

37. Thomas C. Vangsness, Jr., Ivan A. Garcia, Randal Mills, Marion A. Kainer, Michael R. Roberts, Tillman M. Moore: Allograft Transplantation in the Knee: Tissue Regulation, Procurement, Processing, and Sterilization. The American Journal of Sports Medicine, Vol. 31, No. 3 © 2003 American Orthopaedic Society for Sports Medicine.
38. Thoren K, Aspenberg P: Ethylene oxide sterilization impairs allograft incorporation in a conduction chamber. Clin Orthop, 1995, 318: 259-264.
39. Allograft associated bacterial infections—United States, 2002. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2002,51: 207–210.
40. Vangsness CT Jr, Triffon MJ, Joyce MJ, et al: Soft tissue for allograft reconstruction of the human knee: A survey of the American Association of Tissue Banks. Am J Sports Med, 1996, 24: 230–234,
41. Брус И. Г., Топор Б. М., Беденкова О. Е. Костная пластика Формализированными трансплантатами. Кишинев, 1989, 116
42. Воробьев А. А. et al. Анатоксины, М., 1965.
43. Засухина Т. Д. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1963.
44. Рапопорт И. А. Химическая реакция с аминогруппой протеина в структуре генов. Журнал общей биологии, 1947, VIII, 5.
45. Парфентьева В., Розвадовский В, Дмитриенко В. Консервация гомологичных костных трансплантов, 1969, 113 р.
46. Топор Б. М. Комбинированные пластические материалы из костного матрикса и эмбриональных тканей. Дис. Д-ра хабилитата мед.наук. М., 1991, 354 с.
47. Уоркер Дж. , Формальдегид, М., 1957, 608 р.

**ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ
ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЯ СУСТАВОВ
С ПРИМЕНЕНИЕМ**

ПОЛЯРИЗАЦИОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

Васюк С. В., Кваснюк Д. И., Васюк В. Л., Васильчишин Я. Н.

Буковинский государственный медицинский университет, Черновцы, Украина

Summary

***Polarizing microscopy methods in differential diagnosis of
infection in patients after total hip or knee replacement***

A new technique of polarizing microscopy was assessed for diagnostic value in differential diagnosis of septic and aseptic complications after total joint replacement. 56 patients with complications in the hip or in the knee were assessed. The possibility to differentiate periprosthetic infections from aseptic inflammatory complications using polarizing microscopy, spectropolarimetry, and microphasometry was established. Asymmetry and excess of spectral relation of light beam polarization azimuth differ in aseptic and in septic arthritis, including infected prosthesis, by 5.1-5.4 times. The method's sensitivity reaches 87-88% at specificity of 71-72%. Asymmetry and excess of phases' coordinate distribution in laser microscopy of synovial fluid from patients with aseptic and septic arthritis, including periprosthetic infection, differ by 1.8-2.4 times. The method's sensitivity is 73-75% at specificity of 64-69%. The results of such assessments are available within 1.5-2 hours.

Rezumat

**Diagnosticul diferențiat al complicațiilor septice și aseptice după endoprotezările
articulațiilor mari prin metoda de polarizare microscopică**

De autori a fost elaborată o noua tehnică de polarizare microscopică pentru diagnosticul diferențial al complicațiilor septice sau aseptice după endoprotezarea articulațiilor mari au fost

evaluati 66 de pacienti cu complicatii la nivelul articulatiei soldului sau a genunchiului. A fost stabilit posibilitatea de a diferentia infectiile periprotetice de complicatii inflamatorii aseptice, folosind microscopie polarizanta, spectropolarimetru, si microphasometrie a probelor lichidului sinovial. Asimetrie si exces de relatia spectrale de lumina polarizata azimut fascicul diferă în aseptice si în artrita septica, inclusiv infectate proteze, de 5.1-5.4 ori. Sensibilitatea metodei atinge 87-88% cu specificitate de 71-72%. Asimetrie si exces de distributie coordonate faze "în microscopia cu laser de lichid sinovial de la pacienti cu artrita aseptice si septice, inclusiv infectii periprotetică, diferă de 1.8-2.4 ori. Sensibilitatea metodei este de 73-75% cu specificitatea de 64-69%. Metodele utilizate fac posibilă diagnosticarea proceselor septice si aseptice în timp de 1,5-2 ore.

Резюме

Авторами разработана новая поляризационно-микроскопических технология дифференциальной диагностики асептического и септического осложнений эндопротезирования суставов. Обследовано 66 больных с патологией коленного и тазобедренного суставов. Установлено, что с помощью поляризационной микроскопии, спектрофотополяриметрии и микрофазометрии мазков синовиальной жидкости можно дифференцировать инфекционные осложнения эндопротезирования. Показатели асимметрии и эксцесса спектральной зависимости азимута поляризации оптического пучка в группах асептического синовита и септического артритов включая инфекцию протезированного сустава отличаются 5,1 - 5,4 раза. Чувствительность данного метода достигает 87% -88% при специфичности 71% -72%. Показатели асимметрии и эксцесса координатных распределений фаз лазерных микроскопических изображений мазков синовиальной жидкости у пациентов с асептическим синовитом и септическим артритом включая инфекцию протезированного сустава отличаются в 1,8-2,4 раза. Чувствительность данного метода достигает 73% -75% при специфичности 64% -69%. Применение поляризационно-микроскопических методик в дифференциальной диагностике вышеописанных состояний позволяет сократить диагностический процесс до 1,5 - 2 часов.

Эндопротезирование коленного и тазобедренного суставов является общепринятым в лечении терминальных стадий артроза, так как дает возможность в значительной степени уменьшить болевой синдром, улучшить функцию сустава и качество жизни в целом. Сложным осложнением которое может сопровождать эндопротезирования является развитие перипротезной инфекции, для первичного эндопротезирования составляет 1-2%, а для ревизионного 3-5% [1,7,8]. Дифференциальная диагностика септических и асептических осложнений после эндопротезирования коленного и тазобедренного сустава – сложная задача, так как является мультифакториальной и основывается на клинической картине, рентгенологических данных, КТ, МРТ, УЗИ; повышении факторов воспаления в крови, а также на исследовании синовиальной жидкости. Согласно анализу литературы [8,9,10], «золотым стандартом» подтверждения инфицирования сустава является культуральный метод, т.е. выделение возбудителя на питательной среде, а КТ, МРТ, УЗИ, большинство серологических и цитологических тестов являются дополняющими, не всегда специфическими [3,9]. Недостатком культурального метода является длительность, которая по данным литературы составляет от 2-5 до 20 дней. В связи с этим, в сложных дифференциально-диагностических случаях, затягивается лечебный процесс. По данным литературы [5,6] поляризационно-микроскопические методы (поляризационная микроскопия, микрофазометрия, спектрофотополяриметрия) апробированы с дифференциально-диагностической целью в таких областях медицины как биохимия, патоморфология, судебная медицина, онкогинекология, кардиология, гастроэнтерология.

Цель работы

Определить поляриметрические, фазометрические и спектро поляриметрические показатели характерны для септического артрита и синовита при остеоартрозе и выявить дифференциальные поляризационно-микроскопические критерии.

Материалы и методы

Нами обследовано 66 больных с патологией коленного и тазобедренного суставов. У 44 больных, составивших первую группу, на основе клинических, лабораторных, рентгенологических методов диагностирован асептический реактивный синовит при остеоартрозе I-III, что подтверждено отрицательным культуральным исследованием. У 12 больных, которые составили вторую группу, культуральным методом подтвержден септический артрит, у 4 из них септический артрит развился после эндопротезирования (инфекция протезированного сустава). Культурально было выделено в 11 случаях *S. aureus* и в одном случае *Pseudomonas aeruginosa*. Каждому пациенту до начала лечения проводили пункцию сустава и полученную синовиальную жидкость отдавали на культуральные исследования, а также готовили мазок путем нанесения капли синовиальной жидкости на оптически изотропное предметное стекло, подсушивали в условиях комнатной температуры до потери текучести и проводили поляризационно-микроскопические измерения оптической активности мазка синовиальной жидкости в лаборатории оптики и спектроскопии ЧНУ им. Ю.Федьковича на приборе ЛМП-1 (лазерный микрополяриметр-1) (рис. 1). Применяли микрополяриметрический, микрофазометрический, спектрофотометрический и микроспектрополяриметрический методы зондирования образцов синовиальной жидкости с последующим построением микроскопических поляризационных карт. Полученные цифровые массивы обрабатывали с помощью программного обеспечения MATLAB с определением статистических моментов 1-4 порядка (среднее, дисперсия, асимметрия и эксцесс)

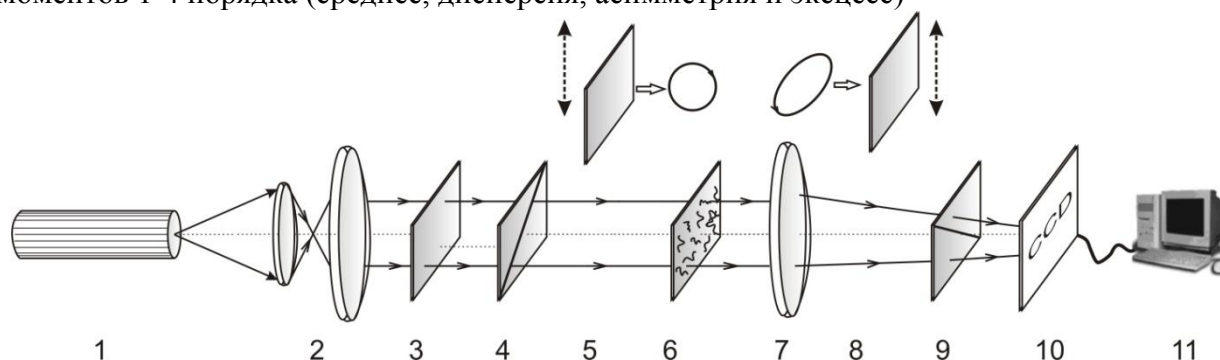


Рис. 1. Лабораторная макет-схема лазерного микрополяриметра ЛМП-1, где 1 - He-Ne лазер, 2 - коллиматор, 3 - стационарная четвертьволновая пластинки, 5, 8 - механически подвижные четвертьволновых пластинки, 4, 9 - поляризатор и анализатор соответственно; 6 - мазок синовиальной жидкости, 7 - микрообъектив, 10 - CCD камера, 11 - персональный компьютер.

Продолжительность поляризационно-микроскопического исследования мазка синовиальной жидкости для отдельного пациента от забора материала до получения цифровых данных составляет 1,5 - 2 часа.

Результаты

При исследовании поляризационно микроскопических характеристик мазка синовиальной жидкости пациентов из группы 1 установлено выразительную оптическую активность, что обусловлено высокой степенью упорядоченности третичной и четвертичной структуры белка, глюкопротеидов, протеиновых фибрилл. При

исследовании поляризационно-микроскопических характеристик мазка синовиальной жидкости пациентов из группы 2 установлено увеличение оптической активности поликристаллической составляющей синовиальной жидкости, проявляющееся в трансформации координатной и статистической структуры поляризационной карты соответствующего лазерного микроскопического изображения. Такая трансформация поляризационной структуры проявляется в перераспределении экстремумов вероятности случайных значений азимута поляризации, что свидетельствует о биохимической перестройке организованных белковых молекул.

Анализируя спектральные зависимости азимута поляризации, характеризующих оптическую активность поликристаллической компоненты синовиальной жидкости, выявлено их индивидуальную структуру для обследованных групп пациентов. Для реактивного синовита коленного сустава имеет место узко локализованный экстремум значения азимута поляризации в красном ($\lambda = 650$ нм) участке спектра (рис. 2).

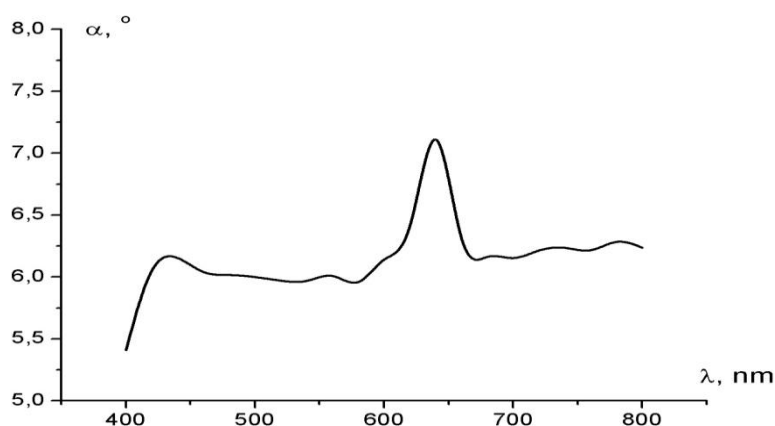


Рис. 2. Спектральная зависимость азимута поляризации лазерного пучка пропущенного слоем синовиальной жидкости пациента с реактивным синовитом при остеоартрозе.

Для септического артрита коленного сустава характерен более широкий спектральный экстремум ($\lambda = 610-650$ нм) зависимости азимута по сравнению с аналогичным исследованием проявлений оптической активности синовиальной жидкости из группы 1 (рис. 3).

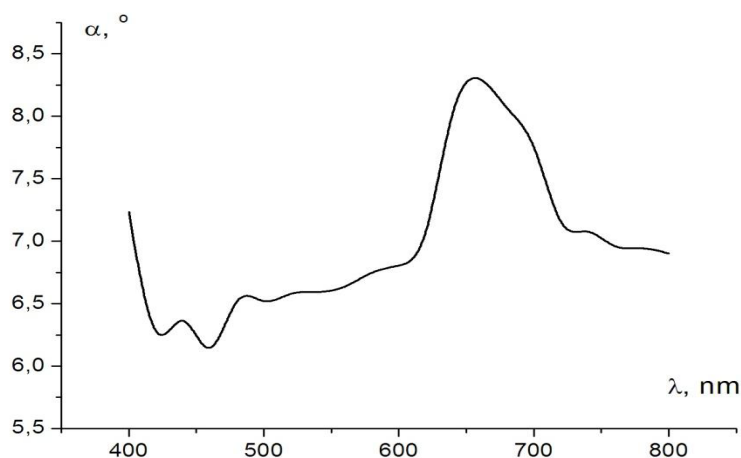


Рис. 3. Спектральная зависимость азимута поляризации лазерного пучка пропущенного слоем синовиальной жидкости пациента с септическим артритом. Количественным подтверждением данных распределений являются средние значения статистических моментов 1-4 порядка (таблица 1).

Таблица 1

Статистические моменты спектральной зависимости азимута поляризации оптического пучка преобразованного мазками пациентов двух групп пучка перетворенного мазками пациентов двух групп

Статистические моменты	Группа 1 ($n = 44$)	Группа 2 ($n = 12$)
средне	$0,016 \pm 0,0029$	$0,031 \pm 0,005$
дисперсия	$0,17 \pm 0,026$	$0,38 \pm 0,063$
асимметрия	$2,25 \pm 0,37$	$0,41 \pm 0,073$
эксцесс	$0,68 \pm 0,11$	$3,48 \pm 0,57$

Как видно из таблицы 1, показатели асимметрии и эксцесса спектральной зависимости азимута поляризации оптического пучка в группе 1 и группе 2 отличаются в 5,1-5,4 раза.

Сравнивая результаты микрофазометрии мазков синовиальной жидкости пациентов двух групп установлено, что общая величина и диапазон изменения локальных фазовых сдвигов индивидуальны для каждого типа патологии. Для мазков синовиальной жидкости пациентов с септическим артритом характерно рост оптической анизотропии вещества синовиальной жидкости, что количественно подтверждается данными таблицы 2.

Таблица 2

Статистические моменты координатных распределений фаз лазерных микроскопических изображений мазков синовиальной жидкости

Статистические моменты	Группа 1 ($n = 44$)	Группа 2 ($n = 12$)
средне	$0,72 \pm 0,012$	$0,87 \pm 0,13$
дисперсия	$0,095 \pm 0,013$	$0,145 \pm 0,023$
асимметрия	$0,84 \pm 0,11$	$2,09 \pm 0,34$
эксцесс	$4,12 \pm 0,68$	$2,23 \pm 0,36$

Как видно из таблицы 2, показатели асимметрии и эксцесса координатных распределений фаз лазерных микроскопических изображений мазков синовиальной жидкости у пациентов первой и второй группы отличаются в 1,8-2,4 раза.

Чувствительность метода спектральной поляриметрии вариаций азимута поляризации с последующим статистическим анализом микроскопических изображений мазков синовиальной жидкости согласно нашим исследованиям достигает 87% -88% при специфичности 71% -72%.

Чувствительность метода метода фазометрии лазерных микроскопических изображений мазков синовиальной жидкости согласно нашим исследованиям достигает 73% -75% при специфичности 64% -69%.

При исследовании оптической активности мазков синовиальной жидкости пациентов у которых диагностирована перипротезная инфекция протезированного сустава, подтвержденная культуральным исследованием нами не отмечено достоверной разницы в вышеописанных показателях с пациентами у которых диагностирован септический артрит.

Выводы

1. С помощью поляризационной микроскопии, спектрофотополяриметрии и микрофазометрии мазков синовиальной жидкости можно дифференцировать инфекционные осложнения эндопротезирования.

2. Показатели асимметрии и эксцесса спектральной зависимости азимута поляризации оптического пучка в группах асептического синовита и септического артритов включая инфекцию протезированного сустава отличаются 5,1 - 5,4 раза. Чувствительность данного метода достигает 87% -88% при специфичности 71% -72%.

3. Показатели асимметрии и эксцесса координатных распределений фаз лазерных микроскопических изображений мазков синовиальной жидкости у пациентов с асептическим синовитом и септическим артритом включая инфекцию протезированного сустава отличаются в 1,8-2,4 раза. Чувствительность данного метода достигает 73% -75% при специфичности 64% -69%.

4. Скорость поляризационно-микроскопических методик в дифференциальной диагностике вышеописанных состояний позволяет сократить диагностический процесс до 1,5 - 2 часа.

Список литературы

1. Грицай Н.П., Линенко А.Н., Колов А.Б. Гнойные осложнения после эндопротезирования тазобедренного и коленного суставов // Материалы Пленума ассоциации ортопедов-травматологов Украины 23-24 сентября 2004 Киев-Винница.- С.33-36.
2. Грицай Н.П., Рой И.В., Линенко А.Н., Колов А.Б. Реабилитация больных с гнойными осложнениями после эндопротезирования тазобедренного и коленного суставов // Вестник травматологии, ортопедии и протезирования - 2007. - № 3 - С. 38-41.
3. Грицай Н.П., Колов А.Б. Ранние гнойные осложнения после эндопротезирования тазобедренного и коленного суставов // Клиническая хирургия.-2006.-№11-12.-С.55.
4. Грицай Н.П., Линенко А.Н., Колов А.Б. Диагностика и лечение инфекционных осложнений после эндопротезирования коленных суставов // Вестник травматологии, ортопедии и протезирования - 2007. - № 4 - С. 20-26.
5. Лазерная поляриметрическая диагностика в биологии и медицине / В.П. Пишак, А.Г. Ушенко, А.В. Ангельский [и др.]; Под ред. В.П. Пешки и А. Г. Ушенко.- М.:Медакадемия,2000.-305с.
6. Лазерная поляризационная морфология биологических тканей: статистический и фрактальный подходы / А.Г. Ушенко, В.П. Пишак, А.В. Ангельский, Ю.А. Ушенко. - М.: Цвет-Печать, 2007. - 314 с.
7. Clinical features and outcome of septic arthritis in a single UK Health District 1982–1991 / V.C. Weston, A.C. Jones, N. Bradbury [et al.] // Ann Rheum Dis. - 1999. - № 58. – P. 214–219.
8. Trampuz A, Osmon DR, Hanssen AD, Steckelberg JM, Patel R. Molecular and antibiofilm approaches to prosthetic joint infection. Clin Orthop Relat Res. 2003;414:69–88.
9. Blom AW, Brown J, Taylor AH, Pattison G, Whitehouse S, Bannister GC. Infection after total knee arthroplasty. J Bone Joint Surg Br. 2004;86(5):688–91.
10. Cui Q, Mihalko WM, Shields JS, Ries M, Saleh KJ. Antibiotic-impregnated cement spacers for the treatment of infection associated with total hip or knee arthroplasty. J Bone Joint Surg Am. 2007;89(4):871–82.