

Histološka analiza obproteznega tkiva pri okužbi ortopedskega vsadka

Histological analysis of periprosthetic tissue in prosthetic joint infection

Andrej Cör

Ortopedska bolnišnica Valdoltra

Avtor za korespondenco:

Prof. dr. Andrej Cör, dr. med.

Ortopedska bolnišnica Valdoltra, Jadranska 31, 6280 Ankaran

e-pošta: andrej.coer@ob-valdoltra.si

POVZETEK

Pri diagnostiki okužb sklepnih protez (OSP) ima histološka analiza pomembno vlogo. Prisotnost nevtrofilnih granulocitov v obproteznem tkivu je povezana z diagnozo OSP. Histološki kriterij, ki se uporablja v številnih centrih, je ugotavljanje več kot pet nevtrofilnih granulocitov v petih mikroskopskih vidnih poljih 400-kratne povečave. Uporabnost histološke diagnostike okužb sklepnih protez je z vidika specifičnosti, senzitivnosti ter pozitivne in negativne napovedne vrednosti odvisna od histološke tehnike in analiziranega vzorca, od praznih vrednosti, ki si jih postavimo, in seveda od pacienta. Zavedati se moramo tudi pomanjkljivosti histološke analize; zlasti okužbe z nizko virulentnimi bakterijami lahko dajejo lažno negativen rezultat, medtem ko je rezultat pri pacientih s periprotetičnim zlomom ali revmatoidnim artritism lahko lažno pozitiven. Ključna je dobra komunikacija med patologom in ortopedom, ki bistveno zmanjša pomanjkljivosti histološke diagnostike OSP.

Ključne besede: okužba sklepnih protez, histologija, nevtrofilni granulocit

ABSTRACT

Histological analysis plays an important role in the diagnosis of prosthetic joint infections (PJI). The presence of neutrophilic granulocytes in the periprosthetic tissue is highly correlated with the diagnosis of PJI. The histological criteria used in many centres is the detection of more than 5 neutrophil granulocytes in five microscopic fields of 400x magnification. The usefulness of the histological diagnosis of PJI, in terms of specificity, sensitivity and positive and negative predictive value, depends on the histological technique, type of sample, on the threshold values and, on the patient himself. However, we must also be aware of the shortcomings of histological analysis, especially infections with low-virulence bacteria, in which the result can be false negative, and, on the other hand, periprosthetic fracture or rheumatoid arthritis, in which the result of histological analysis can be false positive. The key is good communication between the pathologist and the orthopaedic surgeon, which significantly reduces the shortcomings of the histological diagnosis of PJI.

Key words: prosthetic joint infection, histology, neutrophil granulocyte

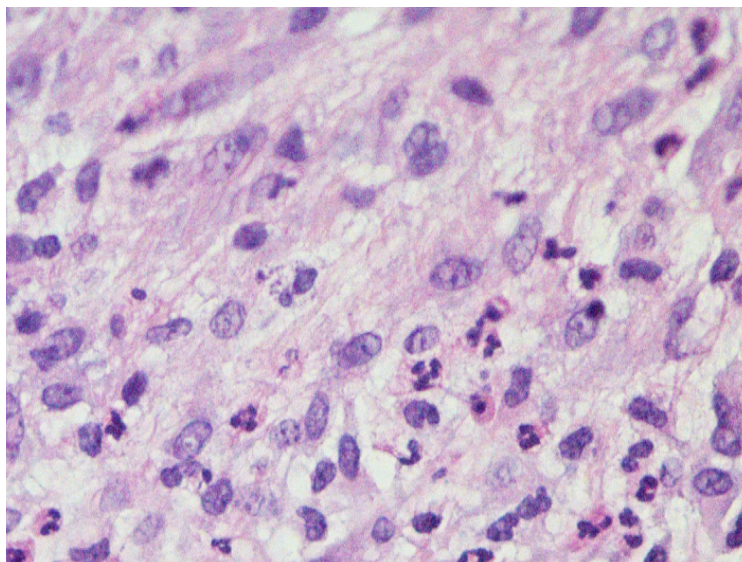
UVOD

Okužba sklepnih protez (OSP) je sicer redek, a zelo resen zaplet in velik problem moderne artroplastike. OSP predstavlja veliko zdravstveno tveganje za pacienta, obenem pa veliko obremenitev za zdravstveno blagajno. Incidenca okužb kolenskih protez je med 0,8 % in 1,9 %, pri kolčnih protezah pa med 0,3 % in 1,7 % (1) but diagnosis in these patients can be challenging because active inflammatory arthritis produces elevated inflammatory markers that may mimic those seen in PJI. Purpose: In this pilot study, we sought to identify the clinical, microbiologic, and histopathologic features of culture-positive and culture-negative PJI in patients with inflammatory arthritis who underwent total hip arthroplasty (THA, vendar so razlike med centri velike. Mnogi menijo, da je ta incidenca podcenjena in da je OSP-jev bistveno več (2). Kljub številnim ukrepom, da bi zmanjšali pojavnost OSP-jev, kot so izboljšana kirurška tehnika in izboljšave sklepnih protez, mednarodni registri ne poročajo o bistveno zmanjšani pojavnosti OSP-jev. Še več, zaradi povečanega števila vstavljenih sklepnih protez se bo v prihodnjih letih močno povečalo tudi število OSP-jev.

Diagnostika okužb sklepnih protez je še vedno izziv, saj nimamo univerzalnih enotnih kriterijev za postavitve diagnoze, zanesljiva diagnoza pa je ključna za ustrezno zdravljenje. Za postavitve diagnoze OSP-jev je potrebno upoštevati različne diagnostične metode, in sicer od kliničnih, mikrobioloških in

radioloških do histoloških (3). Različna akademska združenja so predlagala kriterije za definicijo OSP-jev. Pri vseh teh kriterijih igra histološka diagnostika pomembno vlogo. Če je bila histološka diagnostika v kriterijih MSIS-a (*Musculoskeletal Infection Society*) uvrščena med pomožne kriterije (4), igra po kriterijih EBJIS-a (*European Bone and Joint Infection Society*) pomembnejšo vlogo pri diagnostiki OSP-jev (5). Kljub temu se histološka analiza obprotezni tkiv ne izvaja sistematično v vseh bolnišnicah, kjer se vršijo revizijske operacije sklepnih protez.

Ključna v histološki diagnostiki OSP-jev je prisotnost akutnega vnetoceličnega infiltrata z nevtrofilnimi granulociti v obproteznem tkivu, zato osnovo histološke analize predstavlja štetje nevtrofilnih granulocitov. Število nevtrofilnih granulocitov v vidnem polju 400-kratne povečave (HPF) korelira z okužbo, vendar je veliko nasprotujočih si mnenj, kako obsežen mora biti infiltrat z nevtrofilnimi granulociti, da lahko postavimo diagnozo OSP-jev (6). Histološki kriterij, ki je diagnostičen in ga upoštevajo tako kriteriji MSIS-a kot tudi EBJIS-a, je več kot pet nevtrofilnih granulocitov na vidno polje v petih mikroskopskih vidnih poljih 400-kratne povečave (7) (Slika 1). Za mnoge je ta definicija preenostavna (8), za druge je ta kriterij preohlapen (9). Uporabnost histološke diagnostike OSP-jev je z vidika specifičnosti, senzitivnosti ter pozitivne in negativne napovedne vrednosti odvisna od histološke tehnike in analiziranega vzorca, od praznih vrednosti, ki si jih postavimo, ter od pacienta (10).



Slika 1: Obsežen vnetocelični infiltrat v obproteznem tkivu s številnimi nevtrofilnimi granulociti (> 5/vidno polje) (hematoksilin in eozin; 400-kratna povečava).

Figure 1: Heavily inflammatory cell infiltration of periprosthetic tissue in which there are numerous neutrophil granulocytes (> 5/high power field) (haematoxylin and eosin; 400x magnification).

VRSTA HISTOLOŠKE TEHNIKE

Na voljo sta dve histološki tehniki: zaledenele rezine in parafinske rezine. Obe tehniki uporabljata klasično barvanje s hematoksilinom in eozinom, vendar je bistvena razlika v tem, da je prva intraoperativna tehnika, ki operaterja med operacijo informira o tem, ali je proteza okužena ali ne, s tem pa daje operaterju usmeritev za enostopenjsko ali dvostopenjsko menjavo sklepne proteze (11). Na drugi strani pa definitivna histološka tehnika s parafinskimi rezinami daje informacijo o tem, ali je bila proteza okužena, in je tako potrditveni test po tem, ko je že vstavljena nova proteza oz. vstavljen distančnik (5).

Čeprav obe tehniki temeljita na ugotavljanju gostote nevtrofilnih granulocitov v preparatu periprotetičnega tkiva, je pomembna razlika v kakovosti samega preparata in s tem v uspešnosti razlikovanja nevtrofilnih granulocitov od ostalih vnetnih celic v obproteznem tkivu. Težava s kakovostjo preparata je še zlasti pomembna zato, ker so v obproteznem tkivu lahko tudi različno veliki obrabni delci (kovinski, keramični, polietilenski), ki močno poškodujejo histološki preparat. Stroh in sodelavci so ugotovili ujemanje med obema tehnikama v kar 97,7 % (analizirali so 304 primere) (12), medtem ko so drugi avtorji poročali o bistvenih razlikah med obema tehnikama. Tohtz in sodelavci so poročali o ujemanju le v 78,2 % pri analiziranih 64 primerih (13). Pri 12 primerih je bila zaledenela rezina dvoumna ali ne dovolj kakovostna in je šele parafinska rezina dala točno diagnozo.

VRSTA TKIVNEGA VZORCA ZA HISTOLOŠKO ANALIZO

Med revizijsko operacijo lahko kirurg odvzame različne vzorce obproteznega tkiva za histološko analizo. Tako je lahko tkivo iz pseudokapsule, periprotetične membrane ali iz drugih obproteznih tkiv. Mesto, kjer so bili vzorci odvzeti, je lahko različno, kar lahko vpliva na rezultate histološke analize. Bori in sod. so objavili študijo, kjer so ugotovili, da imajo vzorci iz interface membrane (membrane med protezo in kostjo) značilno boljše specifičnost in napovedno vrednost pri analizi gostote nevtrofilnih granulocitov od vzorcev iz pseudokapsule (14). Specifičnost vzorcev iz in-

terface membrane je bila 84 % v primerjavi s specifičnostjo vzorcev iz pseudokapsule, ki je bila 42 %. Možen vzrok za razlike bi bil, da je v pseudokapsuli veliko vezivnega tkiva, ki zamaskira nevtrofilne granulocite; ali pa, da je bakterijski biofilm tik ob protezi, torej ob interface membrani (12).

PRAŽNE (CUT-OFF) VREDNOSTI ZA DIAGNOZO OKUŽB SKLEPNIH PROTEZ

Ključna pri histološki diagnostiki sklepnih protez je prisotnost oz. odsotnost nevtrofilnih granulocitov v preparatih obproteznega tkiva (10). Nekateri avtorji pri tem ugotavljajo tudi prisotnost drugih celic, kot so plazmatke in limfociti. Teoretično prisotnost nevtrofilnih granulocitov v tkivu pomeni okužbo, njihova odsotnost pa aseptično omajanje. V večini raziskav je postavljena pražna vrednost več kot pet nevtrofilnih granulocitov na mikroskopsko vidno polje v petih vidnih poljih 400-kratne povečave (7). Če bi pražne vrednosti dvignili na deset nevtrofilnih granulocitov/HPF, bi se povečala specifičnost, vendar zmanjšala senzitivnost; če bi nasprotno pražno vrednost zmanjšali na 1 nevtrofilni granulocit/HPF, kar priporočajo nekateri, bi bilo obratno. Poleg tega se je treba zavedati, da nekateri mikroorganizmi, zlasti koagulaza negativni *Stafilokoki* in *Cutibacterium acnae*, povzročajo okužbe, kjer je gostota nevtrofilnih granulocitov v periprotetičnem tkivu pod 5/HPF (15).

SKUPINE BOLNIKOV

Včasih je diagnoza odvisna tudi od vrste pacientov. Večina raziskav je narejenih na histoloških vzorcih pri revizijah kolčnih in kolenskih protez. Grosso in sodelavci, ki so analizirali periprotetično tkivo ramenskih protez (16) in Ahmadi in sodelavci (17), ki so analizirali obprotežno tkivo komolčnih protez, so ugotovili, da je senzitivnost histološke analize v teh primerih zelo nizka. To verjetno ni odvisno od vrste proteze, temveč od tega, da večino okužb ramenskih protez povzročajo *Cutibacterium acnae* in da večino okužb komolčnih protez povzročajo koagulaza negativni stafilokoki (15).

Poleg tega obstajata dve skupini bolnikov, kjer je pri histološki analizi rezultat pogosto lažno pozitiven. Prva so bolniki, pri katerih je bil razlog za primarno vstavev sklepne proteze ravmatoidni artritis. Ti imajo vztrajajočo infiltracijo z nevtrofilnimi granulociti v obproteznem tkivu zaradi aktivne primarne bolezni in ne zaradi okužbe (18). Druga skupina so bolniki s periprotetičnim zlomom. Munoz-Mahamud in sodelavci so ugotovili lažno pozitivnih kar 66 % histoloških analiz, kjer je bil periprotetični zlom (19). Vzrok je vnetni odgovor na zlom in na poškodbo krvnih žil ob zlomu. Da bi se izognili tovrstnim lažno pozitivnim rezultatom, je potrebna predvsem dobra komunikacija med ortopedom in patologom.

TEHNIKA ŠTETJA NEVTROFILNIH GRANULOCITOV

V večini primerov je določanje števila nevtrofilnih granulocitov v obproteznem tkivu za izkušenega patologa enostavno, vendar je v nekaterih primerih lahko identifikacija zelo zahtevna. Obstaja nekaj pravil, ki se jih moramo držati (20) the International Consensus Meeting (ICM). Upoštevajo se samo nevtrofilni granulociti, ki se nahajajo v tkivu, in ne tisti v lumnih krvnih žil. Včasih so vidni številni nevtrofilni granulociti v lumnih krvnih žil, v tkivu pa infiltracije ni. Možna razlaga bi bila, da je vnetno žarišče nekje drugje ali da je odvzet vzorec nereprezentativen. Nekateri avtorji zato priporočajo odvzem večjega števila vzorcev za histološko analizo, in sicer iz različnih mest okoli proteze (8, 21). Tako Feldman in sodelavci priporočajo vsaj dva vzorca (21), Fourchade in sodelavci pa vsaj štiri (3). Pri analizi štejemo nevtrofilne granulocite v vidnih poljih z največ celicami. Nevtrofilni granulociti morajo imeti tudi jasno citoplazmo, saj nas včasih celični in jedrni drobci zaradi jedrne fragmentacije lahko zavedeta. Prepoznavanje nevtrofilnih granulocitov znatno olajšajo različna dodatna barvanja, npr. imunohistokemično barvanje na CD15 na membrani nevtrofilnih granulocitov ali pa histokemično označevanje kloroacetatne esterase v citoplazmi nevtrofilnih granulocitov (22, 23). Obe metodi olajšata prepoznavanje nevtrofilnih granulocitov, vendar podaljšata čas, ki je potreben za diagnozo, in bistveno povečata ceno izdelave preparatov. Imunohistokemično označevanje nevtrofilnih granulocitov s CD15 omogoča tudi objektivno analizo

preparatov s pomočjo avtomatskega sistema za analizo slike, ki pa zahteva sofisticirano in drago opremo.

S pomočjo imunohistokemičnega barvanja CD15 in avtomatske analize slike so Morawietz in sodelavci leta 2015 predlagali nov, objektivnejši kriterij, ki se vse bolj uveljavlja (23). Menili so namreč, da je kriterij več kot 5 na HPF previsok. Ugotovili so, da je 23 nevtrofilnih granulocitov v 10 vidnih poljih 400-kratne povečave tista prazna vrednost, ki najučinkoviteje razlikuje OSP-je od aseptičnega omajanja. Več kot 23/10 HPF pomeni okužbo, upoštevati pa je treba, da v vsakem vidnem polju štejemo največ 10 nevtrofilnih granulocitov; tako je najvišje možno število 100 nevtrofilnih granulocitov v 10 vidnih poljih.

Danes obstaja cela vrsta poskusov, da bi odkrili biomarkerje v sklepni tekočini, kot so humani alfa defenzin 1-3, nevtrofilna elastaza 2, lactoferin in nekateri drugi, vendar se nobeden od teh ni izkazal z dovolj veliko zanesljivostjo, da bi nadomestil histološko analizo obproteznega tkiva.

ZAKLJUČKI

1. Kljub številnim študijam o kriterijih za histološko diagnozo OSP-jev v zadnjih letih še vedno ostaja in veljavi kriterij več kot pet nevtrofilnih granulocitov na mikroskopsko vidno polje v petih vidnih poljih 400-kratne povečave.
2. Histološka analiza je pomembna v diagnostiki OSP-jev, vendar se moramo zavedati njenih pomanjkljivosti, kot so primeri okužb z nizko virulentnimi bakterijami ali pri pacientih s periprotetičnim zlomom ali revmatoidnim artritisom.
3. Histološka analiza OSP-jev je hitra in poceni metoda, zato bi bilo treba tkivne vzorce obproteznega tkiva analizirati pri vseh revizijskih operacijah sklepnih protez.
4. Histokemična (CAE) in imunohistokemična barvana (CD15) omogočajo lažje prepoznavanje nevtrofilnih granulocitov, vendar se pri tem podaljša čas in poveča cena.
5. Ključna je dobra komunikacija med patologom in ortopedom, ki bistveno zmanjša pomanjkljivosti histološke diagnostike OSP-jev.

LITERATURA

1. Sculco P, Kapadia M, Moezinia CJ, Mannstadt I, Miller AO, Donlin L, et al. Clinical and histological features of prosthetic joint infections may differ in patients with inflammatory arthritis and osteoarthritis. *HSS J*. 2023; 19(2): 146–53.
2. Zeng ZJ, Yao FM, He W, Wei QS, He MC. Incidence of periprosthetic joint infection after primary total hip arthroplasty is underestimated: a synthesis of meta-analysis and bibliometric analysis. *J Orthop Surg*. 2023; 18(1): 610.
3. Fourcade C, Gomez-Brouchet A, Bouige A, Krin G, Bicart-See A, Marlin P, et al. Can we rely on histopathological results for the diagnosis of prosthetic joint infection? *Infect Dis Now*. 2023; 53(5):104706.
4. Koh IJ, Cho WS, Choi NY, Parvizi J, Kim TK. How accurate are orthopedic surgeons in diagnosing periprosthetic joint infection after total knee arthroplasty?: A multicenter study. *Knee*. 2015; 22(3):180–5.
5. McNally M, Sousa R, Wouthuyzen-Bakker M, Chen AF, Soriano A, Vogely HC, et al. The EBJIS definition of periprosthetic joint infection: a practical guide for clinicians. *Bone Joint J*. 2021; 103-B(1):18–25.
6. Bémer P, Léger J, Milin S, Plouzeau C, Valentin AS, Stock N, et al. Histopathological diagnosis of prosthetic joint infection: does a threshold of 23 neutrophils do better than classification of the periprosthetic membrane in a prospective multicenter study? *J Clin Microbiol*. 2018; 56(9): e00536-18.
7. Parvizi J, Zmistowski B, Berbari EF, Bauer TW, Springer BD, Della Valle CJ, et al. New definition for periprosthetic joint infection: from the Workgroup of the Musculoskeletal Infection Society. *Clin Orthop*. 2011; 469(11): 2992–4.
8. Krenn V, Morawietz L, Perino G, Kienapfel H, Ascherl R, Hassenpflug GJ, et al. Revised histopathological consensus classification of joint implant related pathology. *Pathol Res Pract*. 2014; 210(12): 779–86.
9. Pandey R, Drakoulakis E, Athanasou NA. An assessment of the histological criteria used to diagnose infection in hip revision arthroplasty tissues. *J Clin Pathol*. 1999; 52(2): 118–23.
10. Bori G, McNally MA, Athanasou N. Histopathology in periprosthetic joint infection: when will the morphomolecular diagnosis be a reality? *Biomed Res Int*. 2018; 2018: 1412701.
11. Kelly ME, Bahethi SR, King ME, Elstner BC, Turcotte JJ, King PJ. The utility of frozen section histology in diagnosing periprosthetic joint infection in revision total joint arthroplasty. *J Arthroplasty*. 2021; 36(6): 2137–43.
12. Stroh DA, Johnson AJ, Naziri Q, Mont MA. Discrepancies between frozen and paraffin tissue sections have little effect on outcome of staged total knee arthroplasty revision for infection. *J Bone Joint Surg Am*. 2012; 94(18): 1662–7.
13. Tohtz SW, Müller M, Morawietz L, Winkler T, Perka C. Validity of frozen sections for analysis of periprosthetic loosening membranes. *Clin Orthop Relat Res*. 2010; 468(3): 762–8.
14. Bori G, Muñoz-Mahamud E, García S, Mallofre C, Gallart X, Bosch J, et al. Interface membrane is the best sample for histological study to diagnose prosthetic joint infection. *Mod Pathol*. 2011; 24(4): 579–84.
15. Bori G, Soriano A, García S, Gallart X, Mallofre C, Mensa J. Neutrophils in frozen section and type of microorganism isolated at the time of resection arthroplasty for the treatment of infection. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2009; 129(5): 591–5.
16. Grosso MJ, Frangiamore SJ, Ricchetti ET, Bauer TW, Iannotti JP. Sensitivity of frozen section histology for identifying propionibacterium acnes infections in revision shoulder arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am*. 2014; 96(6): 442–7.
17. Ahmadi S, Lawrence TM, Morrey BF, Sanchez-Sotelo J. The value of intraoperative histology in predicting infection in patients undergoing revision elbow arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am*. 2013; 95(21): 1976–9.
18. Kataoka M, Torisu T, Tsumura H, Yoshida S, Takashita M. An assessment of histopathological criteria for infection in joint arthroplasty in rheumatoid synovium. *Clin Rheumatol*. 2002; 21(2): 159–63.
19. Muñoz-Mahamud E, Bori G, García S, Ramírez J, Riba J, Soriano A. Usefulness of histology for predicting infection at the time of hip revision for the treatment of Vancouver B2 periprosthetic fractures. *J Arthroplasty*. 2013; 28(8): 1247–50.
20. Sigmund IK, Luger M, Windhager R, McNally MA. Diagnosing periprosthetic joint infections: a comparison of infection definitions: EBJIS 2021, ICM 2018, and IDSA 2013. *Bone Joint Res*. 2022; 11(9): 608–18.
21. Feldman DS, Lonner JH, Desai P, Zuckerman JD. The role of intraoperative frozen sections in revision total joint arthroplasty. *J Bone Joint Surg*. 1995; 77(12): 1807–13.
22. Kashima TG, Inagaki Y, Grammatopoulos G, Athanasou NA. Use of chloroacetate esterase staining for the histological diagnosis of prosthetic joint infection. *Virchows Arch*. 2015; 466(5): 595–601.
23. Morawietz L, Tiddens O, Mueller M, Tohtz S, Gansukh T, Schroeder JH, et al. Twenty-three neutrophil granulocytes in 10 high-power fields is the best histopathological threshold to differentiate between aseptic and septic endoprosthesis loosening. *Histopathology*. 2009; 54(7): 847–53.