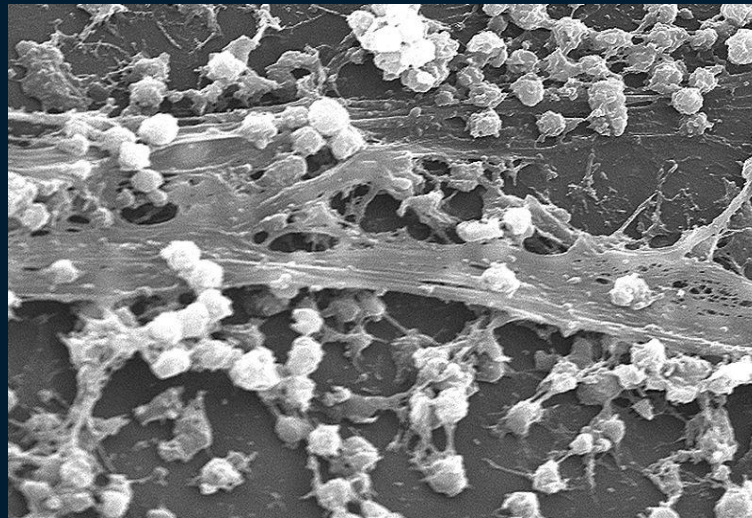


Οστικές λοιμώξεις. Διάγνωση με κλασικές μεθόδους – Diagnosis of bone and joint infections with conventional microbiological methods



Δρ. Αντώνιος Στυλιανάκης

Ιατρός Βιοπαθολόγος – Κλινικός Μικροβιολόγος

Διευθυντής ΕΣΥ Μικροβιολογικού Τμήματος Γ.Ν.Α. «ΚΑΤ»

Member of ESCMID Study Group of Implant Associated Infections

Είδος & χειρισμός δειγμάτων για τη μικρο-βιολογική διάγνωση των οστικών λοιμώξεων I

Ιστικά δείγματα:

- μικρού μεγέθους μπορεί να χαθούν
- μεγάλου μεγέθους (>1 cm²) κίνδυνος να στεγνώσουν, κάλυψη με γάζα εμποτισμένη με στείρο φυσιολογικό ορό.
- τεμάχιο / αποστειρωμένο δοχείο

Στυλεοί:

- Να ανήκουν σε ολοκληρωμένο σύστημα μεταφοράς δείγματος με στυλεό

Επιχρίσματα για Gram χρώση:

- Να στρώνονται κατά τη λήψη του δείγματος & να ακολουθούν τις κ/ες

Είδος & χειρισμός δειγμάτων για τη μικρο-βιολογική διάγνωση των οστικών λοιμώξεων II

Αρθρικό υγρό

- Λαμβάνεται με αρθροκέντηση
(ΠΡΟΣΟΧΗ σε κυτταρίτιδα, ερύθημα)

Γενική εξέταση αρθρικού υγρού

Καλλιέργεια αρθρικού υγρού

- Ενοφθαλμισμός σε φιάλες αιμοκαλλιεργείων για >7 ημέρες

ΠΡΟΣΟΧΗ: Σε κάθε κ/α απαιτείται διακοπή αντιβίωσης ≥ 14 ημέρες

Ευαισθησία & ειδικότητα μίας μεθόδου

- Η **ευαισθησία** υπολογίζει το ποσοστό των ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων
- Η **ειδικότητα** υπολογίζει το ποσοστό των ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων

όταν ελέγχεται μεγάλος αριθμός θετικών και αρνητικών δειγμάτων

Οξεία οστεομυελίτιδα

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ

- **Αριθμός λευκών και ουδετεροφίλων αιμοσφαιρίων**
Μικρή ειδικότητα και χρησιμότητα
- **Δείκτες φλεγμονής (CRP-ΤΚΕ):** χρήσιμοι για παρακολούθηση της νόσου

ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ

- **Αιμοκαλλιέργεια:** θετική στο 50% της οξείας αιματογενούς ο/μ
- **Κ/α διεγχειρητικών ιστικών δειγμάτων:** **χρήσιμη**
- **Κ/α υλικού από τον σηριγγώδη πόρο:** **αναξιόπιστη** (πλην *S. aureus*)

Χρόνια οστεομυελίτιδα

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ

• **Δείκτες φλεγμονής (CRP-ΤΚΕ):** Μη ειδικές εξετάσεις, ενισχυτικές για τη διάγνωση, χρήσιμες για την παρακολούθηση της πορείας της νόσου

ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ

• **Κ/α διεγχειρητικών ιστικών δειγμάτων:**

** διακοπή αντιβιοτικών για ≥ 2 εβδομάδες*

*** με ανοικτή βιοψία (προτιμότερο) ή με κλειστή, διαμέσου υγιούς δέρματος*

Σηπτική αρθρίτιδα (σ/α)

- **Γενική εξέταση αρθρικού υγρού:** αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων: $> 50.000/\text{mm}^3$, πολυμορφοπύρρηνα $\approx 65\%$
- **Άμεση Gram χρώση:** 71% θετική σε σ/α από Gram(+) κόκκους
- **Κ/α αρθρικού υγρού** (ενοφθαλμισμός σε φιάλη αιμοκ/ας)
σε γονοκοκκική αρθρίτιδα: θετική $< 50\%$ (ταυτόχρονη κ/α ουρηθρικού, τραχηλικού, φαρυγγικού, πρωκτικού επιχρίσματος)
σε μη γονοκοκκική: θετική $> 90\%$
- **Αιμοκαλλιέργεια:** θετική 30% των περιπτώσεων

Διάγνωση περιπροθετικών
λοιμώξεων (periprosthetic
infections)

Σύσταση μη εκτέλεσης Gram χρώσης, διεγχειρητικά – βαθμός σύστασης: ισχυρός

The logo for the American Academy of Orthopaedic Surgeons (AAOS). It features the letters 'AAOS' in a large, bold, serif font. The letter 'O' is stylized, appearing as a circle with a white crescent shape inside, suggesting a joint or a surgical instrument.

AMERICAN ACADEMY OF ORTHOPAEDIC SURGEONS

THE DIAGNOSIS OF PERIPROSTHETIC JOINT
INFECTIONS OF THE HIP AND KNEE

GUIDELINE AND EVIDENCE REPORT

Adopted by the American Academy of Orthopaedic Surgeons
Board of Directors
June 18, 2010

11. We recommend against the use of intraoperative Gram stain to rule out periprosthetic joint infection.

Strength of Recommendation: Strong

Should Gram Stains Have a Role in Diagnosing Hip Arthroplasty Infections?

Aaron J. Johnson MD, Michael G. Zywił MD,
D. Alex Stroh BS, David R. Marker BS,
Michael A. Mont MD

Sensitivity = 9.8 %
Specificity = 100 %

Table 1. Previously published sensitivities and specificities for Gram stain as a diagnostic tool for infected total hip arthroplasty

Study	Year	Number of infected total hip arthroplasties	Sensitivity (%)	Specificity (%)
Kraemer et al. [17]	1993	20	23	100
Athanasou et al. [1]	1995	16	25	100
Chimento et al. [8]	1996	11	0	0
Atkins et al. [2]	1998	41	12	98
Spanghel et al. [24]	1999	35	19	98
Della Valle et al. [11]	1999	68	15	99
Pandey et al. [21]	1999	79	21	100
Ko et al. [16]	2005	34	0	0
Ghanem et al. [13]	2009	150	31	100
Mont [current study]	2010	82	10	100

Γενική εξέταση αρθρικού υγρού, δείκτες φλεγμονής, βιοδείκτης

- αριθμός λευκών ή/και % ουδετεροφίλων:
(χόνατο > 1700/mm³, 65% πολυμορφοπύρηνα ισχίο > 4200/mm³, 80% πολυμορφοπύρηνα)

- **CRP, ΤΚΕ:** συνιστώνται αλλά ΜΗ ΕΙΔΙΚΕΣ

Οι διαδοχικές μετρήσεις τους, ιδίως της CRP, είναι χρήσιμες

Φυσιολογική τιμή και των δύο δεικτών (CRP, ΤΚΕ) αποτελεί ισχυρό δείκτη απουσίας της φλεγμονής !!!!

- **Procalcitonin (PCT):** ειδικότητα 98%, ευαισθησία 33%

- **α -defensin:** ειδικότητα 98%, ευαισθησία 95% (υπό αξιολόγηση)

Καλλιέργειες

- **Αιμοκαλλιέργειες:** συχνά αρνητικές λόγω χορήγησης εμπειρικής αντιμικροβιακής Θεραπείας
- **Κ/α αρθρικού υγρού:** χαμηλή ευαισθησία (55%) λόγω του εγκλωβισμού των μικροοργανισμών στη βιομεμβράνη (εξακρίβωση σηπτικής ή άσηπτης κατάστασης)
- **Κ/α περιπροθετικού ιστού:** gold standard

Κ/α περιπροθετικού ιστού Ι

- Στο $\simeq 70\%$ των ιστικών δειγμάτων με τεκμηριωμένη λοίμωξη αναπτύσσονται μικροοργανισμοί κατά την κ/α
- Δύσκολη η διάκριση μεταξύ λοίμωξης και επιμόλυνσης
- Αριθμός ιστικών δειγμάτων 5-6 (ένα δείγμα ανά δοχείο)
- 1 δείγμα (ψευδώς θετικά 30%)–5 δείγματα (ψευδώς θετικά <5%)
- Ανάπτυξη ιδίου μικροοργανισμού σε ≥ 3 δείγματα: ευαισθησία 71%, ειδικότητα 97%

Περιορισμοί της μεθόδου αναφοράς I

- Λάθος δειγματισμός
- Ανεπαρκής αριθμός ιστοικών δειγμάτων
- Μικρό μικροβιακό φορτίο που δεν μπορεί να πολλαπλασιαστεί στις κ/ες
- Αδυναμία ανίχνευσης των πολυμικροβιακών περιπροθετικών λοιμώξεων
- Διακοπή λήψης αντιβιοτικών < 2 εβδομάδων

Περιορισμοί της μεθόδου αναφοράς II

- **Ανικανότητα** απόσπασης μικροοργανισμών από την **πηγή της λοίμωξης (βιομεμβράνη)** → περιορίζουν σημαντικά τις δυνατότητες της μεθόδου να οδηγήσει στην ορθή διάγνωση



Need for better diagnostics

Conclusions

- treatment and **diagnostics of infection** are the **challenges** of the **next decades**
- patient history, pain course and serum parameters (crP and ESR) are perfect screening tools
- for exclusion of infection aspiration with microbiological analysis and synovia analysis (WBC and percentage of neutrophils, leucocyte esterase) are necessary
- new techniques like PCR and alpha-defensin allow rapid detection of infection from synovial fluid
→ promising methods, need further evaluation

Infection Diagnostics Today: Necessary, Useful and Abundant Tests

Carsten Perka

Prague, May 24, 2015

Center for Musculoskeletal Surgery
Department of Orthopaedics
Charité – Universitätsmedizin Berlin, Germany

Διαγνωστικές μέθοδοι ανίχνευσης ζώντων μικροοργανισμών από τη βιομεμβράνη

- Υπερήχηση εμφυτεύματος (sonication)
- Cleland's reagent ($C_4H_{10}O_2S_2$)

ORIGINAL ARTICLE

Sonication of Removed Hip and Knee Prostheses for Diagnosis of Infection

Andrej Trampuz, M.D., Kerryl E. Piper, M.S., Melissa J. Jacobson, A.S.,
Arlen D. Hanssen, M.D., Krishnan K. Unni, M.D., Douglas R. Osmon, M.D.,
Jayawant N. Mandrekar, Ph.D., Franklin R. Cockerill, M.D.,
James M. Steckelberg, M.D., James F. Greenleaf, Ph.D., and Robin Patel, M.D.

1. ΛΑΘΗ στη μεταφορά ΠΡΟΘΕΣΕΩΝ & ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΩΝ ΕΜΦΥΤΕΥΜΑΤΩΝ



ΛΑΘΟΣ



ΛΑΘΟΣ



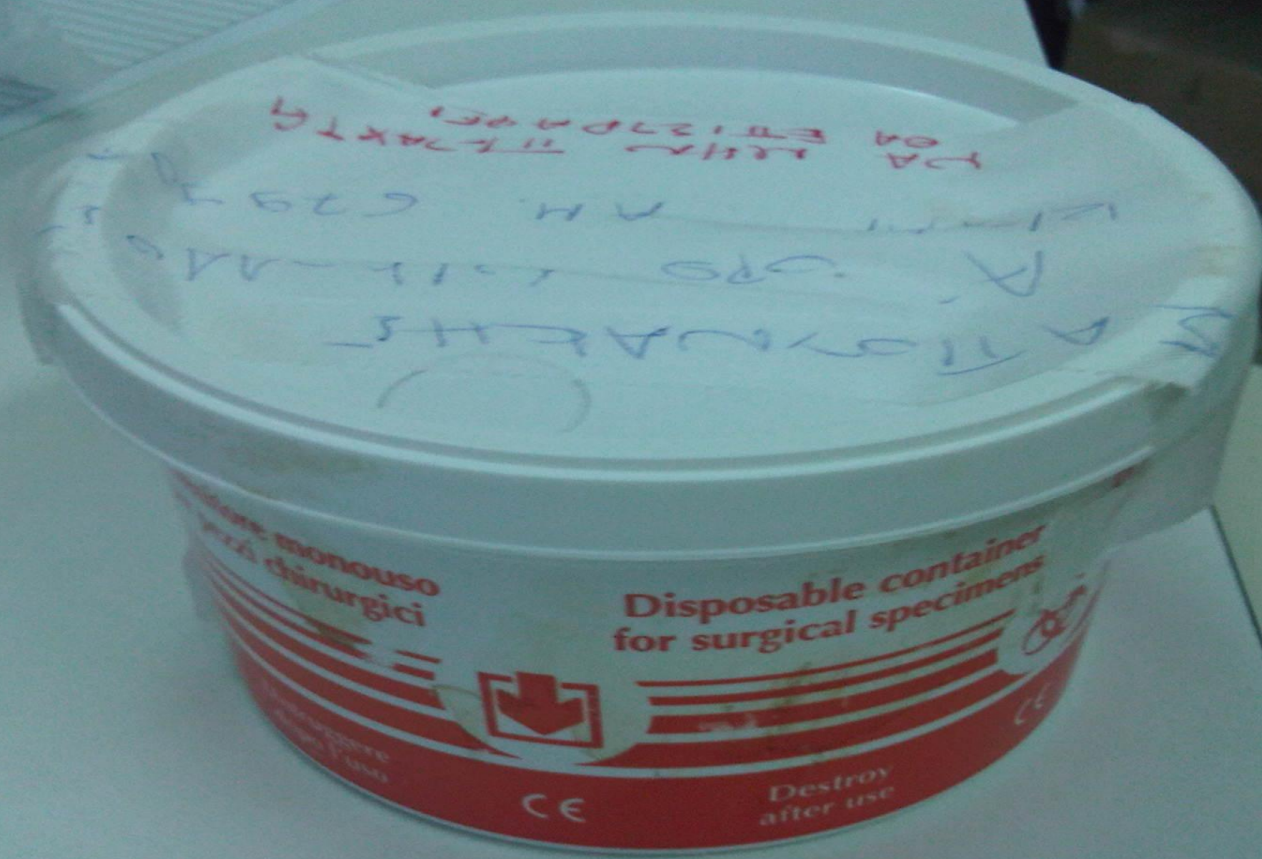
Sonication of Explanted Prosthetic Components in Bags for Diagnosis of Prosthetic Joint Infection Is Associated with Risk of Contamination

Andrej Trampuz,¹ Kerryl E. Piper,¹ Arlen D. Hanssen,^{1,3} Douglas R. Osmon,¹
Franklin R. Cockerill,² James M. Steckelberg,¹ and Robin Patel^{1,2*}

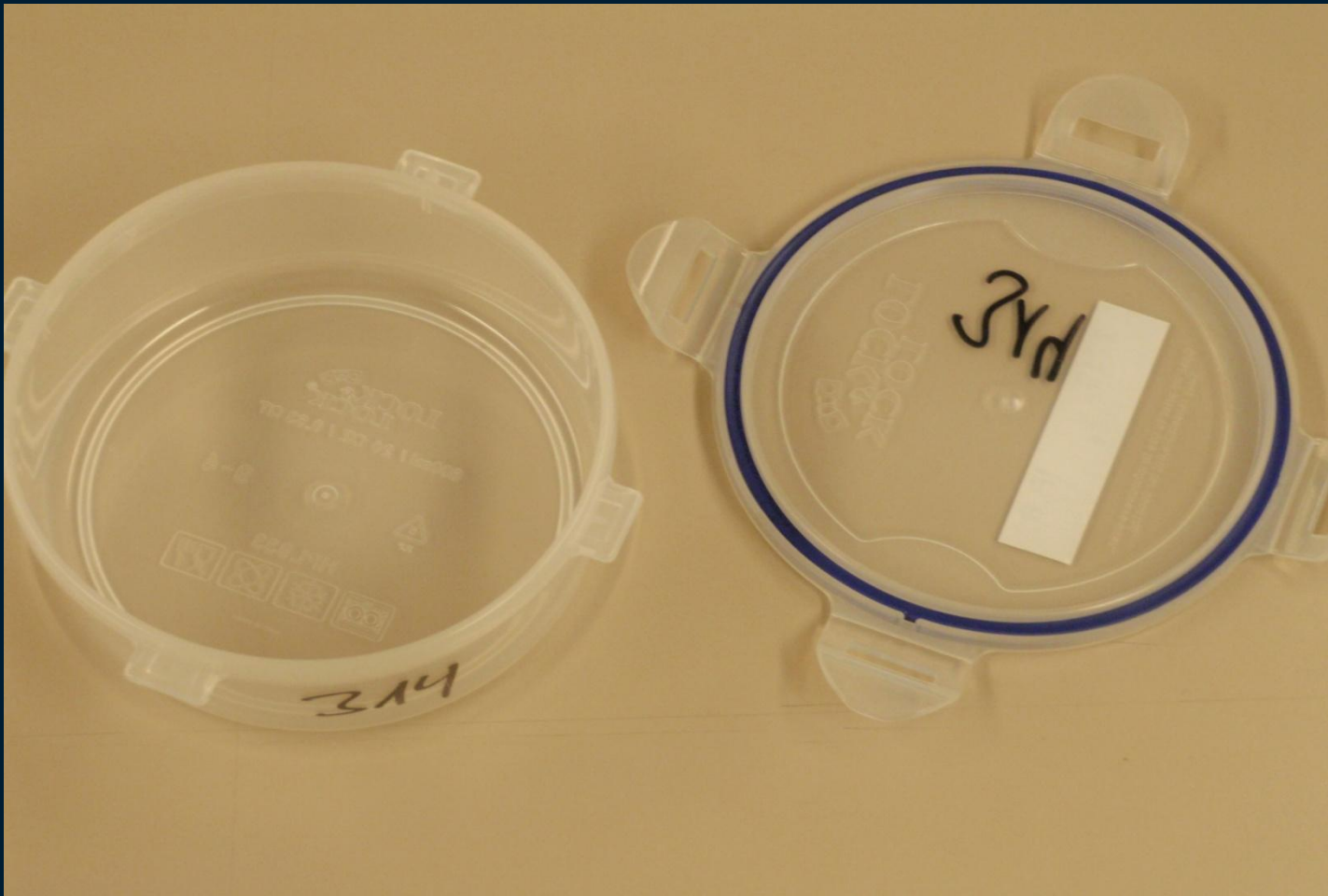
*Division of Infectious Diseases, Department of Internal Medicine,¹ Division of Clinical Microbiology,
Department of Laboratory Medicine and Pathology,² and Department of Orthopedic Surgery,³
Mayo Clinic College of Medicine, Rochester, Minnesota*

and 87%, respectively. Sonication in bags improved bacterial recovery from the surface of orthopedic implants; however, it lacked specificity, due to bag leakage.

ΛΑΘΟΣ



2. Χρήση αεροστεγώς κλεισμένων αποστειρωμένων δοχείων μεταφοράς



3. Επιλογή κατάλληλου δοχείου I



4. Επιλογή κατάλληλου δοχείου II



Διαδικασία μεθόδου υπερήχησης



Vortex, 30 seconds

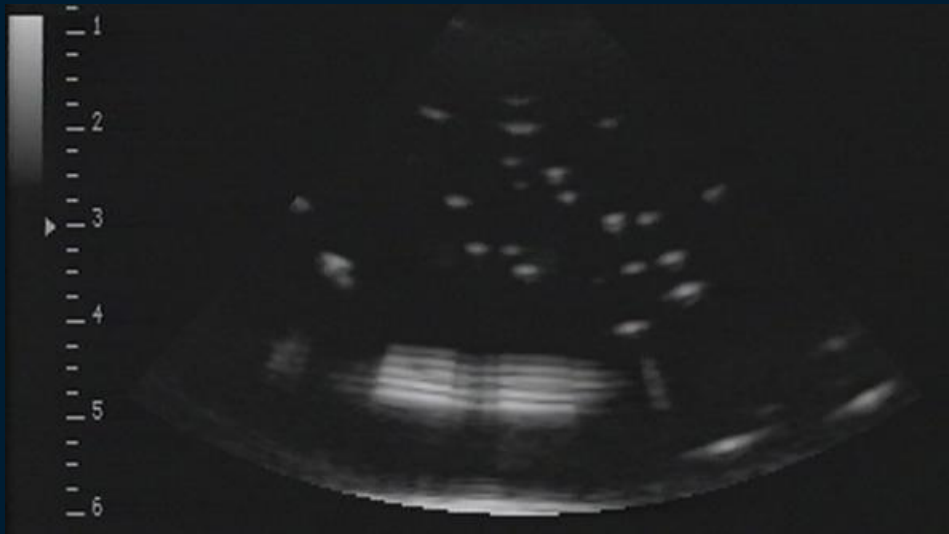
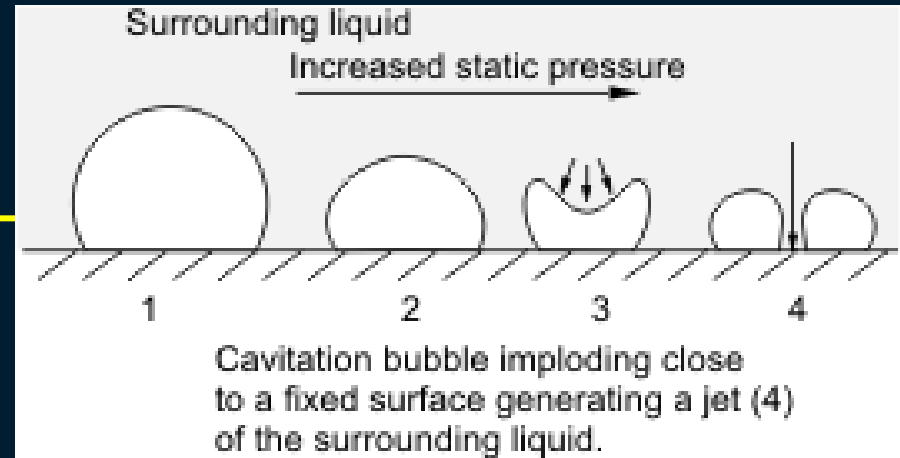
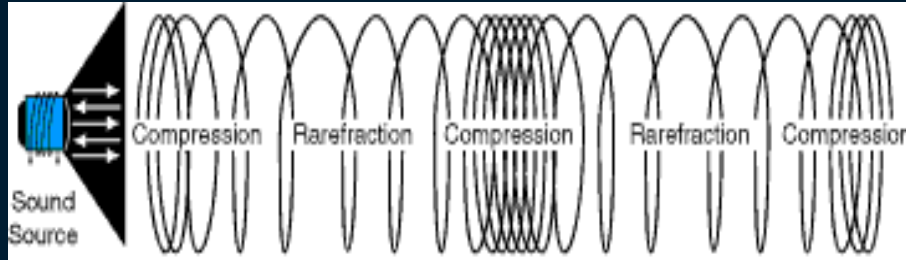


Sonicate, 40 kHz, 5 min

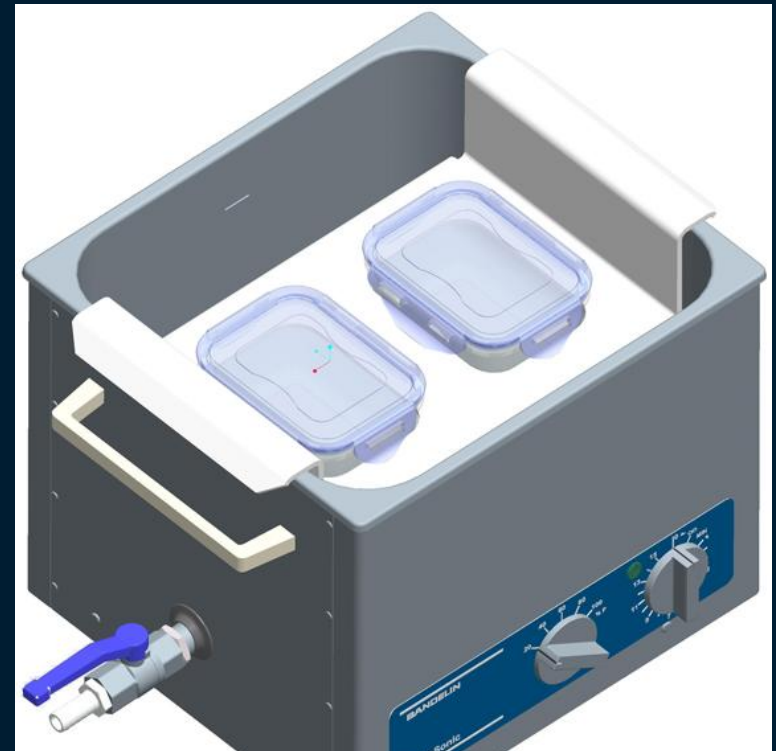


Vortex, 30 seconds

Υπέρηχοι Μηχανικές δονήσεις >20 kHz



Μικροφυσάλιδες (cavitation)



www.bactosonic.info

ΝΕΟ ΔΕΙΓΜΑ

**ΥΓΡΟ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΕΝΟ ΜΕ
ΜΙΚΡΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥΣ
ΤΗΣ ΒΙΟΜΕΜΒΡΑΝΗΣ**

(υγρό υπερήχησης, sonication fluid)

Εργαστηριακός έλεγχος του υγρού υπερήχησης για τεκμηρίωση διάγνωσης

- **Κλασικές:** Καλλιέργεια του υγρού υπερήχησης (Sonication fluid culture, SFC)
Ενοφθαλμισμός σε φιάλη αιμοκαλλιέργειας (Sonication fluid vial culture, SFVC)
- **Μοριακές τεχνικές**

Gram χρώση υγρού υπερήχησης

Ειδικότητα: 100% αλλά
ευαισθησία: 44,7%*

ΔΕΝ ΣΥΝΙΣΤΑΤΑΙ

Ενοφθαλμισμός 100 μL υγρού υπερήχησης & συνθήκες επώασης

- Blood agar: αερόβια 37 $^{\circ}\text{C}$ για 5 ημέρες
- Anaerobic sheep blood agar: αναερόβια 37 $^{\circ}\text{C}$ για 7 ημέρες
- Chocolate agar: 5% CO_2 37 $^{\circ}\text{C}$ για 5 ημέρες
- Brucella agar: 5% CO_2 37 $^{\circ}\text{C}$ για 14 ημέρες
- Thioglycolate broth: 37 $^{\circ}\text{C}$ για 14 ημέρες

(εάν καμία ανάπτυξη στα τρυβλία τότε
α/α του THIO σε Blood & Brucella agar)

Έλεγχος καλλιεργειών

- Τα τρυβλία ελέγχονται καθημερινά για μικροβιακή ανάπτυξη.
- Εάν παρατηρηθεί ανάπτυξη, αναφέρεται ο αριθμός CFU κάθε διαφορετικής μορφολογίας.
- Ταυτοποίηση και έλεγχος ευαισθησίας

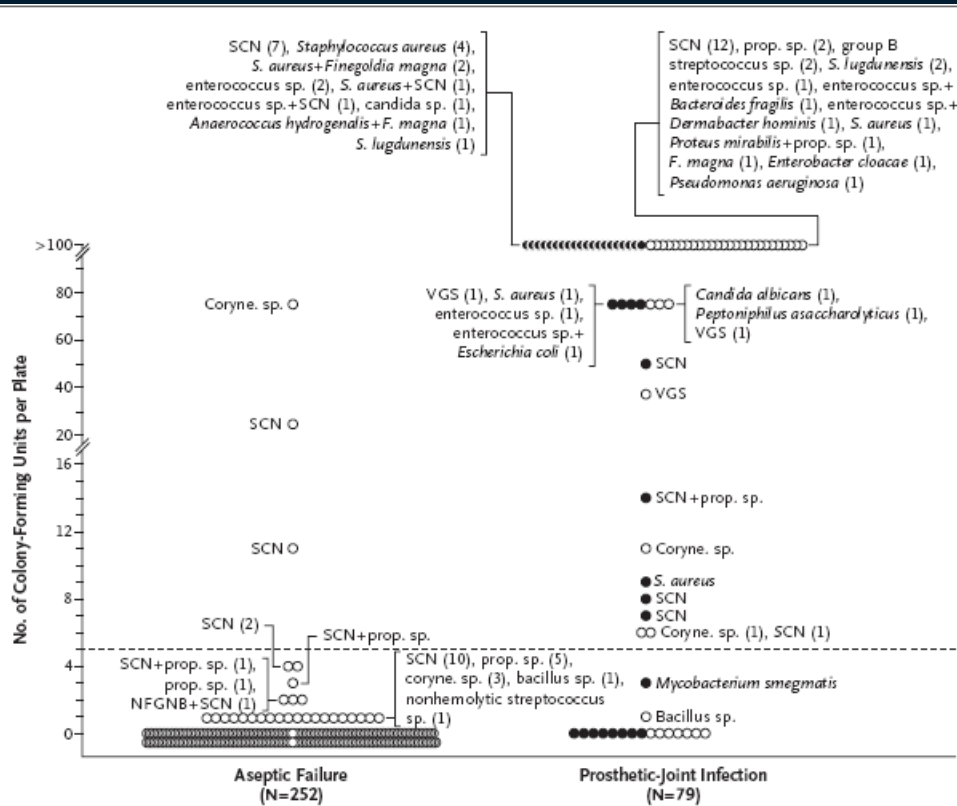
ΠΟΣΟΤΙΚΗ αναφορά αποτελεσμάτων

Ο αριθμός των CFU ανά τρυβλίο πολλαπλασιάζεται επί 10 και το αποτέλεσμα εκφράζεται ως:

CFU/mL υγρού υπερήχησης

Θετικό αποτέλεσμα: ≥ 10 CFU/mL
(optimal cut-off)

Όρια Θετικότητας κ/ας εμπλουτισμένου υγρού υπερήχησης από προθέσεις



50 CFU/mL (5 CFU/τρυβλίο)
(ideal cut-off)

➤ **98,8% ειδικότητα**

➤ **78,5% ευαισθησία**

Figure 1. Microorganisms Detected by Aerobic and Anaerobic Sonicate-Fluid Cultures.

The broken line indicates a cutoff of 5 colony-forming units of the same organism per plate, which yields a sensitivity of 78.5% and a specificity of 98.8% for the diagnosis of prosthetic-joint infection. The number of colony-forming

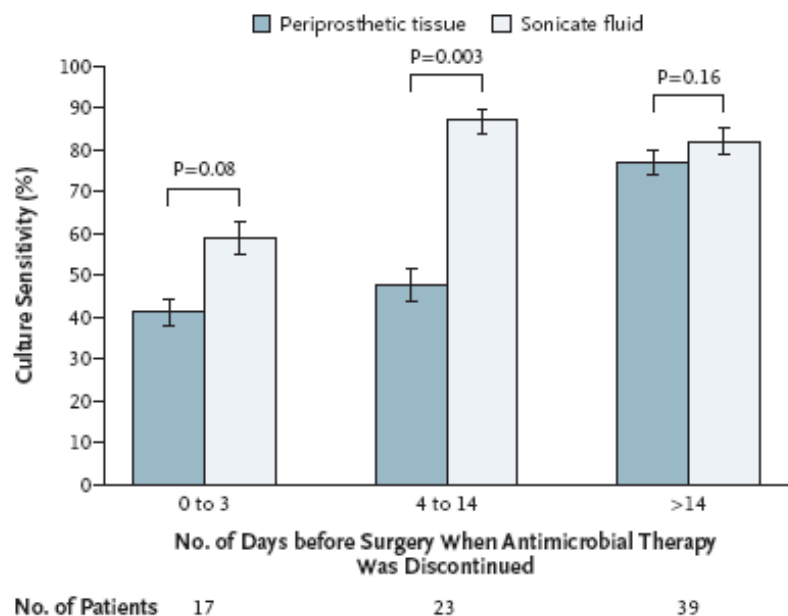
Ερμηνεία αποτελεσμάτων κ/ας υγρού υπερήχησης (SFC)

- Η συγκέντρωση ≥ 50 CFU/mL είναι συνήθως **σημαντική***
- Συγκέντρωση μεταξύ 10-40 CFU/mL πρέπει να **συνεκτιμηθεί** με βάση την κλινική κατάσταση του ασθενούς
- Εάν μόνο ο Θειογλυκολικός ζωμός είναι θετικός, το αποτέλεσμα είναι συνήθως μη σχετικό και εξαιρείται (πιθανή επιμόλυνση κατά τη λήψη, μεταφορά ή επεξεργασία του δείγματος)

Υπεροχή ως προς την ευαισθησία κ/ών υγρού υπερήχησης vs περιπροθετικού ιστού σε διακοπή αντιμικροβιακής αγωγής <14 ημερών

Sonication of Removed Hip and Knee Prostheses for Diagnosis of Infection

Andrej Trampuz, M.D., Kerryl E. Piper, M.S., Melissa J. Jacobson, A.S.,



tively (P for trend=0.12). Sonicate-fluid culture was more sensitive than tissue culture when antimicrobial agents were discontinued within 14 days before surgery (75% vs. 45%, $P<0.001$).

Figure 2. Effect of Preoperative Antimicrobial Therapy on Culture Sensitivity in Patients with Prosthetic-joint Infection.

Σύγκριση ευαισθησίας & ειδικότητας κ/ών υγρού υπερήχησης και περιπροθετικού ιστού

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ORIGINAL ARTICLE

Sonication of Removed Hip and Knee Prostheses for Diagnosis of Infection

Andrej Trampuz, M.D., Kerryl E. Piper, M.S., Melissa J. Jacobson, A.S., Arlen D. Hanssen, M.D., Krishnan K. Unni, M.D., Douglas R. Osmon, M.D., Jayawant N. Mandrekar, Ph.D., Franklin R. Cockerill, M.D., James M. Steckelberg, M.D., James F. Greenleaf, Ph.D., and Robin Patel, M.D.

Culture of sonication fluid had higher sensitivity than culture of periprosthetic tissues

SPINE Volume 35, Number 12, pp 1218-1224
©2010, Lippincott Williams & Wilkins

A Biofilm Approach to Detect Bacteria on Removed Spinal Implants

Marta Fernandez Sampedro, MD,* Paul M. Huddleston, MD,† Kerryl E. Piper, MS,* Melissa J. Karau, BS,* Mark B. Dekutoski, MD,† Michael J. Yaszemski, MD, PhD,† Bradford L. Currier, MD,† Jayawant N. Mandrekar, PhD,‡ Douglas R. Osmon, MD, MPH,* Andrew McDowell, PhD,§ Sheila Patrick, DSc,§ James M. Steckelberg, MD,* and Robin Patel, MD*¶

Σύγκριση ευαισθησίας & ειδικότητας κ/ών υγρού υπερήχησης και περιπροθετικού ιστού II

JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, June 2009, p. 1878–1884

0095-1137/09/\$08.00+0 doi:10.1128/JCM.01686-08

Copyright © 2009, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 47, No. 6

Microbiologic Diagnosis of Prosthetic Shoulder Infection by Use of Implant Sonication[∇]

Kerryl E. Piper,¹ Melissa J. Jacobson,¹ Robert H. Cofield,² John W. Sperling,² Joaquin Sanchez-Sotelo,² Douglas R. Osmon,¹ Andrew McDowell,⁵ Sheila Patrick,⁵ James M. Steckelberg,¹ Jayawant N. Mandrekar,³ Marta Fernandez Sampedro,¹ and Robin Patel^{1,4*}

Division of Infectious Diseases, Department of Medicine,¹ Department of Orthopedic Surgery,² Division of Biostatistics,³ and Division of Clinical Microbiology, Department of Laboratory Medicine and Pathology,⁴ Mayo Clinic College of Medicine, Rochester, Minnesota, and Center for Infection and Immunity, School of Medicine, Dentistry and Biomedical Sciences, Queen's University, Belfast, United Kingdom⁵

infections. Sonicate fluid culture was more sensitive than periprosthetic tissue culture for the detection of definite prosthetic shoulder infection (66.7 and 54.5%, respectively; $P = 0.046$). The specificities were similar (98.0% and 95.1%, respectively; $P = 0.26$). *Propionibacterium acnes* was the commonest species detected among

Sonication: A Valuable Technique for Diagnosis and Treatment of Periprosthetic Joint Infections

D. S. Evangelopoulos,¹ I. P. Stathopoulos,¹ G. P. Morassi,¹ S. Koufos,¹ A. Albarni,¹
P. K. Karampinas,¹ A. Stylianakis,² S. Kohl,³ S. Pneumaticos,¹ and J. Vlamis¹

¹ 3rd Department of Orthopaedic Surgery, University of Athens, KAT Hospital, Nikis 2 Street, 14561 Athens, Greece

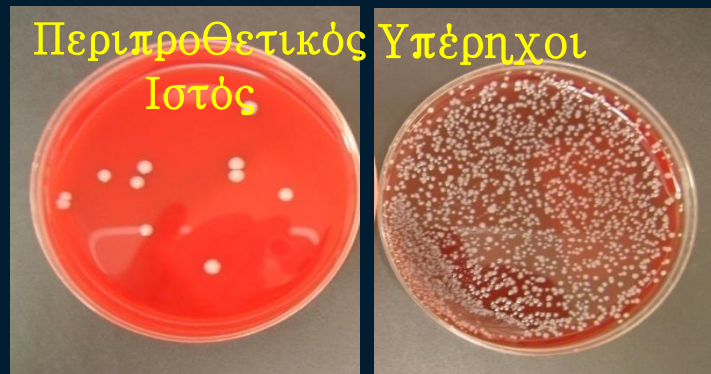
² Department of Microbiology, KAT Hospital, Nikis 2 Street, 14561 Athens, Greece

³ Department of Orthopaedic Surgery, Inselspital, University of Bern, 3010 Bern, Switzerland

TABLE 1: Sensitivity and ESR-CRP values prior to and six weeks after prosthesis explantation.

	Tissue culture	Sonication fluid culture		ESR (mean \pm SD)	CRP (mg/L) (mean \pm SD)
No. of pts	16/34	24/34	Prior to explantation	56.4 \pm 36.2	160.8 \pm 45.7
Sensitivity	47.1%	70.5%	6 w after explantation	29.1 \pm 6.3	8.8 \pm 4.8

Κ/α περιπροθετικού ιστού vs υγρού υπερήχησης



Πλεονεκτήματα της κ/ας υγρού υπερήχησης

- Δειγματισμός από την περιοχή της λοίμωξης (επιφάνεια εμφυτεύματος)
→ ανίχνευση **μεγαλύτερου αριθμού** ζώντων μικροοργανισμών σε **υψηλότερη ανάπτυξη** (>100 cfu)
- Ποσοτικοποίηση καλλιέργειας
- Ευκολότερη διάκριση μεταξύ επιμόλυνσης-λοίμωξης
- **Υψηλότερη ευαισθησία** και παρόμοια ειδικότητα συγκριτικά με κ/ες δειγμάτων αρθρικού υγρού και του αντίστοιχου περιπροθετικού ιστού , ιδιαίτερα σε προηγηθείσα λήψη αντιμικροβιακής αγωγής
- Γρήγορα αποτελέσματα (1 vs 3 ημερών για περιπροθετικές κ/ες), ανίχνευση πολυμικροβιακών λοιμώξεων, ευκολότερη απομόνωση *Propionibacterium spp* κ.α.

Τα κατωτέρω δείγματα δεν μπορούν να ελεγχθούν με τη χρήση υπερήχων

- Οστικά τεμάχια (π.χ. απολύματα)
- Μαλακά μέρια

Μειονέκτημα της κ/ας υγρού υπερήχησης I

Δεν έχει στανταρισθεί για *M. tuberculosis* και για μύκητες

Δυσκολία ταυτοποίησης βακτηριακών ειδών λόγω ύπαρξης αποικιών με διαφορετικές:

- μορφολογίες (φάση ανάπτυξης?)
- βιοχημικές αντιδράσεις

Μειονέκτημα της κ/ας υγρού υπερήχησης II

Διαφορετικά τεστ ευαισθησίας
για το ίδιο μικρόβιο

Λήψη διαφορετικών αντιβιογραμμάτων για το ίδιο μικροβιακό είδος

MICROBIOLOGY DPT. KAT HOSPITAL
NIKHS 2 KIFISIA
Director: Dr.K.MOUTA

May 15 13:59:54 2012

Patient Name ██████████ ██████████
Patient Id 687000
Patient Location PANEPISTIMIAKH ORTHOPEDIKI
Specimen Source EMFYTEYMA
Receipt Date 07/11/2011

Exam Id	7138		
Organism #1:	Staphylococcus epidermidis (staepi)		
Organism #2:	Staphylococcus epidermidis (staepi)		
Organism #3:	Staphylococcus epidermidis (staepi)		
Antibiotics	staepi(1)	staepi(2)	staepi(3)
+Amoxicillin/CA	R	S	S
+Ampicillin/sulbactam	R	S	S
+Cefaclor	R	S	S
+Cefotaxime	R	S	S
+Ceftriaxone	R	S	S
+Cefuroxime - Sodium	R	S	S
Ciprofloxacin	<=0.5 S	<=0.5 S	<=0.5 S
Clindamycin	<=0.25 S	<=0.25 S	0.5 S
Erythromycin	<=0.25 S	>=8 R	<=0.25 S
Fosfomycin	<=8 S	<=8 S	<=8 S
Fusidic Acid	16 I	>=32 R	>=32 R
Gentamicin	<=0.5 S	<=0.5 S	<=0.5 S
Imipenem	<=1 R	<=1 S	<=1 S
Oxacillin	>=4 R	<=0.25 S	<=0.25 S
Penicillin-G	0.25 R	<=0.03 S	0.12 R
Rifampin	<=0.5 S	<=0.5 S	<=0.5 S
Teicoplanin	4 S	2 S	1 S
Tetracycline	2 S	2 S	4 S
Trimethoprim/Sulfa	20 S	<=10 S	20 S
Vancomycin	2 S	2 S	1 S
+Azithromycin	S	R	S
+Clarithromycin	S	R	S
Linezolid	2 S	1 S	2 S
Moxifloxacin	<=0.25 S	<=0.25 S	<=0.25 S
Tigecycline	<=0.12 S	<=0.12 S	0.25 S

Ανίχνευση μικροβιακών υποπληθυσμών με ετερογένεια αντοχής

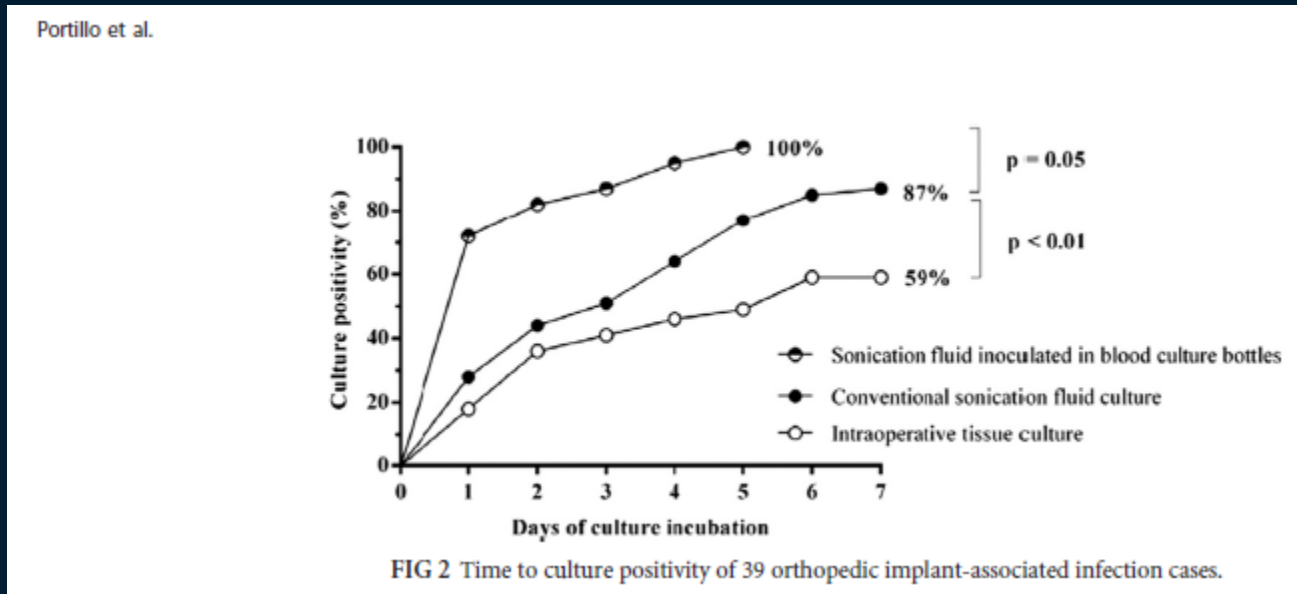
MICROBIOLOGY DPT. KAT HOSPITAL
 NIKHS 2 KIFISIA
 Director: Dr.K.MOUTA

May 15 13:59:54 2012

Patient Name ██████████
 Patient Id 687000
 Patient Location PANEPISTIMIAKH ORTHOPEDIKI
 Specimen Source EMFYTEYMA
 Receipt Date 07/11/2011

Exam Id	7138		
Organism #1:	Staphylococcus epidermidis (staepi)		
Organism #2:	Staphylococcus epidermidis (staepi)		
Organism #3:	Staphylococcus epidermidis (staepi)		
Antibiotics	staepi(1)	staepi(2)	staepi(3)
+Amoxicillin/CA	R	S	S
+Ampicillin/sulbactam	R	S	S
+Cefaclor	R	S	S
+Cefotaxime	R	S	S
+Ceftriaxone	R	S	S
+Cefuroxime - Sodium	R	S	S
Ciprofloxacin	<=0.5 S	<=0.5 S	<=0.5 S
Clindamycin	<=0.25 S	<=0.25 S	0.5 S
Erythromycin	<=0.25 S	>=8 R	<=0.25 S
Fosfomycin	<=8 S	<=8 S	<=8 S
Fusidic Acid	16 I	>=32 R	>=32 R
Gentamicin	<=0.5 S	<=0.5 S	<=0.5 S
Imipenem	<=1 R	<=1 S	<=1 S
Oxacillin	>=4 R	<=0.25 S	<=0.25 S
Penicillin-G	0.25 R	<=0.03 S	0.12 R
Rifampin	<=0.5 S	<=0.5 S	<=0.5 S
Teicoplanin	4 S	2 S	1 S
Tetracycline	2 S	2 S	4 S
Trimethoprim/Sulfa	20 S	<=10 S	20 S
Vancomycin	2 S	2 S	1 S
+Azithromycin	S	R	S
+Clarithromycin	S	R	S
Linezolid	2 S	1 S	2 S
Moxifloxacin	<=0.25 S	<=0.25 S	<=0.25 S
Tigecycline	<=0.12 S	<=0.12 S	0.25 S

Ενοφθαλμισμός & επώαση υγρού υπερήχησης σε φιάλη αιμοκαλλιεργείων: sonication fluid vial culture (SFVC) *vs* SFC



Μειώνει σημαντικά το χρόνο θετικοποίησης της κας υγρού υπερήχησης

Ειδικότητα & ευαισθησία ενοφθαλμισμού υγρού υπερήχησης σε φιάλη αιμοκαλλιερχειών (SFVC)

Table 1. The detail characteristics of the included studies

Reference	Country	Enrollment period	Infected Cases	Location	Received antibiotics	Solution for implant	Diagnostic standard†	Vortex	Sonication	Centrifugation	Sensitivity	Specificity
Viktor Janz (2013) [13]	Germany	October 2010 - March 2011	23	hip and knee	No	Ringer's solution	P, H, IOF, M	30 seconds	3 min	No	91%	81%
María Eugenia Portillo (2015) [12]	Spain	June 2013 - December 2013	18	joint prosthesis	YES	NA‡	C, P, H, IOF	30 seconds+30 seconds*	1 min	No	100%	100%
Hao Shen (2015) [10]	China	August 2011 and May 2014	50	Knee 20,hip 30	YES	Ringer's solution	P, H, IOF, M	30 seconds+30 seconds	10 min	10 min	88%	87%
Antonios Stylianakis (2018) [14]	Greece	September 2011 and April 2015	27	hip and knee	YES	Ringer's solution	P, H	30 seconds+30 seconds	5 min	30 seconds	62.96%	83.91%

* vortex before and after sonication †C, clinical signs of infection; P, presence sinus tract or purulence around the prosthesis; H, histological examination; IOF, intraoperative finding; M, microbiological or laboratory examination. ‡ NA, not available

Figure 3. Methodological quality graph

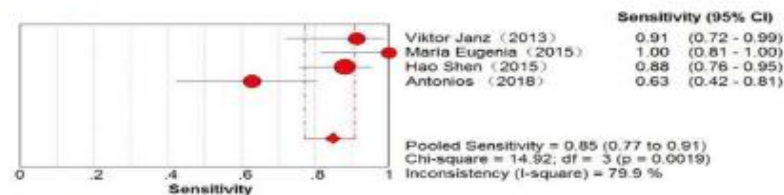
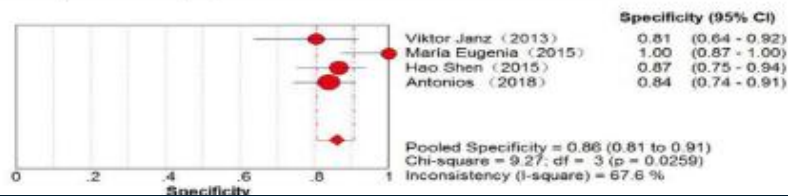


Figure 4. Forest plots of sensitivity of SF-BCB for PJI diagnosis



SFVC : σε τροφικά ελλειμματικά παθογόνα προθετικής λοίμωξης (low grade infection)



Journal of Research and Practice
on the Musculoskeletal System

JRPMS

Case Report Article

Application of a sonication fluid vial culture method to diagnosis of prosthetic knee joint infection caused by *Granulicatella adiacens*

Anna B. Mavrommati¹, Pavlos C. Thomaidis¹, Nikolaos T. Roidis², Spyros D. Kamariotis¹, Athanasios G. Adamopoulos¹, Antonios E. Stylianakis¹

¹Laboratory of Implant Associated Infections, Department of Microbiology, Athens, Greece

²3rd Orthopaedic Department of "KAT" General Hospital, Athens, Greece

ORIGINAL ARTICLE

Sonication of Removed Hip and Knee Prostheses for Diagnosis of Infection

Andrej Trampuz, M.D., Kerry E. Piper, M.S., Melissa J. Jacobson, A.S., Arlen D. Hanssen, M.D., Krishnan K. Unni, M.D., Douglas R. Osmon, M.D., Jayawant N. Mandrekar, Ph.D., Franklin R. Cockerill, M.D., James M. Steckelberg, M.D., James F. Greenleaf, Ph.D., and Robin Patel, M.D.



RE: case report & basic principles of sonication method[Verbotener Anhang gefunden und entfernt]
Trampuz, Andrej <andrej.trampuz@charite.de>
Sun 4/30, 12:20 PMYou

Dear Antonios

It was also a pleasure for me to meet you in Vienna. Congratulations for the Granulicatella article! I will read with pleasure the other article on sonication.

You will soon hear from me,

All the best,

Andrej

From: Antonios Stylianakis [mailto:astylianakis@hotmail.com]

Sent: Sonntag, 30. April 2017 13:49

To: andreij.trampuz@charite.de

Subject: case report & basic principles of sonication method[Verbotener Anhang gefunden



Journal of Research and Practice
on the Musculoskeletal System

JRPMS

Case Report Article

Application of a sonication fluid vial culture method to diagnosis of prosthetic knee joint infection caused by *Granulicatella adiacens*

Anna B. Mavrommati¹, Pavlos C.Thomalidis¹, Nikolaos T. Roidis², Spyros D. Kamariotis¹, Athanasios G. Adamopoulos¹, Antonios E. Stylianakis¹

¹Laboratory of Implant Associated Infections, Department of Microbiology, Athens, Greece
²3rd Orthopaedic Department of "KAT" General Hospital, Athens, Greece

Sonication fluid combination tests

Combination of conventional culture, vial culture, and broad-range PCR of sonication fluid for the diagnosis of prosthetic joint infection

Antonios Stylianakis, Georgios Schinas, Pavlos C. Thomaidis, Joseph Papaparaskevas, Dimitrios C. Ziogas, Maria N. Gamaletsou, George L. Daikos, Spyros Pneumaticsos, Nikolaos V. Sipsas



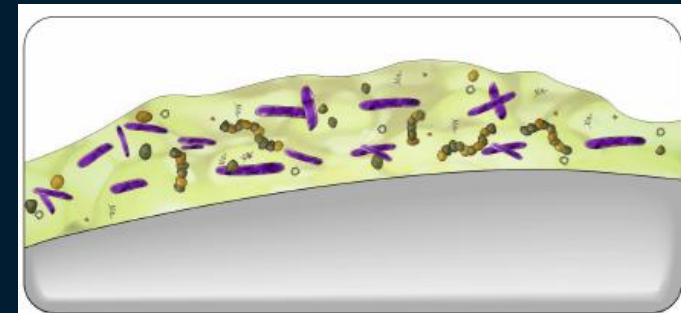
SFC + SFVC + SF broad-range PCR : negative test →
practically PJI excluded

Εναλλακτικά του sonication:

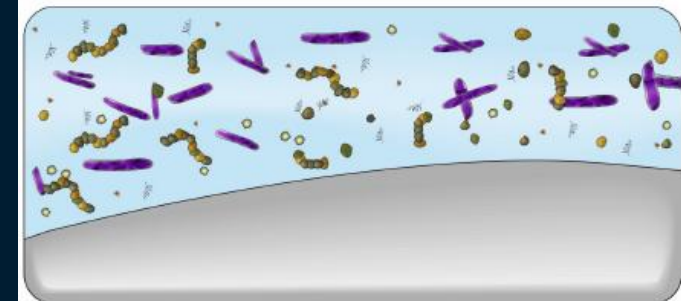
Χημική διάσπαση βιομεμβράνης με τη δράση του αντιδραστηρίου Cleland's

→ Διασπά χημικά τους δισουλφιδικούς δεσμούς των πρωτεϊνών της θεμέλιας ουσίας της βιομεμβράνης και «αποκολλά» ζώντα τα βακτήριά της

→ Το κυτταρικό τοίχωμα των βακτηρίων περιέχει ελάχιστους ή καθόλου δισουλφιδικούς δεσμούς



Bacterial biofilm on a biomaterial surface



Bacterial biofilm dissolved in the DTT solution

MicroDTTect – νέο κλειστό σύστημα διάγνωσης PJI

Λύση βιομεμβράνης δειγματος
Συλλογή εμπλουτισμένου
υγρού DTT



MicroDTTect

- ➔ Κλειστό σύστημα που επιτρέπει τον μικροβιολογικό έλεγχο βιομεμβρανών από εμφυτεύματα και βιοπτικό υλικό
- Increasing PJI-detection accuracy (sensitivity and specificity)
- Superior option for dissolving biofilm (vs. sonication)
- No contradiction to microbiology but supporting microbiology

	SENSITIVITY	SPCIFICITY	POSITIVE PREDICTIVE VALUE	NEGATIVE PREDICTIVE VALUE	ACCURACY
DTT	85.7%	94.1%	94.7%	84.2%	89.5%
Sonication	71.4%	94.1%	93.7%	72.7%	81.6%
Tissue Culture	71.4%	76.5%	78.9%	68.4%	73.7%

Sonication vs MicroDTTect

	Sonication	microdttect
Ειδικός εξοπλισμός	NAI	OXI
Εξειδικευμένο προσωπικό	NAI	OXI
Ποσοτική καλλιέργεια	NAI	OXI
φυγοκέντρηση	OXI	NAI
Δυνατότητα ταυτόχρονης κ/ας και ιστικών δειγμάτων	OXI	NAI
Δυνατότητα επεξεργασίας εμφυτευμάτων μεγάλου μεγέθους	?	NAI
Δυνατότητα εφαρμογής μοριακών τεχνικών	NAI	?
Κόστος μεθόδου	5,6 € ¹	~400 €
Συνολικό πολυπαραγοντικό κόστος μεθόδου ²	397 €	393 €
Σύνολο δημοσιεύσεων στο PubMed	541	5 (3 ορθοπαιδικές)

¹ “ΜΕΛΕΤΗ ΚΟΣΤΟΥΣ ΤΗΣ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΥΠΕΡΗΧΗΣΗΣ (SONICATION) ΕΜΦΥΤΕΥΜΑΤΩΝ ΣΤΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ «ΚΑΤ»” Καμαριώτης Σ. et al. 44^ο Ετήσιο Πανελλήνιο Συνέδριο 2018.

² “Cost-benefit analysis of antibiofilm microbiological techniques for periprosthetic joint infection diagnosis “.Romanò et al. BMC Infectious Diseases (2018) 18:154

in conclusion

Μικροβιολογική διάγνωση-τεκμηρίωση των
οστικών λοιμώξεων



ΟΧΙ η τέχνη του εφικτού



αλλά η τέχνη του βελτίστου αποτελέσματος

xTAG® GPP
The Evolution
of GI Diagnosis



Σας ευχαριστώ
πολύ

Luminex