOTIVAȚIA ALEGERII TEMEI DE CERCETARE.....</i>	<i>17</i>
2.	<i>SPECIFICAREA PROBLEMEI DE CERCETARE - ÎNTREBĂRILE DE CERCETARE -</i>	
	<i>OBIECTIVELE DE CERCETARE.</i>	<i>17</i>
3.	<i>MATERIAL ȘI METODĂ.....</i>	<i>18</i>
4.	<i>REZULTATE.....</i>	<i>23</i>
4.1	Aspecte demografice, clinice și de laborator. Clasificarea infecțiilor periprotetice.....	23
4.2	Clasificarea histopatologică a patologiei asociate implantului endoprotetic.....	29
4.3	Considerații asupra aspectelor etiologice	30
4.4	Timpul de pozitivare a culturilor bacteriene la pacienții cu infecție asociate implanturilor endoprotetice.....	138
4.5	Identificarea moleculară a bacteriilor cu ajutorul tehnologiei 16S rRNA bbFISH (beacon-based fluorescent in situ hybridization) din lichidul de sonicare.....	32
4.6	Caracteristicile microbiologice ale tulpinilor izolate.....	34
4.7	Comorbidități. Charlson Comorbidity Index	34
4.8	Managementul terapeutic.....	36
4.9	Follow-up.....	38
4.10	Implicații economice. Durata de spitalizare.	39
5.	<i>PREZENTĂRI DE CAZ – RALSTONIA PICKETTII ASOCIATĂ INFECȚIILOR</i>	
	<i>PERIPROTETICE – ESTE O NOUĂ PROVOCARE?</i>	<i>40</i>
6.	<i>DISCUȚII.....</i>	<i>41</i>
7.	<i>CONCLUZII.....</i>	<i>43</i>
	<i>REDOMANDĂRI – de prevenție, diagnosticare și management a infecțiilor periprotetice</i>	
	<i>asociate artroplastilor de șold și genunchi.....</i>	<i>270</i>
	<i>Bibliografie</i>	<i>48</i>
	<i>LISTA FIGURILOR.....</i>	<i>312</i>
	<i>LISTA TABELELOR.....</i>	<i>318</i>

Cuvinte cheie: *biofilm; infecții periprotetice; sonicare; tehnici moleculare; bbFISH®; clasificări; tablou clinic; microbiologie; culturi; susceptibilitate; Ralstonia pickettii; histopatologie; management; implicații economice.*

PARTE TEORETICĂ

1. INTRODUCERE – SCURT ISTORIC AL BIOFILMULUI BACTERIAN ȘI AL INFECȚIILOR ASOCIATE BIOFILMULUI.

Biofilmul bacterian este definit ca “un agregat de celule microbiene înconjurate de o matrice polimetrică, mono sau pluribacterian”. Biofilmul bacterian poate fi sau nu aderent de suprafețe, acesta fiind predominant întâlnit în țesuturi și secreții biologice, totodată fiind posibilă și prezența de componente ale gazdei în structura acestuia (1).

În medicină, Niels Nøibi observă pentru prima dată legătura dintre etiologia infecțiilor bacteriene cronice și agregatele bacteriene, în perioada 1970-1972, prin examinări microscopice de rutină ale frotiurilor cu spută de la pacienții cu fibroză chistică, frotiuri colorate Gram, la pacienții ce prezentau infecții pulmonare cronice cu *Pseudomonas aeruginosa*, dar și din specimene pulmonare prelevate de la pacienți decedați în urma infecțiilor pulmonare cronice cu *Pseudomonas aeruginosa*. (specimene prelevate în urma autopsiilor), în perioada 1974-1978.

1977 reprezintă anul în care s-a publicat pentru prima dată o imagine a unui biofilm, imagine ce evidențiază un agregat bacterian înconjurat de o “mâzgă/slime” ce ulterior va fi cunoscută sub termenul de matrice extracelulară polizaharidică (2).

J. W. Costerton, microbiolog și profesor la Universitatea din Calgary, Alberta, Canada, a publicat numeroase studii observaționale de structură a peretelui celular al bacteriilor Gram-negative. Grupul de cercetători sub coordonarea lui Costerton publică un studiu, în 1980, pe specimene tisulare prelevate postmortem de la pacienți cu fibroză chistică, ce evidențiază prezența de microcolonii de *Pseudomonas aeruginosa* și studiază glicocalixul bacterian în natură cât și în caz de boală, termen pe care îl înlocuiește în studiul său ulterior cu termenul de BIOFILM (2) (4) (5) (6) (7).

Anul 2015 reprezintă anul în care Societatea Europeană de Microbiologie Clinică și Boli Infecțioase/European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) publică primul ghid de diagnostic și tratament al infecțiilor asociate biofilmului.

Se poate concluziona prin faptul că studiul agregatelor bacteriene înconjurate de o matrice produsă de acestea, agregate fie aderente de suprafețe fie localizate în țesuturi sau secreții, este la fel de vechi ca și microbiologia, DAR conceptul de infecție asociată biofilmului bacterian cât și importanța în medicină mai ales în cadrul infecțiilor bacteriene cronice este de mai puțin de 50 de ani. O dată cu înțelegerea acestui concept a fost acceptată atât importanța cât și frecvența infecțiilor de biofilm, astfel apărând ghiduri de diagnostic, tratament și prevenție a acestor infecții (2).

2. BIOFILMUL BACTERIAN – FORMĂ EMERGENTĂ DE VIAȚĂ A BACTERIILOR.

Biofilmul reprezintă o structură alcătuită din celule bacteriene (aparținând uneia sau mai multor specii de microorganisme), un agregat de microorganisme, în care celulele sunt înconjurată de o matrice produsă de bacterii, o structură în care celulele bacteriene aderă între ele și/sau la o suprafață (8).

Matricea este alcătuită din compuși polimerici secretați, compuși cunoscuți ca și substanță polimerică extracelulară (extracellular polymeric substance - EPS) sau exopolizaharide precum: polizaharide, proteine, acizi, lipide și ADN extracelular (extracellular DNA - eDNA) (8). Termenul de „agregat” este folosit pentru faptul că majoritatea celulelor sunt în contact cu alte celule formând agregate, fie atașate la suprafață, caz în care doar un strat al structurii este în contact direct cu suprafața, sau în flocoane, care sunt biofilme mobile “mobile biofilms” și care se formează în absența unui substrat. Prin intermediul interacțiunilor sociale și fizice de la celule la celule (social and physical cell-to-cell interactions), și cu proprietățile matricei, biofilmul este cu siguranță o formă distinctă de viață a celulelor bacteriene (9). Biofilmul bacterian este una dintre cele mai răspândite și de succes forme de viață de pe Pământ, fiind angajat în diferite procese biochimice ciclice în ape, sol, sedimente și medii subterane (9).

Biofilmul este implicat în diferite procese tehnologice precum filtrarea apei potabile, degradarea apelor uzate și a deșeurilor solide, producerea de substanțe chimice, precum și în producerea de biocarburanți. Oamenii pot fi colonizați de microorganisme (bacterii sau ciuperci) care formează biofilme, caz în care pot fi asociate cu infecții persistente. Peste 65% din infecții sunt infecții asociate biofilmului (10). În fiecare an, în Statele Unite ale Americii, peste 12 milioane de cazuri de infecții sunt asociate biofilmului, cele mai frecvente fiind asociate implanturilor endoprotetice ortopedice (11). Cu toate acestea, biofilmele sunt, de asemenea, responsabile pentru biofouling și contaminarea apei procesate, sunt responsabile pentru deteriorarea apei potabile și au, de asemenea, o influență asupra procesului de coroziune (9).

La scală mică, bacteriile din biofilme pot fi privite ca formatori biogenici ai habitatului (biogenic habitat formers). Prin procesul de generare a unei rețele, bacteriile din biofilme creează un habitat distinct din punct de vedere fizic, cu funcții diferite, cum ar fi adăpostul, un habitat care facilitează acumularea de nutrienți și modifică fizico-chimic mediul în biofilm și, de asemenea, interacțiunile dintre organismele din biofilm (9).

3. ACTUALITĂȚI ÎN STUDIUL BIOFILMULUI BACTERIAN.

Intervențiile chirurgicale ce asociază implanturi au ca și scop creșterea calității vieții și a sănătății pacientului, dar în ciuda metodelor de asepsie și a profilaxiei cu antibiotice în timpul implantării acestor dispozitive, infecțiile microbiene încă rămân o problemă. O infecție persistentă poate duce la consecințe serioase chiar și la îndepărtarea implantului, consecințe ce implică costuri semnificativ crescute. Infecțiile asociate implanturilor cresc durata de spitalizare cât și costul de tratament al acestor pacienți. În general, bacteriile implicate în infecțiile asociate implanturilor provin de pe tegumentul pacienților în timpul manoperelor de implantare, sau prin soluții de continuitate ori prin însămânțare hematogenă (40) (41) (42).

Aderarea inițială, bacteriană, este urmată de un proces de dezvoltare graduală a biofilmului, fapt ce reprezintă un factor primar de virulență al bacteriilor ce sunt implicate în infecțiile asociate implanturilor. O caracteristică cheie a acestor comunități bacteriene înconjurată de o matrice este reprezentată de toleranța acestora la antibiotice și la mecanismul fagocitar al gazdei. Penetrarea scăzută a antibioticelor, limitarea nutrienților, creșterea lentă, răspunsul adaptativ la stres, activitatea metabolică scăzută, cât și formarea de persisteri (persister cells), toate reprezintă ipoteze ce contribuie la un răspuns microbial multifacțat al biofilmului (40).

Pentru a îmbunătăți diagnosticul infecțiilor de biofilm asociate implanturilor, este important nu numai să se investigheze valoarea noilor metode de diagnosticare, ci și să se reevalueze abordările fundamentale, inclusiv tipul optim de specimen sau combinația de probe, mediile de cultură adecvate dar și condițiile de creștere (perioadă, temperatură, etc). Având în vedere faptul că profilul microbiologic al fiecărei infecții asociate unui implant diferă în funcție de localizarea implantului, de material cât și de caracteristicile de suprafață, speciile optime și metodele de diagnostic vor varia. Prin urmare, mai mult de o metodă poate fi necesară atunci când rezultatele culturilor vor fi negative în context de suspiciune clinică de infecție. Cheia pentru diagnosticul optim al infecțiilor asociate implanturilor este o combinație a mai multor instrumente de diagnosticare interpretate alături de istoricul individual al pacientului. FISH-ul reprezintă singura metodă care - în adevăratul sens al cuvântului - privește infecția *in situ* pentru a diagnostica o infecție de biofilm și este adesea capabilă să pună în perspectivă rezultatele obținute de alte instrumente de diagnosticare. Deoarece studiul biofilmelor și al infecțiilor asociate implanturilor reprezintă un domeniu de cercetare relativ nou, rămân multe întrebări cu privire la patogeneză și colonizarea *in vivo* folosită de diverse bacterii în biofilme. O mai bună înțelegere a acestor aspecte esențiale ale infecțiilor de biofilm la nivel molecular, incluzând factori de virulență specifică, va contribui la definirea unor obiective adecvate pentru intervenții terapeutice, pentru îmbunătățirea diagnosticului precum și pentru dezvoltarea de noi materiale de tip antibiofilm. Odată cu dezvoltarea rapidă a metodelor de diagnosticare moleculare, DNA sequencing, mass spectroscopy-based proteomics and metabolomics, este posibilă studierea detaliilor infecțiilor *in vivo*. Cunoștințele rezultate vor contribui, fără îndoială, la înțelegerea unor obiective noi în lupta împotriva agenților patogeni capabili să dezvolte biofilme, în cazul infecțiilor asociate implanturilor.

4. INFECȚIILE PERIPROTETICE.

4.1. Introducere

Peste 65% din infecții sunt asociate biofilmului (10). În fiecare an, în Statele Unite ale Americii sunt raportate peste 12 milioane de cazuri de infecții asociate biofilmului (BRI= Biofilm-related infections), dintre aceste cele mai frecvente sunt asociate implanturilor ortopedice (11). Suprafața celor mai utilizate implanturi ortopedice este alcătuită din titan (sau aliaj de titan), inox, cobalt-crom, diferite biomateriale polimerice (ceramică, hidroxiapatită sau polietilenă) și cimentul polimetilmetacrilat care reprezintă structuri susceptibile colonizării și deci formării biofilmului bacterian (82) (10).

Prima artroplastie de șold a fost efectuată de Smith-Petersen în anul 1939. Această artroplastie parțială cu o cupă de vitallium a fost considerată o descoperire majoră în tratamentul osteoartritei (83). Cu toate acestea, câțiva ani mai târziu, entuziasmul a scăzut, deoarece s-au observat complicații cum ar fi infecția periprotetică (84). În aceeași perioadă, Elek și Conen (85) au exemplificat consecința prezenței unui corp străin asupra virulenței *Staphylococcus aureus*, pe care o crește de cel puțin 10,000 de ori. Motivul pentru clearance-ul inadecvat al microorganismelor care aderă la materialul străin este reprezentat de o funcționare alterată a granulocitelor din jurul implantului endoprotetic (86) (87). În plus față de această susceptibilitate ridicată la infecții, terapia antimicrobiană are o eficacitate limitată asupra microorganismelor ce se dezvoltă ca și biofilme, toleranță ce crește odată cu vârsta biofilmului (88) (89). Prin urmare, un diagnosticul rapid și corect al infecției asociate unui implant ortopedic dar nu numai, este crucial, pentru a putea încerca salvarea implantului.

4.2. Definiție și clasificări

Infecțiile asociate plăgilor chirurgicale (surgical site infections/SSI) sunt în general clasificate conform definițiilor CDC (90). Această clasificare împarte SSI în infecții superficiale - incizionale, profunde și de organ/spațiu. Infecțiile periprotetice corespund unei infecții SSI de organ/spațiu. Cu toate acestea, nu există nicio procedură clinică, de laborator sau imagistică, care să permită în mod fiabil diferențierea între aceste tipuri diferite de infecții. Potrivit lui Berbari și colab. (91), SSI superficiale reprezintă cel mai mare factor de risc pentru infecțiile periprotetice (OR 35.9, CI 95% 8.3-154.6). Astfel, progresia de la o SSI superficială la cea de organ/spațiu este foarte frecventă și imprevizibilă din punct de vedere clinic. Tabelul 5 prezintă criteriile de definire ale cazurilor de infecții periprotetice, criteriile de definire ale IDSA-Infectious Disease Society of America și ale MSIS -Musculoskeletal Infection Society.

În mod tradițional, infecțiile periprotetice sunt clasificate ca fiind incipiente/precoce (<3 luni), întârziate (3-24 luni) și târzii sau tardive (>2 ani de la implantare), clasificare ce nu este utilă din punct de vedere clinic. Prin urmare, există o clasificare care dictează managementul chirurgical optim al infecției periprotetice (92). Infecția periprotetică hematogenă acută cu o durată de cel mult 3 săptămâni după o perioadă postoperatorie fără complicații. Infecția periprotetică precoce

postoperator este definită ca o infecție care se manifestă în termen de o lună după o procedură invazivă, cum ar fi o artroplastie sau o artrocenteză. Infecția periprotetică cronică este fie o infecție hematogenă cu simptome persistente timp de >3 săptămâni, fie o infecție diagnosticată >1 lună după intervenție. Infecțiile periprotetice acute hematogene sau precoce postoperator pot fi tratate cu succes cu retenția implantului. În contrast, la pacienții cu infecție periprotetică cronică, șansa de a elimina biofilmul de pe suprafața implantului este sub 50%, chiar și în contextul unei terapii antimicrobiene prelungite.

Tabel 1 Criterii de definiție ale infecțiilor periprotetice în concordanță cu criteriile IDSA și MSIS

<p>IDSA (Pentru diagnosticul de PJI cel puțin unul dintre cele cinci criterii este necesar) (93):</p> <ul style="list-style-type: none">• Prezența unei fistule• Prezența unei secreții purulente fără o altă etiologie cunoscută în jurul implantului endoprotetic• Proces inflamator acut în concordanță cu prezența unei infecții la examinarea histopatologică a țesutului periprotetic• Număr crescut de leucocite în lichidul sinovial și/sau predominanța neutrofilelor (94) (95)• Izolarea aceleiași microorganism în cel puțin două culturi din prelevate intraoperatorii sau din aspirat preoperator și culturi intraoperatorii în cazul unui microorganism cu virulență scăzută (stafilococi coagulazo-negativi, <i>Propionibacterium acnes</i> etc.). În cazul unui microorganism virulent (de exemplu, <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Escherichia coli</i> etc.), creșterea dintr-un singur specimen din lichidul sinovial și/sau țesutul periprotetic și/sau lichidul de sonicare pot reprezenta, de asemenea, PJI. Cu toate acestea, creșterea dintr-un singur specimen trebuie să ia în considerare întotdeauna și alte criterii sau alte proceduri de diagnostic (de exemplu, tratamentul antimicrobian anterior).
<p>MSIS (Pentru diagnosticul de PJI, cel puțin un criteriu major sau 4 criterii minore trebuie întrunite) (96) (97):</p> <p>Criterii majore</p> <ul style="list-style-type: none">• Prezența unei fistule• Izolarea unui agent patogen prin cultură din 2 specimene de țesut periprotetic separate sau de lichid <p>Criterii minore</p> <ul style="list-style-type: none">(a) VSH crescut (>30 mm/h) și CRP (>10 mg/L)(b) Număr crescut de leucocite în lichidul sinovial (>3000 celule/uL)(c) Procent crescut de neutrofile în lichidul (>65%)(d) Prezența de secreție purulentă la nivelul articulației afectate(e) Izolarea unui microorganism prin cultură dintr-un singur specimen de țesut periprotetic sau lichid sinovial(f) >5 neutrofile pe câmp de mare putere în cinci câmpuri de mare putere evidențiate la examinarea histopatologică a țesutului periprotetic la o magnificare de x400.

PJI, Periprosthetic joint infection – Infecții periprotetice; IDSA, Infectious Disease Society of America; MSIS, Musculoskeletal Infection Society; VSH, Viteza de sedimentare a hematiilor; CRP, C-reactive protein – Proteina C-reactivă.

Anul 2011 reprezintă punctul cheie de standardizare al managementului infecțiilor periprotetice, având loc Primul Consens Internațional pe Infecții Musculoscheletale din Philadelphia.

În 2018 are loc cel de-al 2-lea Consens Internațional pe Infecții Musculoscheletale din Philadelphia (Second Internațional Consensus Meeting (ICM) on Musculoskeletal infection – ICM Philly) care propune un nou set de criterii de diagnostic al infecțiilor periprotetice, criterii ce au la bază vechiul consens.

Poate cele mai simplu de utilizat pentru a diagnostica și clasifica o infecție periprotetică este Ghidul de Buzunar pentru Diagnosticul și Tratamentul Infecțiilor Periprotetice creat de PRO-IMPLANT Foundation, Berlin, Germania (sub coordnarea N. Renz și A. Trampuz) - Pocket Guide to Diagnosis & Treatment of Periprosthetic Joint Infection (PJI), ghid ce este în conformitate cu recomandările naționale și internaționale, și de asemenea actualizat periodic.

4.3 Tablou clinic

Din punct de vedere al tabloului clinic există două tipuri de manifestări ale infecțiilor: acute și oligosimptomatice. Manifestările acute sunt reprezentate de: febră și frison (cauzate de bacteriemie), semne celsiene locale, tumefiere articulară sau fistulă activă. Atunci când sursa infecției este una hematogenă, inițial pot predomina manifestările sistemice și ulterior cele locale ca și în cazul endocarditei, pneumoniilor sau urospeșis-ului. Infecțiile oligosimptomatice sunt mai greu de diferențiat de o decimentare aseptică sau o depășire a duratei de viață a implantului endoprotetic, fiind caracterizate de dureri cronice, subfebrilități, tumefiere articulară și semne radiologice de decimentare.

4.4 Microbiologie.

Tabelul 11 sumarizează agenții etiologici ai infecțiilor periprotetice pe un lot de 618 pacienți supuși unui procedeu de tip artroplastie de șold sau de genunchi (92). În două studii recente de cohortă, rata de pacienți cu infecție periprotetică cauzată de bacili Gram-negativi a fost mai mare, respectiv 42% (63/152) și 28% (632/2288) (101) (102). Sunt incriminați mai mulți factori care pot duce la o creștere selectivă a bacililor Gram-negativi la pacienții cu infecții periprotetice, și anume: (i) utilizarea vancomicinei în profilaxie, (ii) procedurile de decolonizare cu mupirocin, (iii) terapia empirică inutilă cu antibiotice în perioada postoperatorie timpurie, și (iv) tratament antibiotic la un pacient cu tulburări de vindecare ale plagii. Astfel, profilaxia cu vancomicină trebuie administrată numai în caz de prevalență crescută a MRSA (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) (103). În cazul pacienților ce prezintă tulburări de vindecare a plăgilor, cum ar fi o plagă dehiscentă sau prezența de secreții, este necesară o intervenție chirurgicală de debridare.

4.5 Diagnosticul paraclinic al infecțiilor asociate implanturilor ortopedice - imagistica medicală la implementare în rutină.

Intervențiile contemporane de artroplastie au început acum 75 de ani, când a fost introdus predecesorul sistemelor moderne de șold. O artroplastie totală de șold include atât componente femurale cât și acetabulare; o hemiartroplastie este formată doar din componenta femurală. Aceste proteze sunt integrate la nivelul osului prin diverse metode, printre care cimentarea utilizând PMMA (polimetilmetacrilat) cât și integrarea directă osoasă prin dezvoltarea de țesut osos la nivelul suprafeței dispozitivului endoprotetic. Unele dispozitive sunt acoperite cu hidroxiapatită care induce formarea de os și astfel atașamentul țesutului osos nou format la nivelul componentelor protetice. Componenta acetabulară poate fi stabilizată la nivelul acetabulului cu sau fără șuruburi (stabilizare ce poartă numele de pressfit) (104). Referitor la protezele de genunchi, istoria lor începe cu aproximativ 40 de ani în urmă. Acestea sunt alcătuite dintr-o componentă metalică femurală și tibială, un insert/liner de polietilenă crosslinkată cât și o componentă tot de polietilenă de endoprotezare a pateleii. Endoprotezele actuale de genunchi prezintă o îmbunătățire semnificativă a gradului de mobilitate cât și a durabilității crescute a componentelor. Actualmente cea mai frecventă cauză de revizie a unei endoproteze este defixare aseptică, care apare la o pătrime din cazuri pornind de la un proces inflamator reactiv la prezența componentelor endoprotetice. Particulele rezultate din degradarea componentelor protetice („corpi liberi”) atrag și activează leucocitele din țesuturile periprotetice, activând secreția de citokine și enzime care duc la degradarea țesutului osos periprotetic – defixare aseptică (104).

Diagnosticul infecțiilor asociate implanturilor ortopedice se bazează pe o combinație de semne clinice, date de laborator și studii de imagistică. Nu există o tehnică de imagistică de tip „gold standard”: radiografia convențională este indispensabilă, deși în 50% din cazuri radiografia este fără modificări. Tomografia computerizată (CT), imagistica prin rezonanță magnetică (IRM) și ultrasonografia sunt valoroase pentru detectarea anomaliilor țesuturilor moi. Scintigrafia osoasă exclude infecția activă. Pentru infecțiile care implică scheletul periferic, scintigrafia cu leucocite marcate asociată cu scintigrafia coloidală este tehnica de referință, în timp ce o scintigrafie cu galiu este întotdeauna necesară pentru imagistica coloanei vertebrale sau a pelvisului. Pentru a confirma sau a exclude infecția, artrocenteza cu analiza lichidului aspirat este cheia algoritmului de diagnosticare.

4.8 Diagnosticul paraclinic al infecțiilor asociate implanturilor ortopedice – diagnosticul de laborator

Dintre modificările biologice, un VSH peste 30mm/h sau o CRP (proteina C reactivă) peste 10mg/L pot diagnostica o infecție acută cu o sensibilitate de 91-97%, o specificitate de 70-80% și o valoare predictiv negativă de 96%, pe când, în cazul infecțiilor cronice (asociate biofilmului matur) utilitatea acestor markeri scade foarte mult. Consensul american avertizează asupra acestor valori din cauza diferențelor dintre laboratoarele în care sunt prelucrate aceste analize și modificările în funcție de vârstă, gen și comorbiditățile pacientului; totodată, avertizează asupra

posibilității ca acești markeri să fie crescuți până la 60 zile de la intervenția chirurgicală primară sau precedentă (98).

Examenul lichidului sinovial în cazul unei infecții periprotetice poate evidenția următoarele modificări: leucocite peste 4200/uL sau peste 80% granulocite polimorfonucleare în cazul protezelor de șold, iar în cazul celor de genunchi, leucocite peste 1700/uL sau peste 65% granulocite polimorfonucleare – valori ce pot fi aplicate în cazul unui interval de maximum 2 luni postoperator; peste acest interval, sunt necesare valori ale leucocitelor de peste 25000/uL (139).

Metodele uzuale de diagnostic, precum culturile, de cele mai multe ori nu evidențiază prezența unui germen (o sensibilitate cuprinsă între 13.4% și 94.8%) dependentă și de numărul de probe – de preferat recoltarea a minimum 3 specimene, dar nu mai mult de 5 (98)).

Astfel, conform ghidului European de diagnostic și tratament al infecțiilor asociate biofilmului, publicat în anul 2014 (33), punerea în evidență a biofilmului se poate realiza fie prin microscopie electronică fie prin tehnici FISH (Fluorescence in situ hybridization) cu o sensibilitate cuprinsă între 80%-100% (10), tehnici asociate sau nu unei detecții prin PCR.

Dintre tehnicile microscopice de evidențiere a biofilmului, se poate utiliza microscopia optică asociată unei colorații Gram, care evidențiază celulele inflamatorii, bacteriile și matricea biofilmului (AII) (32). Tehnici precum microscopia confocală bazată pe baleierea fasciculului laser (confocal laser scanning microscopy - CLSM) și microscopia electronică (SEM scanning electron microscopy), sunt cele mai bune metode de evidențiere a biofilmului, având dezavantajul de a nu se putea realiza de rutină (BIII) (35).

Pe lângă aceste tehnici, utilizarea sonicării este o metodă ieftină, care crește semnificativ rata de diagnostic (36). În urma sonicării, este raportat și numărul de unități formatoare de colonii (UFC) (33). Implantul ortopedic este introdus într-o cuvă de sonicare care produce microbule de aer, care produc energie suficient de puternică pentru a detașa biofilmul de pe implant, ulterior acest lichid putând fi cultivat pe medii sau putând fi aplicate tehnici FISH (AII) sau PCR (37) (38).

Studii precum cele ale lui Bouza și colab. și ale lui Percival și colab, au demonstrat faptul că, prin sonicare sau centrifugare sunt recuperate mai multe unități formatoare de colonii de *Candida* spp. decât în urma brasajului (140) (141).

În România, din anul 2012, a început să fie utilizată sonicarea în Institutul Național de Boli Infecțioase „Prof Dr Matei Bals”; singurele date publicate sunt din perioada iulie 2012 – iulie 2014, studiu în care au fost incluse 39 de implanturi ortopedice (21 hip prostheses, 11 knee prostheses and 7 fixation devices) (142).

Criteriile de diagnostic histopatologic sunt foarte variate; există un consens, conform căruia prezența a peste 5 neutrofile/ câmp microscopic (400x) în 5 zone diferite creează o importanță suspiciune de infecție.

Markerii proinflamatori nespecifici, precum proteina C-reactivă, procalcitonina, viteza de sedimentare a eritrocitelor, leucocitele sau diferite citokine, nu pot distinge între infecții cauzate de bacterii în stare planctonică și biofilm (DIII).

4.9 Managementul terapeutic

Prima întrebare este dacă scopul tratamentului este de vindecare sau de a suprima infecția. Țelul oricărui tratament ar trebui să fie vindecarea iar supresia ar trebui să fie excepția, deoarece reprezintă doar o procedură cu scop paliativ. Putem defini vindecarea ca reprezentând eliminarea tuturor microorganismelor și conservarea sau restaurarea unei bune funcții a articulației. Succesul tratamentului a fost definit recent; pe scurt, aceasta include eradicarea infecției în contextul unei plăgi complet vindecate, lipsa recurenței, fără necesitatea unor intervenții chirurgicale ulterioare pentru eradicarea infecției după reimplantare și absența mortalității legate de infecția periprotetică până la 2 ani după intervenția chirurgicală definitivă asociată infecției periprotetice (150). O opțiune terapeutică de gestionare a infecției periprotetice care vizează tratamentul, necesită o discuție multidisciplinară de caz, incluzând cel puțin un chirurg ortoped și un specialist în boli infecțioase. În cazuri complexe, acest grup ar trebui să includă și un microbiolog clinic dar și un chirurg de chirurgie plastică-reconstructivă. În cazul pacienților cu comorbidități sau în cazul celor nedepășabili, poate fi rezonabil a alege o strategie paliativă. Același lucru este valabil și pentru pacienții cu risc crescut de reinfectare, cum ar fi persoanele consumatoare activ de droguri intravenoase (151).

Infecțiile de biofilm asociate implanturilor ortopedice pot fi prevenite prin administrarea unei antibioprofilaxii perioperative (AI) (Song, et al., 2013).

Există studii clare care au demonstrat că, utilizarea materialelor impregnate cu antibiotic, precum cimentul (frecvent cu gentamicină dar și tobramicină sau vancomicină), reduce rata infecțiilor de biofilm asociate implanturilor protetice (AI) (Parvizi, et al., 2008) (Marschall, et al., 2013).

Managementul infecțiilor periprotetice constă în antibioterapie atât pe cale generală cât și local, asociată intervenției chirurgicale. Există în principal 7 metode de tratament: lavaj și înlocuirea componentelor mobile (debriment and implant retention DAIR), revizie într-o etapă, revizie în 2 etape, extragerea implantului, artrodeză, terapie antibiotică supresivă și opțiunea finală – amputația (Domizia, 2015).

4.10 Concluzii

Diagnosticul și managementul infecțiilor asociate implanturilor ortopedice încă rămân o problemă. Infecțiile asociate implanturilor protetice rămân cele mai de temut complicații asociate intervențiilor de artroplastie. În ciuda progresului științific din ultimii ani, incidența infecțiilor este în creștere, atât legată de creșterea numărului de intervenții primare cât și de apariția de microorganisme multidrog rezistente. Există o mulțime de întrebări fără răspunsuri complete. Este recomandat să folosim antibiotice sistemice sau doar pe cele locale? Putem avea încredere în culturile bacteriene pentru bacteriile care cresc în colonii? Sau să asociem sonicarea în mod regulat? Trebuie sacrificată vascularizația osului restant după extragerea implantului infectat? Pentru că știm că, biofilmul se dezvoltă pe suprafețe. Existența „ferestrei” de 3 săptămâni reprezintă un punct temporal-cheie în care fie am câștigat lupta pentru „suprafață”, fie am pierdut-o. Este necesară antibioterapia de lungă durată? Dacă a reușit lavajul și înlăturarea țesuturilor

afectate din focar de ce să nu realizăm revizia în aceeași intervenție chirurgicală? Existența protocoalelor adaptate tratamentului infecțiilor de biofilm și a noilor metode de diagnostic, a îmbunătățit rata de eradicare a infecțiilor, fără a avea certitudine de 100% că am eradicat infecția. Sunt necesare centre de tratament bine dotate pentru diagnostic și echipe multidisciplinare chirurg-infecționist-microbiolog.

În prezent, medicina nucleară este cea mai valoroasă investigație care poate să determine dacă este sau nu o artroplastie „dureroasă” septică. Scintigrafia cu leucocite și imagistica măduvei osoase, în prezent, este cea mai bună tehnică imagistică disponibilă pentru acest scop. Date preliminare sugerează că SPECT / CT-ul, pe lângă furnizarea de informații despre prezența și amploarea infecției, poate oferi informații suplimentare despre alte cauze care pot provoca eșecul unei artroplastii. Fluoride-PET poate furniza o perspectivă necunoscută până în prezent legată de metabolismul țesutului osos periprotetic.

CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

1. MOTIVAȚIA ALEGERII TEMEI DE CERCETARE.

Chirurgia ortopedică de endoprotezare a articulațiilor în special a șoldului și genunchiului, alături de cea a umărului sau a cotului într-o mult mai mică măsură, reprezintă cea mai de succes intervenție chirurgicală ortopedică a secolului trecut, având drept scop primordial redobândirea activității persoanelor afectate de osteoartrită dar nu numai (întrucât implanturile endoprotetice sunt utilizate din ce în ce mai frecvent la populația vârstnică care este în creștere, în special pentru managementul patologiei degenerative dar și al fracturilor). Intervențiile de artroplastie au un efect major asupra calității vieții persoanelor, a reducerii simptomatologiei, a redobândirii funcționalității articulare, a îmbunătățirii mobilității și a independenței (229). Numărul intervențiilor de artroplastie este în creștere de la an la an, astfel, în 2010 în SUA au fost realizate 719.000 de intervenții de endoprotezare a articulației coxo-femorale (230) iar în 2012 au fost realizate aproximativ 600.000 de artroplastii totale de genunchi (231). Până în 2030, se preconizează ca numărul anual combinat de artroplastii totale de genunchi și de șold, în Statele Unite ale Americii, să atingă pragul de 3.5-4 milioane.

Astfel, cu creșterea numărului de intervenții primare cât și a celor de revizie, este evidentă și prezența infecțiilor asociate implanturilor ortopedice, infecții apărute în ciuda condițiilor spitalicești de asepsie și antisepsie, a condițiilor de producere a implanturilor sau a terapiei profilactice cu antibiotice, toate aceste măsuri ducând la reducerea ratei de infecție. Rata infecțiilor asociate implanturilor protetice este cuprinsă între 1%-9% cu creșterea acesteia în urma intervențiilor de revizie. Se consideră că între 0.5%-2% din pacienți, dezvoltă o infecție de biofilm asociată unui implant ortopedic în primii 2 ani postoperator (232) (233) (234).

Un diagnostic corect și rapid al infecțiilor periprotetice este decisiv pentru un management terapeutic corect. Diagnosticul se bazează pe o combinație de semne clinice, date de laborator și studii imagistice, totuși acest diagnostic rămâne încă unul dificil. Infecțiile periprotetice, de asemenea, se asociază cu o durată crescută de spitalizare cât și cu niște costuri ridicate de tratament. Managementul terapeutic al cazurilor de degradare aseptice a endoprotezelor este diferit de cel al infecțiilor periprotetice, iar un diagnostic precis este crucial pentru rezultatul tratamentului.

În acest context, mi-am propus realizarea unei cercetări științifice cu titlul: “Diagnosticul și Managementul infecțiilor asociate biofilmului din implanturile ortopedice.”, prin care îmi doresc să studiez adevărata magnitudine a infecțiilor asociate implanturilor ortopedice (cu precădere a endoprotezelor articulare – implanturi endoprotetice pentru șold și genunchi) și implementarea unor strategii de diagnostic și management terapeutic.

3. MATERIAL ȘI METODĂ.

Designul studiului

Am realizat un studiu monocentric, observațional, de cohortă, în cadrul Spitalul Clinic Județean de Urgență Sibiu, România, un spital județean cu număr de 1054 paturi. Protocolul de studiu a fost evaluat și aprobat de comisia de evaluare instituțională înainte de includerea în studiu a pacienților. Un sistem standardizat de diagnostic a fost aplicat tuturor pacienților ce au fost candidați ai unei intervenții chirurgicale de revizie a unei endoproteze articulare, pentru a determina cauza degradării implantului endoprotetic. Strategia de diagnostic implementată a inclus eșantionarea standardizată a minimum patru probe de țesut prelevate intraoperator (unul dintre eșantioane fiind utilizat pentru examenul histopatologic (membrana periprotetică), iar celelalte au fost trimise spre laboratorul de microbiologie în vederea realizării culturilor bacteriene), sonicarea componentelor implantului endoprotetic îndepărtate sau a spacerelor de polimetilmetacrilat (PMMA) și recoltarea lichidului de sonicare, culturi bacteriene și evaluarea celularității lichidului sinovial, detectarea esterazei leucocitare și a proteinei C-reactive din lichidul sinovial cât și evaluarea lichidului de sonicare folosind un kit bbFISH (hemoFISH® Masterpanel, Miacom diagnostics GmbH Düsseldorf, Germany) ca metodă rapidă de detectare a bacteriilor. Specimenele au fost inoculate pe medii de cultură aerobă și anaerobă. De asemenea a fost implementată o perioadă de 14 zile de incubație.

Sonicarea implantului s-a realizat în cadrul laboratoarelor Disciplinei Biochimie din cadrul Universității “Lucian Blaga” din Sibiu – Facultatea de Medicină în urma stabilirii unui protocol de colaborare.

Studiile de microbiologie au fost realizate prin implicarea, încă de la demararea studiului, a managementului superior al Spitalului European Polisano Sibiu și îndeosebi a personalului laboratorului acestuia.

Populația de studiu

Am inclus, în mod prospectiv, toți pacienții consecutivi cu vârsta de peste 18 ani, spitalizați în perioada Septembrie 2016 - Ianuarie 2019, pacienți care au suferit o intervenție chirurgicală de revizie a unei artroplastii (fie aceasta de șold sau de genunchi), la care proteza sau o parte din ea (cum ar fi liner-ul) au fost extrase din orice motiv. De asemenea în studiu au fost incluse și intervențiile care au implicat extragerea unui spacer de polimetilmetacrilat. Informații detaliate au fost extrase din registrele medicale ale pacienților folosind un formular digital standardizat de colectare a datelor. Fișele medicale au fost evaluate în acest studiu pentru următoarele date: caracteristici demografice; date clinice, radiografice, de laborator, histopatologice și microbiologice; tipul de tratament chirurgical; terapie antimicrobiană anterioară și informații despre intervenția artroplastică primară și reviziile ulterioare (dacă s-a efectuat vreo intervenție).

Informațiile necesare au fost disponibile pentru toți pacienții înrolați în studiu. Am urmărit pacienții până aceștia au dezvoltat un eșec de tratament, au decedat sau au fost pierduți în perioada de follow-up. Perioada de follow-up s-a extins până în luna Ianuarie 2020, astfel pacienții au fost urmăriți pentru o perioadă maximă de 39 luni.

Datele colectate au fost prelucrate în Microsoft Excel 2020, și ulterior analizate statistic folosind IBM SPSS Statistics® version 26 software. Datele colectate au fost analizate și au fost verificate utilizând Shapiro-Wilk test. Am utilizat statistici descriptive pentru a rezuma aspectele demografice, clinice și de tratament. Variabilele cantitative au fost exprimate ca media \pm SD (deviația standard) sau ca și mediană. Variabilele calitative au fost sumarizate numeric și procentual. Variabilele cantitative au fost comparate utilizând Student's t-test sau chi-pătrat test. Am utilizat testul Kruskal-Wallis, analiza Kaplan-Meier pentru rata de supraviețuire, curba ROC (Receiver operating characteristic) pentru sensibilitatea și specificitatea diferitelor metode de diagnostic analizate și analiza multivariabilă Cox. Cele două grupuri de pacienți au fost comparate utilizând the incidence frequency (%), Chi-Square Tests, the Fisher's exact test, coeficientul de corelație Pearson P-R, cât și corelație bivariată. Importanța diferențelor dintre cele 2 grupuri de studiu a fost analizată utilizând Mann-Whitney U test pentru non-parametric one-tailed significance. A fost utilizată, de asemenea, analiza regresiiilor, prin modele de analiză multivariată - modelele analitice pentru obținerea de ecuații de regresie, coeficienți ai modelelor de regresie. Prin analiza regresiiilor s-a dorit identificarea legăturilor între variabilele analizate; prin comenzi succesive Analyze \rightarrow Regression \rightarrow Curve Estimation \rightarrow fereastra Curve Estimation, s-au selectat tipurile de modele de analiză multivariată - modelele analitice pentru obținerea de ecuații de regresie. Odds ratio și 95%CI (intervale de încredere) au fost calculate pentru fiecare dintre factorii de risc incluși în modelele de regresie logistică. Nivelul semnificației statistice a fost stabilit la $p < 0.05$.

Definiții de studiu și clasificări utilizate

Infecția periprotetică a fost definită folosind criteriile publicate în 2011, an ce a reprezentat punctul cheie de standardizare al managementului infecțiilor periprotetice, și anul în care a avut loc Primul Consens Internațional pe Infecții Musculoscheletale din Philadelphia cât și criteriile grupului de lucru din cadrul Musculoskeletal Infection Society publicate de Javad Parvizi și colab.: (i) existența unei comunicări cu proteza (fistulă); sau (ii) un agent patogen care este izolat prin cultură din cel puțin două probe separate de țesut sau fluid obținute din articulația endoprotezată afectată; sau (iii) existența a minimum patru dintre următoarele șase criterii: o viteză de sedimentare a hematiilor (VSH) crescută și un nivel seric crescut al proteinei C-reactive (CRP); un număr crescut de leucocite în lichidul sinovial; un procent crescut de neutrofile în lichidul sinovial (PMN%); prezența de puroi la nivelul articulației implicate; izolarea unui microorganism într-o singură cultură din țesut sau lichid periprotetic sau mai mult de cinci neutrofile per câmp microscopic (high-power field) observate din analiza histologică a țesutului periprotetic la o putere de magnificare de $\times 400$ (96).

Pentru a determina dacă există sau nu o infecție periprotetică acută, cronică sau tardiv-acută, am utilizat clasificarea propusă de Zimmerli și colab., clasificare care definește infecțiile periprotetice ca fiind precoce (care apare în termen de 3 luni postoperator), întârziate (3-24 luni) și tardive (> 24 luni) (236). De asemenea am utilizat și o clasificare mult mai simplificată: o infecție periprotetică -din Ghidul de Buzunar pentru Diagnosticul și Tratamentul Infecțiilor Periprotetice creat de cei de la PRO-IMPLANT Foundation, Berlin, Germania (sub coordnarea N. Renz și A. Trampuz) - Pocket Guide to Diagnosis & Treatment of Periprosthetic Joint Infection (PJI), ghid ce este în conformitate cu recomandările naționale și internaționale- poate fi acută (perioperatorie sau hematogenă/prin continuitate) sau cronică.

Clasificarea histopatologică a patologiei asociate implanturilor articulare (endoprotezelor)

Din probele prelevate intraoperator de țesut periprotetic (membrana periprotetică), una dintre acestea a fost trimisă către Departamentul de Anatomie patologică.

Culturile din lichidul sinovial

Lichidul sinovial a fost aspirat în condiții de asepsie preoperator. Aspiratul a fost transferat ulterior în două flacoane sterile de tip vacutainer. Unul dintre flacoane conține EDTA (acid etilendiaminotetraacetic) și a fost utilizat pentru determinarea numărului de leucocite și a procentului de granulocite. Celălalt a fost un flacon nativ utilizat pentru cultura bacteriană. Lichidul sinovial a fost inoculat și incubat în condiții de aerobioză, anaerobioză și în concentrație mare de CO₂ la 37°C timp de 14 zile și inspectat zilnic pentru detectarea unei creșteri bacteriene. Bacteriile izolate au fost identificate cu ajutorul analizatorului VITEK 2 Compact (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, France). MIC-urile (minimum inhibitory concentrations - concentrația minimă inhibitorie) au fost evaluate în conformitate cu European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing breakpoints (EUCAST) (94) (93).

Sonicare implantului și culturile din lichidul de sonicare

Atât endoprotezele cât și spacerile de polimetilmetacrilat sunt prelevate și sonicate. În sala de operație, soluția sterilă Ringer sau ser fiziologic NaCl 0.9% a fost adăugată în containerele sterile pentru sonicarea implantului. Containerele anterior sunt sterilizate în funcție de recomandările producătorului și ambalate în dublu strat. Implanturile au fost prelucrate în 30 de minute prin sonicare (1 min) folosind o baie cu ultrasunete (BactoSonic[®]14.2, Bandelin GmbH, Berlin, Germany) la o frecvență de 42 kHz și o densitate de putere de 0,22W/cm². Lichidul de sonicare rezultat a fost vortexat iar ulterior 50 ml de lichid de sonicare au fost centrifugati la 2500 rpm timp de 5 minute. Precipitatul rezultat a fost inoculat pe medii de cultură de tip: agar Columbia cu sânge de oaie (incubat aerob, anaerob și în concentrație mare de CO₂ - GENbag-GENbox Atmospheric generators bioMérieux, Marcy-l'Étoile, France), placă Sabouraud, placă agar MacConkey, bulion glucoză, bulion lactoză și bulion tioglicolat.

Culturile au fost incubate la 37°C timp de 14 zile și inspectate zilnic pentru evaluarea creșterii bacteriene. Bacteriile izolate au fost identificate cu ajutorul analizatorului VITEK 2 Compact (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, France). MIC-urile au fost evaluate în funcție EUCAST breakpoints. Culturile din lichid de sonicare au fost considerate pozitive, dacă s-au numărat >50 UFC/ml (UFC – unități formatoare de colonii) lichid de sonicare (52) (162).

Culturile din țesutul periprotetic

Probele biopsice de țesut periprotetic de dimensiuni aproximative de 1.5cm³ prelevate intraoperator au fost colectate în flacoane sterile, transportate în cel mai rapid timp posibil spre laboratorul de microbiologie unde au fost omogenizate individual într-un ml bulion tioglicolat. Probele omogenizate de țesut (1 ml) au fost inoculate pe medii de cultură tip: agar Columbia cu sânge de oaie (incubat aerob, anaerob și în concentrație mare de CO₂ - GENbag-GENbox Atmospheric generators bioMérieux, Marcy-l'Étoile, France), placă Sabouraud, placă agar MacConkey, bulion glucoză, bulion lactoză și bulion tioglicolat. Culturile au fost incubate la 37°C timp de 14 zile și inspectate zilnic. Bacteriile izolate au fost identificate cu ajutorul analizorului VITEK 2 Compact (bioMérieux, Marcy-producétoile, Franța), iar MIC-urile au fost evaluate în concordanță cu EUCAST breakpoints.

Studiul lichidului sinovial

Lichidul sinovial a fost analizat din punct de vedere al celularității, nivelului proteinei C-reactive și al esterazei leucocitare. Lichidul sinovial preoperator a fost aspirat și transferat în flacoane sterile. Unul dintre flacoane conținea EDTA pentru determinarea numărului de leucocite și a procentului de granulocite. După colectare, probele au fost transportate în laborator, unde flacoanele au fost prelucrate în decurs de 10-15 minute. Am evaluat studii anterioare care au stabilit niveluri optime pentru diagnosticul infecțiilor periprotetice, un număr de leucocite din lichidul sinovial mai mare de >1.7 G/l sau >65% neutrofile în cazul artroplastiilor de genunchi sau număr de leucocite >4.2 G/l sau >80% neutrofile în artroplastiilor de șold (Kurtz, Ong, Lau, Mowat, & Halpern, 2007) (52). În ceea ce privește detectarea esterazei leucocitare, am evaluat lichidul sinovial utilizând benzi colorimetrice enzimatică (Dirui A10 Urine Analysis Reagent Strips, Dirui Industrial Co. Ltd, Changchun, China). Pentru a limita interferența cu analizele, între 1-4 ml lichid sinovial au fost centrifugate la 2500 rpm timp de 5 minute. O picătură din precipitatul rezultat a fost plasată pe tamponul pentru detectarea esterazei leucocitare. Reacția a fost evaluată în funcție de recomandările producătorului. Evidențierea culorii violet a indicat un test pozitiv. Determinarea proteinei C-reactive din lichidul sinovial a fost efectuată printr-o metodă turbidimetrică automatizată folosind un kit de reactiv specific și pe un sistem ARCHITECT c4000 (Abbott Laboratories, Illinois, S.U.A.).

Identificarea moleculară a bacteriilor cu ajutorul tehnologiei 16S rRNA bbFISH (beacon-based fluorescent in situ hybridization) din lichidul de sonicare

În plus, ca metodă rapidă de detectare și analiză a bacteriilor, am implementat o tehnică de identificare moleculară a bacteriilor ce utilizează tehnologia 16S rRNA bbFISH (beacon-based fluorescent in situ hybridization) utilizând un kit bbFISH (hemoFISH® Masterpanel, miacom® diagnostics GmbH Düsseldorf, Germany. Miacom® diagnostics GmbH ce combină avantajele clasicului FISH cu utilizarea de fluorescently labelled DNA-molecular beacons as probes (balize moleculare de ADN marcate fluorescent ca sonde), rezultând un procedeu foarte ușor. Testul bbFISH se efectuează în conformitate cu recomandările producătorului folosind un eșantion de precipitat rezultat din 50 ml de lichid de sonicare centrifugat prealabil la 2500 rpm timp de 5 minute. Kitul conține probe (beacons) pentru detectarea următoarelor bacterii: *Staphylococcus* spp., *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp., *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., și *Stenotrophomonas maltophilia*.

4. REZULTATE.

4.1 Aspecte demografice, clinice și de laborator. Clasificarea infecțiilor periprotetice.

4.1.1 Aspecte demografice

Un număr total de 61 de pacienți au fost înrolați în acest studiu în perioada analizată (Septembrie 2016 – Ianuarie 2019), reprezentând un număr total de 61 de implanturi prelevate, implanturi de tip endoproteză (n=58) sau spacere din polimetilmetacrilat PMMA (n=3). Diagnosticul de degradare aseptică a unui implant endoprotetic a fost stabilit în 30 de cazuri (49.18%) iar diagnosticul de infecție asociată unui implant endoprotetic (infecție periprotetică) a fost stabilit în 31 de cazuri (50.81%). Astfel în anul 2016 au fost înrolați 14 pacienți (23%), 7 pacienți aparținând lotului de studiu ca pacienți diagnosticați cu degradare aseptică și 7 pacienți diagnosticați cu infecție periprotetică. În anul 2017 au fost înrolați 19 pacienți (31.1%), 13 pacienți aparținând lotului de studiu cu pacienți diagnosticați cu degradare aseptică și 6 pacienți diagnosticați cu infecție periprotetică. În anul 2018 au fost înrolați 17 pacienți (27.9%), 8 pacienți aparținând lotului de studiu cu pacienți diagnosticați cu degradare aseptică și 9 pacienți diagnosticați cu infecție periprotetică, iar în anul 2019 au fost înrolați 11 pacienți (18%), 2 pacienți aparținând lotului de studiu cu pacienți diagnosticați cu degradare aseptică și 9 pacienți diagnosticați cu infecție periprotetică. Nu au existat diferențe semnificativ statistice între cele 2 loturi de studiu raportat la anul de înrolare al pacienților ($p=0.690$).

Din cele 30 de implanturi provenite de la cei 30 de pacienți diagnosticați cu degradare aseptică a unui implant endoprotetic, 16 implanturi au fost de șold și 14 implanturi de genunchi, iar în lotul de pacienți diagnosticați cu infecție periprotetică, 14 implanturi au fost de șold, 14 implanturi de genunchi și 3 spacere din polimetilmetacrilat de șold. În ceea ce privește spacerelor din PMMA, intervențiile chirurgicale inițiale (de tip prima etapă din revizie) au fost efectuate înainte de introducerea strategiei de diagnosticare propusă nefiind izolat niciun agent patogen.

Raportat la întreg lotul de studiu (n=61), vârsta medie a pacienților a fost de 67.62 ani (interval, 44 - 83 ani, deviație standard ± 8.058). În subgrupul de pacienți diagnosticați cu degradare aseptică vârsta medie a pacienților a fost de 68.50 ani (interval, 44 - 83 ani, deviație standard ± 8.768). În subgrupul de pacienți diagnosticați cu infecție periprotetică, vârsta medie a pacienților a fost de 68 ani (interval, 49 - 83 ani, deviație standard ± 7.422).

29 de pacienți au fost de gen masculin (47.5%) și 32 pacienți au provenit din mediul rural în lotul întreg de studiu.

22 de pacienți au fost de gen feminin (73.33%) și 17 pacienți au provenit din mediul rural (56.66%) în subgrupul de pacienți diagnosticați cu degradare aseptică iar în cel cu pacienți diagnosticați cu infecție periprotetică, 10 pacienți au fost de gen feminin (32.25%) și 15 pacienți au provenit din mediul rural (48.38%).

Nu au existat diferențe semnificativ statistice între cele 2 loturi de studiu raportat la vârstă sau mediu de proveniență, $p=0.574$, respectiv $p=0.517$. Din punctul de vedere al genului au existat diferențe semnificativ statistice între cele 2 subgrupuri, $p=0.001$.

Un parametru deloc de neglijat în evaluarea unui implant endoprotetic este legat de anul în care a avut loc intervenția primară de endoprotezare, în lotul întreg de studiu intervalul a fost cuprins între anii 2000 și 2019 iar durata de la momentul intervenției inițiale și înrolarea în studiu a fost cuprinsă între 2 săptămâni și 17 ani (date statistice valabile pentru lotul întreg de studiu, $n=61$). Acești parametri sunt extrem de importanți în ceea ce privește evaluarea unui implant și cu atât mai mult în cazul unei infecții periprotetice. Astfel în cazul subgrupului de cazuri cu pacienți diagnosticați cu infecție periprotetică, intervenția primară de endoprotezare a avut loc în perioada 2003-2019 iar durata de la momentul intervenției inițiale și înrolarea în studiu a fost cuprinsă între 2 săptămâni și 15 ani ($n=31$), iar în cazul lotului de pacienți diagnosticați cu degradare mecanică a unui implant endoprotetic intervenția primară a avut loc în perioada 2000-2016, iar durata de la momentul intervenției inițiale și înrolarea în studiu a fost cuprinsă între 1 an și 17 ani ($n=30$). Și din acest punct de vedere al acestor 2 parametri există diferențe semnificativ statistice între cele 2 subgrupuri de studiu, $p=0.010$ în cazul perioadei în care a avut loc intervenția primară, respectiv $p=0.018$ în cazul intervalului dintre intervenția inițială și înrolarea în studiu.

Cea mai frecventă afecțiune articulară subiacentă în lotul de pacienți diagnosticați cu degradare aseptică a unui implant endoprotetic a fost osteoartrita ($n=22$), urmată de poliartrita reumatoidă ($n=6$) și traumatisme – fractura de col femural ($n=2$). În lotul de pacienți diagnosticați cu infecție periprotetică cea mai frecventă afecțiune articulară subiacentă a fost osteoartrita ($n=28$), din nou urmată de poliartrita reumatoidă ($n=2$) și traumatisme – fractura de col femural ($n=1$).

4.1.2 Clasificare

Au fost utilizate criteriile de diagnosticare utilizate în stabilirea diagnosticului de infecție periprotetică, conform ghidurilor IDSA (93), MSIS (96) (97), cele din Primul Consens Internațional pe Infecții Musculoscheletale din Philadelphia din 2011 sau cele din anul 2018 din cadrul celui de-al 2-lea Consens Internațional pe Infecții Musculoscheletale din Philadelphia.

Utilizând clasificarea propusă de Zimmerli și colab., clasificare care definește infecțiile periprotetice ca fiind precoce (care apar în termen de 3 luni postoperator), întârziate (3-24 luni) și tardive (> 24 luni) [early (occurring within 3 months postoperatively), delayed (3-24 months) and late (> 24 months)] (236) am putut grupa cei 31 de pacienți diagnosticați cu infecție periprotetică astfel: 9 pacienți diagnosticați cu infecție periprotetică precoce, 6 pacienți cu infecție periprotetică întârziată și 16 pacienți diagnosticați cu infecție periprotetică tardivă.

De asemenea am utilizat și o clasificare mult mai simplificată a infecției periprotetice din Ghidul de Buzunar pentru Diagnosticul și Tratamentul Infecțiilor Periprotetice creat de cei de la PRO-IMPLANT Foundation, Berlin, Germania (sub coordnarea N. Renz și A. Trampuz) - Pocket Guide to Diagnosis & Treatment of Periprosthetic Joint Infection (PJI); astfel, 5 pacienți au fost diagnosticați cu infecție acută perioperatorie, 4 pacienți cu infecție acută hematogenă și 22 pacienți

cu infecție cronică. Numărul pacienților diagnosticați cu infecție periprotetică acută în anul 2016 a fost 2, în 2017 1, în 2018 1 și 2 în 2019. Pacienții diagnosticați cu infecție periprotetică acută hematogenă în 2016 au fost 0, în 2017 1, în 2018 0 și în 2019 2, iar pacienții diagnosticați cu infecție periprotetică cronică în 2016 au fost diagnosticați 0, în 2017 4, în 2018 8 și în 2019 5.

4.1.3 Aspecte clinice

În lotul de pacienți diagnosticați cu infecție periprotetică, durata medie în ani de la momentul intervenției primare și până la debutul simptomatologiei a fost de 3.23 ani (\pm 3.62 ani) cu un 95% CI [1.90 – 4.55] pentru medie, cu un minim de 2 săptămâni și un maxim de 15 ani.

51.61% (n=16) din episoadele de infecție periprotetică au apărut la mai mult de 24 de luni de la momentul intervenției primare de endoprotezare.

Tabloul clinic, semnele și simptomele, prezentate de pacienții diagnosticați cu infecție periprotetică, sunt evidențiate în următorul tabel.

Tabel 2 Semnele și simptomele celor 31 de pacienți diagnosticați cu infecție periprotetică

Semne și simptome	Număr episoade (%)
Compromiterea părților moi:	
Leziuni minime la nivelul țesuturilor moi ^a	7 (22.58)
Leziuni moderate la nivelul țesuturilor moi ^b	3 (9.67)
Leziuni severe la nivelul țesuturilor moi ^c	6 (19.35)
Durere	22 (70.96)
Febră	3 (9.67)
Frison	2 (6.45)
Bacteriemie	3 (9.67)
Semne radiologice de defixare ale implantului endoprotetic	15 (48.38)

a: eritem și indurație locală; b: leziune tegumentară/ dehiscentă fără exprimare de secreții; c: fistulă, fistulă activă cu exprimare de secreții și abces în părțile moi.

Prezența unei fistule a fost evidențiată la 6 pacienți diagnosticați cu infecție periprotetică.

4.1.4 Aspecte de laborator

4.1.4.1 Studiul lichidului sinovial

Lichidul sinovial a fost analizat din punct de vedere al celularității, al nivelului proteinei C-reactive și al esterazei leucocitare.

Performanțele metodelor diagnostice utilizate în evaluarea lichidului sinovial sunt sumarizate în următorul tabel.

Determinarea nivelului proteinei C-reactive din lichidul sinovial a prezentat cea mai bună performanță în ceea ce reprezintă sensibilitatea, urmat de numărul de leucocite, procentul de polimorfonucleare și esteraza leucocitară.

În ceea ce reprezintă specificitatea, cea mai mare specificitate a fost întâlnită în cazul determinării numărului de leucocite, urmat de esteraza leucocitară, procentul de polimorfonucleare și în ultimul rând de nivelul proteinei C-reactive din lichidul sinovial.

Tabel 3 Performanțele metodelor diagnostic utilizate în evaluarea lichidului sinovial

Metoda de diagnostic	% sensibilitate (95% CI)	% specificitate (95% CI)	% PPV (95% CI)	% NPV (95% CI)
Număr leucocite din lichidul sinovial	90.32% (74.25%-97.96%)	100.00% (88.43-100.00)	100.00%	99.99% (99.97-100.00)
Procent polimorfonucleare din lichidul sinovial	90.32% (74.25-97.96)	83.33% (65.28-94.36)	5.19% (2.38-10.94)	99.88% (99.65-99.96)
Esteraza leucocitară	83.87% (66.27-94.55%)	90.00% (73.47-97.89%)	7.81% (2.78-20.04)	99.82% (99.59-99.92)
Proteina C-reactivă din lichidul sinovial	100.00% (88.87-100.00)	70.00% (50.60-85.27)	3.26% (1.91-5.50)	100.00%

*PPV - Valoare predictivă pozitivă, NPV- Valoare predictivă negativă

4.1.4.2 Studiul parametrilor biologici sangvini

Dintre parametrii biologici sangvini evaluați preoperator intervenției chirurgicale de revizie a unei endoproteze și introduși în studiu se regăsesc: numărul de leucocite, fibrinogenul, viteza de sedimentare a hematiilor (VSH) și proteina C-reactivă serică. De asemenea s-a tentat colectarea de parametri de laborator aferenți intervenției chirurgicale primare (parametrii de tip markeri proinflamatori, hemoglobină pre și postoperator, sau glucoza serică), parametrii pentru care nu a fost posibilă colectarea datelor aferente tuturor pacienților, astfel o analiza detaliată nu a fost

efectuată. S-a evaluat existența unei posibile corelații între acești parametri și dezvoltarea ulterioară a unei infecții periprotetice, corelație care nu a fost dovedită.

Tabelul următor sumarizează toate aspectele demografice, clinice și de laborator ale pacienților înrolați în studiu

Tabel 4 Tabel de tip Baseline Characteristics ale pacienților înrolați în cercetare

Parametru evaluat	Pacienți diagnosticați cu degradare aseptică (n=30)	Pacienți diagnosticați cu infecție periprotetică (n=31)	<i>P</i>
Date demografice			
Tip implanturi	16 imp. de șold 14 imp. de genunchi	14 imp. de șold 14 imp. de genunchi 3 spacer PMMA șold	-
Vârsta (medie, dev. std., interval) ani	68,50 ani (± 8.768 , 44 - 83).	68 ani (± 7.422 , 49 - 83).	0.574
Gen (masculin, n=, %)*	8 (26.67%)	20 (67.77%)	0.001
Mediu de proveniență (U, n=, %)	13 (43.33%)	16 (51.62%)	0.517
Perioadă intervenție primară*	2000-2016	2003-2019	0.001
Durată de la intervenția primară până la înrolarea în studiu*	Între 1 ani și 17 ani	Între 2 săptămâni și 15 ani	0.018
Patologie subiacentă			
Osteoartrită (n=)	22	28	-
Patologie țesut conjunctiv**	6	2	-
Traumatisme***	2	1	-

Aspecte clinice			
Durata medie în ani de la momentul intervenției primare și până la debutul simptomatologiei (media, dev. std., interval) ani	6.76 ani (± 3.57), 1 - 17 ani.	3.23 ani (± 3.62), 2 săptămâni - 15 ani.	-
Tip abord șold (n=)	abordul lateral (n=16)	abordul lateral (n=16) antero-lateral miniinvaziv (n=1)	0.656
Tip abord genunchi (n=)	parapatelar median (n=12) parapatelar lateral (n=1) mid-vastus (n=1)	parapatelar medial (n=9) parapatelar lateral (n=4) mid-vastus (n=1).	
Semne și simptome (n=, %)			
Compromiterea părților moi: Leziuni minime la nivelul țesuturilor moi ^a Leziuni moderate la nivelul țesuturilor moi ^b Leziuni severe la nivelul țesuturilor moi ^c	-	7 (22.58%) 3 (9.67%) 6 (19.35%)	-
Durere	30 (100%)	22 (70.96)	-
Febră	-	3 (9.67)	-
Frison	-	2 (6.45)	-
Bacteriemie	-	3 (9.67)	-
Semne radiologice de defixare ale implantului endoprotetic	23 (76.66%)	15 (48.38)	-
Aspecte de laborator			

Studiul lichidului sinovial			
Studiul celularității – numărul de leucocite, (media, dev. std., interval) G/l*	645.27 (±502.53), 180.00 - 2000.00	8962.58 (±9488.41), 300.00 G/l - 33000.00 G/l	0.000
Studiul celularității – procent polimorfonucleare (media, dev. std., interval) (%)*	52% (±16.270, 20% - 80%)	82.29% (±13.00), 40% - 95%	0.000
Esteraza leucocitară* (n=, pozitivă)	3	26	0.000
Proteina C-reactivă (V.R. 0-0.9 mg/L) (media, dev. std., interval)*	0.95 mg/L (±3.36), 0.00 – 18.00 mg/L	24.13 mg/L (±56.35), 0.50 – 312 mg/L	0.028
Studiul parametrilor biologici sanguini			
Număr de leucocite (V.R. 4000-9000/μl) (media, dev. std., interval)	7944/μl (±1732), 5480 – 13490/μl	8617/μl (±1998), 4960 - 14220/μl	0.303
VSH (<20 mm/h) (media, dev. std., interval)	23 mm/h (±13), 7 – 75 mm/h	34 mm/h (±19), 10 – 86 mm/h	0.170
Fibrinogen mg/dL (V.R. 200-400 mg/dL) (media, dev. std., interval)*	405 mg/dL (±86), 250 – 705 mg/dL	466 mm/h (±106), 261 – 505 mg/dL	0.017
Proteina C-reactivă (V.R. <6 mg/L)*	9.7 mg/L (±7.98), 3 – 46 mg/L	36.64 mg/L (±43.85), 3- 210 mg /dl	0.003

* - diferență semnificativ statistică între cele 2 loturi de studiu, imp – implanturi; PMMA- polimetilmetacrilat; dev. std. – deviație standard; U – urbar; ** - poliartrită reumatoidă, *** - fractură de col femural, a: eritem și indurație locală; b: leziune tegumentară/ dehiscentă fără exprimare de secreții; c: fistulă, fistulă activă cu exprimare de secreții, și abces în părțile, V.R. – interval de referință, VSH – viteza de sedimentare a hematiilor,

4.2 Clasificarea histopatologică a patologiei asociate implantului endoprotetic

Tabel 5 Evaluare histopatologică membrană periprotetică

Tip clasificarea histologică Krenn și Morawietz	Număr cazuri		p=
	Pacienți cu infecție periprotetică	Pacienți cu degradare endoprotetică mecanică	

Tip I	4	10	0.59
Tip II	7	0	0.005
Tip III	18	11	0.097
Tip IV	2	9	0.016

4.3 Considerații asupra aspectelor etiologice

Dintre cei 31 de pacienți diagnosticați cu infecții periprotetice, un diagnostic microbiologic a fost obținut în 29 din cele 31 de cazuri (93.54%): 7 cazuri în 2016 (100%), 6 cazuri în 2017 (100%), 9 (100%) în 2018, și 7 cazuri (77.77%) în 2019. Proporția cazurilor cu diagnostic microbiologic a variat semnificativ în timpul perioada de studiu ($p=0.00$) aplicând t-Test: Two-Sample Assuming Unequal Variances premergător fiind aplicat un test F-Test Two-Sample for Variances. Variație semnificativ statistică cel mai probabil în contextul unui număr mic de pacienți înrolați în studiu.

În total, 12.9% (4 cazuri) din totalul episoadelor de infecții periprotetice au fost infecții polimicrobiene. Totodată nu au fost identificate tendințe semnificative în timp de creștere a proporției de infecții polimicrobiene. Astfel în anul 2016, au fost diagnosticate 2 cazuri de infecții periprotetice polimicrobiene și câte un caz în 2017 și respectiv 2018. Toate cazurile de infecții polimicrobiene au fost asociate implanturilor endoprotetice de șold.

Tabel 6 Infecțiile polimicrobiene – repartiție pe ani și agenți etiologici

An	Asociere bacteriană
2016	<i>Staphylococcus aureus</i> metilino-rezistent (MLS _{Bi} -inducible resistance to clindamycin strains) + <i>Enterobacter cloacae</i>
	<i>Staphylococcus epidermidis</i> + <i>Pseudomonas fluorescens</i>
2017	<i>Ralstonia pickettii</i> + <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
2018	<i>Staphylococcus xylosus</i> + <i>Acinetobacter</i> spp.

Tabelul 25 prezintă sumarizat microorganismele implicate în etiologia infecțiilor periprotetice în timpul perioadei de studiu. Cocii Gram-pozitivi aerobi au fost cel mai frecvent grup de microorganisme implicat în etiologia infecțiilor periprotetice – 20 culturi pozitive reprezentând 57.14%, urmat de bacilii Gram-negativi aerobi – 13 culturi, ce reprezintă 37.14%. La 2 cazuri de infecții periprotetice din culturi nu au fost identificați agenți patogeni prin niciuna dintre metodele de detecție utilizate în acest studiu. Cei mai frecvenți coci Gram-pozitivi izolați au fost stafilococii coagulazo-negativi (n=10) urmați de *Staphylococcus aureus* (n=7), *Enterococcus* spp. (n=2) și

Streptococcus grup D (n=1). Dintre stafilococii coagulazo-negativi cel mai frecvent a fost izolat *Staphylococcus epidermidis* (n=7).

Tabel 7 Rezultate microbiologice ale culturilor

Microorganism sau grup	Nr. total de culturi pozitive (%)
Coci Gram-pozitivi aerobi	20 (57.14%)
CNS - Coagulase-negative <i>staphylococci</i>	10 (28.57%)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	7 (20%)
<i>Staphylococcus lentus</i>	2 (5.71%)
<i>Staphylococcus xylosus</i>	1 (2.85%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	7 (20%)
Methicillin-resistant <i>S. aureus</i>	6 (17.14%)
Methicillin-susceptible <i>S. aureus</i>	1 (2.85%)
<i>Streptococcus</i> species	1 (2.85%)
<i>Streptococcus</i> grup D	1 (2.85%)
<i>Enterococcus</i> species	2 (5.71%)
<i>Enterococcus faecalis</i>	2 (5.71%)
Bacili Gram-negativi aerobi	13 (37.14%)
Enterobacteriaceae	5 (14.28%)
<i>Escherichia coli</i>	1 (2.85%)
<i>Enterobacter</i> spp.	3 (8.57%)
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	2 (5.71%)
<i>Enterobacter amnigenus</i> 2	1 (2.85%)
<i>Klebsiella</i> spp.	1 (2.85%)
Bacili Gram-negativi nonfermentativi	8 (22.85%)
<i>Pseudomonas</i> spp.	3 (8.57%)
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1 (2.85%)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2 (5.71%)
<i>Acinetobacter</i> spp.	1 (2.85%)
<i>Ralstonia pickettii</i>	4 (11.42%)
Fără creștere bacteriană	2 (5.71%)

Nu am observat o tendință liniară semnificativă în creștere sau descreșterea numărului de infecții periprotetice cauzate de bacili aerobi Gram-negativi (p=0.32) sau coci Gram-pozitiv aerobi (p=0.06).

4.5 Identificarea moleculară a bacteriilor cu ajutorul tehnologiei 16S rRNA bbFISH (beacon-based fluorescent in situ hybridization) din lichidul de sonicare

Utilizarea biologiei moleculare în vederea identificării bacteriilor din lichidul de sonicare și implicit a etiologiei infecțiilor asociate implanturilor ortopedice la pacienții înrolați în studiu a reprezentat cel de al 2-lea deziderat principal al acestei cercetări.

Utilizarea tehnologiei 16S rRNA bbFISH (beacon-based fluorescent in situ hybridization) pe probe din lichidul de sonicare utilizând un kit bbFISH (hemoFISH® Masterpanel, miacom® diagnostics GmbH Düsseldorf, Germany) cu un timp de procesare a probelor de 30 minute a reprezentat o posibilă orientare etiologică, în concordanță cu tipurile de bacterii ce pot fi identificate cu acest kit, rapidă, încă din ziua intervenției, cu posibilitatea adaptării terapiei antibiotice empirice centrată pe o anumită specie de bacterii. Un total de 61 de probe de lichid de sonicare, reprezentând cei 61 de pacienți înrolați în studiu, au fost analizate utilizând kit-ul de detectare rapidă moleculară a bacteriilor. 26 de probe au fost pozitive la examinarea microscopică identificându-se astfel 26 de bacterii implicate în etiologia infecțiilor periprotetice, identificare în concordanță cu tipurile de bacterii ce pot fi detectate utilizând kit hemoFISH® Masterpanel. Pe lângă identificare propriu-zisă, de asemenea, evaluarea microscopică a evidențiat informații in situ despre morfologia celulară, numărul, distribuția spațială a microorganismelor cât și date despre mediul celular din jur bacteriilor. Astfel, toate tulpinile de *Ralstonia pickettii* (n=4) nu au fost identificate în contextul în care kitul de diagnostic nu conține probe pentru identificarea acestor specii bacteriene. De asemenea nici tulpina de *Pseudomonas fluorescens* nu a fost identificată, deși kit-ul conține probe pentru detectarea speciilor bacteriene de tip *Pseudomonas aeruginosa* nu ar fi fost posibile reacții încrucișate, aceste probe fiind specifice unui singur tip bacterian.

Tabel 8 Identificare bacteriană cu ajutorul tehnologiei 16S rRNA bbFISH

Tulpini bacteriene identificate prin cultura lichidului de sonicare	Identificare moleculară a bacteriilor utilizând tehnologia 16S rRNA bbFISH®	Număr tulpini identificate	Comentarii
Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MLSBi -inducible resistance to clindamycin strains)	<i>Staphylococcus aureus</i>	5	
Methicillin-susceptible <i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	1	
Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MLSBi -inducible resistance to clindamycin)	<i>Staphylococcus aureus</i> + <i>Enterobacteriaceae</i>	1	

strains) + <i>Enterobacter cloacae</i>			
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus spp</i>	6	
<i>Staphylococcus epidermidis</i> + <i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Staphylococcus spp</i>	1	Identificare parțială
<i>Staphylococcus lentus</i>	<i>Staphylococcus spp</i>	2	
<i>Ralstonia pickettii</i>	-	0	Kit-ul nu conține probe pentru detectarea tulpinilor bacteriene de <i>Ralstonia pickettii</i>
<i>Ralstonia pickettii</i> + <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	Identificare parțială
<i>Klebsiella spp.</i>	Enterobacteriaceae	1	
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	2	
<i>Staphylococcus xylosum</i> + <i>Acinetobacter spp.</i>	<i>Staphylococcus spp</i> + <i>Acinetobacter spp.</i>	1	
<i>Enterobacter amnigenus</i> 2	Enterobacteriaceae	1	
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	Enterobacteriaceae	1	
<i>Streptococcus group D</i>	<i>Streptococcus spp.</i>	1	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	
<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	1	

Din utilizarea tehnologiei 16S rRNA bbFISH au rezultat 26 de probe testate pozitiv (true-positive) și 30 probe negative (true-negative). 5 probe au fost fals negative, 4 dintre ele în contextul în care kit-ul nu conține probe (beacons) pentru identificare tulpinilor de *Ralstonia pickettii* și o tulpină de *Pseudomonas fluorescens*.

În ceea ce privește performanțele identificării bacteriene utilizând biologia moleculară, în speță tehnologia 16S rRNA bbFISH (beacon-based fluorescent in situ hybridization) pe probe din lichidul de sonicare cu un kit bbFISH (hemoFISH® Masterpanel, miacom® diagnostics GmbH Düsseldorf, Germany), sensibilitatea acestui test este de 83.87% (95% CI 66.27% - 94.55%) iar specificitatea este de 100.00% (95% CI 88.43% - 100.00%) atunci când analizăm testul/procedura de diagnosticare în sine-, dar când evaluăm aceeași parametrii strict la bacteriile care pot fi identificate utilizând acest kit, parametrii sunt astfel: sensibilitatea de 100.00% (95% CI 86.77% - 100.00%), specificitatea este de 100.00% (95% CI 90.00% - 100.00%), iar acuratețea este de 100.00% (95% CI 94.13% - 100.00%).

Performanța metodelor de identificare ale agenților etiologici implicați în infecțiile periprotetice utilizate sunt diferite, lucru deja demonstrat și menționat în literatura de specialitate care a dus la necesitatea utilizării mai multor metode de identificare în contextul în care nicio metodă până în momentul de față nu prezintă o sensibilitate și o specificitate de 100%. Astfel, în ordine descrescătoare a performanțelor metodelor de identificare a bacteriilor, cei mai buni parametri au fost identificați în cazul culturilor din lichidul de sonicare, urmat de identificarea prin tehnici de biologie moleculară a bacteriilor prin 16S rRNA bbFISH®, culturi bacteriene din probe biopsice din țesuturile moi cât și din membrana periprotetică de interfață și culturile din lichidul sinovial (sensibilitate/ specificitate: 90.32%/100.00%, 83.87%/100.00%, 80.65%/100.00% și respectiv 32.26%/100.00%).

4.6 Caracteristicile microbiologice ale tulpinilor izolate

Cea mai importantă caracteristică a unui agent patogen fie el din spectrul bacterian, fungic sau viral este reprezentată de susceptibilitatea respectiv sensibilitatea și rezistența la acțiunea diferitelor clase de medicamente.

MIC-urile (minimum inhibitory concentrations - concentrația minimă inhibitorie) tulpinilor bacteriene izolate au fost evaluate în conformitate cu European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing breakpoints (EUCAST). Pe baza acestor concentrații minime inhibitorii a fost stabilită și susceptibilitatea la antibiotice a tulpinilor izolate.

Multiple drug resistance (MDR)/ Extensively drug resistant (XDR)

28 de tulpini bacteriene din cele izolate în timpul perioadei de studiu au fost tulpini bacteriene multidrog rezistente (în concordanță cu definițiile din literatură)

Această grupare a tulpinilor bacteriene în funcție de rezistența la diferitele clase de antibiotice a inclus 6 tulpini de Methicillin-resistant *S. aureus* (2 tulpini în 2016, 1 tulpină în 2018 și 3 tulpini în 2019), 6 tulpini de Methicillin-resistant *S. epidermidis* (2 tulpini în 2016, câte 1 tulpină în 2017 și 2018, și 2 tulpini în 2019), și o tulpină de Methicillin-resistant *S. lentus*. 17 tulpini de bacili Gram-negativi au fost tulpini de tip multiple drug resistance, dintre care 5 tulpini de tip ESBL (extended- spectrum beta-lactamases). O singură tulpină a fost de tip Extensively drug resistant (XDR) ESBL (extended- spectrum beta-lactamases) cea de *Pseudomonas fluorescens*. O tulpină de tip bacil Gram-negativ MDR și o tulpină de tip XDR în asociere cu tulpini de tip Methicillin-resistant *S. epidermidis* și Methicillin-resistant *S. aureus* au fost implicate în etiologia a două cazuri de infecție periprotetică de tip plurietiologică.

4.7 Comorbidități. Charlson Comorbidity Index

Comorbidități

În acest studiu, un impact semnificativ asupra probabilității, ca pacienții să dezvolte o infecție periprotetică nu l-a avut patologia de fond asociată (prin prisma valorilor OR și RR). În general, valori ale RR apropiate de 1 sugerează aceeași probabilitate de a face boala, astfel încât factorul nu are o influență. Dacă RR are valori mai mari ca 1, există o relație între factorul de risc și boală (nu este obligatoriu ca să fie și cauză). Valori ale OR apropiate de 1, denotă faptul că expunerea nu influențează apariția patologiei, iar o valoare mult peste 1, denotă o tendință de corelație care este considerată cauzală în majoritatea cazurilor.

Am evaluat, de asemenea, și posibilitatea existenței unei corelații între numărul de comorbidități și prezența unei infecții periprotetice, neexistând între acești 2 parametri o corelație semnificativ statistică, $r = 0.128$, $p = 0.326$, $n = 61$. S-a tentat gruparea numărului de comorbidități în subgrupe de tip: 1 comorbiditate, 2 comorbidități, 3 comorbidități și 4 sau mai multe comorbidități și ulterior reevaluarea existenței unei posibile corelații. Nici în aceste condiții în această cercetare nu există o corelație semnificativ statistică între numărul de comorbidități și prezența unei infecții periprotetice, $r = 0.162$, $p = 0.213$, $n = 61$.

S-a evaluat și posibilitatea existenței unei corelații semnificative statistic între media numărului de comorbidități sau media grupării numărului de comorbidități și prezența unei infecții periprotetice, dar nici această asociere nu se corelează, cu aceeași parametrii statistici ca și mai sus.

Deși nu face obiectul de studiu al acestei cercetări, este necesar a se menționa, și implicit a se reconfirma, faptul că există o corelație pozitivă semnificativ statistică între vârsta pacienților și numărul de comorbidități, $r = 0.328$, $p = 0.010$, $n = 61$.

În statistică, modelul logistic (logistic model) este utilizat pentru modelarea probabilității unor anumite evenimente existente, cum ar fi sănătos-bolnav. În această cercetare s-ar putea utiliza în a determina probabilitatea dezvoltării unei infecții periprotetice. Pe baza datelor rezultate în tabelul Variables in the Equation putem afirma faptul că există o probabilitate pentru un pacient fumător ca să dezvolte o infecție periprotetică de 0.001490 ori mai mare ($\text{Exp}(b) \cdot \text{OR}$), un rezultat semnificativ statistic, $p = 0.04$. Aceleași probabilități se regăsesc în cazul pacienților cu boală cardiacă ischemică ($p = 0.020$), indice de masă corporală mai mare de 30kg/m² ($p = 0.038$), hepatopatii ($p = 0.027$), poliartrită reumatoidă seropozitivă ($p = 0.025$), și cu un număr crescut de comorbidități ($p = 0.048$).

Charlson Comorbidity Index

Indicele de comorbiditate Charlson (Charlson Comorbidity Index) este, probabil, cel mai utilizat indice pentru a prezice mortalitatea la zece ani (rata de supraviețuire estimată la 10 ani, exprimată procentual) pentru un pacient ce prezintă o serie de afecțiuni concomitente. Pentru întreg lotul de pacienți ($n = 61$), indicele de comorbiditate Charlson a variat între 0 și 7 puncte, cu o medie de 3.97 și o deviație standard de ± 1.449 . Rata de supraviețuire estimată la 10 ani, a variat între 0 și 98% puncte, cu o medie de 50.67% și o deviație standard de $\pm 29.399\%$. Analiza statistică a acestor date nu evidențiază diferențe semnificativ statistice între cele 2 loturi din punctul de vedere

al acestor 2 parametrii ($p=0.218$ pentru indicele de comorbiditate Charlson respectiv $p=0.110$ rata de supraviețuire estimată la 10 ani). În lotul de pacienți diagnosticați cu infecție periprotetică ($n=31$) înrolați în studiu, indicele de comorbiditate Charlson a variat între 0 și 7 puncte, cu o medie de 4 și o deviație standard de ± 1.621 . Rata de supraviețuire estimată la 10 ani, a variat între 0 și 98% puncte, cu o medie de 53.00% și o deviație standard de $\pm 31.626\%$. În lotul de pacienți diagnosticați cu degradare aseptică implant endoprotetic ($n=30$) înrolați în studiu, indicele de comorbiditate Charlson a variat între 1 și 7 puncte, cu o medie de 4 și o deviație standard de ± 1.230 . Rata de supraviețuire estimată la 10 ani, a variat între 0 și 96% puncte, cu o medie de 53.00% și o deviație standard de $\pm 26.002\%$.

4.8 Managementul terapeutic

Managementul terapeutic al pacienților diagnosticați cu infecție periprotetică.

Toate cele 31 de cazuri de infecții periprotetice au fost analizate din punct de vedere al managementului, un procedeu chirurgical fiind asociat unui tratament antibiotic specific în toate cazurile, niciun pacient nefiind manageriat cu terapie antibiotică supresivă pe termen lung.

Astfel, tipurile de management chirurgical implementate, în funcție de frecvență, au fost: 1 intervenție de tip 3SE - Three-stage exchange (revizie în 3 etape) (3.22%), 4 intervenții de tip DAIR - Debridement and implant retention (12.90%), 12 intervenții de tip OSE - One-stage exchange (revizie într-o etapă) (38.70%), și 14 intervenții de tip TSE - Two-stage exchange (revizie în 2 etape) (45.16%). În 2016, au fost efectuate 6 intervenții chirurgicale de tip TSE și o intervenție chirurgicală de tip OSE. În anul 2017, au fost efectuate 4 intervenții chirurgicale de tip OSE, și câte o intervenție chirurgicală de tip OSE și 3SE. 5 intervenții chirurgicale de tip OSE, 3 intervenții chirurgicale de tip TSE și o intervenție chirurgicală de tip DAIR, au fost efectuate în anul 2018, iar în anul 2019, au fost efectuate 3 intervenții chirurgicale de tip DAIR, 2 intervenții chirurgicale de tip OSE și 4 intervenții chirurgicale de tip TSE.

Analizând tipul de procedeu chirurgical implementat, în funcție de tipul de infecție periprotetică (acută, cronică sau acută hematogenă), și anul înrolării în studiu au fost evidențiate diferențe din punct de vedere al strategiilor de tratament adoptate, diferențe survenite cel mai probabil o dată cu creșterea gradului de încredere în strategiile de diagnosticare și management implementate prin această cercetare și cu publicare, în literatura de specialitate, a rezultatelor pe termen lung obținute în urma implementării aceluiași strategii în diferite centre de referință la nivel internațional. Dacă în primii 2 ani de studiu, în cazul infecțiilor acute și acute hematogene, procedeul chirurgical cel mai frecvent implementat a fost cel de tip OSE, în anii de studiu 2018-2019 cel mai frecvent procedeu chirurgical utilizat a fost DAIR. În cazul infecțiilor periprotetice cronice, dacă în perioada de studiu 2016-2017 cel mai frecvent procedeu chirurgical adoptat a fost revizia în 2 etape (TSE), în ultimii 2 ani de studiu s-a observat o schimbare certă spre adoptarea unor politici de tip revizie într-o singură etapă (OSE).

Tabel 9 Repartiție număr tip intervenții chirurgicale pe ani de studiu și tip infecție periprotetică

An studiu: 2016			
Tip procedeu chirurgical	Tip infecție periprotetică		
	Acută	Acută hematogenă	Cronică
3SE - Three-stage exchange	-	-	-
TSE - Two-stage exchange	1	-	5
OSE - One-stage exchange	1	-	-
DAIR - Debridement and implant retention	-	-	-
An studiu: 2017			
Tip procedeu chirurgical	Tip infecție periprotetică		
	Acută	Acută hematogenă	Cronică
3SE - Three-stage exchange	-	-	1
TSE - Two-stage exchange	-	-	1
OSE - One-stage exchange	1	1	2
DAIR - Debridement and implant retention	-	-	-
An studiu: 2018			
Tip procedeu chirurgical	Tip infecție periprotetică		
	Acută	Acută hematogenă	Cronică
3SE - Three-stage exchange	-	-	-
TSE - Two-stage exchange	-	-	3
OSE - One-stage exchange	-	-	5
DAIR - Debridement and implant retention	-	1	-
An studiu: 2019			
Tip procedeu chirurgical	Tip infecție periprotetică		
	Acută	Acută hematogenă	Cronică
3SE - Three-stage exchange	-	-	-
TSE - Two-stage exchange	-	-	3
OSE - One-stage exchange	-	-	2
DAIR - Debridement and implant retention	2	2	-
Sumar			
Tip procedeu chirurgical	Tip infecție periprotetică		
	Acută	Acută hematogenă	Cronică
3SE - Three-stage exchange	-	-	1
TSE - Two-stage exchange	1	-	12
OSE - One-stage exchange	2	1	9
DAIR - Debridement and implant retention	2	3	-

Managementul terapeutic implementat s-a soldat cu eșec în două cazuri.

Pe baza acestor două cazuri de eșec a unei intervenții de asanare a unei infecții periprotetice, putem afirma faptul că, în cazul acestui lot de pacienți studiați, rata de recidivă a unei infecții periprotetice după o asanare este de 6.45%.

Tratamentul cu antibiotice administrate pe cale intravenoasă a inclus vancomicina în optsprezece cazuri, ampicilină/sulbactam în două cazuri, și fiecare dintre următoarele, într-un caz: meropenem+linezolid, linezolid + levofloxacin, levofloxacin, vancomicină + meropenem, meropenem, piperacilina/tazobactam și vancomicină + cefuroxim. Cel mai frecvent antibiotic oral prescris a fost cotrimoxazolul în 10 episoade, urmat de cotromoxazol + rifampicină în 6 episoade, levofloxacin în 5 episoade, levofloxacin + rifampicină în 4 episoade, și fiecare într-un singur episod: ciprofloxacina, cotrimoxazol + cefuroxim, amoxicilină/acid clavulanic, și amoxicilina/acid clavulanic + cotrimoxazol. Durata totală a tratamentului a fost de 3 luni, cu excepția unui caz.

4.9 Follow-up

Pacienții au fost urmăriți și evaluați postoperator până aceștia au dezvoltat un eșec de tratament, au decedat sau au fost pierduți în perioada de follow-up. În perioada de studiu din documentele disponibile niciun pacient nu a decedat și niciun pacient nu a fost pierdut pe parcursul studiului.

Analiză Kaplan-Meier a întregului lot de studiu

Folosind tabelul de supraviețuire cumulativă - cumulative survival table, probabilitatea de mortalitate cumulată la 12 luni este de 1.60%, la 25 luni de 3.40% iar la 39 luni de 3.40% sau probabilitatea de supraviețuire cumulată la 12 luni este de 98.40%, la 25 luni de 95.30% iar la 39 luni de 95.30%.

Analiză Kaplan-Meier pe loturi de studiu

Aceasta analiză a fost efectuată pe cele două loturi de studiu, pacienți diagnosticați cu degradare aseptică și pacienți diagnosticați cu infecție periprotetică utilizând următorii pași - KM Luni BY infecție /STATUS=Recidivă(0) /PRINT TABLE MEAN /PLOT SURVIVAL /TEST LOGRANK BRESLOW TARONE /COMPARE OVERALL POOLED.

Folosind din nou tabelul de supraviețuire cumulativă sau cumulative survival table, probabilitatea de mortalitate cumulată în cazul pacienților diagnosticați cu degradare aseptică a implantului endoprotetic la 12 luni este de 0.00%, la 25 luni de 0.00% iar la 39 luni de 0.00% sau probabilitatea de supraviețuire cumulată la 12 luni este de 100.00%, la 25 luni de 100.00% iar la 39 luni de 100.00%, iar în cazul pacienților diagnosticați cu infecție periprotetică probabilitatea de mortalitate cumulată la 12 luni este de 3.20%, la 25 luni de 8.30% iar la 39 luni de 8.30% sau probabilitatea de supraviețuire cumulată la 12 luni este de 96.80%, la 25 luni de 88.70% iar la 39 luni de 88.70%.

Analiză Kaplan-Meier pe loturi de studiu și proceduri chirurgicale

Aceasta analiză a fost efectuată pe cele două loturi de studiu, pacienți diagnosticați cu degradare aseptică și pacienți diagnosticați cu infecție periprotetică utilizând următorii pași - KM Luni BY infecție /STRATA=Procedeuch /STATUS=Recidivă(0) /PRINT TABLE MEAN /PLOT SURVIVAL /TEST LOGRANK BRESLOW TARONE /COMPARE OVERALL POOLED.

Analizând tabelul de supraviețuire cumulativă se evidențiază faptul că singurele evenimente au fost prezente în cazul utilizării unui procedeu chirurgical de tip TSE- Two-stage exchange, revizie în 2 etape.

Utilizând cumulative survival table probabilitatea de mortalitate cumulată, în cazul pacienților la care a fost utilizat alt procedeu chirurgical în afară de revizia în 2 etape, la 12 luni este de 0.00%, la 25 luni de 0.00% iar la 39 luni de 0.00% sau probabilitatea de supraviețuire cumulată la 12 luni este de 100.00%, la 25 luni de 100.00% iar la 39 luni de 100.00%, iar în cazul pacienților la care a fost utilizat procedeu chirurgical de tip TSE- Two-stage exchange, revizie în 2 etape (procedeu utilizat strict în cazul pacienților cu infecție periprotetică) probabilitatea de mortalitate cumulată la 12 luni este de 6.9%, la 25 luni este de 15.20%, iar la 39 luni de 15.20% sau probabilitatea de supraviețuire cumulată la 12 luni este 92.90%, la 25 luni este de 77.40%, iar la 39 luni de 77.40%. De reamintit faptul că acest tip de management terapeutic implementat, s-a soldat cu eșec în două cazuri. În primul caz, eșecul a fost cauzat de lipsa complianței în respectarea schemei de antibioterapie (pacientul renunțând la administrarea terapiei cu ciprofloxacina la domiciliu după 30 zile) și în contextul în care era un pacient imunodeprimat în contextul unei imunosupresii pentru un transplant renal. Cel de al doilea caz, infecție periprotetică cauzată de o tulpină bacteriană de *Enterococcus faecalis* manageriat printr-un procedeu de tip two-stage exchange, reinfecție cauzată de aceeași tulpină de *Enterococcus faecalis*.

Astfel putem sumariza prin faptul că, utilizând funcția de estimare Kaplan-Meier, rata estimată de supraviețuire (tradusă în cazul acestei cercetări prin lipsa recidivei infecției periprotetice) raportată la tipul de procedeu chirurgical utilizat și la 39 luni este de 100.00% în cazul procedeelelor de tip Debridement and implant retention, One-stage exchange, și Three-stage exchange, iar în cazul procedeelelor de tip Two-stage exchange tot la 39 luni această rată este de 77.40%.

4.10 Implicații economice. Durata de spitalizare.

Costul de tratament

Utilizând din nou un procedeu de analiză statistică de tip One-way ANOVA și ulterior tabelul multiple comparisons ce conține rezultatele unui test de analiză post hoc Tukey putem concluziona prin faptul că există o corelație semnificativ statistică între costul de tratament al unui pacient și prezența unei infecții periprotetice ($p=0.000$), astfel costurile de management ale unui pacient s-au asociat cu diagnosticul de infecție periprotetică.

Durata de spitalizare

Un alt parametru cu implicații majore în impactul economic al infecțiilor periprotetice cât și în toate patologiile, este reprezentat de durata de spitalizare. Un factor ce poate influența decisiv evoluția oricărei patologii.

Durata medie de spitalizare a unui pacient cu infecție periprotetică, în funcție de procedeul chirurgical pentru care s-a optat, a fost de 9.5 zile, 12.25 zile, și 26.71 zile pentru DAIR, OSE, și respectiv TSE.

Durate mai mari de spitalizare în cazul pacienților diagnosticați cu infecții periprotetice (peste 25 zile) s-au asociat cu următoarele tulpini bacteriene izolate: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MLSBi -inducible resistance to clindamycin strains); Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MLSBi -inducible resistance to clindamycin strains) + *Enterobacter cloacae* complex; *Staphylococcus epidermidis*; *Staphylococcus epidermidis* + *Pseudomonas fluorescens*; *Staphylococcus lentus*; *Ralstonia pickettii*, și *Enterococcus faecalis*.

Utilizând din nou un procedeu de analiză statistică de tip One-way ANOVA și tabelul multiple comparisons ce conține rezultatele unui test de analiză post hoc Tukey putem concluziona că există o corelație/diferență semnificativ statistică între durata de spitalizare a unui pacient și prezența unui infecții periprotetice ($p=0.048$), astfel durata mare de spitalizare a unui pacient s-a asociat cu diagnosticul de infecție periprotetică.

Utilizând un procedeu de corelație de tip bivariabilă, cu calcularea unor coeficienți de corelație de tip Pearson, Kendall's tau-b sau Sperman, și utilizarea unui test de semnificație, nu s-a evidențiat o corelație semnificativ statistică între durata de spitalizare și tipul de procedeu chirurgical utilizat.

6. DISCUȚII.

Vârsta pacienților care au fost supuși unei intervenții de endoprotezare primară a scăzut semnificativ în ultimele decenii. Acest lucru s-a datorat, pe de o parte, ratei bune de supraviețuire a implanturilor endoprotetice primare, pe de altă parte așteptărilor tot mai crescute ale pacienților (269).

Diagnosticul și managementul infecțiilor asociate implanturilor ortopedice încă rămân o problemă. Existența „ferestrei” de 3 săptămâni reprezintă un punct temporal cheie în care fie am câștigat lupta pentru „suprafață”, fie am pierdut-o. Protocoalele adaptate tratamentului infecțiilor asociate biofilmului și a noilor metode de diagnostic, au îmbunătățit rata de eradicare a infecțiilor, fără a avea certitudine de 100% că am eradicat infecția. Sunt necesare centre de tratament bine dotate pentru diagnostic și echipe multidisciplinare chirurg-infecționist-microbiolog clinic. Infecțiile periprotetice, reprezintă cea mai de temut complicație asociată unei artroplastii și necesită un diagnostic precoce, rapid și precis, capabil să ducă la implementarea unei strategii adaptate de management terapeutic.

Diagnosticul de infecție periprotetică se bazează pe o serie de criterii bine definite (91) (270) (271). Până în acest moment, nu există un standard de aur clar definit pentru a stabili diagnosticul de infecție asociată unui implant endoprotetic, deși prin Primul și cel de Al doi-lea Consens Internațional s-a putut standardiza într-o mai mare măsură diagnosticul și implicit managementul acestor cazuri (272). Este obligatoriu, pentru gestionarea cazurilor de infecții periprotetice, a se avea în vedere o abordare multidisciplinară (chirurg ortoped – medic infecționist – microbiolog clinic) (91).

Deși punerea în aplicare a unor strategii standardizate și a unor protocoale de diagnostic și management locale sau naționale/internaționale, cum ar fi utilizarea sălilor de operație cu flux laminar, sau administrarea adecvată a antibioticelor perioperator, a contribuit la scăderea incidenței infecției periprotetice, aceasta continuă să apară.

Incidența infecției periprotetice după artroplastia totală de șold primară este de 1–2% (273; 274; 275), în timp ce rata infecției periprotetice după artroplastia totală de genunchi primară este de 1-4% (275; 276; 277; 278). Infecția periprotetică reprezintă 14.8% din reviziile efectuate pentru o artroplastie de șold și reprezintă cea mai frecventă cauză de revizie după o artroplastie de genunchi (25.2%) (279; 280).

Am realizat un studiu monocentric, observațional, de cohortă în cadrul Spitalului Clinic Județean de Urgență Sibiu, România, în care a fost înrolat un număr total de 61 de pacienți în perioada de studiu analizată (Septembrie 2016 – Ianuarie 2019), reprezentând un număr total de 61 de implanturi prelevate. Pe baza criteriilor de diagnostic au fost realizate două loturi de pacienți. Diagnosticul de degradare aseptică a unui implant endoprotetic a fost stabilit în 30 de cazuri (49.18%) iar diagnosticul de infecție asociată unui implant endoprotetic (infecție periprotetică) a fost stabilit în 31 de cazuri (50.81%). În subplotul de pacienți diagnosticați cu degradare aseptică vârsta medie a pacienților a fost de 68.50 ani iar în cel cu pacienți diagnosticați cu infecție periprotetică, vârsta medie a pacienților a fost de 68 ani. Utilizând clasificarea propusă de Zimmerli

și colab. (236), am putut grupa cei 31 de pacienți diagnosticați cu infecție periprotetică astfel: 9 pacienți diagnosticați cu infecție periprotetică precoce, 6 pacienți cu infecție periprotetică întârziată și 16 pacienți diagnosticați cu infecție periprotetică tardivă.

Studiul lichidului sinovial reprezintă un element cheie în stabilirea diagnosticului de infecție periprotetică. Lichidul sinovial a fost analizat din punct de vedere al celularității, nivelului proteinei C-reactive și al esterazei leucocitare.

Evident și studiul meu a avut unele limitări. În primul rând tipul de studiu realizat, un studiu monocentric, observațional, de cohortă. În al doilea rând, populația limitată înrolată în studiu, respectiv numărul de cazuri cu infecții periprotetice înrolate în studiu asociat unei perioade relativ scurte de înrolare cât și de follow-up. În al treilea rând, centrul în care a fost realizat acest studiu nu este dedicat tratamentului infecțiilor periprotetice, dar cu introducerea noului protocol și cu echipa dedicată care să gestioneze aceste cazuri (chirurg ortoped - specialist în boli infecțioase - microbiolog), rezultatele obținute sunt încurajatoare, prevalența infecțiilor periprotetice în populația putând fi chiar mai mare. În al patrulea rând, fiecare metodă analizată în acest studiu are o limitare, cum ar fi testul cu bandelete de detectare a esterazei leucocitare poate prezenta dificultăți în citirea culorii datorită prezenței de sânge sau țesuturi, sau tehnologia de detectarea moleculară 16S rRNA bbFISH (beacon-based fluorescent in situ hybridization) și în speță kit-ul bbFISH (hemoFISH® Masterpanel, miacom® diagnostics GmbH Düsseldorf, Germany utilizat, poate detecta strict bacteriile pentru care acest kit a fost dezvoltat. În al cincilea rând, costul estimat al managementului acestor cazuri nu a inclus costurile rezultate din alte internări în spital (de exemplu, internarea în secțiile de boli infecțioase), nu a inclus nici costurile evaluărilor din ambulatoriu, inclusiv reabilitarea, îngrijirile acordate la domiciliu și tratamentele farmaceutice efectuate ambulatoriu. Astfel, în ceea ce privește estimările costurilor, sarcina economică a infecției periprotetice calculată în prezentul studiu este categoric subestimată. Mulți factori sociali și economici pot influența schimbările populației. Sunt necesare studii mai mari pentru a confirma aceste rezultate. Cu toate acestea, rezultatele mele sunt foarte promițătoare.

7. CONCLUZII.

A fost o călătorie lungă pentru a înțelege lumea plină de mister a biofilmelor, o călătorie cu multe descoperiri în acest domeniu. Există informații noi, extraordinare, care implică cunoașterea comunicării intercelulare (cell-to-cell communication), dar suntem încă la începutul înțelegerii noastre. Aceste descoperiri vor fi progrese certe pentru tratamentul infecțiilor asociate biofilmului.

Diagnosticul și managementul infecțiilor asociate implanturi ortopedice, infecții asociate biofilmului rămân încă o problemă. Infecția periprotetică rămâne în continuare cea mai frecventă și de temut complicație asociate unei artroplastii. În ciuda progresului științific din ultimii ani, incidența infecțiilor periprotetice este în creștere, atât legată de un număr crescut de intervenții de endoprotezare primare, cât și de apariția microorganismelor rezistente la diferite clase de antibiotice sau chiar panrezistente. Centrele de diagnostic și tratament dedicate managementului infecțiilor periprotetice cu echipe multidisciplinare (chirurg ortoped, specialist în boli de infecțioase și microbiolog clinic) sunt obligatorii pentru a oferi șansa unui management ortopedic corect al infecțiilor de biofilm asociate implanturi endoprotetice.

Culturile bacteriene din lichidul de sonicare rămân standardul de aur în diagnosticarea infecțiilor asociate implanturilor endoprotetice. Cultura negativă a lichidului sinovial obținut preoperator, a țesuturilor moi care înconjoară implantul endoprotetic sau a membranei de interfață implant-os obținute intraoperator, nu exclude prezența bacteriilor pe suprafața implantului. Tehnologia de detectarea moleculară a bacteriilor 16S rRNA bbFISH (beacon-based fluorescent in situ hybridization) reprezintă o nouă analiză moleculară de succes, care suplimentează abordările tradiționale și accelerează diagnosticul infecțiilor periprotetice. Acest test 16S rRNA bbFISH trebuie optimizat pentru detectarea tulpinilor bacteriene relevante pentru domeniul infecțiilor asociate implanturilor ortopedice precum *Cutibacterium* (cunoscut anterior sub denumirea de *Propionibacterium*) acnes și de ce nu *Ralstonia pickettii* sau *Pseudomonas* spp.

Determinarea nivelului proteinei C-reactive din lichidul sinovial a prezentat cea mai bună performanță în ceea ce reprezintă sensibilitatea, urmat de numărul de leucocite, procentul de polimorfonucleare și esteraza leucocitară. În ceea ce privește specificitatea, cea mai mare a fost întâlnită în cazul determinării numărului de leucocite, urmat de esteraza leucocitară, procentul de polimorfonucleare și în ultimul rând de nivelul proteinei C-reactive din lichidul sinovial. Testul de detectare cu bandetă a esterazei leucocitare s-a dovedit a avea rezultate cel puțin satisfăcătoare, având în vedere că este un test mai rapid și este mai puțin costisitor, totodată reprezintă o opțiune bună în comparație cu costurile de detectare a proteinei C-reactive din lichidul sinovial. Datele publicate cu privire la nivelul proteinei C-reactive din lichidul sinovial arată că fiecare centru ar trebui să-și stabilească propriile valori prag, deoarece, după cum au raportat alți autori, determinarea sa pare să fie influențată de metoda utilizată pentru determinare. Atât esteraza leucocitară, cât și proteina C-reactivă din lichidul sinovial au o valoare diagnostică ridicată. Atât numărul de leucocite din lichidul sinovial, cât și procentul de polimorfonucleare din lichidul sinovial își mențin rolul în diagnosticul infecției periprotetice. Detectarea esterazei leucocitare, a numărului de leucocite din lichidului sinovial și a procentului de polimorfonucleare din lichidul sinovial este fiabilă și valabilă, făcând parte din bateria de teste actuale pentru detectarea

infecțiilor periprotetice recomandate de majoritatea forurilor din domeniu, iar rolul proteinei C-reactive din lichidul sinovială trebuie să fie încă evaluat.

Probabil, cea mai mare contribuția a implementării acestei strategii de diagnosticare a fost reprezentată de posibilitatea identificării și managementului unor cazuri de infecții perioprotetice cauzate de agenți patogeni foarte rari identificați, printre acestea se numără cele 4 cazuri de infecții periprotetice cauzate de *Ralstonia pickettii* un bacil Gram-negativ cu capabilități de a forma biofilme, care extrem de rar a fost implicat ca și agent etiologic în asemenea situații. Totodată pe baza observațiilor mele, împreună cu specialistul în boli infecțioase implicat în proiect, am putut stabili strategia de management medicamentos (antibiotic) al acestor cazuri neexistând până în acest moment ghiduri sau recomandări internaționale.

Implementarea acestei strategii de diagnostic și tratament al pacienților cu infecții periprotetice, din punctul meu de vedere, a reprezentat un real succes pentru pacienți, utilizarea tehnicilor implementate în continuare va depinde doar de dorința specialiștilor implicați în managementul acestor cazuri. Utilizarea protocolului creat cu excepția utilizării de rutină a tehnicii de detectare moleculară a bacteriilor din punctul meu de vedere reprezintă o obligativitate în momentul în care se dorește tratarea pacienților cu infecții periprotetice. Lucrarea de față, va reprezenta punctul de plecare pentru viitoarele mele cercetări științifice.

În concluzie:

1. Infecția periprotetică rămâne în continuare cea mai frecventă și de temut complicație asociată unei artroplastii.
2. Din numărul total de 61 de implanturi prelevate, de tip endoproteză (n = 58) sau spacer din polimetilmetacrilat PMMA (n = 3), diagnosticul de degradare aseptică a unui implant endoprotetic a fost stabilit în 30 de cazuri (49.18%) iar diagnosticul de infecție asociată unui implant endoprotetic (infecție periprotetică) a fost stabilit în 31 de cazuri (50.81%).
3. Vârsta medie în grupul de pacienți diagnosticați cu degradare aseptică a fost de 68,50 ani iar în grupul de pacienți diagnosticați cu infecție periprotetică, vârsta medie a pacienților a fost de 68 ani.
4. 22 de pacienți au fost de gen feminin și 17 pacienți au provenit din mediul rural în primul grup respectiv 10 de pacienți au fost de gen feminin și 15 pacienți au provenit din mediul rural în al doilea grup.
5. Nu au existat diferențe semnificativ statistice între cele 2 loturi de studiu raportat la vârstă sau mediu de proveniență, $p=0.574$, respectiv $p=0.517$. Din puncte de vedere al genului au existat diferențe semnificativ statistice între cele 2 grupuri, $p=0.001$.
6. Între momentul intervenției inițiale și înrolarea în studiu între cele două loturi de studiu au existat diferențe semnificativ, $p=0.010$ și respectiv, $p=0.018$.

7. Patologia articulară subiacentă, în lotul de pacienți diagnosticați cu degradare aseptică a unui implant endoprotetic a fost osteoartrita (n=22), urmată de poliartrita reumatoidă (n=6) și traumatisme – fractura de col femural (n=2), iar în lotul de pacienți diagnosticați cu infecție periprotetică cea mai frecventă patologie a fost osteoartrita (n=28), urmată de poliartrita reumatoidă (n=2) și traumatisme – fractura de col femural (n=1).
8. Durata medie în ani de la momentul intervenției primare de endoprotezare și până la debutul infecției periprotetice a fost de 3.23 ani, cu un minim de 2 săptămâni și un maxim de 15 ani.
9. Dintre comorbiditățile prezente în lot, riscul pentru a dezvolta o infecție periprotetică la pacienții cu boală cardiacă ischemică – risc de 0.077 ori mai mare 95% CI[0.008 – 0.0765] p= 0.029, și în cazul pacienților cu poliartrită reumatoidă seropozitivă – risc de 0.040 ori mai mare 95% CI[0.002 – 0.716] p= 0.029.
10. Nivelul proteinei C-reactive din lichidul sinovial a prezentat cea mai bună performanță în ceea ce reprezintă sensibilitatea, urmat de numărul de leucocite, polimorfonuclearele și esteraza leucocitară.
11. La pacienții cu degradare aseptică, numărul de leucocite din lichidul sinovial a fost 645.27 G/l (± 502.53), versus 8962.58 G/l (± 9488.41), la cei cu infecții periprotetice.
12. Media procentului de polimorfonucleare (PMN) din lichidul sinovial a fost 52% (± 16.27) la pacienții cu degradare aseptică, versus 82.29% (± 13.00), la cei cu infecții periprotetice, semnificativ statistic- p=0.000.
13. În cazul infecției acute periprotetice, media proteinei C-reactive din lichidul sinovial a fost 81.40 mg/L, media numărului de leucocite din lichidul sinovial a fost 19700.00 G/l (± 10207.97), și media procentului de polimorfonucleare din lichidul sinovial a fost 90% (± 3.53).
14. În cazul pacienților diagnosticați cu infecție acută-hematogenă periprotetică, media proteinei C-reactive din lichidul sinovial a fost 36 mg/L media numărului de leucocite din lichidul sinovial a fost 17000.00 G/l (± 10923.97), și media procentului de polimorfonucleare din lichidul sinovial a fost 91.25 (± 2.50).
15. În cazul pacienților diagnosticați cu infecție cronică periprotetică, media proteinei C-reactive din lichidul sinovial a fost 8.96 mg/L, media numărului de leucocite din lichidul sinovial a fost 5060.90 G/l (± 6002.32), și media procentului de polimorfonucleare a fost 78.92% (± 14.02).
16. În ceea ce privește parametrii mai sus evaluați, există diferențe semnificativ statistice între nivelurile acestor parametri raportat la tipurile de infecții, p=0.000.
17. Am evidențiat o corelație semnificativ statistică între nivelul seric al proteinei C-reactive și prezența unei infecții periprotetic, $r= 0.378$, p= 0.003, n=61.

18. Există o corelație semnificativ statistică între viteză de sedimentare a hematiilor crescută și prezența unei infecții periprotetic, $r= 0.304$, $p= 0.017$, $n=61$.
19. Între cele două loturi de pacienți au existat diferențe semnificativ statistice în ceea ce privește nivelul fibrinogenului, $p=0.017$ și o corelație semnificativ statistică între nivelul fibrinogenului și prezența unei infecții periprotetice, $r= 0.305$, $p= 0.017$, $n=61$.
20. Din punct de vedere histopatologic, există o corelație semnificativ statistic între membrana periprotetică de tip II și prezența unui infecții periprotetice ($p=0.005$), cât și faptul că tipul IV de membrană periprotetică se asociază mai frecvent cu cazurile de degradare mecanică a implantului endoprotetic ortopedic ($p=0.016$).
21. Un diagnostic etiologic a fost posibil în 29 din cele 31 de cazuri de infecții periprotetice(93.54%).
22. Cel mai frecvent s-au izolat cocii Gram pozitivi: *Staphylococcus aureus* ($n=7$), *Enterococcus* spp. ($n=2$) și *Streptococcus* grup D ($n=1$), *Staphylococcus epidermidis* ($n=7$).
23. Bacilii Gram negativi izolați în infecțiile periprotetice au fost reprezentați de *Escherichia coli*, *Enterobacter* (spp., *E. cloacae* complex, *E. amnigenus*), *Klebsiella* spp., *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. și *Ralstonia pickettii*.
24. În ceea ce privește performanțele culturii lichidului de sonicare, sensibilitatea acestui test este de 90.32% iar specificitatea este de 100.00%. Sonicarea a permis identificarea a 4 tulpini de *Ralstonia picketti*, neidentificată prin cultivarea clasică.
25. 18 tulpini de coci Gram-pozitivi aerobi și 6 tulpini de bacili Gram-negativi aerobi au fost izolate și din culturile țesuturilor biopsice, cel mai frecvent fiind identificate *Staphylococcus aureus* ($n=7$) și *Staphylococcus epidermidis* ($n=6$).
26. Numărul optim de probe prelevate intraoperator este de 5.
27. Hemoculturile și examenul bacteriologic din lichidul de sonicare au identificat același agent patogen la 3 pacienți, respectiv: *Klebsiella* spp., *Staphylococcus aureus* meticilino-rezistent și *Staphylococcus epidermidis*.
28. 30 de tulpini bacteriene din cele izolate în timpul au fost tulpini multidrog rezistente: 6 tulpini de MRSA, 7 tulpini de stafilococi coagulazo-negativi, 17 bacili Gram negativi, dintre care 3 tulpini de *Ralstonia picketti*.
29. Tehnologia de detectarea moleculară a bacteriilor 16S rRNA bbFISH (beacon-based fluorescent in situ hybridization) accelerează diagnosticul infecțiilor periprotetice- necesar pentru *Cutibacterium acnes*, *Ralstonia pickettii* sau *Pseudomonas* spp..
30. Cei mai buni parametri au fost identificați în cazul culturilor din lichidul de sonicare, urmați de tehnicile de biologie moleculară de identificare a bacteriilor prin 16S rRNA bbFISH®, culturile bacteriene din probe biopsice și culturile din lichidul sinovial.

31. Rata de recidivă a unei infecții periprotetice după asanare a fost de 6.45%.
32. Durata medie de spitalizare a cazuisticii înrolate a fost de 15.98 zile cu un minim de 7 zile și o durată maximă de spitalizare de 66 zile; pentru infecțiile periprotetice a fost de 18.87 zile, cu o deviație standard de ± 14.61 zile.
33. Durata de spitalizare peste 25 zile, s-a asociat infecțiilor cu stafilococ, aureu sau coagulazonegativ, a asocierilor microbiene și a infecțiilor cu *Pseudomonas fluorescens*, *Ralstonia pickettii*, și *Enterococcus faecalis*.
34. Probabilitatea de supraviețuire cumulată la 12 luni este 92.90%, la 25 luni este de 77.40%, iar la 39 luni de 77.40%.
35. Pe baza observațiilor din acest studiu, a identificării de agenți etiologici precum *Ralstonia pickettii*, am concluzionat că introducerea ciprofloxacinei în spăcere în asociere cu aminoglicozide sau vancomicină, este cea mai bună opțiune pentru a extinde eficacitatea antibacteriană împotriva germenilor oportuniști.
36. Centrele de diagnostic și tratament dedicate managementului infecțiilor periprotetice cu echipe multidisciplinare (chirurg ortoped, specialist în boli de infecțioase și microbiolog clinic) sunt obligatorii pentru a oferi șansa unui management ortopedic corect al infecțiilor de biofilm asociate implanturi endoprotetice.

Bibliografie

1. Towards diagnostic guidelines for biofilm-associated infections. Hall-Stoodley, L, și alții. 2, 2012, FEMS Immunol, Vol. 65, pg. 146-57.
2. A short history of microbial biofilms and biofilm infections. Høiby, N. 2017, APMIS, Vol. 125, pg. 272-275.
3. The significance of marine bacteria in the fouling of submerget surfaces. ZoBell, CE și Allen, E. 1935, J Bacteriol, Vol. 29, pg. 239-51.
4. Structure and function of the cell envelope of Gram-negative bacteria. Costerton, JW, Ingram, JM și Cheng, K-J. 1974, Bacteriol Rev, Vol. 38, pg. 87-110.
5. Production of mucoid microcolonies by *Pseudomonas aeruginosa* within infected lungs in cystic fibrosis. Lam, J, Lam, CK și Costerton, JW. 1980, Infect Immun, Vol. 28, pg. 546-56.
6. The bacterial glycocalyx in nature and disease. Costerton, JW, Ingram, JM și Cheng, K-J. 1981, Vol. 35, pg. 299-324.
7. Bacterial biofilms in nature and disease. Costerton, JW, și alții. 1987, Annu Rev Microbiol, Vol. 41, pg. 435-64.
8. Domizia, S. Infections after total joint arthroplasty. Prague : The Comprehensive Orthopedic Review Course, 2015. CRC Course during the 16th EFORT Congresss Prague: 28 May 2015.
9. Biofilms: an emergent form of bacterial life. Flemming, HC, și alții. 1, September 2016, Nature Reviews Microbiology, Vol. 14, pg. 563-575.
10. The role of micorbial biofilm in prosthetic joint infections. Gbejuade, HO, Lovering, AM și Webb, JC. 86, 2015, Acta Ortopaedica, Vol. 2, pg. 147-158.
11. Biofilm and chronic infections. Wolcott, RD și Ehrlich, GD. 299, 2008, JAMA, Vol. 22, pg. 2682-4.
12. Energy-Dependent Stability of *Shewanella oneidensis* MR-1 Biofilms. Saville, RM, și alții. 13, s.l. : J Bacteriol, July 2011, Vol. 193, pg. 3257-3264.
13. Hlem, RF și Potts, M. Their Diversity in Space and Time. [autorul cărții] BA Whitton. [ed.] BA Whitton. Ecology of Cyanobacteria II. s.l. : Springer Netherlands, 2012, pg. 461-480.
14. Autoinduction of bacterial luciferase. Occurrence, mechanism and significance. Nealson, KH. 1, 4 February 1977, Arch Microbiol, Vol. 112, pg. 73-9.
15. Communication in bacteria: an ecological and evolutionary perspective. Keller, L și Surette, MG. 4, 2006, Nat Rev Microbiol, Vol. 4, pg. 249-58.
16. Functional Amyloids Keep Quorum-sensing Molecules in Check. Seviour, T, și alții. 2015, J Biol Chem, Vol. 290, pg. 6457-69.
17. Community quorum sensing signalling and quenching: microbial granular biofilm assembly. Tan, CH, și alții. 2015, NPJ Biofilms Microbiomes, Vol. 1, p. 15006 .
18. Local and global consequences of flow on bacterial quorum sensing. Kim, MK, și alții. 2016, Nat Microbiol, Vol. 1, p. 15005.
19. Metabolic co-dependence gives rise to collective oscillations within biofilms. Liu, J, și alții. 7562, 2015, Nature, Vol. 523, pg. 550-4.
20. Ion channels enable electrical communication in bacterial communities. Prindle, A, și alții. 2015, Nature, Vol. 527, pg. 59-63.

21. Flemming, HC și Wingender, J. 9, 2010, *Nat Rev Microbiol*, Vol. 8, pg. 623-33.
22. Isolation of new bacterial species from drinking water biofilms and proof of their in situ dominance with highly specific 16S rRNA probes. Kalmbach, S, Manz, W și Szewzyk, U. 11, 1997, *Appl Environ Microbiol*, Vol. 63, pg. 4164-70.
23. Self-generated diversity produces "insurance effects" in biofilm communities. Boles, BR, Thoendel, M și Singh, PK. 47, 2004, Vol. 101, pg. 16630-5.
24. Real-Time Microsensor Measurement of Local Metabolic Activities in Ex Vivo Dental Biofilms Exposed to Sucrose and Treated with Chlorhexidine. von Ohle, C, și alții. 7, 2010, *Appl Environ Microbiol*, Vol. 76, pg. 2326-34.
25. Role of Multicellular Aggregates in Biofilm Formation. Kragh, KN, și alții. 2, 2016, *mBio*, Vol. 7, pg. e00237-16.
26. Genomics, environmental genomics and the issue of microbial species. Ward, DM, și alții. 2, 2008, *Heredity* (Edinb), Vol. 100, pg. 207-19.
27. Advanced techniques for in situ analysis of the biofilm matrix (structure, composition, dynamics) by means of laser scanning microscopy. Neu, TR și Lawrence, JR. 2015, *Methods Mol Biol*, Vol. 1147, pg. 43-64.
28. Release of the type I secreted alpha-haemolysin via outer membrane vesicles from *Escherichia coli*. Balsalobre, C, și alții. 1, 2006, *Mol Microbiol*, Vol. 59, pg. 99-112.
29. Microbion Corporation . [Interactiv] [Citat: 11 September 2017.] <http://www.microbioncorp.com/our-technology/industries/>.
30. A personal history of research on microbial biofilms and biofilm infections. Høiby, N. 70, 2014, *Pathog Dis*, pg. 205-11.
31. Antibiotic resistance of bacterial biofilms. Høiby, N, și alții. 35, 2010, *Int J Antimicrob Agents*, pg. 322-32.
32. *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in the respirarepiratory. Bjarnsholt, T, și alții. 44, 2009, *Pediatr Pulmonol*, pg. 547-58.
33. ESCMID guideline for the diagnosis and treatment of biofilm infection 2014. Hoibi, N, și alții. 2015, *Clinical Microbiologi and Infection*, pg. 1-25.
34. The role of micorbial biofilm in prosthetic joint infections. Hebert, O Gbejuade, Andrew, M Lovering și Jason, C Webb. 86, 2015, *Acta Orthopaedica*, Vol. 2, pg. 147-158.
35. Detection and identification of specific bacteria in wound biofilms. Malic, S, și alții. 155, 2009, *Microbiology*, pg. 2603-11.
36. The relationship between microbiology results in the second of a two-stage exchange procedure using cement spacer nad the outcome after revision total joint replacement for infection: the use of sonication to aid bacteriological analysis. Sorli, L, și alții. 94, 2012, *J Bone Join Surg Br*, Vol. 2, pg. 249-53.
37. Molecular and biofilm approaches to prosthetic joint infection. Tampuz, A, și alții. 2003, *Clin Orthop Relat Res*, Vol. 414, pg. 69-88.
38. Sonication of remoced hip and knee prostheses for diagnosis of infection. . Tampuz, A, și alții. 357, 2007b, *N Engl J Med*, Vol. 7, pg. 654-63.
39. bbFISH-ing in the sonication fluid. Birlutiu, RM, și alții. 29, 2019, *Medicine*, Vol. 98, p. e16501.
40. Microbiological diagnosis of device-related biofilm infections. Xu, Y, și alții. 2017, *APMIS*, Vol. 125, pg. 289-303.

41. Health care-associated infections: a meta-analysis of costs and financial impact on the US Health Care System. Zimlichman, E, și alții. 22, 2013 : s.n., JAMA Intern Med, Vol. 173, pg. 2039-46.
42. Diagnosis, prevention, and treatment of catheter-associated urinary tract infection in adults: 2009 International Clinical Practice Guidelines from the Infectious Diseases Society of America. Hooton, TM, și alții. 5, 2010 : s.n., Clin Infect Dis, Vol. 50, pg. 625-63.
43. Infections associated with orthopedic implants. Trampuz, A și Widmer, AF. 2006, Curr Opin Infect Dis, Vol. 19, p. 349.
44. Diagnosis and management of prosthetic joint infection: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. Osmon, DR, și alții. 1, 2013, Clin Infect Dis, Vol. 56, pg. e1-e25.
45. Strategies for combating bacterial biofilm infections. Wu, H, și alții. 2015, Int J Oral Sci, Vol. 7, pg. 1-7.
46. Microbiologic diagnosis of prosthetic shoulder infection by use of implant sonication. Piper, KE, și alții. 6, 2009, J Clin Microbiol, Vol. 47, pg. 1878-84.
47. Sonication of removed hip and knee prostheses for diagnosis of infection. Trampuz, A, și alții. 7, 2007, N Engl J Med, Vol. 357, pg. 654-63.
48. 'All in a box' a concept for optimizing microbiological diagnostic sampling in prosthetic joint infections. Larsen, LH, și alții. 2014, BMC Res Notes, Vol. 7, p. 418.
49. Microbiologically and clinically diagnosed vertebral osteomyelitis: impact of prior antibiotic exposure. Kim, C-J, și alții. 4, 2012, Antimicrob Agents Chemother, Vol. 56, pg. 2122-4.
50. Culture-negative periprosthetic joint infection. Parvizi, J, Erkocak, OF și Della Valle, CJ. 5, 2014, J Bone Joint Surg Am, Vol. 96, pg. 430-6.
51. Towards diagnostic guidelines for biofilm-associated infections. Hall-Stoodley, L, și alții. 2, 2012, FEMS Immunol Med Microbiol, Vol. 65, pg. 127-45.
52. Sonication of removed hip and knee prostheses for diagnosis of infection. Trampuz, A, și alții. 2007, N Engl J Med, Vol. 357, pg. 654-63.
53. Improved detection of infection in hip replacements: A currently underestimated problem. Tunney, MM, și alții. 1998, J Bone Jt Surg Br, Vol. 4, pg. 568-72.
54. Microbiologic diagnosis of prosthetic shoulder infection by use of implant sonication. Piper, KE, și alții. 2009, J Clin Microbiol, Vol. 47, pg. 1878-84.
55. A biofilm approach to detect bacteria on removed spinal implants. Sampedro, MF, și alții. 2010, Spine, Vol. 35, pg. 1218-24.
56. Laboratory diagnosis of prosthetic joint infection. Part II. Gomez, E și Patel, R. 2011, Clin Microbiol Newsl, Vol. 33, pg. 63-70.
57. Ultrasound increases the rate of bacterial cell growth. Pitt, WG și Ross, SA. 2003, Biotechnol Prog, Vol. 19, pg. 1038-44.
58. Blood culture flasks for culturing synovial fluid in prosthetic joint infections. Font-Vizcarra, L, și alții. 2010, Clin Orthop Relat Res, Vol. 468, pg. 2238-43.
59. Improved diagnosis of prosthetic joint infection by culturing periprosthetic tissue specimens in blood culture bottles. Peel, TN, și alții. 2016, mBio, Vol. 7, pg. e01776-15.

60. Use of blood culture vial specimens in intraoperative detection of infection. Levine, B și Evans, B. 2010, Clin Orthop, Vol. 382, pg. 221-31.
61. Improved diagnosis of orthopedic implant-associated infections by inoculation of sonicasonication fluid into blood culture bottles. Portillo, ME, și alții. 2015, J Clin Microbiol, Vol. 53, pg. 1622-7.
62. How many samples and how many culture media to diagnose a prosthetic joint infection: a clinical and microbiological prospective multicenter study. Bemer, P, și alții. 2016, Clin Microbiol, Vol. 54, pg. 385-91.
63. Optimal culture incubation time in orthopedic device-associated infections: a retrospective analysis of prolonged 14-day incubation. Schwotzer, N, și alții. 2014, J Clin Microbiol, Vol. 5, pg. 61-6.
64. Towards diagnostic guidelines for biofilm-associated infections. Hall-Stoodley, L, și alții. 2012, FEMS Immunol Med Microbiol, Vol. 65, pg. 127-145.
65. Detection of prosthetic hip infection at revision arthroplasty by immunofluorescence microscopy and PCR amplification of the bacterial 16S rRNA gene. Tunney, MM, și alții. 1999, Clin, Vol. 37, p. 3281.
66. Evaluation of 16S rRNA Gene PCR sensitivity and specificity for diagnosis of prosthetic joint infection: a prospective multicenter cross-sectional study. Bemer, P, și alții. 2014, J Clin Microbiol, Vol. 52, pg. 3589-3589.
67. Molecular diagnostics of infectious diseases. Muldrew, KL. 2009, Curr Opin Pediatr, Vol. 21, pg. 102-111.
68. Truncated human cytidylatephosphate-deoxyguanylate-binding protein for improved nucleic acid amplification technique-based detection of bacterial species in human samples. Sachse, S, și alții. 2009, J Clin Microbiol, Vol. 47, pg. 1050-1057.
69. Phylogenetic classification and the universal tree. Doolittle, WF. 1999, Science, Vol. 284, pg. 2124-2128.
70. Identification of bacteria on the surface of clinically infected and non-infected prosthetic hip joints removed during revision arthroplasties by 16S rRNA gene sequencing and by microbiological culture. Dempsey, KE, și alții. 2007, Arthritis Res Ther, Vol. 9, p. R46.
71. Analysis of 525 samples to determine the usefulness of PCR amplification and sequencing of the 16S rRNA gene for diagnosis of bone and joint infections. Fenollar, F, și alții. 2006, J Clin Microbiol, Vol. 44, pg. 1018-1028.
72. Amplification-based DNA analysis in the diagnosis of prosthetic joint infection. Vandercam, B, și alții. 2008, J Mol Diagn JMD, Vol. 10, pg. 537-543.
73. Prosthetic joint infection diagnosis using broad-range PCR of biofilms dislodged from knee and hip arthroplasty surfaces using sonication. Gomez, E, și alții. 2012, J Clin Microbiol, Vol. 50, pg. 3501-3508.
74. Low sensitivity of periprosthetic tissue PCR for prosthetic knee infection diagnosis. Ryu, SY, și alții. 2014, Diagn Microbiol Infect Dis, Vol. 79, pg. 448-453.
75. Reagent and laboratory contamination can critically impact sequence-based microbiome analyses. SJ, Salter., și alții. 2014, BMC Biol, Vol. 12, p. 87.
76. Use of rRNA fluorescence in situ hybridization for measuring the activity of single cells in young and established biofilms. Poulsen, LK, Ballard, G și Stahl, DA. 1993, Appl Environ Microbiol, Vol. 59, pg. 1354-1360.
77. Dependency on medium and temperature of cell size and chemical composition during balanced growth of *Salmonella typhimurium*. Schaechter, M, Maaløe, O și Kjeldgaard, NO. 1958, Microbiology, Vol. 19, pg. 592-606.
78. Phylogenetic stains: ribosomal RNA-based probes for the identification of single cells. DeLong, EF, Wickham, GS și Pace, NR. 1989, Science, Vol. 243, pg. 1360-1363.

79. Nistico, L, Hall-Stoodley, L și Stoodley, P. Imaging bacteria and biofilms on hardware and periprosthetic tissue in orthopedic infections. [autorul cărții] Donelli G. *Microbial Biofilms*. New York : Springer New York, 2014, pg. 105-126.
80. Fluorescence in situ hybridization for the identification of *Treponema pallidum* in tissue sections. Petrich, A, și alții. 2015, *Int J Med Microbiol*, Vol. 305, pg. 709-718.
81. The impact of implementation of rapid QuickFISH testing for detection of Coagulase-negative Staphylococci at a community-based hospital. Koncelik, DL și Hernandez, J. 2016, *Am J Clin Pathol*, Vol. 145, pg. 69-74.
82. Influence of material on the development of device-associated infections. Rochford, ET, Richards, RG și Moriarty, TF. 18, 2012, *Clin Microbiol Infect*, Vol. 12, pg. 1162-7.
83. Orthopedic surgery. Van Gorder, W. 1942, *N Engl J Med*, Vol. 227, p. 738.
84. Aufranc, OE, și alții. 1957, *N Engl J Med*, Vol. 256, pg. 991-9.
85. The virulence of *Staphylococcus pyogenes* for man; a study of the problems of wound infection. Elek, SD și Conen, PE. 1957, *Br J Exp Pathol*, Vol. 38, pg. 573-86.
86. Pathogenesis and treatment concepts of orthopaedic biofilm infections. Zimmerli, W și Moser, C. 2012, *FEMS Immunol Med Microbiol*, Vol. 65, pg. 158-168.
87. Pathogenesis of foreign body infection. Evidence for a local granulocyte defect. Zimmerli, W, Lew, PD și Waldvogel, FA. *J Clin Invest*, Vol. 73, pg. 1191-200.
88. Antimicrobial tolerance in biofilms. Stewart, PS. 2015, *Microbiol Spectr*, Vol. 3.
89. Effect of antibiotic co-administration on young and mature biofilms of cystic fibrosis clinical isolates: the importance of the biofilm model. Tre-Hardy, M, și alții. 2009, *Int J Antimicrob Agents*, Vol. 33, pg. 40-5.
90. CDC definitions of nosocomial surgical site infections, 1992: a modification of CDC definitions of surgical wound infections. Horan, TC, și alții. 1992, *Am J Infect Control*, Vol. 20, pg. 271-4.
91. Risk factors for prosthetic joint infection: case-control study. Barbari, EF, și alții. 1998, *Clin Infect Dis*, Vol. 27, pg. 1247-54.
92. Zimmerli, W. Periprosthetic joint infection: general aspects. *Bone and Joint Infections: From Microbiology to Diagnostics and Treatment*. West-Sussex : John Wiley & Sons, 2015, pg. 113-29.
93. Diagnosis and management of prosthetic joint infection: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. Osmon, DR, și alții. 2013, *Clin Infect Dis*, Vol. 56, pg. e1-25.
94. Synovial fluid leukocyte count and differential for the diagnosis of prosthetic knee infection. Trampuz, A, și alții. 2004, *Am J Med*, Vol. 117, pg. 556-62.
95. Perioperative testing for joint infection in patients undergoing revision total hip arthroplasty. Schinsky, MF, și alții. 2008, *J Bone Joint Surg Am*, Vol. 90, pg. 1869-75.
96. Definition of periprosthetic joint infection: is there a consensus? Parvizi, J, și alții. 2011, *Clin Orthop Relat Res*, Vol. 469, pg. 3022-30.
97. Diagnosing periprosthetic joint infection: has the era of the biomarker arrived? Deirmengian, C, și alții. 2014, *Clin Orthop Relat Res*, Vol. 472, pg. 3254-62.
98. Parvizi, Javad. AAOS. [Interactiv] November 2011. [Citat: 3 September 2015.] http://www6.aaos.org/news/PDFopen/PDFopen.cfm?page_url=http://www.aaos.org/news/aaosnow/nov11/clinical1.asp.

99. Diagnosis and management of orthopedic implant-associated infection: a comprehensive review of the literature. Birlutiu, RM, și alții. 11, 2017, Biomedical Research, Vol. 28, pg. 5063-5073.
100. Periprosthetic total hip infection: outcomes using a staging system. . McPherson, EJ, și alții. 2002, Clin Orthop Relat Res, Vol. 403, pg. 8-15.
101. Microbiological aetiology, epidemiology, and clinical profile of prosthetic joint infections: are current antibiotic prophylaxis guidelines effective? Peel, TN, și alții. 2012, Antimicrob Agents Chemother, Vol. 56, pg. 2386-91.
102. Time trends in the aetiology of prosthetic joint infections: a multicentre cohort study. Benito, N, și alții. 2016, Clin Microbiol Infect, Vol. 22, pg. 732.e1-8.
103. Association of a bundled intervention with surgical site infections among patients undergoing cardiac, hip, or knee surgery. Schweizer, ML, și alții. 2015, JAMA, Vol. 313, pg. 2162-71.
104. Nuclear medicine and the failed joint replacement: Past, present, and future. CJ, Palestro. 7, 2014, World Journal of Radiology, Vol. 6, pg. 446-458.
105. Imaging orthopedic implant infections. Cyteval, C și Bourdon, A. 6, 2012, Diagnostic and Interventional Imaging, Vol. 96, pg. 578-589.
106. Painful infection at the site of hip prosthesis: CT imaging. Cyteval, C, și alții. 2, 2002, Radiology, Vol. 224, pg. 477-83.
107. X-ray-based attenuation correction for positron emission tomography/computed tomography scanners. Kinahan, PE, Hasegawa, BH și Beyer, T. 3, 2003, Semin Nucl Med, Vol. 33, pg. 166-79.
108. Prospective optimization of patient selection for emergency cranial computed tomography: univariate and multivariate analyses. Reinus, WR, Zwemer, FL Jr și Fornoff, JR. 2, Radiol : s.n., 1996, Invest, Vol. 31, pg. 101-8.
109. CT scans through metal scanning technique versus hardware composition. Haramati, N, și alții. 6, 1994, Comput Med Imaging Graph, Vol. 18, pg. 429-34.
110. Overcoming artifacts from metallic orthopedic implants at high-field-strength MR imaging and multi-detector CT. Lee, MJ, și alții. 3, 2007, Radiographics, Vol. 27, pg. 791-803.
111. Common sonographic findings in the painful hip after hip arthroplasty. Long, SS, Surrey, D și Nazarian, LN. 2, 2012, J Ultrasound Med, Vol. 31, pg. 301-12.
112. Complications of total hip arthroplasty: MR imaging-initial experience. White, LM, și alții. 1, 2000, Radiology, Vol. 215, pg. 254-62.
113. Radiography, radionuclide imaging, and arthrography in the evaluation of total hip and knee replacement. Gelman, MI, și alții. 3, 1978, Radiology, Vol. 128, pg. 677-82.
114. Technetium 99Tcm pyrophosphate scanning in the assessment of the painful hip prosthesis. McInerney, DP și Hyde, ID. 5, 1978, Clin Radiol, Vol. 29, pg. 513-7.
115. Cemented total hip prosthesis: radiographic and scintigraphic evaluation. Aliabadi, P, și alții. 1, 1989, Radiology, Vol. 173, pg. 203-6.
116. Diagnosis of peri-prosthetic infection at the hip using triple-phase bone scintigraphy. Nagoya, S, și alții. 2, 2008, J Bone Joint Surg Br, Vol. 90, pg. 140-4.
117. Prospective study of sequential technetium-99m phosphate and gallium imaging in painful hip prostheses (comparison of diagnostic modalities). Tehranzadeh, J, Gubernick, I și Blaha, D. 4, 1988, Clin Nucl Med, Vol. 13, pg. 229-36.

118. Scintigraphic examination of total hip arthroplasty: comparison of indium with technetium-gallium in the loose and infected canine arthroplasty. 1984, *Hip*, pg. 163-82.
119. Indium-granulocyte scanning in the painful prosthetic joint. Pring, DJ, și alții. 1, 1986, *AJR Am J Roentgenol*, Vol. 147, pg. 167-72.
120. In-111-labeled leukocyte scintigraphy in suspected orthopedic prosthesis infection: comparison with other imaging modalities. Magnuson, JE, și alții. 1, 1988, *Radiology*, Vol. 168, pg. 235-9.
121. The value of indium 111 leukocyte scanning in the evaluation of painful or infected total knee arthroplasties. Rand, JA și Brown, ML. 259, 1990, *Clin Orthop Relat Res*, pg. 179-82.
122. Diagnosis of infection by preoperative scintigraphy with indium-labeled white blood cells. Wukich, DK, și alții. 9, 1987, *J Bone Joint Surg Am*, Vol. 69, pg. 1353-60.
123. Infected knee prosthesis: diagnosis with In-111 leukocyte, Tc-99m sulfur colloid, and Tc-99m MDP imaging. Palestro, CJ, și alții. 3, 1991, *Radiology*, Vol. 179, pg. 645-8.
124. Combined labeled leukocyte and technetium 99m sulfur colloid bone marrow imaging for diagnosing musculoskeletal infection. Palestro, CJ, și alții. 3, 2006, *Radiographics*, Vol. 26, pg. 859-70.
125. Indium-111 leucocyte scanning in the evaluation of painful hip arthroplasty. Mulamba, L, și alții. 5, 1983, *Acta Orthop Scand*, Vol. 54, pg. 695-7.
126. Efficacy of combined technetium-99m sulfur colloid/indium-111 leukocyte scans to detect infected total hip and knee arthroplasties. Joseph, TN, și alții. 6, 2001, *J Arthroplasty*, Vol. 16, pg. 753-8.
127. 99mTc-HMPAO-leukocyte scintigraphy in patients with symptomatic total hip or knee arthroplasty: improved diagnostic accuracy by means of semiquantitative evaluation. Pelosi, E, și alții. 3, 2004, *J Nucl Med*, Vol. 45, pg. 438-44.
128. 99mTc-besilesomab (Scintimun®) in peripheral osteomyelitis: comparison with 99mTc-labelled white blood cells. Richter, WS, și alții. 5, 2011, *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, Vol. 35, pg. 899-910.
129. Technetium-99m-Labelled Sulesomab (LeukoScan) in the Evaluation of Soft Tissue Infections. Quigley, AM, și alții. 2008, *Med Princ Pract*, Vol. 17, pg. 447-52.
130. FDG PET of infection and inflammation. Love, C, și alții. 5, 2005, *Radiographics*, Vol. 25, pg. 1357-68.
131. The importance of the location of fluorodeoxyglucose uptake in periprosthetic infection in painful hip prostheses. Chacko, TK, și alții. 9, 2002, *Nucl Med Commun*, Vol. 23, pg. 851-5.
132. Radionuclide imaging of the painful hip arthroplasty: positron-emission tomography versus triple-phase bone scanning. Reinartz, P, și alții. 4, 2005, *J Bone Joint Surg Br.*, Vol. 87, pg. 465-70.
133. [FDG-PET: a new diagnostic approach in hip prosthetic replacement]. García-Barrecheguren, E, și alții. 4, 2007, *Rev Esp Med Nucl*, Vol. 26, pg. 208-20.
134. (99m)tc-Ubiquicidin [29–41], a Promising Radiopharmaceutical to Differentiate Orthopedic Implant Infections from Sterile Inflammation. Beiki, D, și alții. 2, 2013, *Iran J Pharm Res*, Vol. 12, pg. 347-353.
135. Radionuclide arthrogram with SPECT/CT for the evaluation of mechanical loosening of hip and knee prostheses. Chew, CG, și alții. 10, 2010, *Ann Nucl Med*, Vol. 24, pg. 735-43.
136. Clinical value of SPECT/CT for evaluation of patients with painful knees after total knee arthroplasty- a new dimension of diagnostics? Hirschmann, MT, și alții. 36, 2011, *BMC Musculoskeletal Disorders*, Vol. 12.

137. The role of [18F]fluoride positron emission tomography in the early detection of aseptic loosening of total knee arthroplasty. Sterner, T, și alții. 2, 2007, *Int J Surg*, Vol. 5, pg. 99-104.
138. Analysis of bone formation on porous and calcium phosphate-coated acetabular cups: a randomised clinical [18F]fluoride PET study. Ullmark, G, Sörensen, J și Nilsson, O. 2, 2012, *Hip Int*, Vol. 22, pg. 172-8.
139. Domizia, Suva. Infections after total joint arthroplasty. Prague : The Comprehensive Orthopedic Review Course, 2015. CRC Course during the 16th EFORT Congress Prague: 28 May 2015.
140. Can microbiologists help to assess catheter involvement in candidaemic patients before removal? Bouza, E, și alții. 19, 2013, *Clin Microbiol Infect*, Vol. EI, pg. 29-35.
141. Tetrasodium EDTA as a novel central venous catheter lock solution against biofilm. Percival, SL, și alții. 26, 2005, *Infect Control Hosp Epidemiol*, pg. 515-9.
142. Sonication – further progress in the microbiological diagnosis in implant-associated infections. Daniela, Tălăpan, și alții. 14, 2014, *BMC Infectious Diseases*, Vol. Suppl 7, p. O37.
143. Treatment of lung infection in patients with cystic fibrosis: current and future strategies. Döring, G, și alții. 11, 2012, *J Cyst Fibros*, pg. 461-79.
144. Bacteremia and mortality with urinary catheter-associated bacteriuria. Kizilbash, QF, și alții. 34, 2013, *Infect Control Hosp Epidemiol*, Vol. 1, pg. 153-9.
145. [Foreign body infections—biofilms and quorum sensing]. Høiby, N, și alții. 169, 2007, *Ugeskr Laeger*, pg. 4163-6.
146. EUCAST breakpoints for antifungals. Rodriguez-Tudela, JL, și alții. 23, 2010, *Drug News Perspect*, pg. 93-7.
147. Randomized trial of biofilm testing to select antibiotics for cystic fibrosis airway infection. Moskowitz, SM, și alții. 46, 2011, *Pediatr Pulmonol*, pg. 184-92.
148. Clinically feasible biofilm susceptibility assay for isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from patients with cystic fibrosis. Moskowitz, SM, și alții. 42, 2004, *J Clin Microbiol*, pg. 1915-22.
149. Standard versus biofilm antimicrobial susceptibility testing to guide antibiotic therapy in cystic fibrosis. Waters, V și Ratjen, F. 11, 2012, *Cochrane*, p. CD009528.
150. Success after treatment of periprosthetic joint infection: a Delphibased international multidisciplinary consensus. Diaz-Ledezma, C, Higuera, CA și Parvizi, J. 2013, *Clin Orthop Relat Res*, Vol. 471, pg. 2374-82.
151. Prosthetic joint infections. Zimmerli, W, Trampuz, A și Ochsner, PE. 2004, *N Engl J Med*, Vol. 351, pg. 645–54.
152. Antimicrobial treatment concepts for orthopaedic device-related infection. Sendi, P și Zimmerli, W. 2012, *Clin Microbiol Infect*, Vol. 18, pg. 1176–84.
153. Activity of linezolid and high-dose daptomycin, alone or in combination, in an in vitro daptomycin, alone or in combination, in an in vitro. Parra-Ruiz, J, și alții. 2012, *J Antimicrob Chemother*, Vol. 67, pg. 2682-5.
154. Efficacy of daptomycin in implant-associated infection due to methicillin-resistant staphylococcus aureus: importance of combination with rifampin. John, AK, și alții. 2009, *Antimicrob Agents Chemother*, Vol. 53, pg. 2719-24.
155. Oritavancin kills stationary-phase and biofilm staphylococcus aureus cells in vitro. Belley, A, și alții. 2009, *Antimicrob Agents Chemother*, Vol. 53:, pg. 918–25.

156. Activity of dalbavancin, alone and in combination with rifampicin, against meticillin-resistant staphylococcus aureus in a foreign-body infection model. Baldoni, D, și alții. 2013, *Int J Antimicrob Agents*, Vol. 42, pg. 220–5.
157. Microbiological tests to predict treatment outcome in experimental device-related infections due to *Staphylococcus aureus*. Zimmerli, W, și alții. 1994, *J Antimicrob Chemother*, Vol. 33, pg. 959-67.
158. Role of rifampin for treatment of orthopedic implant-related staphylococcal infections: a randomized controlled trial. Foreign-Body Infection (FBI) Study Group. Zimmerli, W, și alții. 1998, *JAMA*, Vol. 279, pg. 1537-41.
159. Antimicrobial treatment of orthopedic implant-related infections with rifampin combinations. Widmer, AF, și alții. 1992, *Clin Infect Dis*, Vol. 14, pg. 1251-3.
160. Rifamycin derivatives are effective against staphylococcal biofilms in vitro and elutable from PMMA. Sanchez, CJ Jr, și alții. 2015, *Clin Orthop Relat Res*, Vol. 473, pg. 2874-84.
161. Efficacy of a novel rifamycin derivative, ABI-0043, against *Staphylococcus aureus* in an experimental model of foreign-body infection. Trampuz, A, și alții. 2007, *Antimicrob Agents Chemother*, Vol. 25, pg. 2540-5.
162. Factors associated with rifampin resistance in staphylococcal periprosthetic joint infections (PJI): a matched case-control study. Achermann, Y, și alții. 2013, *Infection*, Vol. 41, pg. 431-7.
163. Killing of nongrowing and adherent *Escherichia coli* determines drug efficacy in device-related infections. Widmer, AF, și alții. 1991, *Antimicrob Agents Chemother*, Vol. 35, pg. 741-6.
164. Gram-negative prosthetic joint infection: outcome of a debridement, antibiotics and implant retention approach. A large multicentre study. Rodriguez-Pardo, D, și alții. 2014, *Clin Microbiol Infect*, Vol. 20, pg. O911-9.
165. Oral versus Intravenous Antibiotics for Bone and Joint Infection. Li, HK, și alții. 5, 2019, *N Engl J Med*, Vol. 380, pg. 425-436.
166. The management of an infected total knee arthroplasty. Gehrke, T, Alijanipour, P și Parvizi, J. 2015, *Bone Joint J*, Vol. 10(Suppl A), pg. 20-9.
167. Outcome of prosthetic knee-associated infection: evaluation of 40 consecutive episodes at a single centre. Laffer, RR, și alții. 2006, *Clin Microbiol Infect*, Vol. 12, pg. 433-9.
168. Conservative treatment of staphylococcal prosthetic joint infections in elderly patients. Barberan, J, și alții. 2006, *Am J Med*, Vol. 119, pg. 993.e7–10.
169. Validation of a treatment algorithm for orthopaedic implant-related infections with device-retention-results from a prospective observational cohort study. Tschudin-Sutter, S, și alții. 2016, *Clin Microbiol Infect*, Vol. 22, pg. 457.e1-9.
170. The chitranjan ranawat award: fate of two-stage reimplantation after failed irrigation and debridement for periprosthetic knee infection. Sherrell, JC, și alții. 2011, *Clin Orthop Relat Res*, Vol. 469, pg. 18-25.
171. Two-stage treatment of hip periprosthetic joint infection is associated with a high rate of infection control but high mortality. Berend, KR, și alții. 2013, *Clin Orthop Relat Res*, Vol. 471, pg. 510-8.
172. Sanz-Ruiz, P, Villanueva-Martinez, M și Berberich, C. Benefit and Risks of Antibiotic-Loaded Bone Cement. [autorul cărții] KD Kuhn. *Management of Periprosthetic Joint Infection*. s.l. : Springer, 2018.
173. Mechanical failure of articulating polymethylmethacrylate (PMMA) spacers in two-stage revision hip arthroplasty: the risk factors and the impact on interim function. Yang, FS, și alții. 2019, *BMC Musculoskeletal Disorders*, Vol. 20, p. 372.
174. Infection following total knee arthroplasty: prevention and management. Garvin, KL și Konigsberg, BS. 12, 2011, *J Bone Joint Surg Am*, Vol. 93, pg. 1167-75.

175. Prevention of Periprosthetic Joint Infection. Shahi, A și Parvizi, J. 2, 2015, Arch Bone Jt Surg, Vol. 3, pg. 72-81.
176. Management of periprosthetic joint infection: the current knowledge: AAOS exhibit selection. Parvizi, J, și alții. 14, 2012, J Bone Joint Surg Am, Vol. 94, p. e104.
177. The Mark Coventry Award: white blood cell gene expression: a new approach toward the study and diagnosis of infection. Deirmengian, C, Lonner, JH și Booth Jr, ER. 2005, Clin Orthop Relat Res, Vol. 440, pg. 38-44.
178. A genomic and proteomic analysis of activation of the human neutrophil by lipopolysaccharide and its mediation by p38 mitogen-activated protein kinase. Fessler, MB, și alții. 35, 2002, J Biol Chem, Vol. 277, pg. 31291-302.
179. How the host 'sees' pathogens: global gene expression responses to infection. Manger, ID și Relman, DA. 2, 2000, Curr Opin Immunol, Vol. 12, pg. 215-8.
180. Proceedings of the International Consensus Meeting on Periprosthetic Joint Infections. Gehrke, T și Parvizi, J. 2014, J Arthroplasty, Vol. 29, pg. 1-4.
181. A simple, cost-effective screening protocol to rule out periprosthetic infection. Austin, MS, și alții. 1, 2008, J Arthroplasty, Vol. 23, pg. 65-8.
182. Interleukin-6, procalcitonin and TNF-alpha: markers of peri-prosthetic infection following total joint replacement. Bottner, F, și alții. 1, 2007, J Bone Joint Surg Br, Vol. 89, pg. 94-9.
183. Serum procalcitonin, interleukin-6, soluble intercellular adhesion molecule-1 and IgG to short-chain exocellular lipoteichoic acid as predictors of infection in total joint prosthesis revision. Worthington, T, și alții. 2, 2010, Br J Biomed Sci, Vol. 67, pg. 71-6.
184. Procalcitonin, C-reactive protein, interleukin-6, and soluble intercellular adhesion molecule-1 as markers of postoperative orthopaedic joint prosthesis infections. Drago, L, și alții. 2, 2011, Int J Immunopathol Pharmacol, Vol. 24, pg. 433-40.
185. Diagnosing periprosthetic joint infection: has the era of the biomarker arrived? Deirmengian, C, și alții. 11, 2014, Clin Orthop Relat Res, Vol. 472, pg. 3254-62.
186. Synovial fluid biomarkers for periprosthetic infection. Deirmengian, C, și alții. 8, 2010, Clin Orthop Relat Res, Vol. 468, pg. 2017-23.
187. Antimicrobial peptides and proinflammatory cytokines in periprosthetic joint infection. Gollwitzer, H, și alții. 7, 2013, J Bone Joint Surg Am, Vol. 95, pg. 644-51.
188. Molecular markers for diagnosis of periprosthetic joint infection. Jacovides, CL, și alții. 6 Suppl, 2011, J Arthroplasty, Vol. 26, pg. 99-103.e1.
189. Use of leukocyte esterase-nitrate activity as predictive assays of significant bacteriuria. Smalley, DL și Dittmann, AN. 5, 1983, J Clin Microbiol, Vol. 18, pg. 1256-7.
190. Diagnosis of periprosthetic joint infection: the utility of a simple yet unappreciated enzyme. Parvizi, J, și alții. 24, J Bone Joint Surg Am, Vol. 93, pg. 2242-8.
191. Evaluation of leukocytes esterase activity as a rapid screening technique for bacteriuria. Perry, JL, Matthews, JS și Wessner, DE. 5, 1983, J Clin Microbiol, Vol. 15, pg. 852-4.
192. Use of leukocyte esterase-nitrate activity as predictive assays of significant bacteriuria. Smalley, DL: Dittmann, AN. 5, 1983, J Clin Microbiol, Vol. 18, pg. 1256-7.
193. Measurement of urinary leukocyte esterase activity: A screening test for urinary tract infections. . Chernow, B, și alții. 3, 1984, Ann Emerg Med, Vol. 13, pg. 150-4.

194. Leukocyte esterase strip test: matched for musculoskeletal infection society criteria. Tischler, EH, Cavanaugh, PK și Parvizi, J. 22, 2014, *J Bone Joint Surg Am*, Vol. 96, pg. 1917-20.
195. Leukocyte esterase reagent strips for the rapid diagnosis of periprosthetic joint infection. Wetters, NG, și alții. 8 Suppl, 2012, *J ARTHROPLASTY*, Vol. 27, pg. 8-11.
196. Combined measurement of synovial fluid α -Defensin and C-reactive protein levels: highly accurate for diagnosing periprosthetic joint infection. Deirmengian, C, și alții. 17, 2014, *J Bone Joint Surg Am*, Vol. 96, pg. 1439-45.
197. Structure, function, and membrane integration of defensins. White, SH, Wimley, WC și Selsted, ME. 4, *Curr Opin Struct Biol* : s.n., 1995, Vol. 5, pg. 512-7.
198. Alpha-defensin-novel synovial fluid biomarker for the diagnosis of periprosthetic joint infection. Pupaibool, J, și alții. 12, 2016, *Int Orthop*, Vol. 40, pg. 2447-2452.
199. Human α -defensins are immune-related Kv1.3 channel inhibitors: new support for their roles in adaptive immunity. Xie, Z, și alții. 10, 2015, *FASEB J*, Vol. 29, pg. 4324-33.
200. Increased levels of α -defensin (-1, -2 and -3) in type 1 diabetic patients with nephropathy. Saraheimo, M, Forsblom, C și Pettersson-Fernholm, K. 3, 2008, *Nephrol Dial Transplant*, Vol. 23, pg. 914-18.
201. False-positive synovial fluid alpha-defensin test in a patient with acute gout affecting a prosthetic knee. Partridge, DG, Gordon, A și Townsend, R. 4, 2017, *Eur J Orthop Surg Tr*, Vol. 27, pg. 549-51.
202. The accuracy of the alpha defensin lateral flow device for diagnosis of periprosthetic joint infection: comparison with a gold standard. Gehrke, T, Lausmann, C și Citak, M. 1, 2018, *J Bone Joint Surg Am*, Vol. 100, pg. 42-8.
203. Dying and necrotic neutrophils are anti-inflammatory secondary to the release of α -defensins. Miles, K. 3, 2009, *J Immunol*, Vol. 183, pg. 21122-32.
204. Activated alpha 2-macroglobulin is a principal defensin-binding protein. Panyutich, A și Ganz, T. 2, 1991, *Am J Respir Cell Mol Biol*, Vol. 5, pg. 101-6.
205. Human neutrophil defensin and serpins form complexes and inactivate each other. Panyutich, AV, Hiemstra și PS, van Wetering, S. 3, 1995, *Am J Respir Cell Mol Biol*, Vol. 12, pg. 351-7.
206. Accuracy of the α -defensin lateral flow assay for diagnosing periprosthetic joint infection in Asians. Ding, BT, și alții. 1, 2019, *J Orthop Surg (Hong Kong)*, Vol. 27, p. 2309499019828459.
207. Copy number polymorphism and expression level variation of the human alpha-defensin genes DEFA1 and DEFA3. Aldred, PM, Hollox și EJ, Armour, JA. 14, 2005, *Hum Mol Genet*, Vol. 14, pg. 2045-52.
208. Human defensin gene copy number polymorphisms: comprehensive analysis of independent variation in alpha- and beta-defensin regions at 8p22-p23. . Linzmeier și RM, Ganz, T. 4, 2005, *Genomics*, Vol. 86, pg. 423-30.
209. Polymorphisms in α -Defensin–Encoding DEFA1A3 associate with urinary tract infection risk in children with vesicoureteral reflux. . Schwaderer, AL, Wang și H, Kim, SH. 10, 2016, *J Am Soc Nephrol: JASN*, Vol. 27, pg. 3175-86.
210. Single nucleotide polymorphisms in human Paneth cell defensin A5 may confer susceptibility to inflammatory bowel disease in a New Zealand Caucasian population. Ferguson, LR, și alții. 9, 2008, *Dig Liver Dis*, Vol. 40, pg. 723-30.
211. Human neutrophil peptide 1-3, a component of the neutrophil extracellular trap, as a potential biomarker of lupus nephritis. . Cheng, FJ, și alții. 5, 2015, *Int J Rheum Dis*, Vol. 18, pg. 533-40.

212. Increased genomic copy number of DEFA1/DEFA3 is associated with susceptibility to severe sepsis in Chinese Han population. Chen, Q, și alții. 6, 2010, *Anesthesiology*, Vol. 112, pg. 1428-34.
213. Inflammatory disorders mimicking periprosthetic joint infections may result in false-positive α -defensin. Palet, A, și alții. 11, 2018, *Clinical Microbiology and Infection*, Vol. 24, pg. 1212.e1-e6.
214. The epidemiology of antibiotic resistance. Gould, IM. Suppl1, 2008, *Int J Antimicrob Agents*, Vol. 32, pg. S2-9.
215. Current concepts in antimicrobial therapy against resistant gram-negative organisms: extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae, carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, and multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. Kanj, SS și Kanafani, ZA. 3, 2011, *Mayo Clin Proc.*, Vol. 86, pg. 250-9.
216. Gram-negative prosthetic joint infection: outcome of a debridement, antibiotics and implant retention approach. A large multicentre study. Rodríguez-Pardo, D, și alții. 11, 2014, *Clin Microbiol Infect.*, Vol. 20, pg. O9119-9.
217. Predicting Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacterial Colonization and Associated Infection on Hospital Admission. Tseng, WP, și alții. 10, 2017, *Infect Control Hosp Epidemiol*, Vol. 38, pg. 1216-1225.
218. Epidemiology of multi-drug-resistant gram-negative bacteria: data from an university hospital over a 36-month period. Vonberg, RP, și alții. 3-4, 2008, *Int J Hyg Environ Health.*, Vol. 211, pg. 251-7.
219. [Microbiological characteristics and patterns of resistance in prosthetic joint infections in a referral hospital]. Ortega-Peña, S, și alții. 5, 2015, *Cir Cir.*, Vol. 83, pg. 371-7.
220. Executive summary of management of prosthetic joint infections. Clinical practice guidelines by the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology (SEIMC). Ariza, J, și alții. 3, 2017, *Enferm Infecc Microbiol Clin*, Vol. 35, pg. 189-195.
221. Bacterial adherence to separated modular components in joint prosthesis: A clinical study. Gómez-Barrena, E, și alții. 10, 2012, *J Orthop Res*, Vol. 30, pg. 1634-9.
222. Ceftolozane/Tazobactam: A Novel Cephalosporin/ β -Lactamase Inhibitor Combination with Activity Against Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacilli. Zhanel, GG, și alții. 1, 2014, *Drugs*, Vol. 74, pg. 31-51.
223. Ceftazidime-Avibactam: a Novel Cephalosporin/ β -lactamase Inhibitor Combination. Zhanel, GG, și alții. 2, 2013, *Drugs*, Vol. 73, pg. 159-77.
224. Antimicrobial treatment concepts for orthopaedic device-related infection. Sendi, P și Zimmerli, W. 12, 2012, *Clin Microbiol Infect*, Vol. 18, pg. 1176-84.
225. Complex prosthetic joint infections due to carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: A unique challenge in the era of untreatable infections. de Sanctis, J, și alții. 2014, *Int J Infect Dis*, Vol. 25, pg. 73-8.
226. Antibiotic resistance in orthopaedic surgery: Acute knee prosthetic joint infections due to extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae. Martínez-Pastor, JC, și alții. 8, 2010, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, Vol. 29, pg. 1039-41.
227. Extended-Spectrum Beta-Lactamase Infections in Orthopedic-Related Devices and Prosthetic Joints. . Antony, SJ, și alții. 4, 2016, *Orthopedics*, Vol. 39, pg. e668-73.
228. Orthopedic Implant-Associated Infection by Multidrug Resistant Enterobacteriaceae. Pfang, BG, și alții. 2, 2019, *J Clin Med*, Vol. 8, p. oii.
229. Executive Summary: Diagnosis and Management of Prosthetic Joint Infection: Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America. Douglas, R. Osmon, și alții. 56, 2013, *Clinical Infection Diseases*, Vol. 1, pg. 1-10.
230. CDC. Center for Disease Control and Prevention. [Interactiv] 2010. [Citat: 30 07 2015.] ww.cdc.gov.

231. Cram, Peter. Physicians Weekley. [Interactiv] 19 02 2013. [Citat: 30 07 2015.] www.physiciansweekley.com/total-knee-arthroplasty-medicare-beneficiaries/.
232. Molecular and imaging techniques for bacterial biofilms in joint arthroplasty infections. Stoodley, P, și alții. 437, 2005, Clin Orthop Relat Res, pg. 31-40.
233. Treatment approaches to prosthetic joint infections: results. Johannsson, B, și alții. 66, 2010, Diagn Microbiol Infect Dis, pg. 16-23.
234. Prosthetic joint infection: recent developments in diagnosis and management. Cataldo, MA, și alții. 61, 2010, J Infect, pg. 443-8.
235. Functional Imaging in Diagnostic of Orthopedic Implant-Associated Infections. Potapova, Inga. 3, 2013, Diagnostics, pg. 356-71.
236. Prosthetic-Joint infection. Zimmerli, W, Tampuz, A și Ochsner, PE. 351, 2004, N Engl J Med, Vol. 16, pg. 1645-54.
237. Revised histopathological consensus classification of joint implant related pathology. Krenn, V, și alții. 12, 2014, Pathol Res Pract, Vol. 210, pg. 770-86.
238. Differentiating the growing nosocomial infectious threats *Ralstonia pickettii* and *Ralstonia insidiosa*. Ryan, MP, Pembroke, JT și Adley, CC. 10, 2011, Eur J Clin Microbiol Infect Dis, Vol. 30, pg. 1245-7.
239. Characterization of clinically isolated *Ralstonia mannitolilytica* strains using random amplification of polymorphic DNA (RAPD) typing and antimicrobial sensitivity, and comparison of the classification efficacy of phenotypic and genotypic assays. Daxboeck, F, și alții. Pt 1, 2005, J Med Microbiol, Vol. 54, pg. 55-61.
240. Infection by *Ralstonia* species in cystic fibrosis patients: identification of *R. pickettii* and *R. mannitolilytica* by polymerase chain reaction. Coenye, T, Vandamme, P și LiPuma, J. 7, 2002, Emerg Infect Dis, Vol. 8, pg. 692-6.
241. Taxonomic position of “*pseudomonas oxalaticus*” strain ox14T (DSM 1105T) (Khambata and Bhat, 1953) and its description in the genus *Ralstonia* as *Ralstonia oxalatica* comb. nov. Sahin, N, și alții. 2, 2002, Syst Appl Microbiol, Vol. 23, pg. 206-9.
242. Classification of *Ralstonia pickettii* biovar 3/‘*thomasii*’ strains (Pickett 1994) and of new isolates related to nosocomial recurrent meningitis as *Ralstonia mannitolilytica* sp. nov. De Baere, T, și alții. 2001, Int J Syst Evol Microbiol, Vol. 51, pg. 547-58.
243. *Ralstonia taiwanensis* sp. nov., isolated from root nodules of mimosa species and sputum of a cystic fibrosis patient. Chen, WM, și alții. Pt 2, 2001, Int J Syst Evol Microbiol, Vol. 51, pg. 1729-35.
244. Classification of metal-resistant bacteria from industrial biotopes as *Ralstonia campinensis* sp. nov., *Ralstonia metallidurans* sp. nov. and *Ralstonia basilensis* Steinle et al. 1988 emend. Goris, J, și alții. Pt 5, 2001 : s.n., Int J Syst Evol Microbiol, Vol. 52, pg. 1773-82.
245. A multistate nosocomial outbreak of *Ralstonia pickettii* colonization associated with an intrinsically contaminated respiratory care solution. Labarca, JA, și alții. 5, 1999, Clin Infect Dis, Vol. 29, pg. 1281-6.
246. Nosocomial *Ralstonia pickettii* colonization associated with intrinsically contaminated saline solution—Los Angeles, California, 1998. . (CDC)., Centers for Disease Control and Prevention. 14, 1998, MMWR Morb Mortal Wkly Rep., Vol. 47, pg. 285-6.
247. Lobar pneumonia caused by *Ralstonia pickettii* in a sixty-five-year-old Han Chinese man: a case report. Pan, W, Zhao, Z și Dong, W. 2011, J Med Case Reports, Vol. 5, p. 377.

248. A community acquired pneumonia case caused by *Ralstonia pickettii*. Küçükbayrak, A, și alții. 2, 2009, Mikrobiyol Bul, Vol. 43, pg. 331-4.
249. Classification of *Ralstonia pickettii*-like isolates from the environment and clinical samples as *Ralstonia insidiosa*. Coenye, T, și alții. Pt 4, 2003, Int J Syst Evol Microbiol. , Vol. 53, pg. 1075-80.
250. *Ralstonia picketti* neonatal sepsis: a case report. Sharma, D, și alții. 1, 2017, BMC Res Notes, Vol. 10, p. 28.
251. Outbreak of *Ralstonia pickettii* bacteremia in a neonatal intensive care unit. Kimura, AC, și alții. 12, 2005, Pediatr Infect Dis J, Vol. 24, pg. 1099-103.
252. Neonatal sepsis caused by *Ralstonia pickettii*. Vitaliti, SM, și alții. 3, 2008, Pediatr Infect Dis J, Vol. 27, p. 283.
253. Recognition of *pseudomonas pickettii* in the clinical laboratory: biochemical characterization of 62 strains. Piley, PS și Weaver, RE. 1, 1975, J Clin Microbiol, Vol. 1, pg. 61-4.
254. *Ralstonia pickettii* colonization of patients in an obstetric ward caused by a contaminated irrigation system. Yoneyama, A, și alții. 2000, J Hosp Infect, Vol. 46, pg. 79-80.
255. *Ralstonia pickettii* involved in spinal osteitis in an immunocompetent adult. . Elsner, HA, și alții. 3, 1998, J Inf Secur, Vol. 36, p. 352.
256. *Ralstonia pickettii* osteomyelitis of the trapezium. Degeorges, R, și alții. 2005, Chir Main, Vol. 24, pg. 174-6.
257. An unusual case of bacterial meningitis caused by *Burkholderia pickettii*. . Heagney, MA. 3-4, 2005, Chir Main, Vol. 24, pg. 174-6.
258. *Ralstonia pickettii* meningitis in a child with hydrocephalus. Bonatti, H, și alții. 5, 2009, Eur J Pediatr Surg, Vol. 19, pg. 341-2.
259. *Ralstonia Pickettii* Bacteremia. Pandey, R, Barman, P și Sengupta, S. 2014, J Infect Dis Ther, Vol. 2, p. 179.
260. Microflora of retained Intracochlear electrodes from infected Cochlear implants. Varadarajan, VV, Dirain, CO și Antonelli, PJ. 2017, Otolaryngol Head Neck Surg. doi: 10.1177/0194599817693228. [Epub ahead of print].
261. Seminal infection with *Ralstonia pickettii* and cytolysosomal spermophagy in a previously fertile man. Carrell, DT, Emery, BR și Hamilton, B. 2003, Fertil Steril, Vol. 79, pg. 1665-7.
262. AAOS Guideline on the Diagnosis of Periprosthetic Joint Infection of the Hip and Knee, Guideline and Evidence Report adopted by American Academy of Orthopaedic Surgeons, Board of Directors,. [Interactiv] 2010. [Citat: 24 March 2017.] <http://www.aaos.org/> . .
263. Molecular diagnostics in periprosthetic joint infection. Parvizi, J, Walinchus, L și Adeli, B. 9, 2011, Int J Artif Organs, Vol. 34, pg. 847-55.
264. Bacterial adherence to separated modular components in joint prosthesis: a clinical study. Gomez-Barrena E, Esteban, J, și alții. 2012, J Orthop Res, Vol. 30, pg. 1634-9.
265. Periprostheti knee infection caused by *Ralstonia pickettii* leading to knee arthrodesis. A case report and review of the literature. Lepetsos, P, și alții. Estoril Lisboa Portugal : s.n., 2015. 34th Annual Meeting of the European Bone&Joint Infection Society. pg. P28 – (#220) – poster.
266. Identification of silent prosthetic joint infection: preliminary report of a prospective controlled study. Bereza, PL, și alții. 10, 2013, Int Orthop. , Vol. 37, pg. 2037-43.
267. Sonication of Intramedullary nails: clinically-related infection and contamination. Esteban, J, și alții. 2012, Open Orthop J, Vol. 6, pg. 255-60.

268. Sonication contribution to identifying prosthetic joint infection with *Ralstonia pickettii*: a case report and review of the literature. Birlutiu, RM, și alții. 2017, *BMC Musculoskelet Disord*, Vol. 18, p. 311.
269. Two stage revision with a proximal femur replacement. Dieckmann, R, și alții. 1, 2019, *BMC Musculoskelet Disord*, Vol. 20, p. 58.
270. Factors influencing the incidence and outcome of infection following total joint arthroplasty. Poss, R, și alții. 1, 1984, *Clin Orthop Relat Res*, Vol. 182, pg. 117-126.
271. Anemia, allogenic blood transfusion, and immunomodulation in the critically ill. Raghavan, M și Marik, PE. 2005, *Chest*, Vol. 127, pg. 295-307.
272. Predictors of wound infection in hip and knee joint replacement: results from a 20 year surveillance program. Saleh, K, și alții. 2002, *J Orthop Res*, Vol. 20, pg. 506-515.
273. Periprosthetic infection: are current treatment strategies adequate? Parvizi, J, și alții. 6, 2008, *Acta Orthop Belg*, Vol. 74, pg. 793-800.
274. Increasing risk of revision due to deep infection after hip arthroplasty. Dale, H, și alții. 6, 2009, *Acta Orthop*, Vol. 80, pg. 639-645.
275. Reporting surgical site infections following total hip and knee arthroplasty: impact of limiting surveillance to the operative hospital. Yokoe, DS, și alții. 9, 2013, *Clin Infect Dis*, Vol. 57, pg. 1282-1288.
276. Infection in total knee replacement: a retrospective review of 6489 total knee replacements. Peersman, G, și alții. 2001, *Clin Orthop Relat Res*, Vol. 392, pg. 15-23.
277. Prosthetic joint infection risk after TKA in the Medicare population. Kurtz, SM, și alții. 2010, *Clin Orthop Relat Res*, Vol. 468, pg. 52-56.
278. The incidence of deep prosthetic infections in a specialist orthopaedic hospital: a 15-year prospective survey. Phillips, JE, și alții. 7, 2006, *J Bone Joint Surg Br*, Vol. 88, pg. 943-948.
279. The epidemiology of revision total knee arthroplasty in the United States. Bozic, KJ, și alții. 1, 2010, *Clin Orthop Relat Res*, Vol. 468, pg. 45-51.
280. Periprosthetic joint infection: the economic impact of methicillin-resistant infections. Parvizi, J, și alții. Suppl 6, 2010, *J Arthroplasty*, Vol. 25, pg. 103-107.
281. The urine dipstick test useful rule out infections. A meta-analysis of the accuracy. Berger, RE. 3, 2005, *J Urol*, Vol. 13, pg. 941-942.
282. Use of leucocyte esterase reagent strips in the diagnosis or exclusion of prosthetic joint infection. Shafafy, R, și alții. 9, 2015, *Bone Joint J*, Vol. 97-b, pg. 1232-1236.
283. Definition of periprosthetic joint infection. Parvizi, J și Gherke, T. 7, 2014, *J Arthroplasty*, Vol. 29, p. 1331.
284. Comparison of Leukocyte Esterase Testing of Synovial Fluid with Synovial Histology for the Diagnosis of Periprosthetic Joint Infection. Li, R, și alții. 2017, *Med Sci Monit*, Vol. 23, pg. 4440-4446.
285. Synovial Fluid Leukocyte Esterase in the Diagnosis of Peri-Prosthetic Joint Infection: A Systematic Review and Meta-Analysis. Wang, C, și alții. 3, 2018, *Surg Infect (Larchmt)*, Vol. 19, pg. 245-253.
286. Leucocyte esterase, glucose and C-reactive protein in the diagnosis of prosthetic joint infections: A prospective study. De Vecchi, E, și alții. 6, 2016, *Clin Microbiol Infection*, Vol. 22, pg. 555-560.
287. Diagnosis of periprosthetic joint infection using synovial C-reactive protein. . Parvizi, J, McKenzie, JC și Cashman, JP. 8 Suppl, 2012, *J arthroplasty*, Vol. 27, pg. 12-16.

288. Cell count and differential of aspirated fluid in the diagnosis of infection at the site of total knee arthroplasty. . Ghanem, E, și alții. 8, 2008, J Bone Joint Surg Am, Vol. 90, pg. 1637-1643.
289. Periprosthetic joint infection diagnosis: a complete understanding of white blood cell count and differential. Zmistowski, B, și alții. 2012, J Arthroplasty, Vol. 27, pg. 1589-1593.
290. Synovial fluid white cell and differential count in the diagnosis or exclusion of prosthetic joint infection. Dinneen, A, și alții. 4, 2013, Bone Joint J, Vol. 95-B, pg. 554-557.
291. Inflammatory blood laboratory levels as markers of prosthetic joint infection: a systematic review and metaanalysis. Barbari E, Mabry, T, și alții. 2010 : s.n., J Bone Joint Surg Am, Vol. 92, pg. 2102-2109. <http://dx.doi.org/10.2106/JBJS.I.01199>.
292. Diagnosis of periprosthetic joint infections of the hip and knee. Della Valle, C, și alții. 2010, J Am Acad Orthop Surg, Vol. 18, pg. 760-770.
293. New definition for periprosthetic joint infection: from the Workgroup of the Musculoskeletal Infection Society. Parvizi, J, și alții. 2011, Clin Orthop Relat Res, Vol. 169, pg. 2992-2994.
294. Combined serum biomarker analysis shows no benefit in the diagnosis of periprosthetic joint infection. Klim, SM, și alții. 2020, International Orthopaedics, Vol. 10.1007/s00264-020-04731-6.
295. The pathology of the joint tissues and its clinical relevance in prosthesis failure. Mirra, JM, și alții. 1976, Clin Orthop Relat Res, Vol. 117, pg. 211-240.
296. The role of intraoperative frozen sections in revision total joint arthroplasty. Feldman, DS, și alții. 1995, J Bone Joint Surg Am, Vol. 77, pg. 1807-1813.
297. Proposal for a histopathological consensus classification of the periprosthetic interface membrane. Morawietz, L, și alții. 2006, J Clin Pathol, Vol. 59, pg. 591-597.
298. Aspiration as a guide to sepsis in revision total hip arthroplasty. Fehring, TK și Cohen, B. 1996, J Arthroplasty, Vol. 11, pg. 543-547.
299. Aspiration of the hip joint before revision total hip arthroplasty. Clinical and laboratory factors influencing attainment of a positive culture. Lachiewicz, PF, Rogers, GD și Thomason, HC. 1996, J Bone Joint Surg Am, Vol. 78, pg. 749-754.
300. The value of aspiration of the hip joint before revision total hip arthroplasty. Barrack, RL și Harris, WH. 1993, J Bone Joint Surg Am, Vol. 75, pg. 66-76.
301. Culture with BACTEC Peds Plus/F bottle compared with conventional methods for detection of bacteria in synovial fluid. Hughes, JG, și alții. 2001, J Clin Microbiol, Vol. 39, pg. 4468-4471.
302. Accuracy of joint aspiration for the preoperative diagnosis of infection in total hip arthroplasty. Ali, F, și alții. 2006, J Arthroplasty, Vol. 21, pg. 221-226.
303. Diagnosing infection in hip replacements. The use of fine-needle aspiration and radiometric culture. Roberts, P, Walters, AJ și McMinn, DJ. 1992, J Bone Joint Surg Br, Vol. 74, pg. 265-269.
304. Rapid molecular microbiologic diagnosis of prosthetic joint infection. Cazanave, C, și alții. 2013, J Clin Microbiol, Vol. 51, pg. 2280-2287.
305. Preoperative aspiration culture for preoperative diagnosis of infection in total hip or knee arthroplasty. Qu, X, și alții. 2013 : s.n., J Clin Microbiol, Vol. 51, pg. 3820-3834.

306. Aerobic and anaerobic bacteria in deep infections after total hip arthroplasty: differential diagnosis between infectious and non-infectious loosening. Kamme, C și Lindberg, L. 1981, *Clin Orthop Relat Res*, Vol. 154, pg. 201-207.
307. Prospective evaluation of criteria for microbiological diagnosis of prosthetic-joint infection at revision arthroplasty. Atkins, BL, și alții. 1998 : s.n., *J Clin Microbiol* , Vol. 36, pg. 2932-2939.
308. Role of universal 16S rRNA gene PCR and sequencing in diagnosis of prosthetic joint infection. Marin, M, și alții. 2012 : s.n., *J clin Microbiol*, Vol. 50, pg. 583-589.
309. Acomprehensive microbiological evaluation of fifty-four patients undergoing revision surgery due to prosthetic joint loosening. Bjerkan, G, și alții. 2012, *J Med Microbiol*, Vol. 61, pg. 572-581.
310. Prosthetic infection: improvement of diagnostic procedures using 16S ribosomal deoxyribonucleic acid polymerase chain reaction. Suda, AJ, și alții. 2013, *Int Orthop*, Vol. 37, pg. 2515-2521.
311. Molecular and antibiofilm approaches to prosthetic joint infection. Trampuz, A, și alții. 2003, *Clin Orthop Relat Res*, Vol. 414, pg. 69-88.
312. Sonication cultures of explanted components as an add-on test to routinely conducted microbiological diagnostics improve pathogen detection. Holinka, J, și alții. 2011, *J orthop Res*, Vol. 29, pg. 617-622.
313. Evaluation of quantitative analysis of cultures from sonicated retrieved orthopedic implants in diagnosis of orthopedic infection. Esteban, J, și alții. 2008, *J Clin Microbiol*, Vol. 46, pg. 488-492.
314. Implant sonication for the diagnosis of prosthetic elbow infection. Vergidis, P, și alții. 2011, *J Sholder Elbow Surg*, Vol. 20, pg. 1275-1281.
315. Sonication of explanted prosthetic components in bags for diagnosis of prosthetic joint infection is associated with risk of contamination. Trampuz, A, și alții. 2006, *J Clin Microbiol*, Vol. 44, pg. 628-631.
316. Defining periprosthetic infection: do we have a workable gold standard? Oussedik, S, și alții. 11, 2012, *J Bone Joint Surg Br*, Vol. 94, pg. 1455-6.
317. Diagnosis and management of prosthetic joint infection: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. Osmon, DR, și alții. 56, 2013, *Clin Infect Dis*, pg. e1-25.
318. FISH-BASED DETECTION OF BACTERIA IN ORTHOPAEDIC IMPLANT-RELATED INFECTIONS. Boot, W, și alții. Supp-16, 2015, *Orthopaedic Proceedings* . , Vol. 97-B, pg. 65-65.
319. Prosthetic joint infection. Tande, AJ și Patel, R. 2014, *Clin Microbiol rev*, Vol. 27, pg. 302-345.
320. Guiding empirical antibiotic therapy in orthopaedics: the microbiology of prosthetic joint infection managed by debridement, irrigation and prosthesis retention. Moran, E, și alții. 2007, *J Infect*, Vol. 55, pg. 1-7.
321. Microbiological aetiology, epidemiology, and clinical profile of prosthetic joint infections: are current antibiotic prophylaxis guidelines effective? Peel, TN, și alții. 2015, *Antimicrob Agents Chemother*, Vol. 56, pg. 2386-2391.
322. Organism profile in periprosthetic joint infection: pathogens differ at two arthroplasty infection referral centers in Europe and in the United States. Aggarwal, VK, și alții. 2014, *J Knee Surg* , Vol. 27, pg. 399-406.
323. Epidemiology and outcomes of surgical site infections following orthopedic surgery. Li, G, și alții. 2013, *Am J Infect Control*, Vol. 41, pg. 1268-71.
324. Etiology of surgical site infections after primary total joint arthroplasties. 2014, *J Orthop Res*, Vol. 32, pg. 633-637.

325. Berríos-Torres SI, Yi SH, Bratzler DW, Ma A, Mu Y, Zhu L, et al. Activity of commonly used antimicrobial prophylaxis regimens against pathogens causing coronary artery bypass graft and arthroplasty surgical site infections in the United States, 2006e2009. Berríos-Torres, SI, și alții. 2014, *Infect Control Hosp Epidemiol*, Vol. 35, pg. 231-9.
326. Control., European Centre for Disease Prevention and. Annual epidemiological report 2014. Antimicrobial resistance and healthcare-associated infections. [Interactiv] 2015. <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/antimicrobial-resistance-annual-epidemiological-report.pdf>.
327. Antimicrobial resistance in hospital- acquired gram-negative bacterial infections. Mehrad, B, și alții. 2015, *Chest*, Vol. 147, p. 1413.
328. Clinical practice guidelines for antimicrobial prophylaxis in surgery. Bratzler, DW, și alții. 2013, *Am J Heal Pharm*, Vol. 70, pg. 195-283.
329. The infected knee arthroplasty. A 6-year follow-up of 357 cases. Bengtson, S și Knutson, K. 1991, *Acta Orthop Scand*, Vol. 62, pg. 301-311.
330. Early prosthetic joint infection: outcomes with debridement and implant retention followed by antibiotic therapy. Cobo, J, și alții. 2011, *Clin Microbiol Infect*, Vol. 17, pg. 1632-1637.
331. Polymicrobial prosthetic joint infections: risk factors and outcome. Marculescu, CE și Cantey, JR. 2008, *Clin Orthop Relat Res*, Vol. 466, pg. 1397-1404.
332. Two-stage revision arthroplasty of the hip for infection using an interim articulated Prostalac hip spacer: a 10- to 15-year follow-up study. Biring, GS, și alții. 2009, *J Bone Joint Surg Br*, Vol. 92, pg. 1431-1437.
333. Assessing the gold standard: a review of 253 two-stage revisions for infected TKA. Mahmud, T, și alții. 2012, *Clin Orthop Relat Res*, Vol. 470, pg. 2730-2736.
334. Prior use of antimicrobial therapy is a risk factor for culture-negative prosthetic joint infection. Malekzadeh, D, și alții. 2010, *Clin Orthop Relat Res*, Vol. 468, pg. 2039-2045.
335. Microbiological, clinical, and surgical features of fungal prosthetic joint infections: a multi-institutional experience. Azzam, K, și alții. Suppl 6, 2009, *J Bone Joint Surg Br*, Vol. 91, pg. 142-149.
336. Fungal peri-prosthetic joint infection after primary total knee replacement. Hwang, BH, și alții. 2012, *J Bone Joint Surg Br*, Vol. 94. 656-659.
337. Severe prosthetic joint infection in an immunocompetent male patient due to a therapy refractory *Pseudallescheria apiosperma*. Lackner, M, și alții. Suppl 3, 2013 : s.n., *Mycoses*, Vol. 54. 22-27.
338. Arthroplastic and osteosynthetic infections due to *Propionibacterium acnes*: a retrospective study of 52 cases, 1995- 2002. Lutz, MF, și alții. 2005, *Eur J Clin Microbiol Infect*, Vol. 24, pg. 739-744.
339. Outbreak of postoperative shoulder arthritis due to *Propionibacterium acnes* infection in nondebilitated patients. Berthelot, P, și alții. 2006, *Infect Control Hosp Epidemiol*, Vol. 27, pg. 987-990.
340. Prognostic factors for bacterial cultures positive for *Propionibacterium acnes* and other organisms in a large series of revision shoulder arthroplasties performed for stiffness, pain, or loosening. Pottinger, P, și alții. 2012, *J Bone Joint Surg Am*, Vol. 94, pg. 2075-2083.
341. Risk factors associated with surgical site infection in 30,491 primary total hip replacements. Namba, RS, Inacio, MC și Paxton, EW. 2012, *J Bone Joint Surg B*, Vol. 94, pg. 1330-1338.
342. Periprosthetic joint infection: the incidence, timing, and predisposing factors. Pulido, L, și alții. 2008 : s.n., *Clin Orthop Relat Res*, Vol. 466, pg. 1710-1715.

343. Low incidence of haematogenous seeding to total hip and knee prostheses in patients with remote infections. Uckay, I, și alții. 2009, *J Infect*, Vol. 59, pg. 337-345.
344. Risk factors associated with deep surgical site infections after primary total knee arthroplasty: an analysis of 56,216 knees. Namba, RS, Inacio, MC și Paxton, EW. 2013, *J Bone Joint Surg Am*, Vol. 95, pg. 775-782.
345. Morbidly obese, diabetic, younger, and unilateral joint arthroplasty patients have elevated total joint arthroplasty infection rates. Malinzak, RA, și alții. 2009, *J Arthroplasty*, Vol. 24, pg. 84-88.
346. Obese diabetic patients are at substantial risk for deep infection after primary TKA. Dowsey, MM și Choong, PF. 2009, *Clin Orthop Relat Res*, Vol. 467, pg. 1577-1581.
347. Risk factors for prosthetic hip and knee infections according to arthroplasty site. Peel, TN, și alții. 2001, *J Hosp Infect*, Vol. 79, pg. 129-133.
348. Incidence and risk factors of prosthetic joint infection after total hip or knee replacement in patients with rheumatoid arthritis. Bongartz, T, și alții. 2008, *Arthritis Rheum*, Vol. 59, pg. 1713-1720.
349. Risk factors for infection after knee arthroplasty. A register-based analysis of 43,149 cases. Jansen, E, și alții. 2009, *J Bone Joint Surg Am*, Vol. 91, pg. 38-47.
350. The use of erythromycin and colistinloaded cement in total knee arthroplasty does not reduce the incidence of infection: a prospective randomized study in 3000 knees. Hinarejos, P, și alții. 2013, *J Bone Joint Surg Am*, Vol. 95, pg. 769-774.
351. Risk factors for subsequent diagnosis of prosthetic joint infection. Aslam, S, Reitman, C și Darouiche, RO. 2010, *Infect Control Hosp Epidemiol*, Vol. 31, pg. 298-301.
352. Infection control rate of irrigation and debridement for periprosthetic joint infection. Koyonos, L, și alții. 2011, *Clin Orthop Relat Res*, Vol. 469, pg. 3043-3048.
353. One hundred and twelve infected arthroplasties treated with 'DAIR' (debridement, antibiotics and implant retention): antibiotic duration and outcome. Byren, I, și alții. 2009, *J Antimicrob Chemother*, Vol. 63, pg. 1264-1271.
354. Results of direct exchange or debridement of the infected total knee arthroplasty. Silva, M, Tharani, R și Schmalzried, TP. 2002, *Clin Orthop Relat Res*, Vol. 351, pg. 125-131.
355. Consensus document on controversial issues in the diagnosis and treatment of prosthetic joint infections. Leone, S, și alții. Suppl 4, 2010, *Int J Infect Dis*, Vol. 14.
356. Acute hematogenous infection following total hip and knee arthroplasty. Konigsberg, BS, și alții. 3, 2014, *J Arthroplasty*, Vol. 29, pg. 469-472.
357. Treatment of acute post-surgical infection of joint arthroplasty. Soriano, A, și alții. 2006, *Clin Microbiol Infect*, Vol. 12, pg. 930-933.
358. Early prosthetic joint infections treated with debridement and implant retention: 38 primary hip arthroplasties prospectively recorded and followed for median 4 years. Westberg, M, Grogaard, B și Snorrason, F. 2012, *Acta Orthop*, Vol. 83, pg. 227-232.
359. Irrigation and debridement in the management of prosthetic joint infection: traditional indications revisited. Azzam, KA, și alții. 2010, *J Arthroplasty*, Vol. 25, pg. 1022-1027.
360. Irrigation and debridement for periprosthetic infections: does the organism matter? Odum, SM, și alții. 2011, *J Arthroplasty*, Vol. 26, pg. 114-118.
361. Aggressive early debridement for treatment of acutely infected cemented total hip arthroplasty. Sukeik, M, S, Patel, și FS., Haddad. 2012, *Clin Orthop Relat Res*, Vol. 470, pg. 3164-3170.

362. Value of debridement and irrigation for the treatment of peri-prosthetic infections. A systematic review. Romano, CL, și alții. Suppl 8, 2012, Hip Int, Vol. 22, pg. S19-S24.
363. Efficacy and safety of rifampin containing regimen for staphylococcal prosthetic joint infections treated with debridement and retention. Eur. El Helou, OC, și alții. 2010, J Clin Microbiol, Vol. 29, pg. 961-967.
364. Management of deep infection of total hip replacement. Buchholz, HW, și alții. 1981, J Bone Joint Surg Br, Vol. 63, pg. 342-353.
365. One-stage revision of total hip arthroplasty for deep infection. Long-term followup. Raut, VV, Siney, PD și Wroblewski, BM. 1995, Clin Orthop Relat Res, Vol. 321, pg. 202-207.
366. Infected total hip arthroplasty revision: one- or two-stage procedure? Klouche, S, și alții. 2012, Orthop Traumatol Surg Res, Vol. 98, pg. 144-150.
367. One stage revision arthroplasty of the hip for deep Gram-negative infection. Raut, VV, și alții. 1996, Int Orthop, Vol. 20, pg. 12-14.
368. Surgical procedures in the treatment of 784 infected THAs reported to the Norwegian Arthroplasty Register. Engesaeter, LB, și alții. 2011, Acta Orthop, Vol. 82, pg. 530-527.
369. Direct-exchange arthroplasty for the treatment of infection after total hip replacement. An average ten-year follow-up. Ure, KJ, și alții. 1998, J Bone Joint Surg Am, Vol. 89, pg. 961-968.
370. One-stage revision of infected total hip replacements with discharging sinuses. Raut, VV, Siney, PD și Wroblewski, BM. 1994, J Bone Joint Surg Br, Vol. 76, pg. 721-724.
371. One-stage revision of infected total hip arthroplasty with bone graft. Rudelli, S, și alții. s.l. : J Arthroplasty, 2008, Vol. 23, pg. 1165-1177.
372. One-stage revision surgery of the infected hip. A minimum 10-year followup study. Callaghan, JJ, Katz, RP și Johnston, RC. 1999, Clin Orthop Relat Res, Vol. 369.
373. Deep infection of cemented total hip arthroplasties caused by coagulase-negative staphylococci. Hope, PG, și alții. 1989, J Bone Joint Surg Br, Vol. 71, pg. 851-855.
374. Chronic infections in hip arthroplasties: comparing risk of reinfection following one-stage and two-stage revision. Lange, J, și alții. 2012, Clin Epidemiol, Vol. 4, pg. 57-73.
375. One-stage revision of infected cemented total hip arthroplasty. Wroblewski, BM. 1986, Clin Orthop Relat Res, Vol. 211, pg. 103-107.
376. The use of two-stage exchange arthroplasty with depot antibiotics in the absence of long-term antibiotic therapy in infected total hip replacement. Stockley, I, și alții. 2008, J Bone Joint Surg Br, Vol. 90, pg. 145-148.
377. An articulating antibiotic spacer controls infection and improves pain and function in a degenerative septic hip. Fleck, EE, și alții. 2011, Clin Orthop Relat Res, Vol. 469, pg. 3055-3064.
378. Two-stage revision of infected hip arthroplasty using a shortened post-operative course of antibiotics. McKenna, PB, O'Shea, K și Masterson, EL. 2009, Arch Orthop Traum Surg, Vol. 129, pg. 489-494.
379. Reinfection after two-stage revision for periprosthetic infection of total knee arthroplasty. Kubista, B, și alții. 2012, Vol. 36, pg. 65-71.
380. Revision of infected total knee arthroplasty: two-stage reimplantation using an antibiotic-impregnated static spacer. Silvestre, A, și alții. 2013, Clin Orthop Surg, Vol. 5, pg. 180-187.

381. Twostage exchange arthroplasty for infected total knee arthroplasty: predictors of failure. Mortazavi, SM, și alții. 2011, Clin Orthop relat Res, Vol. 469, pg. 3049-3054.
382. Treatment of the infected total knee arthroplasty with insertion of another prosthesis. The effect of antibiotic-impregnated bone cement. Hanssen, AD, Rand, JA și Osmon, DR. 1994, Clin Orthop Relat Res, Vol. 309, pg. 44-55.
383. 2-stage reimplantation for infected total knee replacement. Goldman, RT, Scuderi, GR și Insall, JN. 1996, Clin Orthop Relat Res, Vol. 331, pg. 118-124.
384. Mid-term to long-term followup of two-stage reimplantation for infected total knee arthroplasty. Haleem, AA, Berry, DJ și Hanssen, AD. 2004, Clin Orthop Relat Res, Vol. 428, pg. 35-39.
385. Outcome of prosthesis exchange for infected knee arthroplasty: the effect of treatment approach. Jansen, E, și alții. 2009, Acta Orthop, Vol. 80, pg. 67-77.
386. Resection arthroplasty as a salvage procedure for a knee with infection after a total arthroplasty. Falahee, MH, Matthews, LS și Kaufer, H. 1987, J Bone Joint Surg Am, Vol. 69, pg. 1013-1021.
387. Comparison of intramedullary nailing and external fixation knee arthrodesis for the infected knee replacement. Mabry, TM, și alții. 2007, Clin Orthop Relat Res, Vol. 464, pg. 11-15.
388. The Girdlestone pseudarthrosis in the treatment of infected hip replacements. Castellanos, J, și alții. 1998, Int Orthop, Vol. 22, pg. 178-181.
389. Resection arthroplasty of the hip. Grauer, JD, și alții. 1989, J Bone Joint Surg Am, Vol. 71, pg. 669-678.
390. Above-the-knee amputation after a total knee replacement: prevalence, etiology, and functional outcome. Sierra, RJ, Trousdale, RT și Pagnano, MW. 2003, J Bone Joint Surg Am, Vol. 85, pg. 1000-1004.
391. Emergency hemipelvectomy as a result of uncontrolled infection after total hip arthroplasty: two case reports. . Krijnen, MR și Wuisman, PI. 2004, J Arthroplasty, Vol. 19, pg. 803-808.
392. The diagnosis and management of prosthetic joint infections. Moran, E, Byren, I și Atkins, BL. Suppl 3, 2010, J Antimicrob Chemother, Vol. 65, pg. iii45-iii54.
393. Variation in Prosthetic Joint Infection and treatment strategies during 4.5 years of follow-up after primary joint arthroplasty using administrative data of 41397 patients across Australian, European and United States hospitals. Marang-van de Mheen, PJ, și alții. 1, 2017, BMC Musculoskelet Disord, Vol. 18, p. 207.
394. Economic Impact of Prosthetic Joint Infection – an Evaluation Within the Portuguese National Health System. Sousa, A, și alții. 4, 2018, J Bone Joint Infect, Vol. 3, pg. 197-202.
395. Economic burden of periprosthetic joint infection in the United States. Kurtz, SM, și alții. 2012, J Arthroplasty, Vol. 27, pg. 61-65.e61.
396. A financial analysis of revision hip arthroplasty: the economic burden in relation to the national tariff. Vanhegan, IS, și alții. 2012, J Bone Joint Surg Br, Vol. 94, pg. 619-623.
397. Total hip arthroplasty revision due to infection: a cost analysis approach. Klouche, S, Sariali, E și Mamoudy, P. 2010, Orthop Traumatol Surg Res, Vol. 96, pg. 124-132.
398. The economic impact of periprosthetic infections following total knee arthroplasty at a specialized tertiary-care center. Kapadia, BH, și alții. 5, 2014, J Arthroplasty, Vol. 29, pg. 929-932.
399. The Economic Impact of Periprosthetic Infections After Total Hip Arthroplasty at a Specialized Tertiary-Care Center. . Kapadia, BH, și alții. 7, 2016, J Arthroplasty, Vol. 31, pg. 1422-1426.

400. Economical analysis on prophylaxis, diagnosis, and treatment of periprosthetic infections. Fernandez-Fairen, M, și alții. 2013, *Open Orthop J*, Vol. 7, pg. 227-242.
401. Increased periprosthetic hip and knee infection projected from 2014 to 2035 in Taiwan [published online ahead of print, 2020 May 21]. Chang, CH, și alții. 20, 2020, *J Infect Public Health*, Vol. S1876-0341, pg. 30463-9.
402. A short history of microbial biofilms and biofilm infections. Høiby, N. 4, 2017, *APMIS*, Vol. 125, pg. 272-275.
403. Microbial biofilm formation: a need to act. Römling, U, și alții. 2, 2014, *J Intern Med*, Vol. 276, pg. 98-110.
404. Diagnosis and tratment of implant-associated septic atthritis and osteomyelitis . Tampuz, A și Zimmerli, W. 10, 2008, *Curr Infect Dis Resp*, Vol. 5, pg. 394-403.
405. ESCMID* guideline for the diagnosis and management of Candida diseases 2012: developing European guidelines in clinical microbiology and infectious diseases. Ullmann, AJ, și alții. 18, 2012, *Clin Microbiol Infect*, Vol. Suppl. 7, pg. 1-8.
406. Periprosthetic joint infection. Parvisi, J și Haddad, FS. 9, September 2015, *Bone Joint J*, Vol. 97-B, pg. 1157-9.
407. Preventing surgical-site infections in nasal carriers of *Staphylococcus aureus*. Bode, LG și Kluytmans, JA, și alții. 1, 2010, *N Engl J Med*, Vol. 362, pg. 9-17.
408. A review of the scientific evidence for biofilms in wounds. Percival, SL, și alții. 20, 2012, *Wound Repair Regen*, pg. 647-57.
409. Executive summary: 2012 Infectious Diseases Society of America clinical practice guideline for the diagnosis and treatment of diabetic foot infections. Lipsky, BA, și alții. 54, 2012, *Clin Infect Dis*, pg. 679-84.
410. Prosthesis infections after orthopedic joint replacement: the possible role of bacterial biofilms. Song, Z, și alții. 5, 2013, *Orthop Rev (Pavia)*, pg. 65-71.
411. Efficacy of antibiotic-impregnated cement in total hip replacement. Parvizi, J, și alții. 79, 2008, *Acta Orthop*, pg. 335-41.
412. Current management of prosthetic joint infections in adults: results of an Emerging Infections Network survey. Marschall, J, și alții. 41, 2013, *Int J Antimicrob Agents*, pg. 272-7.
413. Antimicrobial treatment concepts for orthopaedic device-related infection. Sendi, P și Zimmerli, W. 18, 2012, *Clin Microbiol Infect*, pg. 1176-84.
414. Risk factors associated with acute hip prosthetic joint infections and outcome of treatment with a rifampin based regimen. Choong, PF, și alții. 2007, *Acta Orthop*, Vol. 79, pg. 755-765.
415. Multiple irrigation, debridement, and retention of components in infected total knee arthroplasty. Mont, MA, și alții. 1997, *J Arthroplasty*, Vol. 12, pg. 426-433.
416. Use of rifampicin and ciprofloxacin combination therapy after surgical debridement in the treatment of early manifestation prosthetic joint infections. Berdal, JE, și alții. 2005, *Clin Microbiol Infect*, Vol. 11, pg. 842-845.