



# **UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE “CAROL DAVILA” din BUCUREȘTI**



## **UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE “CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI ȘCOALA DOCTORALĂ DOMENIUL MEDICINĂ**

***DEZVOLTAREA ȘI EVALUAREA UNOR NOI BIOMARKERI PENTRU  
PROGNOSTICUL, DIAGNOSTICUL PRECOCE ȘI MONITORIZAREA  
EFICIENȚEI TRATAMENTULUI ÎN INFECȚIILE PERIPROTETICE***

### **REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

**Conducător de doctorat:**

**PROF. UNIV. DR. CÎRSTOIU FLORIN-CĂTĂLIN**

**Student-doctorand:**

**SANDU EMANUEL-CRISTIAN**

**2025**

## CUPRINS

|                                                                                    |    |
|------------------------------------------------------------------------------------|----|
| INTRODUCERE .....                                                                  | 8  |
| I. PARTEA GENERALĂ.....                                                            | 11 |
| 1. Definiție și particularități ale infecției articulare periprotetice.....        | 11 |
| 1.1. Aspecte generale ale IAP.....                                                 | 11 |
| 1.2. Etiopatogenia IAP .....                                                       | 12 |
| 1.3. Fiziopatologia IAP.....                                                       | 13 |
| 1.4. Clasificarea infecțiilor: .....                                               | 14 |
| 1.5. Micro-organisme patogene:.....                                                | 15 |
| 1.6. Managementul infecțiilor periprotetice .....                                  | 16 |
| 1.6.1. Tratamentul antibiotic.....                                                 | 16 |
| 1.6.2. Bacteriofagii: .....                                                        | 18 |
| 1.6.3. Tratamentul chirurgical: .....                                              | 18 |
| 2. Biofilmul – element central al patologiei infecțioase.....                      | 21 |
| 2.1. Formarea și rolul biofilmului bacterian .....                                 | 21 |
| 2.2. Interacțiunea suprafață implant – biofilm:.....                               | 23 |
| 2.3. Modificarea suprafeței implantelor pentru limitarea formării biofilmului..... | 24 |
| 3. Metode actuale și emergente de diagnostic .....                                 | 26 |
| 3.1. Caracteristici speciale și protocoale curente de diagnosticare ale IAP .....  | 26 |
| 3.1.1. Diagnosticul MSIS .....                                                     | 27 |
| 3.1.2. Diagnosticul IDSA .....                                                     | 28 |
| 3.1.3. Diagnosticul EBJIS: .....                                                   | 29 |
| 3.2. Diagnosticul imagistic .....                                                  | 29 |
| 3.3. Diagnosticul de laborator.....                                                | 31 |
| 3.3.1. Biomarkeri serologici .....                                                 | 31 |
| 3.3.2. Biomarkeri ai lichidului sinovial .....                                     | 32 |
| 3.4. Diagnosticul microbiologic .....                                              | 34 |
| 3.5. Examenul histopatologic și imunohistochimic.....                              | 35 |
| 3.6. Metode de diagnostic al biofilmului.....                                      | 38 |
| 3.7. Noi metode moleculare de diagnostic .....                                     | 39 |
| II. PARTEA SPECIALĂ .....                                                          | 41 |
| 4. Ipoteza de lucru si obiectivele generale.....                                   | 41 |
| 5. Metodologia generală a cercetării .....                                         | 42 |

|         |                                                                                                                                              |     |
|---------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 6.      | Studiu analitic al metodelor de diagnostic, prognosticului și al factorilor ce au determinat evoluția pacienților cu revizii protetice ..... | 44  |
| 6.1.    | Introducere.....                                                                                                                             | 44  |
| 6.2.    | Materiale si metode .....                                                                                                                    | 44  |
| 6.3.    | Rezultate .....                                                                                                                              | 45  |
| 6.3.1.  | Descrierea lotului.....                                                                                                                      | 45  |
| 6.3.2.  | Proteina C reactiva (valori normale 0-10 mg/L) .....                                                                                         | 55  |
| 6.3.3.  | Viteza de sedimentare a hematiilor (valori normale 1-30 mm/h).....                                                                           | 59  |
| 6.3.4.  | Valoarea hemoglobinei (valori normale 12.5-16.3 g/dl).....                                                                                   | 60  |
| 6.3.5.  | Valoarea leucocitelor (valori normale $3.6-10.2 \cdot 10^3/uL$ ) .....                                                                       | 62  |
| 6.3.6.  | Valoarea fibrinogenului seric (valori normale 238-498 mg/dL).....                                                                            | 66  |
| 6.3.7.  | Tratamentul preoperator cu anti-agregante sau anticoagulante .....                                                                           | 67  |
| 6.3.8.  | Decimentarea radiologică .....                                                                                                               | 68  |
| 6.3.9.  | Perioada de timp de la implantarea protezei primare .....                                                                                    | 68  |
| 6.3.10. | Proteza totală de genunchi / șold .....                                                                                                      | 70  |
| 6.3.11. | Tipul de proteza primară implantată cimentantă/necimentată.....                                                                              | 72  |
| 6.3.12. | Antibiotice administrate preoperator .....                                                                                                   | 72  |
| 6.3.13. | Procedura chirurgicala .....                                                                                                                 | 75  |
| 6.3.14. | Durata intervenției chirurgicale .....                                                                                                       | 77  |
| 6.3.15. | Evoluția pacienților din lot .....                                                                                                           | 79  |
| 6.3.16. | Rata reintervențiilor chirurgicale.....                                                                                                      | 99  |
| 6.3.17. | Cultura bacteriologică din țesuturile prelevate intraoperator .....                                                                          | 101 |
| 6.3.18. | Cultura preoperatorie din secrețiile fistulare sau lichidul sinovial.....                                                                    | 104 |
| 6.3.19. | Cultura din lichidul de sonicare.....                                                                                                        | 105 |
| 6.3.20. | Examinarea histopatologică a țesuturilor periprotetice recoltate intraoperator (Clasificarea Morawietz) .....                                | 106 |
| 6.4.    | Discuții si concluzii parțiale .....                                                                                                         | 109 |
| 7.      | Studiu imunohistochimic al peptidelor antimicrobiene ca o viitoare metodă de diagnostic și prognostic al infecțiilor periprotetice.....      | 112 |
| 7.1.    | Introducere.....                                                                                                                             | 112 |
| 7.2.    | Materiale și metode .....                                                                                                                    | 114 |
| 7.2.1.  | Date generale ale lotului .....                                                                                                              | 114 |
| 7.2.2.  | Prelevarea si prelucrarea țesuturilor periprotetice .....                                                                                    | 114 |
| 7.2.3.  | Examinarea imunohistochimică .....                                                                                                           | 115 |
| 7.2.4.  | Analiza semicantitativă a reacției imunohistochimice .....                                                                                   | 116 |
| 7.2.5.  | Analiza statistică.....                                                                                                                      | 116 |

|        |                                                                                                                         |     |
|--------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 7.3.   | Rezultate .....                                                                                                         | 117 |
| 7.3.1. | Rezultatele testării imunohistochimice.....                                                                             | 117 |
| 7.3.2. | Rezultatele analizei semicantitative ale examinării imunohistochimice<br>(scorul de imunoreactivitate – IRS).....       | 118 |
| 7.3.3. | Evoluția pacienților în funcție de testarea imunohistochimică.....                                                      | 122 |
| 7.3.4. | Influența tratamentului antibiotic administrat pre-recoltare asupra culturilor<br>și a testării imunohistochimice ..... | 125 |
| 7.4.   | Discuții și concluzii parțiale .....                                                                                    | 126 |
|        | Concluzii și contribuții personale .....                                                                                | 130 |
|        | Bibliografie.....                                                                                                       | 136 |

# LISTA CU LUCRĂRILE ȘTIINȚIFICE PUBLICATE

-în corelație cu subiectul tezei doctorale-

1. **Sandu EC**, Cursaru A, Iordache S, Serban B, Costache MA, Cîrstoiu C. *Utility of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry in Periprosthetic Joint Infection Diagnosis*. Cureus. 2024 Oct 1;16(10):e70650. FI-1, capitolul 3, pag. 39-40

doi: 10.7759/cureus.70650

<https://www.cureus.com/articles/290879-utility-of-matrix-assisted-laser-desorption-ionization-time-of-flight-mass-spectrometry-in-periprosthetic-joint-infection-diagnosis#!/>

2. **Sandu EC**, Serban B, Iordache S, Cursaru A, Costache MA, Dumitru A, Cîrstoiu C. *Immunohistochemistry Study of Antimicrobial Peptides as a Future Diagnostic and Prognostic Tool for Periprosthetic Joint Infections*. Cureus. 2024 Sep 18;16(9):e69629. FI-1, capitolul 7, pag. 126-129

doi: 10.7759/cureus.69629

<https://www.cureus.com/articles/291222-immunohistochemistry-study-of-antimicrobial-peptides-as-a-future-diagnostic-and-prognostic-tool-for-periprosthetic-joint-infections#!/>

3. **Sandu EC**, Cursaru A, Serban B, Iordache S, Costache MA, Cîrstoiu C. *Is the Presence of Sinus Tract in Periprosthetic Joint Infection Still One of the Main Deciding Factors for Septic Revision?* Cureus. 2024 Dec 9;16(12):e75379. FI-1, capitolul 6, pag. 109-112

doi: 10.7759/cureus.75379

<https://www.cureus.com/articles/291401-is-the-presence-of-sinus-tract-in-periprosthetic-joint-infection-still-one-of-the-main-deciding-factors-for-septic-revision#!/>

# INTRODUCERE

## DOMENIUL DE CERCETARE

Infecția articulară periprotetică (IAP) este considerată una dintre cele mai grave cauze ale degradării implantelor, pe de o parte prin dificultatea de a stabili un diagnostic corect și în timp util, pe de altă parte prin tratamentul laborios și prognosticul rezervat. Timp de mulți ani, nu au existat niște criterii de diagnostic definitorii acceptate universal, fiecare autor sau societate științifică folosind propriile “standarde de aur”, putând include aspecte clinice, paraclinice, analitice, radiologice, microbiologice sau histopatologice. În ciuda acestor direcții de cercetare diferite, studiul histologic și genomic al țesutului periprotetic și al lichidului sinovial au fost considerate permanent ca fiind componente cheie în încercarea de a confirma sau infirma o eventuală infecție periprotetică, și importanța acestora este demonstrată prin includerea ca și criterii de diagnostic al IAP în protocolul propus de Societatea Infecțiilor Musculoscheletale (MSIS) în anul 2011 și revizuit în 2018, de Infectious Diseases Society of America (IDSA) și de European Bone and Joint Infection Society (EBJIS).

În ciuda stabilirii unui protocol riguros de diagnostic, diagnosticul diferențial rămâne o provocare importantă, infecțiile articulare periprotetice subdiagnosticate putând avea un impact impresionant asupra sănătății și mobilității pacienților, dar și asupra sistemului sanitar ținând cont de costurile financiare ridicate implicate în gestionarea cazurilor.

Diagnosticul precoce al infecției periprotetice este absolut critic; întârzierea stabilirii acestuia poate afecta negativ rezultatul final și abilitatea de a eradica infecția.

În prezent, multiple teste diagnostice sunt disponibile pentru determinarea cauzei degradării implantelor articulare. Deși diagnosticul clinic al IAP nu este întotdeauna facil, lipsa unui test “standard de aur” face diagnosticul cu adevărat dificil. Anamneza, examenul clinic și datele paraclinice nu pot face mereu diferența între degradarea septică sau aseptică a protezei. Din acest motiv este comună întâlnirea unor cazuri presupuse ca fiind degradări aseptice dar de fapt acestea sunt infecții periprotetice care ori nu au fost investigate riguros anterior reviziei sau pur și simplu nu au fost detectate folosind mijloacele uzuale actual disponibile în diagnosticul IAP.

# **I. PARTEA GENERALĂ**

## **1. Definiție și particularități ale infecției articulare periprotetice**

### **1.1. Aspecte generale ale IAP**

Infecția periprotetică reprezintă una dintre cele mai serioase complicații ale artroplastiei, pe de o parte prin dificultatea diagnosticării corecte și în timp util, pe de altă parte prin tratamentul laborios [1]. Este o cauză majoră a eșecului artroplastiei, fiind principalul motiv al reviziei în primii cinci ani după operația inițială, dar și un criteriu de prognostic negativ în evoluția reviziei [2]. Ca procentaj, infecțiile periprotetice au fost raportate ca și complicație în 0.5-2.2% dintre cazurile care beneficiază de artroplastie primară, incidența fiind mult mai mare pentru pacienții care au efectuat deja o operație de revizie a artroplastiei [3]. Datorită numărului în creștere al artroplastiilor anuale la nivel global, numărul total al infecțiilor periprotetice este așteptat să crească [4]. Este posibil ca incidența adevărată a infecțiilor periprotetice raportate în registrele de artroplastie să fie mult mai mare, întrucât o proporție dintre pacienții diagnosticați inițial cu o decimentare aseptică a componentelor protezei care efectuează o artroplastie de revizie sunt diagnosticați apoi cu infecție periprotetică în urma analizei țesuturilor obținute intraoperator [5].

Infecțiile periprotetice sunt asociate cu rezultate funcționale mai slabe, internări prelungite în spital și multiple operații complexe de revizie care la rândul lor pot crește riscul de a dezvolta complicații postoperatorii severe; artroplastia de revizie a decimentărilor septice prezintă o mortalitate de cinci ori mai mare când este comparată cu revizia decimentărilor aseptice și rata de re-infecție poate ajunge până la 20% [6].

Managementul infecțiilor periprotetice presupune o strategie terapeutică complexă ce include o abordare multidisciplinară, intervenții chirurgicale laborioase și tratament antibiotic de lungă durată. Un diagnostic precis cu identificarea micro-organismului patogen și a antibioterapiei corespunzătoare este un pas extrem de important în ceea ce privește prognosticul și evoluția infecției. O infecție periprotetică nediagnosticată sau subdiagnosticată poate duce la persistența infecției și la multiple operații de revizie ce scad considerabil calitatea vieții și cresc invaliditatea pacienților.

Tratamentul infecțiilor periprotetice presupune existența unei echipe multidisciplinare alcătuită din medic ortoped, anestezist, medic infecționist, anatomopatolog și biolog. Abordarea interdisciplinară este crucială în obținerea rezultatelor optime [7]. În acest capitol

încercăm să oferim cititorului o imagine de ansamblu asupra conceptelor curente în managementul infecțiilor periprotetice și a fiziopatologiei specifice.

## **1.2. Clasificarea infecțiilor:**

Tratamentul inițial adecvat al infecțiilor periprotetice depinde de amplitudinea acesteia, cronicitatea, stabilitatea implantului și statusul biologic al pacientului. Deși tratamentul infecțiilor profunde în cazul artroplastilor totale de șold sau de genunchi este de cele mai multe ori chirurgical, decizia de a păstra sau de a extrage componentele protezei poate fi influențată parțial de statusul cronic al infecției. Tsukayama a clasificat infecțiile periprotetice în patru mari categorii [8] :

**a) Infecție acută postoperatorie** – definită ca o infecție apărută în prima lună postoperatorie; diagnosticul în acest caz este stabilit prin identificarea agentului patogen și cuantificarea celularității din aspiratul intra-articular. Particularitatea acestei etape a infecției este reprezentată de conduita terapeutică conservatoare, astfel se va tenta reintervenția cu debridarea agresivă a țesuturilor neviabile, lavaj abundent, evacuarea hematomului postoperator în cazul prezenței acestuia, cu păstrarea pe loc a implantului ortopedic, eventual schimbarea componentelor detașabile precum cap femural, insert polietilenic, biofilmul bacterian putând fi prezent pe suprafața acestora, și terapie antibiotică parenterală 2-6 săptămâni, procedeu cunoscut în literatura sub acronimul DAIR (Debridement, Antibiotics, Implant Retention).

**b) Infecție cronică târzie** – cu debut insidios al simptomelor la mai mult de o lună postoperator; aproape întotdeauna este necesară revizia tuturor componentelor protezei, această procedură putând fi realizată într-un singur timp operator sau în doi.

**c) Infecție acută hematogenă** – apărută la mai mult de o lună postoperator, dar cu debut acut al simptomelor la un pacient cu proteză perfect funcțională anterior și o localizare la distanță a unei alte infecții; cauza acestui gen de infecție este de cele mai multe ori bacteriemia provenită din altă sursă infecțioasă cu localizare la distanță. Din punct de vedere al profilaxiei este necesar screeningul infecțiilor de la nivelul tractului urinar, căilor aeriene, vezicii biliare, dentar sau leziunilor cutanate. Consensul terapeutic propune abordarea acestui tip de infecție ca în cazul unei infecții acute postoperatorii dacă simptomele se manifestă pe o perioadă mai scurtă de 3 săptămâni, în caz contrar conform protocolului infecțiilor cronice.



**d) Cultura pozitivă intraoperatorie** – o cultură pozitivă obținută în timpul procedurii de revizie la un pacient fără semne și simptome de proces septic preoperator; diagnosticul este stabilit postoperator prin cel puțin două culturi pozitive din țesuturile recoltate intraoperator. O singură cultură pozitivă nu stabilește indicația absolută de tratament specific unei IAP [9]. Pentru a exclude contaminarea probelor, este recomandat ca cel puțin cinci probe de țesut să fie recoltate și trimise către examen microbiologic și histopatologic. În ceea ce privește tratamentul, antibioterapia țintită (intravenoasă sau combinată intravenoasă/orală) conform antibiogramei se poate extinde de la 3 zile până la 6 săptămâni.

### **1.3. Managementul infecțiilor periprotetice**

#### **1.3.1. Tratamentul chirurgical:**

*Debridare, antibioterapie și reținerea implantului (DAIR)*

Deși studiile incipiente care au investigat aplicarea în cazurile de revizie septică a acestui tip de procedeu au arătat șanse mari de eșec [10], șansele de reușită pot fi îmbunătățite atunci când starea locală și generală a pacientului îndeplinește anumite condiții precum: implant stabil, o bacterie patogenă cu răspuns bun la antibiotic, lipsa unei fistule active sau a unor țesuturi moi compromise și durata simptomatologiei de mai puțin de 3 săptămâni. Acest tip de intervenție chirurgicală se pretează în tratamentul infecțiilor periprotetice acute, necomplicate.

*Revizia într-un singur pas chirurgical*

Precum îi spune și numele, acest tip de revizie implică explantarea protezei vechi și implantarea unei noi proteze în același timp chirurgical. Acest tip de intervenție se pretează pentru pacienții care au un stoc osos bun și țesuturi moi necompromise, fără fistulă articulară activă și nu prezintă infecții cu bacterii multirezistente la antibiotice [11]. Deși acest tip de procedeu se poate folosi cu succes atât în tratamentul decimentărilor septice (când sunt îndeplinite anumite condiții) cât și în tratamentul decimentărilor aseptice, în clinica noastră, protocolul acceptat unanim de către colectiv rezervă acest tratament chirurgical pacienților cu degradări aseptice ale protezelor, întrucât majoritatea pacienților se prezintă la spital tardiv, atunci când evoluția infecției depășește limitările acestui tip de procedeu.

*Revizia în doi pași chirurgicali*

Acest tip de procedeu implică explantarea protezei vechi și implantarea unui spacer articular de așteptare într-un prim pas chirurgical, apoi implantarea protezei finale într-un

timp cihurgical secund la un anumit interval de timp. Perioada dintre cele doua operații poate varia de la 4 până la 8 săptămâni în funcție de virulența bacteriei incriminate, tulpinile rezistente necesitând o antibioterapie prelungită, și în funcție de starea țesuturilor moi [12]. În așteptarea asanării infecției, se implantează un spacer articular de polimetilmetacrilat impregnat cu antibiotic cu rolul de a crește concentrația locală de antibiotic și de a păstra lungimea și mobilitatea membrului afectat precum se poate observat în figura 1.1. Acest tip de procedeu este considerat standardul de aur al tratamentului IAP, mai ales în cazul pacienților cu infecții extinse [13], rata reinfectării după acest tip de tratament fiind ușor mai scăzută decât în cazul reviziei într-un singur pas chirurgical [14].

## **2. Biofilmul – element central al patologiei infecțioase**

### **2.1. Formarea și rolul biofilmului bacterian**

Odată ce bacteria a fost inoculată la nivelul abordului chirurgical, aceasta poate exista în formă de suspensie, biofilm sau invazivă (intracelular) [15]. Forma în suspensie este reprezentată de o bacterie solitară și este forma cea mai ușor de identificat și eradicat de către sistemul imun și anticorpii gazdei. Biofilmul este o colonie tridimensională de bacterii ce se asociază des cu materialele ce alcătuiesc protezele articulare întrucât suprafața abiotică a acestora oferă o interfață perfectă pentru atașamentul și maturarea biofilmului, astfel jucând un rol crucial în infecțiile periprotetice [16]. Biofilmul nu se formează doar la nivelul protezei, în contextul unei infecții deja stabilite, acesta poate fi prezent pe cimentul acrilic, osul în sine sau pe țesutul fibros. Bacteriile intracelulare, recent studiate în contextul infecțiilor periprotetice, sunt capabile să pătrundă, să supraviețuiască și să prolifereze în celulele gazdei, mai ales în fagocitele non-profesionale cum ar fi celulele endoteliale și osteoblaștii, putând evita astfel declanșarea unui răspuns imun [17]. Asemănarea dintre fenotipurile bacteriene de tip biofilm și intracelulare precum variante de colonii mici a *S. aureus* ar indica faptul că patogenii intracelulari se dezvoltă din biofilm [15-17]. Astfel, cu scopul de a eradica o infecție periprotetică, toate bacteriile din lichidul sinovial, de pe suprafața implantelor sau a țesuturilor periprotetice trebuie înlăturate; este probabil ca repopularea bacteriană să aibă loc dacă lavajul, debridarea sau explantarea sunt insuficiente [18].

Odată stabilit, biofilmul este extrem de greu de eradicat, sau și mai problematic, împiedică stabilirea unui diagnostic corect al infecțiilor periprotetice prin identificarea germenilor patogeni. Concentrația de antibiotic minimă pentru eradicarea biofilmului este în general de 100-1000 de ori mai mare decât cea minimă pentru inhibarea bacteriilor

planctonice [19]. Rezistența la antibiotice este consecința penetrării limitate a antibioticelor la nivelul biofilmului, degradării antibioticelor în zonele “aspre” de la periferia biofilmului, funcția matricei extracelulare polimerice de a acționa ca un tampon prin legarea și degradarea antibioticelor, rezistența înăscută a celulelor dormante, și difuziunea limitată ce creează un gradient de concentrație a antibioticelor, astfel expunând diferite sub-populații bacteriene ale biofilmului la concentrații neletale și crescându-le toleranța la antibiotice, lucru știut din studii anterioare [20]. Biofilmele utilizează și mecanisme convenționale de rezistență la antibiotice precum beta-lactamaze, regularizarea expresiei pompelor de eflux în vederea eliminării antibioticelor intracelulare, dar și capacitatea de a transfera gene pe linie orizontală.

### **3. Metode actuale și emergente de diagnostic**

#### **3.1. Caracteristici speciale și protocoale curente de diagnosticare ale IAP**

Diagnosticul precoce al infecției periprotetice este absolut critic. Întârzierea stabilirii acestuia poate afecta negativ rezultatul final și abilitatea de a eradica infecția. O anamneză amănunțită asupra simptomatologiei poate oferi informații despre posibilitatea unui proces septic. În cazul debutului acut postoperator, medicul curant ar trebui să ridice suspiciunea unei infecții periprotetice dacă pacientul se prezintă cu întârzierea vindecării plăgii, simptomatologie algică, mers șchiopătat și incapacitatea pacientului de a progresa în redobândirea funcționalității [21]. Pe de altă parte, infecțiile pe cale hematogenă de cele mai multe ori se caracterizează printr-o evoluție fulminantă, cu debutul brusc al durerii, tumefacției și posibil al celulitei [22]. Prezența factorilor de risc cum ar fi infecții dentare, urologice sau alte proceduri chirurgicale invazive ar trebui să ridice suspiciunea unei infecții periprotetice, precum și prezența unor semne mai puțin comune în această patologie cum ar fi febra, frisonul sau starea generală alterată [23].

Din punct de vedere clinic, cele mai zgomotoase simptome din cadrul unei patologii infecțioase, febră, frisoane, fistulă activă cu drenaj purulent sunt inconstant întâlnite în infecțiile periprotetice [24]. Simptome mai des întâlnite la prezentare sunt durerea, tumefacția, hipertermia locală sau sinovita, simptome ce sunt prezente și în degradarea aseptică a implantelor, făcând stabilirea unui diagnostic cert dificilă [25]. Un lucru este sigur, pacienții care se prezintă cu simptomatologie algică în evoluție fără motive clare în perioada postoperatorie imediată sau cu debut brusc al durerii ar trebui evaluați din punct de vedere infecțios. Ca un consens general, acești pacienți trebuie considerați infectați până la momentul demonstrării contrariului. Majoritatea pacienților cu infecții periprotetice acute

sau cronice vor dezvolta la un moment dat durere; cazurile în care aceștia se prezintă fără durere, doar cu fatigabilitate sau stare generală alterată sunt rare. Celulita este un semn clinic inconstant, dar care poate trezi suspiciunea unui diagnostic mai serios, mai ales în cazul infecțiilor hematogene. Se consideră că mobilizarea genunchiului fără durere în astfel de situații ar putea semnala natura superficială a infecției, dar se recomandă aspirarea articulației printr-o zonă fără afectare tegumentară [26].

## **II. PARTEA SPECIALĂ**

### **4. Ipoteza de lucru și obiectivele generale**

Unele dintre cele mai comune motive de degradare a protezelor articulare sunt reprezentate de decimentarea aseptică (loosening), instabilitate (luxații), fracturi periprotetice sau decimentarea septică (infecția periprotetică). Deși incidența infecțiilor periprotetice este extrem de scăzută, contabilizând doar 1% dintre complicațiile postoperatorii, este o complicație mult mai serioasă și complexă. Infecțiile periprotetice sunt asociate cu multiple intervenții chirurgicale în vederea asanării, un algoritm de diagnostic complex, un tratament antibiotic de lungă durată, timp de spitalizare prelungit și necesitatea unei echipe terapeutice multidisciplinare, toate acestea traducându-se într-un consum extraordinar de mare de resurse financiare de către spital, precum și creșterea morbidității și scăderea calității vieții pacientului.

Pornind de la premisa că succesul tratamentului unei astfel de patologii este strict condiționat de stabilirea precoce a unui diagnostic corect și rapid, lucrarea curentă își propune să aducă noutăți în procesul de diagnosticare al infecțiilor periprotetice. Principalele obiective ale acestei direcții de cercetare s-au dezvoltat din nevoia obținerii unor noi criterii de diagnostic mai precise, mai rapide, mai ieftine cu scopul de a simplifica și îmbunătăți algoritmul actual de diagnosticare.

Prin monitorizarea datelor demografice, caracteristicilor individuale și a datelor paraclinice am dorit stabilirea factorilor de risc ce duc la creșterea șanselor de a dezvolta o complicație infecțioasă, existența concomitentă a mai multor factori de risc ducând la stadializarea unui grup de risc înalt.

### **5. Metodologia generală a cercetării**

În cadrul studiului clinic prospectiv desfășurat de-a lungul a patru ani în perioada 2020-2024 în secția clinică de Ortopedie și Traumatologie a Spitalului Universitar de

Urgență București au fost incluse 52 de cazuri de revizie a artroplastiei de șold sau genunchi din 165 de pacienți recrutați, cu scopul de a aduce informații noi cu privire la diagnosticul și prognosticul infecțiilor periprotetice. Au fost selecționați pacienții consecutivi ce au îndeplinit criteriile noastre de includere și excludere.

Toți pacienții incluși au fost de acord cu participarea în acest studiu și au semnat consimțământul informat. Studiul a fost aprobat de către consiliul de etică al spitalului.

Folosind algoritmul de diagnosticare propus de MSIS în 2018, pacienții incluși au fost împărțiți în două grupuri: grupul infecțiilor periprotetice (n=23) și grupul decimentărilor aseptice (n=29). Pentru diagnosticarea precoce au fost folosite date clinice precum fistula articulară, purulența periarticulară, radiografii, dar și date paraclinice reprezentate de proteina C reactivă serică (CRP), numărătoarea leucocitelor serice, viteza de sedimentare a eritrocitelor (VSH) și analiza celularității lichidului sinovial. Identificarea bacteriilor patogene a fost obținută prin efectuarea unor culturi bacteriologice din lichidul sinovial, țesuturile periprotetice recoltate în timpul reviziei sau din lichidul de sonicare a protezelor. Mai mult, țesuturile periprotetice recoltate au fost supuse și unei analize histopatologice în vederea diagnosticării patologiei infecțioase. Au fost analizate și datele demografice ale pacienților precum vârsta, sexul, mediul de proveniență, prezența factorilor de risc (fumat, diabet zaharat, obezitate, etc).

## **6. Studiu analitic al metodelor de diagnostic, prognosticului și al factorilor ce au determinat evoluția pacienților cu revizii protetice**

Principalul obiectiv al acestui prim studiu a fost atins prin descrierea principalelor caracteristici ale celor două subloturi de pacienți ce au suferit o intervenție de revizie a artroplastiei totale de șold sau genunchi în perioada dată, diferențele majore dintre ele fiind cuantificate în urma analizei statistice.

Ținând cont de impactul imens pe care infecțiile periprotetice îl au asupra calității vieții pacientului cât și asupra personalului medical și a spitalului, Eka A. et al. a identificat principalii factori de risc pentru această patologie într-un studiu publicat în 2015. Printre aceștia s-au enumerat factori precum obezitatea, malnutriția, hiperglicemia (diabet zaharat), poliartrita reumatoidă, anemia preoperatorie, patologia cardiacă asociată și fumatul [27]. Rezultatele obținute în urma studiului nostru au identificat factori de risc asemănători ce au fost prezenți mai frecvent în cadrul pacienților septici. S-a observat că asocierea concomitentă a diabetului zaharat, obezității și a fumatului a fost prezentă doar în cadrul

pacienților cu infecții periprotetice, mai mult, această asocieră având o pondere foarte mare în sublot, implicând 41.67% dintre pacienți. Analiza statistică a demonstrat o corelație de intensitate mare ( $p=0.002$ ) dintre existența concomitentă a acestor trei factori de risc și infecțiile periprotetice, indicând o clasă de pacienți cu risc înalt de a dezvolta o astfel de complicație.

Analiza celor mai importanți biomarkeri paraclinici a relevat că proteina C reactivă împreună cu viteza de sedimentare a hematiilor rămân cei mai folosiți markeri în screeningul infecțiilor paraclinice. Acest aspect se datorează pe de-o parte costului extrem de scăzut, accesibilității dar și ușurinței de utilizare a acestora, pe de altă parte prin acuratețea relativ crescută în identificarea patologiei ținând cont de celelalte avantaje menționate anterior. Valori peste 10 mg/L pentru CRP și peste 30mm/H pentru VSH au fost considerate ca fiind cut-off-ul ideal pentru diagnosticare.

Identificarea agenților patogeni a fost obținută în urma inoculării diferitelor tipuri de probe pe diverse medii de cultură. Acuratețea cea mai mare a fost atinsă de culturile din lichidul de sonicare și cea mai mică în cazul culturilor intraoperatorii. Aceste rezultate pot fi explicate de mai mulți factori. Se poate observa în urma analizei statistice că o mare parte a pacienților cu culturi intraoperatorii sterile au consumat antibiotice înainte de recoltare, scăzând semnificativ sensibilitatea acestui tip de testare de la 73.33% în cazul pacienților cărora nu li s-a administrat antibiotic prerecolectare la 52.17% (sensibilitatea medie din cadrul sublotului septic).

## **7. Studiu imunohistochimic al peptidelor antimicrobiene ca o viitoare metodă de diagnostic și prognostic al infecțiilor periprotetice**

### **7.1. Introducere**

Înțelegând mecanismul și importanța peptidelor antimicrobiene în infecțiile bacteriene, au fost publicate din ce în ce mai multe studii despre rolul lor în infecțiile periprotetice. Cele mai relevante AMP descoperite au fost  $\alpha$ -defensinele 1-3, defensina umană  $\beta$  2 și 3 (HBD-2, HBD-3), și catelicidina LL-37. Unele dintre rezultate vor fi dezbătute mai amplu în capitolul destinat discuțiilor ale acestui studiu. Detectarea  $\alpha$ -defensinelor în lichidul sinovial a fost implementată cu succes și aprobată ca un criteriu de diagnostic pentru infecțiile periprotetice în forma unui kit de testare rapid (Synovasure) sau prin tehnica ELISA [28].

Stadializarea histopatologică a membranei periprotetice propusă de Morawietz et al. este considerată în continuarea unul dintre cele mai importante criterii în diagnosticarea IAP [29]. Deși identificarea celulelor inflamatorii în țesutul examinat prezintă rezultate bune în diagnosticarea patologiei, există posibilitatea îmbunătățirii acurateții acestui tip de testare. În studiul de față am încercat să optimizăm și să facilităm diagnosticul histopatologic al infecțiilor periprotetice folosind analiza imunohistochimică a țesuturilor periprotetice în vederea detecției peptidelor antimicrobiene HBD3 și LL37, sperând să îmbunătățim evoluția și prognosticul pacienților ce efectuează o intervenție de revizie a artroplastiei.

## **7.2. Materiale și metode**

### **7.2.1. Date generale ale lotului**

Acest studiu a folosit populația studiului anterior prezentat, folosind aceleași criterii de includere și de excludere. Pacienții ce au efectuat o intervenție chirurgicală de revizie a protezei articulare au fost din nou împărțiți în cele două subloturi, pacienții cu decimentări aseptice (n=29) și cei cu infecții periprotetice (n=23) folosind criteriile de diagnostic propuse de MSIS și revizuite în 2018.

### **7.2.2. Analiza semicantitativă a reacției imunohistochimice**

Lamele obținute au fost analizate prin microscopie optică folosind obiective de 10x, 20x și 40x. Au fost selectate și evaluate cele mai reprezentative zone din 3-5 lame per pacient folosind scorul de imunoreactivitate (IRS) propus de Remmele [30]. Acest scor este rezultatul înmulțirii scorului celulelor pozitive cu intensitatea colorației.

Cu un scor ce poate lua valori între 0 și 12, am considerat valorile 0 și 1 ca fiind rezultate negative și valorile cuprinse între 2 și 12 ca fiind pozitive pentru a interpreta reacția imunohistochimică atât în sublotul pacienților cu decimentări aseptice cât și în sublotul infecțiilor periprotetice.

## **7.3. Rezultate**

### **7.3.1. Rezultatele testării imunohistochimice**

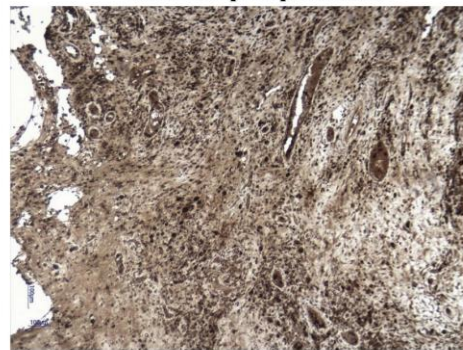
Lamelele rezultate în urma procesului imunohistochimic automatizat descris mai sus au fost analizate și descrise. Au fost selectate câteva imagini reprezentative (fig 7.2 și 7.3) unde s-a observat diferența vizuală evidentă în colorația cu cromogen DAB (colorație brună) între cele două subloturi, sublotul infecțiilor periprotetice prezentând rezultate intens pozitive ale reacției imunohistochimice atât cu anticorpul HBD3 cât și cu anticorpul LL37, precum și absența reacției în sublotul decimentărilor aseptice.

## Coloratie imunohistochimica folosind anticorpul LL37

Decimentare aseptica

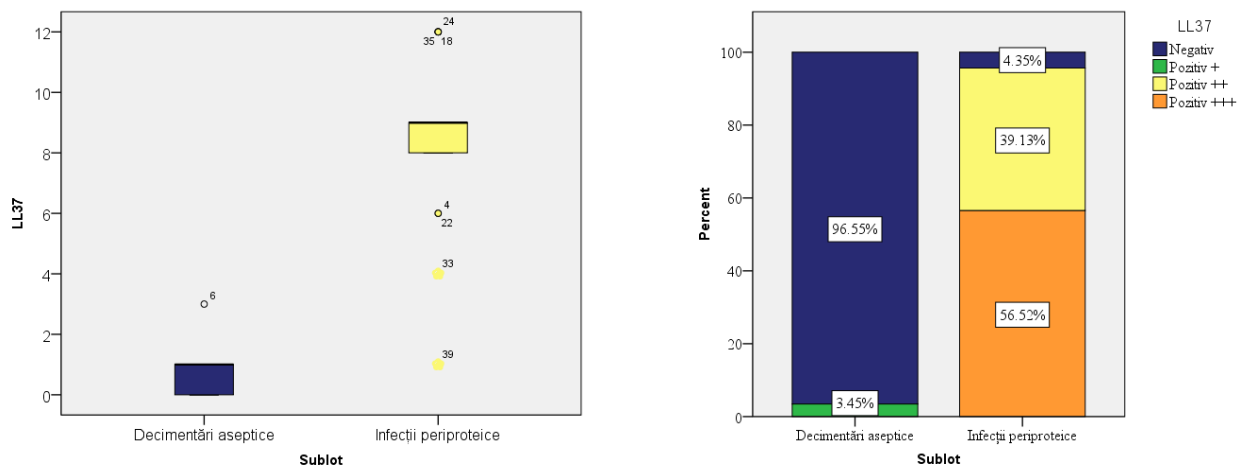


Infectie periprotetica

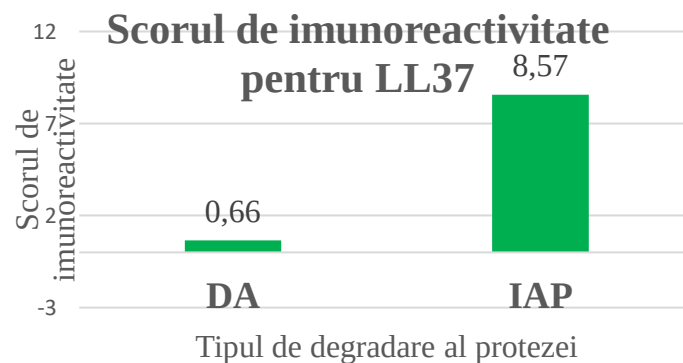


### 7.3.2. Rezultatele analizei semicantitative ale examinării imunohistochimice (scorul de imunoreactivitate – IRS)

Fig 7.4. si 7.5.: distribuția cazurilor în funcție de LL37 (0-1 negativ, 2-3 pozitiv + (slab), 4-8 pozitiv ++ (moderat), 9-12 pozitiv +++ (puternic))



În urma analizei semicantitative a examinării imunohistochimice s-au notat diferențe semnificative între scorurile IRS (coloratiile cu LL37 și HBD3) ale celor două subloturi. Astfel, media scorului IRS a fost de aproximativ 13 ori mai mare în cazul infecțiilor periprotetice față de pacienții aseptici când a fost folosit anticorpul pentru LL37 și de aproape 6 ori mai mare când a fost folosit anticorpul pentru HBD3 ( $p < 0.001$ ).





Acuratețea diagnosticării infecțiilor periprotetice folosind testarea imunohistochimică cu anticorpii LL37 și HBD3 a țesuturilor periprotetice a fost evaluată folosind valoarea AUC obținută în urma analizei curbei ROC. Acest tip de testare prezintă un potențial de diagnosticare excelent al IAP ( $p < 0.001$ ), cu o valoare a AUC de 0.987 pentru detecția LL37 (fig 7.10) și 0.925 pentru detecția HBD3 (fig 7.11).

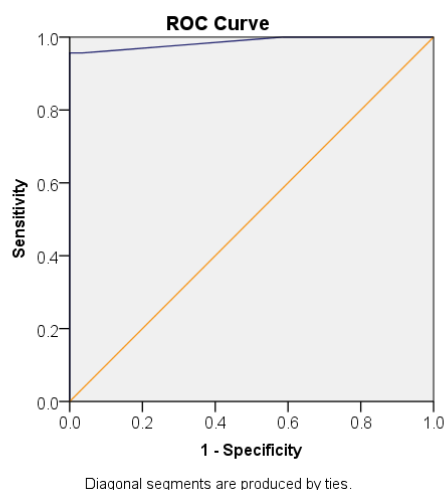


Fig 7.10. Curba ROC pentru LL37 și IAP

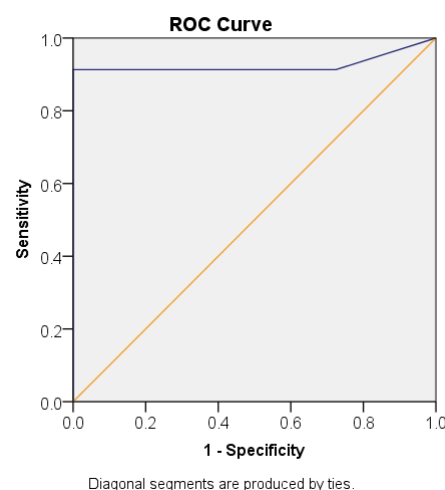
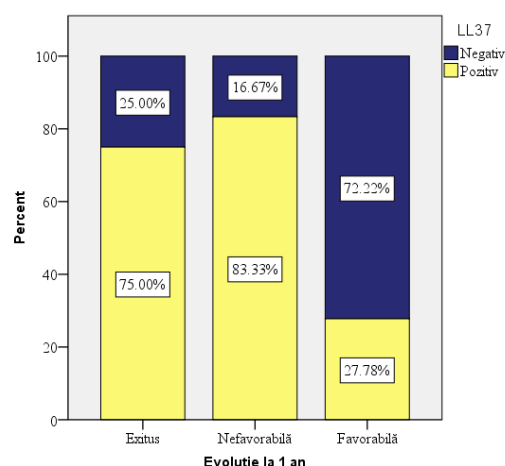
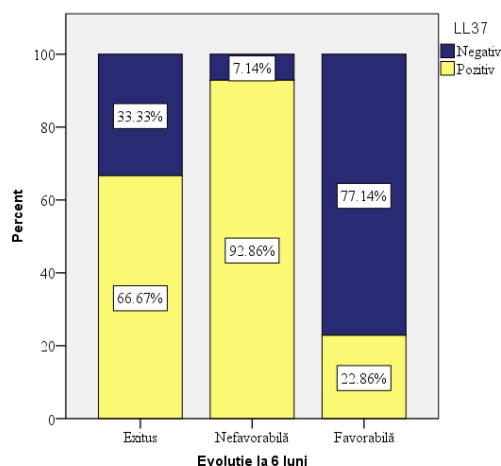


Fig 7.11. Curba ROC pentru HBD3 și IAP

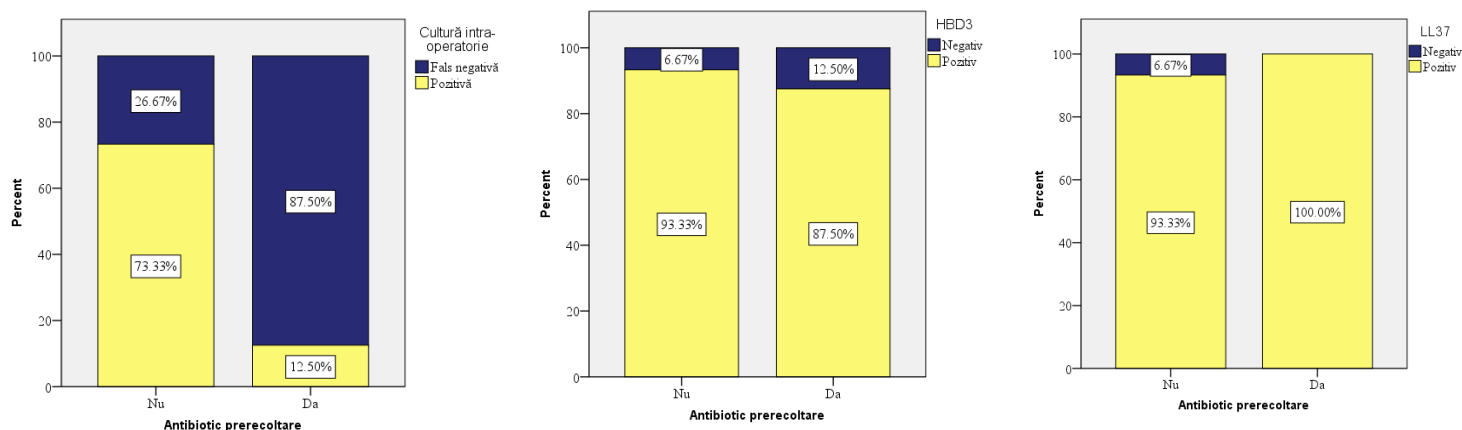
### 7.3.3. Evoluția pacienților în funcție de testarea imunohistochimică

Fig 7.12 si 7.13: distribuția cazurilor în funcție de evoluția la 6 luni și la 1 an raportată la prezența markerului LL37 în țesuturile periprotetice



### 7.3.4. Influența tratamentului antibiotic administrat pre-recoltare asupra culturilor și a testării imunohistochimice

Fig 7.16.,7.17. si 7.18.: Grafice comparative ale sensibilității culturii intraoperatorii cu sensibilitatea biomarkerilor imunohistochimici în funcție de administrarea antibioticelor preoperator în sublotul infecțiilor periprotetice



#### 7.4.Discuții și concluzii parțiale

Principala provocare în gestionarea infecțiilor periprotetice este în continuare reprezentată de diagnosticarea dificilă, mai ales în cazul unor infecții cronice „low-grade” cu bacterii slab virulente [31]. Identificarea rapidă și exactă a bacteriei patogene este cheia succesului tratamentului. Cultura bacteriologică standard este cea mai folosită metodă pentru identificarea bacteriei. Din păcate, sensibilitatea acestui tip de testare rămâne foarte scăzută în cazul infecțiilor periprotetice [32], precum s-a putut observa și în lotul nostru. Culturile preoperatorii efectuate din lichidul sinovial sau din secrețiile fistulare au reușit să identifice doar 15 din cele 23 de cazuri de infecții periprotetice. Mai mult, culturile inoculate cu țesuturile periprotetice recoltate intraoperator au identificat doar 12 cazuri pozitive. Această scădere a sensibilității poate fi explicată prin inițierea tratamentului antibiotic înainte de prelevarea probelor în unele cazuri, fapt ce a dus la creșterea rezultatelor fals negative [33]. Identificarea micro-organismelor patogene a fost efectuată cu un succes mult mai mare atunci când culturile bacteriologice au fost însămânțate cu lichidul rezultat în urma sonicării componentelor protezei explantate.

Folosirea detecției peptidelor antimicrobiene ca un test diagnostic pentru infecțiile periprotetice a fost investigată mai amplu ulterior. Un studiu condus de Banke et al. în 2020 a demonstrat prezența nivelurilor crescute ale HBD2, HBD3 și LL37 în membrana sinovială a pacienților cu degradări septice [34]. Populația studiului a inclus doar pacienții

diagnosticați în prealabil cu infecții cu *Staphylococcus coagulazo-negativ*, considerând că această bacterie este cel mai frecvent asociată cu infecțiile cronice slab virulente. Un alt studiu condus de Paulsen et al. ce a folosit testarea PCR (polymerase chain reaction), a demonstrat prezența defensinelor și a catelicidinelor în cadrul artritei piogenice și absența acestora din membrana sinovială sănătoasă [35].

Folosind scorul IRS pentru colorațiile imunohistochimice efectuate cu anticorpii HBD3 și LL37, am reușit să demonstrăm o creștere semnificativă a acestor peptide antimicrobiene în țesuturile periprotetice din sublotul infecțiilor periprotetice. De asemenea, s-a observat că antibioterapia administrată pre-recutare nu a influențat rezultatele obținute, sensibilitatea testului rămânând aproape constantă în tot lotul de pacienți. Rezultatele pot fi obținute în prima sau a doua zi postoperator, pozitivarea imuno-reacției putând conduce la o investigație mai amplă asupra statusului septic al pacientului.

Rezultatele analizei curbei ROC au demonstrat o acuratețe excelentă a testării imunohistochimice în identificarea patologiei infecțioase, colorațiile pozitive cu HBD3 și LL37 fiind aproape exclusiv asociate cu infecțiile periprotetice [36]. Luând la cunoștință această informație împreună cu faptul că IAP sunt asociate mai frecvent cu o morbiditate și mortalitate mai crescute, precum și un prognostic mai prost pentru pacient în comparație cu degradările aseptice [37], putem înțelege de ce o mare parte a pacienților ce au prezentat rezultate pozitive ale celor doi markeri imunohistochimici au avut o evoluție nefavorabilă la un an de la procedura chirurgicală de revizie.

## **Concluzii și contribuții personale**

### **Concluziile tezei de doctorat**

Unul dintre obiectivele atinse a fost demonstrarea importanței unui diagnostic preoperator sau intraoperator precis și rapid pentru infecțiile periprotetice și influența acestuia asupra evoluției pacientului și a succesului artroplastiei de revizie. Această corelație este susținută și prin prisma faptului că tratamentul degradărilor aseptice este complet diferit față de tratamentul degradărilor septice, subdiagnosticarea unei infecții periprotetice fiind aproape mereu asociată cu o evoluție nefavorabilă a pacientului.

Diagnosticul diferențial poate fi facilitat de prezența sau absența factorilor de risc pentru infecții ale pacienților cu proteze articulare. Astfel, un pacient care prezintă factori de risc precum fumatul, diabetul zaharat sau obezitate ar trebui investigat mai amănunțit pentru

a exclude o posibilă infecție periprotetică chiar dacă simptomatologia sau celelalte date paraclinice uzuale nu sunt suficiente pentru un astfel de diagnostic.

Analiza statistică a demonstrat o asociere puternică între perioada de timp scursă de la implantarea protezei articulare primare până la momentul reviziei și tipul de degradare. Astfel, pacienții cu infecții periprotetice au necesitat revizia chirurgicală a implantului după o perioadă mult mai scurtă față de cei cu degradări aseptice.

Un alt factor ce a influențat evoluția pacienților a fost reprezentat de durata spitalizării. O spitalizare mai scurtă a fost corelată cu tendința pacienților atât septici cât și cu degradări aseptice să evolueze favorabil la 6 și la 12 luni postoperator.

Obiectivul principal al celui de-al doilea studiu condus a fost de a dezvolta și evalua noi biomarkeri pentru diagnosticarea precoce și prognosticul infecțiilor periprotetice. Acesta a pornit de la succesul examinării histopatologice care reprezintă de altfel unul dintre standardele de aur în identificarea patologiei infecțioase și a dorit îmbunătățirea acesteia printr-o analiză imunohistochimică a țesuturilor periprotetice. Prezența peptidelor antimicrobiene HBD3 și LL37 în țesuturile periprotetice a fost strâns corelată cu infecțiile periprotetice. Studiul imunohistochimic semicantitativ al țesuturilor, un proces ușor de efectuat, semi-automatizat, accesibil și eficient din punct de vedere al costurilor, s-a dovedit a fi metoda optimă în identificarea peptidelor antimicrobiene și implicit a infecțiilor periprotetice. Analiza evoluțiilor pacienților din lot la 6 și 12 luni postoperator în funcție de rezultatele acestor markeri a arătat tendința pacienților de a avea o evoluție nefavorabilă atunci când rezultatele reacției imunohistochimice sunt pozitive, subliniind că acești markeri nu au importanță doar în diagnosticare ci și valoare prognostică.

Odată cu avansarea tehnologiilor moleculare și proteomice, sperăm ca diagnosticul infecțiilor periprotetice folosind peptidele antimicrobiene să devină mai rapid și mai exact. Scopul final al cercetării îl reprezintă implementarea acestor biomarkeri în algoritmul de diagnosticare al degradărilor septice, obținerea rapidă a diagnosticului putând influența decizia terapeutică în patologia implantelor ortopedice.

## Bibliografie

1. Ahmed SS, Haddad FS: Prosthetic joint infection. *Bone Joint Res.* 2019, 8:570-572. 10.1302/2046-3758.812.BJR-2019-0340
2. Parvizi J, Fassihi SC, Enayatollahi MA. Diagnosis of Periprosthetic Joint Infection Following Hip and Knee Arthroplasty. *Orthop Clin North Am.* 2016 Jul;47(3):505-15. doi: 10.1016/j.ocl.2016.03.001
3. Jafari SM, Coyle C, Mortazavi SMJ, Sharkey PF, Parvizi J. Revision hip arthroplasty: infection is the most common cause of failure. *Clin Orthop Relat Res* 2010;468:2046–2051.
4. Shichman I, Roof M, Askew N, Nherera L, Rozell JC, Seyler TM, Schwarzkopf R: Projections and epidemiology of primary hip and knee arthroplasty in medicare patients to 2040-2060. *JB JS Open Access.* 2023, 8:e22.00112. 10.2106/JBJS.OA.22.00112
5. Lenguerrand E, Whitehouse MR, Beswick AD, Toms AD, Porter ML, Blom AW; National Joint Registry for England, Wales, Northern Ireland and the Isle of Man. Description of the rates, trends and surgical burden associated with revision for prosthetic joint infection following primary and revision knee replacements in England and Wales: an analysis of the National Joint Registry for England, Wales, Northern Ireland and the Isle of Man. *BMJ Open* 2017;7:e014056.
6. Tsaras G, Osmon DR, Mabry T, Lahr B, St Sauveur J, Yawn B, Kurland R, Berbari EF. 2012. Incidence, secular trends, and outcomes of prosthetic joint infection: a population-based study, Olmsted county, Minnesota, 1969-2007. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 33:1207–1212. <http://dx.doi.org/10.1086/668421>.
7. Clauss M, Cadosch D, Morgenstern M. Infekte in der Gelenkendoprothetik [Periprosthetic Joint Infections - An Overview]. *Ther Umsch.* 2020;77(10):529-534. German. doi: 10.1024/0040-5930/a001221
8. Bauer TW, Parvizi J, Kobayashi N, Krebs VJ: Diagnosis of periprosthetic infection. *J Bone Joint Surg Am* 2006;88(4): 869-882.
9. Kurtz SM, Ong KL, Lau E, Bozic KJ, Berry D, Parvizi J. 2010. Prosthetic joint infection risk after TKA in the Medicare population. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 468:52–56. <http://dx.doi.org/10.1007/s11999-009-1013-5>.
10. Pulido L, Ghanem E, Joshi A, Purtill JJ, Parvizi J. 2008. Periprosthetic joint infection: the incidence, timing, and predisposing factors. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 466:1710–1715. <http://dx.doi.org/10.1007/s11999-008-0209-4>.

11. Alamanda VK, Springer BD. Perioperative and Modifiable Risk Factors for Periprosthetic Joint Infections (PJI) and Recommended Guidelines. *Curr Rev Musculoskelet Med*. 2018 Sep;11(3):325-331. doi: 10.1007/s12178-018-9494-z.
12. Iannotti F, Prati P, Fidanza A, Iorio R, Ferretti A, Pèrez Prieto D, Kort N, Violante B, Pipino G, Schiavone Panni A, Hirschmann M, Mugnaini M, Francesco Indelli P. Prevention of Periprosthetic Joint Infection (PJI): A Clinical Practice Protocol in High-Risk Patients. *Trop Med Infect Dis*. 2020 Dec 11;5(4):186. doi: 10.3390/tropicalmed5040186.
13. Cobo J, Del Pozo JL. Prosthetic joint infection: diagnosis and management. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2011 Sep;9(9):787-802. doi: 10.1586/eri.11.95.
14. Mikziński P, Kraus K, Widelski J, Paluch E. Modern Microbiological Methods to Detect Biofilm Formation in Orthopedy and Suggestions for Antibiotic Therapy, with Particular Emphasis on Prosthetic Joint Infection (PJI). *Microorganisms*. 2024 Jun 14;12(6):1198. doi: 10.3390/microorganisms12061198.
15. Perni S, Bojan B, Prokopovich P. A retrospective study of risk factors, causative micro-organisms and healthcare resources consumption associated with prosthetic joint infections (PJI) using the Clinical Practice Research Datalink (CPRD) Aurum database. *PLoS One*. 2023 Mar 21;18(3):e0282709. doi: 10.1371/journal.pone.0282709.
16. Zimmerli W. Clinical presentation and treatment of orthopaedic implant-associated infection. *J Intern Med* 2014;276:111–119.
17. Honkanen M. Risk of orthopaedic implant infection during bacteraemia. *APMIS*. 2024 Oct 24. doi: 10.1111/apm.13482.
18. Antibiotic Prophylaxis in Patients with Orthopedic Implants Undergoing Dental Procedures: A Review of Clinical Effectiveness, Safety, and Guidelines [Internet]. Ottawa (ON): Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health; 2016 Feb 17.
19. Tsukayama DT, Goldberg VM, Kyle R. Diagnosis and management of infection after total knee arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am*. 2003;85-A(Suppl 1):S75–80.
20. Wouthuyzen-Bakker M. Cultures in periprosthetic joint infections, the imperfect gold standard? *EFORT Open Rev*. 2023 Apr 25;8(4):175-179. doi: 10.1530/EOR-22-0115
21. Rodriguez-Merchan EC, Delgado-Martinez AD. Risk Factors for Periprosthetic Joint Infection after Primary Total Knee Arthroplasty. *J Clin Med*. 2022 Oct 18;11(20):6128. doi: 10.3390/jcm11206128

22. Zeng ZJ, Yao FM, He W, Wei QS, He MC. Incidence of periprosthetic joint infection after primary total hip arthroplasty is underestimated: a synthesis of meta-analysis and bibliometric analysis. *J Orthop Surg Res.* 2023 Aug 21;18(1):610. doi: 10.1186/s13018-023-04060-5
23. Burnett RSJ, Kelly MA, Hanssen AD, Barrack RL. Technique and timing of two-stage exchange for infection in TKA. *Clin Orthop Relat Res.* 2007;464:164-78.
24. Beldman M, Löwik C, Soriano A, Albiach L, Zijlstra WP, Knobben BAS, Jutte P, Sousa R, Carvalho A, Goswami K, Parvizi J, Belden KA, Wouthuyzen-Bakker M. If, When, and How to Use Rifampin in Acute Staphylococcal Periprosthetic Joint Infections, a Multicentre Observational Study. *Clin Infect Dis.* 2021 Nov 2;73(9):1634-1641. doi: 10.1093/cid/ciab426
25. Raad I, Hanna H, Jiang Y, Dvorak T, Reitzel R, Chaiban G, Sherertz R, Hachem R. Comparative activities of daptomycin, linezolid, and tigecycline against catheter-related methicillin-resistant *Staphylococcus bacteremic* isolates embedded in biofilm. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007 May;51(5):1656-60. doi: 10.1128/AAC.00350-06.
26. John AK, Baldoni D, Haschke M, Rentsch K, Schaerli P, Zimmerli W, Trampuz A. Efficacy of daptomycin in implant-associated infection due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: importance of combination with rifampin. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009 Jul;53(7):2719-24. doi: 10.1128/AAC.00047-09.
27. Wang Q, Chen Y, Chen Y, Lv J, Ding H, Huang J, Huang J, Huang Z, Yang B, Zhang W, Fang X. Improved cure rate of periprosthetic joint infection through targeted antibiotic therapy based on integrated pathogen diagnosis strategy. *Front Cell Infect Microbiol.* 2024 May 21;14:1388385. doi: 10.3389/fcimb
28. Buchholz HW, Engelbrecht H. Über die Depotwirkung einiger Antibiotica bei Vermischung mit dem Kunstharz Palacos [Depot effects of various antibiotics mixed with Palacos resins]. *Chirurg.* 1970 Nov;41(11):511-5. German.
29. Shahpari O, Mousavian A, Elahpour N, Malahias MA, Ebrahimzadeh MH, Moradi A. The Use of Antibiotic Impregnated Cement Spacers in the Treatment of Infected Total Joint Replacement: Challenges and Achievements. *Arch Bone Jt Surg.* 2020 Jan;8(1):11-20. doi: 10.22038/abjs.2019.42018.2141
30. Strathdee SA, Hatfull GF, Mutalik VK, Schooley RT. Phage therapy: From biological mechanisms to future directions. *Cell.* 2023 Jan 5;186(1):17-31. doi: 10.1016/j.cell.2022.11.017

31. Yilmaz C, Colak M, Yilmaz BC, Ersoz G, Kutateladze M, Gozlugol M. Bacteriophage therapy in implant-related infections: an experimental study. *J Bone Joint Surg Am.* 2013 Jan 16;95(2):117-25. doi: 10.2106/JBJS.K.01135
32. Kvachadze L, Balarjishvili N, Meskhi T, Tevdoradze E, Skhirtladze N, Pataridze T, Adamia R, Topuria T, Kutter E, Rohde C, Kutateladze M. Evaluation of lytic activity of staphylococcal bacteriophage Sb-1 against freshly isolated clinical pathogens. *Microb Biotechnol.* 2011 Sep;4(5):643-50. doi: 10.1111/j.1751-7915.2011.00259.x. Epub 2011 Apr 11.
33. Miedzybrodzki R, Fortuna W, Weber-Dabrowska B, Górski A. A retrospective analysis of changes in inflammatory markers in patients treated with bacterial viruses. *Clin Exp Med.* 2009 Dec;9(4):303-12. Epub 2009 Apr 7
34. Nelson SB, Pinkney JA, Chen AF, Tande AJ. Periprosthetic Joint Infection: Current Clinical Challenges. *Clin Infect Dis.* 2023 Oct 5;77(7):e34-e45. doi: 10.1093/cid/ciad360
35. Kapadia BH, Berg RA, Daley JA, Fritz J, Bhave A, Mont MA. Periprosthetic joint infection. *Lancet.* 2016 Jan 23;387(10016):386-394. doi: 10.1016/S0140-6736(14)61798-0
36. Riesgo AM, Liporace FA. Strategies for Management of Periprosthetic Joint Infection. *Bull Hosp Jt Dis* (2013). 2018 Mar;76(1):55-61
37. Li C, Renz N, Trampuz A: Management of Periprosthetic Joint Infection. *Hip Pelvis.* 2018, 30:138-146. 10.5371/hp.2018.30.3.138