

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

PERİPROSTETİK ENFEKSİYON ETKENLERİ ARASINDA
BİYOFİLM YAPISININ FARKLILIKLARI

TIPTA UZMANLIK TEZİ
Dr. Mehmet Batu ERTAN

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Bülent A. ERDEMLİ

ANKARA-2020

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

PERİPROSTETİK ENFEKSİYON ETKENLERİ ARASINDA
BİYOFİLM YAPISININ FARKLILIKLARI

TIPTA UZMANLIK TEZİ
Dr. Mehmet Batu ERTAN

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Bülent A. ERDEMLİ

Bu tez Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Fonu tarafından
19L0230016 proje numarası ile desteklenmiştir

ANKARA-2020

KABUL VE ONAY

Düzenleme tarihi: 24/12/2014

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİNİN		
Adı, Soyadı	: Dr. Mehmet Batu ERTAN	Sınav tarihi: 03/02/2020
Anabilim/Bilim Dalı	: Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı	
Tez Danışmanı	: Prof. Dr. Bülent A.ERDEMLİ	

II. TEZ İLE İLGİLİ BİLGİLER	
Tezin Başlığı: Periprostetik enfeksiyon etkenleri arasında biyofilm yapısının farklılıkları	
Tezin Niteliği:	☒ Ana Dal Uzmanlık Tezi ☐ Yan Dal Uzmanlık Tezi
Kaçıncı tez sınavı olduğu:	☒ 1 ☐ 2 ☐ 3

III. KARAR	
Yapılan tez sınavı sonucunda yukarıda belirtilen tezin "Tıpta Uzmanlık Tezi" olarak	
☒ Kabulüne	
☐ Reddine	
☐ Düzeltmeler yapıldıktan sonra tekrar değerlendirilmesine	
☒ Oy birliği ☐ Oy çokluğu ile karar verilmiştir.	

IV. AÇIKLAMALAR	
Lütfen, tezin reddi veya düzeltme istenmesi durumunda gerekçeli açıklamalarınızı buraya yazınız	

Jüri Başkanı
Prof. Dr. Bülent A.ERDEMLİ

Jüri Üyesi
Prof. Dr. Hakan KINIK

Jüri Üyesi
Prof. Dr. Hakan A.BALAR

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
Ortopedi ve Travmatoloji A.B.D.
Dip. No: 10957 Dip. Tes. No: 84128

TEŞEKKÜR

Asistanlığım boyunca ve tezimin her aşamasında yol göstericiliği, desteği, hastalarına örnek aldığım yaklaşımı, tez konusunun belirlenmesine ve araştırmanın gerçekleşmesine değerli katkıları için sevgili hocam Prof. Dr. Bülent Erdemli'ye,

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Bölümü'nde asistanlık eğitimimi alarak bu aileye ait olmanın onur ve gururunu yaşamaktayım. Eğitimim süresince bana emek veren, bilgi ve tecrübelerini esirgemediğim benimle paylaşan değerli hocalarım; Prof. Dr. Derya Dinçer, Prof. Dr. Yener Sağlık, Prof. Dr. Tarık Yazar, Prof. Dr. Mehmet Binnet, Prof. Dr. Bahaddin Güzel, Prof. Dr. Sinan Adıyaman, Prof. Dr. Ali Kemal Us, Prof. Dr. Yusuf Yıldız, Prof. Dr. Hakan Kınık, Prof. Dr. Sinan Bilgin, Doç. Dr. Kerem Başarır, Doç. Dr. Mehmet Armangil, Doç. Dr. Ramazan Akmeşe, Doç. Dr. Mahmut Kalem'e, birlikte çalıştığımız süre içinde bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, her konuda yardımcı olan Op. Dr. Hakan Kocaoğlu, Op. Dr. Abdullah Merter ve Op. Dr. Onur Karaca'ya, asistanlığım boyunca eğitimime katkıda bulunan bütün ağabeylerime ve tüm asistan arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin gerçekleşmesini sağlayan, eğitimciliğiyle çevresindeki herkese daima örnek olan kıymetli hocam Prof. Dr. Aykut Özkul'a,

Multidisipliner gerçekleştirilen bu tezde emeklerinin karşılığını ödeyemeyeceğim değerli hocalarım Prof. Dr. Esra Erdemli ve Doç. Dr. Ebru Evren'e,

Tezin deney aşamasında yardımlarını esirgemeyen Dr. Mehmet Yağız Ayduğan ve Dr. Başak Sezgin'e,

Her zaman yanımda olan ve desteklerini daima hissettiğim anneme, babama, abime ve anneanneme. En büyük hediyem, yanında her zaman kendimi güçlü hissettiğim biricik eşim Ece'ye,

En içten teşekkürlerimle...

Dr. Mehmet Batu ERTAN

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
KABUL VE ONAY	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
RESİMLER DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. TOTAL KALÇA VE DİZ ARTROPLASTİSİ ENFEKSİYONLARININ EPİDEMİYOLOJİSİ.....	4
2.2. EKLEM ENFEKSİYONLARINDAN KORUNMA.....	5
2.2.1. Preoperatif Değerlendirme.....	5
2.2.2. Perioperatif Dönemde Enfeksiyondan Korunma	7
2.3. BİYOFİLM OLUŞUMU VE BİYOLOJİK CEVAP	8
2.3.1. Giriş	8
2.3.2. Biyofilm Oluşumu	9
2.3.3. Antimikrobiyal Maddelere Direnç.....	10
2.3.4. Biyofilme Karşı Konak Yanıtı	10
2.3.5. Biyofilmin Klinik Önemi.....	11
2.3.6. Mikroorganizmaların Görece Görülme Sıklığı.....	12
2.3.7. Antibiyotikler	14
2.3.8. Etken Patojene Yönelik Tedavi	15
2.4. KALÇA EKLEMİNİN PERİPROSTETİK ENFEKSİYONU	18
2.4.1. Giriş	18
2.4.2. Tanım	18
2.4.3. Sınıflama.....	20
2.4.4. Etken Mikroorganizmalar	20
2.4.5. Tanı	21

2.4.6. Tedavi	23
2.5. DİZ EKLEMİNİN PERİPROSTETİK ENFEKSİYONU	28
2.5.1. Giriş	28
2.5.2. Enfeksiyon Riski ve Korunma	28
2.5.3. Antibiyotik Profilaksisi	29
2.5.4. Tanı	30
2.5.5. Tedavi	32
3. GEREÇ VE YÖNTEM	36
4. BULGULAR	52
5. TARTIŞMA	65
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	76
ÖZET	77
SUMMARY	79
KAYNAKLAR	81

KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
BF	Biyofilm
BK	Beyaz Küre
BSL	Biyogüvenlik Seviyesi
C.albicans	Candida Albicans
CLSM	Konfokal Lazer Tarama Mikroskobu
CRP	C-Reaktif Protein
DAIR	Debridman, Antibiyotik ve İmplantın Korunması
E.coli	Escherichia Coli
EDTA	Etilendiamin Tetraasetik Asit
ESR	Eritrosit Sedimentasyon Hızı
FDG	Florodeoksiglukoz
FISH	Flöresan İn Situ Hibridizasyon
GNB	Gram Negatif Basil
ICM	Uluslararası Konsensus Toplantısı
IL	İnterlökin
İV	İntravenöz
KNS	Koagülaz Negatif Stafilokok
KOB	Koloni Oluşturan Birim
LE	Lökosit Esteraz
MRSA	Metisilin Dirençli Stafilokokkus Aureus
MRSE	Metisilin Dirençli Stafilokokkus Epidermidis
NIS	Ulusal Yatan Hasta Örneği
P.acnes	Propionibacterium Acnes
P.aeruginosa	Psödomonas Aeruginosa
PBS	Fosfat Tamponlu Çözelti
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PEE	Periprostetik Eklem Enfeksiyonu
PMN	Polimorfonükleer Nötrofiller
S.aureus	Stafilokokkus Aureus

S.epidermidis	Stafilokokkus Epidermidis
SEM	Tarama Elektron Mikroskobu
SPECT	Tek Foton Emisyon Bilgisayarlı Tomografi
STD	Standart
TDA	Total Diz Artroplastisi
TKA	Total Kalça Artroplastisi
TNF-α	Tümör Nekroz Faktörü Alfa
VKİ	Vücut Kitle İndeksi



TABLÖLAR DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 1: Protez eklem enfeksiyonunun sık görülen etkenleri	13
Tablo 2: PEE için yeni skor temelli tanım.	19
Tablo 3: Mevcut Bulgularla Birleştirilmiş 2013 ICM'sine Dayalı Önerilen Eşik Değerler	19
Tablo 4: McPherson ve arkadaşlarına göre periprostetik enfeksiyonlar için evreleme sistemi	25
Tablo 5: Etkenlerin sıra numaralaması açısından ağırlıkların günlere göre karşılaştırılması.....	52
Tablo 6: Etkenlerin sıra numaralaması açısından laboratuvar değerlerinin karşılaştırılması.....	53
Tablo 7: CRIME80 skorlaması	70
Tablo 8: PEE etkenlerinin zamana göre görülme sıklıkları	72

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1: 2.hafta doku örneklerindeki enfeksiyon yüklerinin ikili karşılaştırmaları	54
Şekil 2: 4.hafta doku örneklerindeki enfeksiyon yüklerinin ikili karşılaştırmaları	54
Şekil 3: 6.hafta doku örneklerindeki enfeksiyon yüklerinin ikili karşılaştırmaları	55
Şekil 4: 2.hafta disk örneklerindeki enfeksiyon yüklerinin ikili karşılaştırmaları	56
Şekil 5: 4.hafta disk örneklerindeki enfeksiyon yüklerinin ikili karşılaştırmaları	56
Şekil 6: 6.hafta disk örneklerindeki enfeksiyon yüklerinin ikili karşılaştırmaları	57
Şekil 7: 2.hafta sürüntü kültürü örneklerindeki enfeksiyon yoğunluğunun ikili karşılaştırmaları	58
Şekil 8: 4.hafta sürüntü kültürü örneklerindeki enfeksiyon yoğunluğunun ikili karşılaştırmaları	58
Şekil 9: 6.hafta sürüntü kültürü örneklerindeki enfeksiyon yoğunluğunun ikili karşılaştırmaları	59
Şekil 10: CRIME80 skorlaması ile birlikte PEE tedavi algoritması	71
Şekil 11: PEE tedavisi için gösterilen algoritma örneklerinden biri	74

RESİMLER DİZİNİ

	Sayfa No
Resim 1: Deney hayvanlarının tek hayvan kalacak şekilde izlendikleri kafes	37
Resim 2: 1 haftalık enjeksiyon uygulaması sonrası örnek poş görüntüsü önden görünüm.....	38
Resim 3: 1 haftalık enjeksiyon uygulaması sonrası örnek poş görüntüsü yandan görünüm	38
Resim 4: Cerrahi işlem öncesi implantların yerleştirileceği interskapular alanın hazırlanması üstten görünüm.....	39
Resim 5: İnterskapuler alandaki poşun açılması sonrası üstten görünüm	40
Resim 6: Poş bölgesine titanyum implantın yerleştirilmesi üstten görünüm	40
Resim 7: Poş bölgesine implantların yerleştirilmesi sonrası mikroorganizma ile inokülasyon işlemi üstten görünüm	41
Resim 8: İnokülasyon sonrası cerrahi sahanın kapatılması üstten görünüm	41
Resim 9: Abse izlenen örnek bir deney hayvanı üstten görünüm	43
Resim 10: Abse izlenen örnek bir deney hayvanı yandan görünüm	43
Resim 11: İnsizyon bölgesinin belirlenerek tıraşlanması sonrası üstten görünüm	43
Resim 12: İnsizyon bölgesinin boyanması ve örtülmesi sonrası üstten görünüm	44
Resim 13: İmplant edilmiş disklerin intraoperatif poş bölgesindeki görünümü	44
Resim 14: İmplant edilmiş disklerin poş bölgesinden çıkarılma görünümü	44
Resim 15: Üreme gözlenen bir disk örneğinin mikrobiyolojik inceleme görünümü	46
Resim 16: Üreme gözlenen bir sürüntü örneğinin mikrobiyolojik inceleme görünümü	46
Resim 17: Kritik nokta kurutucusu önden görünüm	47
Resim 18: Altın kaplama cihazı önden görünüm	47

Resim 19: Carl Zeiss EVO 40 tarama elektron mikroskobu önden görünüm	48
Resim 20: Kurutma ve kaplanma sonrası örnek titanyum disklerinin üstten görünümü	48
Resim 21: Abse izlenen örnek bir deney hayvanının işlem öncesi üstten görünümü	49
Resim 22: Abse izlenen örnek bir deney hayvanının işlem öncesi yandan görünümü	50
Resim 23: Abse dokusunun düzgün sınırlar ile diseksiyonunun görünümü	50
Resim 24: İn vitro koşullarda titanyum disk üzerinde gelişen mikroorganizma örneklerinin zamana bağlı olarak SEM görüntüleri.....	60
Resim 25: İn vivo koşullarda kontrol grubunun zamana bağlı olarak SEM görüntüleri	61
Resim 26: İn vivo koşullarda titanyum disk üzerinde gelişen pseudomonas aeruginosa örneklerinin zamana bağlı olarak taramalı elektron mikroskop görüntüleri	61
Resim 27: İn vivo koşullarda titanyum disk üzerinde gelişen staphylococcus aureus örneklerinin zamana bağlı olarak taramalı elektron mikroskop görüntüleri.....	62
Resim 28: İn vivo koşullarda titanyum disk üzerinde gelişen staphylococcus epidermidis biyofilm (+) örneklerinin zamana bağlı olarak taramalı elektron mikroskop görüntüleri.....	62
Resim 29: İn vivo koşullarda titanyum disk üzerinde gelişen staphylococcus epidermidis biyofilm (-) örneklerinin zamana bağlı olarak taramalı elektron mikroskop görüntüleri.....	63
Resim 30: İn vivo koşullarda titanyum disk üzerinde gelişen candida albicans örneklerinin zamana bağlı olarak taramalı elektron mikroskop görüntüleri	63
Resim 31: 6.haftanın sonunda elde edilen doku örneklerinin Hematoksilen-Eosin boyamalarının ışık mikroskopta değerlendirilmesi	64

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Total diz ve kalça artroplastileri güvenli ve maliyet etkin cerrahi işlemler arasındadır. Özellikle yaşlı nüfusta hasta şikâyetlerini geriletir, fonksiyonları geri kazandırır ve hayat kalitesini yükseltir. Kalça ve diz artroplasti cerrahilerinin yıllar içinde çok daha artması beklenmektedir (1,2). Periprostetik eklem enfeksiyonu (PEE), tüm revizyon kalça cerrahilerinin %15'inin ve tüm revizyon diz cerrahilerinin %25'inin nedeni olarak bilinmektedir (3). PEE hastaları uzun süreli hastane yatışlarında birden çok cerrahi geçirebilir ve uzun süreli antibiyotik kullanımlarına bağlı olarak bu ilaçların yan etkilerine maruz kalabilirler ve yine bu hastalar ayrıca komplike olmayan primer artroplasti cerrahisi geçiren hastalara kıyasla daha düşük yaşam kalitesi ve işlev seviyeleri bildirmektedirler (4). PEE'nin tanı ve tedavisindeki artmış ilgi ve gelişmelere karşın hala bu durum hekimler için mücadele gerektirmektedir (5–7). İmplantların gelişimine karşın enfeksiyon oluşumu azalmamış hatta artış göstermektedir (1,8,9).

Biyofilmler, üretilmiş olan bir hücre dışı polimerik madde matriksi içine gömülmüş tek veya çoklu yığılmış mikroorganizma türlerinden oluşmaktadır. Bakteriyel türlere bakılmaksızın, biyofilm oluşumu bilinen ve iyi tanımlanmış adımlarla ilerlemektedir. Adezyon, ilk aşamadır, bakteri algıladığında ve bir malzemenin yüzeyine bağlanıldığında başlamaktadır. İkinci aşama olan birikim ile bakteriler olgun bir biyofilm oluşturmak üzere toplanmaktadır. Son aşamada ise dağılma veya ayrılma olmaktadır (10). Biyofilm oluşumundaki bu adımların her birinin süresi; inokülasyon boyutu, kolonizasyon mekanizması (direkt perioperatif aşılama, sonradan bariyer kırılması nedeniyle doğrudan kolonizasyon, bakteriyemik yayılım), yabancı maddelerin yüzey özellikleri, bakteri suşu ve virülansı, bakteri türleri, konakçı bağışıklığı, önceki antibiyotik kullanımı ve çevresel faktörler gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak nanosaniyeden saat ila haftalara kadar değişmektedir (11–18). Araştırma modelleri yüzey geometrisi, fiziksel ve kimyasal özellikler, bölgesel kan dolaşımı ve bağışıklık sistemi gibi çevresel faktörlerin, artroplasti uygulanmış eklem yüzeyleri üzerindeki biyofilm gelişimini nasıl etkilediğini göstererek çeşitli bakteriyel biyofilmleri daha iyi anlamamızı ve terapötik stratejiler hakkında fikir sahibi olmamızı amaçlamaktadır.

PEE tedavisinin amacı, ağrıyı azaltmak, normal eklem işlevini eski haline getirmek ve enfeksiyonu ortadan kaldırmaktır. Tedavi kararları kişiselleştirilmeli ve mevcut bilgilerin eleştirel bir incelemesine dayanarak her hasta için en iyi yaklaşımı sunmak amacıyla çok disiplinli bir ekibin işbirliği gerekmektedir. Başarılı bir tedavi için antimikrobiyal ilaç tedavisi ile cerrahinin birleştirildiği bir işlem uygulanmalıdır (7). Yeni bilimsel kanıtlar ve klinik deneyimler ışığında PEE tedavisi için mevcut cerrahi ve antibiyotik tedavi algoritması daha da rafine ve optimize hale gelmektedir (19,20). Bu algoritmalar ve The Infectious Disease Society of America kılavuzları, PEE olgularında debridman, antibiyotik, implant koruma (DAIR) prosedürünün yüksek oranda başarılı olarak izlenebilmesi için, bu işlemin operasyondan sonraki 30 gün içinde veya semptomların ortaya çıkmasının <3 hafta olması halinde mümkün olabileceğini göstermektedir. Ek olarak implantlarda gevşeme görülmemeli, fistül izlenmemeli ve izole edilen bakterilerin oral antibiyotiklere duyarlı olması gerekmektedir (5,20,21). Bu gerekliliklerden birinin olmaması veya DAIR prosedüründen fayda görülmemesi halinde implantlar tek veya çift aşamalı bir süreç ile çıkartılmalıdır. DAIR prosedürünün implantın çıkartılmasının gerektiği cerrahilere göre avantajları arasında daha az maliyet ve kemik stokunun korunması sayılabilmektedir (22). Ayrıca PEE tedavisi için hastalara ait verilerden yararlanarak bir skorlama sistemi ve bu skorlama sistemi doğrultusunda da algoritma oluşturulmuştur (23). Algoritmadaki tedavi seçiminin başlıca ayırım noktalarından biri PEE etkeninin stafilokokkus aureus olup olmaması ve olması halindeki antibiyotik duyarlılığıdır. Stafilokokkus aureusun biyofilm yapısının veya oluşturduğu periimplant enfeksiyonunun diğer etkenlere göre daha hızlı ya da daha güçlü olduğunu gösteren herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak PEE etkeninin stafilokokkus aureus olması halinde DAIR prosedürünün daha başarısız olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (24–27).

En sık akut ve geç başlangıçlı PEE etkeni olan stafilokokkus aureus, en sık gecikmiş başlangıçlı PEE etkeni olan stafilokokkus epidermidis, nozokomiyal PEE'nin en sık gram negatif basil etkeni olan psödomonas aeruginosa ve PEE'nin en sık mantar etkeni olan candida albicans etkenleri çalışmamıza dâhil edilmiştir. Bu PEE etkeni olan 4 farklı mikroorganizma 2 hafta aralıklarla toplamda 6 hafta süresince in vivo hayvan modelinde değerlendirecek ve bu süreçte mikrobiyoloji, histoloji,

elektron mikroskobu ve kan değerleri açısından incelenecektir. Etkenden etkene enfeksiyon süreci gözlemlenerek periimplant bakteri yükü ve biyofilm oluşma zaman izelgesi karşılaştırılacaktır. Sonuçlar ile birlikte PEE tedavi algoritması etkenlere yönelik yeniden değerlendirilecektir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. TOTAL KALÇA VE DİZ ARTROPLASTİSİ ENFEKSİYONLARININ EPİDEMİYOLOJİSİ

Total kalça artroplastisi (TKA) ve total diz artroplastisi (TDA) en maliyet-başarılı cerrahilerdendir ve ilerleyen dejeneratif eklem hastalığı olan milyonlarca hastanın mobilizasyonunun ve fonksiyonunun devam etmesini sağlamaktadır (28). Modern artroplastik cerrahisi tarihinde, uluslararası değerlendirmelerle TDA sayısı TKA sayısından fazla olmuştur. 2010 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan ulusal bir veri değerlendirme sisteminde (NIS) hem TKA hem de TDA için enfeksiyon yükü sırasıyla %2,21 ve %2,32 olarak ölçülmüştür. Enfekte artroplastilerin ham sayısı TKA ve TDA için sırasıyla 2001'de 4.545 ve 7.113'ten, 2010'da 7.761 ve 16.798'e yükselerek çarpıcı bir artış göstermiştir. NIS verileri, enfekte olmuş TDA'ların sayısının 2010 yılında 16.798'den 2020'ye kadar 42.079'a çıkacağını tahmin etmek için kullanılmıştır (29). 1997 ile 2006 arasındaki Finlandiya Artroplastik Kayıtları'ndan alınan verilerin analizinden TDA prosedürleri için enfeksiyon oranı Finlandiya'da %0,8-0,9 olarak saptanmıştır (30,31). Benzer şekilde, Japonya'da yapılan bir araştırmada, enfeksiyonların 1995 ve 2006 yılları arasında gerçekleştirilen TDA prosedürlerinin %0,8'inde meydana geldiği gözlemlenmiştir (32). Revizyon sayısı öngörülen artışları karşılamaya veya aşmaya devam ettikçe, enfeksiyonların artroplastik hasta popülasyonu üzerindeki etkisi artacaktır (33).

Enfeksiyon, primer eklem artroplastik implantlarının kullanım ömrü boyunca çeşitli anlarda gelişebilir ve ameliyat sonrası kısa sürelerle sınırlı değildir. Tipik olarak enfeksiyon teşhisine kadar geçen süre, ameliyat sonrası 2 hafta ile 3 yıl arasında değişebilmektedir (32,34–36). Yapılan retrospektif bir analizde, enfeksiyonların %83,7'sine 2 yıl içinde ortalama 9,6 ayda tanı konulmuştur (37). Norveç Artroplastik Kayıt Defteri, primer TKA'da enfeksiyon sebebiyle revizyon cerrahisinin saptandığı postoperatif gün değerlendirmelerinde ortalama değeri 47 gün olarak bulmuştur (4-782 gün) (36).

2005 ve 2006 tarihli NIS verilerinin son analizinde, TKA revizyon cerrahilerinin %14,8'i ile en sık üçüncü sebebi enfeksiyondur (3). TDA revizyon

cerrahisi için ise bu sıklık %25,2'dir ve enfeksiyon en sık TDA revizyon sebebidir (38). Reenfeksiyonla ilgili birçok çalışma, küçük kohort boyutlarından muzdarip olduğu için enfeksiyon oranları değişken olarak saptanmıştır. Bugüne kadar yapılan en büyük çalışmada 1998 ve 2006 yılları arasında TDA enfeksiyonu sebebiyle nedeniyle revize edilen 368 hasta değerlendirilmiştir. Hastaların %15,8'inde reenfeksiyon gelişmiş ve olguların %86'sı geç kronik enfeksiyonlar olarak kategorize edilmiştir. Reenfeksiyon için ortalama süre 3,6 yıl olarak izlenmiştir (39).

Zorlu tedavi seçenekleri ve revizyon nedenleri arasında artan önem, enfekte revizyon cerrahilerinin sebep olduğu daha büyük bir ekonomik yüke yol açmıştır. Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) yapılan bir çalışmaya göre PEE tedavisi için öngörülen toplam hastane maliyeti 2001 yılında 320 milyon dolardan 2010 yılında 672 milyon dolara yükselmiştir. Mevcut NIS verilerine göre, PEE tedavisinin ABD hastanelerine 2013 yılında 1 milyar dolardan ve 2020'ye kadar 1.68 milyar dolara mal olması beklenmektedir (37). Başka bir açıdan da baktığımızda spesifik olarak, enfeksiyon nedeniyle TKA'nın revizyonu için doğrudan tıbbi maliyetler, aseptik gevşemeden 2,8 kat, primer TKA'dan 4,8 kat daha yüksektir (40). Fransa'daki bir başka çalışmada da septik TKA revizyonunun aseptik revizyondan 2,6 kat, primer TKA'dan 3,6 kat daha pahalı olduğu bildirilmiştir (41). Ayrıca, tartışılan maliyetler doğrudan tıbbi maliyetlerdir ve enfeksiyonun ekonomik etkisinin yalnızca bir yönünü göstermektedir. Enfeksiyon ayrıca daha uzun hastanede yatış süresi ve artmış ayakta tedavi ziyaretleri ile de ilişkilidir; bu durum ayrıca iş gücü kaybına sebep olup günlük aktiviteleri ile birlikte hastanın yaşam kalitesini etkilemektedir (33). Yüksek maliyetler, diğer artroplasti komplikasyonlarına kıyasla enfeksiyonun ciddiyetini ve geniş kapsamlı etkisini daha da aydınlatmaktadır.

2.2. EKLEM ENFEKSİYONLARINDAN KORUNMA

2.2.1. Preoperatif Değerlendirme

Komorbiditeler enfeksiyon riskini güçlü bir şekilde değiştirmektedir, bu nedenle ameliyat öncesi hasta seçimi ve artroplasti adaylarının optimizasyonu önemlidir. Komorbiditeler, genel anlamda değiştirilebilir ve değiştirilemez riskler şeklinde kategorize edilmektedir (42).

Değiştirilemeyen riskler preoperatif olarak değiştirilemez ve bunlara; geçirilmiş cerrahi, geçirilmiş enfeksiyon öyküsü, var olan yabancı materyal ve yaş örnek olarak gösterilebilir. Revizyon artroplasti, primer artroplasti ile karşılaştırıldığında, PEE oranı daha yüksektir (43). Benzer şekilde, primer artroplasti bölgesinde önceki artroplasti dışı ameliyatlar da PEE riskini artırır; bu gözlem muhtemelen travma sonrası artrit PEE ile ilişkili olması ile bağlantılıdır (30,44).

Değiştirilebilir riskler arasında aktif enfeksiyon, aktif tütün kullanımı ve kontrolsüz diyabet gösterilebilir. Bilinen eklem içi enfeksiyon varlığında rutin elektif artroplasti yapılmaz ve enfeksiyon bulgusunun intraoperatif insidental olarak saptanması halinde genellikle protezin implantasyonu ileri bir tarihe ertelenir. Bakteriemi ve bakteriyemi ile ilişkili enfeksiyonların (yani diş apseleri, endovasküler enfeksiyonlar, piyelonefrit) varlığı PEE için bir risk faktörüdür (27,45). Artroplastiden sonra iyileşen kemiğin vasküler beslenmesi yaklaşık 2 yıl süreyle artmaktadır ve bu durum bakteriyemik yayılma riskinin, implant yaşı ile ters orantılı olduğu sonucuna ulaştırmaktadır. Elektif artroplastiden hemen sonra bu risk en yüksek orandadır.

Hiperglisemi, fagosit fonksiyonunu azaltır ve birçok tıbbi alanda hastane komplikasyonları için risk faktörüdür. Ortopedik olmayan çeşitli akut tıbbi bakım alanlarında, hipergliseminin sıkı kontrolü, iyileştirilmiş sonuçlarla değişken bir şekilde ilişkilendirilmiştir (46). Preoperatif hiperglisemi (genellikle açlık glikozu >180 mg/dL olarak tanımlanır) PEE ile ilişkilidir (47), hatta postoperatif sabah hiperglisemi varlığı PEE için daha iyi bir belirleyici olabilmektedir (47,48). Diyabet, kontrol altında olabilme derecesinden bağımsız olarak önemli bir değiştirilemez risk faktörü olarak görülebilmektedir (49).

Otoimmün hastalıkları olan hastalarda artroplasti gerektiren eklem hastalıklarının sıklığı artmıştır ve bu hastalar genellikle immünomodülatör ilaç kullanmaktadırlar. Hem altta yatan hastalıklar hem de tedavileri, enfeksiyon riskini arttıran anormalliklere yatkınlık sağlayabilir. Hangi faktörlerin daha önemli olduğu açık değildir, ancak bu hastalarda cerrahi enfeksiyon riski artar (50,51).

Obezite, eşzamanlı tıbbi komorbiditeler, bozulmuş yara iyileşmesi ve artmış cerrahi süre dâhil olmak üzere çok sayıda mekanizma yoluyla artmış PEE riski ile ilişkilidir (37,52). Artroplasti öncesi kısa süreli kilo kaybı bu riski ciddi oranda

değiştirmeyebilir (53). Morbid obez hastaya, enfeksiyon dahil olmak üzere perioperatif komplikasyon risklerinin arttığı konusunda bilgi vermek gerekir; vücut kitle indeksinin (VKİ) 40'ın üstünde olması halinde perioperatif komplikasyon riskinin belirgin şekilde arttığı görülmektedir (54,55).

Malnütrisyon, popülasyondaki her türlü beslenme eksikliğini kapsamaya çalışan geniş bir terimdir. Çeşitli araştırmalar, malnütrisyonun artroplastide olumsuz cerrahi sonuçlarla ilişkili olduğu konusundaki hipotezi doğrulamaktadır (56,57). Hipoalbüminemi, PEE ve diğer perioperatif komplikasyonların morbid obezite ile karşılaştırıldığında daha faydalı bir belirleyicisi olabilir (58), ancak tek bir preoperatif testin yetersiz beslenmeye duyarlı ve özgül olduğu bulunmamıştır.

Kronik venöz ülserasyon, psöriazis ve egzama gibi cilt koşullarının mikrobiyolojik florayı değiştirerek psödomonas aeruginosa (p.aeruginosa) ve stafilokokkus aureus (s.aureus) gibi patojenik bakterilerle daha fazla kolonileşmeye neden olduğu belgelenmiştir (59–61). Küçük retrospektif çalışmalar, aktif psoriasisli hastalar sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında hem postoperatif yara enfeksiyonlarının hem de PEE oranlarının daha fazla olduğunu göstermektedir (62).

Perioperatif sigara bırakma cerrahi sonuçları iyileştirmektedir (63,64). Ek olarak, tütün dumanının cerrahi sonuçlar üzerinde doza bağlı bir etkisi vardır. Sigara içenler arasında, günde birden fazla paket sigara kullanılması, kalça artroplastisi için daha yüksek cerrahi komplikasyon riski oluşturabilir (65).

Mesane kateterizasyonu çoğu anestezi protokolünde rutindir ve asemptomatik bakteriüri zemininde geçici bakteriyemi ile ilişkilidir (66). Ancak mevcut yayınlanmış çalışmalardan asemptomatik bakteriüri ile PEE arasında bir ilişki olmadığı açıkça gösterilmiştir (67,68).

2.2.2. Perioperatif Dönemde Enfeksiyondan Korunma

Perioperatif antibiyotik kullanımı, hemen hemen tüm cerrahi alanlarda cerrahi saha enfeksiyonu insidansını azaltmak için alınan önlemlerin ayrılmaz bir parçasıdır ve ortopedik cerrahi istisna değildir (42). Ayrıca cerrahi saha enfeksiyonu artroplastisi ile ilgili enfeksiyonların gelişimi için önemli bir risk faktörüdür ve ciddi morbiditeye

neden olabilmektedir (69). Spinal cerrahi, kapalı kırıkların onarımı, herhangi bir ortopedik fiksasyon cihazının implantasyonu ve artroplasti ameliyatlarında cerrahi saha enfeksiyonunun önlenmesi için intravenöz antibiyotiklerin kullanılması önerilmektedir (70). Sefazolin ortopedik cerrahi için önerilen ilk ilaçtır. Sefalosporinlere alerjinin belirlenmesi halinde vankomisin veya klindamisin alternatif olarak kullanılabilir. PEE'ye neden olan spesifik bakterilerin sıklığı artroplasti bölgesine göre değişmekle birlikte (71), bu bölgelere göre antibiyotik seçilmesi önerisi yoktur. Perioperatif antibiyotiklerin zamanlaması ve dozu, cerrahinin başlamasından önce yeterli doku konsantrasyonlarının elde edilmesine izin vermede kritik öneme sahiptir. Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (Center for Disease Control and Prevention) (72) ve Ulusal Cerrahi Enfeksiyon Önleme Projesi (the National Surgical Infection Prevention Project) (73), dozların insizyona göre 1 saat içinde ve herhangi bir turnike uygulanmadan önce tam olarak uygulanması gerektiğini söylemektedir. Antibiyotiğin iki yarılanma ömrünü aşan durumlarda, aşırı kan kaybı (>1500ml; (70)) veya sıvı resüsitasyonu (>2000ml; (74)) vakalarında antibiyotiğin yeniden uygulanması gerekmektedir.

2.3. BİYOFİLM OLUŞUMU VE BİYOLOJİK CEVAP

2.3.1. Giriş

Mikroorganizmaların yaklaşık %99'u, ekzopolimerik bir matris yoluyla hücrelerin biyotik ve abiyotik yüzeylere yapışmasıyla oluşan biyolojik yapı olan biyofilm olarak bilinen mikrobiyal topluluklarda yaşamaktadır (75). Biyofilm oluşumu, çok hücreli organizmalarda farklılaşmaya benzeyen gelişimsel bir süreçtir ve bakterilerin spesifik biyofilm genlerinin kontrolü altında iki tabaka oluşturarak büyüyüp bölünebilecekleri bir yüzeye bağlanmasıyla başlamaktadır (76). Birkaç çalışma, biyofilmlerin, planktonik bir durumdaki aynı bakterilere kıyasla, antimikrobiyal maddelere karşı toleransta 100 kattan daha fazla bir gücünün olabileceğini göstermektedir (77,78). Tıbbi olarak abiyotik yüzeylerle ilişkili biyofilm enfeksiyonlarının çeşitli formları intravenöz (iv) kateterler, idrar sondaları ve son olarak ortopedik protez implantlarını içermektedir (79). Bu yapay yüzeylerdeki biyofilm organizmaları, sıklıkla cihazın yerleştirilmesi veya implantasyonu sırasında

hastaların veya tıbbi personelin cilt florasından kaynaklanmaktadır. Baskın olan mikroorganizmalar arasında intravasküler kataterlerde koagülaz-negatif stafilokoklar (KNS), s.aureus, psödomonas, enterokokkus, stenotrofomonas ve candida; idrar sondalarında escherichia coli (e.coli), enterokokkus, psödomonas, klebsiella, enterobakter, proteus mirabilis ve candida; kalça veya diz protez implantlarında ise stafilokokkus türleri, propionibacterium acnes ve bazı gram negatif basiller (GNB) gösterilmektedir (79). Bu cihazlar hastalar arasında sıklıkla uzun bir süre bulunduğundan, biyofilm oluşumu bölgesel ve/veya sistemik enfeksiyonlara neden olabilmektedir (79). 21.yüzyılın en büyük mücadelesi, özellikle ortopedik alanda, mikrobiyal biyofilmlerin sağladığı enfeksiyonların tedavisi için yeni ve etkili stratejilerin geliştirilmesidir (80,81).

2.3.2. Biyofilm Oluşumu

Biyofilm üretimi, planktonik bakterilerin, 5000 olan Reynolds sayısını aşan kesme kuvvetleri varlığında yüzeye yapışmasıyla başlayan, karmaşık, çok aşamalı bir süreçtir (82). Mikroorganizmaların yüzeylere yapışabilme yeteneği biyofilm üretimi için temeldir; gerçekten de, yapışma yeteneklerini yitiren bakterilerin özellikle çok pürüzsüz olan biyotik ve abiyotik yüzeyleri kolonize edemedikleri görülmüştür (83). Bakteriyel yapışma; Van der Waals çekim kuvvetleri, Brown hareketi, yerçekimi kuvvetleri, elektrostatik yükler ve hidrofobik etkileşimler ile hücrelerin yüzeye doğru ilk çekimi ile gerçekleşmektedir (84). Daha sonra pili, fimbria veya ekstraselüler polimerik maddeler gibi mikrobiyal yüzey yapılarının kullanılmasıyla moleküler ve hücrel etkileşimler oluşmaktadır (85,86). Biyofilm üretiminin bir sonraki fazı, serbest yüzen hücrelerin bir mikrokoloni düzenlemesi şeklinde yapışılacak yüzeyin üzerinde çoğalması ile karakterize edilmektedir. Bu aşamada, hücrel hareketlilik azalmakta ve ekzopolisakkarit üretimi, planktonik hücreleri ve besinleri çekmek için aktive edilirken, birkaç sinyal molekülü, çekirdek yanıtı (quorum sensing) olarak bilinen bir işlem ile hücrel tepkileri koordine etmek üzere hücre yoğunluğuna bağlı bir şekilde salgılanmaktadır (87). Aynı zamanda, polisakkarit bir hücre dışı matriksin üretimi, besinleri ve planktonik hücreleri yakalamak için biyofilm içine gömülü mikroorganizmalar tarafından kullanılmaktadır (87). Hücre dışı matriks, farklı

mikroorganizmalar arasında büyük ölçüde farklılık göstermekte ve ayrıca bu matriks biyofilmin oluştuğu büyüme koşullarından da etkilenmektedir (88). Biyofilm oluşumunun son aşaması, tek veya kümelenmiş hücrelerin diğer bölgelere yayılması için gerekli bir işlem olan hücre saçılmasıdır. İnce mekanik kuvvetler (kan akışı), hücre dışı matriksi parçalayan enzimler ve ortamdaki besin kısıtlaması gibi hücresel dağılışı destekleyen birkaç mekanizma vardır (87). Saçılmış olan hücreler artmış yapışma kabiliyeti, artan patojenite ve yeni enfeksiyon odakları oluşturmalarına izin veren filamentasyon göstermektedirler (89).

2.3.3. Antimikrobiyal Maddelere Direnç

Biyofilm yapısının özel doğası ve biyofilmde bulunan mikroorganizmaların fizyolojik özellikleri, antibiyotikler ve dezenfektanlar gibi antimikrobiyal maddelere karşı güçlü bir direnç sağlamaktadırlar. Dirençten sorumlu ana mekanizmalar, antimikrobiyal maddenin biyofilm matriksi boyunca geçmesini geciktirip biyofilm içine gömülü mikroorganizmaların büyüme hızını değiştirmektedirler. Matriksin polimerik maddeleri, moleküllerin biyofilm içerisine taşınma hızını ve antimikrobiyal maddelerin matriks malzemesi ile tepkimesini etkileyebilmektedir (83). Biyofilm ile ilişkili hücrelerin, planktonik hücrelerden önemli ölçüde daha yavaş büyüdüğü, dolayısıyla antimikrobiyal ajanların daha yavaş adsorbe olduğu varsayılmaktadır.

2.3.4. Biyofilme Karşı Konak Yanıtı

Enfeksiyonlar sırasında, insan organizması, immün sistem hücreleri, reseptörler ve sayısız hümmoral faktör gibi etkileyici başlıkların aracılık ettiği hızlı bir tepki oluşturmak için doğal bağışıklık savunmasını (innate immune defense) kullanmaktadır. Doğal öldürücü hücreler (natural killer cell) veya profesyonel fagositler, mikropların yüzeyinde bulunan patojene bağlı moleküler yapıyı tanıyarak fagositozu indükleyen, antimikrobiyal ürünlerin ve antiinflamatuvar sitokinlerin salgılanmasını ve adaptif immün yanıtın (adaptive immune response) aktivasyonu ve düzenlenmesi için gerekli olan diğer faktörleri indükleyen bir sinyal gönderme yolu kaskadını başlatabilmektedir (90). Laktoferrin, biyofilm büyümesi için gerekli olan demir kaynağını azaltıp ve seğirme hareketliliğini arttırırken (17), LL-37 ilk bağlama

fazının azalmasına, yüzey hareketliliğinin artmasına ve çekirdek yanıt (quorum sensing) sistemi ile etkileşime girilmesine neden olmaktadır (91). Polimorfonükleer nötrofiller (PMN) mikrobiyal biyofilme ulaştığında fagositoz, laktoferrin ve elastazın hızlı degranülasyonu nedeniyle biyofilm kütleğinde bir azalma ortaya çıkarmaktadır (92). Laktoferrin, güçlü iyon şelatlama aktivitesi sayesinde biyofilm oluşumunu da önleyebilmektedir (93).

İnsan lökositleri, olgun biyofilmdeki besin kanallarını kullanarak biyofilme nüfuz edebilmekte, ancak bakterileri ve bozulmuş bir fagositoz sebebiyle öldürmek için azaltılmış bir yetenek sergilemektedirler (94). Ayrıca, makrofaj eylemi, bozulmuş biyofilm malzemesini yutabilecek olsa bile, biyofilm yapısının büyüklüğü ve yüksek karmaşıklığı ile inhibe edilmektedir (95). Ayrıca, bakteri kaynaklı pH'daki değişimlerle birlikte biyofilm mikro-ortamı ve biyofilm matriksinden toksinlerin salınması, makrofajların antibakteriyel etkinliğini engellemeye katkıda bulunmaktadır. Dahası, stafilokokkus biyofilmi, antiinflamatuvar ve profibrotik yolları desteklemek için immün tepkisini çarpıtarak insan vücudunda kalabilmektedir. Bunun yerine, p.aeruginosa biyofilmi, fizyolojik aktivitelerini geçirme ve uygulama yeteneğine sahip olmayan fagositlerin göç davranışlarını olumsuz yönde etkileyebilmektedir (96). İlginç bir şekilde, p.aeruginosa biyofilminin, PMN'lerin varlığında, muhtemelen DNA ve aktin gibi PMN'ler tarafından üretilen spesifik polimerler nedeniyle, 2 ila 3,5 kat arttığı gözlenmiştir (97).

2.3.5. Biyofilmin Klinik Önemi

Ortopedik enfeksiyonlar, dünya çapında yapılan toplam kalça ve diz artroplastilerinin sayısı dikkate alındığında ciddi bir problem teşkil etmektedir. Yapay eklemler, hastaların yaşam kalitesini önemli ölçüde arttırabilse de, protez implantlarındaki yetmezlik yüksek morbidite ve ağrıya neden olabilmektedir (1). Periprostetik enfeksiyonlar göz önüne alındığında, bakteri penetrasyonu ile ilişkili iki ana yol ve zaman ölçeği vardır. Birincisi perioperatif dönemdir ve bu dönemde enfeksiyon kaynağı hastanın endojen bakterileri veya ameliyathane çevresi ya da bu ameliyatta bulunan personeller kaynaklı mikroorganizmalardır. İkincisi ise postoperatif dönemde meydana gelen hematogen yayılımdır (98). Bakteriyel yayılım

enfeksiyonlarda önemli bir rol oynayarak kronik altta yatan bir sürecin alevlenmesi gibi görünen akut bulaşıcı olayları açıklayabilmektedir (99). Biyofilmin dış tarafında bulunan bakteriyel hücreler konağın savunmasına ve antibiyotiklerine en fazla maruz kalan bölgedir, ancak bu mikroorganizmalar birkaç koruyucu savunma geliştirmiştir. Biyofilm içindeki hücrelerin matriks katmanları, antibiyotiklerin difüzyonunu yavaşlatan fiziksel bir engel oluşturmaktadır. Dış biyofilmdeki metabolik aktivite, antibiyotik bozulmasına katkıda bulunabilecek asidik veya anoreksik alanlar yaratabilmektedir (100). Ayrıca, biyofilm matriksinden salgılanan birkaç polimer, antibiyotiklere bağlanıp bunları pasif hale getirerek bir antibiyotik batığı oluşturabilmektedir (101). Ek olarak, biyofilmin içindeki besinlerin tükenmesi açlıktan kaynaklanan uyusukluk ve dirençli hücrelerin gelişmesine yol açabilmektedir. Üstelik, matriks bileşenlerine bağlanan ve bakteriler tarafından difüzyonla alınan bu sınırlı taşıma sonucu daha az antibiyotik dozuna maruz bırakılmış olan bu bakteri grubuna karşı ölümcül seviyenin altında bir antibiyotik konsantrasyon gradyanı ile müdahale edilmiş olmaktadır. Sonuç olarak, bu ölümcül seviyenin altındaki maruz kalma, biyofilm oluşumuna katkıda bulunarak antibiyotik toleransı gelişiminde artışa yol açabilmektedir (102). Biyofilm, enfeksiyonun mikrobiyolojik tanısında da önemli bir problem teşkil eder, çünkü matriks bakterilerin örneklenmesini ve kültürlenmesini engelleyebilmektedir. Vakaların %30'unda biyofilm yapısındaki gömülü bakterileri prostetik yüzeylerden ayırmak zor olabilmektedir. Son zamanlarda kimyasal bağlanma biyofilmi (dithiothreitol) kullanan yeni teknolojik yaklaşımlar geliştirilmiştir (103,104).

2.3.6. Mikroorganizmaların Görece Görülme Sıklığı

Kültür sonuçları bilinmeden önce uygun ampirik antimikrobiyal tedavi kararlarını almak için, literatürde bildirilen PEE'nin ortak mikrobiyolojik nedenleri incelenmelidir. Kalça veya diz artroplastisi enfeksiyonu olan >2.400 hastayı içeren 14 büyük çalışmanın mikrobiyolojik sonuçları, Tablo 1'de toplu olarak sunulmaktadır (21,69,113–116,105–112). Bu çalışmalar, cerrahi stratejiler, ülkeler ve zaman açısından bir spektrumun varlığını göstermektedir. Gram-pozitif kok, incelenen tüm çalışmalarda kalça ve diz PEE'lerinin çoğunluğunun sebebidir. PEE'lerin %50 ila

%60'ına katkıda bulunan etkenler s. aureus ve KNS'dir. Aerobik GNB, diz ve kalça PEE vakalarının %10'unda rol oynamaktadır.

Tablo 1: Protez eklem enfeksiyonunun sık görülen etkenleri

Enfeksiyon	Protez eklem enfeksiyonu olan hastaların yüzdesi			
	Kalça ve diz		Kalça ^c	Diz ^c
	Tüm dönemler ^a	Erken enfeksiyon ^b		
Stafilokokkus aureus	27	38	13	23
Koagülaz negatif stafilokok	27	22	30	23
Streptokokkus türleri	8	4	6	6
Enterokokkus türleri	3	10	2	2
Aerobic gram- basil	9	24	7	5
Propionibacterium acnes	4	3	9	5
Kültür negatif türler	14	10	7	11
Polimikrobial enfeksiyon	15	31	14	12

^a 2345 eklemde toplanan veriler (21,69,113–116,105–112)

^b 637 eklemde toplanan veriler (98,109,111,112,116,118,119,127)

^c Mayo Clinic Protez Ortak Enfeksiyon Veritabanından 1.979 kalça ve 1.427 diz PEE'si

Erken başlangıçlı PEE'nin olası etkenlerinin belirlenmesi, bu enfeksiyonların, implantın çıkarılmadığı bir debridman prosedürü ile tedavi edilebilmesi sebebiyle özellikle önemlidir. Erken başlangıçlı kalça veya diz artroplasti enfeksiyonu (çalışmaya bağlı olarak ameliyattan 1 veya 3 aydan az bir sürede enfeksiyonun başlaması olarak tanımlanmıştır) olan 637 hasta ile tüm zaman aralıklarının dikkate alındığı hastalar karşılaştırıldığında dikkate değer farklılıklar izlenmiştir (109,112,117–122). S.aureus ve aerobik GNB ile oluşan enfeksiyonlar erken başlangıçlı enfeksiyonların %60'ı ile ilişkilidir. Bu mikroorganizmaların yüksek virülansı muhtemelen ilk birkaç ay içinde semptomların başlamasına yol açmaktadır. Bununla birlikte, KNS bu ortamda önemli patojenler olmaya devam etmektedir. Polimikrobiyal enfeksiyonu olan hasta sayısı da, bu süre zarfında yüksektir ve muhtemelen cerrahi sırasında birden fazla mikroorganizma ile inokülasyonu veya cerrahi insizyondan bitişik kirlenmeyi yansıtmaktadır. Buna karşılık, ertelenmiş

başlangıçlı PEE (implantasyondan sonraki 3 ay ila 2 yıl arası) tipik olarak, ameliyat sırasında daha az virülan mikroorganizmalar ile inokülasyonu içermektedir. KNS ve enterokoklar daha yaygındır aerobik GNB de daha az olacak şekilde izole edilebilmektedir (123). Geç başlangıçlı PEE (implantasyondan 1-2 yıl sonra), sıklıkla başka bir bölgedeki enfeksiyondan kaynaklanan hematogen yayılmadan kaynaklanmaktadır. S.aureus bu dönemde sıklıkla görülmektedir (124–126). Daha az yaygın olarak da, geç başlangıçlı PEE cerrahi sırasında inoküle olan nispeten avirulan mikroorganizmalardan kaynaklanabilmektedir.

2.3.7. Antibiyotikler

Sadece iki antibiyotiğin biyofilmle ilgili aktivite gösterdiği gösterilmiştir. Bunlar stafilokoklara karşı rifampisin ve gram negatif bakterilere karşı florokinolonlardır. PEE tedavisinde bu etkinin önemi ve bu iki antibiyotiğin üstünlüğü klinik çalışmalar ile desteklenmektedir (128–131).

TDA’da PEE durumunda DAIR prosedürü ve tek aşamalı revizyonları takiben antibiyotik tedavisinin süresi 12 haftadan başlayıp bazen 6 aya kadar uzatılabilmektedir (71). Bu süreler, bir protez ekleminin aseptik gevşeme nedeniyle değişiminde alınan peri-operatif kültürlerde enfeksiyon olması halinde veya iki aşamalı bir prosedürde reimplantasyon aşamasında alınan kültürlerde tekrar enfeksiyon görülmesi durumunda da uygulanmaktadır. 12 haftalık bir tedavi süresi oldukça etkili görünmektedir (132). Daha uzun tedaviler tedaviyi iyileştirmeden sadece nöksleri erteliyor görünmektedir (133). İki aşamalı revizyonlarda antibiyotik tedavisinin süresi daha kısadır. Prostetik materyaller olmadan normal osteomyelit tedavisinin süresi genellikle 4-6 hafta olarak önerilmektedir (71). Bununla birlikte iki aşamalı prosedürlerde, hastaların antibiyotik içeren bir ara parça (spacer) (134) ve 5 günlük sistemik antibiyotik tedavisi alınan bir kombinasyonunda veya sadece antibiyotik yüklü çimentoyla peri-operatif antibiyotik alınan bir diğer kombinasyonda yüksek tedavi oranları bildirilmiştir (135). Bu sonuçlar, iki aşamalı prosedürlerde antibiyotik seyrinin kısaltılmasının tamamen güvenli olabileceğini göstermektedir. PEE’de kullanılan uzun antibiyotik tedavileri, antibakteriyel ilaçların toksik yan etkilerine yol açmaktadır. Parenteral tedavinin en sık görülen yan etkileri döküntüler,

mide-bağırsak yan etkileri ve ateştir. Bununla birlikte, renal, hepatik, hematolojik ve alerjik toksisiteler de göreceli olarak yaygındır (136). Toksisite, özellikle linezolid (semptomatik trombositopeni, nöropati) (137), metronidazol (nöropati) ve aminoglikozitler (nefrotoksisite ve ototoksisite) için bir sorundur. Eğer alternatifler varsa bu ilaçlar uzun süreli tedavi için kullanılmamalıdır.

2.3.8. Etken Patojene Yönelik Tedavi

S.aureus, PEE'ye neden olan en virülan mikroorganizmadır. Sıklıkla erken postoperatif enfeksiyonda görülür, ancak aynı zamanda geç PEE'nin de büyük bir yüzdesine s.aureus neden olmaktadır. Metisiline duyarlı suşlar için ilk tercih edilen iv tedavi, flukloksasilin, dikloksasilin veya kloksasilindir. Metisiline dirençli suşlar için ise ilk tercih edilen iv tedavi vankomisin veya teikoplanindir; ortak alternatifler linezolid (138–140) veya daptomisin (141). Rifampisin ile kombinasyon tedavisi, DAIR prosedürü veya tek aşamalı revizyon ile tedavi edilen stafilokokkal PEE'de anlamlı olarak daha yüksek oranda başarı sağlamaktadır (130,131,142) ve bu nedenle stafilokok duyarlıysa ve hasta ilacı tolere edebiliyorsa, rifampisin reçete edilmelidir. Oral seçenekler daima duyarlılık testi sonuçlarına bağlı olacaktır, ancak şu antibiyotikleri içerebilmektedir: Klindamisin, minosiklin, ko-trimoksazol, florokinolonlar ve fusidik asit (133,143). Florokinolonlar ve fusidik asit, monoterapi olarak değil, sadece rifampisin ile kombinasyon tedavisi olarak uygulanmalıdır. PEE için oral linezolid kullanımı birçok denemede incelenmiştir. İlaç yüksek tedavi oranları göstermekle birlikte aynı zamanda yüksek toksisite ile de ilişkilidir.

Stafilokokkus epidermidis (s.epidermidis), PEE ile en sık ilişkili olan KNS türüdür, bunu stafilokokkus hominis, stafilokokkus capitis ve stafilokokkus lugdunensis izlemektedir (144,145). PEE'de bulunan KNS'nin çoğunluğu metisiline dirençlidir. Metisilin için duyarlı suşlarda flukloksasilin ilk tercih edilen iv antibiyotiktir. Genellikle metisilin direnci durumunda vankomisin önerilmektedir, buna alternatif olarak da linezolid veya daptomisin tercih edilen tedavi seçenekleridir. Oral seçeneklerle ilgili öneriler, rifampisin tedavisi için tavsiyeler de dâhil olmak üzere, s.aureus için olanlarla aynıdır.

PEE'ye neden olan ana enterokok türü enterokokkus faecalis'tir. Enterokokkus faecium daha az bulunurken ve PEE'de diğer türler çok nadir görülmektedir. Enterokoklar genellikle geç başlangıçlı PEE'de olduğu gibi monomikrobiyal olarak veya erken başlangıçlı PEE'de olduğu gibi polimikrobiyal enfeksiyonun bir parçası olarak ortaya çıkabilmektedir (107,146). İlk tercih edilen tedavi iv amoksisilin, ampisilin veya vankomisindir. Enterokokkus faecalis genellikle amoksisiline karşı hassastır, çoğu enterokokkus faeciumun enfekte edici suşları amoksisilin ve ampisilin dirençlidir. Enterokok kaynaklı PEE için alternatif iv antibiyotikler arasında daptomisin ve linezolid bulunmaktadır. Daha da karmaşık olan ise enterokokların oral tedavisidir. Amoksisilin ve linezolid, enterokoklara karşı etkinliği belirlenmiş tek oral antibiyotiktir. Amoksisilin, oral tedavi ile yeterli doku seviyelerine ulaşmada başarısız olabilir, ancak uzun süreli linezolid tedavisinin toksisitesine maruz kaldığı durumlarda hala tercih edilmektedir. Şimdilik, enterokokkal PEE'nin optimal tedavisi iv tedavi olarak devam etmektedir.

Çoğu streptokokkal PEE vakası, A (streptokokkus pyogenes), B (streptokokkus agalactiae), C ve G gruplarının (streptokokkus dysgalactiae) hemolitik streptokoklarından kaynaklanmaktadır. Genellikle streptokoklar, iv tedavi için ilk tercih edilen antibiyotik olan penisilin ve amoksisiline duyarlıdır. Direnç veya alerji durumunda iv alternatifler sefalosporinler (sefazolin, seftriakson), vankomisin veya klindamisinidir. Oral tedavi için ilk tercih edilen antibiyotik klindamisinidir. Siprofloksasin streptokoklara karşı etkili olarak kabul edilmemektedir. Her ne kadar streptokoklar rifampisine karşı duyarlı olsalar da, bu patojenler için kombinasyon tedavisinin değeri belirlenmemiştir ve bu nedenle rifampisin şu anda tavsiye edilmemektedir.

GNB'nin büyük retrospektif bir çalışmada PEE'deki tüm patojenlerin %12'sini oluşturduğu gösterilmiştir (128). E.coli, klebsiella, proteus ve enterobakter türleri gibi enterobacteriaceae, en sık rastlanan patojenlerdir ve bunu takiben p.aeruginosa izlenmektedir (128,147,148). Enterobacteriaceae için ilk tercih edilen tedavi, üçüncü kuşak sefalosporin (seftriakson, sefotaksim) veya daha dirençli suşlar için karbapenem gibi aktif bir beta-laktam antibiyotiktir. Siprofloksasin içeren tedavi, PEE'de GNB'nin neden olduğu enfeksiyonlarda daha yüksek tedavi oranları ile ilişkilidir (128,148). Eğer patojen duyarlı ise, bu nedenle ilk iv tedaviden sonra oral siprofloksasine geçiş

yapılmalıdır. *P.aeruginosa* ile gelişen PEE'de ilk tedavi, seftazidim, piperasilin-tazobaktam veya bir karbapenem (meropenem, imipenem, doripenem, ancak ertapenem değil) gibi antipsödomonal beta laktam ile yapılmaktadır. Duyarlı ise, tedavi oral siprofloksasin ile değiştirilmelidir. Siprofloksasin, *p.aeruginosa* ile oluşan PEE'lerde DAIR prosedüründen sonra uygulandığında yüksek tedavi oranlarıyla ilişkili tek antibiyotiktir.

Gram-pozitif bir basil olan *propionibacterium acnes* (*p.acnes*), PEE'de izole edilen en yaygın anaerobik mikroorganizmadır ve özellikle omuz artroplastisinden sonra görülmektedir (149). PEE'nin bu düşük virülan mikroorganizma tarafından klinik olarak tanıtılması genellikle yavaştır ve bu sebepten enfeksiyonlar genellikle implantasyondan sonra geç ortaya çıkmaktadır. *P.acnese* bağlı PEE için önerilen birinci basamak iv tedaviler; penisilin, vankomisin veya klindamisin olup, alternatif olarak sefalosporinlerdir (sefazolin, seftriakson) (5). Klindamisin, suşun duyarlı olduğunun gösterilmesi halinde, ilk tercih edilen oral antibiyotiktir. Oral amoksisilin bir alternatif olabilmektedir. Rifampisin, *p.acnes* biyofilmlerine karşı *in vitro* olarak aktiftir (150), ancak *p.acnes* sebebiyle gelişen omuz PEE'nin gözlemsel bir çalışmasında rifampisin ile yapılan bir tedavi, oral antibiyotik (çoğunlukla klindamisin) ile monoterapiden daha iyi sonuçlara yol açmamıştır. Rifampisin ile tedavi bu nedenle *p.acnes* için önerilmemektedir.

Polimikrobiyal enfeksiyonların farklı etiyolojileri ve kökenleri olabilmektedir. Polimikrobiyal bağırsak florası veya cilt florası enfeksiyonu ile ortaya çıkabilmekte veya farklı tipik nozokomiyal türler birleşebilmektedir. Polimikrobiyal enfeksiyonlarda genel klinik sonuç, monomikrobiyal enfeksiyonlara göre daha kötüdür (151). Polimikrobiyal enfeksiyonlar için genel tedavi stratejileri sağlanamamaktadır.

Mantarların neden olduğu PEE oldukça nadir görülmektedir ve *candida albicans* en sık izlenen mikroorganizmadır. Mantar kaynaklı PEE durumunda protezin korunarak bir tedavi uygulanması neredeyse imkânsızdır ve iki aşamalı bir değişim önerilmektedir. *C.albicans* için flukonazol tercih edilen tedavi yöntemidir. Kültür sonuçlarına göre antifungal tedavi başlatılabilir ve her zaman klinik bir mikrobiyolog veya bulaşıcı hastalık uzmanına danışılmalıdır (152,153).

2.4. KALÇA EKLEMİNİN PERİPROSTETİK ENFEKSİYONU

2.4.1. Giriş

TKA bugün yapılan en başarılı operasyonlardan biridir. Hastaların yaklaşık %95'i cerrahi sonrası kalça ile ilişkili ağrı semptomlarında iyileşme bildirmektedir. PEE kalça protezi ameliyatından sonraki başarısızlığın önde gelen nedenlerinden biridir. Hastaya ciddi miktarda fiziksel ve duygusal bir yük olmasının yanında toplum üzerinde de büyük finansal baskı uygulamaktadır. PEE'nin ortadan kaldırılması devam eden bir sorun olmaya devam etmektedir ve bugün üstesinden gelmek için daha yoğun çabalar harcanmaktadır.

2.4.2. Tanım

2018 yılında güncellenen PEE kriterleri ile yaygın bir standardizasyon ve tanı başarısı elde edilmeye çalışılmıştır (127). Hem diz hem de kalça eklemi için değerlendirme ölçütleridir. Bu yeni skor bazlı PEE tanı algoritmasında önceki algoritmadaki gibi majör iki kriter bulunmaktadır. Bunlardan ilki aynı etkenin iki farklı kültürde üretilmesidir. Diğerisi ise protezin ekspoz olma veya eklem bölgesi ile ilişkili olduğu belli olan fistül varlığıdır. Minör kriterler ise; artmış serum c-reaktif protein (CRP) veya d-dimer değeri, artmış serum eritrosit sedimentasyon hızı (ESR), artmış sinovyal beyaz küre (BK) veya lökosit esteraz (LE) değeri, pozitif alfa defensin seviyesi, artmış PMN oranı ve artmış sinovyal CRP değeridir. Bu değerlerin skorlamalarına göre 6 puan ve üstü PEE olarak kabul edilir. Preoperatif değerlerin net olmaması veya aspirasyon içeriğinin gelmemesi halinde intraoperatif tanı kriterlerine bakılır ve bunlar ise pozitif histoloji, pürülan görünüm ve tek pozitif kültürdür. Bu hesaplamada da 6 puan ve üstünün görülmesi halinde PEE varlığı kabul edilmektedir (Tablo 2). Belirtilen parametrelerin akut ve kronik dönemlere göre ayrı şekilde belirtilmiş eşik değerleri tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo 2: PEE için yeni skor temelli tanım.

Majör Kriter			Karar	
Aynı organizmanın iki pozitif kültürü			Enfekte	
Protezin ekspoze olması veya eklem bölgesi ile ilişkili olduğu belli olan fistül varlığı				
Preoperatif Tanı	Minör Kriter		Skor	Karar
	Serum	Artmış CRP veya D-dimer	2	≥6 enfekte 2-5 enfeksiyon riski* 0-1 enfekte değil
		Artmış ESR	1	
	Sinovyal Sıvı	Artmış BK veya LE	3	
		Pozitif alfa-defensin	3	
		Artmış PMN yüzdesi	2	
		Artmış CRP	1	
İntraoperatif Tanı	*Belirsiz preop skor veya sinovyal örnek yetersizliği		Skor	Karar
	Preoperatif skor		-	≥6 enfekte
	Pozitif histoloji		3	4-5 kesin değil**
	Pozitif pürülans		3	≤3 enfekte değil
	Tek pozitif kültür		2	

*Yetersiz minör kriterleri olan hastalar için, *PEE tanımını yerine getirmek için intraoperatif kriterler de kullanılabilir. ** Yeni nesil sekanslama gibi diğer moleküler tanılamaları göz önünde bulundurun*

Tablo 3: Mevcut Bulgularla Birleştirilmiş 2013 ICM'sine Dayalı Önerilen Eşik Değerler

Belirteç	Kronik (>90 gün)	Akut (<90 gün)
Serum CRP (mg/dL)	1.0	10
Serum D-dimer (ng/mL)	860	860*
Serum sedimentasyon hızı (mm/sa)	30	-
Sinovyal BK sayısı (hücre/ μ L)	3000	10000
Sinovyal PMN (%)	80	90
Sinovyal CRP (mg/L)	6.9*	6.9
Sinovyal alfa-defensin (sinyal-sınır oranı)	1.0	1.0

ICM, Uluslararası Konsensus Toplantısı;.* Belirli bir eşiği doğrulamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

2.4.3. Sınıflama

PEE genellikle olunan ameliyattan geçen süreye göre sınıflandırılmaktadır. Bu sınıflandırma yöntemi, tedavi yöntemini belirlemeye yardımcı olduğu için popüler hale gelmiştir. 1975'te Coventry (154), ilk cerrahiden geçen zamana göre kronolojik sırayla PEE sınıflandırma yöntemlerinden birini tanımlamıştır. Üç aşamadan oluşmaktadır. Aşama 1 (hemen ameliyat sonrası dönem) ilk 30 gün içinde gerçekleşerek enfekte olmuş hematoma veya yüzeysel yara enfeksiyonu sonucu daha da ilerlemektedir. Aşama 2 veya gecikmiş enfeksiyon, ameliyattan 6-24 ay sonra ortaya çıkarak belki de daha küçük bir inokülasyon veya düşük virülanslı organizma nedeniyle intraoperatif kontaminasyondan kaynaklanmaktadır. Üçüncü aşama geç (post-operatif 2 yıldan fazla) oluşur ve genellikle hematogen yayılmadan kaynaklanmaktadır. Ayrıca, konakçı bağışıklığındaki değişiklikler, orijinal ameliyatta implante edilen fakat hareketsiz kalan bakterilerin büyümesini tetikleyebilmektedir. 2006 yılında Toms ve arkadaşları bu sınıflamayı modifiye etmiştir. Tip 1 cerrahi sonrası 6 hafta içinde meydana gelen enfeksiyonlardır (akut enfeksiyonlar). Tip 2 ameliyata girme süresine bakılmaksızın, örneğin sinüs gibi kronik enfeksiyon belirtileri ile gecikmiş bir tablo varlığını tanımlamaktadır. Tip 3 ise iyi işleyen bir kalçada aniden ortaya çıkan enfeksiyondur ve genellikle uzak bir kaynaktan gelen hematogen yayılmaya bağlı olarak görülmektedir.

2.4.4. Etken Mikroorganizmalar

Bakteriler PEE'lerin olağan nedenidir ve en sık ilişkili organizma *S. aureus*'tur. Artroplasti uygulanan eklemde immün yanıtı yoktur ve yüzeysel bakteri için bağlayıcı bir bölge olarak hareket edebilmektedir. Bakteriler cerrahi sırasında doğrudan kirlenme veya hematogen yayılmadan kaynaklanabilmektedir (155). Yeni çalışmalar, tek bir patojen büyümesinden polimikrobiyal sonuçlara doğru bir eğilim göstermektedir. Bağışıklık sistemi zayıflamış bireylerde mantar enfeksiyonu da göz önünde bulundurulmalıdır. Pek çok durumda, etken mikroorganizma bilinmemektedir ve bu hastaların revizyon ameliyatından sonra daha kötü bir sonuç alma olasılıkları yüksektir, çünkü uygun şekilde hedef antibiyoterapileri düzenlenememektedir.

2.4.5. Tanı

Hastanın özgeçmişinde, cerrahi PEE olasılığına karşı uyarması gereken birkaç risk faktörü vardır. Bunlar arasında yakın tarihli bir enfeksiyon öyküsü, revizyon ameliyatı, aynı eklemde çoklu operasyonlar, önceki PEE öyküsü, diyabet, böbrek yetmezliği veya bağışıklık sistemi olan hastalar bulunmaktadır. Hasta genellikle ağırlı bir eklem ve yük vermede zorluk ile başvurmaktadır. Muayenede lokal endurasyon, sıcak ve eritemli cilt mevcut olabilir. Akan bir cerrahi insizyon bölgesi genellikle akut erken enfeksiyon ile ilişkilendirilirken, fistül varlığı kronik enfeksiyonun bir işaretidir.

Enfekte bir eklem olasılığını araştırmak için temel kan testleri ilk basamak olarak kullanılmaktadır. Bunlar arasında: ESR >30 mm/sa, %82 duyarlılığa, %85'lik bir özgüllüğe, %58'lik bir pozitif prediktif değere ve %95'lik bir negatif prediktif değere sahiptir (156). Normal seviyelere dönmesi 90 güne kadar sürer. ESR düzeyleri, akut PEE'nin değerlendirilmesinde (<6 hafta) yararlı değildir. CRP >10 mg/L %96 duyarlılığa, %92 özgüllüğe, %74 pozitif prediktif değere ve %99 negatif prediktif değere sahiptir (22). Ameliyattan sonraki 3 hafta içinde normal seviyesine döner. Hem ESR hem de CRP'nin kombinasyonu, duyarlılığı %95–96'ya yükseltmektedir. Diğer yeni serum biyobelirteçleri arasında bakteriyel enfeksiyonlar sırasında serumda artan prokalsitonin, tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α) ve interlökin-6 bulunmaktadır.

Mevcut enfeksiyonu tespit etme olasılığını arttırmak için, eklem aspirasyonundan veya bu bölgeden doku örnekleri almadan önce 2 hafta süreyle antibiyotik kullanılmamalıdır. Gram boyama mikroskobu düşük hassasiyete sahiptir, ancak değeri neredeyse %100'lük yüksek özgüllüğünden kaynaklanmaktadır, bu da pozitif olduğunda PEE'nin hızlı bir şekilde doğrulanması için mükemmel bir araçtır. Sinovyal BK sayımı ve PMN yüzdesine bakıldığında akut enfeksiyonda PEE >10.000 hücre/ μ L ve >%90 sinovyal PMN olması beklenmektedir. Kronik enfeksiyonda bu değerler sinovyal BK >%80, sinovyal PMN >3000 hücre/ μ L'dir. Sinovyal LE, PEE tanısını koymada kullanılabilecek bir başka yararlı belirteçtir. %81–93 duyarlılığa ve %87-100 özgüllüğe sahiptir. Sinovyal sıvıdaki alfa-defensi PEE'nin teşhisine yardımcı olabilecek yeni bir biyobelirteçtir. Bu test için pozitif sayılma üst değeri 5,2 mg/L'dir (157).

Radyolojik araştırmalar, pelvisin anteroposterior görüntüsünü ve etkilenen kalça ekleminin lateral görüntüsünü içermektedir. Mümkün olduğunda uzun bir süreye yayılan seri görüntüleri karşılaştırmak, periferik kemik rezorpsiyonunu (endosteal scalloping) kısa bir süre içerisinde tanımlamaya yardımcı olabilmektedir, bu da her zaman olası PEE'nin oluşabileceğini hatırlatmalıdır. Bununla birlikte, normal radyografiler enfeksiyonu dışlayamamaktadır. Ultrason, kalça eklemi çevresindeki veya içindeki herhangi bir koleksiyonu tanımlamak için kullanışlı bir araçtır. BT taraması genellikle mevcut kemik sto unu tanımlamak için yararlıdır ve özellikle asetabular tarafta önemli kemik kaybı alanlarını ortaya çıkarabilmektedir. Kemik taraması düşük duyarlılık ve özgüllüğü nedeniyle daha az popüler hale gelmiştir. Tek Foton Emisyon Bilgisayarlı Tomografi (SPECT) taramasının hassasiyeti iyidir ve özgüllük oranları %93'e ulaşmaktadır. Enfeksiyonun oda ını ve sadece yumuşak dokuyu mu, yoksa hem yumuşak dokuyu hem de kemi i mi içerdiğini belirleme kabiliyetine sahiptir (158). 18F-Florodeoksiglukoz (FDG) pozitron emisyon tomografisi, enfeksiyon alanlarında artmış glikoz alımına sahip inflamatuvar hücrelerin varlığını tespit etmeyi amaçlamaktadır. Birkaç çalışmadan elde edilen sonuçlar %80-100'l k bir hassasiyet ve yaklaşık %90-100'l k bir özgüllük oranlarını bildirmektedir (158).

PEE tanısı konmamış veya dışlanmamış hastalar için tek aşamalı revizyon sırasında intraoperatif frozen doku  rneklemesi kullanılabilmektedir. Büyük büyütmedeki alan başına 5 veya daha fazla PMN (polimorfonükleer lökosit) bulunması akut inflamasyonu tanımlamaktadır. Başlıca faydaları, nispeten düşük bir maliyet ve sonuçları elde etmek için hızlı bir yöntemdir. Ancak, düşük hassasiyet ve operatöre bağlı olma dezavantajları vardır. Sonuç olarak, çoğu merkez artık rutin uygulamalarının bir parçası olarak frozen örneklemesini kullanmamaktadır. Revizyon ameliyatı sırasında, herhangi bir antibiyotik uygulaması, operasyon sırasında çok sayıda doku  rne i (5-6 adet) alınana kadar yapılmamalıdır. Örnekler farklı katmanlardan ve alanlardan alınmalıdır.

2.4.6. Tedavi

Periprostetik enfeksiyonların yönetimi için evreleme sistemi tanımlanmıştır (159). Bu sistem enfeksiyonun tipine, hastanın genel sağlıklılık haline ve yaranın durumuna göre düzenlenmektedir. Hastanın ve yaranın durumu tıbbi sağlıklılık tipine dayanmaktadır (Tablo 4). Bu evreleme sistemi PEE'nin uygun yönetimine karar vermek için klinik pratikte kullanılabilmektedir.

Ameliyat sonrası erken (<3-4 hafta) veya geç akut hematojen enfeksiyonu için DAIR tercih edilebilmektedir. Bu işlemin yapılması için, stabil bir implant, iyi bir yumuşak doku örtüsü, immün yetmezliği olmayan hastalar, etken mikroorganizmaların ve bu mikroorganizmalara yönelik antibiyotiklerin belirlenmiş olması gereklidir. İşlem, enfekte olmuş tüm dokuların agresif debridmanının ve geniş bir sinovektominin yapılacağı açık bir yaklaşımı içermektedir. Doku örnekleri hem mikrobiyolojik hem de histolojik analizler için gönderilmelidir. Aşınmış ve ilerleyen zamanlarda sıkıntı çıkarma ihtimaline karşı mobil parçaların yenileriyle değiştirilmesi tercih edilmektedir. Hasta daha sonra mikrobiyoloji sonuçlarına göre modifiye edilmesi gereken iv geniş spektrumlu antibiyotiklere başlayacaktır. En az 6 haftalık iv antibiyotik süresi önerilmektedir. Bu tedavi yaklaşımının faydaları daha az operasyon, daha az maliyet ve kemik stoğunun korunmasıdır. Bununla birlikte, başarı oranı %26 ile %71 arasında değişmektedir (22). Bu değişken sonuçlar hasta seçimi, cerrahi teknikler, etken mikroorganizmalar, ameliyat sonrası farklı tedavi rejimleri ve özellikle geç, akut hematojen enfeksiyonu olan hastalarda enfeksiyonun fiili başlangıcını belirlemede zorluklarla ilişkili olabilmektedir.

Tek aşamalı revizyon (direkt değişim), tüm protezin çıkarılmasını ve aynı operasyon sırasında yeni implantların yerleştirilmesini içermektedir. %87 ile %100 arasında rapor edilen başarı oranıyla tek bir ameliyatın avantajına sahiptir. Bununla birlikte, başarısının anahtarı, etken mikroorganizmaların belirlenmesine, antibiyotik duyarlılığının saptanmasına, McPherson ve arkadaşlarına göre konak A grubu olan hastalara uygulanmasına, iyi yumuşak doku örtüsünün mevcudiyetine ve cerrahi ekip ve hastane ortamının bu stratejiye alışkın olmasına bağlı olmaktadır. Bu prosedür, tüm implantların çıkarılması, tüm enfekte olmuş dokuların agresif debridmanı, geniş sinovektomi, 9 litre ılık normal salin ile düşük basınçlı pulsatil lavaj kullanılarak derin

ve bolca yıkama işlemlerini içermektedir. İşlem boyunca çoklu doku örnekleri alınmalı ve tüm örnekler alınana kadar antibiyotik verilmemelidir. Çimentolu protez uygulanmış ise tüm çimento parçaları sökülmalıdır. Hastanın daha önce aspirasyonu varsa ve etken organizma tanımlandıysa, bu organizmanın hassas olduğu antibiyotiklere başlanabilmektedir. Aksi takdirde hastaya yaklaşmakta olan mikrobiyoloji sonuçlarına göre modifiye edilebilecek geniş spektrumlu iv antibiyotikler verilecektir. En az 6 haftalık iv antibiyotik süresi önerilmektedir. Bu yaklaşımın başarı oranı DAIR prosedüründen daha yüksek olduğu için akut erken enfeksiyon izlenen çimentosuz protezlerde daha çok tercih edilmektedir. Bu, revizyon ameliyatını daha zor hale getirecek olan osteointegrasyondan önce implantların nispeten daha kolay bir şekilde değiştirilmesine olanak tanımaktadır. Bununla birlikte, bu yaklaşımın başarısının, mevcut cerrahi uzmanlığa ve multidisipliner yaklaşıma büyük ölçüde bağlı olduğunu vurgulamak gerekmektedir. Bu nedenle, tek aşamalı revizyon, yüksek hacimli PEE ile ilgilenen ve bu prosedürle ilgili deneyime sahip olunan merkezlerde uygulanmalıdır.

Tablo 4: McPherson ve arkadaşlarına göre periprostetik enfeksiyonlar için evreleme sistemi (159)

Enfeksiyon Tipi	Sistemik konak derecesi	Lokal ekstremitte derecesi
I: Erken postoperatif enfeksiyon (postoperatif <4 hafta)	A: Risksiz	1: Risksiz
	B: Riskli (1-2 risk faktörü)	2: Riskli (1-2 risk faktörü)
	C: Belirgin riskli (>2 risk faktörü) veya aşağıdaki maddelerden biri; - Nötrofil sayısı <1000 - CD4 T hücre sayısı <100 - IV ilaç bağımlısı - Başka bir bölgede kronik aktif enfeksiyon - İmmün sistemin displazi veya neoplazmi	3: Belirgin Riskli (>2 risk faktörü)
II: Hematojen kaynaklı enfeksiyon (<4 hafta süreli)		
III: Geç kronik enfeksiyon (>4 hafta süreli)	Risk faktörleri: - Yaş >80 - İmmün baskılayıcı ilaçlar - Alkol bağımlılığı - Malignite - Kronik aktif dermatit veya selülit - Pulmoner yetmezlik - Kalıcı katater - Diyaliz gereksinimi - Kronik malnütrisyon - Sistemik inflamatuvar hastalık - Kronik tütün kullanımı - Sistemik immün yetmezlik - Diyabet Karaciğer yetmezliği	Yara yeri risk faktörleri: - >3-4 aylık aktif enfeksiyon varlığı - Cilt köprüleri ile çoklu insizyon - İlk travmaya bağlı yumuşak doku kaybı - >8cm² subkütan abse - Sinovyal kutanöz fistül - Eklem ilişkili kırık zemininde yapılan ilk cerrahi - Lokal radyoterapi uygulanma öyküsü - Ekstremitenin vasküler yetmezliği

İki aşamalı revizyon cerrahisi ve antibiyotikli spacer implantasyonu, özellikle kronik enfeksiyon için PEE tedavisinde altın standart olarak kabul edilmektedir. Etken mikroorganizmanın bilinmediği, diğer tedavi yöntemlerinin başarısız olduğu, B veya C grubu hastalar için ve yumuşak doku kapsama alanının zayıf olduğu yerlerde bu yöntem önerilmektedir. Bildirilen başarı yüzdesi %88 ile %95 arasında değişmektedir (160). İlk ameliyat, tüm implantların çıkarılması, tüm enfekte olmuş dokuların agresif debridmanı, mevcut fistüllerin eksizyonu, kapsamlı sinovektomi, medullar kanalının raspalanması ve minimum 9 litre ılık normal salinle düşük basınçlı pulsatil yıkanmasıdır. Bir sonraki adım antibiyotikli çimento ile oluşturulmuş bir spacer yerleştirmektir. Bu spacerlarda kullanılan çimento, antibiyotiklerin enfekte olmuş bölgeye lokal olarak ulaştırılmasına aracılık etmektedir. İşlem sırasında çimento karıştırılırken antibiyotikler eklenebilmektedir. Antibiyotik emdirilmiş çimentoların çoğu profilaktik antibiyotik konsantrasyonuna sahiptir ve mevcut enfeksiyonun tedavisi için yeterli miktarda antibiyotik içermemektedir. Çimento ile birleştirmek için çeşitli antibiyotik seçenekleri mevcuttur. Bu antibiyotikler bakterisit olmalı, belli bir süre boyunca yavaş yavaş salıverilmeli, suda çözünür ve termodinamik olarak stabil olmalıdır (çimento polimerizasyonunun sıcaklığına dayanacak şekilde). Spacer kullanımı, eklem bölgesinde retraksiyon ve kontraksiyonun önlenmesine yardımcı olmaktadır. Daha az skar dokusu oluşumunu sağlayarak ve eklem aralığını korumaktadır. Eklem durumunu temel alan iki tür spacer vardır. Sınırlı eklem hareketinin dezavantajına sahip olan ve dolayısıyla kas atrofisi izlenebilen eklemisel olmayan statik bir spacer veya belirli bir dereceye kadar eklem hareketini sağlayan ve hastaya sabit olanlardan daha elverişli olan dinamik bir spacer olabilir. Bununla birlikte, ikincisi daha büyük bir yer değiştirme veya mekanik arıza riski ile ilişkilidir. Hasta daha sonra mikrobiyoloji sonuçlarına göre düzenlenmesi gereken iv geniş spektrumlu antibiyotiklere başlayacaktır. İnflamatuvar belirteçler belirli aralıklarla kontrol edilecektir. Bu dönemde hastaların böbrek ve karaciğer fonksiyonlarını izlemek de önemlidir. İkinci aşamaya geçmek için ideal zamanı belirlemek zor olmaya devam etmektedir. Faktörlerin bir kombinasyonu karara yardımcı olabilmektedir. Bunlar arasında normal inflamatuvar belirteçler, kuru ve tamamen iyileşmiş bir yara, ağrı veya sıcaklık gibi lokal eklem semptomlarının ve ateş veya kırıklık gibi sistemik semptomların olmaması sayılabilmektedir. Bu dönem

ortalama 6 ila 12 hafta sürebilmektedir. Belirtilen durumlara ulaşılammışsa, ikinci aşama ertelenerek birinci aşamanın tekrarı gerekebilmektedir. Planlanan antibiyotik tedavisinin tamamlanmasından sonra, hasta antibiyotiksiz 2 hafta takip edilmelidir. İkinci aşamadan önce enfeksiyonun ortadan kalktığını onaylamak için klinik değerlendirme ve inflamatuvar belirteçler tekrar edilmektedir. İkinci aşamada, aynı cerrahi yaklaşım kullanılmaktadır. Spacer çıkarılarak mikrobiyoloji analizi için daha fazla doku örneği alınmalıdır. Frozen analizi operasyon sırasında enfeksiyonun dışlanması için yapılabilmektedir. Herhangi bir belirgin aktif enfeksiyon kanıtı varsa, ikinci aşama terk edilmeli ve birinci aşama tekrarlanmalıdır. Eğer çimentolu bir protez implante edilecekse, kemik çimentosunun önemli ölçüde zayıflamasını önlemek için 40 g çimento başına maksimum 2 g antibiyotik toz kullanılabilir. İkinci aşamadan sonra kültürler negatifse, iv antibiyotikler, mikrobiyoloğun önerilerine göre oral antibiyotiklere dönüştürülmektedir. Aksi halde, kültürler ek organizma üretmesi gösterdiğinde iv antibiyotik tedavisinin sürdürülmesi gerekebilmektedir.

Uzun süreli baskılayıcı antibiyotik tedavisi, genellikle tıbbi olarak daha fazla cerrahi müdahaleye uygun olmayan veya ameliyatı reddeden kişiler için bir seçenektir. Hastaların antibiyotiklere belli bir süre sonra direnç gösterebileceğini bilmek önemlidir.

Kurtarma prosedürlerinin (amputasyon / artrodez / eksizyonal artroplastigirdlestone prosedürleri) günümüzde kullanılma sıklığı düşüktür. Hastanın sistematik olarak iyi olmadığı ve çok sayıda karmaşık ameliyatı tolere edemediği hayat kurtarıcı durumlarda düşünülebilmektedir.

Biyofilm oluşumunun önlenmesi ve önceden oluşturulmuş biyofilmin yok edilmesi daha fazla araştırma gerektirmektedir. Taktikler, implant yüzeylerinin özel bakterisit kaplamalarını içerebilmektedir. Fotodinamik tedavi (biyofilmin ayrılmasına yardımcı olan) olsun ya da olmasın antibiyotik tedavisinin geliştirilmesi biyofilm bakterilerinin giderilmesine yardımcı olabilmektedir. Rifampisin, siprofloksasin ve fosfomisin gibi bazı antibiyotiklerin biyofilm yapısına karşı aktif olduğu bulunmuştur (161). Dağılım aracılı tedaviler üzerine yapılan araştırma, biyofilmde antibiyotik penetrasyonunun etkinliğini iyileştirebilecektir.

2.5. DİZ EKLEMİNİN PERİPROSTETİK ENFEKSİYONU

2.5.1. Giriş

Dizin artriti kas-iskelet sistemindeki en yaygın klinik problemlerden biridir ve bu durum milyonlarca insanın sağlıkla ilgili yaşam kalitesini etkilemektedir. Genel risk faktörleri arasında kalıtsal yatkınlık, ileri yaş, kadın cinsiyet, etnik köken, yüksek VKİ, inflamatuvar hastalıklar ve travma gösterilebilmektedir (162). Yorucu fiziksel çalışmalara sahip ve VKİ'si yüksek olan kişiler, diz osteoartriti açısından özellikle yüksek risk altındadır ve önleyici tedbirler hedeflenmelidir. Yalnızca revizyon oranlarına dayanan istatistikler göz önüne alındığında TDA'nın tüm hastalarda en başarılı operasyonlardan biri olduğu ve yaşlı hastalarda çok iyi ve uzun süreli fonksiyonel sonucu olan dayanıklı bir cerrahi tedavi olduğu kanıtlanmıştır.

2.5.2. Enfeksiyon Riski ve Korunma

TDA'dan sonra gelişen PEE, sürekli ağrı ve sakatlığa, kalıcı morbidite ile birden fazla operasyona ve uzun süreli iyileşme sürelerine yol açabileceğinden, hastaların yaşamlarını büyük ölçüde etkileyebilecek çok ciddi ve zorlu bir komplikasyondur. Hastanedeyken veya yıllar sonra bile, çeşitli zaman aralıklarında gelişebilmektedir. Enfekte olmuş bir TDA, ekonomik maliyetlere ve hastanın psikolojik durumuna da olumsuz yönde katkıda bulunmaktadır (50,163–165). Etiyolojiye bağlı çeşitli faktörler PEE'ye yol açabilmektedir. Elektif artroplasti, enfeksiyonların ortadan kalktığı doğrulanıncaya kadar ertelenmelidir (166,167). Diyabet ve perioperatif dönemde kontrolsüz bir hiperglisemi, postoperatif artmış komplikasyonlar ve yüksek sayıda enfeksiyon ile ilişkilidir (49,168–170). Kötü beslenme; enfeksiyonlara duyarlılığın artması ve yara iyileşmesinde bozulma yoluyla eklem artroplastisinin sonucu üzerinde olumsuz bir etkiye sahiptir. Beslenme durumunu değerlendirme parametreleri arasında serum albümin (normal 3.5–5.0 g/dL), serum transferrin (normal 204–360 mg/dL), serum prealbümin (normal 15-35 mg/dL) ve toplam serum lenfosit sayısı (800–2000/mm³); elektif diz protezi öncesi kontrol edilmelidir ve yüksek protein takviyeleri, vitamin ve mineral takviyesi, artan kalori tüketimi, mobilizasyon ve fizyoterapi uygulaması ile uygun şekilde düzeltilmelidir (171–175). Rapor edilen hasta kaynaklı PEE risk faktörleri arasında, diz

ile ilgili kırıklar (30), obezite (176–178), erkek cinsiyet (179) ve romatoid artrit (180) gösterilebilmektedir. 15 gözlemsel çalışmadan toplanan verilerin meta analizinde sigara bırakmanın daha az yara iyileşmesi komplikasyonu gelişmesini sağladığı gösterilmiştir. Elektif ameliyattan 6 hafta önce hazırlanan sigaraya müdahale programları yara iyileşmesi komplikasyon riskini azaltabilmektedir (181–185). Komorbiditeler ve immünsüpresyon, PEE'ler için önemli bir risk faktörüdür. İmmünsüpresif ajanlar arasında glukokortikoidler, siklofosfamid ve metotreksat içeren sitostatikler, takrolimus gibi immünofilinler üzerinde etkili ilaçlar ile interferonlar ve TNF- α inhibe edici ajanlar bulunmaktadır (186). Hemodiyalizde son dönem böbrek hastalığı olan hastalar ciddi komplikasyonlar ve ölüm açısından yüksek risk altındadır. Ameliyat süresinin yanı sıra, TDA'dan sonra PEE ile ilişkili diğer cerrah ilişkili faktörler arasında cerrahın vaka hacmi (187) ve antibiyotik emdirilmiş çimento kullanımı (188) bulunmaktadır. Özellikle yaşlı nüfusta, PEE artmış mortalite ile ilişkilidir (187).

2.5.3. Antibiyotik Profilaksisi

Optimal profilaktik antibiyotik, bakteriyostatik değil bakterisidal (penisilin, sefalosporin, vankomisin veya aminoglikozitler) olmalıdır. Bu antibiyotik ayrıca, insizyondan yara kapamasına kadar geçen süreyi tanımlayan belirleyici aralığı (insizyondan veya kontaminasyondan sonraki ilk 2 saat) kapsayan yarılanma ömrüne sahip olmalıdır. Rutin perioperatif cerrahi profilaksi için birinci veya ikinci kuşak sefalosporin uygulanmalıdır. Bu antibiyotiklerin etkinliği gram pozitif organizmaları ve klinik olarak önemli aerobik GNB ve anaerobik gram pozitif organizmaları kapsamaktadır (189). Mevcut metisilin dirençli stafilokokkus aureus (MRSA) taşıyıcılığı olan veya penisilinlere karşı anafilaktik alerjisi olan hastalarda vankomisin uygulanabilir, ancak preoperatif profilaksi için rutin vankomisinin kullanılması önerilmemektedir. Antimikrobiyal toksisite, dirençli organizmaların oluşması ve gereksiz harcama oluşturması nedeniyle, ameliyattan sonra 24 saatten daha uzun bir süre antibiyotik profilaksisi uygulanmamalıdır (190).

2.5.4. Tanı

TDA, iki periprostetik doku kültüründe aynı organizmaların üretilmesi veya eklemle iletişim kuran fistül varlığında veya aşağıdaki küçük kriterlerden üçüne sahip olunduğunda enfekte olarak tanımlanır: (1) Yüksek serum CRP ve ESR, (2) yüksek sinovyal sıvı BK sayısı, (3) ++ LE test şeridinde değişiklik veya pozitif alfa defensin testi, (4) yüksek sinovyal sıvı PMN yüzdesi, (5) periprostetik dokunun pozitif histolojik analizi ve (6) tek bir pozitif kültür. Klinik olarak, özellikle daha az virülen organizmalar durumunda (örneğin, p.acnes), bu kriterlere uymadan enfekte olmuş bir TDA mevcut olabilmektedir.

Hem ESR hem de CRP, enfeksiyondan bağımsız olarak akut postoperatif dönemde sıklıkla artmaktadır. Mevcut literatür, postoperatif akut zaman periyodunun tanımı olarak 6 haftayı kullanmaktadır. Bununla birlikte, ESR ve CRP'nin ameliyat sonrası 90 güne kadar yükselmesi muhtemeldir. Bu inflamatuvar belirteçler, akut hematojen enfeksiyonu olan hastaların çoğunda yüksek olarak izlenmektedir. Tüm hastalarda CRP >100 mg/L, synovial BK sayımı >10.000 hücre/ μ L, ve PMN >%90'dır. Kan kültüründe etken araştırması, akut hematojen enfeksiyondan şüphelenilen hastalarda, bakterilerin teşhisini ve tanımlamasını doğrulayabilmek ve hastalar için daha agresif tedavi ve takibi sağlayabilmek açısından yapılmalıdır. Stafilokokkus türünden başka bir organizma ile enfekte olmuş hastalar için, tek debridmanı olan olguların yüksek bir yüzdesinde DAIR prosedürünün yeterli olduğu görülmüştür. Bununla birlikte, diz artroplastisinin stafilokokkus nedenli akut enfeksiyonlarda hızlı bir şekilde biyofilm oluştuğundan ve antibiyotiklere dirençten dolayı büyük olasılıkla protez korunması başarısızlık ile sonuçlanmaktadır. Akut hematojen enfeksiyonun tedavisinde protez korunması girişiminin ardından tekrarlayan enfeksiyon gelişen hastalar için komplikasyon ve reenfeksiyon riski %50'den yüksektir (27,191–193).

Postoperatif 6. haftadan sonra ağrılı diz artroplastisi olan bir hastada kronik bir TDA enfeksiyonu düşünerek preoperatif dönemde ESR ve CRP taraması yapıp ve ardından eklem aspirasyonu ile devam etmek gerekmektedir. Bu ilk adım olarak atılan uygulamalar incelendiğinde, PEE teşhisinde en uygun maliyetli yöntem oldukları kanıtlanmıştır (194). Eşik değerleri ESR >30 mm/s, CRP >10 mg/L, sinovyal sıvı BK

sayımı >3000 hücre/ μ L, PMN hücre yoğunluğu >%80 şeklindedir. Daha yeni raporlar LE ve alfa defensin gibi daha yeni sinovyal sıvı belirteçlerinin periprostetik enfeksiyonda tanısal değerini göstermektedir. Sinovyal sıvı alfa defensin ve CRP seviyelerinin birleşik ölçümü, vakaların %99'unu aseptik veya septik olarak doğru şekilde ayırt etmektedir.

Eklem aspiratından alınan örnekler, kan kültürü şişelerine enjekte edilmelidir. Bunların PEE teşhisi kültür süresinin 2 haftaya uzatılması halinde duyarlılık önemli ölçüde artmaktadır. Aseptik veya klinik olarak enfeksiyonun net olarak pozitif olmadığı olgularda 2 haftalık ve 1 haftalık kültürlerin maliyet etkinliğini belirleyen kanıt bulunmamaktadır. Yaygın bulaşıcı organizmaların çoğu, standart kültürlerden birkaç gün içinde izole edilebilmektedir. Enfekte organizmanın preoperatif olarak izole edildiği hastalarda kültür süresini uzatmak için hiçbir neden yoktur. PEE şüphesi olan hastalar, kültür negatif vakalar ve düşük virülanslı organizmalarla enfekte olabilen hastalar için, kültür uzun bir süre muhafaza edilmelidir. TDA enfeksiyonuna işaret eden radyografik bulgular; daha önce iyi sabitlenmiş bileşenlerin gevşemesi, osteoliz veya prostetik bileşenlerin çevresinde kemik rezorpsiyonu, subperiosteal yükselme veya transkortikal sinüs izleri olarak söylenebilmektedir ve bu bulgular özellikle postoperatif 5 yıldan daha kısa sürede görülmeli ve insert aşınmasına bağlı olmamalıdır. Enfekte bir TDA için nükleer görüntülemenin rolü tartışmalıdır ve sınırlandırılmalıdır (195). Dizin PEE'sinin araştırılması tercihen protez-doku arayüzlerinden intraoperatif olarak doku veya sıvı numunelerinin toplanmasıyla sürdürülmektedir. Her örnek kullanılmamış bir aletle alınmalıdır. Bilinen tek kantitatif analizde, 5 veya 6 periprostetik örnek toplandığında duyarlılık ve özgüllüğün en üst düzeye çıkarıldığı bulunmuştur (196). Çıkarılan protez implantlarında sonikasyonun kullanılması, kirletici madde oranını arttırmadan patojenlerin izole edilme olasılığını arttırmaktadır, ancak kullanımı şüpheli veya kanıtlanmış ancak aspirasyon kültürünün pozitif sonuç vermediği ve önceki 2 hafta içinde antibiyotik kullanılan PEE vakalarıyla sınırlı tutulmalıdır. Moleküler teknikler antibiyotik direnci ile ilişkili genlerin tanımlanmasında bazı gelişmeler göstermiş olsa da (197), kültürde yetişen organizmaların antibiyotik duyarlılıklarını test etmenin klinik uygulanabilirliği mevcut değildir. Bu teknolojinin maliyeti ve bulunabilirliği geniş uygulamasını sınırlar ve bu nedenle şu anda PEE'nin değerlendirilmesinde standart bir araç olarak kabul

edilmemektedir. Bununla birlikte frozen incelemeler preoperatif biyopsiden daha az potansiyel morbidite ile enfeksiyonun aseptik yetmezlikten ayırt edilmesine yardımcı olabilmektedir (198).

2.5.5. Tedavi

Patojenin (bir veya daha fazla bakteri) başarılı şekilde ortadan kaldırılması olasılığı, hastanın genel durumu, onun bağışıklık tepkisi ve patojenin antibiyotik duyarlılığı dâhil olmak üzere çeşitli faktörlere bağlıdır (198–200). Eklem replasman cerrahisi sonrası cerrahi alan enfeksiyon tanısının zamanlaması, tedavi stratejileri bu parametreye bağlı olduğundan PEE'lerin sonraki tıbbi ve cerrahi yönetimini belirlemek için kullanılan önemli bir kriterdir. Enfeksiyon implantların yerleştirilmesinden sonraki 3 hafta içinde meydana gelirse, DAIR ile tedavi sağlanabilir (198,201,202). Enfeksiyon cerrahi işlemin üzerinden daha çok süre geçtikten sonra ortaya çıkarsa, uygun tedavi yöntemi tüm implantların çıkarılması ve bir veya iki aşamalı prosedür ile yeni bir artroplasti implantının yerleştirilmesi olacaktır (203–205).

Tek aşamalı revizyon için bazı endikasyonlar ve kontrendikasyonlar vardır (205). En son raporlar tek basamaklı cerrahi endikasyonları arasında; (1) bir antibiyogram tarafından sağlanan belgelenmiş duyarlılığı olan, düşük virülanslı bir mikroorganizma ile preoperatif enfeksiyon teşhisi konmuş olgular; (2) kollajen hastalığı, diabetes mellitus veya neoplazmalar gibi immün sistemi baskılanmayan sistemik koşullar olmadan, genel sağlık durumu iyi olan hastalar; (3) septik odağın olmaması; (4) femur kondillerinde veya tibial platoda minimal kemik kaybı; ve (5) herhangi bir yumuşak doku kusurunun olmaması veya revizyonun sonunda yaranın doğrudan kapanmasını engelleyen bir durumun olmaması sayılabilmektedir. Kontrendikasyonlar: (1) yaranın kolay kapanmasını önleyen yumuşak doku defektleri, (2) çimento rekonstrüksiyonunu imkansız kılan kemik defektleri, (3) periferik vasküler hastalık ve (4) polimikrobiyal enfeksiyon veya MRSA ve MRSE (metisilin dirençli stafilokokkus epidermidis) gibi çoklu dirençli bakterilerle enfeksiyon olması olarak söylenebilmektedir (206,207). Revizyon prosedürü eklem dikkatlice açılmasıyla başlamaktadır. Debridman, tümör cerrahisinde olduğu gibi titiz ve agresif olmalıdır. Eklem büyük parçalarına yayılan ve bunları kaplayan biyofilm agresif bir şekilde

çıkarılmalıdır. Eklem posterior kısmına debridman sırasında özel dikkat gösterilmelidir. Cerrahi debridman bakteri yükünün azaltılmasında ana faktördür. Antibiyotiklerin verilmesi adjuvan faktörü olarak önemlidir, ancak enfeksiyonu asla tek başına tedavi edememektedir. Antibiyotik uygulanmadan önce eklem farklı bölgelerinden çoklu doku örnekleri (6 ila 10) alınıp kültür ve histopatoloji için gönderilir. Yeni implantlar, antibiyogram ile uyumlu olacak şekilde antibiyotik katılmış kemik çimentosu ile yerleştirilir. Genellikle kısıtlandırılmış (constrained) veya menteşe protezi implante edilir çünkü diz bağları agresif debridmanda eksize edilebilmektedir. Çimentoya antibiyotik toz ilavesi %5 ile %10 arasında olmalıdır. İv ve oral antibiyotikler postoperatif 6 hafta boyunca uygulanmaktadır. Tek basamaklı cerrahi yaklaşımın ana avantajları şunlardır: (1) sadece bir ameliyat prosedürü gerekli olacağından hastanın daha kısa hastanede kalması; (2) hasta, hastane ve sigorta şirketi için düşük maliyet; (3) diz mobilizasyon için hemen serbest olacağı için daha iyi fonksiyonel sonuç; (4) hastanın daha iyi psikolojisi ve duygusal durumu ve (5) ev, iş ve diğer faaliyetlere daha kısa devamsızlık (206,207).

İki aşamalı değişim hala, enfekte olmuş TDA için tercih edilen tedavi yöntemi olmaya devam etmektedir. Çok sayıda çalışma iki aşamalı revizyonla enfeksiyonun tedavi oranlarını %90'a yakın olarak bildirmektedir (208–212). İki aşamalı revizyon endikasyonları şunlardır: (1) polimikrobiyal enfeksiyon veya MRSA ve MRSE gibi çok dirençli bakterilerle enfeksiyon, (2) yaranın kolay kapanmasını engelleyen yumuşak doku defektleri, (3) çimento rekonstrüksiyonunu imkansız kılan kemik defektleri ve (4) reenfeksiyon (206,210). Birinci aşama; implantların çıkarılması ve diz eklemine debridmanı ile başlamaktadır. Gereksiz kemik stoğu kaybını önlemek için implantların çıkarılması çok dikkatli yapılmalıdır. Eklem debridmanı, tek aşamalı artroplastide olduğu kadar titiz ve agresif olmalıdır. Çoklu doku örnekleri alınarak kültür için gönderilir ve iv antibiyoterapi uygulanır. Bacağın uzunluğunu korumak, doku yapışmasını önlemek ve enfekte bölgeye antibiyotiklerin salınması için spacerlar yerleştirilir. İki ana tip spacer vardır: (1) eklemli ve (2) eklemsiz spacer olan blok spacerlar. Blok spacerlar ciddi kemik defekti olan enfeksiyonlar için daha uygundur. Tahmin edilemeyen kemik defektine uyacak ve diz için daha iyi stabilite sağlayacak şekilde şekillendirilebilmektedir. Blok spacer yüksek konsantrasyonlarda lokal olarak antibiyotik salar ve medial-lateral kollateral ligamanların ve kuadriseps

tendonlarının ksalmasını önler (213–215). En büyük dezavantaj, diz hareketliliğine izin vermemeleridir. Kuadriseps tendonu büzülür ve bu, ikinci aşamada protezlerin reimplantasyonu sırasında belirli bir zorluk derecesine neden olur (213–215). Eklemler spacerlar ise distal femur ve proksimal tibianın şekillerine benzemek için yerleştirilen diz hareketliliğini sağlayan çimento spacerlardır (206,216,217). Diz mobilizasyonu doku adezyonlarını, kollateral bağların ve kuadriseps tendonunun ksalmasını önlemeye yardımcı olur. Preoperatif antibiyograma göre, antibiyotikler başlangıçta iv daha sonra 6 hafta boyunca da oral yoldan uygulanır. Enfeksiyon belirteçleri (CRP ve ESR) haftalık olarak değerlendirilir. Hastada antibiyotiklerin 2 haftadan fazla bir süre sonra kesilmesinin ardından bu belirteçler normal ise ve hastanın yara iyileşmesi sorunsuz olurken genel durumu da iyi ise ikinci aşama cerrahi için uygun olarak kabul edilir. Akut postoperatif enfeksiyonlar kronik veya hematogen enfeksiyonlardan daha kuvvetli direnç profiline sahiptir. Daha yakın tarihli çalışmalarda rifampisin ile yapılan daptomisin kombinasyonu, en güçlü etkinliği göstermiştir ve biyofilm ile ilişkili stafilokokkus enfeksiyonlarının tedavisi için ümit verici bir kombinasyonu temsil etmektedir. GNB ile enfeksiyonlar, üçüncü veya dördüncü kuşak sefalosporin ile tedavi edilmelidir. Karışık gram pozitif ve gram negatif bakteri içeren enfeksiyonlar, vankomisin ve üçüncü veya dördüncü kuşak sefalosporin kombinasyonu ile tedavi edilmelidir. İkinci aşamada, ek kemik tahribatını ve kaybını önlemek için spacerlar dikkatli bir şekilde genellikle parça parça çıkarılır. Daha sonra skar ve spacer bölgeleri de dâhil olacak şekilde doku reaksiyonu titizlikle debride edilir ve hem femur hem de tibianın medüller kanalları açılır. Eklem sıvısı ve çoklu doku örnekleri (kemik ve yumuşak dokular) tekrar alınır ve büyük büyütmede kültür başına PMN sayımlarını değerlendirmek için frozen bölümüne gönderilir. Antibiyotik uygulaması bu aşamada yapılır (208–210). PMN sayısı bir büyük büyütmede 5'ten az ise enfeksiyonun olmadığı kabul edilir ve genellikle kısıtlanmış (constrained) veya menteşeli bir protez implante edilir (218). PMN'lerin sayısı 5-10 arasında olması gri bölge kabul edilir ve cerrah yeni protez implantasyonu ya da spacerların tekrar yerleştirilmesi konusundaki seçimini deneyimlerine dayanarak yapacaktır. Antibiyotikler genellikle intraoperatif doku kültürlerinin sonucunun bakteriler için negatif olduğu görülene dek 2 hafta sürdürülür (219,220). Bu yaklaşımın ana dezavantajları ise (1) daha uzun hastanede yatış; (2) daha yüksek maliyet; (3) sorunu çözmek için iki ek ameliyat prosedürü; (4)

iki aşama arasında uzun süre, en az 6 hafta veya birkaç ay; (5) diz ateli kullanılmasını gerektiren aşamalar arasındaki dönemde diz ağrısı ve (6) tedavinin sonunda, tek aşamalı değişime göre daha düşük hareket açıklığıdır (206). İki aşamalı revizyon: enfekte olmuş TKA için altın standart ve tercih edilen tedavidir (221–224). İki aşama dikkatlice takip edildiğinde ve yürütüldüğünde, enfeksiyon en fazla sayıda vakada ortadan kalkacak ve işlevsel bir eklem bırakılacaktır (204,225–227).

Enfeksiyon bir veya iki aşamalı revizyon değişiminden sonra devam ederse, eklem kemik ve yumuşak doku defektleri nedeniyle ciddi şekilde deforme olmuşsa ve hasta herhangi bir rekonstrüktif işleme onay vermezse diz artrodezi bir alternatiftir. Ana endikasyonlar çoklu başarısızlık ve nüks, çok virülan mikroorganizma, zayıf yumuşak doku kapsamı, ekstansiyon mekanizmasının kaybı, çok sayıda tedavi denemesinden sonra ağırlı olan diz ve immünosüpresyonlu hastadır (228–231). Artrodez işlemi, diz tekrar enfeksiyondan arındırılmış olarak gerçekleştirilir. Diz 0–5 derece valgus, 10 derece dış rotasyon ve 0-15 derece fleksiyon pozisyonunda olmalıdır. Kemik stoğu açısından kısalmış olan uzuvlara, tam ekstansiyonda (0 derece) artrodez yapılmalıdır. Diz artrodez teknikleri şunlardır: (1) intramedüller antegrad çivileme, (2) modüler çiviyle intramedüller fiksasyon, (3) bir veya iki kompresyon plağı ve vida ile internal fiksasyon ve (4) eksternal fiksatör. Tüm tedavi yöntemleri ile yüksek oranda kaynama elde edilmiştir.

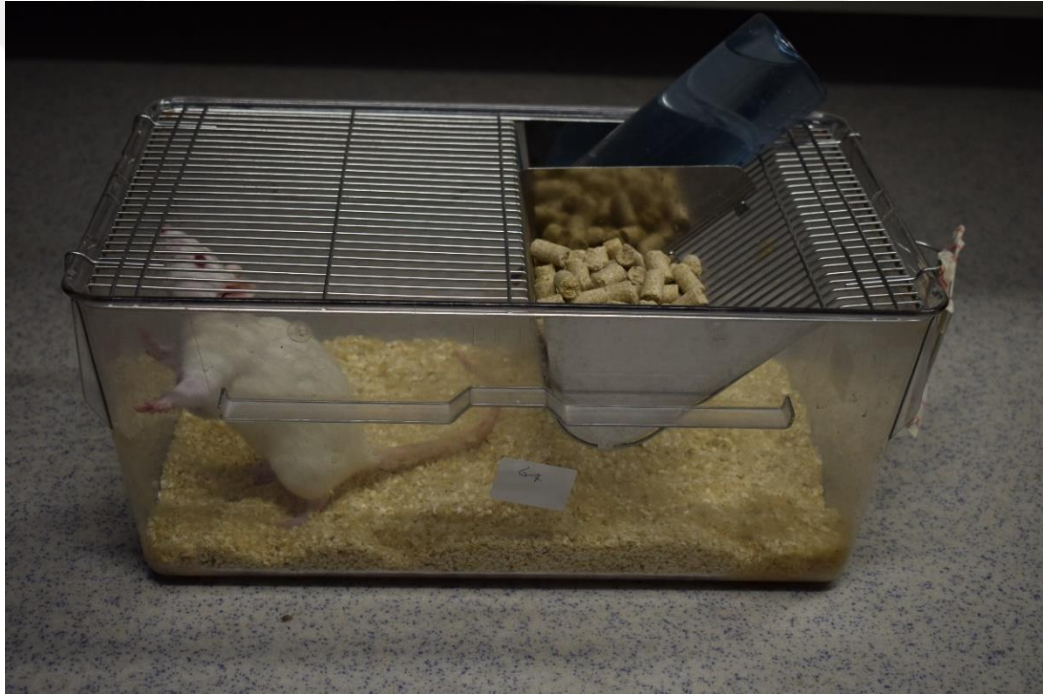
3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamıza Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul'u 2019-10-101 numaralı kararını takiben Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi'ne başvurularak başlanmıştır. 19L0230016 numaralı Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesinin onayı ve ihale sürecini takiben gerekli malzeme temini gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya dâhil edilecek olan stafilococcus epidermidis, stafilococcus aureus, psödomonas aeruginosa ve candida albicans mikroorganizmaları için Avrupa Birliği Direktif No: 2000/54/EC, AnnexIII yönergesi doğrultusunda planlanan projenin minimum biyogüvenlik seviyesi 2 (BSL-2) laboratuvar şartlarında uygulanması gerekmektedir (232). Bu doğrultuda Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viral Zoonozlar Tanı ve İleri Araştırma Birimi çalışmanın uygulanmasına elverişli bir laboratuvar olarak saptanmıştır. Çalışma izinlerinin temin edilmesinin ardından ilgili laboratuvar projede çalışmanın yapılacağı merkez olarak yer almıştır.

Yapılan benzer biyofilm çalışmaları göz önüne alınarak, 3R kuralına da sadık kalacak şekilde deneyde kullanılacak rat sayısı belirlenmiştir. Kontrol grupları da dâhil olacak şekilde 6 grupta 8'er adet 3 aylık dişi sprague-dawley rat ile çalışma planlanmıştır. Bu gruplar; kontrol grubu, psödomonas aeruginosa (ATCC 27853) grubu, stafilococcus aureus (ATCC 25922) grubu, biyofilm+ (bf+) stafilococcus epidermidis (ATCC 35984) grubu (biyofilm kontrol grubu), biyofilm- (bf-) stafilococcus epidermidis (ATCC 12228) grubu ve candida albicans (ATCC 90028) grubu şeklindedir. Artroplasti cerrahilerinde yerleştirilen implantlarda kullanılan titanyum alaşımı olan Ti6Al4V malzemesi biyofilm yapısının test edileceği implant malzemesi olarak seçilmiştir. 6mm çapında 1,5mm kalınlığında özel boyutlarda titanyum alaşımı diskler hazırlanmıştır. Çalışmadaki her bir hayvana 6 disk yerleştirileceği ve hata payı olarak %10 ek malzeme gerekebileceği hesaplanmıştır ve bu plan doğrultusunda 320 adet standardize edilmiş boyutlarda disk hazırlanmıştır.

Periimplant enfeksiyon değerlendirmesi nedeniyle tüm deney hayvanları kafeslerinde tek olacak şekilde çalışma gerçekleştirilmiştir (Resim 1). Subkütan hava poşlarının sinovyal kaviteyle benzer çevresel koşullara sahip olduğunun gösterilmesi sebebiyle (233), periimplant enfeksiyonun ratlarda dorsal subkütan hava poşlarında

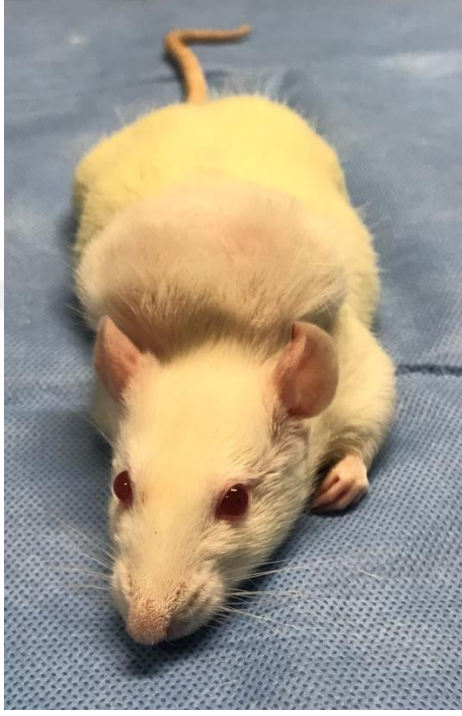
takip edilmesi planlanmıştır. Ad libitum beslenme ile takip edilen ratlarda daha önce gösterilmiş subkütan hava poşu oluşturma tekniğine uygun olacak şekilde ratlar ilk bir haftalık süreçte değişen mekân şartlarına alıştırmıştır (234,235). 12 saat aydınlık ve karanlık düzeninde geçen bir haftanın ardından implant yerleştirme öncesi ratların sırt bölgesi-interskapular alanda poş oluşturma planı ile bu bölgeye 20ml steril hava enjekte edilmiştir. İntramuskuler ksilazin+ketamin (8-10mg/kg ksilazin, 75-90mg/kg ketamin) enjeksiyonu ile poş oluşturma işlemi de dâhil tüm cerrahilerde anestezi sağlanmıştır. İlk enjeksiyonu takiben postoperatif 3.günde 10ml steril hava enjeksiyonu tekrarlanmıştır (Resim 2-3).



Resim 1: Deney hayvanlarının tek hayvan kalacak şekilde izlendikleri kafes

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Merkez Laboratuvarı'nda, yerleştirilecek olan 5 farklı mikroorganizma yoğunlukları 0.5 McFarland standardına (1.5×10^8) göre hazırlandıktan sonra 1/10 oranında sulandırılarak (1.5×10^7) ratlara inoküle edilmiştir. Mikroorganizmaların virülan kuvvetlerinin farklı olma ihtimaline karşın çalışmanın standardizasyonunun kaybolmaması için tüm mikroorganizmalarla eşit miktarda ($1\text{ml } 1.5 \times 10^7$) inokulasyonun yapılmasına karar verilmiştir (236–241). Ayrıca karşılaştıracığımız

etkenlerin elektron mikroskopunda inceleyeceğimiz biyofilm yapılarını immün sistem olmadan da görmek için çalışmamızda in-vitro inceleme de gerçekleştirilmiştir. 24, 48 ve 96.saat örnekleri olmak üzere 3 farklı zaman diliminde 4 etken in-vivo koşullardaki aynı enfeksiyon yüklerine maruz bırakılma sonrası çıkartılan titanyum diskler üzerinden karşılaştırılmıştır.



Resim 2: 1 haftalık enjeksiyon uygulaması sonrası örnek poş görüntüsü önden görünüm



Resim 3: 1 haftalık enjeksiyon uygulaması sonrası örnek poş görüntüsü yandan görünüm

Özel hazırlanan titanyum alaşım diskleri sterilize edilmiştir. Postoperatif

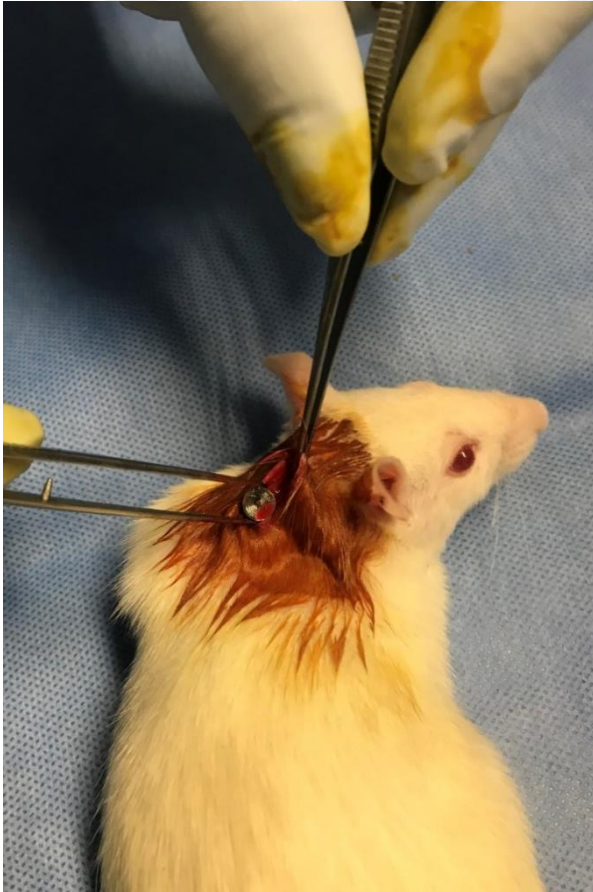
6.günde ratlara ilk olarak daha önce tanımlanmış miktarlarda intramusküler ksilazin+ketamin enjeksiyonu yapılmıştır. Ağırlık tartımı işleminin ardından 0.gün olarak veri toplanmasına başlanmıştır. Uygun cerrahi bölge tıraşlaması ve povidon iyot ile sterilizasyon yapılmıştır (Resim 4). Poş bölgesinin steril bir şekilde subkütan olarak açılması ve poşun serbestlenmesinin ardından bu bölgeye 6 adet titanyum alaşımı disk yerleştirilmiştir (Resim 5-6). Disk yerleştirmesi sonrası kontrol grubu haricinde her bir poş belirtilen miktarında mikroorganizma ile enfekte edilmiştir (Resim 7). Ardından cerrahi kesi kapatılmış ve pansuman yapılmıştır (Resim 8). 6 gruba ayrılmış 48 hayvanın tümünün cerrahi işlemleri yerine getirilmiştir. Bu gruplar; 1. Grup kontrol, 2. Grup psödomonas aeruginosa, 3. Grup staphylococcus aureus, 4. Grup biyofilm+ staphylococcus epidermidis, 5. Grup biyofilm- staphylococcus epidermidis, 6. Grup candida albicans şeklinde belirlenmiştir. Ratların haftada 2 kez olacak şekilde ağırlık kayıtları alınmış ve ad libitum koşulların takibi altında genel durum takipleri de yapılmıştır.



Resim 4: Cerrahi işlem öncesi implantların yerleştirileceği interskapular alanın hazırlanması üstten görünüm



Resim 5: İnterskapuler alandaki poşun açılması sonrası üstten görünüm



Resim 6: Poş bölgesine titanyum implantın yerleştirilmesi üstten görünüm



Resim 7: Poş bölgesine implantların yerleştirilmesi sonrası mikroorganizma ile inokülasyon işlemi üstten görünüm

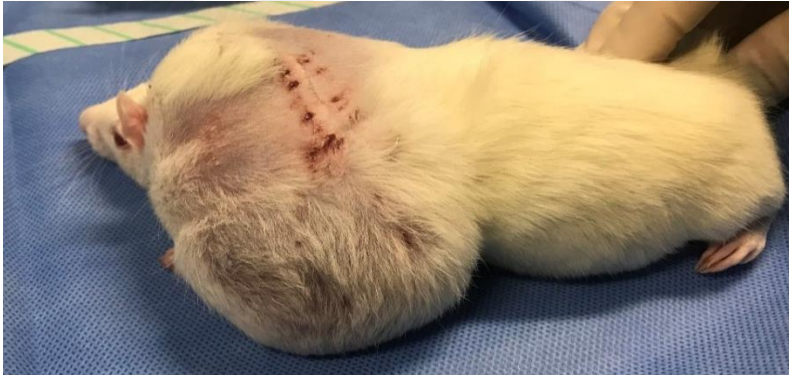


Resim 8: İnokülasyon sonrası cerrahi sahanın kapatılması üstten görünüm

İlk 2 haftalık takipte 3.gruptaki denek hayvanlardan bir tanesi yara yerinin enfekte olması ve genel durum bozukluğu-sepsis süreci ile ex olmuştur. Yapılan nekropsi ile de bu ölüm sebebi doğrulanmıştır. İmplant yerleştirmenin ardından 2.haftada yeniden ksilazin-ketamin uygulaması yapılmıştır. Ağırlık ölçümleri devam etmiştir. İnceleme ve daha sonra palpasyon ile teyit edilecek şekilde abse izlenen denek hayvanlar kaydedilmiştir (Resim 9-10). Abse izlenenlerde absenin yakınından abse izlenmeyenlerde ise implantların palpasyon ile tespit edildiği yerlerden uygun cerrahi bölge hazırlığı yapılmıştır (Resim 11-12). Ardından bu bölgeden insizyon uygulanmış ve takiben her bir denek hayvanının varsa abse dokusundan yoksa implant çevresinden bir adet doku kültürü ve bir adet sürüntü kültürü örneği alınmıştır. Alınan doku kültürleri hassas tartı ile mg boyutlarında kaydedilmiştir. Takiben her bir deney hayvanına yerleştirilen titanyum alaşımı disklerden 2 tanesi çıkartılmıştır (Resim 13-14). Bu aşamada her bir deney hayvanından olacak şekilde toplanan bir adet titanyum alaşımı disk, bir adet doku kültürü ve bir adet sürüntü kültürü cerrahi işlemlerin yapıldığı aynı gün içerisinde Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Merkez Laboratuvarı'na teslim edilmiştir. Cerrahi sırasında alınan ikinci titanyum alaşımı disk ise elektron mikroskopunda kullanılacak şekilde fiksatif görevi için %2,5 derişimli gluteraldehit içine alınmıştır. 4 saatlik beklemenin ardından sırasıyla ve her birinde 10 dakika olacak şekilde %30-%50-%70-%80-%90'luk alkol derişimlerden bu diskler geçirilmiştir. Son olarak da %100 alkol derişimine alınan diskler Ankara Üniversitesi Nükleer Bilimler Enstitüsü'ne iletilmiştir. Alınan tüm örneklerin ardından açılan poş bölgesine herhangi bir yıkama ya da tekrar mikroorganizma inokülasyonu yapılmadan cerrahi sahalara stapler yardımı ile kapatılmış ve pansuman yapılmıştır.



Resim 9: Abse izlenen örnek bir deney hayvanı üstten görünüm



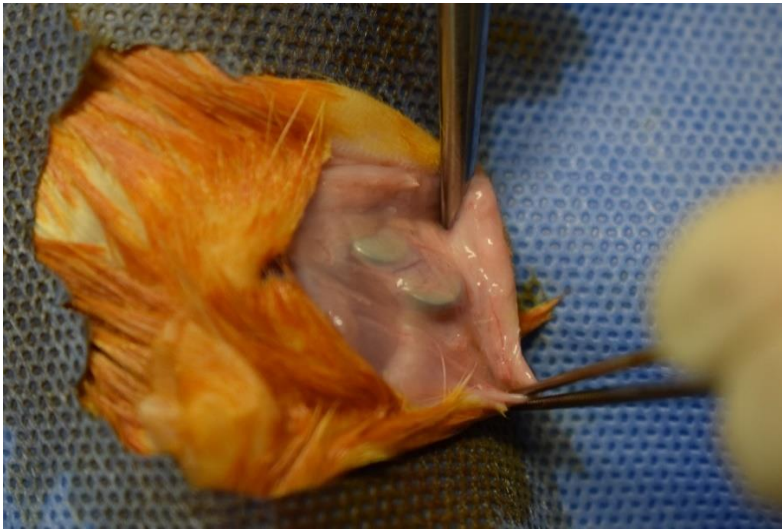
Resim 10: Abse izlenen örnek bir deney hayvanı yandan görünüm



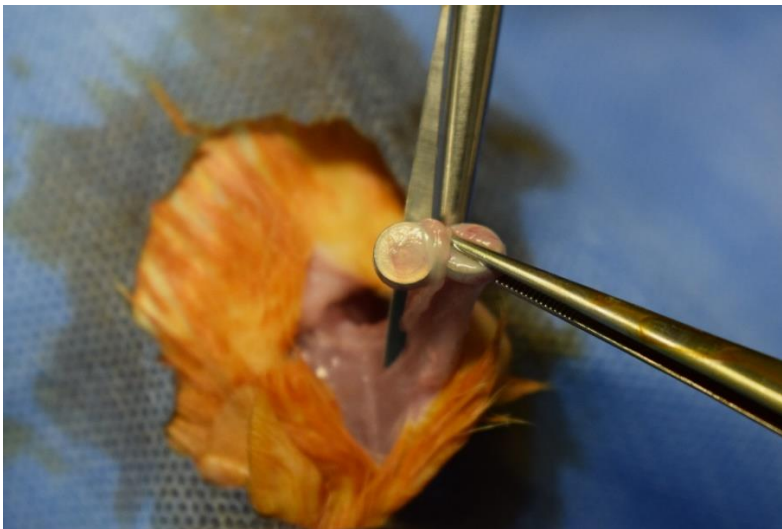
Resim 11: İnsizyon bölgesinin belirlenerek tıraşlanması sonrası üstten görünüm



Resim 12: İnsizyon bölgesinin boyanması ve örtülmesi sonrası üstten görünüm



Resim 13: İmplant edilmiş disklerin intraoperatif poş bölgesindeki görünümü

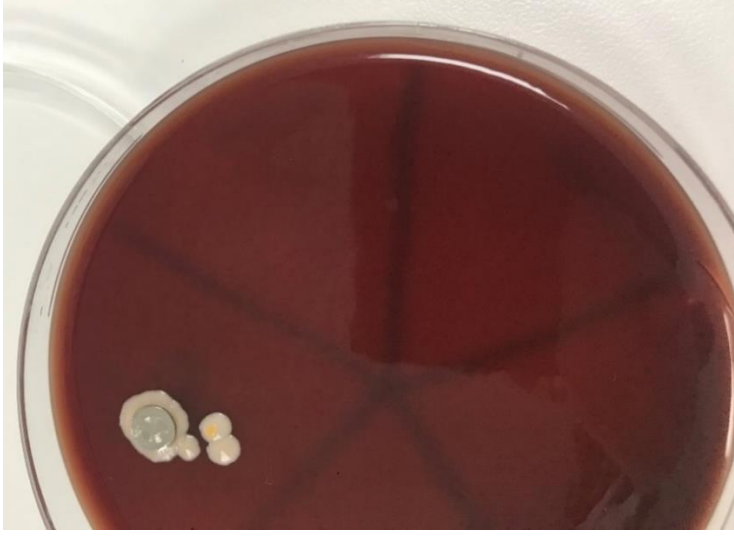


Resim 14: İmplant edilmiş disklerin poş bölgesinden çıkarılma görünümü

Steril şartlar altında alınan doku örnekleri darası alınmış steril kaplara alınarak yaklaşık bir saat içerisinde mikrobiyoloji laboratuvarına getirildi. Dokular, 1 mL sıvı besiyeri içerisinde doku homojenizatöründe (Next Advance Bullet Blender® Homogenizer, USA) parçalandı. Her örnek için 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10,000 ve 1/100,000 sulandırımalar yapıldı. Her bir sulandırımdan 50 mikrolitre Kanlı agar (BD, USA), Macconkey Agar (BD, USA) ve Sabauraud Dekstrose Agara (SDA-BD, USA) ekildi. Kantitatif ekim yapılan plaklar bakteriyolojik inceleme için 24-48 saat 37°C’de, mantar incelemesi için 5 güne kadar 37 °C’de inkübe edildi. İnkübasyon sonrası sonuçlar, gram doku başına koloni oluşturan birim (KOB/mL) olarak hesaplandı. Üreyen mikroorganizmalar, Gram boyama ve Matrix Assisted Laser Desorption-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) ile tiplendirildi.

Şüpheli enfeksiyon bölgesinden Levine tekniği ile alınan sürüntü örnekleri, taşıma besiyeri içerisinde yaklaşık bir saat içerisinde mikrobiyoloji laboratuvarına getirildi. Örnekler; Kanlı agar (BD, USA), Macconkey Agar (BD, USA) ve SDA (BD, USA) ekildi. Kalitatif ekim yapılan plaklar, bakteriyolojik inceleme için 24-48 saat 37°C’de, mantar incelemesi için 5 güne kadar 37 °C’de inkübe edildi. İnkübasyon sonrası kalitatif olarak değerlendirildi. Üreyen mikroorganizmalar, Gram boyama ve MALDI-TOF MS ile tiplendirildi.

Steril şartlar altında alınan disk örnekleri darası alınmış steril kaplara alınarak yaklaşık bir saat içerisinde mikrobiyoloji laboratuvarına getirildi. Disk örnekleri, 1mL sıvı besiyeri içerisinde yaklaşık 15 dakika vortekslendi. Her örnek için 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10,000 ve 1/100,000 sulandırımalar yapıldı. Her bir sulandırımdan 50 mikrolitre Kanlı agar (BD, USA), Macconkey Agar (BD, USA) ve SDA (BD, USA) ekildi. Kantitatif ekim yapılan plaklar bakteriyolojik inceleme için 24-48 saat 37°C’de, mantar incelemesi için 5 güne kadar 37 °C’de inkübe edildi. İnkübasyon sonrası sonuçlar koloni oluşturan birim (KOB/mL) olarak değerlendirildi. Üreyen mikroorganizmalar, Gram boyama ve MALDI-TOF MS ile tiplendirildi.



Resim 15: Üreme gözlenen bir disk örneğinin mikrobiyolojik inceleme görünümü



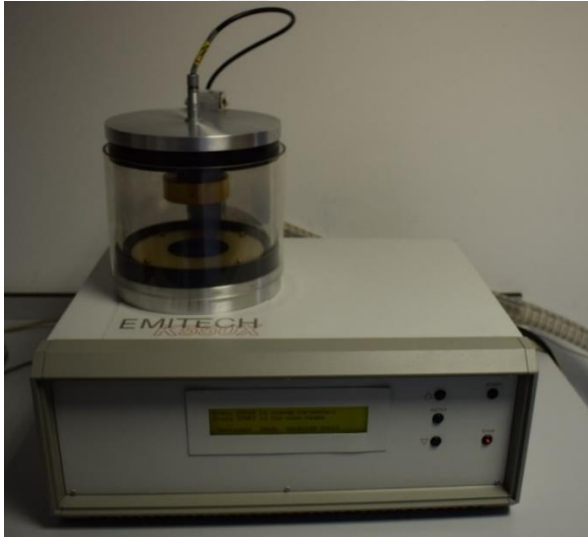
Resim 16: Üreme gözlenen bir sürüntü örneğinin mikrobiyolojik inceleme görünümü

Ankara Üniversitesi Nükleer Bilimler Enstitüsü'ne iletilen implantlar ise ilk olarak teslim sırasında bulundukları %100 derişimli alkol solüsyonundan çıkarılıp kritik bölge kurutucusuna yerleştirilmiştir (Resim 17). Emitech K850X marka olan bu kritik nokta kurutucu cihazda 35 °C sıcaklıkta 1250 psi basınçta 45 dakika süreli bu işlemin ardından Emitech 550X cihazında 2 dakika süreyle altın kaplama işlemi

yapılmıştır (Resim 18). Daha sonra Zeiss EVO 40 model tarama elektron mikroskobu (Scanning electron microscope-SEM) cihazı ile önceden kaplanan tüm örnekler incelenmiştir (Resim 19-20). 20 kilovolt dalga boyunda ve 9 milimetre uzaklık standartlarında görüntüler incelenmiştir. Standardizasyon amacıyla tüm örneklerden 200x, 1000x, 5000x ve 10000x büyütmelerde örnekler toplanmıştır.



Resim 17: Kritik nokta kurutucusu önden görünüm



Resim 18: Altın kaplama cihazı önden görünüm



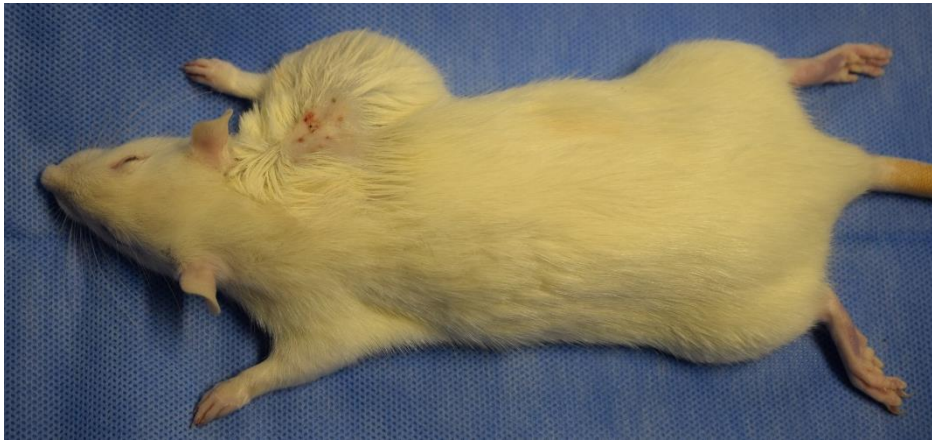
Resim 19: Carl Zeiss EVO 40 tarama elektron mikroskobu önden görünüm



Resim 20: Kurutma ve kaplanma sonrası örnek titanyum disklerinin üstten görünümü

4. haftada 2. haftada olduğu gibi tüm işlemler tekrarlanmıştır. Her bir deney hayvanından alınan bir adet disk, bir adet doku kültürü ve bir adet sürüntü kültürü Ankara Üniversitesi Tıp Fakóltesi Mikrobiyoloji Merkez Laboratuvarı'na, bir adet disk ise Ankara Üniversitesi Nükleer Bilimler Enstitüsü'ne yönlendirilmiştir. Bu merkezlerde de 2.haftada uygulanan işlemler tekrarlanmış ve veriler toplanmıştır. Bu süre içerisinde herhangi bir deney hayvanı kaybı izlenmemiştir. Haftada 2 kere olacak şekilde ağırlık takipleri devam etmiştir. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nda belirttiğimiz takiplerde çalışmayı durdurmamızı gerektirecek genel durum bozukluğu göstergeleri tüm çalışma boyunca takip edilmiş ve bu süreçte herhangi birisiyle karşılaşılmamıştır.

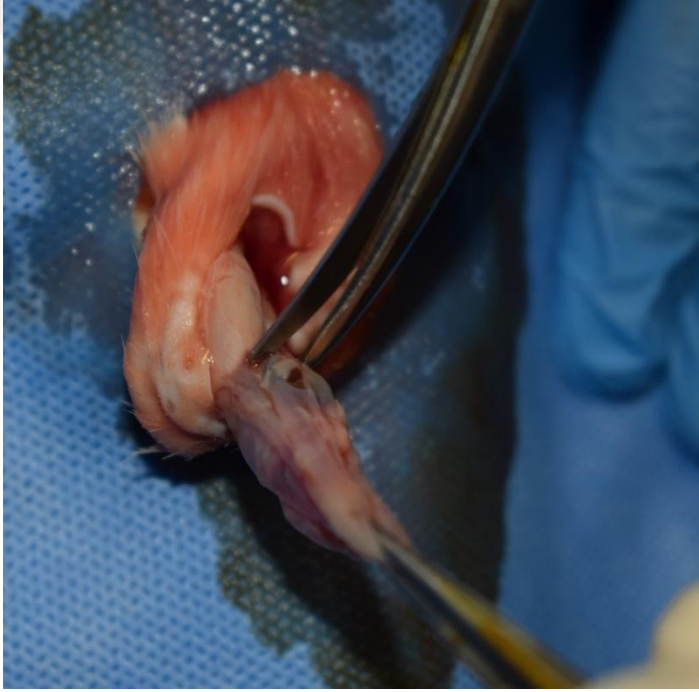
Çalışmanın 6. haftasında yapılan proje planlamasına da bağılı olarak deney hayvanlarından son örnekler toplanıp ötenazi işlemi uygulanmıştır. 4. ve 6.hafta arasında da herhangi bir deney hayvanı kaybı izlenmemiştir. Çalışmanın sonuna kadar sadece 3.gruptan bir adet kayıp sonrası 47 adet deney hayvanı ile çalışma sonlandırılmıştır. Son cerrahi ile doku örnekleri alınırken abse izlenen tüm hayvanların abse oluşumu da çevre doku ile birlikte eksize edilmiştir (Resim 21-23). Aynı gün hazırlanan tamponlu formalin çözeltisinin içine bu abse dokuları bırakılmıştır. Cerrahi işlemlerin bitmesinin ardından uygun dozda anestezi tekrarlanmış ve mevcut sedatize durumundan emin olduktan sonra tüm deney hayvanlarına eksanguinasyon ile ötenazi işlemi uygulanmıştır. Alınan kan örneğinden ise her bir deney hayvanı için olacak şekilde 0,5ml'lik EDTA'lı tüplere kan örnekleri alınmıştır.



Resim 21: Abse izlenen örnek bir deney hayvanının işlem öncesi üstten görünümü



Resim 22: Abse izlenen örnek bir deney hayvanının işlem öncesi yandan görünümü



Resim 23: Abse dokusunun düzgün sınırlar ile diseksiyonunun görünümü

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda kontrol grubu hariç tüm gruplardan alınan abse örnekleri incelenmiştir. Histolojik inceleme için alınan dokular %10'luk tamponlu formalin solüsyonu (Ph 7.3) içerisinde 48-72 saat tespit edilmiştir. Tespit işlemi tamamlandıktan sonra alınan örnekler çeşme suyu ile yıkayıp dehidratasyon amacı ile 2 kez 5'er dakika olmak üzere sırasıyla dereceli ve artan yoğunlukta etil alkol serilerinden geçirilip dokular şeffaflandırılmak için ksilen ile işleme tabi tutulmuştur. Dokular sıvı parafinle 60°C'lik etüv içerisinde

3 saat inkübe edildikten sonra parafin bloklar içerisine gömülmüştür. Parafin bloklardan Leica RM 2125RT model mikrotom ile 4 µm kalınlığında kesitler alınıp sıcak su banyosundan lam üzerine toplanmıştır.

Doku bütünlüğü ve morfolojiyi değerlendirmek amacıyla dokulara Hematoksilen – Eozin boyaması yapılmıştır. Kesitler 60°C'lik etüvde 1 saat bekletildikten sonra deparafinizasyon amacıyla 2 kez 30'ar dakika ksilene tabi tutulmuştur. Rehidratasyon için sırasıyla %100, %96 ve %75 etanol serilerinden geçirilecek dokular çeşme suyu ile yıkanmıştır. Hematoksilen solüsyonu ile 1 dakika boyamanın ardından çeşme suyundan geçirilen örnekler 2 dakika Eozin solüsyonu ile boyandıktan sonra tekrar çeşme suyunda yıkanıp daha sonra %75, %96 ve %100 etanol serilerinden geçirilerek dehidratasyon işlemi uygulanmıştır. Şeffaflaştırma amacı ile 30'ar dakika iki kez ksilende tutulan kesitler entellan kullanılarak lamelle kapatılmıştır.

Boyanan preparatlar Zeiss Axio Scope A1 (Carl Zeiss, Oberkochen, Germany) marka ışık mikroskobuyla incelenip ve fotoğrafları çekilmiştir.

6. haftada alınan kan örnekleri ise Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi Merkez Tanı Laboratuvarı'nda işlenmiş ve lökosit, lenfosit, granüosit ve lenfosit yüzdesi parametreleri toplanmıştır.

Toplanan tüm veriler spss version 20 sisteminde değerlendirilmiştir. Grup başına düşen örneklem sayısı 8 olduğu için tüm işlemler non-parametrik testler ile gerçekleştirilmiştir. Ağırlık ve laboratuvar verilerinin karşılaştırması Kruskal Wallis testi ile değerlendirilmiştir. Anlamlı seviyede fark saptanan hasta grupları ikili karşılaştırmalar (pairwise comparsion) ile post-hoc incelemeye alınmıştır. Abse varlığının karşılaştırılması için ki kare testi uygulanmıştır. Alınan dokulardaki miligram başına koloni miktarı, toplanan disklerdeki koloni miktarı ve sürüntü örneklerindeki enfeksiyon yoğunluğunun grupların 3 farklı zamandaki karşılaştırması Kruskal Wallis testi ile incelenmiştir. Daha sonra grupların kendi içindeki farklar ikili karşılaştırmalar ile değerlendirilmiştir. Grupların 3 farklı zaman dilimindeki enfeksiyon incelemesi için friedman testi, anlamlı fark çıkan grupların kendi arasındaki değerlendirmeleri için de wilcoxon testi uygulanmıştır. Aynı zaman dilimindeki kültür tekniklerinin korelasyonu için spearman analizi kullanılmıştır.

4. BULGULAR

6 gruptaki 8'er hayvanın (ilk cerrahi sonrası 1 adet kayıp mevcut) haftada 2 kez olacak şekilde alınan 13 farklı zamandaki ağırlık verilerinden sadece 7. ve 38. günlerde gruplar arasında anlamlı bir fark izlenmiştir (Tablo 5). 7.günde post-hoc analizlerinde kontrol grubu ile s.aureus (p=0,046) ve s.epidermidis bf+ (p=0,047) grubu arasında anlamlı fark seviyesine yakın bir fark izlenmiştir. 38.günde ise kontrol grubu ile p.aeruginosa grubu arasında anlamlı bir fark izlenmiştir (p=0,006). Ayrıca s.aureus ile s.epidermidis bf+ arasında da daha az olmak üzere anlamlı bir fark görülmüştür (p=0,041). Diğer herhangi bir dönemde gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Zamana göre ağırlık ölçümleri grup içinde değerlendirildiğinde tüm gruplarda ağırlık artışı anlamlı seviyede gözlenmiştir (p<0,05).

Tablo 5: Etkenlerin sıra numaralaması açısından ağırlıkların günlere göre karşılaştırılması

Gün	Etken												
	Kontrol		Psödomonas Aeruginosa		Stafilokokkus Aureus		Stafilokokkus Epidermidis bf+		Stafilokokkus Epidermidis bf-		Candida Albicans		P değeri
	Sayı	S.O. (Mean Rank)	Sayı	S.O. (Mean Rank)	Sayı	S.O. (Mean Rank)	Sayı	S.O. (Mean Rank)	Sayı	S.O. (Mean Rank)	Sayı	S.O. (Mean Rank)	
0.gün	8	24,81	8	22,44	8	28,63	8	30,13	8	20,38	8	20,63	,627
3.gün	8	22,56	8	20,19	7	29,36	8	24,44	8	28,81	8	19,31	,592
7.gün	8	11,25	8	15,13	7	28,93	8	29,88	8	30,81	8	28,63	,008*
10.gün	8	23,31	8	14,88	7	28,50	8	23,56	8	27,56	8	26,75	,392
14.gün	8	22,69	8	15,63	7	26,57	8	24,25	8	27,69	8	27,50	,492
17.gün	8	23,81	8	12,19	7	28,57	8	23,50	8	28,75	8	27,75	,141
21.gün	8	28,25	8	18,63	7	29,86	8	20,06	8	21,38	8	26,56	,478
24.gün	8	32,31	8	24,56	7	32,79	8	15,75	8	18,88	8	20,81	,068
28.gün	8	30,06	8	16,69	7	28,36	8	20,94	8	23,50	8	25,00	,415
31.gün	8	28,50	8	12,13	7	30,64	8	20,75	8	22,81	8	30,00	,061
35.gün	8	32,00	8	17,50	7	32,29	8	17,75	8	21,94	8	23,56	,112
38.gün	8	27,63	8	10,31	7	35,57	8	12,50	8	31,75	8	27,69	,000*
42.gün	8	24,50	8	16,94	7	25,64	8	22,06	8	26,31	8	28,75	,611

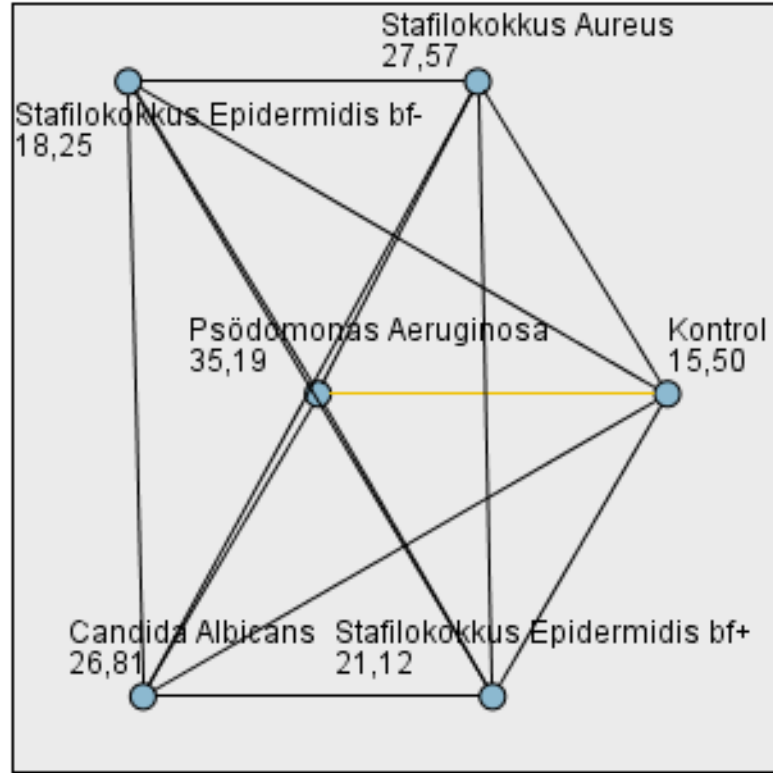
Tüm deney hayvanlarından eksanguinasyon sırasında alınan kan örneklerinde incelenen beyaz küre, lenfosit, granülosit sayısı ve lenfosit yüzdesi değerleri gruplar arasında karşılaştırılmış olup bu 4 parametrenin herhangi birinde anlamlı bir fark saptanmamıştır (Tablo 6).

Tablo 6: Etkenlerin sıra numaralaması açısından laboratuvar değerlerinin karşılaştırılması

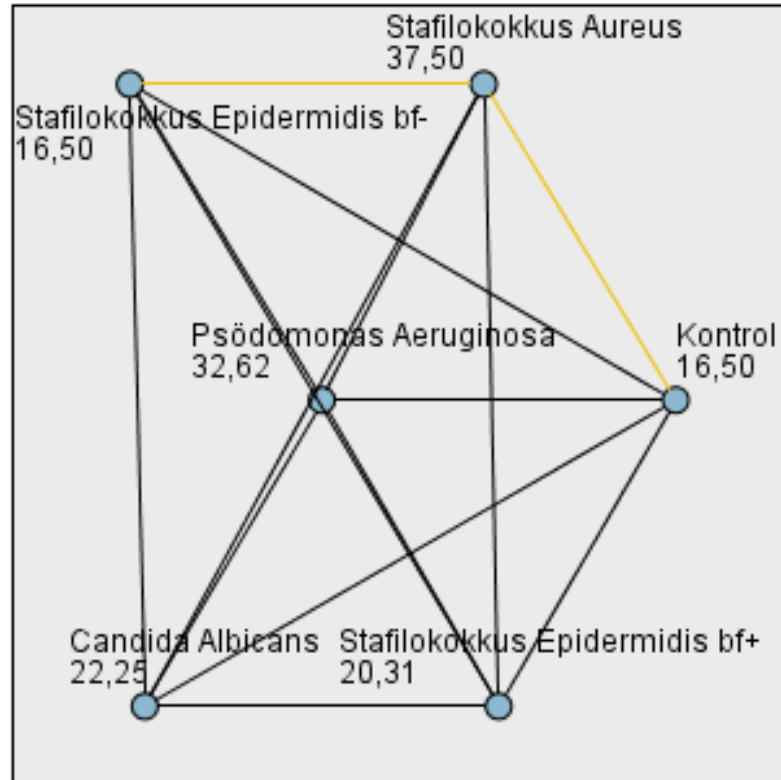
Laboratuvar Değerleri	Etken											
	Kontrol		Psödomonas Aeruginosa		Stafilokokkus Aureus		Stafilokokkus Epidermidis bf+		Stafilokokkus Epidermidis bf-		Candida Albicans	
	Sayı	Sıra Ortalaması (Mean Rank)	Sayı	Sıra Ortalaması (Mean Rank)	Sayı	Sıra Ortalaması (Mean Rank)	Sayı	Sıra Ortalaması (Mean Rank)	Sayı	Sıra Ortalaması (Mean Rank)	Sayı	Sıra Ortalaması (Mean Rank)
Beyaz Küre	8	21,25	8	18,50	7	30,86	8	17,94	8	22,13	8	34,19
Lenfosit	8	20,38	8	17,50	7	32,86	8	19,38	8	22,19	8	32,81
Granülosit	8	26,63	8	22,25	7	23,07	8	14,56	8	22,81	8	34,56
Lenfosit %	8	16,75	8	21,63	7	33,07	8	30,75	8	24,19	8	18,75

Gruplardaki deney hayvanlarında izlenen abse oranları ki-kare ile karşılaştırılmıştır. Bu inceleme doğrultusunda ulaşılan veriler neticesinden fisher's exact test kullanılmıştır ve gruplar arasında anlamlı seviyede bir fark saptanmamıştır ($p=0,111$).

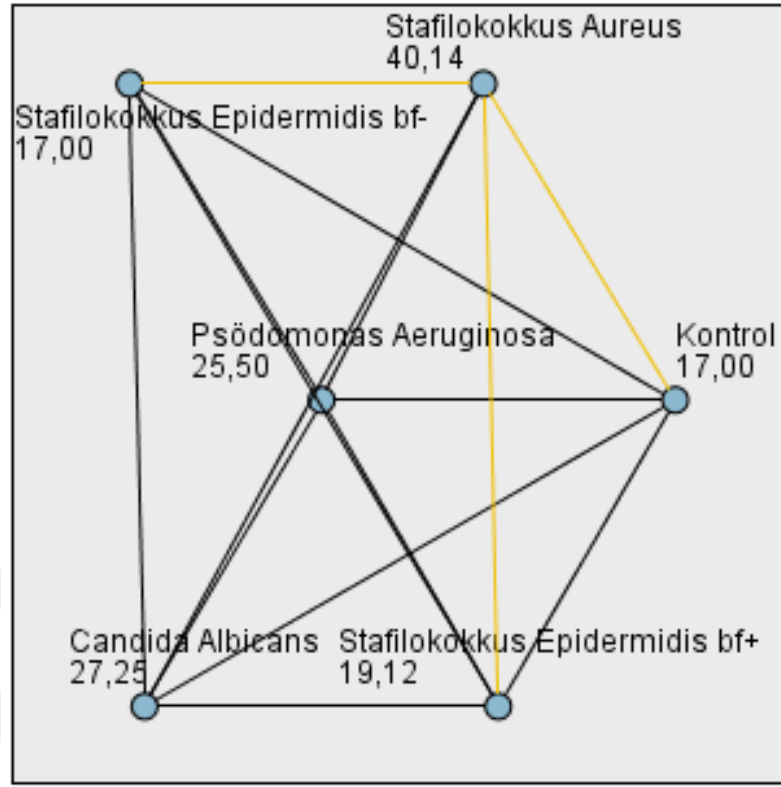
Disk implantasyonu sonrası 2, 4 ve 6.haftalarda denek hayvanlardan toplanan doku örneklerinin kültürlerinde izlenen koloni sayılarının toplanmış dokunun miligramına bölünerek bulunan miligram başına koloni sayısı ile enfeksiyon karşılaştırması yapılmıştır. Bu karşılaştırmalardan 3 zaman diliminin tamamında anlamlı bir fark saptanmıştır. İlk zaman dilimi olan 2.haftada sadece p.aeruginosa grubunun enfeksiyon yükü kontrol grubuna göre anlamlı yüksek izlenmiştir ($p=0,013$) (Şekil 1). 4.hafta sonuçlarında ise bu sefer s.aureus grubuna ait olan enfeksiyon yükü kontrol ve s.epidermidis bf- gruplarına göre anlamlı yüksek çıkmıştır (her iki karşılaştırma için de $p=0,005$) (Şekil 2). 6. haftaya baktığımızda ise s.aureus grubunun enfeksiyon yükü sırasıyla kontrol grubundan ($p=0,001$), s.epidermidis bf- grubundan ($p=0,001$) ve s.epidermidis bf+ grubundan ($p=0,004$) anlamlı yüksek çıkmıştır (Şekil 3).



Şekil 1: 2.hafta doku örneklerindeki enfeksiyon yüklerinin ikili karşılaştırmaları

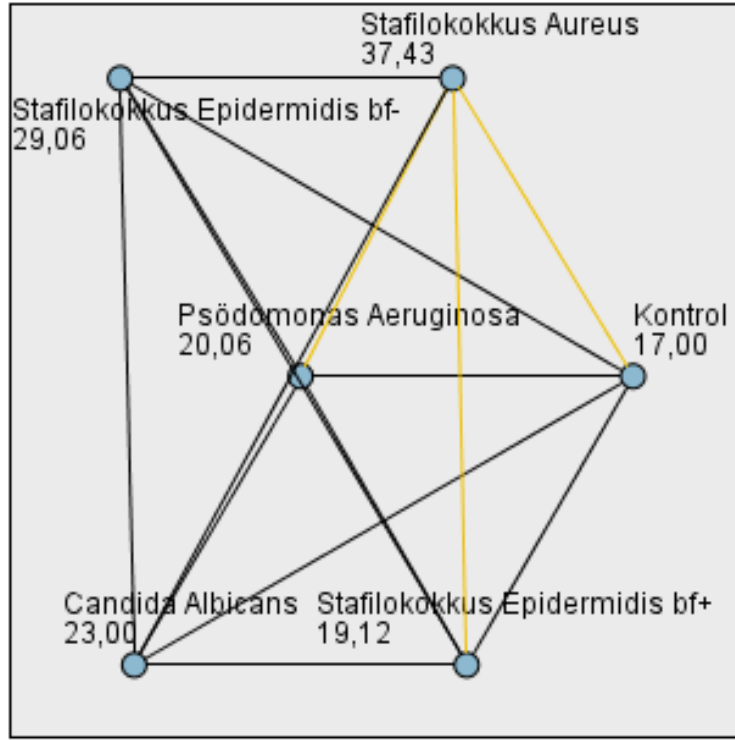


Şekil 2: 4.hafta doku örneklerindeki enfeksiyon yüklerinin ikili karşılaştırmaları

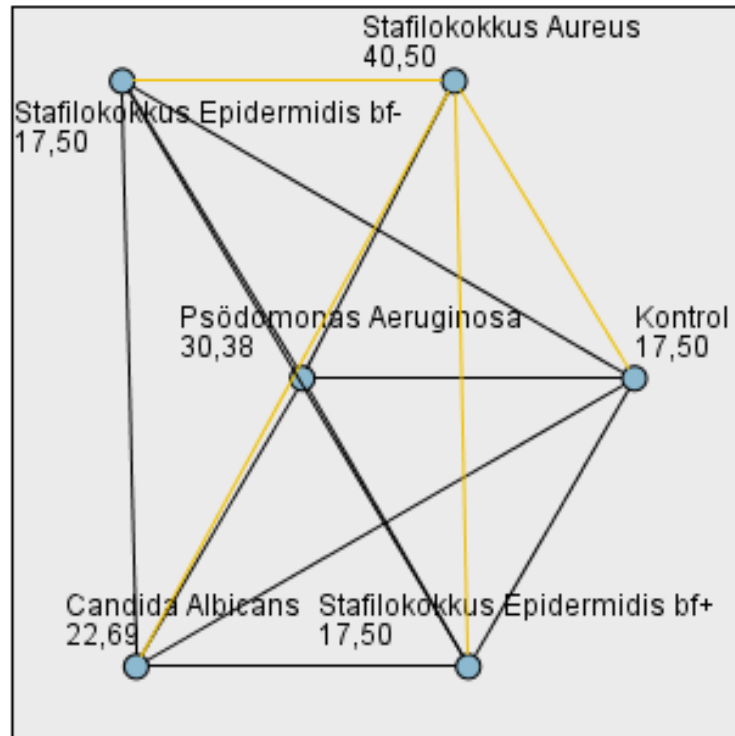


Şekil 3: 6.hafta doku örneklerindeki enfeksiyon yüklerinin ikili karşılaştırmaları

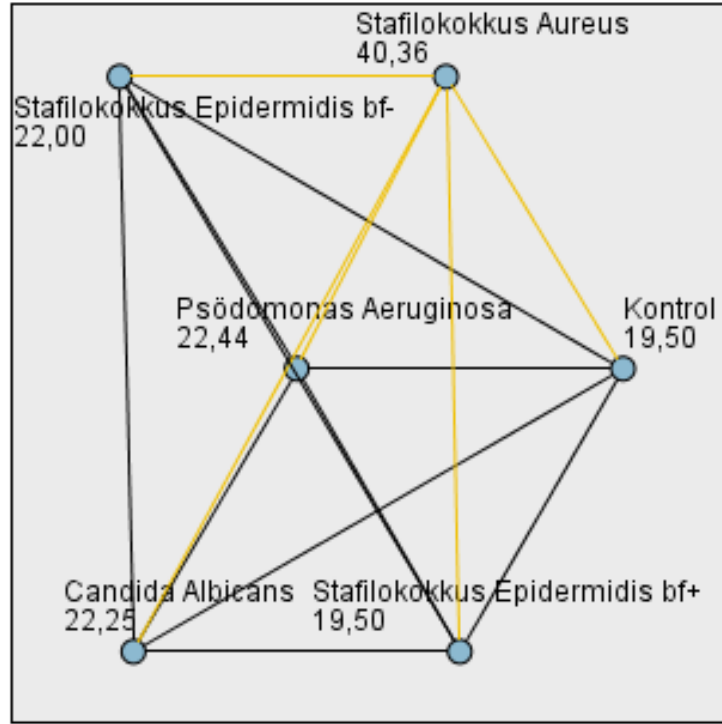
Denek hayvanlarından aynı zaman diliminde alınan diskler enfeksiyon yükleri açısından karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırmaların da tamamında anlamlı fark izlenmiştir. 2.hafta sonuçlarında s.aureus grubundaki enfeksiyon yükü kontrol ($p=0,006$), s.epidermidis bf+ ($p=0,021$) ve p.aeruginosa grubundan ($0,037$) anlamlı yüksek olarak izlenmiştir (Şekil 4). 4.haftada s.aureus grubundaki enfeksiyon yükü p.aeruginosa grubu hariç diğer 4 gruptan anlamlı olarak yüksek izlenmiştir; bu gruplar kontrol grubu ($p=0,001$), s.epidermidis bf+ grubu ($p=0,001$), s.epidermidis bf- grubu ($0,001$) ve c.albicans grubudur ($0,022$) (Şekil 5). Son olarak 6.haftada ise s.aureus grubundaki bakteri yükü tüm grupların yükünden anlamlı olarak yüksek izlenmiştir. Bunlar sırasıyla kontrol ($p=0,000$), s.epidermidis bf+ ($p=0,000$), s.epidermidis bf- ($p=0,002$), c.albicans ($p=0,003$), p.aeruginosa ($p=0,004$) gruplarıdır (Şekil 6).



Şekil 4: 2.hafta disk örneklerindeki enfeksiyon yüklerinin ikili karşılaştırmaları

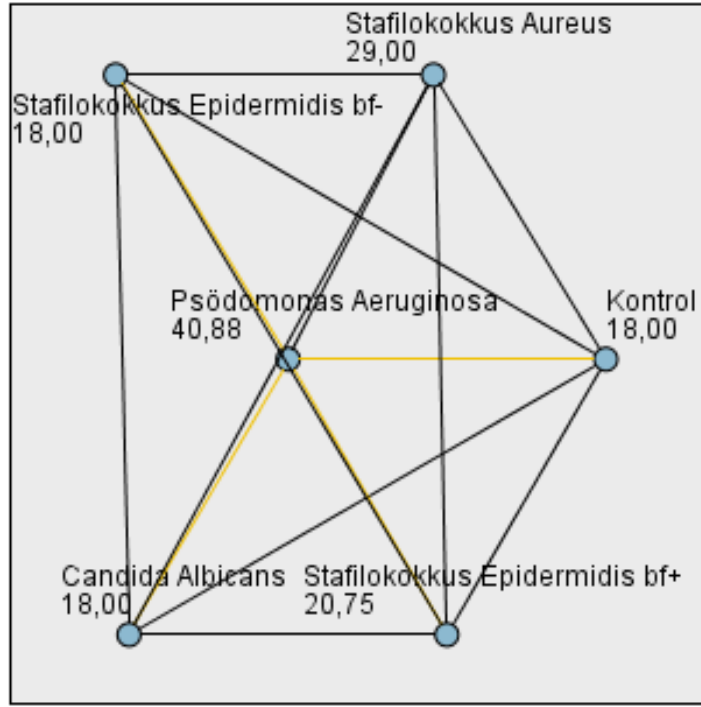


Şekil 5: 4.hafta disk örneklerindeki enfeksiyon yüklerinin ikili karşılaştırmaları

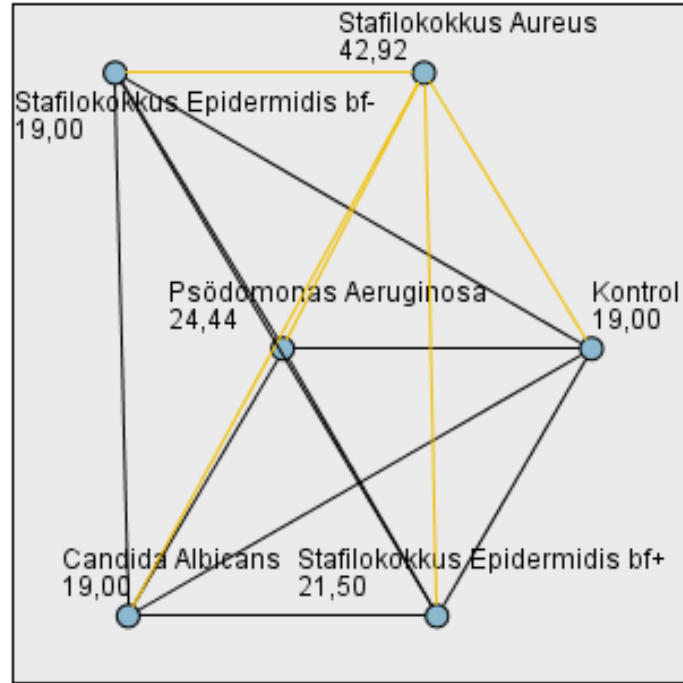


Şekil 6: 6.hafta disk örneklerindeki enfeksiyon yüklerinin ikili karşılaştırmaları

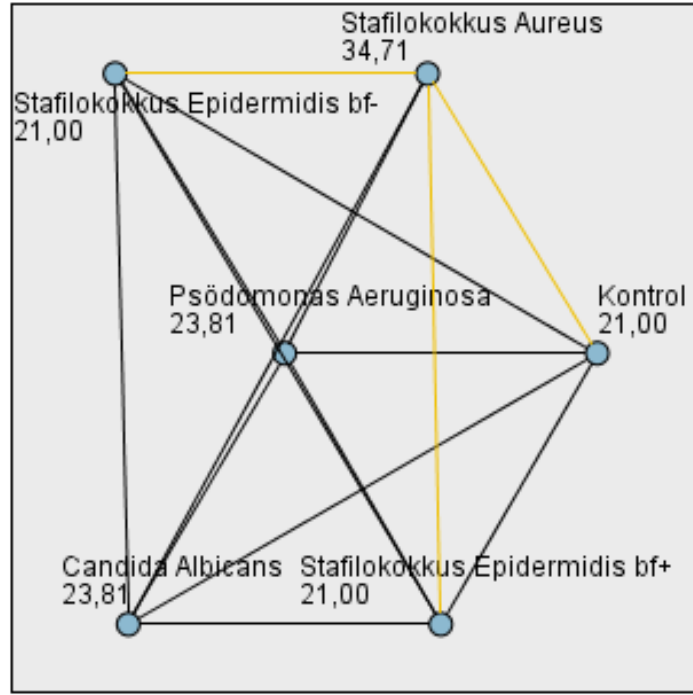
Aynı süreçte disk ve doku örneklerinin yanı sıra tüm işlemlerde sürüntü örnekleri de toplanmıştır. Sürüntü kültürü sonuçları enfeksiyon yoğunluğuna göre numaralandırılıp o şekilde karşılaştırılmıştır (üreme yok: 0, üreme az: 1, üreme orta: 2, üreme çok: 3). 3 farklı zaman diliminde toplanan bu verilerin de tümünde anlamlı fark izlenen ikili karşılaştırmalar görülmüştür. 2.hafta örneklerinde p.aeruginosa grubu enfeksiyon yoğunluğu açısından kontrol grubuna ($p=0,000$), s.epidermidis bf+ grubuna ($p=0,002$), s.epidermidis bf- grubuna ($p=0,000$) ve c.albicans grubuna ($p=0,000$) göre anlamlı yüksek çıkmıştır (Şekil 7). 4.hafta ise disk grubunda olduğu gibi s.aureus grubundaki enfeksiyon yoğunluğu diğer tüm gruplardan anlamlı olarak yüksek izlenmiştir. Bu gruplar sırasıyla kontrol ($p=0,000$), s.epidermidis bf+ ($p=0,000$), s.epidermidis bf- ($p=0,000$), c.albicans ($p=0,000$) ve p.aeruginosa ($p=0,003$) grubudur (Şekil 8). 6.haftada ise s.aureus grubundaki enfeksiyon yoğunluğu kontrol ($p=0,013$), s.epidermidis bf+ ($p=0,013$) ve s.epidermidis bf- ($p=0,013$) gruplarından anlamlı olarak yüksek çıkmıştır (Şekil 9).



Şekil 7: 2.hafta sürüntü kültürü örneklerindeki enfeksiyon yoğunluğunun ikili karşılaştırmaları



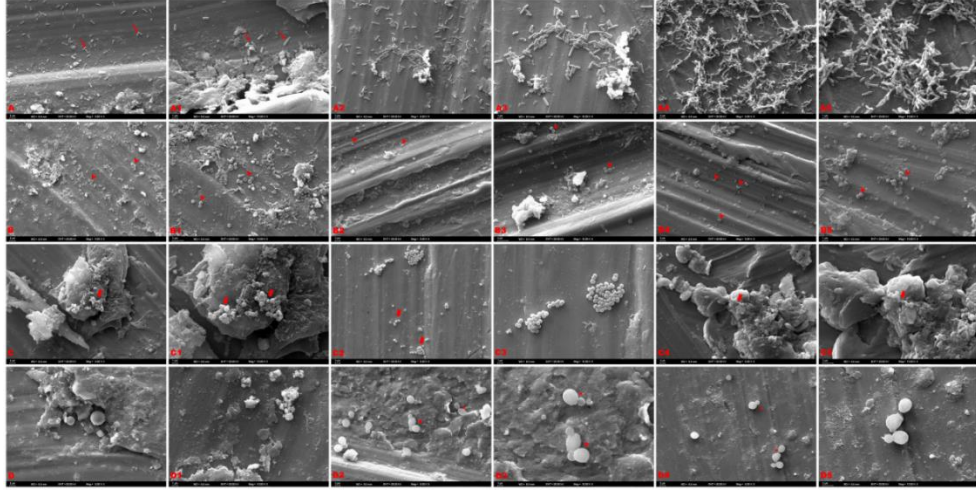
Şekil 8: 4.hafta sürüntü kültürü örneklerindeki enfeksiyon yoğunluğunun ikili karşılaştırmaları



Şekil 9: 6.hafta sürüntü kültürü örneklerindeki enfeksiyon yoğunluğunun ikili karşılaştırmaları

Tüm etken gruplarının zamana göre enfeksiyon süreçleri kendi içlerinde incelenmiştir. İlk olarak miligram başına doku kültürü açısından 6 grup kendi arasında değerlendirildiğinde sadece p.aeruginosa grubunda anlamlı bir düşüklük izlenmiştir. Post-hoc analizlerde ise bu farkın 2 ve 4.haftalar arasında olduğu görülmüştür ($p=0,025$). Disk açısından değerlendirildiğinde ise yine p.aeruginosa ve ayrıca s.aureus enfeksiyon değerleri arasında anlamlı bir fark izlenmiştir. Post-hoc analizlerde ise s.aureus grubunda disk enfeksiyonları açısından 2.haftadan 4.haftaya anlamlı bir artış izlenmiştir ($p=0,028$). Sürüntü örnekleri açısından değerlendirme yapıldığında sadece p.aeruginosa grubunda zamana göre anlamlı bir fark izlenmiştir ($p=0,011$).

Kültür örneklerinin korelasyonu değerlendirildiğinde etkenlerden bağımsız olarak yapılan incelemelerde 3 farklı zaman diliminde de sürüntü ve doku kültürü sonuçları korele izlenmiştir ($p<0,01$). 4. ve 6.hafta itibariyle ise disk kültürü örnekleri ile yumuşak doku kültür örnekleri arasında korelasyon görülmüştür ($p<0,01$). Etkenler ayrı olarak değerlendirildiğinde ise sadece gram pozitif kok etkenleri olan s.aureus ve s.epidermidis etkenlerinin disk kültürü sonuçları ile yumuşak doku kültür sonuçları korele izlenmiştir.



Resim 24: İn vitro koşullarda titanyum disk üzerinde gelişen mikroorganizma örneklerinin zamana bağlı olarak SEM görüntüleri.

A-A5: *psödomonas aeruginosa*, **B-B5:** *stafilokokkus aureus*, **C-C5:** *stafilokokkus epidermidis*, **D-D5:** *candida albicans* etkenlerini A-A1, B-B1, C-C1 ve D-D1 24. saate ait örnekleri; A2-A3, B2-B3, C2-C3 ve D2-D3 48.saate ait örnekleri; A4-A5, B4-B5, C4-C5 ve D4-D5 96.saate ait örnekleri; A, A2, A4, B, B2, B4, C, C2, C4, D, D2, D4 5.00 K X'lik büyütmedeki fotoğrafları A1, A3, A5, B1, B3, B5, C1, C3, C5, D1, D3, D5 10.00 K X'lik büyütmedeki fotoğrafları ↓ işareti *pseudomonas aeruginosa*'yı; ▲ işareti *staphylococcus aureus*'u; ◀ işareti *staphylococcus epidermidis*'i; ★ işareti *candida albicans*'ı göstermektedir.

İmmün sistemin etkisi olmadan değerlendirilen etkenlerin in-vitro inokülasyonu sonrası elektron mikroskobu görüntüleri resim 24'te gösterilmiştir. İn-vivo görüntüler de etken etken değerlendirilmiştir. Kontrol grubunda diğer gruplara göre belirgin olarak daha az inflamasyon görülmüştür (Resim 25). İn vivo koşullarda genel görünümde *pseudomonas aeruginosa* çok net izlenememiştir (Resim 26). Makrofajlar belirgin izlenmiştir (Resim 26E-F). Doku debris (Resim 26E) ve fibrin (Resim 26G) yapıları görülmüştür. Geç dönemde nekrotik hücreler (Resim 26I) izlenmiştir. İn-vivo *stafilokokkus aureus* (Resim 27) incelemelerinde doku debris (Resim 27A, G, H), inflamasyon göstergesi lökositler seri hücreler (Resim 27B, C, H) ve fibrin yapısı (Resim 27F) dikkat çekmiştir. Biyofilm (+) *stafilokokkus epidermidis* grubunu değerlendirdiğimizde ise (Resim 28) belirgin ve yoğun makrofaj hücreleri (Resim 28A, B, F) ve lökositler seri hücrelerinin (Resim 28H, I) izlenmesi diğer gruplarda görülen yoğun inflamasyon bulgusuna benzer fibrinöz bir matriks ve doku debris gözlenmiştir. Bf- *stafilokokkus epidermidis* incelemesindeki (Resim 29) hem makrofajların (Resim 29B, C, E, H) hem de lökositler seri hücrelerinin (Resim 29C,

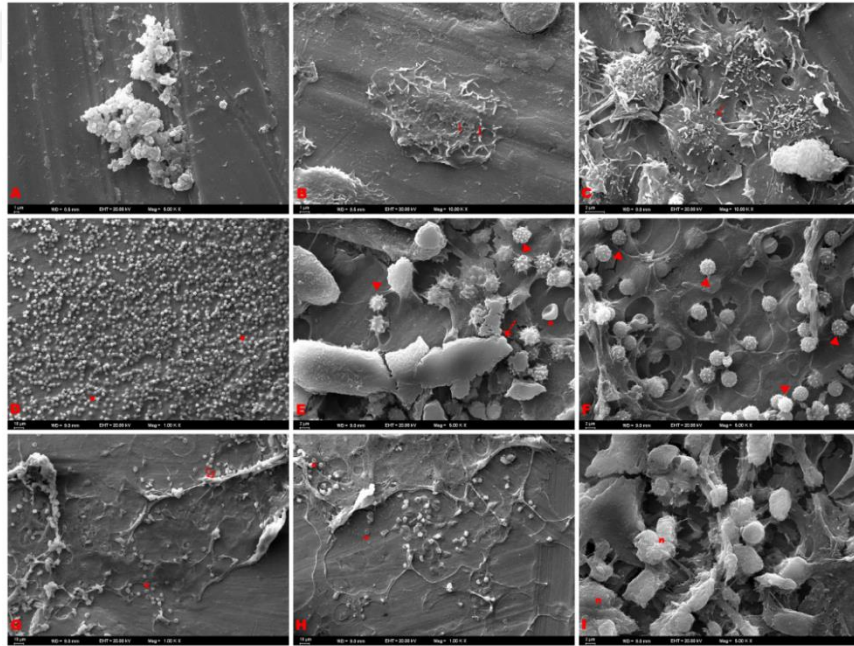
F) izlenmesi yoğun inflamasyona işaret etmektedir. *Candida albicans* etkeninin elektron mikroskopu incelemelerinde ise (Resim 30) yoğun inflamasyon dokusu içerisinde doku debris, ölü hücreler, makrofajlar ve ağsı fibrin lifleri gözlemlenmiştir. Makrofajların tipik ışnsal tarzda ayaksı uzantıları belirgin olup inflamatuvar zemine oturmuştur. Makrofajların *candida albicans*'ı fagositoz etmeye çalışmakta olduğu belirlenmiştir (Şekil 30C). Özellikle 4.haftada makrofaj sayısında artış belirgindir (Şekil 30E). 6.haftada ise görünüm fibrozis oluşumunu işaret etmektedir.



Resim 25: İn vivo koşullarda kontrol grubunun zamana bağı olarak SEM görüntüleri

A 2.hafta sonunda; B 4.hafta sonunda; C 6.hafta sonunda elde edilen örnekleri içermektedir.

↓ işareti doku debrisini, ▶ işareti makrofaj'ı temsil etmektedir.

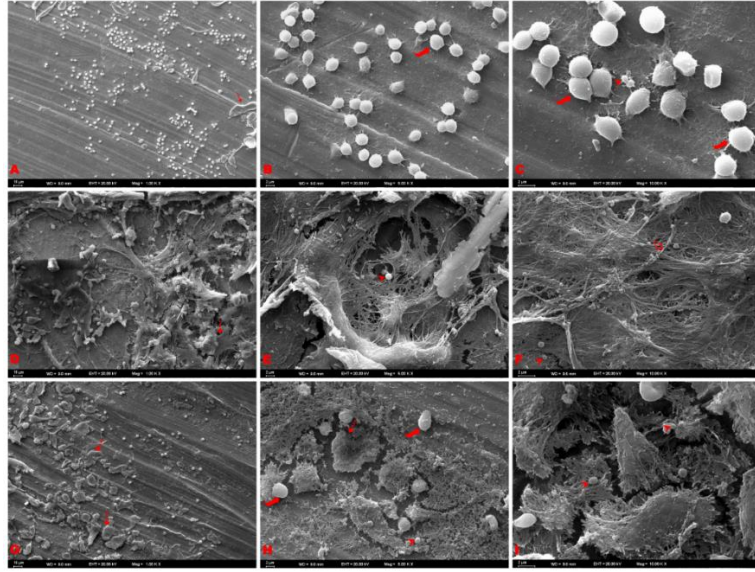


Resim 26: İn vivo koşullarda titanyum disk üzerinde gelişen *pseudomonas aeruginosa*

örneklerinin zamana bağı olarak taramalı elektron mikroskop görüntüleri

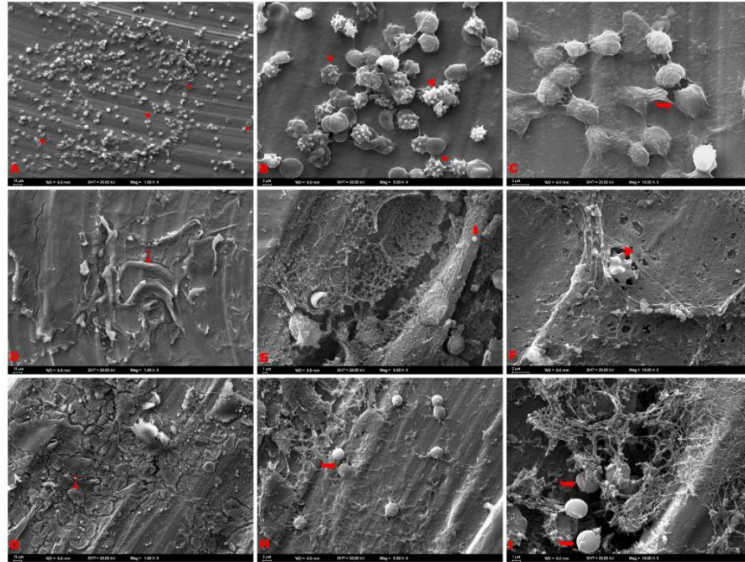
A-C 2.hafta sonunda; D-F 4.hafta sonunda; G-I 6.hafta sonunda elde edilen örnekleri içermektedir.

*D, H, G 1.00 K X'lik büyütme; A, E, F, I 5.00 K X'lik büyütme ve B, C 10.00 K X'lik büyütme göstermektedir. ▶ işareti makrofaj'ı, ↓ işareti *pseudomonas aeruginosa*'yı, ↓ işareti doku debrisini, ⇐ işareti fibrini, e harfi eritrositi, n harfi nekrotik hücreleri temsil etmektedir.*



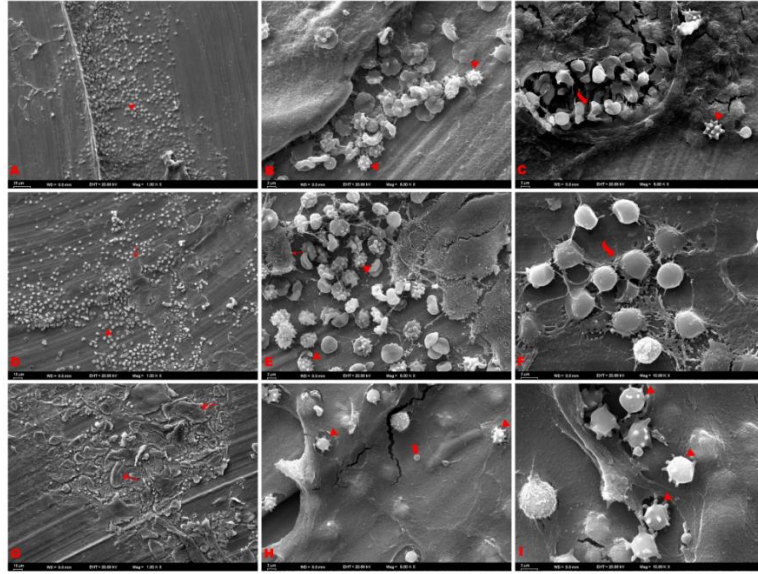
Resim 27: İn vivo koşullarda titanyum disk üzerinde gelişen staphylococcus aureus örneklerinin zamana bağlı olarak taramalı elektron mikroskop görüntüleri

A-C 2.hafta sonunda; D-F 4.hafta sonunda; G-I 6.hafta sonunda elde edilen örnekleri içermektedir. A, D, G 1.00 K X'lik büyütmeleri; B, E, H 5.00 K X'lik büyütmeleri ve C, F, I 10.00 K X'lik büyütmeleri göstermektedir. ↓ işaretini doku debrisini, ↪ işaretini lökösiter seri hücreleri, ▲ işaretini staphylococcus aureus'u, ⇔ işaretini fibrini temsil etmektedir



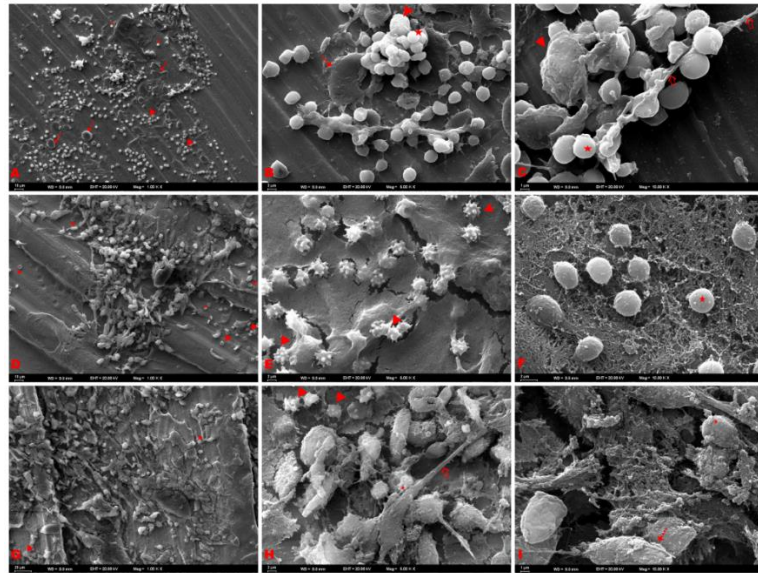
Resim 28: İn vivo koşullarda titanyum disk üzerinde gelişen staphylococcus epidermidis biyofilm (+) örneklerinin zamana bağlı olarak taramalı elektron mikroskop görüntüleri

A-C 2.hafta sonunda; D-F 4.hafta sonunda; G-I 6.hafta sonunda elde edilen örnekleri içermektedir. A, D, G 1.00 K X'lik büyütmeleri; B, C, E, H 5.00 K X'lik büyütmeleri ve F, I 10.00 K X'lik büyütmeleri göstermektedir. ▶ işaretini makrofaj'ı, e harfi eritrositi, ↪ işaretini lökösiter seri hücreleri, ↓ işaretini doku debrisini, ➡ işaretini staphylococcus epidermidis'i temsil etmektedir.



Resim 29: İn vivo koşullarda titanyum disk üzerinde gelişen staphylococcus epidermidis biyofilm (-) örneklerinin zamana bağlı olarak taramalı elektron mikroskop görüntüleri

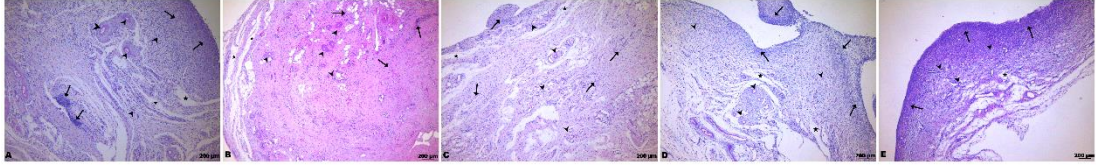
A-C 2.hafta sonunda; **D-F** 4.hafta sonunda; **G-I** 6.hafta sonunda elde edilen örnekleri içermektedir. **A, D, G** 1.00 K X'lik büyültmeleri; **B, C, E, H** 5.00 K X'lik büyültmeleri ve **F, I** 10.00 K X'lik büyültmeleri göstermektedir ▶ işareti makrofaj'ı, ★ işareti lökösiter seri hücreleri, ↓ işareti doku debrisini, ▲ işareti staphylococcus epidermidis'i temsil etmektedir.



Resim 30: İn vivo koşullarda titanyum disk üzerinde gelişen candida albicans örneklerinin zamana bağlı olarak taramalı elektron mikroskop görüntüleri

A-C 2.hafta sonunda; **D-F** 4.hafta sonunda; **G-I** 6.hafta sonunda elde edilen örnekleri içermektedir. **A, D, G** 1.00 K X'lik büyültmeleri; **B, E, H** 5.00 K X'lik büyültmeleri ve **C, F, I** 10.00 K X'lik büyültmeleri göstermektedir. ▶ işareti makrofaj'ı, ★ işareti candida albicans'ı, ↓ işareti doku debrisini, ▲ işareti fibrini, e harfi eritrositi temsil etmektedir

Çıkartılan abse dokusuna yapılan Hematoksilen-Eosin boyama incelemesinde (Resim 31) tüm deney gruplarında inflamasyonu işaret eden yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu dokuda bazofilik alanlarla karakterizedir. İnflamasyonun diğer özelliği olan damarlanma da kesitlerde belirgin olarak gözlenmiştir. İnflamasyona bağlı olarak gelişen ödem alanları ve aynı zamanda belirgin bağ dokusu artışı da izlenmiştir.



Resim 31: 6.haftanın sonunda elde edilen doku örneklerinin Hematoksilen-Eosin boyamalarının ışık mikroskopta değerlendirilmesi

A: *pseudomonas aeruginosa*, **B:** *staphylococcus aureus*, **C:** *staphylococcus epidermidis* biyofilm(+), **D:** *staphylococcus epidermidis* biyofilm(-) suş ve **E:** *candida albicans* içeren deney sonrası alınan dokuları göstermektedir. Tüm görüntüler 4X'lik büyültmede çekilmiştir. ↓ işareti inflamatuvar hücre infiltrasyon alanlarını, ▲ işareti damarlanma yapılarını, ★ işareti ödem alanlarını işaret etmektedir.

5. TARTIŞMA

S.aureus DAIR prosedürü sonrası başarısızlıkla ilişkili olduğu düşünülen tek mikroorganizmadır ve yapılan PEE algoritmalarında yer almaktadır (23). Ancak PEE etkeni olarak gösterilen başlıca etkenlerin biyofilm yapısı daha önce incelenmemiştir ve s.aureus için mevcut olan bu olumsuz şüphe mikrobiyolojik açıdan sorgulanmamıştır. Çalışmamız sonucunda aynı miktardaki başlıca PEE etkenlerini mikrobiyolojik, elektron mikroskopik, histolojik ve konağın tam kan değerleri açısından karşılaştırdık. Sadece s.aureus grubu 2.hafta örnekleri itibariyle yumuşak doku kültürlerinde değil ancak implant kültürlerinde diğer tüm gruplardan enfeksiyon yükü bakımından anlamlı seviyede yüksek izlenmiştir. Bu da tüm PEE etkenlerinde erken başlangıçlı PEE döneminde benzer olan yumuşak doku kültür sonuçlarının s.aureus etkeni için disk yapısında farklı olduğu ve 2.haftada dahi uygulanacak DAIR işleminin başarısızlıkla sonuçlanabileceğini göstermektedir. Bu durum da geniş çaplı derleme çalışmalarında s.aureus için mevcut olan DAIR başarısızlığını açıklayabilir. Çalışmamızı yapılmış bazı biyofilm çalışmaları ile şekillendirilmiştir.

Qin ve arkadaşları titanyum alaşım üzerinde gümüş nanopartiküllerinin in vitro ve in vivo koşullardaki anti-biyofilm etkisini değerlendirmiştir (242). Çalışmanın in-vitro kısmı için 1mm kalınlığında saf titanyum plaklara 1×10^6 KOB/ml s.epidermidis inoküle edilmiş. Bunun yanında belirli dozlarda gümüş nanopartikülleri kontrol grubu haricinde eklenmiş ve sonuçlar histolojik boyama, clsm (konfokal lazer tarama mikroskobu), sem ve pcr (polimeraz zincir reaksiyonu) ile değerlendirilmiştir. İn-vivo kısmında ise 6 grupta yer alacak toplam 60 rat ile osteomyelit tablosu incelenmiştir. Tibiaya yerleştirilen 1mm çaplı kirschner teli sonrası aynı bölgeye 1×10^5 KOB/ml s.epidermidis inoküle edilmiştir. Gümüş nanopartiküllerinin farklı derişimleri ile diğer gruplar incelenmiştir. Tüm hayvanlar 6 hafta takip edilmiş olup 3 günde bir vücut ısı ve ağırlık ölçümleri yapılmıştır. 2-4-6. haftalarda radyolojik görüntülemeler yapılmış ve 6. hafta sonunda eksanguinasyon ile ötenazi işlemi uygulanmıştır. Ötenazi sonrası tibia histolojik açıdan incelenmiş kirschner telleri mikrobiyolojik olarak karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak çalışma planı ve yöntemi çalışmamıza benzer olan bu çalışmada gümüş nanopartiküllerinin sitotoksik özelliği olmasa da biyofilm oluşumunda ve bakteri yükünde azalma yarattığı gösterilmiştir.

Balato ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise sadece in vitro olarak periprostetik eklem enfeksiyon etkenlerinden 3 tanesi (*p.aeruginosa*, *s.aureus* ve *s.epidermidis*) ile çeşitli antibiyotikler karşılaştırılarak biyofilm gelişimi değerlendirilmiştir (243). Çeşitli antibiyotiklerin katıldığı çimento yapılarının üzerindeki biyofilm yapıları 48,72 ve 96.saatlerde canlılığın değerlendirildiği bir boyama yapılarak cısm ile karşılaştırılmıştır. Bu çalışma ile etkene yönelik antibiyotik cevabı ve çimento içeriğine katılan antibiyotiklerin zamana göre etkinlikleri araştırılmıştır. Bunun sonucunda 2 aşamalı revizyon cerrahilerinde uygulanacak antibiyotikli çimento için etkene göre bir düzenleme yapılabileceği ama bu çalışmanın in-vivo koşullarda da değerlendirilmesi gerektiği önerilmiştir.

Oliveira ve arkadaşları ise mastit etkenleri arasında izlenen *s.aureus* ve *s.epidermidis* bakterilerini biyofilm yapıları açısından karşılaştırmıştır (14). Mastit olgularından izole edilen toplam 55 farklı örneği (26 tanesi *s.aureus*, 29 tanesi *s.epidermidis*) 24, 48 ve 72.saatlerde biyofilm oluşturmalarına göre incelemişlerdir. Bu incelemeler in vitro olarak FISH (floresan in situ hibridizasyon) tekniği ile değerlendirilmiştir. Sonuç olarak mastit olgularında sıklıkla izlenen bu iki etkenin biyofilm oluşturma zamanları ve sıklığı açısından anlamlı seviyede bir fark saptanmamıştır.

Malhotra ve arkadaşları ise biyofilm üreterek periimplant enfeksiyonlarına sebep olan mikroorganizmalardan *s.epidermidis*, *s.aureus*, *p.aeruginosa*, *e.coli* ve *k.pneumonia*'nın ortopedik implantlarda kullanılan 5 farklı malzeme üzerindeki (kobalt-krom, yüksek çapraz bağlı polietilen [highly cross-linked polyethylene], paslanmaz çelik, trabeküler metal ve titanyum alaşımı) biyofilm yapılarını in-vitro tekniklerle karşılaştırmışlardır (244). Tüm malzemeler 5mm çapında ve 5mm kalınlığında hazırlanmıştır. Tüm mikroorganizmalardan eşit miktarda oluşturulan 5ml'lik 1×10^4 KOB/ml yoğunluğundaki sıvılar içerisinde bu 5 farklı malzeme 48 saat bekletildikten sonra tüm içerikler glüteraldehit ve sıralı derişimlerdeki alkol içeriklerinden geçirilerek kritik nokta kurutucusu ve altın kaplama sonrası SEM incelemesine alınmıştır. Karşılaştırma sonrasında yüksek çapraz bağlı polietilen en çok, paslanmaz çelik en az tutulum izlenen malzeme olarak görülmüş ancak tüm malzemelerde tutulumla rastlanmıştır.

Bakterilerin en az %80'inin biyofilm formda olduđu ve çalıřmalarda kullanılan planktonik yapının mevcut PEE tablosunu uygun yansıtmayabileceđi dűřűnűlmektedir (28). Planktonik mikroorganizma kullanılması bařlıca 3 risk bařlıđında açıklanabilir. İlki planktonik hűcreler bađıřıklık sistemi tarafından biyofilmde bulunan hűcrelere gűre daha kolay temizlenir (245–247). Bu nedenle, planktonik hűcreler in-vivo modellerde kullanıldıđında, inokűle edilen mikroorganizmaların bir kısmı biyofilm oluřturmadan űnce ortadan kaldırılıyor olabilir. Osteomyelit arařtırmalarında bu sebepten yeni model arařtırmaları yapılmaktadır (248). Bir diđer problem ise planktonik mikroorganizmaların antibiyotiklere biyofilmde bulunanlar mikroorganizmalardan daha duyarlı olduklarının gűsterilmiř olmasıdır (249,250). Bu nedenle, inokűlasyondan hemen sonra antibiyotik uygulanırsa, planktonik hűcreler, iyi yerleřmiř biyofilmlerdeki bakterilere gűre ciddi řekilde etkilenebilirler. űűncű oluřabilecek sıkıntı ise bir in-vivo sisteme planktonik hűcreler eklendiđinde, bunların bařlangıçtaki inokűlasyon alanından hızla dađılabilme olasılıđı vardır. Bu da belirli bir alandaki bakteri konsantrasyonunu seyreltir, potansiyel olarak vűcudun mikroorganizma ile műcadelesini kolaylařtırır ve implanta yerleřme gűleřebilir. Biz alıřmamızda ilk risk bařlıđına karřı daha űncesinde benzer deney hayvanları, benzer uygulama bűlgesi ve benzer periimplant enfeksiyonu arařtırılan çalıřmalardaki bakteri yűklerine dayanarak çalıřmamızdaki inokűle edilecek bakteri yűkűnű planladık. Çalıřmamızda antibiyotik uygulamadıđımız için bu risk bařlıđı ile műcadele etmedik. Son risk durumunu en ařađıya çekebilmek için oluřturulan poř bűlgesine implantların ilk yerleřtirildiđi ve implantların alındıđı herhangi bir dűnemde ařırı diseksiyon yapılmamıřtır. Ayrıca inokűlasyon içeriđi pořtan tařmayacak řekilde sadece 1ml uygulanarak ve cerrahi saha kapatılmıřtır. Takiplerde abse izlediđimiz olgularda da bu abse bűlgesinin sadece interskapular alanda veya disseke edilen sađ ya da sol sırt bűlgesi ile sınırlı olduđu gűrűlműřtűr. Bir diđer seçenek olan mikroorganizmalardan biyofilmi űretilip o řekilde deney hayvanına implante etmek řeklinde olabilir. Ancak bu konuda da çeřitli sorunlar karřımıza çıkmaktadır. İn-vitro yapıda oluřturulup in-vivo ortama ekleme konusundaki belirsizlikler ve oluřturulup uygulanacak olan disklerdeki enfeksiyon yűkűnűn standardizasyonun zorluđu bunlar arasındadır. Bu temel riskler bize iřlemin planktonik bakteriler kullanılarak yapılmasına yűnelmiřtir.

Tüm deney hayvanlarındaki ağırlık ve genel durum takiplerine baktığımızda s.aureus grubundaki bir deney hayvanı hariç tamamı hayatta kalmış ve bu enfeksiyon ile geçen 6 haftalık süre içerisinde takibi sonlandırmak durumunda kalacağımız bir genel durum bozukluğu veya gruplar arası anlamlı seviyede bir ağırlık kaybı izlenmemiştir. Bunun yanında son cerrahi gününde eksanguinasyon ile toplanan kan örneklerinden çalışılan tam kan incelemesinin sonuçlarındaki hiçbir parametrede de gruplar arasında anlamlı seviyede fark saptanmamıştır. Bu veriler doğrultusunda uygulanan bakteriyel yükün genel durum bozacak seviyede olmadığı görülmüştür. Postoperatif dönemde daha şiddetli abseler izlenen c.albicans ve mikrobiyolojik incelemelerde enfeksiyon yükü anlamlı yüksek çıkan s.aureus gruplarında beyaz küre ve lenfosit sayısı diğer 4 gruptan yüksek çıksa da bu fark anlamlı seviyede izlenmiştir. Hastalardaki periprostetik enfeksiyon değerlendirme parametreleri arasından tam kan incelemesi yer almamaktadır. Güncel algoritmada yer alan ve periferik kandan izlenebilen d dimer, crp ratlardaki enfeksiyon durumunun değerlendirilmesi için test edilmemiştir veya önerilmemektedir (251). Kemirgenlerde enfeksiyon açısından benzer çalışmalarda tam kan incelemesi yapıldığı için bizim çalışmamızda da bu laboratuvar testinden faydalanılmıştır (252).

Gruplar abse oluşturmaları açısından incelendiklerinde ise kontrol grubunda beklendiği üzere herhangi bir abse oluşumu görülmedi. Abse sayıları erken dönemdeki gözlenme sıklıkları açısından karşılaştırıldı. Abse görülme sıklığı açısından c.albicans en yüksek oranda olsa da gruplar arasında herhangi bir anlamlı fark saptanmadı. Subjektif sayılacak görsel bir değerlendirmede ise c.albicans grubu en büyük ve en enfekte görünümdeki abselerin izlendiği grup olarak izlendi. Mevcut abse varlığı ile mikrobiyolojik incelemelerde elde edilen sonuçlar arasına pozitif bir ilişki saptanmamıştır.

Enfeksiyon durumunun karşılaştırmasını zamana göre yaptığımızda, sürüntü ve doku örneklerinde p.aeruginosa grubundaki enfeksiyon yükü bazı gruplardan anlamlı olarak yüksek çıkmıştır. Bu yükseklik 2.hafta sonuçlarında yani örneklerin ilk toplandığı süreçte görülmüş olup zamanla anlamlı olarak enfeksiyon yükünde azalma izlenmiştir. Bunun nedeni olarak çeşitli sebepler düşünülmektedir. İlki, çalışmamızın metodunda bahsettiğimiz şekilde cerrahi işlemlerimiz enfekte edilen bölgelerin açılarak yerleştirilen implantların alınması ve tekrar abse bölgesinin kapatılması

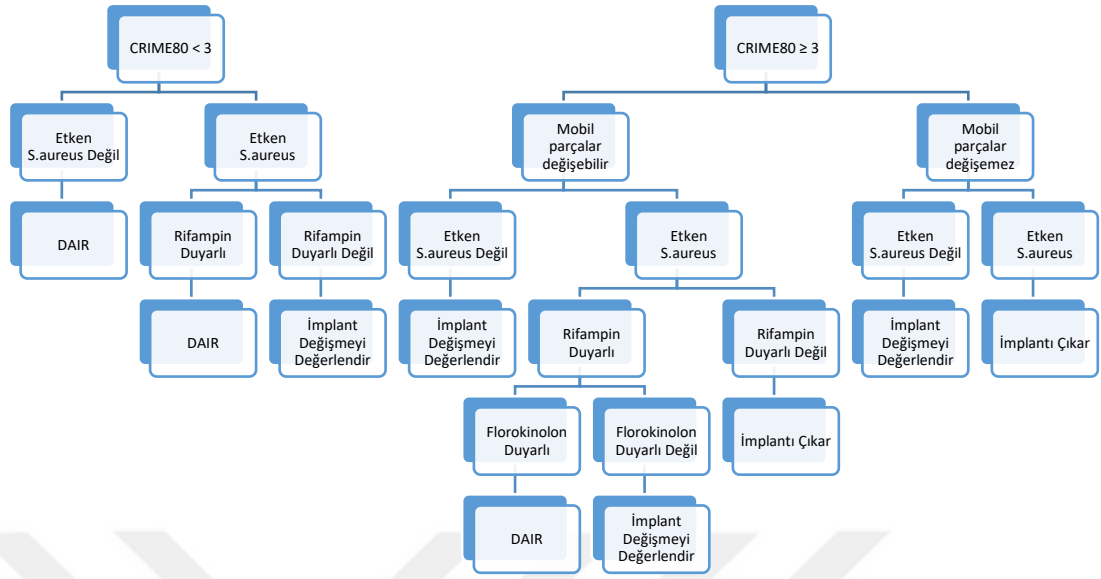
şeklinde gerçekleştirildi. Bu aşamada herhangi bir irrigasyon yapılmasa bile açılan abse dokusuna bağlı olarak belli bir enfeksiyon yükü kaybedilmiş olabilir. Ancak tüm mikroorganizma gruplarına aynı işlemi gerçekleştirdiğimiz ve bu gruplarda zamana bağlı enfeksiyon yükünde anlamlı bir azalma olmadığı düşünüldüğünde tek neden bu olmayabilir. Bu aşamada literatür incelendiğinde diğer mikroorganizmalardan farklı olarak sadece *p.aeruginosa*'nın anaerobik ortamda quorum sensing mekanizmasında bozulmaya bağlı sitotoksitesinde bir azalma olabileceği gösterilmiştir (253). Bu sebepten disklerde kontrol grubuna göre anlamlı bir enfeksiyon yükü oluşturmayan *p.aeruginosa* etkeni, erken dönemde oluşturduğu yumuşak doku üzerindeki enfeksiyon yükünü de belirttiğimiz nedenlere bağlı olarak kaybetmiş olabilir.

S.aureus grubu disk üzerindeki enfeksiyon yükleri ile değerlendirildiğinde 3 zaman diliminin tamamının, doku ve sürüntü kültürleri açısından değerlendirildiğinde ise 4. ve 6.hafta sonuçlarının bazılarında diğer grupların tamamından bazılarında birkaç tanesinden olmak üzere enfeksiyon yükleri anlamlı seviyede yüksek olarak bulunmuştur. Guo-xin ve arkadaşlarının yaptığı bir derlemede DAIR işlemi yapılan çalışmalar değerlendirilmiş ve başarısızlık sebepleri aranmıştır. Çalışmada gösterilen 2 majör başarısızlık etkeni olarak cerrahinin >3 hafta içinde gerçekleştirilmesi ve MRSA etkenine bu işlemin yapılması olarak bulunmuştur (254). Iza ve arkadaşlarının retrospektif olarak TDA uygulanmış olan PEE hastalarını değerlendirdikleri çalışmada DAIR prosedürü uygulanan hastalarda PEE etkeninin *s.aureus* olması *s.aureus* dışı etkenlerden olmasına göre anlamlı oranda düşük başarı göstermiştir (%33-%82 başarı oran farkı, $p<0.05$) (255). Bir diğer çok merkezli retrospektif çalışmada ise Wouthuyzen-bakker ve arkadaşları toplanan veriler doğrultusunda DAIR işlemi için bir skore ve tedavi algoritması ortaya koymuşlardır (23). DAIR uygulanan 445 hasta değerlendirilmiş CRIME80-score ismini verdikleri bir skore belirlemişlerdir. Bu ilk harflerinden oluşturulan skorlamada eşik puan değeri 3 olarak belirlenmiştir (Tablo 7). Skorlamayı da dâhil ederek ortaya konulan algorithmada ise *s.aureus* tek başına tedavi değiştiren bir etken olarak sunulmuştur ve seçilecek olan cerrahinin bu duruma göre seçilmesi önerilmektedir (Tablo 8). Tedavi algoritmasındaki tedavi önerileri DAIR uygulamasının başarı yüzdesine göre belirlenmiştir. DAIR uygulamasının başarısızlık yüzdesi <50 ise DAIR, $50-65$ arasında ise implant değişiminin değerlendirilmesi, >65 ise implantın çıkarılması önerilmektedir.

Rifampin duyarlılığına göre s.aureus etkenlerine de DAIR uygulanabileceğinin belirtildiği bu derleme çalışmasında s.aureus etkeninin izlendiği PEE olgularındaki akut enfeksiyon süresinin DAIR uygulanabilmesi için kısaltılmasına dair bir öneri bulunmamaktadır. Qasim ve arkadaşlarının yaptığı başka bir derleme çalışmasında ise TDA sonrası PEE izlenen ve DAIR uygulanan hastalardaki başarısızlık sebepleri araştırılmıştır (256). 22 farklı çalışmadaki veriler değerlendirilmiş ve bu doğrultuda başarılı bir DAIR prosedürü için ilk cerrahiden bu yana geçen sürenin 4 haftadan az, akut hematojen enfeksiyon bulgularının başlamasından bu yana 2 haftadan az zaman geçmesi, artroskopik değil açık cerrahi yapılması, polietilenin değiştirilmesi ve cerrahi sonrası 6 hafta antibiyoterapinin devam ettirilmesi önerilmektedir. Immün yanıtı bozulmuş, yumuşak doku problemi olan, başarısız bir DAIR işlemi geçirmiş olan ve MRSA enfeksiyonu olan hastalara DAIR prosedürü önerilmemektedir.

Tablo 7: CRIME80 skorlaması

CRIME80 Değişkenleri	Açıklama	Skoru
C	KOAH (COPD)	2
	CRP > 150mg/L	1
R	Romatoid Artrit	3
I	İlk Cerrahi (Kırık zemininde yapılması)	3
M	Erkek Cinsiyet (Male)	1
E	Mobil Parçaların Değişmesi (Exchange of mobile components)	-1
80	>80 Yaş	2



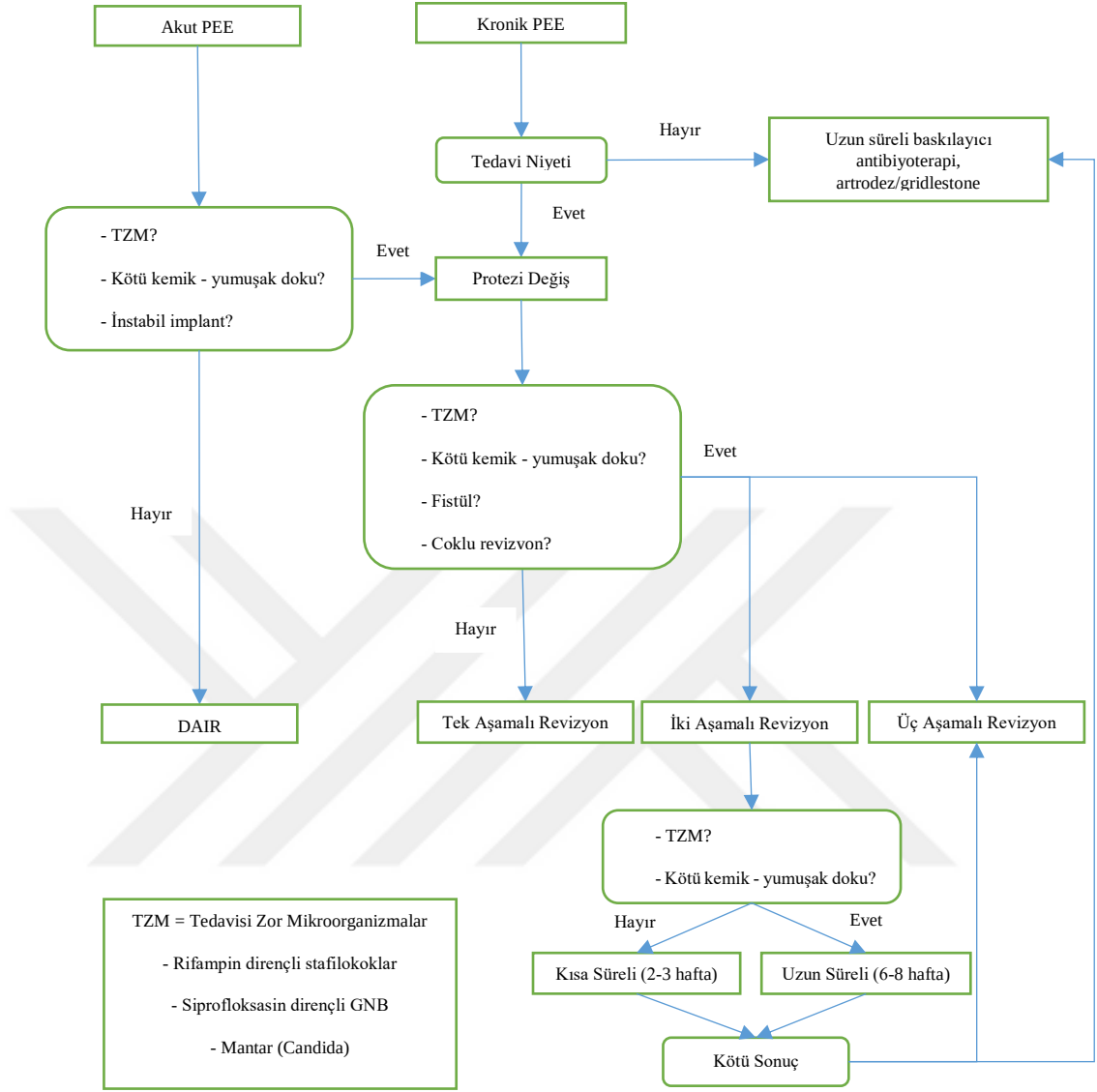
Şekil 10: CRIME80 skorlaması ile birlikte PEE tedavi algoritması

S.epidermidis etkeninin değerlendirmesi için 2 farklı suş ile inceleme yapılmıştır. Bunlardan ilki bf(-) s.epidermidis grubu herhangi bir zaman diliminde veya bir değerlendirme ölçütünde (doku-disk-sürüntü) başka bir etken grubu üzerine enfeksiyon yükü açısından üstünlük sağlamamıştır. Bf(+) s.epidermidis grubu da bf(-) s.epidermidis grubu gibi enfeksiyon yükü açısından başka bir gruba anlamlı yükseklik gösterdiği izlenmemiştir. Buna sebep olarak da PEE çeşitleri arasında gecikmiş başlangıçlı PEE grubunda yani ameliyattan sonraki 3-24 ay arasında saptanan enfeksiyon etkenlerinden en sık karşılaşılanın s.epidermidis olması gösterilebilir (Şekil 10). S.epidermidis etkeninin 3 aylık dönemden sonra çok daha sık izlenmesi, ancak çalışmanın planlamasının 6 hafta olarak belirlenmesi s.epidermidisin kontrol grubuna dahi bu 6 haftalık süreçte enfeksiyon yükü açısından anlamlı bir üstünlük sağlayamamasının nedeni olabilir.

Tablo 8: PEE etkenlerinin zamana göre görülme sıklıkları

Erken Başlangıçlı PEE	Sık karşılaşılanlar	Sıklık (%)
<3ay	S.aureus	12-39
	Enterobacteriaceae ve p.aeruginosa	4-28,2
	Seyrek karşılaşılanlar	
	Mycobacterium fortium Anaeroblar (travma sonrası)	2-10
Ertelenmiş Başlangıçlı PEE	Sık karşılaşılanlar	
3-24 ay	Koagülaz negatif stafilokok (KNS)	22-43
	Propionibacterium	
	Corynebacterium	
	Streptokoklar	9-14
	S.aureus	
	Gram negatif basiller (GNB)	
	Enterokoklar	3-9,2
	Seyrek karşılaşılanlar	
	Mycobacterium tuberculosis (MTB) Anaeroblar	1-5
Geç Başlangıçlı PEE	Sık karşılaşılanlar	
>24 ay (Hematojen yayılım)	S.aureus	34
	GNB'ler	
	Streptokoklar	
	Enterokoklar	
	KNS'ler	
	Seyrek karşılaşılanlar	
	MTB Listeria monocytogenes Atipik mikobakterler Mantarlar Anaeroblar Brucella türleri	

Son grupta incelenen *C.albicans* ise görsel değerlendirme ile en büyük ve inflame abselerin olduğu grup olarak izlendi. Bu grup da *S.epidermidis* gruplarında olduğu gibi herhangi bir zaman diliminde veya değerlendirme ölçütünde (doku-disk-sürüntü) başka bir etken grubu üzerine enfeksiyon yükü açısından üstünlük sağlamamıştır. *C.albicans* ve genel olarak mantar grubu çoğunlukla PEE etkeni olarak immün sistem baskılanmış hastalarda izlenir (257). *C.albicans* >24 aylık dönemdeki hematogen yayılım ile başladığı düşünülen geç başlangıçlı PEE etkeni olarak gösterilmektedir (Tablo 9). Bu sebepten 6 haftalık çalışmamızın herhangi bir dönemde kontrol grubu üzerinde mikrobiyolojik olarak saptanacak bir üstünlük göstermemiş olabilir. Ancak inspeksiyon ile gözlenen enfekte görünümünün birkaç sebebi olabilir. Çalışma planında standardizasyondan ayıramamak için daha önce de benzer çalışmalarda görüldüğü gibi tüm poş bölgelerine aynı sayıda ($1\text{ml } 1,5 \times 10^7$ KOB/ml) mikroorganizma inoküle ettik (236,240). Gösterilen bazı çalışmalarda ise sayı standart yapılmayıp virulan gücüne göre *Candida albicans* etkeninin diğer mikroorganizmalara göre daha az sayıda inoküle edildiği görülmüştür (258–260). Bununla birlikte primer debridman ile yüksek başarısızlık oranları bildirildiği için, mantar etkenli PEE'nin cerrahi yönetimi için önerilen tedavi iki aşamalı revizyon artroplastisidir (Şekil 11). DAIR'in yanı sıra tek aşamalı revizyonda da %50'ye varan başarısızlık oranı gösterilmiştir (152,153,261,262). 1.basamak cerrahi sonrası minimum antifungal tedavi süresi 6 hafta ile 12 haftaya kadar düşünülebilir. 2.basamak revizyon cerrahisi çoğu durumda üç ila altı ay ertelenmelidir (263,264). Bu cerrahinin ardından, flukonazol (günde 200 mg ila 400 mg oral) en az altı hafta veya altı aya kadar veya daha uzun süre düşünülmelidir (152,257,263,265). *C.albicans* tedavisinin zorluğu ile periprostetik alanda yaptığı enfeksiyon şiddeti ilişkili olabilir. Bu sebeplerden dolayı 6 haftalık in-vivo takiplerimizde yumuşak doku veya disklerde saptanacak şekilde bir enfeksiyon tablosu oluşturmayıp çevre dokuda şiddetli inflamasyon yanıtı oluşturmuş olabilir.



Şekil 8: PEE tedavisi için gösterilen algoritma örneklerinden biri (266)

Çalışmanın bazı kısıtlılıkları bulunmaktadır. Bunlardan ilki çalışmanın inokülasyon aşamasının planktonik mikroorganizmalar ile gerçekleştirilmiş olmasıdır. Benzer çalışmalarda büyük oranda planktonik bakteriler ile inokülasyon yapılmaktadır. Ancak planktonik bakterilerin klinikte karşılaştığımız PEE tablosunu tam olarak yansıtmadığı düşünülmekte ve biyofilm yapısında inokülasyonun yapılması önerilmektedir. Ancak biyofilm yapısı ile yapılan inokülasyonun

standardizasyonundaki problemler nedeniyle biyofilm çalışmalarında planktonik mikroorganizmalar ile uygulama devam etmektedir. Yeni, umut vaat eden teknikler ile biyofilm karşılaştırma çalışmaları biyofilm yapısı ile inokülasyonun zaman içinde daha standardize ve uygulanabilir olacağını göstermektedir (267). Etken çeşitliliğinin az olması çalışmamızın bir diğerkısıtlılığı olarak gösterilebilir. İncelenebilecek diğerk PEE etkenleri arasında; ertelenmiş başlangıçlı PEE tablosunda karşılaşılan streptokokkus grubundan bir örnek, başka gram negatif basillerden e.coli veya mantar ailesinden candida albicans dışı bir mikroorganizma sayılabilir. Ancak çalışmamıza erken ve geç başlangıçlı PEE tablosunun en sık etkeni stafilokokkus aureus, ertelenmiş başlangıçlı PEE tablosunun en sık etkeni stafilokokkus epidermidis, PEE'nin en sık nozokomiyal gram negatif basil etkeni psödomonas aeruginosa ve PEE'nin en sık mantar etkeni candida albicans dâhil edilmiştir. PEE'nin zamana ve mikroorganizma ailelerine göre ayrımı yapıldığında başlıca her bir gruba ait örnekler çalıştığımız 4 etken ile temsil edildiğı, daha fazla etkenin bilimsel katkısının sınırlı olacağı ve hayvan deneylerinin 3R kuralının ihlal edeceği için çalışmamız bu 4 etken ile sınırlandırılmıştır. Çalışmamız 6 haftalık süreçte izlenmiştir. Biyofilm tablosunun 6 haftada olgunlaştığı düşünölmekte ve benzer in-vivo çalışmalar da en fazla bu kadar süre takip edilmektedir. Bu duruma rağmen öncelikle akut dönem dışında daha sık karşılaştığımız s.epidermidis ve c.albicans PEE tabloları için daha uzun bir süreli takip gerekebilmektedir. Ancak 6 haftayı aşan bir hayvan çalışması örneğı izlenmediğı ve bu sürenin diğerk grup deney hayvanlarının üzerindeki incelemeyi sebepsiz yere arttırabileceğı için çalışma 6 hafta olarak belirlenmiştir. Bir diğerk kısıtlılık ise bahsettiğimiz gibi c.albicans etkeninin diğerk bakteriler ile aynı sayıda inoküle edilmesidir. Tüm etkenler standardizasyon için hazırlanan poşlara aynı miktarda inoküle edilmiştir. Ancak bazı çalışmalar mantar etkenlerinin bakteri etkenlerine göre eşit sayıda inokülasyonunu virölan kuvvetlerindeki fark sebebiyle önermemektedir. Çalışmamızda aynı sayıda inokülasyon yapılmasına karşın takiplerde c.albicans grubunun daha kuvvetli bir abse yanıtı oluşturmada dışında mikrobiyolojik incelemelerin herhangi birinde başka bir grubun üzerinde anlamlı yüksek bir enfeksiyon yanıtı oluşmamıştır. Bu sebepten olası bir yüksek inokülasyon ihtimalinin de sonuçları değıştirecek bir etkisi olmamıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda periprostetik eklem enfeksiyonu etkenlerinden kendi gruplarında en sık karşılaştığımız 4 örnek mikroorganizma (stafilokokkus aureus, stafilokokkus epidermidis, psödomonas aeruginosa, candida albicans) biyofilm gelişimleri açısından karşılaştırılmıştır. Elektron mikroskobu görüntülerinde, laboratuvar verilerinde ve genel durum değerlendirmelerinde gruplar arasında herhangi bir fark saptanmamasına karşın, stafilokokkus aureus etkenine ait mikrobiyolojik incelemelerde disk örneklerinin tüm zaman dilimlerinde, yumuşak dokuya dair örneklerde de 4 ve 6.haftada diğer etkenlere karşı enfeksiyon yükü anlamlı olarak yüksek çıkmıştır. Elde edilen bu sonuç, 3-4 haftaya kadar kabul edilen erken başlangıçlı PEE olgularındaki DAIR uygulamasında enfeksiyon etkeninin stafilokokkus aureus olması halinde görülen yüksek orandaki başarısızlığı açıklamaktadır. 2.haftada dahi in-vivo koşullarda stafilokokkus aureusa ait biyofilm yapısı disk yüzeyinde olgunlaşmaktadır. Algoritmalarda yer almaya başladığı gibi stafilokokkus aureus etkeninin PEE'den sorumlu olması halinde DAIR işlemi yerine revizyon artroplasti cerrahisi önerilmektedir. Çalışmamızda ulaşılan sonuçlar yakın dönemdeki derleme çalışmalarında yer alan stafilokokkus aureusa ait klinik şüpheleri mikrobiyolojik olarak desteklemektedir.

ÖZET

Periprostetik Enfeksiyon Etkenleri Arasında Biyofilm Yapısının Farklılıkları

Giriş ve Amaç: Periprostetik eklem enfeksiyonları (PEE) total eklem artroplastilerindeki en sık revizyon cerrahi sebeplerinden biridir. Mevcut PEE tablosu altında en sık uygulanan cerrahi yöntemler; implant korunarak debridman-antibiyoterapi (DAIR), tek basamaklı veya iki aşamalı revizyon cerrahileridir. Erken başlangıçlı PEE (<3-4 hafta) varlığında uygulanabilecek bir prosedür olan DAIR, biyofilm yapısının mevcut immün sistem altında olgunlaşmadığı ve PEE tablosunun debridman ve antibiyoterapi ile tedavi edilebileceği temeline dayanmaktadır. Çalışmamızda PEE etkenlerindeki biyofilm oluşumunun mikrobiyolojik saptanması ve implant yüzeyindeki gelişiminin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Elde edilecek sonuçlar ile birlikte PEE tedavisi etkenlere göre yeniden değerlendirilecektir.

Yöntem: Altı grupta toplam 48 sprague-dawley rat ile in-vivo çalışma planlandı. Çalışmaya stafilokokkus aureus, stafilokokkus epidermidis biyofilm (-) suş, stafilokokkus epidermidis biyofilm (+) suş, psödomonas aeruginosa ve candida albicans etkenleri ile kontrol grubu dâhil edilmiştir. Deney hayvanlarının interskapular bölgelerinde oluşturulan poş bölgelerine 6 adet standart titanyum alaşımı (Ti6Al4V) diskler yerleştirilmiştir. Tüm etkenler eşit sayıda olacak şekilde planktonik mikroorganizma inoküle edildikten sonra her 2 haftalık dönemde disk ve yumuşak doku kültürleri alınmıştır. Bu örnekler enfeksiyon yükleri ve elektron mikroskobu ile biyofilm görünümü açısından karşılaştırılmıştır. 6.haftada tüm deney hayvanlarına ötenazi işlemi sonrası abse dokuları histolojik olarak incelenmiştir. Gruplar yumuşak doku kültürleri ve disk kültürlerindeki koloni sayılarına, SEM görüntülerindeki biyofilm yapılarına, eksanguinasyon örneklerinden elde edilen tam kan sayımı sonuçlarına ve abselerin histolojik incelemesine göre uygun istatistiksel yöntemlerle karşılaştırılmıştır.

Bulgular: Tam kan sayımı sonuçları ve abse görülme sıklığına göre karşılaştırılan etkenlerin arasında anlamlı seviyede bir fark saptanmamıştır. Stafilokokkus aureus etkeni disk sonuçlarındaki enfeksiyon yükü açısından tüm zaman dilimlerinde (2-4-6 hafta) diğer etkenlere göre anlamlı üstünlük sağlamıştır. Yumuşak

doku kültürlerinde ise bu üstünlük sadece 4 ve 6.hafta sonuçlarında görülmüştür. 2.haftadaki yumuşak doku kültür sonuçlarında ayrıca psödomonas aeruginosa etkeninin enfeksiyon yükü açısından kontrol gruplarına göre anlamlı yüksekliği saptanmıştır. Biyofilm yapının karşılaştırıldığı sem görüntülerinde ise gruplar arası belirgin bir fark izlenmemiştir.

Sonuç: Stafilokokkus aureus incelenen diğer PEE etkenleriyle karşılaştırıldığında 2.hafta itibariyle implant kültürlerinde enfeksiyon yükü açısından anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Stafilokokkus aureus açısından ulaşılan bu sonuç, <3-4 haftalık PEE varlığında uygulanan DAIR prosedürü sonrası görülen daha yüksek başarısızlık oranlarını açıklayabilir. Stafilokokkus aureus etkeninin PEE'den sorumlu olması halinde DAIR prosedürü yerine tek veya iki basamaklı revizyon artroplasti cerrahisi önerilmektedir. Çalışmamızda ulaşılan sonuçlar yakın dönemdeki derleme çalışmalarında yer alan stafilokokkus aureus etkeni ile görülen periprostetik eklem enfeksiyonlarının cerrahi tedavisine dair klinik şüpheleri mikrobiyolojik olarak destekler niteliktedir.

Anahtar Sözcükler: Biyofilm, Periprostetik Enfeksiyon, Revizyon Artroplasti, DAIR, Enfeksiyon yükü

SUMMARY

Differences of Biofilm Structure Among Periprosthetic Infection Agents

Introduction: Periprosthetic joint infections (PJI) is one of the most common causes of revision surgery in total joint arthroplasties. The most frequently applied surgical methods under the current PJI are debridement-antibiotic and implant retention (DAIR) procedure and single or two stage revision arthroplasties. DAIR, a procedure that can be performed in the presence of early-onset PJI (<3-4 weeks), is based on the assumption that the biofilm structure does not mature under the current immune system and that PJI can be treated by debridement and antibiotherapy. In our study, it was aimed to determine the microbiological formation of biofilm formation in PJI agents and to compare its development on the implant surface. Along with the results to be obtained, PJI treatment will be re-evaluated according to the factors.

Methods: In-vivo study was planned with a total of 48 sprague-dawley rats in six groups. The study included staphylococcus aureus, staphylococcus epidermidis biofilm (-) strain, staphylococcus epidermidis biofilm (+) strain, pseudomonas aeruginosa and candida albicans and control group. 6 standard titanium alloy (Ti6Al4V) discs were placed in pouch regions formed in the interscapular regions of the experimental animals. After planktonic microorganism was inoculated with all factors equal, disc and soft tissue cultures were taken every 2 weeks. These samples were compared in terms of infection loads and electron microscopy and biofilm appearance. In the 6th week, after the euthanasia procedure for all experimental animals, the abscess tissues were examined histologically. The groups were compared with appropriate statistical methods according to colony numbers in soft tissue cultures and disc cultures, biofilm structures in SEM images, complete blood count results obtained from exsanguination samples and histological examination of abscesses.

Results: No significant difference was found between the agents compared with the results of complete blood count and frequency of abscess. Staphylococcus aureus provided significant superiority over other agents in all time periods (2-4-6 weeks) in terms of infection load in the disc results. In soft tissue cultures, this superiority was seen only in the results of the 4th and 6th weeks. In the soft tissue

culture results of the 2nd week, the pseudomonas aeruginosa was found to be significantly higher in terms of infection load than the control group. In sem images where the biofilm structure was compared, there was no distinctive difference between the groups.

Conclusion: Staphylococcus aureus was significantly higher in terms of infection burden in implant cultures as of the 2nd week compared to other PJI agents examined. This conclusion in terms of staphylococcus aureus may explain the higher failure rate seen after the DAIR procedure performed in the presence of <3-4 weeks PJI. If the staphylococcus aureus agent is responsible for PJI, one or two stage revision arthroplasty surgery is recommended instead of the DAIR procedure. The results obtained in our study microbiologically support clinical suspicions regarding the surgical treatment of periprosthetic joint infections seen with the staphylococcus aureus factor in recent review studies.

Keywords: Biofilm, Periprosthetic Infection, Revision Arthroplasty, DAIR, Infection Load

KAYNAKLAR

1. Kurtz S, Ong K, Lau E, Mowat F, Halpern M. Projections of primary and revision hip and knee arthroplasty in the United States from 2005 to 2030. *Jbjs*. 2007;89(4):780–5.
2. Oleske DM, Bonafede MM, Jick S, Ji M, Hall JA. Electronic health databases for epidemiological research on joint replacements: considerations when making cross-national comparisons. *Ann Epidemiol*. 2014;24(9):660–5.
3. Bozic KJ, Kurtz SM, Lau E, Ong K, Vail TP, Berry DJ. The epidemiology of revision total hip arthroplasty in the United States. *JBJS*. 2009;91(1):128–33.
4. Cahill JL, Shadbolt B, Scarvell JM, Smith PN. Quality of life after infection in total joint replacement. *J Orthop Surg*. 2008;16(1):58–65.
5. Osmon DR, Berbari EF, Berendt AR, Lew D, Zimmerli W, Steckelberg JM, et al. Diagnosis and management of prosthetic joint infection: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2013;56(1):e1–25.
6. Arvieux C, Common H. New diagnostic tools for prosthetic joint infection. *Orthop Traumatol Surg Res*. 2019;105(1):S23–30.
7. Tande AJ, Gomez-Urena EO, Berbari EF, Osmon DR. Management of prosthetic joint infection. *Infect Dis Clin*. 2017;31(2):237–52.
8. Berry DJ, Harmsen WS, Cabanela ME, Morrey BF. Twenty-five-year survivorship of two thousand consecutive primary Charnley total hip replacements: factors affecting survivorship of acetabular and femoral components. *JBJS*. 2002;84(2):171–7.
9. Söderman P, Malchau H, Herberts P. Outcome after total hip arthroplasty: Part I. General health evaluation in relation to definition of failure in the Swedish National Total Hip Arthroplasty register. *Acta Orthop Scand*. 2000;71(4):354–9.
10. Belas R. Biofilms, flagella, and mechanosensing of surfaces by bacteria. *Trends Microbiol*. 2014;22(9):517–27.

11. Kanno E, Toriyabe S, Zhang L, Imai Y, Tachi M. Biofilm formation on rat skin wounds by *Pseudomonas aeruginosa* carrying the green fluorescent protein gene. *Exp Dermatol*. 2010;19(2):154–6.
12. Neut D, van de Belt H, Stokroos I, van Horn JR, van der Mei HC, Busscher HJ. Biomaterial-associated infection of gentamicin-loaded PMMA beads in orthopaedic revision surgery. *J Antimicrob Chemother*. 2001;47(6):885–91.
13. Oga M, Arizono T, Sugioka Y. Bacterial adherence to bioinert and bioactive materials studied in vitro. *Acta Orthop Scand*. 1993;64(3):273–6.
14. Oliveira M, Nunes SF, Carneiro C, Bexiga R, Bernardo F, Vilela CL. Time course of biofilm formation by *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* mastitis isolates. *Vet Microbiol*. 2007;124(1–2):187–91.
15. Koseki H, Yonekura A, Shida T, Yoda I, Horiuchi H, Morinaga Y, et al. Early staphylococcal biofilm formation on solid orthopaedic implant materials: in vitro study. *PLoS One*. 2014;9(10).
16. Arnold W V, Shirtliff ME, Stoodley P. Bacterial biofilms and periprosthetic infections. *Instr Course Lect*. 2014;63:385–91.
17. Singh PK, Parsek MR, Greenberg EP, Welsh MJ. A component of innate immunity prevents bacterial biofilm development. *Nature*. 2002;417(6888):552–5.
18. Trampuz A, Zimmerli W. Diagnosis and treatment of infections associated with fracture-fixation devices. *Injury*. 2006;37(2):S59–66.
19. Giulieri SG, Graber P, Ochsner PE, Zimmerli W. Management of infection associated with total hip arthroplasty according to a treatment algorithm. *Infection*. 2004;32(4):222–8.
20. Zimmerli W, Trampuz A, Ochsner PE. Prosthetic-joint infections. *N Engl J Med*. 2004;351(16):1645–54.
21. Marculescu CE, Berbari EF, Hanssen AD, Steckelberg JM, Harmsen SW, Mandrekar JN, et al. Outcome of prosthetic joint infections treated with debridement and retention of components. *Clin Infect Dis*. 2006;42(4):471–8.

22. 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.
23. Wouthuyzen-Bakker M, Sebillotte M, Lomas J, Kendrick B, Palomares EB, Murillo O, et al. Timing of implant-removal in late acute periprosthetic joint infection: A multicenter observational study. *J Infect.* 2019;79(3):199–205.
24. Rodriguez D, Pigrau C, Euba G, Cobo J, García-Lechuz J, Palomino J, et al. Acute haematogenous prosthetic joint infection: prospective evaluation of medical and surgical management. *Clin Microbiol Infect.* 2010;16(12):1789–95.
25. Betz M, Abrassart S, Vaudaux P, Gjika E, Schindler M, Billières J, et al. Increased risk of joint failure in hip prostheses infected with *Staphylococcus aureus* treated with debridement, antibiotics and implant retention compared to *Streptococcus*. *Int Orthop.* 2015;39(3):397–401.
26. Deirmengian C, Greenbaum J, Lotke PA, Booth Jr RE, Lonner JH. Limited success with open debridement and retention of components in the treatment of acute *Staphylococcus aureus* infections after total knee arthroplasty. *J Arthroplasty.* 2003;18:22–6.
27. Konigsberg BS, Della Valle CJ, Ting NT, Qiu F, Sporer SM. Acute hematogenous infection following total hip and knee arthroplasty. *J Arthroplasty.* 2014;29(3):469–72.
28. Springer BD, Parvizi J. Periprosthetic joint infection of the hip and knee. Springer; 2013.
29. Kurtz SM, Lau E, Watson H, Schmier JK, Parvizi J. Economic burden of periprosthetic joint infection in the United States. *J Arthroplasty.* 2012;27(8):61–5.
30. Jämsen E, Huhtala H, Puolakka T, Moilanen T. Risk factors for infection after knee arthroplasty: a register-based analysis of 43,149 cases. *JBJS.* 2009;91(1):38–47.
31. Jämsen E, Varonen M, Huhtala H, Lehto MUK, Lumio J, Kontinen YT, et al. Incidence of prosthetic joint infections after primary knee arthroplasty. *J Arthroplasty.* 2010;25(1):87–92.

32. Suzuki G, Saito S, Ishii T, Motojima S, Tokuhashi Y, Ryu J. Previous fracture surgery is a major risk factor of infection after total knee arthroplasty. *Knee Surgery, Sport Traumatol Arthrosc.* 2011;19(12):2040–4.
33. Kurtz SM, Lau E, Schmier J, Ong KL, Zhao KE, Parvizi J. Infection burden for hip and knee arthroplasty in the United States. *J Arthroplasty.* 2008;23(7):984–91.
34. Kurtz SM, Medel FJ, MacDonald DW, Parvizi J, Kraay MJ, Rimnac CM. Reasons for revision of first-generation highly cross-linked polyethylenes. *J Arthroplasty.* 2010;25(6):67–74.
35. Pulido L, Ghanem E, Joshi A, Purtill JJ, Parvizi J. Periprosthetic joint infection: the incidence, timing, and predisposing factors. *Clin Orthop Relat Res.* 2008;466(7):1710–5.
36. Dale H, Skråmm I, Løwer HL, Eriksen HM, Espehaug B, Furnes O, et al. Infection after primary hip arthroplasty: a comparison of 3 Norwegian health registers. *Acta Orthop.* 2011;82(6):646–54.
37. Malinzak RA, Ritter MA, Berend ME, Meding JB, Olberding EM, Davis KE. Morbidly obese, diabetic, younger, and unilateral joint arthroplasty patients have elevated total joint arthroplasty infection rates. *J Arthroplasty.* 2009;24(6):84–8.
38. Bozic KJ, Kurtz SM, Lau E, Ong K, Chiu V, Vail TP, et al. The epidemiology of revision total knee arthroplasty in the United States. *Clin Orthop Relat Res.* 2010;468(1):45–51.
39. Kubista B, Hartzler RU, Wood CM, Osmon DR, Hanssen AD, Lewallen DG. Reinfection after two-stage revision for periprosthetic infection of total knee arthroplasty. *Int Orthop.* 2012;36(1):65–71.
40. Bozic KJ, Ries MD. The impact of infection after total hip arthroplasty on hospital and surgeon resource utilization. *JBJS.* 2005;87(8):1746–51.
41. Klouche S, Sariali E, Mamoudy P. Analyse du coût des reprises des prothèses totales de hanche infectées. *Rev Chir orthopédique Traumatol.* 2010;96(2):167–75.

42. Arts JJC, Geurts J. Management of Periprosthetic Joint Infections (PJIs). Woodhead Publishing; 2016.
43. Maoz G, Phillips M, Bosco J, Slover J, Stachel A, Inneh I, et al. The Otto Aufranc Award: modifiable versus nonmodifiable risk factors for infection after hip arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res*. 2015;473(2):453–9.
44. Willis-Owen CA, Konyves A, Martin DK. Factors affecting the incidence of infection in hip and knee replacement: an analysis of 5277 cases. *J Bone Joint Surg Br*. 2010;92(8):1128–33.
45. LaPorte DM, Waldman BJ, Mont MA, Hungerford DS. Infections associated with dental procedures in total hip arthroplasty. *J Bone Joint Surg Br*. 1999;81(1):56–9.
46. Niven DJ, Rubenfeld GD, Kramer AA, Stelfox HT. Effect of published scientific evidence on glycemic control in adult intensive care units. *JAMA Intern Med*. 2015;175(5):801–9.
47. Chrastil J, Anderson MB, Stevens V, Anand R, Peters CL, Pelt CE. Is hemoglobin A1c or perioperative hyperglycemia predictive of periprosthetic joint infection or death following primary total joint arthroplasty? *J Arthroplasty*. 2015;30(7):1197–202.
48. Mraovic B, Suh D, Jacovides C, Parvizi J. Perioperative hyperglycemia and postoperative infection after lower limb arthroplasty. *J Diabetes Sci Technol*. 2011;5(2):412–8.
49. Marchant Jr MH, Viens NA, Cook C, Vail TP, Bolognesi MP. The impact of glycemic control and diabetes mellitus on perioperative outcomes after total joint arthroplasty. *JBJS*. 2009;91(7):1621–9.
50. Berbari EF, Osmon DR, Lahr B, Eckel-Passow JE, Tsaras G, Hanssen AD, et al. The Mayo prosthetic joint infection risk score: implication for surgical site infection reporting and risk stratification. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2012;33(8):774–81.
51. Morrison TA, Figgie M, Miller AO, Goodman SM. Periprosthetic joint infection in patients with inflammatory joint disease: a review of risk factors and current approaches to diagnosis and management. *HSS Journal®*. 2013;9(2):183–94.

52. Dowsey MM, Choong PFM. Obese diabetic patients are at substantial risk for deep infection after primary TKA. *Clin Orthop Relat Res.* 2009;467(6):1577–81.
53. Lui M, Jones CA, Westby MD. Effect of non-surgical, non-pharmacological weight loss interventions in patients who are obese prior to hip and knee arthroplasty surgery: a rapid review. *Syst Rev.* 2015;4(1):121.
54. D’Apuzzo MR, Novicoff WM, Browne JA. The John Insall Award: morbid obesity independently impacts complications, mortality, and resource use after TKA. *Clin Orthop Relat Res.* 2015;473(1):57–63.
55. Ward DT, Metz LN, Horst PK, Kim HT, Kuo AC. Complications of morbid obesity in total joint arthroplasty: risk stratification based on BMI. *J Arthroplasty.* 2015;30(9):42–6.
56. Cross MB, Yi PH, Thomas CF, Garcia J, Della Valle CJ. Evaluation of malnutrition in orthopaedic surgery. *JAAOS-Journal Am Acad Orthop Surg.* 2014;22(3):193–9.
57. Huang R, Greenky M, Kerr GJ, Austin MS, Parvizi J. The effect of malnutrition on patients undergoing elective joint arthroplasty. *J Arthroplasty.* 2013;28(8):21–4.
58. Nelson CL, Elkassabany NM, Kamath AF, Liu J. Low albumin levels, more than morbid obesity, are associated with complications after TKA. *Clin Orthop Relat Res.* 2015;473(10):3163–72.
59. Balci DD, Duran N, Ozer B, Gunesacar R, Onlen Y, Yenin JZ. High prevalence of *Staphylococcus aureus* cultivation and superantigen production in patients with psoriasis. *Eur J Dermatology.* 2009;19(3):238–42.
60. Sanford JA, Gallo RL. Functions of the skin microbiota in health and disease. In: *Seminars in immunology.* Elsevier; 2013. p. 370–7.
61. De Souza JM, Vieira EC, Cortez TM, Mondelli AL, Miot HA, Abbade LPF. Clinical and microbiologic evaluation of chronic leg ulcers: a cross-sectional study. *Adv Skin Wound Care.* 2014;27(5):222–7.

62. Drancourt M, Argenson J-N, Dupont HT, Aubaniac J-M, Raoult D. Psoriasis is a risk factor for hip-prosthesis infection. *Eur J Epidemiol.* 1997;13(2):205–7.
63. Duchman KR, Gao Y, Pugely AJ, Martin CT, Noiseux NO, Callaghan JJ. The effect of smoking on short-term complications following total hip and knee arthroplasty. *JBJS.* 2015;97(13):1049–58.
64. Teng S, Yi C, Krettek C, Jagodzinski M. Smoking and risk of prosthesis-related complications after total hip arthroplasty: a meta-analysis of cohort studies. *PLoS One.* 2015;10(4).
65. Azodi OS, Bellocco R, Eriksson K, Adami J. The impact of tobacco use and body mass index on the length of stay in hospital and the risk of post-operative complications among patients undergoing total hip replacement. *J Bone Joint Surg Br.* 2006;88(10):1316–20.
66. Sullivan NM, Sutter VL, Mims MM, Marsh VH, Finegold SM. Clinical aspects of bacteremia after manipulation of the genitourinary tract. *J Infect Dis.* 1973;127(1):49–55.
67. Duncan RA. Prosthetic joint replacement: should orthopedists check urine because it's there? Vol. 59, *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America.* United States; 2014. p. 48–50.
68. Koulouvaris P, Sculco P, Finerty E, Sculco T, Sharrock NE. Relationship between perioperative urinary tract infection and deep infection after joint arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res.* 2009;467(7):1859–67.
69. Berbari EF, Hanssen AD, Duffy MC, Steckelberg JM, Ilstrup DM, Harmsen WS, et al. Risk factors for prosthetic joint infection: case-control study. *Clin Infect Dis.* 1998;27(5):1247–54.
70. Bratzler DW, Dellinger EP, Olsen KM, Perl TM, Auwaerter PG, Bolon MK, et al. Clinical practice guidelines for antimicrobial prophylaxis in surgery. *Surg Infect (Larchmt).* 2013;14(1):73–156.
71. Tande AJ, Patel R. Prosthetic joint infection. *Clin Microbiol Rev.* 2014;27(2):302–45.

72. Mangram AJ, Horan TC, Pearson ML, Silver LC, Jarvis WR, Committee HICPA. Guideline for prevention of surgical site infection, 1999. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1999;20(4):247–80.
73. Bratzler DW, Houck PM. Antimicrobial prophylaxis for surgery: an advisory statement from the National Surgical Infection Prevention Project. *Clin Infect Dis.* 2004;1706–15.
74. Hansen E, Belden K, Silibovsky R, Vogt M, Arnold W, Bićanić G, et al. Perioperative antibiotics. *J Arthroplasty.* 2014;29(2):29–48.
75. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science (80-).* 1999;284(5418):1318–22.
76. Beikler T, Flemmig TF. Oral biofilm-associated diseases: trends and implications for quality of life, systemic health and expenditures. *Periodontol* 2000. 2011;55(1):87–103.
77. Ceri H, Olson M, Morck D, Storey D, Read R, Buret A, et al. [25] The MBEC assay system: Multiple equivalent biofilms for antibiotic and biocide susceptibility testing. In: *Methods in enzymology.* Elsevier; 2001. p. 377–85.
78. Olson ME, Ceri H, Morck DW, Buret AG, Read RR. Biofilm bacteria: formation and comparative susceptibility to antibiotics. *Can J Vet Res.* 2002;66(2):86.
79. Hung C-S, Henderson JP. Emerging concepts of biofilms in infectious diseases. *Mo Med.* 2009;106(4):292–6.
80. Romano CL, Toscano M, Romano D, Drago L. Antibiofilm agents and implant-related infections in orthopaedics: where are we? *J Chemother.* 2013;25(2):67–80.
81. Drago L, Agrappi S, Bortolin M, Toscano M, Romanò CL, De Vecchi E. How to study biofilms after microbial colonization of materials used in orthopaedic implants. *Int J Mol Sci.* 2016;17(3):293.
82. Characklis WG, Marshall KC, Biofilms JW. Sons. New York. 1990;199.
83. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev.* 2002;15(2):167–93.

84. Gottenbos B, Busscher HJ, Van Der Mei HC, Nieuwenhuis P. Pathogenesis and prevention of biomaterial centered infections. *J Mater Sci Mater Med*. 2002;13(8):717–22.
85. Wingender J, Neu TR, Flemming H-C. What are bacterial extracellular polymeric substances? In: *Microbial extracellular polymeric substances*. Springer; 1999. p. 1–19.
86. Pratt LA, Kolter R. Genetic analysis of *Escherichia coli* biofilm formation: roles of flagella, motility, chemotaxis and type I pili. *Mol Microbiol*. 1998;30(2):285–93.
87. Roilides E, Simitsopoulou M, Katragkou A, Walsh TJ. How biofilms evade host defenses. *Microb Biofilms*. 2015;287–300.
88. Fong JNC, Yildiz FH. Biofilm matrix proteins. *Microb Biofilms*. 2015;201–22.
89. Uppuluri P, Chaturvedi AK, Srinivasan A, Banerjee M, Ramasubramaniam AK, Köhler JR, et al. Dispersion as an important step in the *Candida albicans* biofilm developmental cycle. *PLoS Pathog*. 2010;6(3).
90. Banchereau J, Briere F, Caux C, Davoust J, Lebecque S, Liu Y-J, et al. Immunobiology of dendritic cells. *Annu Rev Immunol*. 2000;18(1):767–811.
91. Overhage J, Campisano A, Bains M, Torfs ECW, Rehm BHA, Hancock REW. Human host defense peptide LL-37 prevents bacterial biofilm formation. *Infect Immun*. 2008;76(9):4176–82.
92. Günther F, Wabnitz GH, Stroh P, Prior B, Obst U, Samstag Y, et al. Host defence against *Staphylococcus aureus* biofilms infection: phagocytosis of biofilms by polymorphonuclear neutrophils (PMN). *Mol Immunol*. 2009;46(8–9):1805–13.
93. Che YO, Sanderson K, Roddam LF, Kirov SM, Reid DW. Iron-binding compounds impair *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation, especially under anaerobic conditions. *J Med Microbiol*. 2009;58(6):765–73.
94. Leid JG, Shirtliff ME, Costerton JW, Stoodley P. Human leukocytes adhere to, penetrate, and respond to *Staphylococcus aureus* biofilms. *Infect Immun*. 2002;70(11):6339–45.

95. Thurlow LR, Hanke ML, Fritz T, Angle A, Aldrich A, Williams SH, et al. *Staphylococcus aureus* biofilms prevent macrophage phagocytosis and attenuate inflammation in vivo. *J Immunol.* 2011;186(11):6585–96.
96. Jesaitis AJ, Franklin MJ, Berglund D, Sasaki M, Lord CI, Bleazard JB, et al. Compromised host defense on *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: characterization of neutrophil and biofilm interactions. *J Immunol.* 2003;171(8):4329–39.
97. Walker TS, Tomlin KL, Worthen GS, Poch KR, Lieber JG, Saavedra MT, et al. Enhanced *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development mediated by human neutrophils. *Infect Immun.* 2005;73(6):3693–701.
98. Greene LR. Guide to the elimination of orthopedic surgery surgical site infections: an executive summary of the Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology elimination guide. *Am J Infect Control.* 2012;40(4):384–6.
99. Boles BR, Horswill AR. Agr-mediated dispersal of *Staphylococcus aureus* biofilms. *PLoS Pathog.* 2008;4(4).
100. Huang C-T, Yu FP, McFeters GA, Stewart PS. Nonuniform spatial patterns of respiratory activity within biofilms during disinfection. *Appl Environ Microbiol.* 1995;61(6):2252–6.
101. Høiby N. Recent advances in the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections in cystic fibrosis. *BMC Med.* 2011;9(1):32.
102. Jefferson KK, Goldmann DA, Pier GB. Use of confocal microscopy to analyze the rate of vancomycin penetration through *Staphylococcus aureus* biofilms. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49(6):2467–73.
103. Drago L, Romanò CL, Mattina R, Signori V, De Vecchi E. Does dithiothreitol improve bacterial detection from infected prostheses? A pilot study. *Clin Orthop Relat Res.* 2012;470(10):2915–25.
104. Drago L, Signori V, De Vecchi E, Vassena C, Palazzi E, Cappelletti L, et al. Use of dithiothreitol to improve the diagnosis of prosthetic joint infections. *J Orthop Res.* 2013;31(11):1694–9.

105. Biring GS, Kostamo T, Garbuz DS, Masri BA, Duncan CP. Two-stage revision arthroplasty of the hip for infection using an interim articulated Prostalac hip spacer: a 10-to 15-year follow-up study. *J Bone Joint Surg Br.* 2009;91(11):1431–7.
106. Raut V V, Siney PD, Wroblewski BM. One-stage revision of total hip arthroplasty for deep infection. Long-term followup. *Clin Orthop Relat Res.* 1995;(321):202–7.
107. 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(5):2386–91.
108. Mahmud T, Lyons MC, Naudie DD, MacDonald SJ, McCalden RW. Assessing the gold standard: a review of 253 two-stage revisions for infected TKA. *Clin Orthop Relat Res.* 2012;470(10):2730–6.
109. Bengtson S, Knutson K. The infected knee arthroplasty: a 6-year follow-up of 357 cases. *Acta Orthop Scand.* 1991;62(4):301–11.
110. Berbari EF, Osmon DR, Carr A, Hanssen AD, Baddour LM, Greene D, et al. Dental procedures as risk factors for prosthetic hip or knee infection: a hospital-based prospective case-control study. *Clin Infect Dis.* 2010;50(1):8–16.
111. Schäfer P, Fink B, Sandow D, Margull A, Berger I, Frommelt L. Prolonged bacterial culture to identify late periprosthetic joint infection: a promising strategy. *Clin Infect Dis.* 2008;47(11):1403–9.
112. Kim Y-H, Choi Y, Kim J-S. Treatment based on the type of infected TKA improves infection control. *Clin Orthop Relat Res.* 2011;469(4):977–84.
113. Klouche S, Leonard P, Zeller V, Lhotellier L, Graff W, Leclerc P, et al. Infected total hip arthroplasty revision: one-or two-stage procedure? *Orthop Traumatol Surg Res.* 2012;98(2):144–50.
114. Kusuma SK, Ward J, Jacofsky M, Sporer SM, Della Valle CJ. What is the role of serological testing between stages of two-stage reconstruction of the infected prosthetic knee? *Clin Orthop Relat Res.* 2011;469(4):1002–8.

115. Lee J, Kang C-I, Lee JH, Joung M, Moon S, Wi YM, et al. Risk factors for treatment failure in patients with prosthetic joint infections. *J Hosp Infect.* 2010;75(4):273–6.
116. Shukla SK, Ward JP, Jacofsky MC, Sporer SM, Paprosky WG, Della Valle CJ. Perioperative testing for persistent sepsis following resection arthroplasty of the hip for periprosthetic infection. *J Arthroplasty.* 2010;25(6):87–91.
117. Baker RP, Tabin UF, Borens O. infection. 2015;25(4):316–22.
118. Soriano A, Garcia S, Bori G, Almela M, Gallart X, Maculé F, et al. Treatment of acute post-surgical infection of joint arthroplasty. *Clin Microbiol Infect.* 2006;12(9):930–3.
119. Cobo J, San Miguel LG, Euba G, Rodríguez D, García-Lechuz JM, Riera M, et al. Early prosthetic joint infection: outcomes with debridement and implant retention followed by antibiotic therapy. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17(11):1632–7.
120. Peel TN, Cheng AC, Choong PFM, Buisson KL. Early onset prosthetic hip and knee joint infection: treatment and outcomes in Victoria, Australia. *J Hosp Infect.* 2012;82(4):248–53.
121. Puig-Verdié L, Alentorn-Geli E, González-Cuevas A, Sorlí L, Salvadó M, Alier A, et al. Implant sonication increases the diagnostic accuracy of infection in patients with delayed, but not early, orthopaedic implant failure. *Bone Joint J.* 2013;95(2):244–9.
122. Tsukayama DT, Estrada R, Gustilo RB. Infection after total hip arthroplasty. A study of the treatment of one hundred and six infections. *J Bone Joint Surg Am.* 1996 Apr;78(4):512–23.
123. Phillips JE, Crane TP, Noy M, Elliott TSJ, Grimer RJ. The incidence of deep prosthetic infections in a specialist orthopaedic hospital: a 15-year prospective survey. *J Bone Joint Surg Br.* 2006;88(7):943–8.
124. Vilchez F, Martínez-Pastor JC, García-Ramiro S, Bori G, Tornero E, García E, et al. Efficacy of debridement in hematogenous and early post-surgical prosthetic joint infections. *Int J Artif Organs.* 2011;34(9):863–9.

125. Murdoch DR, Roberts SA, Fowler Jr VG, Shah MA, Taylor SL, Morris AJ, et al. Infection of orthopedic prostheses after *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Clin Infect Dis*. 2001;32(4):647–9.
126. Sendi P, Banderet F, Graber P, Zimmerli W. Periprosthetic joint infection following *Staphylococcus aureus* bacteremia. *J Infect*. 2011;63(1):17–22.
127. Parvizi J, Tan TL, Goswami K, Higuera C, Della Valle C, Chen AF, et al. The 2018 definition of periprosthetic hip and knee infection: an evidence-based and validated criteria. *J Arthroplasty*. 2018;33(5):1309–14.
128. Rodríguez-Pardo D, Pigrau C, Lora-Tamayo J, Soriano A, Del Toro MD, Cobo J, et al. Gram-negative prosthetic joint infection: outcome of a debridement, antibiotics and implant retention approach. A large multicentre study. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20(11):O911–9.
129. Lora-Tamayo J, Parra-Ruiz J, Rodríguez-Pardo D, Barberán J, Ribera A, Tornero E, et al. High doses of daptomycin (10 mg/kg/d) plus rifampin for the treatment of staphylococcal prosthetic joint infection managed with implant retention: a comparative study. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2014;80(1):66–71.
130. Holmberg A, Thórhallsdóttir VG, Robertsson O, W-Dahl A, Stefánsdóttir A. 75% success rate after open debridement, exchange of tibial insert, and antibiotics in knee prosthetic joint infections: Report on 145 cases from the Swedish Knee Arthroplasty Register. *Acta Orthop*. 2015;86(4):457–62.
131. Zimmerli W, Widmer AF, Blatter M, Frei R, Ochsner PE. Role of rifampin for treatment of orthopedic implant–related staphylococcal infections: a randomized controlled trial. *Jama*. 1998;279(19):1537–41.
132. Ilchmann T, Zimmerli W, Ochsner PE, Kessler B, Zwicky L, Graber P, et al. One-stage revision of infected hip arthroplasty: outcome of 39 consecutive hips. *Int Orthop*. 2016;40(5):913–8.
133. Peel TN, Buising KL, Dowsey MM, Aboltins CA, Daffy JR, Stanley PA, et al. Outcome of debridement and retention in prosthetic joint infections by methicillin-resistant staphylococci, with special reference to rifampin and fusidic acid combination therapy. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013;57(1):350–5.

134. McKenna PB, O'Shea K, Masterson EL. Two-stage revision of infected hip arthroplasty using a shortened post-operative course of antibiotics. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2009;129(4):489–94.
135. Stockley I, Mockford BJ, Hoad-Reddick A, Norman P. The use of two-stage exchange arthroplasty with depot antibiotics in the absence of long-term antibiotic therapy in infected total hip replacement. *J Bone Joint Surg Br.* 2008;90(2):145–8.
136. Tice AD, Rehm SJ, Dalovisio JR, Bradley JS, Martinelli LP, Graham DR, et al. Practice guidelines for outpatient parenteral antimicrobial therapy. *Clin Infect Dis.* 2004;38(12):1651–71.
137. Cobo J, Lora-Tamayo J, Euba G, Jover-Sáenz A, Palomino J, del Toro M, et al. Linezolid in late-chronic prosthetic joint infection caused by gram-positive bacteria. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2013;76(1):93–8.
138. Rao N, Hamilton CW. Efficacy and safety of linezolid for Gram-positive orthopedic infections: a prospective case series. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2007;59(2):173–9.
139. Morata L, Senneville E, Bernard L, Nguyen S, Buzelé R, Druon J, et al. A retrospective review of the clinical experience of linezolid with or without rifampicin in prosthetic joint infections treated with debridement and implant retention. *Infect Dis Ther.* 2014;3(2):235–43.
140. Bassetti M, Vitale F, Melica G, Righi E, Di Biagio A, Molfetta L, et al. Linezolid in the treatment of Gram-positive prosthetic joint infections. *J Antimicrob Chemother.* 2005;55(3):387–90.
141. Byren I, Rege S, Campanaro E, Yankelev S, Anastasiou D, Kuropatkin G, et al. Randomized controlled trial of the safety and efficacy of daptomycin versus standard-of-care therapy for management of patients with osteomyelitis associated with prosthetic devices undergoing two-stage revision arthroplasty. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(11):5626–32.
142. El Helou OC, Berbari EF, Lahr BD, Eckel-Passow JE, Razonable RR, Sia IG, et al. Efficacy and safety of rifampin containing regimen for staphylococcal prosthetic joint infections treated with debridement and retention. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2010;29(8):961–7.

143. Aboltins CA, Page MA, Buising KL, Jenney AWJ, Daffy JR, Choong PFM, et al. Treatment of staphylococcal prosthetic joint infections with debridement, prosthesis retention and oral rifampicin and fusidic acid. *Clin Microbiol Infect.* 2007;13(6):586–91.
144. Harris LG, El-Bouri K, Johnston S, Rees E, Frommelt L, Siemssen N, et al. Rapid identification of staphylococci from prosthetic joint infections using MALDI-TOF mass-spectrometry. *Int J Artif Organs.* 2010;33(9):568–74.
145. Teterycz D, Ferry T, Lew D, Stern R, Assal M, Hoffmeyer P, et al. Outcome of orthopedic implant infections due to different staphylococci. *Int J Infect Dis.* 2010;14(10):e913–8.
146. Tornero E, Senneville E, Euba G, Petersdorf S, Rodriguez-Pardo D, Lakatos B, et al. Characteristics of prosthetic joint infections due to *Enterococcus* sp. and predictors of failure: a multi-national study. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20(11):1219–24.
147. Bernard L, Legout L, Zürcher-Pfund L, Stern R, Rohner P, Peter R, et al. Six weeks of antibiotic treatment is sufficient following surgery for septic arthroplasty. *J Infect.* 2010;61(2):125–32.
148. Martínez-Pastor JC, Munoz-Mahamud E, Vilchez F, García-Ramiro S, Bori G, Sierra J, et al. Outcome of acute prosthetic joint infections due to gram-negative bacilli treated with open debridement and retention of the prosthesis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(11):4772–7.
149. Piper KE, Jacobson MJ, Cofield RH, Sperling JW, Sanchez-Sotelo J, Osmon DR, et al. Microbiologic diagnosis of prosthetic shoulder infection by use of implant sonication. *J Clin Microbiol.* 2009;47(6):1878–84.
150. Bayston R, Nuradeen B, Ashraf W, Freeman BJC. Antibiotics for the eradication of *Propionibacterium acnes* biofilms in surgical infection. *J Antimicrob Chemother.* 2007;60(6):1298–301.
151. Wimmer MD, Friedrich MJ, Randau TM, Ploeger MM, Schmolders J, Strauss AA, et al. Polymicrobial infections reduce the cure rate in prosthetic joint infections: outcome analysis with two-stage exchange and follow-up $\geq$ two years. *Int Orthop.* 2016;40(7):1367–73.

152. Azzam K, Parvizi J, Jungkind D, Hanssen A, Fehring T, Springer B, et al. Microbiological, clinical, and surgical features of fungal prosthetic joint infections: a multi-institutional experience. *JBJS*. 2009;91(Supplement_6):142–9.
153. Kuiper JWP, van den Bekerom MPJ, van der Stappen J, Nolte PA, Colen S. 2-stage revision recommended for treatment of fungal hip and knee prosthetic joint infections: an analysis of 164 patients, 156 from the literature and 8 own cases. *Acta Orthop*. 2013;84(6):517–23.
154. Coventry MB. Treatment of infections occurring in total hip surgery. *Orthop Clin North Am*. 1975;6(4):991–1003.
155. Esposito S, Leone S. Prosthetic joint infections: microbiology, diagnosis, management and prevention. *Int J Antimicrob Agents*. 2008;32(4):287–93.
156. Spangehl MJ, Masri BA, O’Connell JX, Duncan CP. Prospective analysis of preoperative and intraoperative investigations for the diagnosis of infection at the sites of two hundred and two revision total hip arthroplasties. *JBJS*. 1999;81(5):672–83.
157. Deirmengian C, Kardos K, Kilmartin P, Cameron A, Schiller K, Booth RE, et al. The alpha-defensin test for periprosthetic joint infection outperforms the leukocyte esterase test strip. *Clin Orthop Relat Res*. 2015;473(1):198–203.
158. Yue B, Tang T. The use of nuclear imaging for the diagnosis of periprosthetic infection after knee and hip arthroplasties. *Nucl Med Commun*. 2015;36(4):305–11.
159. McPherson EJ, Woodson C, Holtom P, Roidis N, Shufelt C, Patzakis M. Periprosthetic total hip infection: outcomes using a staging system. *Clin Orthop Relat Res*. 2002;403:8–15.
160. Sandiford NA, Duncan CP, Garbuz DS, Masri BA. Two-stage management of the infected total hip arthroplasty. *Hip Int*. 2015;25(4):308–15.
161. Baker RP, Tabin UF, Borens O. Patient-adapted treatment for prosthetic hip joint infection. *Hip Int*. 2015;25(4):316–22.

162. Jevsevar DS. Treatment of osteoarthritis of the knee: evidence-based guideline. JAAOS-Journal Am Acad Orthop Surg. 2013;21(9):571–6.
163. McGarry SA, Engemann JJ, Schmader K, Sexton DJ, Kaye KS. Surgical-site infection due to *Staphylococcus aureus* among elderly patients mortality, duration of hospitalization, and cost. Infect Control Hosp Epidemiol. 2004;25(6):461–7.
164. Hebert CK, Williams RE, Levy RS, Barrack RL. Cost of treating an infected total knee replacement. Clin Orthop Relat Res. 1996;331:140–5.
165. Poultides LA, Liaropoulos LL, Malizos KN. The socioeconomic impact of musculoskeletal infections. JBJS. 2010;92(11):e13.
166. Thomas BJ, Moreland JR, Amstutz HC. Infection after total joint arthroplasty from distal extremity sepsis. Clin Orthop Relat Res. 1983;(181):121–5.
167. Chen J, Cui Y, Li X, Miao X, Wen Z, Xue Y, et al. Risk factors for deep infection after total knee arthroplasty: a meta-analysis. Arch Orthop Trauma Surg. 2013;133(5):675–87.
168. Peersman G, Laskin R, Davis J, Peterson M. Infection in total knee replacement: a retrospective review of 6489 total knee replacements. Clin Orthop Relat Res. 2001;392:15–23.
169. Adams AL, Paxton EW, Wang JQ, Johnson ES, Bayliss EA, Ferrara A, et al. Surgical outcomes of total knee replacement according to diabetes status and glycemic control, 2001 to 2009. JBJS. 2013;95(6):481–7.
170. Jämsen E, Nevalainen P, Kalliovalkama J, Moilanen T. Preoperative hyperglycemia predicts infected total knee replacement. Eur J Intern Med. 2010;21(3):196–201.
171. Gherini S, Vaughn BK, Lombardi JA V, Mallory TH. Delayed wound healing and nutritional deficiencies after total hip arthroplasty. Clin Orthop Relat Res. 1993;(293):188–95.
172. Del Savio GC, Zelicof SB, Wexler LM, Byrne DW, Reddy PD, Fish D, et al. Preoperative nutritional status and outcome of elective total hip replacement. Clin Orthop Relat Res. 1996;326:153–61.

173. Jaber FM, Parvizi J, Haytmanek CT, Joshi A, Purtill J. Procrastination of wound drainage and malnutrition affect the outcome of joint arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res*. 2008;466(6):1368–71.
174. Lavernia CJ, Sierra RJ, Baerga L. Nutritional parameters and short term outcome in arthroplasty. *J Am Coll Nutr*. 1999;18(3):274–8.
175. Nicholson JA, Dowrick AS, Liew SM. Nutritional status and short-term outcome of hip arthroplasty. *J Orthop Surg*. 2012;20(3):331–5.
176. Kerkhoffs GMMJ, Servien E, Dunn W, Dahm D, Bramer JAM, Haverkamp D. The influence of obesity on the complication rate and outcome of total knee arthroplasty: a meta-analysis and systematic literature review. *J Bone Joint Surg Am*. 2012;94(20):1839.
177. Liabaud B, Patrick Jr DA, Geller JA. Higher body mass index leads to longer operative time in total knee arthroplasty. *J Arthroplasty*. 2013;28(4):563–5.
178. Samson AJ, Mercer GE, Campbell DG. Total knee replacement in the morbidly obese: a literature review. *ANZ J Surg*. 2010;80(9):595–9.
179. Kurtz SM, Ong KL, Lau E, Bozic KJ, Berry D, Parvizi J. Prosthetic joint infection risk after TKA in the Medicare population. *Clin Orthop Relat Res*. 2010;468(1):52–6.
180. Ravi B, Escott B, Shah PS, Jenkinson R, Chahal J, Bogoch E, et al. A systematic review and meta-analysis comparing complications following total joint arthroplasty for rheumatoid arthritis versus for osteoarthritis. *Arthritis Rheum*. 2012;64(12):3839–49.
181. Singh JA, Houston TK, Ponce BA, Maddox G, Bishop MJ, Richman J, et al. Smoking as a risk factor for short-term outcomes following primary total hip and total knee replacement in veterans. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2011;63(10):1365–74.
182. Lindström D, Azodi OS, Wladis A, Tønnesen H, Linder S, Nåsell H, et al. Effects of a perioperative smoking cessation intervention on postoperative complications: a randomized trial. *Ann Surg*. 2008;248(5):739–45.

183. Sørensen LT. Wound healing and infection in surgery: the clinical impact of smoking and smoking cessation: a systematic review and meta-analysis. *Arch Surg.* 2012;147(4):373–83.
184. Myers K, Hajek P, Hinds C, McRobbie H. Stopping smoking shortly before surgery and postoperative complications: a systematic review and meta-analysis. *Arch Intern Med.* 2011;171(11):983–9.
185. Mills E, Eyawo O, Lockhart I, Kelly S, Wu P, Ebbert JO. Smoking cessation reduces postoperative complications: a systematic review and meta-analysis. *Am J Med.* 2011;124(2):144–54.
186. Lieberman JR, Fuchs MD, Haas SB, Garvin KL, Goldstock L, Gupta R, et al. Hip arthroplasty in patients with chronic renal failure. *J Arthroplasty.* 1995;10(2):191–5.
187. Peersman G, Laskin R, Davis J, Peterson MGE, Richart T. Prolonged operative time correlates with increased infection rate after total knee arthroplasty. *HSS J.* 2006;2(1):70–2.
188. Namba RS, Chen Y, Paxton EW, Slipchenko T, Fithian DC. Outcomes of routine use of antibiotic-loaded cement in primary total knee arthroplasty. *J Arthroplasty.* 2009;24(6):44–7.
189. Salvati EA, Robinson RP, Zeno SM, Koslin BL, Brause BD, Wilson JPD. Infection rates after 3175 total hip and total knee replacements performed with and without a horizontal unidirectional filtered air-flow system. *J Bone Joint Surg Am.* 1982;64(4):525–35.
190. Enzler MJ, Berbari E, Osmon DR. Antimicrobial prophylaxis in adults. In: *Mayo Clinic Proceedings.* Elsevier; 2011. p. 686–701.
191. Sepandj F, Ceri H, Gibb AP, Read RR, Olson M. Biofilm infections in peritoneal dialysis-related peritonitis: comparison of standard MIC and MBEC in evaluation of antibiotic sensitivity of coagulase-negative staphylococci. *Perit Dial Int.* 2003;23(1):77–9.
192. Bengtson S, Blomgren G, Knutson K, Wigren A, Lidgren L. Hematogenous infection after knee arthroplasty. *Acta Orthop Scand.* 1987;58(5):529–34.

193. Bozic KJ, Lau E, Kurtz S, Ong K, Berry DJ. Patient-related risk factors for postoperative mortality and periprosthetic joint infection in medicare patients undergoing TKA. *Clin Orthop Relat Res.* 2012;470(1):130–7.
194. Cipriano CA, Brown NM, Michael AM, Moric M, Sporer SM, Della Valle CJ. Serum and synovial fluid analysis for diagnosing chronic periprosthetic infection in patients with inflammatory arthritis. *JBJS.* 2012;94(7):594–600.
195. Trampuz A, Piper KE, Jacobson MJ, Hanssen AD, Unni KK, Osmon DR, et al. Sonication of removed hip and knee prostheses for diagnosis of infection. *N Engl J Med.* 2007;357(7):654–63.
196. Sadiq S, Wootton JR, Morris CA, Northmore-Ball MD. Application of core biopsy in revision arthroplasty for deep infection. *J Arthroplasty.* 2005;20(2):196–201.
197. Atkins BL, Athanasou N, Deeks JJ, Crook DWM, Simpson H, Peto TEA, et al. Prospective evaluation of criteria for microbiological diagnosis of prosthetic-joint infection at revision arthroplasty. *J Clin Microbiol.* 1998;36(10):2932–9.
198. Laffer RR, Graber P, Ochsner PE, Zimmerli W. Outcome of prosthetic knee-associated infection: evaluation of 40 consecutive episodes at a single centre. *Clin Microbiol Infect.* 2006;12(5):433–9.
199. Lewis SS, Dicks K V, Chen LF, Bolognesi MP, Anderson DJ, Sexton DJ, et al. Delay in diagnosis of invasive surgical site infections following knee arthroplasty versus hip arthroplasty. *Clin Infect Dis.* 2015;60(7):990–6.
200. Moran E, Masters S, Berendt AR, McLardy-Smith P, Byren I, Atkins BL. Guiding empirical antibiotic therapy in orthopaedics: the microbiology of prosthetic joint infection managed by debridement, irrigation and prosthesis retention. *J Infect.* 2007;55(1):1–7.
201. Lonner JH, Desai P, Dicesare PE, Steiner G, Zuckerman JD. The reliability of analysis of intraoperative frozen sections for identifying active infection during revision hip or knee arthroplasty. *JBJS.* 1996;78(10):1553–8.
202. Jacovides CL, Kreft R, Adeli B, Hozack B, Ehrlich GD, Parvizi J. Successful identification of pathogens by polymerase chain reaction (PCR)-based electron spray ionization time-of-flight mass spectrometry (ESI-TOF-MS) in culture-negative periprosthetic joint infection. *JBJS.* 2012;94(24):2247–54.

203. 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.
204. Haddad FS, Masri BA, Campbell D, McGraw RW, Beauchamp CP, Duncan CP. The PROSTALAC functional spacer in two-stage revision for infected knee replacements. *J Bone Joint Surg Br.* 2000;82(6):807–12.
205. Zimmerli W, Ochsner PE. Management of infection associated with prosthetic joints. *Infection.* 2003;31(2):99–108.
206. Haddad FS, Sukeik M, Alazzawi S. Is single-stage revision according to a strict protocol effective in treatment of chronic knee arthroplasty infections? *Clin Orthop Relat Res.* 2015;473(1):8–14.
207. Gehrke T, Breusch SJ. Management of TKA Infection—One-stage Exchange. In: *Infection and Local Treatment in Orthopedic Surgery.* Springer; 2007. p. 272–85.
208. Pitto RP. Antibiotic-loaded Bone Cement Spacers for the Two-stage Revision in Total Knee Replacement. In: *Infection and Local Treatment in Orthopedic Surgery.* Springer; 2007. p. 286–93.
209. Abudu A, Sivardeen K, Grimer R, Pynsent P, Noy M. The outcome of perioperative wound infection after total hip and knee arthroplasty. *Int Orthop.* 2002;26(1):40–3.
210. Goldman RT, Scuderi GR, Insall JN. 2-stage reimplantation for infected total knee replacement. *Clin Orthop Relat Res.* 1996;331:118–24.
211. Insall JN, Thompson FM, Brause BD. Two-stage reimplantation for the salvage of infected total knee arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am.* 1983;65(8):1087–98.
212. Scott IR, Stockley I, Getty CJ. Exchange arthroplasty for infected knee replacements. A new two-stage method. *J Bone Joint Surg Br.* 1993;75(1):28–31.
213. Emerson Jr RH, Muncie M, Tarbox TR, Higgins LL. Comparison of a static with a mobile spacer in total knee infection. *Clin Orthop Relat Res.* 2002;404:132–8.

214. Calton TF, Fehring TK, Griffin WL. Bone loss associated with the use of spacer blocks in infected total knee arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res.* 1997;(345):148–54.
215. Fehring TK, Odum S, Calton TF, Mason JB. Articulating versus static spacers in revision total knee arthroplasty for sepsis. *Clin Orthop Relat Res.* 2000;380:9–16.
216. Garg P, Ranjan R, Bandyopadhyay U, Chouksey S, Mitra SR, Gupta SK. Antibiotic-impregnated articulating cement spacer for infected total knee arthroplasty. *Indian J Orthop.* 2011;45(6):535.
217. Castelli CC, Ferrari R. Key points in two-stage revision for infected knee arthroplasty: bone loss, quality of life between stages and surgical approach at second stage. In: *Infection and Local Treatment in Orthopedic Surgery.* Springer; 2007. p. 294–301.
218. Tintle LTSM, Forsberg LJA, Potter MAJBK, Islinger RB, Andersen LTCRC. Prosthesis retention, serial debridement, and antibiotic bead use for the treatment of infection following total joint arthroplasty. *Orthopedics.* 2009;32(2).
219. Wilde AH, Ruth JT. Two-stage reimplantation in infected total knee arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res.* 1988;(236):23–35.
220. Windsor RE, Bono J V. Infected total knee replacements. *JAAOS-Journal Am Acad Orthop Surg.* 1994;2(1):44–53.
221. Vanhegan IS, Morgan-Jones R, Barrett DS, Haddad FS. Developing a strategy to treat established infection in total knee replacement: a review of the latest evidence and clinical practice. *J Bone Joint Surg Br.* 2012;94(7):875–81.
222. Barrack RL, Engh G, Rorabeck C, Sawhney J, Woolfrey M. Patient satisfaction and outcome after septic versus aseptic revision total knee arthroplasty. *J Arthroplasty.* 2000;15(8):990–3.
223. Freeman MG, Fehring TK, Odum SM, Fehring K, Griffin WL, Mason JB. Functional advantage of articulating versus static spacers in 2-stage revision for total knee arthroplasty infection. *J Arthroplasty.* 2007;22(8):1116–21.

224. Haleem AA, Berry DJ, Hanssen AD. The Chitranjan Ranawat Award: mid-term to long-term followup of two-stage reimplantation for infected total knee arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res.* 2004;428:35–9.
225. Meek RMD, Masri BA, Dunlop D, Garbuz DS, Greidanus N V, McGraw R, et al. Patient satisfaction and functional status after treatment of infection at the site of a total knee arthroplasty with use of the PROSTALAC articulating spacer. *JBJS.* 2003;85(10):1888–92.
226. Romano CL, Gala L, Logoluso N, Romanò D, Drago L. Two-stage revision of septic knee prosthesis with articulating knee spacers yields better infection eradication rate than one-stage or two-stage revision with static spacers. *Knee Surgery, Sport Traumatol Arthrosc.* 2012;20(12):2445–53.
227. Leone JM, Hanssen AD. Management of infection at the site of a total knee arthroplasty. *JBJS.* 2005;87(10):2335–48.
228. Stulberg SD. Arthrodesis in failed total knee replacements. *Orthop Clin North Am.* 1982;13(1):213.
229. Sandrone C, Moraca G, Finocchio GC. Arthrodesis for the Treatment of Severe Knee Disease. In: *Infection and Local Treatment in Orthopedic Surgery.* Springer; 2007. p. 309–19.
230. Rand JA. Alternatives to reimplantation for salvage of the total knee arthroplasty complicated by infection. *JBJS.* 1993;75(2):282–9.
231. Bargiotas K, Wohlrab D, Sewecke JJ, Lavinge G, DeMeo PJ, Sotereanos NG. Arthrodesis of the knee with a long intramedullary nail following the failure of a total knee arthroplasty as the result of infection. *JBJS.* 2006;88(3):553–8.
232. European Council. Directive 2000/54/EC. *Off J Eur Communities.* 2000;3.
233. Tate G, Mandell BF, Laposata M, Ohliger D, Baker DG, Schumacher HR, et al. Suppression of acute and chronic inflammation by dietary gamma linolenic acid. *J Rheumatol.* 1989;16(6):729–34.
234. Edwards JCW, Sedgwick AD, Willoughby DA. The formation of a structure with the features of synovial lining by subcutaneous injection of air: an in vivo tissue culture system. *J Pathol.* 1981;134(2):147–56.

235. Duarte DB, Vasko MR, Fehrenbacher JC. Models of inflammation: carrageenan air pouch. *Curr Protoc Pharmacol*. 2012;56(1):5–6.
236. Mikić IM, Cigić L, Kero D, Govorko DK, Mehić GP, Simeon P. Antimicrobial effectiveness of polyhexamethylene biguanide on *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis* and *Candida albicans*. *Med Glas*. 2018;15(2).
237. Arunachalam K, Ramar M, Ramanathan S, Govindaraju A, Shunmugiah KP, Kandasamy R, et al. In vivo protective effect of geraniol on colonization of *Staphylococcus epidermidis* in rat jugular vein catheter model. *Pathog Dis*. 2018;76(5):fty055.
238. Cirioni O, Mocchegiani F, Ghiselli R, Silvestri C, Gabrielli E, Marchionni E, et al. Daptomycin and rifampin alone and in combination prevent vascular graft biofilm formation and emergence of antibiotic resistance in a subcutaneous rat pouch model of staphylococcal infection. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2010;40(6):817–22.
239. Kao WK, Gagnon PM, Vogel JP, Chole RA. Surface charge modification decreases *Pseudomonas aeruginosa* adherence in vitro and bacterial persistence in an in vivo implant model. *Laryngoscope*. 2017;127(7):1655–61.
240. Peters BM, Ward RM, Rane HS, Lee SA, Noverr MC. Efficacy of ethanol against *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* polymicrobial biofilms. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013;57(1):74–82.
241. Shi J, Mao N-F, Wang L, Zhang H-B, Chen Q, Liu H, et al. Efficacy of combined vancomycin and fosfomycin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in biofilms in vivo. *PLoS One*. 2014;9(12).
242. Qin H, Cao H, Zhao Y, Zhu C, Cheng T, Wang Q, et al. In vitro and in vivo anti-biofilm effects of silver nanoparticles immobilized on titanium. *Biomaterials*. 2014;35(33):9114–25.
243. Balato G, Roscetto E, Vollaro A, Galasso O, Gasparini G, Ascione T, et al. Bacterial biofilm formation is variably inhibited by different formulations of antibiotic-loaded bone cement in vitro. *Knee Surgery, Sport Traumatol Arthrosc*. 2019;27(6):1943–52.

244. Malhotra R, Dhawan B, Garg B, Shankar V, Nag TC. A comparison of bacterial adhesion and biofilm formation on commonly used orthopaedic metal implant materials: An In vitro study. *Indian J Orthop.* 2019;53(1):148.
245. Jass J, Surman S, Walker J. Medical biofilms: detection, prevention and control. Vol. 2. John Wiley & Sons; 2003.
246. Cerca N, Jefferson KK, Oliveira R, Pier GB, Azeredo J. Comparative antibody-mediated phagocytosis of *Staphylococcus epidermidis* cells grown in a biofilm or in the planktonic state. *Infect Immun.* 2006;74(8):4849–55.
247. Leid JG, Willson CJ, Shirtliff ME, Hassett DJ, Parsek MR, Jeffers AK. The exopolysaccharide alginate protects *Pseudomonas aeruginosa* biofilm bacteria from IFN- γ -mediated macrophage killing. *J Immunol.* 2005;175(11):7512–8.
248. Gaudin A, Amador Del Valle G, Hamel A, Le Mabecque V, Miegerville A, Potel G, et al. A new experimental model of acute osteomyelitis due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in rabbit. *Lett Appl Microbiol.* 2011;52(3):253–7.
249. Melchior MB, Fink-Gremmels J, Gaastra W. Comparative assessment of the antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates from bovine mastitis in biofilm versus planktonic culture. *J Vet Med Ser B.* 2006;53(7):326–32.
250. Nickel JC, Ruseska I, Wright JB, Costerton JW. Tobramycin resistance of *Pseudomonas aeruginosa* cells growing as a biofilm on urinary catheter material. *Antimicrob Agents Chemother.* 1985;27(4):619–24.
251. Cray C, Zaias J, Altman NH. Acute phase response in animals: a review. *Comp Med.* 2009;59(6):517–26.
252. Lovati AB, Drago L, Monti L, De Vecchi E, Previdi S, Banfi G, et al. Diabetic mouse model of orthopaedic implant-related *Staphylococcus aureus* infection. *PLoS One.* 2013;8(6).
253. Lee K-M, Yoon MY, Park Y, Lee J-H, Yoon SS. Anaerobiosis-induced loss of cytotoxicity is due to inactivation of quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect Immun.* 2011;79(7):2792–800.

254. Qu G-X, Zhang C-H, Yan S-G, Cai X-Z. Debridement, antibiotics, and implant retention for periprosthetic knee infections: a pooling analysis of 1266 cases. *J Orthop Surg Res.* 2019;14(1):358.
255. Iza K, Foruria X, Moreta J, Uriarte I, Loroño A, Aguirre U, et al. DAIR (Debridement, Antibiotics and Implant Retention) less effective in hematogenous total knee arthroplasty infections. *J Orthop Surg Res.* 2019;14(1):1–6.
256. 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.
257. Cobo F, Rodríguez-Granger J, López EM, Jiménez G, Sampedro A, Aliaga-Martínez L, et al. Candida-induced prosthetic joint infection. A literature review including 72 cases and a case report. *Infect Dis (Auckl).* 2017;49(2):81–94.
258. Beirao S, Fernandes S, Coelho J, Faustino MAF, Tome JPC, Neves MG, et al. Photodynamic inactivation of bacterial and yeast biofilms with a cationic porphyrin. *Photochem Photobiol.* 2014;90(6):1387–96.
259. Jafri H, Khan MSA, Ahmad I. In vitro efficacy of eugenol in inhibiting single and mixed-biofilms of drug-resistant strains of *Candida albicans* and *Streptococcus mutans*. *Phytomedicine.* 2019;54:206–13.
260. Kart D, Tavernier S, Van Acker H, Nelis HJ, Coenye T. Activity of disinfectants against multispecies biofilms formed by *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Biofouling.* 2014;30(3):377–83.
261. David M P, Douglas R O, Michael R K, Arlen D H. Delayed reimplantation arthroplasty for candidal prosthetic joint infection: a report of 4 cases and review of the literature. *Clin Infect Dis.* 2002;34(7):930–8.
262. Jakobs O, Schoof B, Klatte TO, Schmidl S, Fensky F, Guenther D, et al. Fungal periprosthetic joint infection in total knee arthroplasty: a systematic review. *Orthop Rev (Pavia).* 2015;7(1).
263. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, Clancy CJ, Marr KA, Ostrosky-Zeichner L, et al. Clinical practice guideline for the management of candidiasis: 2016 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2016;62(4):e1–50.

264. Dutronc H, Dauchy FA, Cazanave C, Rougie C, Lafarie-Castet S, Couprie B, et al. Candida prosthetic infections: case series and literature review. *Scand J Infect Dis.* 2010;42(11–12):890–5.
265. Schoof B, Jakobs O, Schmidl S, Klatte TO, Frommelt L, Gehrke T, et al. Fungal periprosthetic joint infection of the hip: a systematic review. *Orthop Rev (Pavia).* 2015;7(1).
266. Li C, Renz N, Trampuz A. Management of periprosthetic joint infection. *Hip pelvis.* 2018;30(3):138–46.
267. Williams DL, Haymond BS, Woodbury KL, Beck JP, Moore DE, Epperson RT, et al. Experimental model of biofilm implant-related osteomyelitis to test combination biomaterials using biofilms as initial inocula. *J Biomed Mater Res Part A.* 2012;100(7):1888–900.