

Doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

**Szeptikus arthritis DSC-vel történő diagnosztizálási
lehetősége humán synoviális minták vizsgálatával**

Dr. Dandé Árpád Levente

Interdiszciplináris Orvostudományok Doktori Iskola (D93)

Iskolavezető: Prof. Dr. Sümegi Balázs

Programvezető: Prof. Dr. Nyitrai Miklós

Témavezető: Prof. Dr. Lőrinczy Dénes, Dr. Wiegand Norbert



Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar

Traumatológiai és Kézsebészeti Klinika

Pécs

2019

I. Bevezetés

I.1. Irodalmi áttekintés

A huszadik században az orvostudomány számos vívmánya mellett a biokémiai, biofizikai, elektronikai háttér fejlődésével újabb és korszerűbb, a gyógyításban nélkülözhetetlen egészségügyi eszközök, gyógyszerek, technológiák jelentek meg. Az informatika, nanotechnológia fejlődésével világviszonylatban, az utóbbi évtizedekben számos kutatási területen kimagasló eredmények, felfedezések születtek. Ezzel párhuzamosan, az alapellátásban, valamint a fejlett klinikai háttérrel rendelkező kórházi intézményekben az orvosi diagnosztikát elősegítő eszközök, korszerű műtéti technikai berendezések váltak a napi gyakorlatban használatosakká.

A mozgásszervi sebészetben használatos implantátumok folyamatos újításával, és a korszerű műtéti technikák alkalmazásával, a váz-izom rendszer helyreállító műtéti kezelésében valamint a degeneratív ízületi kórképek rekonstrukciós sebészetében jelentős fejlődés tapasztalható. A minimál invazív sebészi technikák a korszerű implantátumok és az aseptikus modern műtői környezet ellenére, továbbra is kihívást jelentenek a beültetett implantátumok környezetében kialakuló fertőzések.

A Penicillin 1940-en történő tisztított előállítását, valamint kémiai struktúrájának a meghatározását követően, a gyógyszeriparban megteremtődött a lehetőség a szintetikus Penicillin ipari mértékben való előállítására. A gyógyításban lassan használatossá váló szer már a második világháborúban a szövetséges csapatok oldalán számos sikert hozott az elfertőződött sebek gyógyításában, megakadályozva az amputációk és halálozások számát.

A Penicillin 1940-en történő tisztított előállítását majd származékainak előállítását követően számos széles spektrumú készítménnyel különböző kórképekben előforduló bakteriális fertőzéseket sikerrel gyógyítottak. A kezdeti sikerek ellenére már 1942-ben az egyes kórházi *Staphylococcus aureus* törzsekre kimutatott Penicillin rezisztencia két évtized alatt

80%-ra emelkedett. A Meticillin 1961-es bevezetését követően fokozatosan jelentek meg a meticillin-rezisztens *S. aureus* (MRSA) törzsek [1], melyek az antibiotikum rezisztencia gyors növekedésével világszerte megtalálhatók.

A mikroorganizmusok (baktériumok, gombák, vírusok) megjelenése a mozgásszervi képletekben, köztük az ízületekben, súlyos állapotot idézhetnek elő, ami nem csak az adott ízület és csont épségét, hanem a beteg életét is veszélyeztetheti. A folyamat időben történő felismerése és korrekt ellátása sürgősségi tárgykörbe tartozik és a mozgásszervi betegségekkel foglalkozó szakemberek egyik legfontosabb feladatát képezik. Fontos a mozgásszervi kórképekkel foglalkozó társszakmák együttműködése, ismeretanyagaiknak a megfelelő szintű képzéseken való kibővítése.

A synoviális folyadék elemzése (összetétel vizsgálata, mikrobiológiai leoltás) fontos a septicus arthritis diagnózisában és kezelésében. A terápia szempontjából hasznos lenne egy, a mikrobiológiai kultúrák vizsgálatánál gyorsabb eljárás.

Miközben a diagnózis a synoviális folyadékmintákból a bakteriális faj izolálásán nyugszik, a beteg előzményei, a klinikai megjelenés, a laboratóriumi eredmények és a képalkotó vizsgálatok szintén fontosak. A gyors felismerés, az azonnali, agresszív antibiotikus terápia és a megfelelő sebészi kezelés elengedhetetlen a jó prognózis biztosításához. Még a gyors diagnózis és kezelés mellett is magas mortalitási arány áll fenn [2]. A klinikai kép és az elsődleges diagnosztikus eredmények függvényében a sürgős beavatkozás keretein belül arthroscopos ízületi drainaige, lavage, vagy kiterjesztett ízületi feltárás, synovectomia, necrectomia jön szóba. Sok esetben a megkésett műtéti beavatkozás [3] kiterjedt szövetelhalással jár (synovia és a stabilizáló szalagok elhalása, porcfelszín felpuhulása, leválása, elhalása).

Sok esetben a baktérium izolálásának hiányában, valamint elfedett klinikai kép esetén nem a megfelelő kezelést kapja a beteg, emiatt az ízületben súlyos károsodások alakulhatnak ki, melyek többnyire maradandó elváltozásokat okoznak. Ezzel ellentétben a *gonococcus* okozta ízületi gyulladást gyakran sikeresen kezelik antibiotikus terápiával, és nagyon alacsony a szövődmények aránya, valamint kiváló a prognózisa a normális ízületi funkció teljes visszatérésének [2].

Annak ellenére, hogy különböző nemzetközi átfogó tanulmányok foglalkoznak a periprotetikus, valamint az ízületi fertőzések diagnosztizálási kritériumaival, mégis megállapíthatjuk, hogy fertőzés gyanúja esetén egyetlen igazoló teszt nem ad minden kétséget kizáró eredményt.

A biotechnológia gyors fejlődésével az orvosi diagnosztikai eljárások, berendezések között részben elfeledett technológiák, további kiaknázatlan lehetőségek adódnak, melyek a mikroorganizmusok elleni harcban számos sikert hozhatnak.

Évente az Amerikai Egyesült Államokban 20 ezer szeptikus arthritis fordul elő, gyakorisága 7-8 eset 100000 fős átlag népességre nézve mely közel azonos az európai adatokkal, a becsült incidenciája Európában 6- eset / 100 000 lakos [12].

Az utóbbi években csökken a *Pneumococcus* okozta arthritis és növekszik a Gram negatív kórokozók, a nem A csoportú *Streptococcus* és az anaerob kórokozók számaránya. Ízületi folyadékából leggyakrabban kimutatott kórokozók, a *Gonococcus* kivételével felnőtt betegcsoportban a különböző *Staphylococcus* törzsek.

I.2. Diagnosztizálási lehetőségek, kritériumok

A klasszikus klinikai tüneteket adó ízületi, valamint nagyízületi periprotetikus gennyedés esetében vitathatatlan a sürgető megoldás, melyet fizikális és képalkotó vizsgálatok (RTG, UH, CT, MRI, Szcintigráfia) vetnek fel, és amit a laboratóriumi vizsgálatok alátámasztanak. Sok esetben viszont immunszupresszált szervezetben a tünetek részleges, vagy teljes hiányában elengedhetetlenné válnak a specifikus labordiagnosztikai eljárások. A klinikai gyakorlatban a szerológiai markerek, synoviális tesztek, mikrobiológiai leoltások, együttes alkalmazására alapozva tudunk eredményes kezelést elérni [14].

Egyes tanulmányok alapján a mikrobiológiai mintavétel szempontjából fontos, hogy a műtét előtt a beteg lehetőség szerint ne kapjon szisztémás antibiotikumot [15-18] és a terápiás vagy profilaktikus antibiotikum dózist csak a műtét közben, a mikrobiológiai minták vétele után kapja meg a beteg [14]. Az azonnali antibiotikus kezelésre szükségessége esetén legalább az ízületi punkciót javasolt az antibiotikum adása előtt elvégezni. Fontos, hogy lehetőség szerint a kórokozót a tervezett műtét előtt megtaláljuk, és így ki tudjuk választani a betegre és kórokozóra optimalizált kezelést.

A műtéti beavatkozás során legalább 3-5 helyről érdemes mintát venni. Érdemes jól meghatározott helyekről venni a mintát, aminek mindég tartalmaznia kell

a protézis-csont közös felületét is. Csípőízületi protézis körüli fertőzés esetén az ízületi tok, a protézis szár környéke és a vápa környéke tűnnek megfelelőnek a mintavételre. Térdprotézis körüli fertőzés esetében a szinoviális membrán, a femorális komponens, a tibiális komponens környéke, a patella és a dorsalis tok területe tűnik megfelelő mintavételi helynek [19, 20, 21]. Amennyiben a mikrobiológiai vizsgálatra szánt mintákat 24 órán belül feldolgozzák, akkor a kórokozók izolálása érdekében érdemes külön, szövetmintákat steril kémcsőben, transzport táptalaj nélkül is beküldeni.

Az áll negatív leoltások elkerülése érdekében Trampuz és munkatársai a szonikációt ajánlják [22], mely során a protézis eltávolítását követően azt steril körülmények közzé helyezve (egy műanyag légmentesen zárható dobozba kerül a protézis), a laborba történő átszállítása után ultrahangos szonikátorban nyerik ki a biofilmből a baktériumokat, melyet mikrobiológiai módszerekkel vizsgálnak [23].

Szövetteni vizsgálat végzése során a vizsgált minta akkor informatív, ha protézis körüli helyről származik (fertőzött protézis körüli membrán). A periprotetikus fertőzés diagnózisa kimondható, ha a periprotetikus szövetminta az infekciós típus, granulocitákkal CD15 pozitív sejtekkel, macrophagokkal, microabscessusokkal telített [24, 25].

A degeneratív ízületi betegségeket el kell tudnunk különíteni a kórokozók okozta gyulladós ízületi fertőzésektől. A köszvény okozta arthropátiák általában középkorú férfiaknál kezdődik, és esetükben gyakoribb. A köszvényes roham az esetek több mint felében az első metatarsophalangeális ízületnél kezdődik, melyet az ízületet érő trauma válthat ki. Általában az éjszakai órákban kezdődik, és a gyulladós jelek kifejezettek: fájdalom, duzzanat és bőrpír. A kezeletlen köszvény okozta arthritisek fokozatosan krónikus destruktív polyarthritishoz vezetnek. Az akut köszvényes rohamot láz kíséri, az emelkedett CRP érték és mérsékelten gyorsult vvt. süllyedés mellett a szérum húgysavszint általában magas.

A bakteriális eredetű arthritis általában hirtelen kezdetű, szeptikus lázmenettel jellemzően egy ízületre lokalizálódik. Idősebb betegek esetében, immunsupresszált állapotban, és olykor ízületi protézis jelenlétében a láz és az egyéb gyulladós jelek viszont hiányozhatnak. Az akut monarthritist mindaddig bakteriális arthritisnek kell tartani, amíg az ellenkezője be nem bizonyul. A gyulladós laborparaméterek közül a

CRP általában jelentősen emelkedik, a süllyedés is gyorsult, de a leukocytosis hiányozhat. A bakteriális arthritisre emlékeztető módon a kristály arthritis is lehet fulmináns megjelenésű. Kristály arthropátia gyanúja esetén az aspiátumból azonnali kristály analízis szükséges.

A gonococcus eredetű arthritis általában hirtelen kezdetű. Általában a felső végtagokat érintő mono- vagy oligoarthritisről van szó. Az arthritishez gyakran társul tenosynovitis vagy periarthritis. A gonococcális arthritis jellemzői között megemlíthető a pustulosus bőrijelenség, és a vándorló ízületi fájdalom.

A vírusos arthritisek általában enyhe poly- vagy oligoarthritisek, hirtelen kezdetűek, jóindulatúak és maguktól múlnak. A parvovírus B19 gyakori oka a felnőttkori arthritisnek vagy arthralgiának. Ízületi gyulladás különösen rubeolához és arbovírus fertőzéshez társul, mely a jellegzetes kiütések alapján felismerhető. Az arbovírus arthritis kiütése viszketéssel jár. Vírus eredetű arthritisben a süllyedés és a CRP csak mérsékelten kóros, és a szinoviális folyadékban általában mononuclearis sejtek vannak.

A borelia arthritis a Lyme betegség késői manifesztációja lehet a neurológiai tünet együttes és a carditis mellett. A betegség kezdetekor általában láz, fejfájás, myalgia és lymphadenopathia jelentkezik. Az arthritis általában visszatérő mono-vagy oligoarthritis formájában jelentkezik [55]. A kedvező kimenetelhez a korai diagnózis alapvető.

Az utóbbi években a periprotetikus ízületi genyedés visszaszorítása érdekében egyre nőtt az igény egy gyors és megbízható teszt kifejlesztése iránt, ezért Deirmengian és Parvizi vezetésével egy philadelphiai kutatócsoport különböző biomarkerek kifejlesztését tűzték ki a kutatás céljaként. A kutatócsoport 16 olyan peptidet vizsgált szinoviális folyadékból, melyeknek szerepe lehet a periprotetikus fertőzés kimutatásában. Ezek közül az alfa defenzin bizonyult a legígéretesebb, ezért ezt a fehérjét javasolták további vizsgálatoknak alávetni a periprotetikus ízületi fertőzés diagnosztikájában [27]. Mára már erre a célra a klinikai gyakorlatban is jól használható gyorseszteszt áll rendelkezésre (Synovasure® Alpha Defensin Test), ami egyértelműen mutatja 10 perc után az α D pozitivitást [109].

A biomarkerek magas szenzitivitási és specificitási eredményessége ellenére továbbra is nyitott kérdés maradt az antibiotikum érzékenység illetve rezisztencia, melynek kimutatásában az isoperibolikus módban végzett kalorimetriás vizsgálatnak (DSC) kutatásaink alapján létjogosultsága van [26].

I.3. A periprotetikus infekciók diagnosztizálásának algoritmusai

A jelenleg használatos diagnosztikai lehetőségek közül legjobb esetben is csak 96-98%-os biztonsággal lehet a fertőzést kimutatni [56].

A periprotetikus infekciók igazolását illetően ma már egyértelmű ajánlások léteznek a különféle szakmai társaságok törekvéseinek köszönhetően az IDSA (Infection Disease Society of America), az AAOS (American Academy of Orthopedic Surgeons) és a MSIS (Musculoskeletal Infection Society) [57, 14, 58].

A (MSIS) a periprotetikus ízületi fertőzések vizsgálatában nemzetközi konszenzus alapján elfogadta a standard kritériumrendszert, mely alapján felállíthatjuk a periprotetikus ízületi fertőzés diagnózisát [51], melyet számos átfogó tanulmányban használtak [14, 52, 53, 54].

| |
|--|
| <i>Az alábbiak egyikének teljesülnie kell a periprotetikus ízületi fertőzés esetén:</i> |
| <i>1. Ízülethez vezető sipoly járat</i> |
| <i>2. A protézis mellől származó két különálló szövet vagy ízületi folyadékmintából kitenyésztett kórokozó</i> |
| <i>3. A következő hat feltétel közül, ha négy teljesül:</i> |
| <i>a. Emelkedett vvt. süllyedés (We) és CRP (We>30 mm/óra; CRP>10 mg/L)</i> |
| <i>b. A synoviális folyadék emelkedett fehérvérsejt száma (WBC) (WBC>3000 sejt/μL)</i> |
| <i>c. A synoviális folyadékban található emelkedett neutrofilek százaléka (>65%)</i> |
| <i>d. Az érintett ízületben gennyedés jelenléte</i> |
| <i>e. Egy periprotetikus szövetből, vagy folyadékból kórokozó izolálása</i> |
| <i>f. A periprotetikus szövet szövettani vizsgálatakor 400-szor nagyobb nagyításnál, 5 látómezőben található neutrofilek száma 5-él több (>5 neutrofil/ látómezőként)</i> |

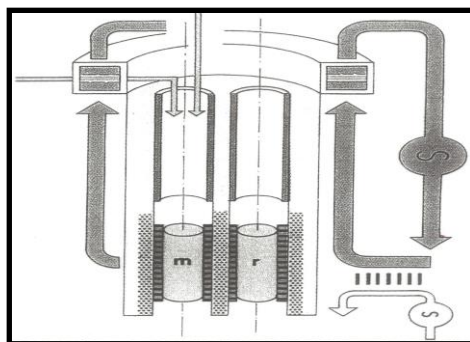
1. Táblázat: A periprotetikus ízületi fertőzés meghatározása MSIS munkacsoport által.

Nemzetközileg elismert szaktekintélyek által 2014-an a philadelphiai konferencia keretén belül, konszenzus született a periprotetikus ízületi fertőzések diagnózisának, valamint kezelésének algoritmusát illetően, melynek ajánlása ma is mértékadónak tekintendő [50], annak ellenére, hogy a diagnosztika fejlődése terén újabb lehetőségek adódnak a biztos diagnózis kimondása terén [9, 62, 26, 60, 68, 69, 70, 71, 72, 75, 76, 77, 78].

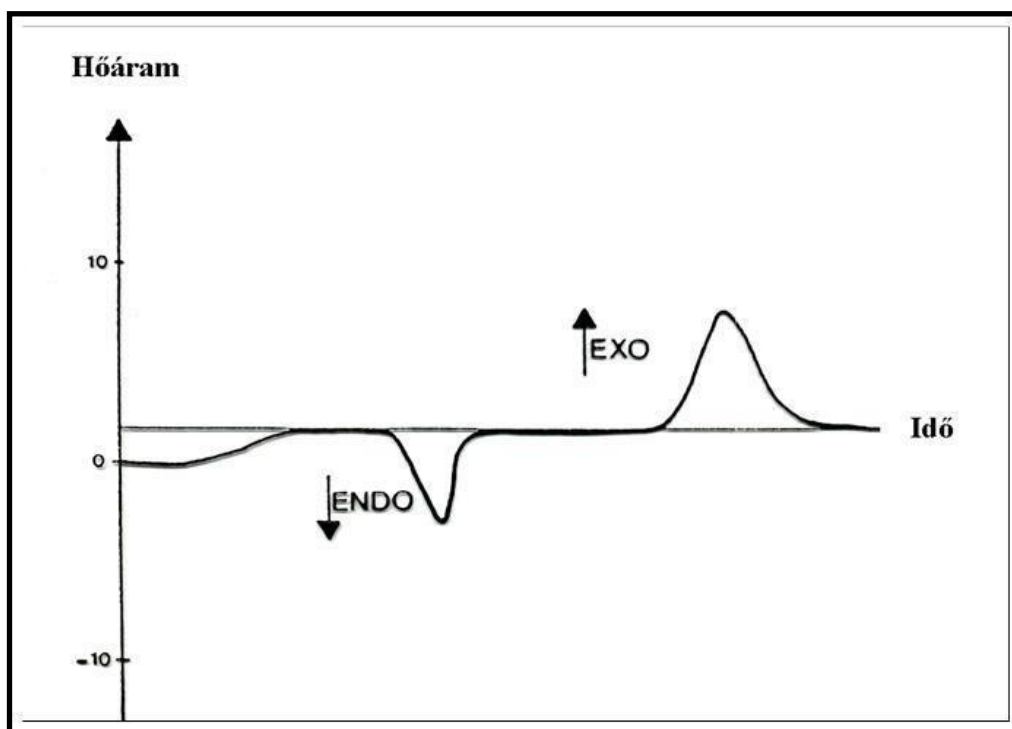
Az ízületi, periprotetikus fertőzések diagnosztikai algoritmus alapján fontos, hogy a diagnózist minél előbb felállítsuk és ezt követően az infekció progresszivitását, időbeli lefolyást megítélni, melyek alapján a terápiás terv kidolgozása, a kezelés megkezdése javasolt.

I. 4. A DSC mint mellőzött vizsgálati eljárás

A DSC (differenciál pásztázó kalorimetria) a biológiai és biokémiai folyamatokban a strukturális és konformációs változások nagy érzékenységgű mérési eszköze, mely -20°C foktól 100°C fokig terjedő tartományban használható. A készülék a hő áram mérés elvén működik. Egy program szerint fűthető/hűthető hőelnyelő blokkban van a mérő és a referencia cella. A mért kimenő paraméterek a hő áram az idő, vagy a hőmérséklet függvényében. A program végrehajtásához a hőelnyelő, a mintatartó hőmérséklete és a minta - referenciacella - közti hőmérséklet különbség szolgáltatja a szabályozó jeleket. A preparátum bemérése úgy történik, hogy a két cella hő kapacitása közel azonos legyen (1. ábra). A programozott fűtés során így a két edény hőmérséklete azonos módon változik, hőmérséklet különbségük zérus mindaddig (a referencia a minta puffere), amíg valamilyen folyamat (endo/exoterm) nem történik a makromolekula-rendszert tartalmazó mérőcellában (2. ábra).



1.Ábra: A SETARAM Micro DSC-II kaloriméter celláinak sematikus elrendezése.



2. **Ábra:** A SETARAM Micro DSC-II mérhető kimenő jele.

A hőmérséklet különbség előjelétől és annak nagyságától függően vagy a mérő vagy a referencia cellába kell energiát táplálnunk az eredeti fűtési program és a cellák közti termikus egyensúly fenntartása érdekében. A rendszer kimenő-jelként ezt az energiát (hő áram, pl.: mW) adja meg vagy az idő, vagy az aktuális hőmérséklet függvényében. A folyamatról közvetlenül nyerhető információ tehát a kimenő jel alatti terület (integrálja), ami az un. kalorimetriás entalpia (mivel a cellák állandó nyomás alatt vannak a hermetikus zárás miatt). Ez az az energia, ami a minta - egyik konformációból egy másik makromolekula szerkezetbe történő átalakulásához kell, vagy szabadul fel pl. kristályosodás során. Ebből grafikus feldolgozás során egyszerűen megkapható a minta állandó nyomásra vonatkozó hő kapacitása (a rendszer ugyanis inhomogén), amely jelzi a natív és denaturált állapot közti különbséget.

II. Célkitűzés

Dolgozatunk célja az ízületi, periprotetikus szeptikus gyulladáshoz vezető folyamatok időbeli felismerésének és kezelésének felgyorsításával járó diagnosztikus eljárások feltérképezése és a klinikai gyakorlatba való ültetése.

Az általunk feltételezett hagyományos mikrobiológiai leoltások alacsony szenzitivitásának az igazolására, a 2012-2016 éveket felölelő retrospektív klinikai tanulmánnyal az ízületi, valamint a periprotetikus nagyízületi mikrobiológiai leoltások megbízhatóságának a felmérését végeztük.

Vizsgálatunkban célul tűztük ki, hogy a retrospektív vizsgálat alapján felmérjük klinikánkon a megjelölt 5 éves időszakban a szeptikus ízületi, valamint periprotetikus folyamattal kezelt betegeknél előforduló baktériumok megoszlását, valamint az eddig a klinikai gyakorlatban alkalmazott hagyományos laboratóriumi, valamint mikrobiológiai leoltások diagnosztikai specificitását, valamint szenzitivitását.

A Regionális Kutatásetikai Bizottság engedélyével in vitro vizsgálati modell felállításával, mikrobiológiai háttérrel a PTE Biofizikai Intézetében differenciál pásztázó kalorimetria (DSC) segítségével vizsgáltuk a synoviális folyadék denaturációját, valamint különböző baktériumtörzsek synoviális közegben regisztrálható szaporodásának termikus változásait.

Az általunk kidolgozott kísérleti modell vizsgálati eredményeinek tükrében, vizsgáltuk a kalorimetriás eljárás klinikai gyakorlatba való átültetésének hasznát, lehetőségeit.

III. Anyag és módszer

III.1. Klinikai retrospektív felmérés

A PTE Traumatológiai és Kézsebészeti Klinika fő profiljainak figyelembe vételével a Regionális és Intézményi Kutatás- Etikai Bizottság engedélyével (ügyiratszám: 6737) 5 éves retrospektív tanulmány keretén belül elemeztük az akut és elektív kézsebészeti beavatkozások, valamint a primer nagyízületi és a rekonstrukciós műtéti beavatkozások kapcsán regisztrált ízületi vagy periprotetikus korai és késői

fertőzések etiológiájának viszonyát, valamint a hagyományos mikrobiológiai vizsgálatok szenzitivitását.

Az általam benyújtott statisztikai és tudományos adatgyűjtési kérelem engedélyezését követően (PTE, 56301/2017), a PTE, Klinikai Központ e-Med Solution rendszerének és a PTE, Protézis Várólista rendszerének (2912 PTE, 03 Traumatológia) adatait, statisztikai összesítés során használtam fel. A PTE, Traumatológiai és Kézsebészeti Klinika 2012 január 1 és 2016 december 31 közötti időszak beteganyagának összesítése és feldolgozása történt. Az elektív, valamint az akut nagyízületi endoprotézis ízület szerinti primer vagy revíziós műtéti beavatkozásának éves összesítése és a kis és nagyízületi primer, valamint protézis körüli fertőzéseket okozó baktériumtörzsek megoszlásának felmérése történt.

A tervezett időpontban végzett nagyízületi protézis beültetése előtt a betegnél a góckutatás (fül-orr-gégészeti, szájszészeti, nőgyógyászati, cardiológiai, urológiai, proktológiai, pulmonológiai vizsgálat) minden esetben megtörtént.

Az elektronikus kórlapi dokumentáció (RTG, CT, MR, laboratóriumi vizsgálati eredmények, mikrobiológiai leoltási leletek) és a műtéti leíró dokumentum összevetése során azonosítottuk a szeptikus ízületi, valamint nagyízületi protézis körüli gyulladós folyamatokat.

III.2. A synoviális folyadék összetételét befolyásoló tényezők

Ismeretes, hogy a synoviális folyadék termelődésének fokozódását elősegítő kórképek lehetnek gyulladós és nem gyulladós eredetűek. Az általános rheumatológiai felosztáson kívül, külön emelendő ki a baktérium, vírus, gomba okozta infekt arthritisek, mely során a synoviális folyadék felszaporodásán kívül annak minőségi összetétele is változik. A normál synoviális folyadék viszkózus, melynek állagát hyaluronsav polimerek biztosítják. Gyulladós állapotokban a mucin polimerek fragmentálódnak, ecetsavas közegben a mucin polimerek és fragmentumok eltérő formában denaturálódnak.

A nem gyulladós synoviális folyadéktermelődést okozó kórképek közül, a traumás porckárosodásos, és az osteoarthritises kezelést igénylő betegeinknél a

Kellgren-Lawrence-féle és a módosított Kellgren-Lawrence-féle radiológiai osztályozási rendszerek figyelembe vételével (2. táblázat), különböző súlyosságú (Gr I-IV) osteoarthritises beteg synoviális folyadék mintagyűjtését végeztük [26].

| Osztályozás | Kellgren-Lawrence | Módosított KellgrenLawrence |
|----------------------|--|---|
| 0. Fokozat | Nincsenek osteoarthritises elváltozások | Nincsenek osteoarthritises elváltozások |
| 1. Fokozat (Gr-I.) | Ízületi rés beszűkülése gyanítható, osteophytikus „ajakképződés” lehetséges | Osteophyta kérdéses |
| 2. Fokozat (Gr-II.) | Egyértelmű osteophyták és az ízületi rés lehetséges beszűkülése | Egyértelműen észlelhetők osteophyták |
| 3. Fokozat (Gr-III.) | Mérsékelt, többszörös osteophyták, az ízületi rés egyértelmű beszűkülése, a csontvégeken némi sclerosis és deformitás lehetséges | Az ízületi rés beszűkülése |
| 4. Fokozat (Gr-IV.) | Nagyméretű osteophyták, az ízületi rés kifejezett beszűkülése, súlyos sclerosis, a csontvégek határozott deformitása | Az ízületi rés látszólagos eltűnése („csont a csonton”) |

2. Táblázat: A Kellgren-Lawrence-féle és a módosított Kellgren-Lawrence-féle osztályozási rendszerek leírása [61].

A beválasztási kritérium figyelembe vételével a külső behatástól, gyulladásos folyamattól mentes synoviális folyadék termikus denaturációjával a különböző súlyossági fokú arthritises betegek eltérő DSC görbéi eredményeinek összevetését végeztük.

III.3. Synoviális minták gyűjtése, tárolása

A 2003-as Helsinki Nyilatkozat etikai irányelveinek figyelembevételével, és a Regionális és Intézményi Kutatás- Etikai Bizottság engedélyével (engedély száma: 6737), a betegek vagy azok hozzátartozóinak felnőtt korú, tájékozott beleegyezésen alapuló beleegyező nyilatkozat aláírása után történik a synoviális mintavétel.

Az általunk tervezett vizsgálatba olyan felnőtt korú, akut vagy krónikus térdízületi bántalommal bíró (fájdalmat, mozgáselmaradást, gyulladássos ízületi jegeket mutató) betegeket vonunk be a vizsgálatba, aki szakrendelésünk felkeresése révén térdízületi hyaluronsavas kezelés, műtéti arthroscopos beavatkozás (térdtükrözés), vagy térdízületi felszínpótló protézis beültetésén esik át. A beteg számára a vizsgálat nem járt külön beavatkozással. A konzervatív kezelés, vagy a műtéti beavatkozás során a beteget kezelő orvos által steril körülmények között, térd punkció során lecsapolható synoviális folyadékból 2 - 5 ml-t, előre sterilizált **B230 BSM470** cikkszámú 10 ml-es zárható natív kémcsőbe helyezük. A minta beazonosítására szükséges adatokat a kémcsőre feltüntetjük.

A synoviális minták feldolgozása (3500 fordulaton 15 percig történő centrifugálása, majd a tiszta synovia sterilen történő átemelése másik steril kémcsőbe) után azonnal, vagy -70°C -n történő mélyfagyasztási tárolását (az erre szabványosított hűtőben) követően a PTE, Biofizikai Intézetében DSC-vel vizsgáltuk.

III.4. Synoviális minták denaturációja, DSC-vel történő vizsgálata

Miért választottunk termikus analitikai vizsgáló módszert?

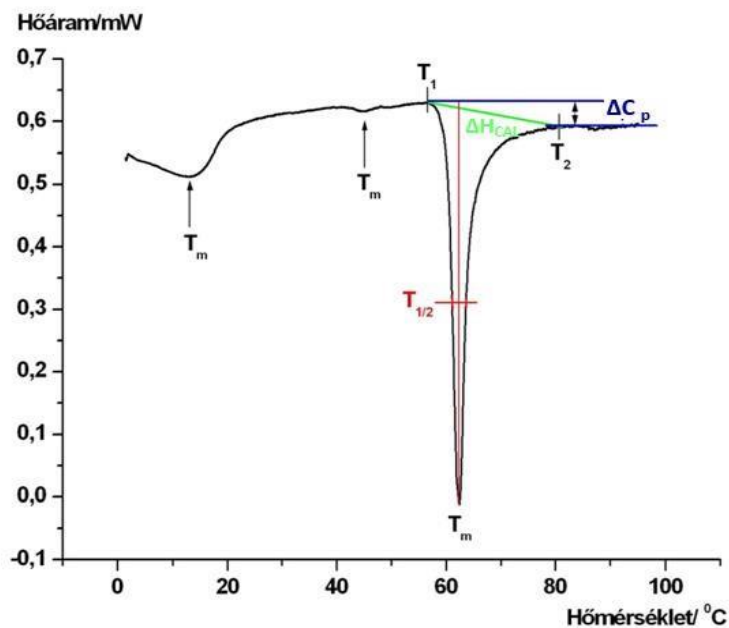
Választ kerestünk arra, hogy befolyásolhatja e döntően a synoviális folyadék összetétele a baktériumok szaporodási folyamatát.

A beválasztási kritériumnak megfelelő betegektől vett synoviális minták feldolgozása után DSC-vel vizsgáltuk termikus denaturációjukat [62]. A DSC vizsgálatához a mintákat a mérésig $-70/-20^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk. A mintákat SETARAM Micro DSC-II. kaloriméterrel vizsgáltuk. Minden vizsgálatot 0 és 100°C között végeztünk. Minden esetben a melegítés üteme $0,3\text{ K/perc}$ volt. A denaturációs mérésekhez a hagyományos Hastelloy cellákat ($V=1\text{ mL}$), és átlagosan $950\ \mu\text{L}$ mintatérfogatot használtunk, a méréshez használt minták tömege átlagosan 950 mg volt (folyékony állapotú minta esetén, „szilárdnál” $100\text{-}200\text{ mg}$).

Referenciaként kétszer desztillált vizet vagy fiziológiás sóoldatot használtunk. A referencia- és mintaedényeket $\pm 0,1\text{ mg}$ pontossággal mértük be, így a referencia- és a mintaedények hő kapacitása között nem volt szükség korrekcióra. A kalorimetriás entalpiát a hő abszorpciós görbe alatti területből számoltuk ki, két pontos illesztésű

SETARAM integrálást alkalmazva. A különböző minták mért denaturációs hőmérsékletei, valamint a számított kalorimetriás entalpia értékek alapján következtettünk az esetleges szerkezeti különbségekre a betegség/kezelés különböző stádiumaiban (3. ábra). A denaturációt jellemző termikus paraméterek:

- a denaturáció kezdete (T_1) és vége (T_2)
- a denaturációhoz szükséges energia (ΔH = kalorimetriás entalpia)
- a denaturáció maximális hőmérséklete (T_m = a minta 50%- a átalakul más konformációba)
- a félértékszélesség ($T_{1/2}$: ha kicsi, akkor nagyon erős a kölcsönhatás/kooperativitás az adott termikus egységen belül, ha nagy, akkor igen laza. Tehát a denaturáció során létrejövő új állapot merevebb, vagy lazább szerkezetű)
- a natív és denaturált állapot alapvonala közti különbség a két állapot hőkapacitás (ΔC_p) különbségét adja.



3.Ábra: Egy denaturációs görbe, és annak jellemző paraméterei.

III.5. Baktériumtörzsek vizsgálata a klinikai gyakorlatban

Szeptikus ízületi gyulladás gyanúja miatt vizsgált betegek szükséges radiológiai és általános labordiagnosztikai vizsgálatán kívül steril körülmények között lehetőség szerint nagyízületi punkció során nyert synoviális folyadékból, vagy váladékból mikrobiológiai leoltás, laboratóriumi, biokémiai minőségi összetételének

meghatározása történt. A mikrobiológiai vizsgálattal az izolált kórokozók antibiotikum érzékenységét is vizsgálták minden esetben, mely akár 4-5 nap múlva adott végleges eredményt.

Igazolt ízületi, vagy protézis körüli fertőzés esetén műtéti előkészítés keretén belül széles spektrumú kombinált antibiotikus terápiát kezdtünk, melyet a kapott mikrobiológiai eredmény antibiotikum érzékenységének tükrében szükség esetén változtattuk.

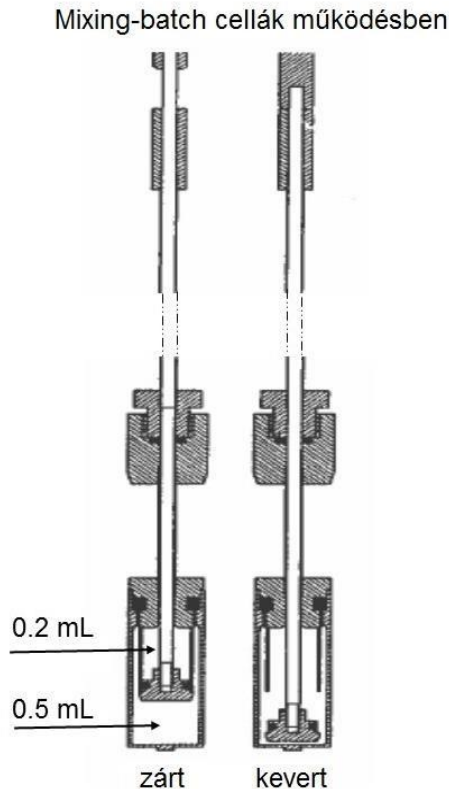
III.6. Baktériumtörzsek kaloriméterrel történő vizsgálata

Az előzetes Klinikai tanulmány és az irodalomban fellelhető igazolt kutatási eredmények figyelembe vételével, a Regionális és Intézményi Kutatás- Etikai Bizottság engedélyével kísérleti model kidolgozása történt.

Steril humán synoviális folyadékban kísérleti körülmények között a PTE, Biofizikai Intézetének DSC laborjában, a klinikai gyakorlatban gyakrabban előforduló, olykor komoly diagnosztizálási, és kezelési nehézségeket okozó baktérium törzsek szaporodásának kaloriméterrel történő regisztrálását kezdtük [26].

A PTE, Mikrobiológiai Intézetében a vizsgált törzsek közül speciális tenyésztőből származó baktériumokat vizsgáltunk: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, MRSA (*Meticillinrezisztens Staphylococcus aureus*) # 4262 (# azt jelenti, hogy egy pyogén klinikai mintából izolálták), *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990, *Streptococcus pyogenes* NCCP 11610, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. A tesztbaktériumok Mueller-Hinton agar (OXOID Ltd., UK) lemezeit használtuk, majd azokról bakteriális szuszpenziót készítettünk, Mueller-Hinton-féle húslevesben (OXOID Ltd., Egyesült Királyság) 10^3 vagy 10^5 telepképző egységekben (CFU). A kapott különböző telepképző egységű (10^3 , 10^5 CFU/mL) bakteriális szuszpenziót fotometrius (Perkin Elmer fotométer 600 nm-es E = 0,100) módszerrel és tenyésztéssel vizsgáltuk. A tanulmányi jegyzőkönyv a 2003-as Helsinki Nyilatkozat etikai irányelveinek megfelelően készült.

A beállított telepképző egységű mintákból a PTE Biofizikai Intézetének laboratóriumában sterilen adagolt mennyiséget a differenciál pásztázó kaloriméter (DSC) speciálisan kialakított keverő edényeiben (4. ábra) helyeztünk el.



4. Ábra: Speciálisan kialakított kettős falú, sterilen zárható keverő edény.

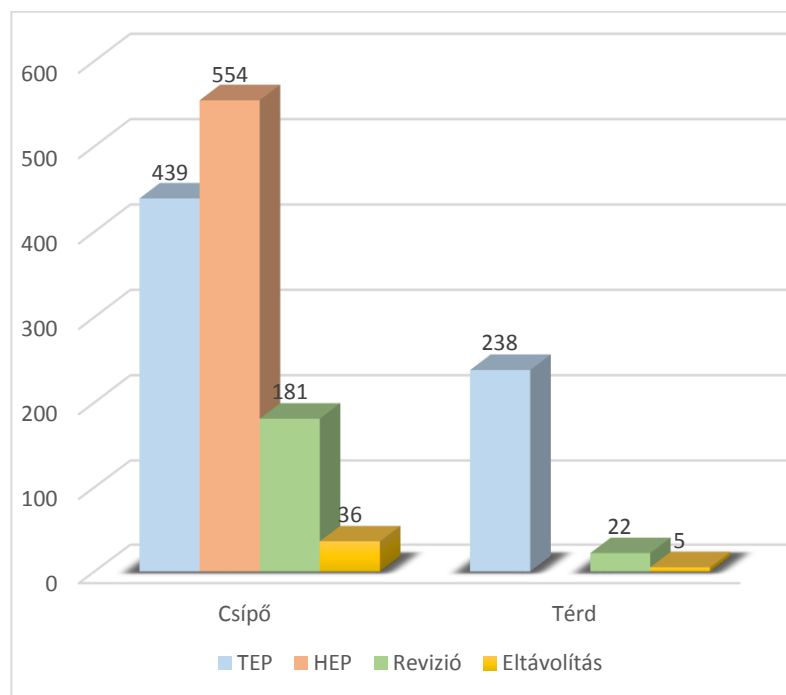
A keverő edények feltöltése sterilen történt, oly módon, hogy az előzetesen beállított csíraszámú (10^3 és 10^5 CFU/mL) baktériális szuszpenzióból 0,2 mL –t az edény felső nyitható, míg a tartály alsó nagyobb részébe 0,5 ml Mueller-Hinton-féle bouillon-t helyeztünk cseppmentesen. A baktériummal beoltott mintával feltöltött keverőedényt párhuzamosan csak Mueller-Hinton-féle bouillon tartalmú referencia mintákkal (0,2 mL-t az edény felső nyitható, míg a tartály alsó nagyobb részébe 0,5 ml-t töltöttünk) inkubáltuk. A hőegyensúly beállta után, a keverőedény celláit összenyitottuk, majd a keverési effektus leteltével 5 perc után a hőmérsékleti jellemzőket a SETARAM Micro DSC- II kaloriméterrel monitoroztuk. A kezdő (T_1) és a (T_2) hőmérsékleti végpontok proliferációs görbéit, valamint a proliferáció maximumát (T_m) a SETARAM szoftver segítségével határoztuk meg.

A kalorimetriás entalpia változást (ΔH_{cal}) a végpontokat összekötő görbe alatti területből számítottuk ki SETARAM két pontos illesztésű integrálással, majd a különböző baktériumtörzsekkel végzett kalorimetriás vizsgálati eredményeket összehasonlítottuk [26].

IV. Eredmények

IV.1. Klinikai retrospektív felmérés eredményei

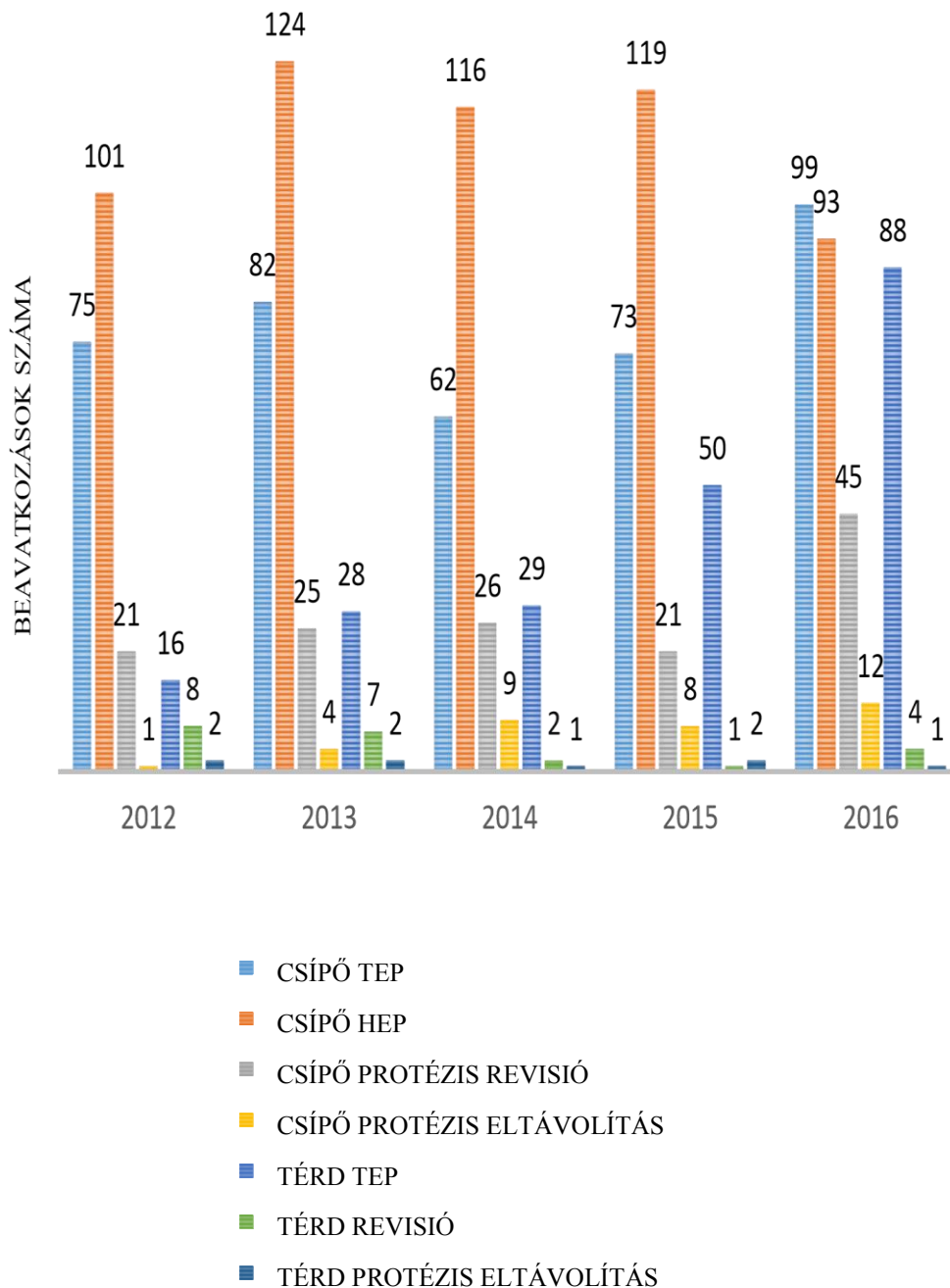
A retrospektív 5 éves klinikai felmérés alapján 2012 januárjától 2016 december végéig összesített időszakban összesen 439 csípőízületi TEP beültetés, 554 csípőízületi HEP beültetés történt. A csípőízületi 181 revíziós műtétből 36 esetben zárult a beavatkozás a csípőízületi protézis eltávolításával. Térdízületi degeneratív elváltozás, valamint posttraumás arthrosist követően beültetett térdízületi TEP 238 esetben történt. Az összesített eredmények alapján a vizsgált 5 éves időterem alatt, 22 térdízületi revíziós műtét során 5 esetben zárult a beavatkozás a protézis eltávolításával (5. ábra).



5. Ábra: A PTE Traumatológiai és Kézsebészeti Klinikán 2012-2016 között végzett portézis műtétek összesítő ábrája

A felmérés alapján, klinikánkon a priméren beültetett csípőtáji protézisek több mint felét combnyaktörés állapota előzi meg, ahol megfelelő góckutatás nem előzte meg a beavatkozást. Az esetek zömében (combnyak törést követő csípőprotézis beültetés kapcsán) a szakma szabályait figyelembe véve a gyenge általános állapotú betegek igényeihez, műtéti terhelhetőségéhez igazítva haemi-endoprotézis (HEP) beüleésen esnek át, mely így is jóval nagyobb morbiditási faktorial bír az általános szövődmények, valamint a szeptikus szövődmények tekintetében egyaránt (10 ábra),

[26]. A nagyízületi degeneratív elváltozások számának növekedésével a beteg igényeknek megfelelően a priméren beültetett csípő és térdízületi protézisek száma évről évre exponenciális növekedést mutat (6. ábra).



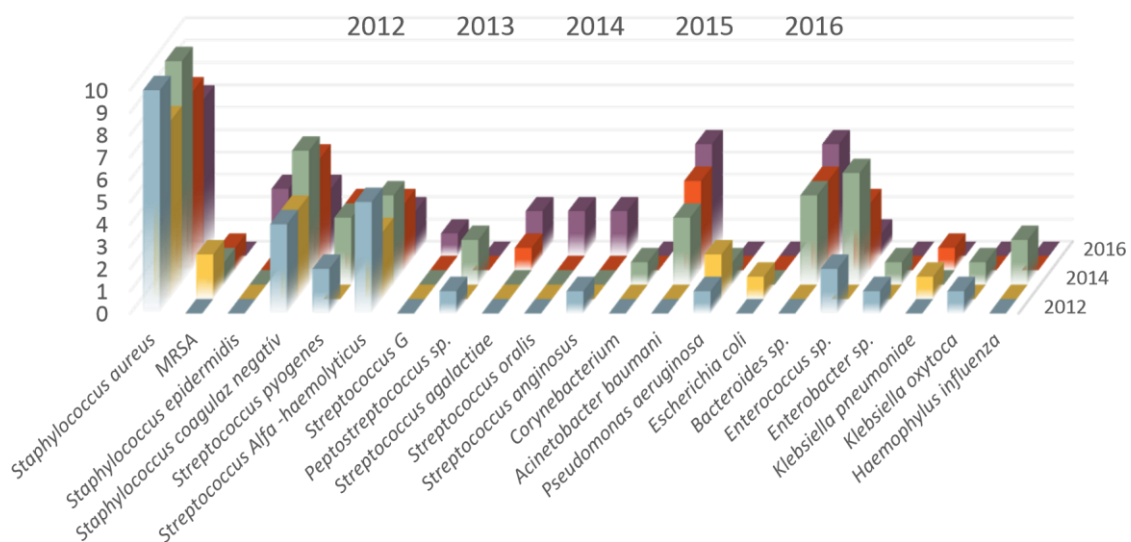
6. Ábra: Protézis műtétek megoszlása 2012-2016 között.

Döntően akut sérülést követően (combnyaktörés után) a szeptikus csípőízületi periprotetikus genyedés következtében véglegesen visszahagyott Girdlestone állapot növekvő tendenciája észlelhető meg.

A betegek kezelése során vett mikrobiológiai leoltásokból hagyományos tenyésztéssel az összesített eredményeink alapján 137 ízületi és periprotetikus fertőzést találtunk. A fertőzéssel kezelt betegek 65 (47,45%) beteg a kéz, vagy láb kisízületi, míg 72 (52,55%) betegnél nagyízületi fertőzést találtunk. A kisízületi fertőzések jórészt külső erőbehatás, sérülés követően jelentkeznek, addig a nagyízületi fertőzések egy része orvosi beavatkozás következtében, és a nagyízületi protézis műtétet követő korai vagy késői szövődmények egyike [26].

A hagyományos mikrobiológiai vizsgálatok megbízhatóságának vizsgálatára az 5 évet felölelő retrospektív klinikai felmérés során kiderült, hogy a 137 ízületi és periprotetikus igazolt gennyedés közül 30 esetben, tehát 21,88%-an az elsődleges leoltásokkal kórokozó kimutatása nem volt lehetséges.

Az eredmények tükrében (7. ábra) az elsődleges leoltások alapján továbbra is a különböző *Staphylococcus* törzsek vezetnek: *Staphylococcus aureus* 43 (22,16%), *Staphylococcus coaguláz negative* 22 (11,34%), *Staphylococcus epidermidis* 3 (1,54%), *Methicillin Resistens Staphylococcus Aureus* (MRSA) 4 (2,06%).



7. Ábra: Az előforduló baktériumok törzsek gyakoriságának megoszlása.

A PTE, Traumatológiai és Kézsebészeti Klinikán 2012 január és 2016 december közti időszakot átfogó retrospektív felmérésünk alapján gyakrabban előforduló ízületi és periprotetikus fertőzéseket összesítettük [26], (3. táblázat).

| Baktérium törzsek | Csípő ízület | Térd ízület | Boka ízület | Váll ízület | Könyök ízület | Láb kisízület | Kéz kisízület |
|---|--------------|-------------|-------------|-------------|---------------|---------------|---------------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 8 | 12 | 0 | 2 | 1 | 4 | 16 |
| MRSA | 2 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| <i>Staphylococcus coagulaz negatív</i> | 12 | 4 | 1 | 1 | 0 | 0 | 3 |
| <i>Streptococcus pyogenes</i> | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 5 |
| <i>Streptococcus Alfa -haemolyticus</i> | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 13 |
| <i>Streptococcus Beta- haemolyticus</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| <i>Streptococcus G</i> | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Peptostreptococcus sp.</i> | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| <i>Streptococcus agalactiae</i> | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| <i>Streptococcus oralis</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Streptococcus anginosus</i> | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Corynebacterium</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| <i>Acinetobacter baumani</i> | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 8 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| <i>E. coli</i> | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| <i>E. hemolyticus</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| <i>Bacteroides sp.</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| <i>Enterococcus sp.</i> | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 |
| <i>Enterobacter sp.</i> | 2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 3 | 5 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| <i>Klebsiella oxytoca</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| <i>Haemophilus influenza</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| <i>Morganelli morgani</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Összesített pozitív eredmény | 54 | 24 | 2 | 5 | 2 | 17 | 58 |
| Elsődleges negatív eredmény | 1 | 3 | 0 | 3 | 0 | 0 | 23 |

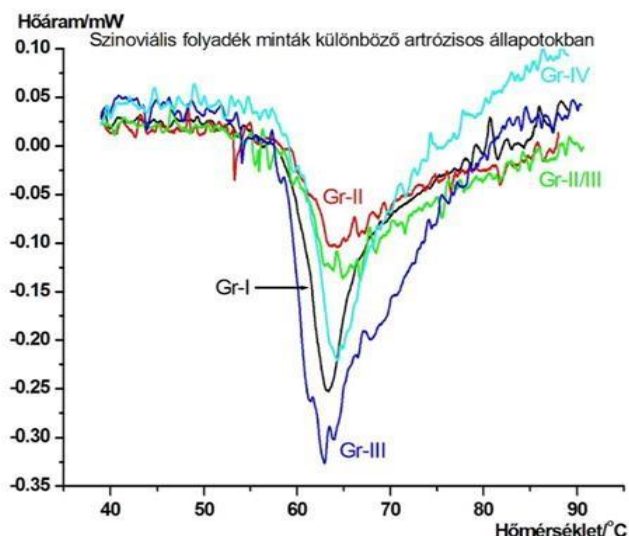
3. Táblázat: Ízületi fertőzés során izolált baktériumok megoszlása 2012 január és 2016 december közötti időszakban a PTE, Traumatológiai és Kézsebészeti Klinikán.

A növekvő számú primer műtéteket megelőző góckutatás jótékony hatása figyelhető meg, csökkentve ezáltal a szepszis szövődmények előfordulását.

IV.2. Synoviális minták denaturációja során kapott eredmények

Az arthrosis különböző súlyossági fokozataiban vett synoviális folyadékmintákból SETARAM Micro DSC- II kaloriméterrel 0,3 K min⁻¹ fűtési sebességgel 37°- 90°C közötti hőmérsékleten monitoroztuk [62]. A minták

denaturálását, követően az eltérő súlyossági fokú arthrosisos betegek kalorimetriás eredményeinek összevetése történt (8. ábrán).



8. Ábra: Különböző súlyossági fokú arthrosisos állapotokból származó szinoviális folyadékok denaturációs görbéinek összevetése.

A jelentős változás észlelhető az arthrosis előre haladtában, amely a denaturációs görbe félérték szélességének ($T_{1/2}$) változásában tapasztalható, mely a szerkezeti átalakulás hőmérséklet tartománya a maximális hőáram felénél. Az alacsony érték erős szerkezeti kooperációra, a nagyobb, a lehetséges komponensek közti gyengébb kölcsönhatásra utal. A Gr-II, Gr-II/III és Gr-III esetében a minták lehetséges „lazulására”, vagyis a különböző súlyossági fokokban a struktúra kevésbé rendezettségére utal (lásd az 4. táblázatot).

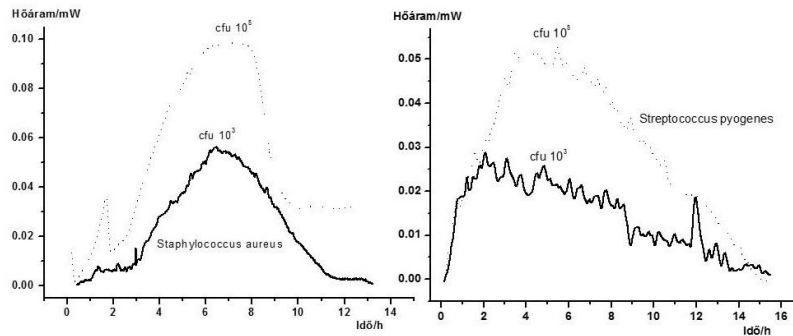
| Súlyosság foka | $T_m/^\circ\text{C}$ | $T_{1/2}/^\circ\text{C}$ | $\Delta H_{cal}/\text{Jg}^{-1}$ |
|----------------|----------------------|--------------------------|---------------------------------|
| I. | 63.4 | 4 | 0.46 |
| II. | 64.3 | 11.5 | 0.32 |
| II-III. | 63.7 ± 0.6 | 12.4 ± 0.4 | 0.54 ± 0.06 |
| III. | 63.5 | 10.9 | 0.58 |
| IV. | 64.2 ± 0.7 | 8.2 ± 0.3 | 0.4 ± 0.05 |

4. Táblázat: A szinoviális folyadék denaturációjának termodinamikai paraméterei.

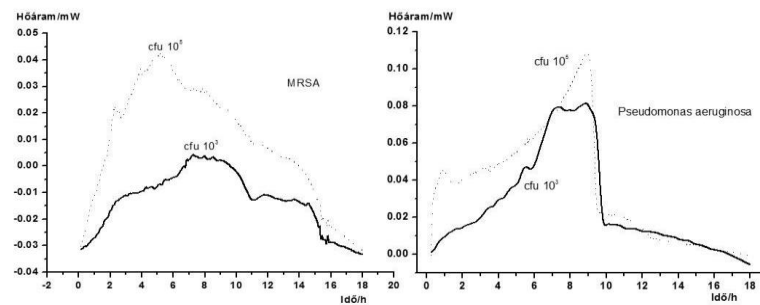
IV.3. A baktérium törzsek szaporodásának kalorimetriás mérési eredményei

Kísérletes körülmények között, a klinikai gyakorlatban gyakran előforduló baktérium törzsek szaporodását vizsgáltuk a SETARAM Micro DSC- II és III kaloriméterekkel. A vizsgált baktérium törzssel feltöltött speciális keverőedény és a referenciaedény közötti hőegyensúly beállítást, és a cellák ugyanabban a pillanatban

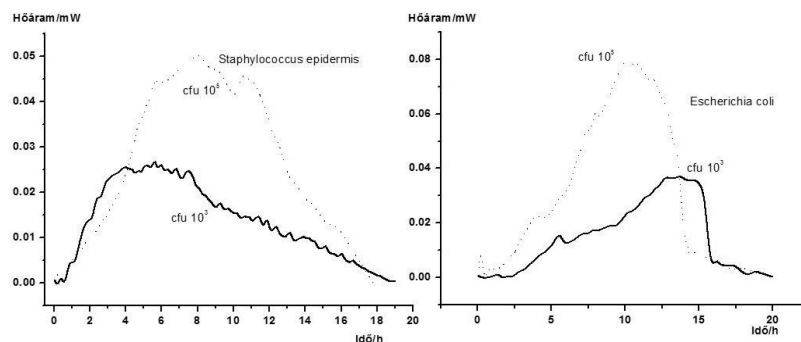
történő összenyitását követően, az idő függvényében regisztráltuk a proliferációs folyamat hőtermelését, amely a vizsgált baktériumtörzsek és koncentrációknál (10^3 CFU/mL és 10^5 CFU/mL) az adott fajra jellemző és egymástól különböző lefutású volt (9-11. ábrák).



9. Ábra: A *Staphylococcus aureus* és a *Streptococcus pyogenes* szaporodása során regisztrált termikus változások 37 ° C-on.



10. Ábra: Az MRSA és a *Pseudomonas aeruginosa* szaporodása során regisztrált termikus változások 37 ° C-on.



11. Ábra: A *Staphylococcus epidermidis* és az *Escherichia coli* szaporodása során regisztrált termikus változások 37 ° C-on.

A klinikai gyakorlatban a legtöbb fertőzést okozó *S. aureus* (9. ábra) szaporodásánál, a baktérium CFU értékének hatása egyértelműen látható. A *S. aureus* 10^5 CFU értékénél a szaporodási előfázis körülbelül 1,5 óra volt (de sokkal hangsúlyosabb, mint 10^3 CFU értékénél). Mindkét CFU értéknél a szaporodási hőáram maxima 6-7 óra között van, és a folyamat a keveréstől 13 óra után fejeződött be. A *S. pyogenes* esetében a szaporodás kezdő fázisa - a CFU-tól függően – 1 és 2 óra elteltével regisztrálható, a maximális hőáram 10^3 CFU/mL érték esetén kb. 2,5 óra, míg 10^5 CFU/mL érték esetében 6 óra elteltével regisztrálható. A folyamat 16 óra elteltével fejeződik be, mely 10^3 CFU/mL értéknél meglehetősen ingadozó hőáram értéket regisztráltunk.

Az MRSA és a *P. aeruginosa* (10. ábra) szaporodása is baktérium-specifikus. Az MRSA esetében az egész hőtermelés legalább három különböző szaporodási fázisból épül fel, mely eltérő szaporodási kinetikára utal. 10^3 CFU értéknél a termelt hőáram csúcs 7-8 óránál, míg 10^5 CFU/mL érték esetében körülbelül 5 óra 30 percnél a végpont pedig 18 óránál van. A *P. aeruginosa* esetében mind a két CFU értéken, 9 órás csúcst követően határozottan csökkent a szaporodási ráta. A *P. aeruginosa* CFU 10^3 CFU/mL érték esetében legalább három különböző proliferációs kinetikát különböztethetünk meg.

A *S. epidermidis* az egyetlen olyan baktérium, ahol a szaporodás sebessége érdekes módon ellentétes CFU függést mutat (11. ábra). A maximális hőáram elérése 10^3 CFU/mL esetében gyorsabb, mint a 10^5 CFU/mL érték esetén. Az *E. coli* 10^3 CFU/mL értéknél ugyancsak csökkent határozottan a baktériumok szaporodási aránya. A folyamat vége mindkét CFU-n a leghosszabb, 20 óra.

Összefoglalva a regisztrált eredményeket, az 5. táblázatban a legfontosabb termikus paraméterek láthatók. Látható, hogy a szaporodási folyamat vége, a maximális hőáram elérésének ideje, valamint a kalorimetriás entalpia értékek az egyes baktériumok azonosítását lehetővé teszik, segítségükkel diagnosztikus következtetéseket vonhatunk le. A t_m és a ΔH_{cal} termikus paraméterek meghatározása sokkal gyorsabb, mint a klasszikus mikrobiológiai eljárással történő baktérium azonosítás, ezért termikus analízis révén hamarabb lehetővé válik a megfelelő

antibiotikus terápia, az addig alkalmazott empirikus terápiát célzott antibiotikum terápiára válthatunk [26].

| Vizsgált baktérium törzsek | Termikus paraméterek | | | |
|--|----------------------|----------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | t_o | t_e | t_m | $\Delta H_{cal}/Jg^{-1}$ |
| <i>Staphylococcus aureus</i> CFU 10 ³ CFU 10 ⁵ | 26 min 13 min | 13 h 22 min 13 h 30 min | 6 h 27 min 7 h | -1.48 -1.98 |
| <i>Streptococcus pyogenes</i> CFU 10 ³ CFU 10 ⁵ | 10 min 12 min | 15 h 30 min 15 h 50 min | 2 h 5 h 30 min | -0.64 -2.45 |
| MRSA CFU 10 ³ CFU 10 ⁵ | 15 min 8 min | 18 h 18 h | 7 h 16 min 5 h 5 min | -0.91 -3.67 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> CFU 10 ³ CFU 10 ⁵ | 16 min 16 min | 18 h 17 h 50 min | 8 h 50 min 9 h | -2.48 -3.32 |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> CFU 10 ³ CFU 10 ⁵ | 8 min 10 min | 19 h 17 h 50 min | 5 h 37 min 8 h 20 min | -0.66 -1.58 |
| <i>Escherichia coli</i> CFU 10 ³ CFU 10 ⁵ | 8 min 9 min | 20 h 19 h 35 min | 13 h 9 h 55 min | -1.56 -3.22 |

5. táblázat: A gyakori ízületi fertőzéseket okozó baktériumok termikus jellemzői (t_o = kezdet, t_e = végpont és t_m = a maximális szaporodás ráta ideje, ΔH_{cal} = a szaporodás kalorimetriás entalpiája [exoterm folyamat], az adatok átlagok, $n = 3$). A szaporodási maximális hőáram ideje és a kalorimetriás entalpia baktérium függő paraméter.

Az általunk alkalmazott kísérletes modell során elsődlegesen megvizsgált különböző súlyossági fokú arthrosisból származó synoviális minták denaturációs tulajdonságait, majd azt követően azon minták felhasználásával megállapítottuk, hogy a baktériumok szaporodásában, és azok kimutatásában eltérést nem okoz.

V. Megbeszélés

Tekintettel a bakteriális fertőzés következtében a szervezetet érő károsodás mértékének súlyosságára, minden esetben, a klinikai gyakorlatban különös gondot fordítottunk az esetleges ízületi fertőzés gyanújával hozzánk fordulóknak szakszerű ellátására. A retrospektív tanulmány rámutat arra, hogy a nagyízületi degeneratív elváltozások számának növekedésével a beteg igényeknek megfelelően a priméren beültetett csípő és térdízületi protézisek száma évről évre exponenciális növekedést mutat (6. ábra). Az évekkel, évtizedekkel ezelőtt beültetett csípőízületi protézisek

kopásával, valamint kilazulásával a csípőízületi protézis revíziók számának évről-évre való növekedése, valamint a szeptikus csípőízületi periprotetikus genyedés következtében véglegesen visszahagyott Girdlestone állapot növekvő tendenciája észlelhető (6. ábra).

A világirodalomban fellelhető adatokra támaszkodva az USA-an és az Egyesült Királyságban a csípőprotézis revíziót követően 12-15%, a térdrevíziót követően 23-25% a szeptikus szövődmény gyakorisága, mely ellátásának költségei nagyságrendileg többszöröse a primer szövődménymentes nagyízületi protézis beültetésének [63-65]. Protézis revízió kapcsán kialakult fertőzés a beteget érintő terhelésen kívül, jelentősen megnöveli a kórházi költségeket. Egy Francia országi tanulmány kapcsán a protézis revízió során kialakult periprotetikus genyedés kórházi költségei 32000 euró nagyságrendű, mely 2,6 szorosa a revíziós illetve 3,6 szoros szorzóval többbe kerül az eredeti primer protézis műtéti költségénél [66]. A statisztikai adatokkal alátámasztva sürgető megoldásra van szükség a periprotetikus fertőzések menedzselésére, és egyben a rendelkezésünkre álló, még hatásos antibiotikumos terápia felhasználásának gyors meghatározására.

Korábbi tanulmányokat figyelembe véve [62, 26, 67] a szeptikus ízületi, vagy periprotetikus fertőzés gyanúja esetén a gyors diagnosis, és a célzott antibiotikumos therápia megválasztásának érdekében a hagyományos mikrobiológiai kultúrákkal összehasonlítva alkalmazott isoperibolicus kaloriméter lényegesen rövidebb időtartamának köszönhetően előnyös lehet [68-70]. A szakirodalomban fellelhető adatok szerint, kalorimetriás vizsgálatokatt már alkalmaztak a különböző bakteriális törzsek azonosítására, melyek a baktériumok metabolizmusa által okozott termikus tulajdonságok változásain alapulnak [9, 62, 26, 71, 72]. Korábbi tanulmányokra alapozva Periprotetikus ízületi fertőzés esetén kalorimetriás kísérletes modellek alkalmazásával akár egy 5 mérőhelyes kaloriméter használatával néhány óra elteltével pontos választ kaphatunk a kórokozó antibiotikum érzékenységére, vagy rezisztenciájára [69], oly módon, hogy a vizsgált fertőzött minta mellé külön-külön adagolt különböző széles spektrumú antibiotikum mellett a szaporodási hőáram kibocsátását vagy hiányát a kaloriméterrel regisztráljuk.

Tanulmányunk alapján (3. táblázat) a leggyakoribb kórokozó térd- és csípőprotézisek szeptikus szövődményeiben a Gram-pozitív Staphylococcus aureus,

mely a szakirodalmi adatokat alátámasztja [73, 74]. Gazdasági aspektusát tekintve a Staphylococcus-fertőzések közül a methicillinrezisztens Staphylococcus aureus (MRSA), valamint más multirezisztens törzs előfordulási gyakoriságának fokozódásával, jelentős ellátási költség növekedés észlelhető, mely nagyobb gazdasági terhet ró az egészségügyi ellátórendszerre.

A közelmúltban közzé tett tanulmány alapján a szérum D-dimer monitorozása PJI esetében kórjelző, és 89% -es érzékenységgel és 93% -as specificitással felülmúlta mind az ESR, mind a szérum CRP-t [75], továbbá, hogy a szeptikus ízületi gyulladás elkülönítésében a PCT érzékenyebb vizsgálat, mint a CRP [76]. Az általános gyulladásos laborparaméterek (CRP, WBC, ESR, PCT) monitorozása mellett a serum D-dimer érték monitorozásával költséghatékony szűrést követően a költségesebb, de egyben sokkal érzékenyebb és specifikusabb biomarkerek valamint a MALDI-TOF tömegspektrometriás analízis gyors és megbízható eredményeket is kínálhat a kórokozók izolálására, mint a mikrobiológiai tenyésztés [74, 77, 78].

VI.Következtetés, új kutatási eredmények

VI.1. Következtetés

Az elvégzett tanulmány alapján megállapíthatjuk, hogy szeptikus nagyízületi fertőzés esetén nem elégségesek a napi gyakorlatban használatos gyományos (vérből és szinoviális folyadékból meghatározható) diagnosztikus módszerek.

A hagyományos mikrobiológiai vizsgálatok megbízhatóságának vizsgálatára az 5 évet felölelő retrospektív klinikai felmérés során kiderült, hogy az ízületi és periprotetikus igazolt gennyedés közzül 21,88%-an az elsődleges leoltásokkal kórokozó kimutatása nem volt lehetséges, mely a szeptikus folyamatok elleni harcban magasnak bizonyult. A több helyről vett ismételt mikrobiológiai leoltások vétele nélkülözhetetlen. A klinikai tanulmány adatainak feldolgozása alapján a csípőtáji törés, valamint a periprotetikus törés következtében végzett protézis beültetések, valamint protézis revíziók és az adott degeneratív ízületi megbetegedés miatt tervezett primer protézis beültetésekhez képest jóval nagyobb szeptikus szövődményi rátával bír.

Világviszonylatban a primer nagyízületi protézisek számának növekedésével, számolnunk kell a primer protetizálást követő revíziós, valamint a periprotetikus törések

következtében szükségessé váló protézis revíziók számának növekedésével egyaránt, mely a szeptikus szövődmény esélyének növekedését okozhatja.

Az elvégzett klinikai felmérés alapján az ízületi, valamint periprotetikus fertőzés esetén a korábban biztosnak vélt mikrobiológiai leoltás szenzitivitása alacsony, mely a hibahatárok figyelembevételével kihatással lehetnek az elektív protézis beültetése előtt végzett góckutatás effektivitására is. Az összesített adatok birtokában megállapíthatjuk, hogy csupán a hagyományos mikrobiológiai mintavétel nem elégséges a kórokozó ágens identifikálásában. A klinikai gyakorlatban a rutinszerűen alkalmazott serum laborvizsgálatok (CRP, WBC, ESR, PCT, D-dimer) monitorozása és az igen ritkán használt és egyben költséges analízisek eljárások, mellett a differenciál pásztázó kalorimetria gyors, érzékeny, alternatív eszköz lehet.

A kalorimetriás vizsgálat, a bakteriális fertőzések diagnosztikájában, valamint az izolált baktériumtörzsek antibiotikum érzékenységének vizsgálatában, jelenleg más vizsgálati eszközzel szemben akár 4-5 óra alatt eredményt ad [26].

VI.2. Új kutatási eredmények

- Megállapíthatjuk, hogy az elvégzett klinikai tanulmány adatainak feldolgozása alapján a csípőtáji törés, valamint a periprotetikus törés következtében végzett protézis beültetések, valamint az adott degeneratív ízületi megbetegedés miatt tervezett primer protézis beültetésekhez képest jóval nagyobb szeptikus szövődményi rátával bír.
- A szeptikus nagyízületi fertőzés esetén nem elégségesek a napi gyakorlatban használatos hagyományos (vérből és szinoviális folyadékból meghatározható) diagnosztikus módszerek.
- A klinikai gyakorlatban a rutinszerűen alkalmazott serum laborvizsgálatok (CRP, WBC, ESR, PCT, D-dimer) monitorozása és az igen ritkán használt és egyben költséges analízisek eljárások, mellett a differenciál pásztázó kalorimetria (DSC) gyors, érzékeny, és egyben költséghatékony alternatív eszköz lehet.
- Az izolált baktériumtörzsek antibiotikum érzékenységének vizsgálatában, valamint a kialakult rezisztencia vizsgálatában más vizsgálati eszközzel szemben akár 4-5 óra alatt eredményt ad.

VII. Bibliográfia

1. Barber M. Meticillin –resistant staphylococci. *J Clin Pathol* 1961;14:385-93.
2. Weston VC, Jones AC, Bradbury N. Clinical features and outcome of septic arthritis in a single UK Health District 1982–1991. *Ann. Rheu. Dis.* 1999;58(4), 214-19.
3. Gupta MN, Sturrock RD, Field M. A prospective 2 year study of 75 patients with adult-onset septic arthritis. *Rheumatology* 2001;40(1):24-30.
4. Takai S, Kuriyama T, Yanagisawa M, Nakagawa K, Karasawa T. Incidence and bacteriology of bacteremia associated with various oral and maxillofacial surgical procedures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2005;99(3):292-298.
5. Coelho-Prabhu N, Oxentenko AS, Osmon DR, Baron TH, Hanssen AD, Wilson WR, Steckelberg JM, Baddour LM, Harmsen WS, Mandrekar J. Increased risk of prosthetic joint infection associated with esophagogastro-duodenoscopy with biopsy. *Acta Orthop.* 1013;84(1):82-86.
6. Rice PA. Gonococcal arthritis (disseminated gonococcal infection). *Infect Dis Clin North Am.* 2005; 19(4):853-61.
7. Corvec S, Portillo ME, Pasticci BM, Borens O, Trampuz A. Epidemiology and new developments in the diagnosis of prosthetic joint infection. *Int J Artif Organs* 2012;35(10):923-34.
8. Sperling JW, Kozak TK, Hanssen AD, Cofield RH. Infection after shoulder arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res.* 2001;(382):206-16.
9. Harris WH, Sledge CB. Total hip and total knee replacement. *N Engl J Med.* 1990; 323(11):725-31.
10. Geirsson AJ, Statkevicius S, Vikingsson A. Septic arthritis in Iceland 1990-2002; increasing incidence due to iatrogenic infections. *Ann. Rheum. Dis.* 2008;67:638-43.
11. Szász MS. Szabályozott antibiotikum felszabadítású rendszer in vitro mikrobiológiai vizsgálata. Doktori értekezés. Semmelweis Egyetem Patológiai Tudományok Doktori Iskola. Budapest, 2015.
12. Parvizi J, Della Valle CJ. AAOS clinical practice guideline: diagnosis and treatment of periprosthetic joint infections of the hip and knee. *J Am Acad Orthop Surg.* 2010 Dec;18(12):771-2.
13. Malekzadeh D, Osmon DR, Lahr BD, Hanssen AD, Berbari EF. Prior use of antimicrobial therapy is a risk factor for culture-negative prosthetic joint infection. *Clin Orthop Relat Res*, 2010;468(8): 2039-2045.
14. Ali F, Wilkinson JM, Cooper JR, Kerry RM, Hamer AJ, Norman P, Stockley I. Accuracy of joint aspiration for the preoperative diagnosis of infection in total hip arthroplasty. *J Arthroplasty*, 2006;21(2): 221-26.

15. Toms AD, Davidson D, Masri BA, Duncan CP. The management of periprosthetic infection in total joint arthroplasty. *J Bone Joint Surg Br*, 2006;88(2):149-55.
16. Gallo J, Smizanský M, Radová L, Potomková J. Comparison of therapeutic strategies for hip and knee prosthetic joint infection. *Acta Chir Orthop Traumatol Cech*. 2009 Aug;76(4):302-9.
17. Zahar A, Webb J, Gehrke T, Kendoff D. One-stage exchange for prosthetic joint infection of the hip. *Hip Int*, 2015;25(4):301-7.
18. Gehrke T, Zahar A, Kendoff D. One-stage exchange: it all began here. *Bone Joint J*, 2013;95-B(11 Suppl A):77-83.
19. Kendoff D, Gehrke T. Surgical management of periprosthetic joint infection: one-stage exchange. *J Knee Surg*, 2014;27(4): 273-8.
20. Trampuz A, Piper KE, Jacobson MJ, Hanssen AD, Unni KK, Osmon DR, Mandrekar JN, Cockerill FR, Steckelberg JM, Greenleaf JF, Patel R. Sonication of removed hip and knee prostheses for diagnosis of infection. *N Engl J Med*, 2007;357(7):654-63.
21. Evangelopoulos DS, Stathopoulos IP, Morassi GP, et al., "Sonication: A Valuable Technique for Diagnosis and Treatment of Periprosthetic Joint Infections," *The Scientific World Journal*, vol. 2013, Article ID 375140, 5 pages, 2013. doi:10.1155/2013/375140.
22. Krenn V, Kolbel B, Huber M, Tiemann A, Kendoff D, Wienert S, Boettner F, Gehrke T. [Revision arthroplasty: Histopathological diagnostics in periprosthetic joint infections]. *Orthopade*, 2015;44(5): 349-56.
23. Krenn V, Perino G, Krenn VT, Wienert S, Saberi D, Hügler T, Hopf F, Huber M. *Hautarzt*. [Histopathological diagnostic work-up of joint endoprosthesis-associated pathologies]. 2016 May; 67(5):365-72.
24. Dandé Á, Nót LG, Bűcs G, Wiegand N, Kocsis B, Lőrinczy D. Examination of typical bacterial strains in septic arthritis by isoperibol calorimeter. *J Therm Anal Calorim*. 2017;. <https://doi.org/10.1007/s10973-017-6859-2>.
25. Deirmengian C, Kardos K, Kilmartin P, Cameron A, Schiller K, Parvizi J. Diagnosing periprosthetic joint infection: has the era of the biomarker arrived? *Clin Orthop Relat Res*. 2014 Nov; 472(11):3254-62.
26. Marculescu CE, Berbari EF, Hanssen AD, Steckelberg JM, Harmsen SW, Mandrekar JN, Osmon DR. Outcome of prosthetic joint infections treated with debridement and retention of components. *Clin Infect Dis*, 2006;42(4):471-8.
27. Frommelt L. Principles of systemic antimicrobial therapy in foreign material associated infection in bone tissue, with special focus on periprosthetic infection. *Injury*, 2006;Suppl 2:S87-94.

28. Zahar A, Hannah P. [Addition of antibiotics to bone cement for septic prosthesis exchange]. *Oper Orthop Traumatol*, 2016;28(2):138-44.
29. Buttaro MA, Pusso R, Piccaluga F. Vancomycin-supplemented impacted bone allografts in infected hip arthroplasty. Two-stage revision results. *J Bone Joint Surg Br*, 2005;87(3):314-9.
30. Winkler H. Rationale for one stage exchange of infected hip replacement using uncemented implants and antibiotic impregnated bone graft. *Int J Med Sci*, 2009;6(5):247-52.
31. Winkler H. Bone grafting and one-stage revision of THR – biological reconstruction and effective antimicrobial treatment using antibiotic impregnated allograft bone. *Hip Int*, 2012;22 Suppl 8:S62-8.
32. Cooper HJ, Della Valle CJ. The two-stage standard in revision total hip replacement. *Bone and Joint Journal* 2013;95-B(11 Suppl A):84-7.
33. Qasim SN, Swann A, Ashford R. The DAIR (debridement, antibiotics and implant retention) procedure for infected total knee replacement - a literature review. *SICOT J* 2017;3:2. DOI: 10.1051/sicotj/2016038.
34. Sendi P, Löttscher PO, Kessler B, Graber P, Zimmerli W, Clauss M. Debridement and implant retention in the management of hip periprosthetic joint infection: outcomes following guided and rapid treatment at a single centre. *Bone Joint J*. 2017;Mar;99-B(3):330-6.
35. Sharff KA, Richards EP, Townes JM. Clinical Management of Septic Arthritis. *Curr Rheumatol Rep*. 2013;15:332
36. Drago L, Boot W, Dimas K, Malizos K, Hansch GM, Stuyck J, Gawlitta D, Romano CL. Does implant coating with antibacterial-loaded hydrogel reduce bacterial colonization and biofilm formation in vitro? *Clin Orthop Relat Res*, 2014;472(11):3311-23.
37. Romano I, Ayadi F, Rizzello L, Summa M, Bertorelli R, Pompa PP, Brandi F, Bayer IS, Athanassiou A. Controlled antiseptic/eosin release from chitosanbased hydrogel modified fibrous substrates. *Carbohydr Polym*, 2015;131: 306-14.
38. Kelm J, Schmitt E, Anagnostakos K. Vacuum-assisted closure in the treatment of early hip joint infections. *International Journal of Medical Sciences*. 2009;6(5):241-246.
39. Siqueira MB, Ramanathan D, Klika AK, Higuera CA, Barsoum WK. Role of negative pressure wound therapy in total hip and knee arthroplasty. *World Journal of Orthopedics*. 2016;7(1):30-37.
40. Hansen E, Durinka JB, Costanzo JA, Austin MS, Deirmengian GK. Negative Pressure Wound Therapy Is Associated With Resolution of Incisional Drainage in Most Wounds

- After Hip Arthroplasty. *Clinical Orthopaedics and Related Research*. 2013;471(10):3230-36.
41. Brem, M. H., Bail, H. J. and Biber, R. Value of incisional negative pressure wound therapy in orthopaedic surgery. *Int Wound J*, 2014;11:3-5.
 42. Gomez MM, Tan TL, Manrique J, Deirmengian GK, Parvizi J. The Fate of Spacers in the Treatment of Periprosthetic Joint Infection. *J Bone Joint Surg Am*, 2015;97(18):1495-502.
 43. Bottner F, Gotze C, Koller A, Steinbeck J, Winkelmann W, Gosheger G. Creation of an above-the-knee amputation stump after hip disarticulation for severe periprosthetic infection and fracture. A report of two cases. *J Bone Joint Surg Am*, 2005;(2):410-3.
 44. Curtis L, Lipp MJ. (2013) Clostridium difficile infection of a prosthetic knee joint requiring amputation. *Surg Infect (Larchmt)*, 2013;14(1):163-4.
 45. Kheir MM, Tan TL, Gomez MM, Chen AF, Parvizi J. Patients With Failed Prior Two-Stage Exchange Have Poor Outcomes After Further Surgical Intervention. *J Arthroplasty*. 2017Apr;32(4):1262-5.
 46. Gomez MM, Tan TL, Manrique J, Deirmengian GK, Parvizi J. The Fate of Spacers in the Treatment of Periprosthetic Joint Infection. *J Bone Joint Surg Am*. 2015 Sep 16;97(18):1495-502.
 47. Brand RA. Acute Pyogenic Arthritis of the Hip: An Operation Giving Free Access and Effective Drainage: G. R. Girdlestone B M OXFD, F R C S. *Clinical Orthopaedics and Related Research*. 2008;466(2):258-63.
 48. Byren I, Bejon P, Atkins BL, Angus B, Masters S, McLardy-Smith P, Gundle R, Berendt A. One hundred and twelve infected arthroplasties treated with 'DAIR' (debridement, antibiotics and implant retention): antibiotic duration and outcome. *J Antimicrob Chemother*, 2009;63(6): 1264-71.
 49. Gehrke T, Parvizi J. Proceedings of the International Consensus Meeting on Periprosthetic Joint Infection. *J Arthroplasty*. 2014;29(2):1-130.
 50. Claudio Diaz-Ledezma MD, Paul M. Lichstein MD, MS, James G. Dolan MD, Javad Parvizi MD, FRCS. Diagnosis of Periprosthetic Joint Infection in Medicare Patients Multicriteria Decision Analysis. *Clin Orthop Relat Res* (2014) 472:3275–84.
 51. Carl Deirmengian MD, Keith Kardos PhD, Patrick Kilmartin, Alexander Cameron, Kevin Schiller, Javad Parvizi MD. Diagnosing Periprosthetic Joint Infection Has the Era of the Biomarker Arrived? *Clin Orthop Relat Res* (2014) 472:3254–62.
 52. Alisina Shahi, MD, Michael M. Kheir, MD, Majd Tarabichi, MD, Hamid RS. Hosseinzadeh, MD, Timothy L. Tan, MD, and Javad Parvizi, MD, FRCS. Serum D-Dimer

- Test Is Promising for the Diagnosis of Periprosthetic Joint Infection and Timing of Reimplantation. *J Bone Joint Surg Am.* 2017;99:1419-27.
53. Berglund J, Blomberg I, Hansen BU. Lyme borreliosis in rheumatological practice: Identification of lyme arthritis and diagnostic aspects in aswedish county with high endemicity. *Br J rheumatol* 1996;35:853-60.
 54. Barrack RL, Burnett RS, Sharkey P, Parvizi J. Diagnosing an infection: an unsolved problem. *Orthopedics*, 2007;30(9):777-8.
 55. Osmon DR, Berbari EF, Berendt AR, Lew D, Zimmerli W, Steckelberg JM, Rao N, Hanssen A, Wilson WR, Infectious Diseases Society of A. Diagnosis and management of prosthetic joint infection: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*, 2013;56(1):e1-e25.
 56. Parvizi J, Zmistowski B, Berbari EF, Bauer TW, Springer BD, Della Valle CJ, Garvin KL, Mont MA, Wongworawat MD, Zalavras CG. New definition for periprosthetic joint infection: from the Workgroup of the Musculoskeletal Infection Society. *Clin Orthop Relat Res*, 2011;469(11):2992-4.
 57. Parvizi J, Gehrke T, International Consensus Group on Periprosthetic Joint I. Definition of periprosthetic joint infection. *J Arthroplasty*, 2014;29(7): 1331.
 58. Bonanzinga T, Zahar A, Dutsch M, Lausmann C, Kendoff D, Gehrke T. How Reliable Is the Alpha-defensin Immunoassay Test for Diagnosing Periprosthetic Joint Infection? A Prospective Study. *Clin Orthop Relat Res*, 2017;475(2):408-15.
 59. Guermazi A, Hunter DJ, Roemer FW. Plain radiography and magnetic resonance imaging diagnostics in osteoarthritis: validated staging and scoring. *J Bone Joint Surg Am.* 2009;91(Suppl 1):54–62.
 60. Dandé Á, Nót LG, Wiegand N, Kocsis B, Lórinczy D. DSC analysis of human synovial fluid samples in the diagnostics of non-septic and septic arthritis. *J. Therm Anal Calorim.* . 2017;130:1249-52.
 61. National Joint Registry for England and Wales. 9th Annual Report. http://www.njrcentre.org.uk/NjrCentre/Portals/0/Documents/England/Reports/9th_annual_report/NJR%209th%20Annual%20Report%202012.pdf (3 April 2013, date last accessed).
 62. Bozic KJ, Kurtz SM, Lau E, Ong K, Chiu V, Vail TP, Rubash HE, Berry DJ. The epidemiology of revision total knee arthroplasty in the United States. *Clin Orthop Relat Res.* 2010;468:45-51.
 63. Bozic KJ, Kurtz SM, Lau E, Ong K, Vail TP, Berry DJ. The Epidemiology of Revision Total Hip Arthroplasty in the United States. *The Journal of Bone & Joint Surgery.* 2009;91(1):128-33.

64. Klouche S, Sariali E, Mamoudy P. Total hip arthroplasty revision due to infection: a cost analysis approach. *Orthop Trauma Surg Res.* 2010;96:124-32.
65. Schäffer B, Daróczy L, Keller B, Szakály Z, Lőrinczy D. Examination of proliferation of probiotic microbes by isoperibolic calorimetry. *J Thermal Anal Calorim.* 2013;111:1891-6. DOI:10.1007/s10973-012-2818-0.
66. Corvec S, Portillo ME, Pasticci BM, Borens O, Trampuz A. Epidemiology and new developments in the diagnosis of prosthetic joint infection. *The International journal of artificial organs.* 2012;35(10):923-34.
67. Baldoni D, Hermann H, Frei R, Trampuz A, Steinhuber A. Performance of microcalorimetry for early detection of methicillin resistance in clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *Journal of clinical microbiology.* 2009;47(3):774-6.
68. Yusuf E, Hugle T, Daikeler T, Voide C, Borens O, Trampuz A. The potential use of microcalorimetry in rapid differentiation between septic arthritis and other causes of arthritis. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology.* 2015;34(3):461-5.
69. Braissant O, Muller G, Egli A, Widmer A, Frei R, Halla A, Wirz D, Gasser TC, Bachmann A, Wagenlehner F, Bonkat G. Seven hours to adequate antimicrobial therapy in urosepsis using isothermal microcalorimetry. *Journal of clinical microbiology.* 2014;52(2):624-6.
70. Trampuz A, Salzmann S, Antheaume J, Daniels AU. Microcalorimetry: a novel method for detection of microbial contamination in platelet products. *Transfusion.* 2007;47(9):1643-50.
71. Peel TN, Cheng AC, Buising KL, Choong PFM. Microbiological aetiology, epidemiology, and clinical profile of prosthetic joint infections: are current antibiotic prophylaxis guidelines effective? *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56:2386-91.
72. Hidron A, Edwards J, Patel J, Horan T, Sievert D, Pollock D, Fridkin S. (2008). Antimicrobial-Resistant Pathogens Associated With Healthcare-Associated Infections: Annual Summary of Data Reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007. *Infection Control & Hospital Epidemiology,* 29(11):996-1011. doi:10.1086/591861.
73. Alisina Shahi, MD, Michael M. Kheir, MD, Majd Tarabichi, MD, Hamid RS. Hosseinzadeh, MD, Timothy L. Tan, MD, and Javad Parvizi, MD, FRCS. Serum D-Dimer Test Is Promising for the Diagnosis of Periprosthetic Joint Infection and Timing of Reimplantation. *J Bone Joint Surg Am.* 2017;99:1419-27.

74. Jingyi Zhao, Shufeng Zhang, Lei Zhang, Xianhui Dong, Jianhui Li, Ying Wang, Yinhui Van Serum procalcitonin levels as a diagnostic marker for septic arthritis: A meta-analysis. *Am. J. of Emergency Medicine* 2017;35:1166-71.
75. Portillo ME, Salvado M, Sorli L, Alier A, Martinez S, Trampuz A, Gomez J, Puig L, Horcajada JP. Multiplex PCR of sonication fluid accurately differentiates between prosthetic joint infection and aseptic failure. *J Infect.* 2012;65(6):541–8.
76. Portillo ME, Corvec S, Borens O, Trampuz A. Propionibacterium acnes: an underestimated pathogen in implant-associated infections. *BioMed Research International* 2013; doi.org/10.1155/2013/804391.
77. Zimmerli W, Trampuz A, Ochsner PE. Prosthetic-joint infections. *N Engl J Med*, 2004;351(16): 1645-54.
78. Renner L, Perka C, Trampuz A, Renz N. [Treatment of periprosthetic infections]. *Chirurg*, 2016;87(10): 831-8.
79. Zahar A, Gehrke TA. (2016) One-Stage Revision for Infected Total Hip Arthroplasty. *Orthop Clin North Am*, 2016;47(1): 11-18.
80. Zeller V, Lhotellier L, Marmor S, Leclerc P, Krain A, Graff W, Ducroquet F, Biau D, Leonard P, Desplaces N, Mamoudy P. One-stage exchange arthroplasty for chronic periprosthetic hip infection: results of a large prospective cohort study. *J Bone Joint Surg Am*, 2014;96(1):1.
81. George DA, Konan S, Haddad FS. Single-Stage Hip and Knee Exchange for Periprosthetic Joint Infection. *J Arthroplasty*, 2015;30(12): 2264-70.
82. Zahar A, Kendoff DO, Klatte TO, Gehrke TA. Can Good Infection Control Be Obtained in One-stage Exchange of the Infected TKA to a Rotating Hinge Design? 10-year Results. *Clin Orthop Relat Res*, 2016;474(1):81-7
83. Gehrke T, Zahar A, Kendoff D. One-stage exchange: it all began here. *Bone Joint J*, 2013;95-B(11 Suppl A): 77-83.
84. Kendoff D, Gehrke T. Surgical management of periprosthetic joint infection: one-stage exchange. *J Knee Surg*, 2014;27(4):273-8.
85. Oussedik S, Gould K, Stockley I, Haddad FS. Defining peri-prosthetic infection: do we have a workable gold standard? *J Bone Joint Surg Br*, 2012;94(11):1455-6.
86. Chen AF, Parvizi J. Antibiotic-loaded bone cement and periprosthetic joint infection. *J Long Term Eff Med Implants*, 2014;24(2-3): 89-97.
87. Jiranek WA, Hanssen AD, Greenwald AS. Antibiotic-loaded bone cement for infection prophylaxis in total joint replacement. *J Bone Joint Surg Am*. 2006 Nov;88(11):2487-500.

88. Drexler M, Kuzyk PR, Koo K, Gross AE, Kosashvili Y, Reischl N, Rutenberg TF, Safir O. The Use of a Supra-Acetabular Antibiotic Loaded Cement Shelf to Improve Hip Stability in First-Stage Infected Total Hip Arthroplasty. *J Arthroplasty*. 2016 Nov;31(11):2574-8.
89. Rogers BA, Kuchinad R, Garbedian S, Backstein D, Gross AE, Safir OA. Cement augmentation of the acetabulum for revision total hip arthroplasty for infection. *J Arthroplasty*. 2015 Feb;30(2):270-1.
90. Dairaku K, Takagi M, Kawaji H, Sasaki K, Ishii M, Ogino T Antibioticsimpregnated cement spacers in the first step of two-stage revision for infected totally replaced hip joints: report of ten trial cases. *J Orthop Sci*. 2009 Nov;14(6):704-10.
91. Burastero G, Basso M, Carrega G, Cavagnaro L, Chiarlone F, Salomone C, Papa G, Felli L. Acetabular spacers in 2-stage hip revision: is it worth it? A single-centre retrospective study. *Hip Int*. 2017 Mar 31;27(2):187-92.
92. Munro JT, Garbuz DS, Masri BA, Duncan CP. Articulating antibiotic impregnated spacers in two-stage revision of infected total knee arthroplasty. *J Bone Joint Surg Br*. 2012 Nov;94(11 Suppl A):123-5.
93. Leonard HA, Liddle AD, Burke O, Murray DW, Pandit H. Single- or twostage revision for infected total hip arthroplasty? A systematic review of the literature. *Clin Orthop Relat Res*. 2014 Mar;472(3):1036-42.
94. Hansen E, Durinka JB, Costanzo JA, Austin MS, Deirmengian GK. Negative pressure wound therapy is associated with resolution of incisional drainage in most wounds after hip arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res*. 2013 Oct;471(10):3230-6.
95. Wiegand N, Naumov I, Vámhidy L, Kereskai L, Lorinczy D, Not LG. Comparative calorimetric analysis of 13 different types of human healthy and pathologic collagen tissues. *Thermochim Acta*. 2013;568:171–4.
96. Naumov I, Wiegand N, Patczai B, Va´mhidy L, L}orinczy D. Differential scanning calorimetric examination of the human hyaline cartilage of the femoral head after femoral neck fracture. *J Therm Anal Calorim*. 2012;108(1):59–65.
97. Nőt LG, Naumov I, Vámhidy L, Lőrinczy D, Wiegand N. Comparison of thermal characteristics of degenerated and inflamed human collagen structures with differential scanning calorimetry. *J Therm Anal Calorim*. 2013;113(1):273–9.
98. Könczöl F, Wiegand N, Nőt LG, Lőrinczy D. Examination of the cyclophosphamide-induced polyneuropathy on guinea pig sciatic nerve and gastrocnemius muscle with differential scanning calorimetry. *J Therm Anal Calorim*. 2014;115(3):2239–43.

99. B, Mintál T, Nőt LG, Wiegand N, Lőrinczy D. Effects of deep-freezing and storage time on human femoral cartilage. *J Therm Anal Calorim.* 2017;127(2):1177–80.
100. Wiegand N, Vámhidy L, Lőrinczy D. Differential scanning calorimetric examination of ruptured lower limb tendons in human. *J Therm Anal Calorim.* 2010;101(2):487–92.
101. Búcs G, Nőt LG, Dandé Á, Wiegand N, Lőrinczy D. Detection of joint capsule changes by differential scanning calorimetry (DSC) in different types of hip disorders to evaluate surgical techniques (a preliminary report). *J Therm Anal Calorim.* 2017;130(3):1293–6.
102. Naumov I, Lőrinczy D, Vámhidy L, Than P, Wiegand N. Differential scanning calorimetric examination of the interfacial membrane in failed hip joint replacements. *J Therm Anal Calorim.* 2012;109(2):783–7.
103. Costerton JW. (1999) Introduction to biofilm. *Int J Antimicrob Agents*, 11(3-4): 217-221; discussion 237-19.
104. Gristina AG, Costerton JW. (1984) Bacterial adherence and the glycocalyx and their role in musculoskeletal infection. *Orthop Clin North Am*, 15(3): 517-35.
105. Costerton JW, Montanaro L, Arciola CR. (2005) Biofilm in implant infections: its production and regulation. *Int J Artif Organs*, 28(11): 1062-8.
106. Costerton JW. (2005) Biofilm theory can guide the treatment of device-related orthopaedic infections. *Clin Orthop Relat Res*, (437): 7-11.
107. Zahár Á. A periprotetikus ízületi infekciók diagnosztikája és kezelése Doktori értekezés. Semmelweis Egyetem Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola (2016)
108. Mark E, Shirliff and Jon T Mader. *Clinical Microbiology Reviews*, Oct. 2002; 527-44.
109. Sillinger T, Lőrinczy D, Kocsis B, Kereskay L, Nőt LG, Wiegand N. Differential scanning calorimetric measurement of cartilage destruction caused by gram-negative septic arthritis. *J Therm Anal Calorim.* 2014; 116:747-52.

VIII. Közlemények jegyzéke

VIII.1. Dolgozathoz köthető első szerzős közlemények

- Dandé Á, Nőt LG, Wiegand N, Kocsis B, Lőrinczy D. DSC analysis of human synovial fluid samples in the diagnostics of non-septic and septic arthritis. *J. Therm Anal Calorim.* . 2017:130;1249-52.
- Dandé Á, Nőt LG, Búcs G, Wiegand N, Kocsis B, Lőrinczy D. Examination of typical bacterial strains in septic arthritis by isoperibol calorimeter. *Journal of*

Therm Analysis and Calorimetry. 2017;<https://doi.org/10.1007/s10973-0176859-2>.

- Dandé Á, Nőt LG, Búcs G, Kocsis B, Lőrinczy D, Wiegand N. Efficacy of microbiological culturing in the diagnostics of joint and periprosthetic infections. Injury 2018. *Mansucript under revision*.

VIII.2. Dolgozathoz köthető első szerzős előadások

- Dandé Á, Lázár I. Saroktáji csontciszta terjedő szepikus folyamat szanálása. XX. Dél- Magyarországi Traumatológus Kongresszus, Harkány- Pécs, 2015.
- Dandé Á, Nőt LG, Wiegand N, Lőrinczy D. Isoperibolic calorimetric- analysis of human synovial fluid samples in the diagnostics of septic arthritis. 35th Annual Meeting of the European Bone and Joint Infection Society in Oxford, United Kingdom, 1-3 September 2016.
- Dandé Á, Wiegand N, Naumov I, Nőt LG, Máthé T, Patczai B. Diagnosztikus nehézségek pathológiás töréskezelés esetén. PTE, Szakosztály, Tanulmányos esetek fóruma, Pécs, 2017.
- Dandé Á, Nőt LG, Wiegand N, Kocsis B, Lőrinczy D. Differential scanning calorimetry analysis of human synovial fluid in the diagnostics of septic arthritis. 1 st Journal of Thermal Analysis and Calorimetry Conference and 6th V4 (Joint Czech-Hungarian-Polish-Slovakian) Thermoanalytical Conference June 6-9, 2017 Budapest, Hungary.
- Dandé Á, Nőt LG, Búcs G, Wiegand N, Kocsis B, Móricz O, Till J, Farkas P, Lőrinczy D. Az izoperibolikus kalorimetria és a differenciál pásztázó kalorimetria használata a traumatológiában. MTT 2017. évi Közös Kongresszusa, Pécs.
- Dandé Árpád, Nőt László G., Kocsis Béla, Wiegand Norbert, Lőrinczy Dénes. Humán synoviális minták termikus vizsgálata a szepikus arthritis XI. Köszönetnyilvánítás

IX. Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom témavezetőimnek Prof. Dr. Lőrinczy Dénes egyetemi tanárnak és Dr. Wiegand Norbert tanárúrnak iránytmutató ösztönző segítségükért, hasznos tanácsaikért.

Külön köszönettel és hálával tartozom a PTE Traumatológiai és Kézsebészeti Klinika Igazgatójának, főnökömnek Dr. Wiegand Norbert tanárúrnak munkám során nyújtott támogatásért, segítségért. Ugyancsak köszönettel tartozom kollégámnak Dr. Nőt László egyetemi adjunktusnak, aki tapasztalatával, közös munkánk során fáradhatatlanul segítette tudományos előmeneteletemet. Külön köszönettel tartozom Dr. Kocsis Béla tanárúrnak a kísérleti munkában nyújtott önzetlen segítségéért, tanácsaiért.

Köszönet illeti a PTE, Traumatológiai és Kézsebészeti Klinikán dolgozó, kollégáimat, akik támogatásukkal mellettem álltak az olykor nehéz pillanatokban. Szintén köszönettel tartozom Dr. Andriska István főorvosnak, valamint a szekszárdi Balassa János Kórház Traumatológiai Osztály dolgozóinak, pályám kezdetén nyújtott támogatásukért, tanításukért.

Végül, de nem utolsósorban hálásan köszönöm családomnak és barátaimnak, hogy mindig mellettem álltak és segítségükre bármikor számíthattam.