



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

## Utilitat de la membrana periprotètica en el diagnòstic de la infecció en el recanvi d'una artroplàstia de maluc

Ernesto Muñoz Mahamud

**ADVERTIMENT.** La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) i a través del Dipòsit Digital de la UB ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

**ADVERTENCIA.** La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) y a través del Repositorio Digital de la UB ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) service and by the UB Digital Repository ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.



## **TESI DOCTORAL**

# **Utilitat de la membrana periprotètica en el diagnòstic de la infecció en el recanvi d'una artroplàstia de maluc**

Tesi doctoral presentada per obtenir el títol de Doctor per la  
Universitat de Barcelona

**Ernesto Muñoz Mahamud**

DIRECTORS:           Dr. Guillem Bori Tuneu  
                              Dr. Àlex Soriano Viladomiu

TUTOR:                 Dr. Sebastián García Ramiro

Programa doctorat medicina: Agressió biològica i mecanismes de resposta  
DEPARTAMENT DE CIRURGIA I ESPECIALITATS QUIRÚRGIQUES  
FACULTAT DE MEDICINA, UNIVERSITAT DE BARCELONA  
BARCELONA, 2015



*«Res del que succeeix s'oblida mai,  
encara que un mateix no pugui recordar-ho»*

*Sen to Chihiro No Kamikakushi*



El Dr. Guillem Bori Tuneu del Servei de Cirurgia Ortopèdica i Traumatologia de l'Hospital Clínic de Barcelona, i el Dr. Àlex Soriano Viladomiu del Servei de Malalties Infeccioses de l'Hospital Clínic de Barcelona,

CERTIFIQUEN:

Que Ernesto Muñoz Mahamud ha elaborat el treball titulat **Utilitat de la membrana periprotètica en el diagnòstic de la infecció en el recanvi d'una artroplàstia de maluc**, sota la seva direcció, i que compleix les exigències metodològiques i científiques per poder optar al grau de Doctor en Medicina.

Els estudis presentats han estat desenvolupats al Grup de Patologia Sèptica de l'Aparell Locomotor del Servei de Cirurgia Ortopèdica i Traumatologia de l'Hospital Clínic de Barcelona.

Aquest treball s'ha realitzat amb l'ajuda d'una beca de la Societat Catalana de Cirurgia Ortopèdica i Traumatologia (SCCOT) concedida el mes de maig de 2014.

Dr. Guillem Bori Tuneu

Dr. Àlex Soriano Viladomiu

Barcelona, 2015



## **Agraïments**

En primer lloc vull donar les gràcies al Guillem Bori per la seva amistat i per la inestimable ajuda que sempre m'ha ofert des del moment en què jo començava la meva etapa com a resident i ell tot just l'acabava.

Vull també donar el meu sincer agraïment al Dr. García i al Dr. Soriano, estimadíssims companys de feina que m'han fet créixer ensenyant-me no tan sols coneixements del món de la infecció osteoarticular sinó també valors i actituds com a metge i com a persona. L'elaboració d'aquesta tesi no hauria estat possible sense la seva admirable empenta.

També vull donar les gràcies a la resta de companys de la Unitat de Maluc (Dr. Combalia, Dr. Fernández-Valencia, Dr. Gallart, Dr. Riba i els residents que hi han passat), que van ajudar a la recollida de tot el material necessari, i sense l'aportació dels quals aquesta tesi no hauria estat possible.

Vull agrair a la Societat Catalana de Cirurgia Ortopèdica i Traumatologia la beca que em va concedir per compensar les despeses que ha ocasionat l'elaboració d'aquesta tesi.

Vull donar les gràcies a tots aquells amics i companys que, d'alguna manera, m'han recolzat, orientat i acompanyat durant la realització d'aquest treball. Gràcies especialment a Ruben Córdoba pel disseny de la portada.



No tinc prou paraules d'agraïment per a aquelles persones que més estimo. En primer lloc, al meu pare i a la meva mare, que tant m'han estimat i que m'han educat i fet ser qui sóc. També a la meva germana Blanca, a qui tantíssima estima tinc. Finalment, vull dedicar aquesta tesi a la meva dona i al meu fill, Emma i Nico, que amb el seu amor i afecte m'aporten cada dia allò necessari per ser feliç i viure amb il·lusió. Sin vosotros, nada de esto tendría sentido.

Ernesto

Barcelona, 2015

## **Resum**

La infecció és una de les complicacions més greus que poden aparèixer després de la implantació d'una artroplàstia total de maluc. Fer un recanvi en un terreny infectat comporta un major risc d'infecció de la nova pròtesi. No existeix cap prova que tingui suficient sensibilitat i especificitat com per determinar si l'afluixament protètic és degut a una causa sèptica o mecànica. Aquesta tesi està dedicada a l'estudi de la utilitat de la membrana periprotètica per al diagnòstic d'infecció durant el recanvi d'una pròtesi de maluc.

El primer objectiu d'aquesta tesi ha estat avaluar si el rendiment de la membrana periprotètica com a mostra per a l'estudi histològic peroperatori d'infecció en un recanvi d'una artroplàstia de maluc és superior al de la mostra de pseudocàpsula. Els resultats han demostrat que el percentatge de la histologia positiva de la membrana en pacients amb infecció de pròtesi és significativament més gran que el percentatge de la histologia positiva de pseudocàpsula. D'aquesta manera se suggereix que la membrana és millor com a mostra histològica.

El segon objectiu ha estat determinar si el rendiment de la membrana periprotètica com a mostra sòlida per al cultiu convencional és superior al de la mostra de pseudocàpsula per al diagnòstic d'infecció en un recanvi d'una artroplàstia de maluc. Els

resultats han demostrat que no existeixen diferències significatives entre tots dos tipus de mostra.

El tercer objectiu ha estat avaluar la utilitat de la histologia fent servir la membrana periprotètica per al diagnòstic de la infecció durant un recanvi d'una artroplàstia de maluc per una fractura periprotètica. Els resultats han demostrat que la utilització de la histologia en casos de fractura està associada a una elevada taxa de falsos positius (baixa especificitat).

## **Abstract**

Prosthetic infection is one of the most severe complications that can appear after a total hip arthroplasty. To perform the replacement in a septic environment entails a significantly higher risk of prosthesis infection. Currently, there are no preoperative or perioperative reliable tests able to determine whether the prosthesis loosening is caused by septic or mechanical reasons. This thesis is devoted to study the usefulness of the periprosthetic membrane for predicting infection during a total hip replacement.

The first objective of this thesis has been to evaluate if the usefulness of the periprosthetic membrane as a histologic sample is more accurate than the pseudocapsule. The results have confirmed that the percentage of positive histology of the membrane is significantly higher than the pseudocapsule, suggesting that periprosthetic membrane is the best specimen for the histological diagnosis of prosthetic joint infection.

The second objective has been to assess whether conventional cultures from the periprosthetic membrane are superior to pseudocapsule samples in the diagnosis of infection in hip revision arthroplasty. The results allow to concluding that the membrane sample for a conventional culture is not superior to the pseudocapsule sample in detecting microorganisms.

The third objective has been to analyze the usefulness of the histology for the diagnosis of infection during a hip prosthesis

replacement for the treatment of a periprosthetic fracture. The results have demonstrated that periprosthetic fractures are a cause of false-positive histology results for the diagnosis of infection during revision of a hip prosthesis for the treatment of a periprosthetic fracture when conventional cultures are used for diagnosis of infection.

# Índex

	Pàg.
<b>1 Introducció .....</b>	<b>1</b>
1.1 Investigacions preoperatòries .....	3
1.1.1 Anamnesi i exploració física .....	3
1.1.2 Radiologia .....	4
1.1.3 Analítica .....	5
1.1.4 Medicina nuclear .....	6
1.1.5 Anàlisi cel·lular del líquid articular .....	8
1.1.6 Anàlisi microbiològica del líquid articular .....	8
1.2 Investigacions peroperatòries .....	9
1.2.1 Tinció de Gram del líquid articular .....	9
1.2.2 Cultius intraoperatoris .....	9
1.2.3 Histologia .....	10
<b>2 Hipòtesi i Objectius .....</b>	<b>13</b>
2.1 Hipòtesi .....	13
2.2 Objectius .....	14
<b>3 Material i Mètodes .....</b>	<b>15</b>
3.1 Disseny de l'estudi .....	15
3.2 Pacients inclosos a l'estudi .....	15
3.3 Protocol d'obtenció de les mostres histològiques .....	16
3.4 Microbiologia .....	17
3.5 Diagnòstic preoperatori .....	18
3.6 Diagnòstic definitiu .....	19
3.7 Anàlisi estadística .....	20

<b>4 Resultats .....</b>	<b>23</b>
4.1 Estudi 1 .....	23
4.2 Estudi 2 .....	28
4.3 Estudi 3 .....	32
<b>5 Discussió .....</b>	<b>37</b>
5.1 Estudi 1 .....	37
5.2 Estudi 2 .....	41
5.3 Estudi 3 .....	45
<b>6 Conclusions .....</b>	<b>49</b>
<b>7 Bibliografia.....</b>	<b>51</b>
<b>8 Publicacions.....</b>	<b>63</b>

## Llista de figures

	Pàg.
Figura 1. Presència de fistula en una cicatriu.....	3
Figura 2. Afluixament del component acetabular.....	4
Figura 3. Afluixament de la tija femoral.....	5
Figura 4. Imatge gammagràfica d'una pròtesi de maluc infectada.....	7
Figura 5. Leucòcits polimorfonuclears en un tall histològic...	11
Figura 6. Histologia de membrana amb presència de leucòcits polimorfonuclears.....	24
Figura 7. Histologia de pseudocàpsula sense leucòcits polimorfonuclears.....	24
Figura 8. Microorganismes identificats als recanvis sèptics amb cultius positius.....	31
Figura 9. Fractura periprotètica de maluc.....	34
Figura 10. Fibrosi a la pseudocàpsula.....	40





## Llista de taules

	Pàg.
Taula 1. Relació entre els cultius i la histologia de la membrana periprotètica.....	26
Taula 2. Relació entre els cultius i la histologia en el recanvi protètic.....	27
Taula 3. Recanvis sèptics amb cultius positius.....	29
Taula 4. Característiques i evolució dels pacients amb fractura periprotètica.....	33
Taula 5. Relació entre els cultius i la histologia de les fractures periprotètiques.....	34
Taula 6. Mostres histològiques utilitzades per al diagnòstic d'infecció protètica.....	38



## Abreviatures

<b>ECN</b>	Estafilococ coagulasa-negativa
<b>HMPAO</b>	Hexametil propilen amino oxima
<b>IS</b>	Infecció superficial
<b>MIS</b>	<i>Musculoskeletal Infection Society</i>
<b>PMN</b>	Leucòcits polimorfonuclears
<b>PCR</b>	Proteïna C reactiva
<b>SPSS</b>	<i>Statistical Product and Service Solutions</i>
<b>VSG</b>	Velocitat de sedimentació globular



# 1

## **Introducció**

La infecció és una de les complicacions més greus que poden aparèixer després de la implantació d'una artroplàstia total de maluc. Avui en dia, es considera com a taxa acceptable d'infecció un valor per sota del 2 %, en funció de la durada de l'acte quirúrgic i de la condició de base del pacient. En canvi, aquesta incidència pot ascendir fins a un 15 % si es tracta d'un recanvi protètic (1).

Una infecció d'aquest tipus acostuma a associar-se a una elevada morbiditat. En el millor dels casos, una neteja quirúrgica i l'administració perllongada d'antibiòtics podria ser suficient per curar la infecció (2). Malauradament, sovint és necessari retirar la pròtesi infectada i substituir-la per una altra. Freqüentment cal mantenir el pacient durant diverses setmanes sense articulació funcional i amb tractament antibiòtic, i fer posteriorment una segona intervenció per col·locar la nova pròtesi definitiva, la qual ara tindrà un risc aproximadament cinc vegades més alt de patir una nova infecció (3). Les repercussions funcionals, psíquiques, familiars i econòmiques són per tant de gran magnitud (4, 5). Amb l'envelliment de la població occidental i l'increment del nombre de

pròtesis de maluc que es col·loquen anualment (6), és previsible que la necessitat de recanviar pròtesis afluixades sigui cada vegada més gran. Així mateix, el nombre de fractures que es produeixen al voltant d'una pròtesi de maluc va en augment. La fractura periprotètica es pot produir per un traumatisme important sobre una pròtesi no afluixada o per un traumatisme mínim sobre una pròtesi que ja presenti un afluixament (asèptic o sèptic) previ. Si el pacient presenta una fractura periprotètica sobre un implant afluixat [fractura tipus B2 segons la classificació internacional de Vancouver (7)], llavors el tractament consisteix en el recanvi de la pròtesi. Si aquest recanvi es duu a terme en el context d'un afluixament sèptic la probabilitat que s'infecti el recanvi és alta. Per tot això, la necessitat de millorar la prevenció, el diagnòstic i el tractament d'aquesta complicació és essencial.

El diagnòstic diferencial entre una infecció crònica (afluixament sèptic) i un afluixament mecànic (afluixament asèptic) és molt difícil i alhora essencial, atès que el tractament quirúrgic en el primer cas requereix un recanvi del material en dos temps i un tractament antibiòtic prolongat (8, 9). En el segon cas es fa el recanvi en un sol temps i no és necessari prolongar el tractament antibiòtic més enllà de la profilaxi establerta. No reconèixer una infecció, i per tant dur a terme un recanvi en un terreny infectat, comporta un major risc d'infecció de la nova pròtesi. Malauradament, no existeix cap prova que tingui una sensibilitat i especificitat del 100 % per determinar si l'afluixament protètic és degut a una causa sèptica o mecànica (1). Si l'afluixament de la pròtesi s'ha produït en el context d'una fractura, el diagnòstic de la

infecció pot ser un problema encara més difícil de resoldre. Les proves per diagnosticar infecció al voltant de la pròtesi es poden dividir en preoperatòries i peroperatòries.

## 1.1 Investigacions preoperatòries

### 1.1.1 Anamnesi i exploració física

Una història clínica i física detallada és important per al diagnòstic, però no deixa de ser subjectiva. Únicament la troballa d'una fistula és patognomònica d'infecció, però la seva presència és poc habitual (Figura 1). Actualment la fistula està considerada un criteri major d'infecció segons els nous criteris descrits per la *Musculoskeletal Infection Society* (MIS) (10, 11). El que és més freqüent és que la manifestació principal sigui dolor de característiques poc específiques. Si el context és una fractura periprotètica, el dolor produït per la fractura fa que la simptomatologia aguda perdi utilitat.



**Figura 1.** Presència de fistula en una cicatriu. A la imatge es pot apreciar la presència d'una fistula a la cara externa de la cuixa després d'una pròtesi total de maluc, signe patognomònic d'infecció de l'implant.



### 1.1.2 Radiologia

L'estudi radiològic aporta pocs canvis específics suggestius d'infecció. En alguns casos es poden observar signes com osteòlisi, reabsorció periòstica i imatges radiolúcides al voltant de l'implant, però habitualment apareixen en fases avançades de l'afluixament i cap d'ells són útils per diagnosticar entre afluixament mecànic o sèptic (Figures 2 i 3).



**Figura 2.** Afluixament del component acetabular. Radiografia anteroposterior de pelvis on es mostra una pròtesi total de maluc dret. A la imatge es poden observar signes d'osteòlisi i imatges radiolúcides al voltant d'una còtila cimentada, que es tradueix en afluixament d'aquest component protètic, però sense poder diferenciar si és d'etiologia mecànica o sèptica.



**Figura 3.** Afluixament de la tija femoral. Radiografia anteroposterior d'ambdós malucs on es mostra una pròtesi total de maluc dret. A la imatge poden observar-se signes d'osteòlisi i imatges radiolúcides al voltant d'una tija femoral no cimentada. La presència d'una osteòlisi tan important podria suggerir la presència d'una infecció.

### 1.1.3 Analítica

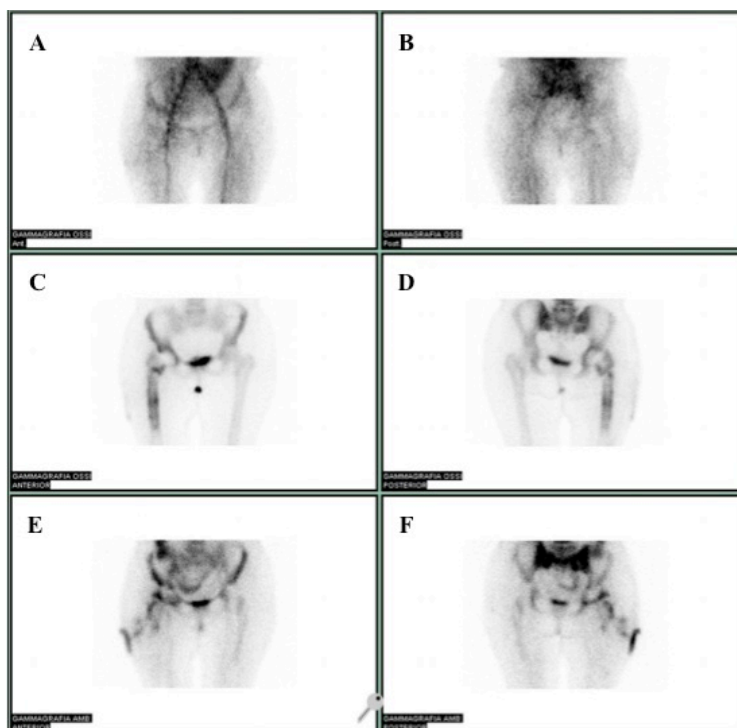
El nombre de leucòcits en la sang és un paràmetre molt poc sensible (1, 12). En canvi la velocitat de sedimentació globular (VSG) i la proteïna C reactiva (PCR) no només tenen una sensibilitat, especificitat, valor predictiu positiu i valor predictiu negatiu al voltant de 85 %, 92 %, 95 % i 66 % respectivament, segons les sèries (1), sinó que també tenen un cost econòmic baix, per tant són de gran utilitat en l'estudi preoperatori (13). No obstant això, s'ha

de recordar que tant la VSG com la PCR són criteris menors d'infecció segons la MIS (10, 11). A més de no tenir una fiabilitat del 100 %, la seva principal limitació es troba en els pacients amb malalties inflamatòries i en els que pateixen una fractura al voltant de la pròtesi, ja que els valors dels paràmetres poden estar elevats per la mateixa malaltia i per la mateixa fractura. La interleucina-6 també s'ha descrit com un bon marcador correlacionat amb el diagnòstic d'infecció, però amb les mateixes limitacions que la VSG i la PCR. Per tant, és necessari disposar de més informació per determinar quin és el veritable paper diagnòstic que pot desenvolupar aquest paràmetre (14).

#### **1.1.4 Medicina nuclear**

La gammagrafia òssia amb  $^{99m}\text{Tc}$ -HMPAO (hexametil propilen amino oxima) i utilitzant leucòcits marcats amb  $^{99m}\text{Tc}$ -HMPAO, així com la gammagrafia amb Ga-67, disposen en general d'elevada sensibilitat i especificitat (Figura 4). No és així en infeccions cròniques amb poca resposta inflamatòria. La gammagrafia de medul·la macrofàgica pot incrementar significativament els resultats si es compara amb la gammagrafia amb leucòcits marcats (15). La seva utilització fent servir  $^{99m}\text{Tc}$ -ciprofloxacina sembla d'utilitat per al diagnòstic d'infecció de pròtesi de maluc, i la sensibilitat, especificitat, valor predictiu positiu i valor predictiu negatiu és de 74 %, 90 %, 86 % i 86 % respectivament (16). El rendiment de la gammagrafia és, en general, molt baix en el context d'una fractura periprotètica (17). Recentment s'ha descrit la

utilització de l'angiogammagrafia com una tècnica útil en el diagnòstic preoperatori d'infecció protètica, amb una sensibilitat, especificitat i valor predictiu negatiu de 83 %, 79 % i 97 % respectivament. Aquesta tècnica pot reduir fins a un 70 % la quantitat de  $^{99m}\text{Tc}$ -HMPAO utilitzada per marcar els leucòcits (18).



**Figura 4.** Imatge gammagràfica d'una pròtesi de maluc infectada. Aquesta gammagrafia correspon al pacient de la Figura 3. A la fase precoç vascular (A i B) s'observa una àrea hiperèmica al maluc dret. A la fase tardana òssia (C i D) s'observa una hipercaptació periprotètica difusa amb un cúmul focal al trocànter menor i terç mitjà de la tija femoral. Així mateix, destaca una hipercaptació a parts toves adjacents a la tija. A la gammagrafia utilitzant leucòcits marcats (E i F), s'observa un dipòsit leucocitari al terç superior de la tija amb afectació de parts toves adjacents i un cúmul de traçador a la zona externa del maluc, que suggereixen una infecció òssia del material protètic amb fistula cap a l'exterior.

### **1.1.5 Anàlisi cel·lular del líquid articular**

El recompte del nombre de leucòcits i el percentatge de neutròfils en el líquid articular ha despertat gran interès en els últims anys per diagnosticar infecció al voltant de la pròtesi ja que aquests dos paràmetres es consideren criteris menors d'infecció segons la MIS (10, 11). Segons les sèries, tenen una sensibilitat, especificitat, valor predictiu positiu i valor predictiu negatiu al voltant de 83 %, 93 %, 63 % i 93 %, respectivament (19-21), i per tant poden ser d'utilitat en l'estudi preoperatori. Tot i així, aquests paràmetres no tenen una fiabilitat del 100 %, sinó només del 83 %. A més, la taxa d'aspirat blanc és aproximadament del 23 % (21), la qual cosa impedeix sovint que es pugui fer aquesta anàlisi. S'ha descrit que un aspirat blanc no significa que no hi hagi infecció articular (22). Per últim, no està ben estudiat quina és la fiabilitat d'aquests tests en pacients amb malalties inflamatòries i/o fractures periprotètiques.

### **1.1.6 Anàlisi microbiològica del líquid articular**

El cultiu del líquid articular obtingut per teleradioscòpia, ecografia o tomografia computada (23) no ha mostrat ni una elevada sensibilitat ni especificitat. Aquesta anàlisi microbiològica del líquid articular únicament té un rendiment elevat quan es duu a terme en pacients amb una elevada sospita d'infecció i hi ha altres indicadors suggestius d'infecció (24). En el context d'una fractura periprotètica aquesta anàlisi no és viable ja que retardaria la cirurgia diversos dies.

## **1.2 Investigacions peroperatòries**

### **1.2.1 Tinció de Gram del líquid articular**

La tinció de Gram del líquid articular té una molt baixa sensibilitat (varia entre el 0 % i el 19 % segons les sèries) i un pobre valor predictiu negatiu, ja que la majoria de microorganismes es troben adherits a la superfície protètica formant un biofilm (25). La seva utilització en el diagnòstic d'infecció protètica està desaconsellada a causa de l'elevada taxa de falsos negatius (26).

### **1.2.2 Cultius intraoperatoris**

Els cultius intraoperatoris són actualment el patró or per establir el diagnòstic de la infecció i són considerats un criteri major d'infecció segons la MIS (10, 11). Per tal de disminuir al màxim la taxa de falsos negatius, és imprescindible que el malalt no hagi rebut antibiòtics durant les setmanes prèvies a la cirurgia. A causa de la poca quantitat de microorganismes no adherits a la superfície protètica, és recomanable obtenir de tres a cinc mostres de diferents localitzacions (10).

S'ha descrit que el cultiu del líquid sinovial inoculat en flascons d'hemocultiu és el tipus de cultiu convencional més sensible comparat amb el cultiu de material sòlid periprotètic o els frotis (27-30). En la nostra pràctica habitual les tres mostres convencionals periprotètiques s'obtenen just en el moment d'obrir

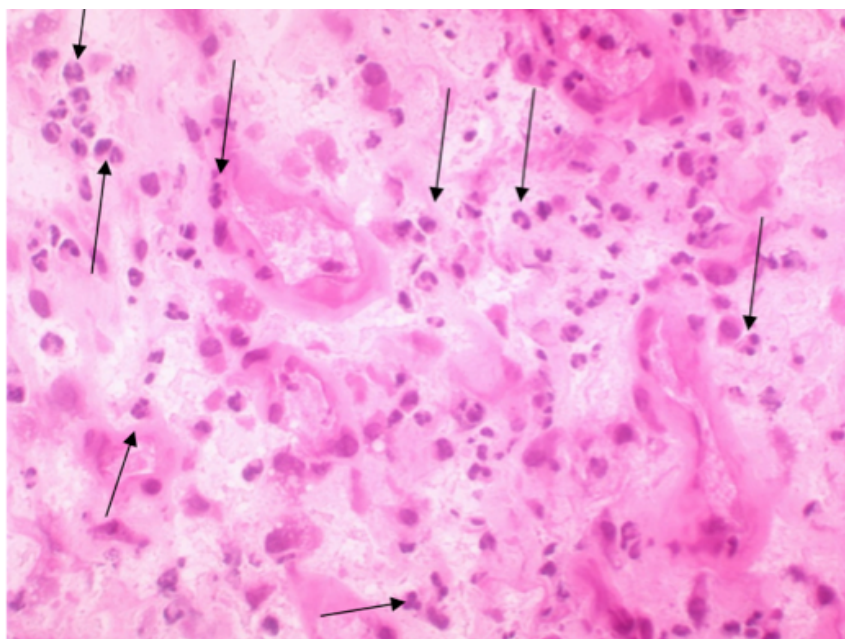
la càpsula i visualitzar la pròtesi, és a dir, s'obtenen del líquid sinovial, del teixit sòlid de la pseudocàpsula que envolta el coll de la pròtesi i fent un frotis del coll o el cap de la pròtesi.

Se sap que la major part dels microorganismes que infecten un implant es troben creixent sobre el mateix implant formant biofilms (*sessile bacteria*) i només una petita part es troben lliures (*planktonic bacteria*) en els teixits periprotètics (29). Per tant, el fet d'utilitzar material sòlid provinent de la pseudocàpsula i no de la membrana periprotètica, que és el teixit sòlid més pròxim i amb més contacte a la superfície de l'implant, podria explicar aquesta menor sensibilitat del material sòlid respecte al líquid inoculat amb flascons d'hemocultiu. Avui en dia, les guies aconsellen obtenir com a mínim tres mostres per a cultiu, però no deixen clar de quin tipus i d'on s'han d'obtenir aquestes mostres (10, 31-33).

### **1.2.3 Histologia**

L'estudi histològic consisteix en la determinació del nombre de leucòcits polimorfonuclears (PMN) existents en una mostra de teixit periprotètic. En un teixit no infectat, la seva presència és mínima o nul·la, mentre que és abundant quan el teixit està infectat (34) (Figura 5). Actualment s'ha documentat que l'anatomia patològica per al diagnòstic d'infecció protètica té un elevat rendiment (17, 35-37), però en canvi en altres publicacions ha estat descrita una baixa sensibilitat (32, 38-42). La baixa especificitat (elevada taxa de falsos positius) pot ser deguda al fet que les mostres per a l'estudi histològic i les mostres per a l'estudi

microbiològic són obtingudes de diferents localitzacions (8, 27, 40, 41). La baixa sensibilitat (elevada taxa de falsos negatius) s'ha atribuït a: 1) presència de microorganismes de baixa virulència com *Staphylococcus epidermidis* o *Propionibacterium* spp., que no arriben a estimular la infiltració de neutròfils en el teixit, 2) contaminació bacteriològica de la mostra obtinguda per a l'estudi microbiològic, i/o 3) punt de tall (nombre de neutròfils per camp de gran augment) que s'utilitza per establir el diagnòstic d'infecció (8, 27, 40, 43-45). S'ha de recordar que la histologia també és un criteri menor per al diagnòstic d'infecció segons la MIS (10, 11).



**Figura 5.** Leucòcits polimorfonuclears en un tall histològic. Fotomicrografia a camp de gran augment (x400) de tall histològic en parafina amb tinció d'hematoxilina-eosina, on es pot observar la presència d'abundants leucòcits polimorfonuclears (fletxes).



Així mateix, un fet que pot provocar un possible biaix dels resultats de la histologia són els pacients que es recanvien la pròtesi perquè presenten una fractura periprotètica. Una revisió de la literatura evidencia que molts autors (36, 38, 41, 46) afirmen que la fractura periprotètica és una causa de falsos positius per al diagnòstic de la infecció mitjançant la histologia però cap d'ells mostra dades objectives sobre aquesta qüestió.

# 2

## Hipòtesi i Objectius

### 2.1 Hipòtesi

Atès que, com s'ha comentat, la major part dels microorganismes que infecten un implant es troben creixent sobre aquest formant biofilms i només una petita part es troben lliures en els teixits del voltant de la pròtesi, la nostra hipòtesi és que la utilització de la membrana periprotètica com a mostra sòlida per al cultiu convencional en el diagnòstic d'infecció en un recanvi d'una artroplàstia de maluc pot tenir una major rendibilitat que no pas la utilització de la pseudocàpsula. Així mateix, com que la important formació de fibrosi a la pseudocàpsula pot dificultar la infiltració de neutròfils en el teixit, també establim la hipòtesi que la utilització de la membrana periprotètica com a mostra per a l'estudi histològic peroperatori d'infecció en un recanvi d'una artroplàstia de maluc pot tenir una major rendibilitat que no pas la utilització de la pseudocàpsula.

D'altra banda, una fractura periprotètica pot produir el pas de neutròfils des del torrent intravascular cap als teixits periprotètics degut tant a fenòmens de quimiotaxi com a la lesió mecànica dels vasos sanguinis. Per tant, hipotetitzem que la utilització de la histologia com a mètode diagnòstic peroperatori d'infecció durant un recanvi d'una artroplàstia de maluc per una fractura periprotètica pot estar associada a una elevada taxa de falsos positius (és a dir, a una baixa especificitat).

## **2.2 Objectius**

1. Analitzar si el rendiment de la membrana periprotètica com a mostra per a l'estudi histològic peroperatori d'infecció en un recanvi d'una artroplàstia de maluc és superior a la mostra de pseudocàpsula.
2. Avaluar si el rendiment de la membrana periprotètica com a mostra sòlida per al cultiu convencional per al diagnòstic d'infecció en un recanvi d'una artroplàstia de maluc és superior a la mostra de pseudocàpsula.
3. Determinar la utilitat de la histologia fent servir la membrana periprotètica per al diagnòstic d'infecció en un recanvi d'una artroplàstia de maluc per una fractura periprotètica.

# 3

## **Material i Mètodes**

### **3.1 Disseny de l'estudi**

Estudi prospectiu.

### **3.2 Pacients inclosos a l'estudi**

Els pacients s'han inclòs a l'estudi segons l'objectiu.

#### **Primer objectiu**

Pacients sotmesos a un recanvi d'una pròtesi de maluc, entre gener de 2007 i juny de 2009. Els pacients van ser classificats en dos grups: grup A) pacients sotmesos a cirurgia de revisió protètica de maluc amb diagnòstic preoperatori d'afluixament asèptic i diagnòstic definitiu d'afluixament asèptic, i grup B) pacients sotmesos a cirurgia de revisió protètica de maluc amb diagnòstic preoperatori d'afluixament sèptic i diagnòstic definitiu d'afluixament sèptic. No es van incloure pacients sotmesos a

cirurgia de revisió de maluc per una fractura periprotètica ni tampoc pacients amb diagnòstic preoperatori d'afluixament asèptic i diagnòstic definitiu d'afluixament sèptic.

### **Segon objectiu**

Pacients sotmesos a un recanvi d'una pròtesi de maluc, entre octubre de 2009 i octubre de 2011. Es van crear dos grups en funció de la mostra sòlida utilitzada: grup A) membrana periprotètica, i grup B) pseudocàpsula. En el grup A, les mostres utilitzades per identificar la infecció eren dues mostres líquides, dos frotis i dues mostres de la membrana periprotètica. En el grup B, les mostres utilitzades per identificar la infecció eren dues mostres líquides, dos frotis i dues mostres de la pseudocàpsula. Les dues mostres líquides i els dos frotis eren les mateixes mostres per als dos grups.

### **Tercer objectiu**

Pacients sotmesos a un recanvi d'una pròtesi de maluc degut a una fractura periprotètica tipus B2 segons la classificació de Vancouver (7) entre gener de 2007 i juliol de 2011.

## **3.3 Protocol d'obtenció de les mostres histològiques**

Es van obtenir mostres de pseudocàpsula i de membrana periprotètica de cada pacient intervingut. Les mostres de pseudocàpsula es van obtenir de la part en contacte amb el coll de la pròtesi fent seccions perpendiculars. Les mostres de membranes es

van obtenir de la interfície de la tija femoral i de la copa acetabular. En fractures periprotètiques, la mostra es va obtenir de la tija femoral on s'havia produït la fractura. Les mostres histològiques van ser fixades amb formalina i parafina abans de ser tenyides amb hematoxilina-eosina. El Servei d'Anatomia Patològica de l'Hospital Clínic de Barcelona va utilitzar el criteri de Mirra amb l'adaptació feta per Feldman (37, 47), de manera que la histologia va ser considerada positiva per infecció quan hi havia cinc o més neutròfils per camp de gran augment (x400) en almenys cinc camps microscòpics diferents.

### **3.4 Microbiologia**

En el moment de la retirada dels implants i prèviament a l'administració de la profilaxi antibiòtica, sis mostres periprotètiques de diferents localitzacions van ser enviades al laboratori per al cultiu: dues mostres de líquid periprotètic, dues mostres sòlides (pseudocàpsula) i dos frotis. Un cop obtingudes aquestes sis mostres, es va iniciar la profilaxi antibiòtica. Quan el recanvi no era degut a una fractura, una vegada retirat l'implant, es van obtenir dues mostres sòlides més de la membrana periprotètica: una provinent de la còtila i una altra provinent de la tija femoral. Si el recanvi només era de la còtila o de la tija, es van obtenir dues mostres de membrana del mateix lloc.

Les mostres líquides van ser obtingudes mitjançant aspiració amb una xeringa estèril, immediatament inoculades en flascons

d'hemocultiu Bactec 9000<sup>®</sup> (Becton Dickinson Diagnostic Instruments<sup>®</sup>, Sparks, Maryland) i posteriorment incubades durant cinc dies. Dels flascons amb creixement de microorganismes es van fer subcultius en medis d'agar tant aeròbic com anaeròbic. També es van obtenir cultius de frotis, fregant un isòtop estèril (Deltalab<sup>®</sup>, hisop estèril Eurotube<sup>®</sup> en medi Stuart, Rubí, Catalunya, Espanya) a l'àrea del teixit periprotètic, os o líquid sospitós d'infecció. Les mostres sòlides de teixit periprotètic van ser posades immediatament en un recipient estèril. Les mostres sòlides i els frotis van ser cultivats en medis d'agar tant aerobi com anaerobi així com en solució en medi de tioglicolat, tots ells enriquits amb vitamina K i hemina, i posteriorment cultivats durant deu dies. Els cultius positius van ser enviats per a la identificació i antibiograma.

### **3.5 Diagnòstic preoperatori**

El diagnòstic preoperatori d'afluixament asèptic es va considerar quan el pacient presentava aquests símptomes: dolor inespecífic, VSG < 30 mm/h, concentració sèrica de la PCR < 1,3 mg/dL, signes radiològics d'afluixament i/o gammagrafia òssia amb <sup>99m</sup>Tc-HMPAO i leucòcits marcats amb <sup>99m</sup>Tc-HMPAO negatives per infecció. En aquests pacients, es va fer un recanvi en un temps.

En canvi el diagnòstic preoperatori d'afluixament sèptic es va considerar quan el pacient presentava els símptomes següents: dolor al maluc i/o fistula, VSG > 30 mm/h, concentració sèrica de la PCR > 1,3 mg/dL, signes radiològics d'afluixament, gammagrafia

òssia amb  $^{99m}\text{Tc}$ -HMPAO i leucòcits marcats amb  $^{99m}\text{Tc}$ -HMPAO positives per infecció i/o cultiu de líquid sinovial obtingut per aspiració positiu. En aquests pacients, es va fer un recanvi en dos temps.

### 3.6 Diagnòstic definitiu

El diagnòstic definitiu d'infecció del recanvi es va considerar: 1) quan després d'analitzar el conjunt de sis mostres obtingudes (dues mostres líquides, dues mostres sòlides i dos frotis), dues o més mostres van ser positives per al mateix microorganisme, o bé 2) quan hi havia presència de pus franc al voltant de la pròtesi (48). Per tant, els pacients amb un o menys cultius intraoperatoris positius van ser classificats com a no infectats.

Es van crear dos grups de sis mostres en funció de la mostra sòlida utilitzada: membrana periprotètica (grup A) o pseudocàpsula (grup B). En el grup A, les mostres utilitzades per identificar la infecció van ser dues mostres líquides, dos frotis i dues mostres de la membrana periprotètica. En el grup B, les mostres utilitzades per identificar la infecció van ser dues mostres líquides, dos frotis i dues mostres de la pseudocàpsula. Les dues mostres líquides i els dos frotis van ser les mateixes mostres per als dos grups. Un cop creats aquests dos grups de sis mostres, es va analitzar si hi havia diferències en els resultats obtinguts en funció de si s'havia utilitzat la mostra sòlida de membrana (grup A) o la mostra sòlida de pseudocàpsula (grup B).



Alhora, es van crear dos grups per avaluar quina era la mostra histològica més útil per al diagnòstic d'infecció. Grup 1: pacients sotmesos a un recanvi de pròtesi de maluc amb diagnòstic preoperatori d'afluixament asèptic i diagnòstic definitiu d'afluixament asèptic (pròtesi no infectada). Grup 2: pacients sotmesos a un recanvi de pròtesi de maluc amb diagnòstic preoperatori d'afluixament sèptic i diagnòstic definitiu d'afluixament sèptic (pròtesi infectada). Aquells pacients amb un diagnòstic preoperatori d'afluixament asèptic i un diagnòstic definitiu d'afluixament sèptic van ser exclosos de l'estudi. Les fractures periprotètiques també van ser excloses d'aquests dos grups.

### **3.7 Anàlisi estadística**

Es va dur a terme una anàlisi estadística amb la finalitat d'avaluar si el rendiment de la membrana periprotètica com a mostra sòlida per al cultiu convencional era superior a la mostra de pseudocàpsula per al diagnòstic d'infecció en un recanvi d'una pròtesi de maluc. Acceptant un risc alfa de 0,05 i un risc beta de 0,20 en un contrast bilateral, es va calcular el nombre mínim de subjectes necessaris per formar part de l'estudi. Es va utilitzar la prova Chi-quadrat (o la prova exacta de Fisher si era necessari) assumint una significació estadística amb un nivell de confiança del 95 % ( $p < 0,05$ ).

D'una banda, es volia avaluar si el rendiment de la membrana periprotètica com a mostra per a l'estudi histològic preoperatori

---

d'infecció en un recanvi d'una pròtesi de maluc és superior al de la mostra de pseudocàpsula. D'altra banda, es pretenia avaluar la utilitat de la histologia fent servir la membrana periprotètica per al diagnòstic d'infecció durant un recanvi d'una pròtesi de maluc per una fractura periprotètica. És per això que es va calcular l'especificitat (veritables negatius / falsos positius + veritables negatius), la sensibilitat (veritables positius / falsos negatius + veritables positius), el valor predictiu positiu (veritables positius / veritables positius + falsos positius) i el valor predictiu negatiu (veritables negatius / veritables negatius + falsos negatius) del criteri de Mirra. Per a l'anàlisi comparativa de proporcions es va utilitzar la prova exacta de Fisher assumint significació estadística amb un nivell de confiança del 95 % ( $p < 0,05$ ). L'anàlisi estadística es va dur a terme amb el programa SPSS<sup>®</sup> (versió 20.0; SPSS, Inc., Chicago, IL, EUA).



# 4

## Resultats

### 4.1 Estudi 1

**«Interface membrane is the best sample for histological study to diagnose prosthetic joint infection»**

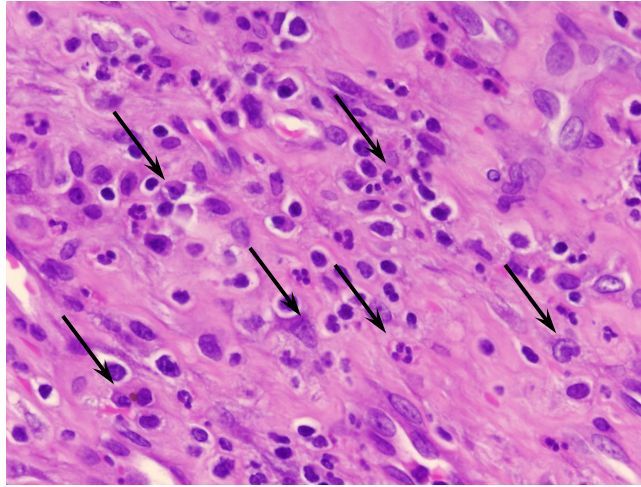
Autors: Guillem Bori, Ernesto Muñoz-Mahamud, Sebastián García, Carme Mallofré, Xavier Gallart, Jordi Bosch, Ester García, Josep Riba, Josep Mensa, Àlex Soriano

*Mod Pathol.* 2011;24:579-584

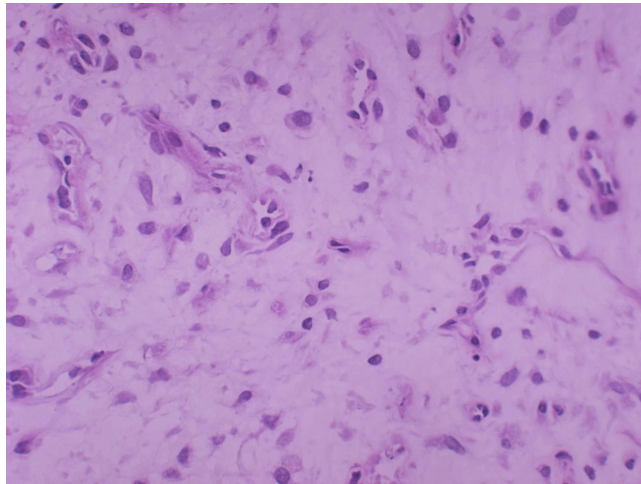
#### **Síntesi dels resultats**

Es van incloure un total de 69 casos de recanvi de pròtesi de maluc, 57 classificats en el grup A (diagnòstic preoperatori d'afluixament asèptic i diagnòstic definitiu d'afluixament asèptic) i 12 en el grup B (diagnòstic preoperatori d'afluixament sèptic i diagnòstic definitiu d'afluixament sèptic). En el grup B, el percentatge de positivitat de la histologia de la membrana va ser significativament

superior al de la pseudocàpsula (83 % i 42 % respectivament,  $p = 0,04$  a la prova exacta de Fisher) (Figures 6 i 7).



**Figura 6.** Histologia de membrana amb presència de leucòcits polimorfonuclears. Fotomicrografia a camp de gran augment (x400) de tall histològic en parafina amb tinció d'hematoxilina-eosina, on es pot observar la presència de més de 5 leucòcits polimorfonuclears.



**Figura 7.** Histologia de pseudocàpsula sense leucòcits polimorfonuclears. Fotomicrografia a camp de gran augment (x400) de tall histològic en parafina amb tinció d'hematoxilina-eosina, on no s'observen leucòcits polimorfonuclears. Aquest tall histològic correspon al mateix pacient que el de la Figura 6.

Els detalls dels resultats obtinguts dels pacients amb diagnòstic preoperatori d'afluixament asèptic i diagnòstic definitiu d'afluixament asèptic (grup A) i dels pacients amb diagnòstic preoperatori d'afluixament sèptic i diagnòstic definitiu d'afluixament sèptic (grup B) es presenten a la Taula 1.

**Taula 1.** Relació entre els cultius i la histologia de la membrana periprotètica

Histologia		Cultiu	n <sup>c</sup>	MO <sup>d</sup>	Mostra		
membrana	pseudocàpsula				líquida	sòlida	frotis
<b>GRUP A<sup>a</sup></b>							
-	-	-	55	-	-	-	-
-	+	-	1	-	-	-	-
+	-	-	1	-	-	-	-
<b>GRUP B<sup>b</sup></b>							
+	+	+	1	SAUR <sup>e</sup>	1/2	1/2	1/2
+	+	+	1	PAER <sup>f</sup>	2/2	0/2	0/2
+	+	+	1	KP <sup>g</sup>	2/2	2/2	2/2
+	+	+	1	PAER / ECN <sup>h</sup>	2/2	2/2	2/2
+	+	+	1	ECN	2/2	2/2	2/2
+	-	+	1	ECN	2/2	1/2	0/2
+	-	+	1	ECN	1/2	3/3	0/2
+	-	+	1	<i>E. coli</i>	1/1	1/2	2/2
+	-	+	1	ECN	1/2	2/4	1/3
+	-	+	1	ECN	2/2	0/2	0/2
-	-	+	1	ECN	1/2	1/2	0/2
-	-	+	1	SAUR	2/2	2/2	0/2

<sup>a</sup> Pacients sotmesos a cirurgia de revisió protètica de maluc amb diagnòstic preoperatori d'afluixament asèptic i diagnòstic definitiu d'afluixament asèptic

<sup>b</sup> Pacients sotmesos a cirurgia de revisió protètica de maluc amb diagnòstic preoperatori d'afluixament sèptic i diagnòstic definitiu d'afluixament sèptic

<sup>c</sup> Nombre de pacients

<sup>d</sup> Microorganismes aïllats als cultius

<sup>e</sup> *Staphylococcus aureus*

<sup>f</sup> *Pseudomonas aeruginosa*

<sup>g</sup> *Klebsiella pneumoniae*

<sup>h</sup> Estafilococ coagulasa-negativa

La sensibilitat, especificitat, valor predictiu positiu i valor predictiu negatiu van ser respectivament de 83 %, 98 %, 91 % i 96% per a la membrana i de 42 %, 98 %, 83 % i 83 % per a la pseudocàpsula. La relació entre els resultats dels cultius i de la histologia es detallen a la Taula 2.

**Taula 2.** Relació entre els cultius i la histologia en el recanvi protètic

Histologia <sup>a</sup>	Diagnòstic definitiu (cultius) <sup>b</sup>		Total
	Positiu	Negatiu	
<b>Membrana periprotètica</b>			
<b>Positiu</b>	10	1	11
<b>Negatiu</b>	2	56	58
<b>Total</b>	12	57	
<b>Pseudocàpsula</b>			
<b>Positiu</b>	5	1	6
<b>Negatiu</b>	7	56	63
<b>Total</b>	12	57	

<sup>a</sup> El resultat va ser considerat com a positiu per infecció quan es van identificar cinc o més PMN per camp de gran augment (x400) en almenys cinc camps microscòpics en seccions de parafina

<sup>b</sup> El diagnòstic definitiu d'infecció va ser considerat positiu quan dos o més cultius intraoperatoris van ser positius per al mateix microorganisme, i/o quan es va detectar la presència de pus al voltant de la pròtesi



## 4.2 Estudi 2

### «Comparison of bacterial results from conventional cultures of the periprosthetic membrane and the synovial or pseudocapsule during hip revision arthroplasty»

Autors: Ernesto Muñoz-Mahamud, Àlex Soriano, Andrés Combalia, Cristina Medrano, Jordi Bosch, Sebastián García, Guillem Bori

*Arch Orthop Trauma Surg.* **2014**;134:577-583

#### Síntesi dels resultats

Es van incloure un total de 86 casos de recanvi de pròtesi de maluc amb el diagnòstic preoperatori següent: 50 recanvis asèptics, 1 recanvi sèptic en un temps, 16 primers temps de recanvi sèptic en dos temps, 18 segons temps de recanvi sèptic en dos temps i 1 recanvi en un temps degut a fractura periprotètica. La sèrie incloïa 32 homes i 54 dones, amb una mitjana d'edat de 54 anys.

Del total de 86 recanvis, 22 van ser definitivament considerats com a sèptics de forma postoperatoria i, d'aquests, 16 van tenir cultius positius. Dels 16 recanvis amb cultius positius, 14 es van considerar positius utilitzant tant la membrana com la pseudocàpsula com a mostra sòlida per a cultiu ( $p = 0,484$ ). En altres paraules, no es van trobar diferències significatives entre els grups A i B. Els detalls dels 16 casos de recanvi amb cultius positius es presenten a la Taula 3.

**Taula 3.** Recanvis sèptics amb cultius positius. Pacients sotmesos a recanvi de pròtesi de maluc, diferenciant en cada cas si el pacient hagués estat considerat infectat o no depenent de si la mostra sòlida utilitzada per a cultiu era la membrana (grup A) o bé la pseudocàpsula (grup B)

n	Diagnòstic preoperatori	LA <sup>a</sup>	Frotis	M <sup>b</sup> (grup A)	Infecció <sup>d</sup> (grup A)	MO <sup>e</sup> (grup A)
				P <sup>c</sup> (grup B)	Infecció <sup>d</sup> (grup B)	MO <sup>e</sup> (grup B)
1	Recanvi asèptic	1/2	2/2	2/2	Si	ECN <sup>f</sup>
				2/2	Si	ECN
2	Recanvi asèptic	2/2	1/2	2/2	Si	ECN
				2/2	Si	ECN
3	2n temps de recanvi sèptic	0/2	0/2	0/2	No	-
				2/2	Si	<i>S. capitis</i>
4	1r temps de recanvi sèptic	2/2	0/2	1/2	Si	STC <sup>g</sup>
				2/2	Si	ECN
5	Recanvi asèptic	2/2	0/2	0/2	Si	CB <sup>h</sup>
				2/2	Si	CB
6	1r temps de recanvi sèptic	1/2	2/2	2/2	Si	SAUR <sup>i</sup>
				0/2	Si	SAUR
7	1r temps de recanvi sèptic	2/2	2/2	1/2	Si	SAUR
				2/2	Si	SAUR
8	Recanvi asèptic	0/2	1/2	0/2	No	-
				1/2	Si	ECN
9	1r temps de recanvi sèptic	2/2	0/2	0/2	Si	ECN
				2/2	Si	ECN
10	1r temps de recanvi sèptic	2/2	1/2	1/2	Si	<i>E. coli</i>
						KL <sup>j</sup>
						<i>E. coli</i>
				1/2	Si	KL
						ECN

11	1r temps de recanvi sèptic	2/2	2/2	1/2	Si	SAUR
				1/2	Si	SAUR
12	1r temps de recanvi sèptic	2/2	2/2	0/2	Si	SAUR
				2/2	Si	SAUR
13	Recanvi asèptic	2/2	1/2	1/2	Si	ECN
				1/2	Si	ECN
14	1r temps de recanvi sèptic	2/2	1/2	2/2	Si	SAUR
				2/2	Si	SAUR
15	1r temps de recanvi sèptic	2/2	2/2	2/2	Si	SAUR
				2/2	Si	SAUR
16	1r temps de recanvi sèptic	2/2	2/2	0/2	Si	SAUR
				2/2	Si	SAUR

<sup>a</sup> Líquid articular

<sup>b</sup> Membrana periprotètica

<sup>c</sup> Pseudocàpsula

<sup>d</sup> El diagnòstic definitiu d'infecció va ser considerat positiu quan dos o més cultius intraoperatoris van ser positius per al mateix microorganisme i/o quan es va detectar la presència pus al voltant de la pròtesi

<sup>e</sup> Microorganismes aïllats als cultius

<sup>f</sup> Estafilococ coagulasa-negativa

<sup>g</sup> *Streptococcus* spp.

<sup>h</sup> *Corynebacterium* spp.

<sup>i</sup> *Staphylococcus aureus*

<sup>j</sup> *Klebsiella* spp.

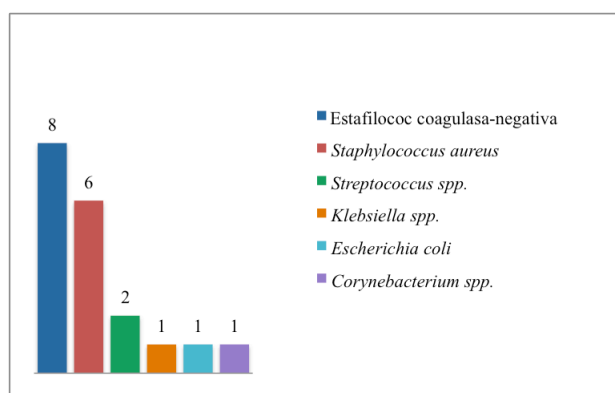
Hi va haver dos casos de discrepància diagnòstica quant al tipus de mostra de material sòlid utilitzat (casos 3 i 8). En tots dos casos, si la mostra sòlida utilitzada hagués estat la membrana, el recanvi hauria estat considerat com a asèptic, mentre que utilitzant la mostra de pseudocàpsula el recanvi hauria estat considerat sèptic.

Hi va haver cinc casos (casos 5, 6, 9, 12 i 16) on també hi va haver discrepància quant al resultat obtingut utilitzant la membrana o bé la pseudocàpsula, però el diagnòstic definitiu hauria estat igualment

de recanvi sèptic ja que la resta de cultius (líquid articular i/o frotis) ja eren positius ( $p = 0,083$ ).

Hi va haver dos casos de discrepància quant al microorganisme identificat a la mostra sòlida: en un cas (cas 4), en les dues mostres de pseudocàpsula va créixer un estafilococ coagulasa-negativa (ECN) (igual que en una de les mostres de líquid articular), mentre que en una de les mostres de membrana va créixer un *Streptococcus* spp. (igual que en una de les mostres de líquid articular). En l'altre cas (cas 10), en una mostra de pseudocàpsula va créixer un ECN (igual que en una de les mostres de frotis), mentre que en una de les mostres de membrana va créixer un *Escherichia coli* i una *Klebsiella* spp. (igual que en les dues mostres de líquid articular).

El microorganisme més freqüentment identificat va ser l'ECN en set casos (vuit casos, considerant que *Staphylococcus capitis* és un ECN), seguit de *Staphylococcus aureus* en sis casos. Hi va haver dos casos (4 i 10) d'infecció polimicrobiana (Figura 8).



**Figura 8.** Microorganismes identificats als recanvis sèptics amb cultius positius.

### 4.3 Estudi 3

#### **«Usefulness of Histology for Predicting Infection at the Time of Hip Revision for the Treatment of Vancouver B2 Periprosthetic Fractures»**

Autors: Ernesto Muñoz-Mahamud, Guillem Bori, Sebastián García, José Ramírez, Josep Riba, Àlex Soriano

*J Arthroplasty*. 2013;28:1247-1250

#### **Síntesi dels resultats**

Es van incloure un total d'onze casos de recanvi de pròtesi total de maluc degut a fractura periprotètica tipus B2 de la classificació de Vancouver (Figura 9). La sèrie incloïa vuit dones i tres homes, amb una mitjana d'edat de 78,1 anys. Dels onze casos, sis presentaven una histologia positiva, dels quals quatre presentaven cultius negatius (falsos positius de la histologia). Els resultats es detallen a la Taula 4.

La sensibilitat, especificitat, valor predictiu positiu i valor predictiu negatiu de la histologia va ser de 100 %, 55,5 %, 33,3 % i 100 % respectivament (Taula 5). D'aquells sis pacients que van presentar una histologia positiva, només dos van tenir cultius positius: 66,6 % de falsos positius.

**Taula 4.** Característiques i evolució dels pacients amb fractura periprotètica

Cas	Histologia <sup>a</sup>	Cultius <sup>b</sup>	Microorganisme	Evolució
1	+	+	ECN <sup>c</sup>	bona
2	+	-	-	bona
3	-	-	-	bona
4	-	-	-	IS <sup>d</sup>
5	+	-	-	bona
6	+	+	ECN + SGV <sup>e</sup>	bona
7	-	-	-	èxitus
8	+	-	-	luxació
9	-	-	-	bona
10	+	-	-	bona
11	-	-	-	bona

<sup>a</sup> El resultat va ser considerat com a positiu per infecció quan s'identificaven cinc o més PMN per camp de gran augment (x400) en almenys cinc camps microscòpics en seccions de parafina

<sup>b</sup> El diagnòstic definitiu d'infecció va ser considerat positiu quan dos o més cultius intraoperatoris van ser positius per al mateix microorganisme, i/o quan es va detectar la presència de fistula o pus al voltant de la pròtesi

<sup>c</sup> Estafilococ coagulasa-negativa

<sup>d</sup> IS: Infecció superficial

<sup>e</sup> SGV: Estreptococ del grup *viridans*



**Figura 9.** Fractura periprotètica de maluc. Radiografia anteroposterior de maluc dret amb la presència d'una fractura al voltant d'una tija femoral afluixada.

**Taula 5.** Relació entre els cultius i la histologia de les fractures periprotètiques

Histologia <sup>a</sup>	Diagnòstic definitiu (cultius) <sup>b</sup>		Total
	Positiu	Negatiu	
<b>Positiu</b>	2	4	6
<b>Negatiu</b>	0	5	5
<b>Total</b>	2	9	11

<sup>a</sup>El resultat va ser considerat com a positiu per infecció quan s'identificaven cinc o més PMN per camp de gran augment (x400) en almenys cinc camps microscòpics en seccions de parafina

<sup>b</sup>El diagnòstic definitiu d'infecció va ser considerat positiu quan dos o més cultius intraoperatoris van ser positius per al mateix microorganisme, i/o quan es va detectar la presència de pus al voltant de la pròtesi

Dels onze pacients inclosos a la sèrie, un total de tres casos van presentar algun tipus de complicació: en un cas (cas 4), el pacient va presentar una infecció superficial de la ferida quirúrgica, que es va tractar amb antibiòtic via oral i va presentar una posterior bona evolució. En un altre cas (cas 7), el pacient va morir al cap de 20 dies de la intervenció a causa de problemes respiratoris no relacionats directament amb la intervenció quirúrgica. Un altre cas (cas 8) va presentar una luxació una setmana després de la intervenció, que es va solucionar amb el recanvi del component acetabular de la pròtesi. Els cultius de les mostres obtingudes durant aquest últim recanvi van ser tots negatius.





# 5

## Discussió

### 5.1 Estudi 1

#### **Utilitat de la membrana periprotètica com a mostra histològica en el diagnòstic de la infecció en el recanvi d'una artroplàstia de maluc.**

Establir el correcte diagnòstic d'infecció protètica és de gran importància per tal de dur a terme un tractament correcte. La utilitat de la histologia intraoperatòria ha estat analitzada en diferents treballs i, avui en dia, forma part dels criteris diagnòstics d'infecció protètica (10, 11). No obstant això, s'ha observat una notable variabilitat quant a la seva sensibilitat depenent dels autors (32, 38-42, 49, 50). Aquestes inconsistències poden atribuir-se al tipus de pacient inclòs a l'estudi (32, 39, 40), als criteris microbiològics (1, 35, 51) i/o histològics (35-37, 52-54) aplicats per establir el diagnòstic d'infecció o bé al tipus de mostra utilitzada per a l'anàlisi (36). Revisant la literatura, existeix una enorme variabilitat quant al tipus de mostra histològica utilitzada. Així, alguns autors

han utilitzat teixits diferents de la membrana periprotètica (17, 52, 55, 56), o bé simplement no especifiquen quina és la mostra utilitzada (47, 50, 57). A la Taula 6 es detallen els articles més importants on es va utilitzar mostra histològica per al diagnòstic d'infecció protètica.

**Taula 6.** Mostres histològiques utilitzades per al diagnòstic d'infecció protètica

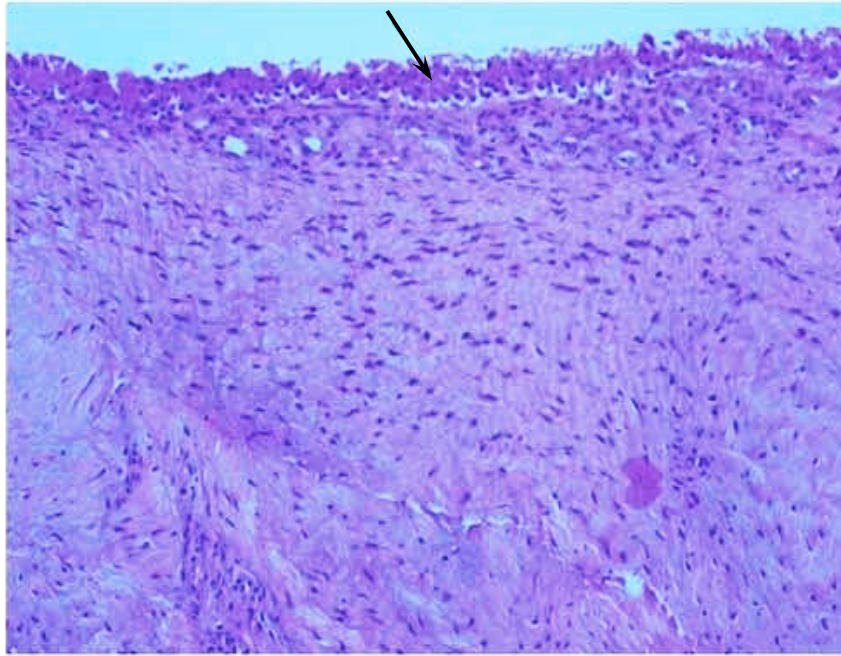
<b>Autor</b>	<b>Mostra utilitzada</b>
Mirra i col. (58)	Sinovial i teixit capsular
Fehring i col. (49)	Pseudocàpsula, membrana periprotètica i qualsevol àrea amb aspecte sospitos d'infecció
Feldman i col. (37)	Pseudocàpsula i membrana periprotètica
Athanasou i col. (36)	Pseudocàpsula i membrana periprotètica
Lonner i col. (46)	Pseudocàpsula, membrana periprotètica i qualsevol àrea amb aspecte sospitos d'infecció
Pace i col. (59)	Pseudocàpsula i membrana periprotètica
Abdul-Karim i col. (41)	Sospita asèptica: membrana periprotètica. Sospita sèptica: membrana periprotètica, teixit sinovial i teixit amb algun inusual canvi de coloració
Spanghel i col. (1)	Superfície sinovial
Pandey i col. (53, 60)	Pseudocàpsula i membrana periprotètica
Pons i col. (17)	Superfície sinovial
Della Valle i col. (39)	Pseudocàpsula, teixit de granulació i qualsevol àrea amb aspecte sospitos d'infecció
Banil i col. (52)	Pseudocàpsula i qualsevol àrea amb aspecte sospitos d'infecció
Musso i col. (42)	Pseudocàpsula, membrana periprotètica i qualsevol àrea amb aspecte sospitos d'infecció
Ko i col. (38)	Pseudocàpsula, membrana periprotètica i qualsevol àrea amb aspecte sospitos d'infecció
Wong i col. (61)	Superfície sinovial, pseudocàpsula i membrana periprotètica
Frances i col. (57)	Teixits tous periprotètics
Bori i col. (32, 40, 62)	Pseudocàpsula, membrana periprotètica i qualsevol àrea amb aspecte sospitos d'infecció

---

Morawietz i col. (35, 54)	Membrana periprotètica
Nuñez i col. (63)	Pseudocàpsula, membrana periprotètica i qualsevol àrea amb aspecte sospitós d'infecció
Nilsdotter i col. (64)	Superfície sinovial i membrana periprotètica
Della Valle i col. (56)	Superfície sinovial
Kanner i col. (50)	Teixits tous periprotètics
Müller i col. (65, 66)	Membrana periprotètica
Schinsky i col. (55)	Superfície sinovial
Woo-Shin Cho i col. (67)	Qualsevol àrea amb aspecte sospitós d'infecció, canal medul·lar, teixit intraarticular
Tohtz i col. (51)	Membrana periprotètica

---

En l'estudi comparatiu s'evidencia que la membrana té una major sensibilitat i valors predictius que no pas la pseudocàpsula. De fet, la proporció de pacients amb infecció protètica i amb membrana positiva va ser significativament superior a aquells amb pseudocàpsula positiva (83 % i 42 % respectivament,  $p = 0,04$ ). Així doncs, utilitzant només la pseudocàpsula, set dels dotze pacients amb infecció no haurien estat correctament diagnosticats. Athanasou i col. (36) ja van suggerir que, en general, hi ha una major presència de signes inflamatoris a la membrana que a la pseudocàpsula; no obstant això, aquesta informació mai no va ser quantificada. Una possible explicació dels nostres resultats pot ser la presència de fibrosi (Figura 10) a la pseudocàpsula, que dificulta la infiltració dels neutròfils, així com el fet que la major part del biofilm es troba entre l'implant i l'os (32).



**Figura 10.** Fibrosi a la pseudocàpsula. Fotomicrografia de secció en parafina de pseudocàpsula tenyida amb hematoxilina-eosina obtinguda en un primer temps d'un recanvi sèptic d'una pròtesi de maluc. A la imatge no s'observa infiltrat de cèl·lules polimorfonuclears. Just sota la superfície de la pseudocàpsula (fletxa), s'aprecia la presència d'un dens teixit fibrós compost per fibres de col·lagen madur i fibroblasts ordenats.

Hi ha una sèrie d'autors (35, 51, 54, 65, 66) que han fet servir només la membrana periprotètica i han proposat una classificació histològica per avaluar de forma estandarditzada els teixits periprotètics. Els nostres resultats recomanen la utilització de la membrana periprotètica com a teixit de referència.

Tot i que l'anàlisi de talls congelats de la mostra histològica és la tècnica habitualment utilitzada per obtenir un ràpid diagnòstic durant la intervenció quirúrgica, en aquest estudi s'han fet servir talls de parafina per tal de prevenir biaixos de la tècnica, ja que s'ha descrit que els talls congelats tenen una pitjor qualitat que no pas

els talls de parafina (1, 57). Tohtz i col. (51) van descriure un 19 % de discrepàncies (en 14 de 64 casos) entre els resultats obtinguts fent servir talls congelats i talls de parafina.

## 5.2 Estudi 2

### **Utilitat de la membrana periprotètica com a mostra per a l'estudi microbiològic en el diagnòstic de la infecció en el recanvi d'una artroplàstia de maluc.**

El tractament antibiòtic d'un afluixament d'una pròtesi de maluc degut a una infecció crònica és molt perllongat. Determinar el microorganisme causant de la infecció és essencial per tal de poder escollir l'antibiòtic més adient en cada cas. En infeccions protètiques de tipus crònic, el nombre de bacteris lliures en els teixits periprotètics és baix, ja que la majoria es troben formant part d'un biofilm al voltant de l'implant (4, 68-72). Per tant, sembla coherent obtenir diverses mostres durant la intervenció per tal de poder identificar el microorganisme causant de la infecció. Existeix un consens general que durant un recanvi d'una pròtesi afluixada és necessari agafar més d'una mostra i, de fet, diversos autors obtenen fins a sis mostres (31, 32, 73, 74). En canvi, existeix una gran discrepància entre els autors sobre quin és el tipus de mostra que cal obtenir. Aquest fet és de gran importància ja que existeixen diferències significatives entre la sensibilitat dels diferents tipus de mostra periprotètica (líquid articular, mostra sòlida i frotis) (27, 28). A la literatura, els diferents autors utilitzen varietat de mostres i

combinacions d'aquestes: mostra sòlida (19, 60), frotis (28, 75-77), mostra sòlida i mostra líquida (78), mostra sòlida i frotis (1) o combinació dels tres tipus (32).

Recentment s'han publicat alguns estudis que emfatitzen la baixa sensibilitat dels frotis (28, 30, 79) i, de fet, les guies actuals (10, 73) no inclouen aquest tipus de mostra en els criteris per definir infecció periprotètica. Els nostres resultats tenen concordança amb els treballs publicats, ja que quatre dels setze casos infectats van tenir frotis falsament negatius (25 % de taxa de falsos negatius). Addicionalment, en altres quatre casos, només un dels dos cultius de frotis va ser positiu, mentre que de dos a quatre dels cultius de la resta de teixits van ser positius. D'altra banda, hi ha alguns autors que defensen que els frotis poden tenir el seu rol ajudant en el diagnòstic, ja que alguns pacients efectivament no haurien estat diagnosticats correctament com a infectats si els frotis no s'haguessin fet (28, 75). Així, un dels pacients de la sèrie (pacient 8) no hauria estat diagnosticat sense la mostra de frotis.

La literatura publicada afirma que la mostra amb una major sensibilitat és el líquid sinovial o líquid periprotètic inoculat en flascons d'hemocultiu, en comparació amb el material sòlid o els frotis. Levine i Evans (27), en un estudi incloent 24 casos, van descriure un 92 % de sensibilitat del líquid inoculat en flascons d'hemocultiu, 46 % de sensibilitat de la mostra sòlida i 64 % de sensibilitat dels frotis. Font-Vizcarra i col. (28) van corroborar aquests resultats, publicant un 86 % de sensibilitat per a la mostra líquida en flascó d'hemocultiu, 69 % per a la mostra sòlida i 61 %

per als frotis. No obstant això, en aquest treball l'objectiu era determinar si la mostra de membrana periprotètica com a mostra sòlida per a cultiu té un major rendiment que la mostra de pseudocàpsula per al diagnòstic d'infecció protètica.

En les infeccions protètiques, els microorganismes causants poden trobar-se en dues formes diferents: de forma lliure en els teixits al voltant de la pròtesi (s'anomenen *planktonic bacteria*) o bé creixent sobre el mateix implant formant els biofilms (s'anomenen *sessile bacteria*). Totes dues formes coexisteixen de manera simultània, no sent excloents, però la majoria dels microorganismes es troben sobre l'implant formant biofilms (80). Aquest fet desencadena un primer problema des del punt de vista clínic, amb referència a la identificació del microorganisme causant de la infecció, ja que els mètodes de cultiu de rutina van ser desenvolupats per identificar *planktonic bacteria* en infeccions agudes. En canvi, en infeccions protètiques de tipus crònic, la majoria dels gèrmens són molt difícils de fer créixer en cultius ja que romanen en un estat sèssil. Aquests gèrmens poden ser clarament identificats utilitzant tècniques avançades, mentre que sovint no són detectats pels mètodes tradicionals de cultiu (27, 28, 68-70, 80, 81). Per aquest motiu, es podria pensar que la membrana d'interfase, és a dir, aquell teixit amb major íntim contacte amb l'implant, hauria de tenir un major rendiment que no pas la pseudocàpsula, tenint en compte que en infeccions cròniques la majoria de microorganismes es troben a la superfície de la pròtesi formant biofilms.



D'altra banda, en termes anatomopatològics, s'ha descrit que existeix una major reacció inflamatòria amb presència de neutròfils a la membrana que no pas a la pseudocàpsula (10, 72, 73, 80, 81). Per tant, la possibilitat de trobar microorganismes podria ser també major a la membrana. En canvi, els resultats de l'estudi mostren que els resultats de les mostres sòlides de membrana no van diagnosticar més casos d'infecció que els de la pseudocàpsula. De fet, si només s'haguessin utilitzat mostres sòlides per al diagnòstic, hi hauria hagut dos casos (casos 3 i 8) en què la infecció hauria passat desapercibuda si la mostra hagués estat la membrana, però no amb la pseudocàpsula. Una possible explicació per a aquest fet podria ser que el volum de pseudocàpsula enviat per a l'estudi microbiològic és major que el de la de membrana, ja que la quantitat de la primera és molt més abundant i de més fàcil accés per al cirurgià, mentre que la quantitat de membrana a vegades és escassa i sovint de difícil accés. A més a més, com que la mostra líquida es considera la més sensible de totes (10, 27, 28, 73), cal tenir en compte que aquell teixit en més íntim contacte amb el líquid és la pseudocàpsula, i no la membrana.

La pseudocàpsula és un teixit de fàcil accés que pot obtenir-se de forma ràpida al cap de pocs minuts d'haver començat la cirurgia. En canvi, la membrana d'interfase només pot obtenir-se un cop s'ha retirat l'implant, fet que pot tardar molta estona des de l'inici de la intervenció. Això comporta un factor important per comentar, i és el fet que, durant la intervenció quirúrgica, les mostres de pseudocàpsula es van obtenir prèviament a l'administració de la profilaxi antibiòtica, mentre que les mostres de membrana es van

obtenir una vegada ja s'havia administrat la profilaxi. La profilaxi antibiòtica és un factor crític per disminuir la taxa d'infecció en cirurgia protètica. L'administració d'aquesta profilaxi s'intenta demorar fins a l'obtenció de les mostres, ja que es creu que una sola dosi d'antibiòtic pot afectar el resultat dels cultius intraoperatoris. Així, és congruent demorar la profilaxi uns minuts fins a haver obtingut les mostres de pseudocàpsula, el líquid articular i els frotis, però sembla inacceptable demorar l'antibiòtic molta estona fins a poder obtenir la membrana. No obstant això, tot i que no existeix una gran evidència sobre quin és el millor moment per administrar l'antibiòtic amb millor rendiment (82, 83), estudis recentment publicats suggereixen que la profilaxi antibiòtica no té una influència significativa sobre el resultat dels cultius (76, 77), i per tant el fet d'administrar o no l'antibiòtic abans de l'obtenció de mostres no hauria de suposar cap biaix.

### 5.3 Estudi 3

#### **Utilitat de la membrana periprotètica com a mostra histològica en el diagnòstic de la infecció en el recanvi d'una artroplàstia de maluc per un fractura periprotètica.**

La utilitat de la histologia per al diagnòstic d'infecció periprotètica ha estat àmpliament descrita per diversos autors (17, 35-37, 84). Tanmateix, en diferents treballs s'ha descrit una baixa sensibilitat associada a aquest mètode diagnòstic (32, 38-42, 50). Les discrepàncies entre la informació publicada pels diversos autors

poden ser degudes als diferents criteris per diagnosticar infecció [criteris microbiològics (1, 35, 51) i criteris histològics (35-37, 52-54)], o bé als distints tipus de pacients estudiats [pacients sotmesos a un recanvi protètic degut a un afluixament asèptic (40), a un afluixament sèptic (62) o pacients sotmesos a un segon temps d'un recanvi en dos temps per un afluixament sèptic (32, 39)].

A la literatura hi ha diversos autors que consideren les fractures periprotètiques una potencial causa de fals positiu de la mostra histològica per al diagnòstic d'infecció (42, 46, 49, 52, 53, 59), però no hi ha cap estudi que hagi demostrat aquesta teoria. En aquest treball s'ha tractat d'avaluar de forma específica la utilitat de la histologia de la membrana periprotètica per al diagnòstic de pacients sotmesos a un recanvi per una fractura sobre una pròtesi afluixada. En sis dels onze casos amb histologia positiva, dos van tenir cultius positius i quatre cultius negatius (66,6 % de falsos positius). Els quatre casos amb histologia positiva i cultius negatius no van rebre tractament antibiòtic addicional i l'evolució de la pròtesi de revisió va ser bona, la qual cosa suggereix que veritablement eren falsos positius.

Els neutròfils són cèl·lules intravasculares, que poden ser trobades als teixits tous quan són atretes per quimiotaxi durant un procés inflamatori i/o quan existeix lesió dels vasos sanguinis i es produeix una extravasació d'aquests als teixits circumdants (34). Així, una possible explicació dels resultats obtinguts pot ser la infiltració dels neutròfils a la membrana periprotètica, procedents de la inflamació

secundària així com dels vasos sanguinis lesionats a causa de la fractura.

En l'actualitat no existeix cap prova preoperatòria ni peroperatòria que sigui capaç de dilucidar amb una fiabilitat del 100 % si una fractura periprotètica s'ha produït en un context d'infecció o no. Els símptomes previs a la fractura són inespecífics i massa subjectius (37), els reactants de fase aguda (PCR i VSG) i la gammagrafia es veuen alterats per la mateixa fractura, i els resultats dels cultius de líquid articular (obtingut mitjançant aspiració guiada per ecografia o tomografia computada) retarden diversos dies la intervenció, i la seva no suficientment elevada sensibilitat i especificitat no justifiquen la demora d'una intervenció urgent (85). Hi ha autors que han publicat sèries de fractures periprotètiques tractades mitjançant recanvi de la pròtesi amb taxes d'infecció que ascendeixen fins al 33 % (86-88). Holley i col. (89) van publicar una taxa d'infecció del 10 % (2 de 20 casos) en fractures periprotètiques de maluc tipus B2 de la classificació de Vancouver, i del 33 % (3 de 9 casos) en fractures tipus B3. Mukundan i col. (86) van tenir una taxa d'infecció del 17 % (3 de 17 casos) en fractures tipus B3, mentre que Ko i col. (38) la van tenir del 14 % (2 de 14 casos) en fractures tipus B2. Totes aquestes taxes d'infecció són més elevades que les taxes publicades després d'un recanvi per afluixament asèptic. Aquestes diferències podrien explicar-se per la presència d'un focus sèptic al voltant de la pròtesi sobre la qual s'ha produït la fractura. Per tant, identificar si una fractura al voltant d'una pròtesi s'ha produït en un context sèptic o asèptic pot ser de gran importància de cara a escollir el millor

tractament i de cara al pronòstic. Així doncs, per exemple, si una fractura periprotètica al voltant de la tija femoral s'identifica com a no sèptica, serà suficient recanviar el component femoral de la pròtesi. En canvi, si es detecta infecció al voltant de la pròtesi, s'ha de recanviar també el component acetabular de la pròtesi. Un fals positiu en la histologia podria fer pensar erròniament que la fractura s'ha produït sobre una pròtesi infectada, i per tant es faria el recanvi del component acetabular de forma innecessària, amb la comorbiditat que això implica.

S'ha descrit que les fractures periprotètiques tipus B1 de la classificació de Vancouver que són tractades mitjançant reducció oberta i osteosíntesi presenten un pitjor pronòstic que les tipus B2 tractades mitjançant recanvi de la pròtesi, i la infecció és un dels motius d'aquesta diferència en el pronòstic (90). Per tant, davant una fractura periprotètica de maluc tipus B2 de la classificació de Vancouver, sembla recomanable tractar-la mitjançant un recanvi de la pròtesi, i obtenir almenys sis mostres intraoperatòries diferents per a cultiu microbiològic, iniciar antibioteràpia endovenosa d'ampli espectre de forma empírica i mantenir-la fins a l'obtenció dels resultats dels cultius. En cas que els cultius siguin positius, i d'acord amb l'antibiograma, es podrà escollir l'antibiòtic més adient i fer el pas a antibiòtic via oral. Si els cultius són tots negatius, llavors el tractament antibiòtic es podrà suspendre.

# 6

## Conclusions

### Objectiu 1

Analitzar si el rendiment de la membrana periprotètica com a mostra per a l'estudi histològic peroperatori d'infecció en un recanvi d'una artroplàstia de maluc és superior a la mostra de pseudocàpsula.

### Conclusió 1

El percentatge de positivitat de la histologia de la membrana periprotètica en pacients amb infecció protètica és superior al de la pseudocàpsula, i per tant es pot concloure que la millor mostra histològica per al diagnòstic de la infecció durant un recanvi d'una pròtesi de maluc és la membrana periprotètica.

### Objectiu 2

Avaluar si el rendiment de la membrana periprotètica com a mostra sòlida per al cultiu convencional per al diagnòstic d'infecció en un recanvi d'una artroplàstia de maluc és superior a la mostra de pseudocàpsula.

### **Conclusió 2**

Quan per al diagnòstic d'una infecció s'utilitza el criteri d'un mínim de dos cultius positius per al mateix microorganisme per diagnosticar infecció periprotètica i es prenen un mínim de sis mostres, incloent dos líquids inoculats en flascons d'hemocultiu, dos frotis i dos sòlids, el lloc d'on s'obté la mostra sòlida (pseudocàpsula o membrana periprotètica) és indiferent i no modifica els resultats. Per tant, la mostra de membrana per al cultiu convencional no és superior per a la detecció de microorganismes a la mostra de pseudocàpsula, quan la profilaxi antibiòtica és administrada després de l'obtenció de la mostra sòlida de pseudocàpsula i abans de la mostra sòlida de membrana.

### **Objectiu 3**

Determinar la utilitat de la histologia fent servir la membrana periprotètica per al diagnòstic de la infecció durant un recanvi d'una artroplàstia de maluc per una fractura periprotètica.

### **Conclusió 3**

La fractura periprotètica és una causa de fals positiu de la histologia en el diagnòstic d'infecció en un recanvi com a tractament d'una fractura periprotètica de maluc tipus B2 de la classificació de Vancouver. Per tant, no es recomana la utilització de la histologia per al diagnòstic d'infecció durant el tractament d'una fractura periprotètica a causa de la seva baixa especificitat.

## Bibliografia

1. 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. *J Bone Joint Surg Am* 1999;81:672–83.
2. Soriano A, García S, Bori G, Almela M, Gallart X, Maculé F, Sierra J, Martínez JA, Suso S, Mensa J. Treatment of acute post-surgical infection of joint arthroplasty. *Clin Microbiol Infect* 2006;12:930–3.
3. Masri BA, Panagiotopoulos KP, Greidanus NV, Garbuz DS, Duncan CP. Cementless two-stage exchange arthroplasty for infection after total hip arthroplasty. *J Arthroplasty* 2007;22:72–8.
4. Garrido-Gomez J, Arrabal-Polo MA, Giron-Prieto MS, Cabello-Salas J, Torres-Barroso J, Parra-Ruiz J. Descriptive analysis of the economic costs of periprosthetic joint infection of the knee for the public health system of Andalusia. *J Arthroplasty* 2013;28:1057–60.
5. Klouche S, Sariali E, Mamoudy P. Total hip arthroplasty revision due to infection: a cost analysis approach. *Orthop Traumatol Surg Res* 2010;96:124–32.



6. Nemes S, Gordon M, Rogmark C, Rolfson O. Projections of total hip replacement in Sweden from 2013 to 2030. *Acta Orthop* 2014;85:238–43.
7. Masri BA, Meek RMD, Duncan CP. Periprosthetic fractures evaluation and treatment. *Clin Orthop Relat Res* 2004;420:80–95.
8. Kraay MJ, Goldberg VM, Fitzgerald SJ, Salata MJ. Cementless two-staged total hip arthroplasty for deep periprosthetic infection. *Clin Orthop Relat Res* 2005;441:243–9.
9. Hart WJ, Jones RS. Two-stage revision of infected total knee replacements using articulating cement spacers and short-term antibiotic therapy. *J Bone Joint Surg Br* 2006;88:1011–5.
10. Parvizi J, Zmistowski B, Berbari EF, Bauer TW, Springer BD, Della Valle CJ, Garvin KL, Mont MA, Wongworawat MD, Charalampos G. New definition for periprosthetic joint infection: from the Workgroup of the Musculoskeletal Infection Society. *Clin Orthop Relat Res* 2011;469:2992–4.
11. Parvizi J, Gehrke T. Definition of periprosthetic joint infection. *J Arthroplasty* 2014;29:1331.
12. Canner GC, Steinberg ME, Heppenstall RB, Balderston R. The infected hip after total hip arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am* 1984;66:1393–9.
13. Austin MS, Ghanem E, Joshi A, Lindsay A, Parvizi J. A simple, cost-effective screening protocol to rule out periprosthetic infection. *J Arthroplasty* 2008;23:65–8.
14. Bottner F, Wegner A, Winkelmann W, Becker K, Erren M, Gotze C. Interleukin-6, procalcitonin and TNF-alpha: markers of peri-prosthetic infection following total joint replacement. *J Bone Joint Surg Br* 2007;89:94–9.

15. Fuster D, Duch J, Soriano A, García S, Setoain X, Bori G, Rubí S, Rodríguez D, Doménech D, Piera C, Mensa J, Pons F. Potential use of bone marrow scintigraphy in suspected prosthetic hip infection evaluated with <sup>99m</sup>Tc-HMPAO-leukocytes. *Rev esp med nucl (English Edition)* 2008;27:430–5.
16. Fuster D, Soriano A, Garcia S, Piera C, Suades J, Rodriguez D, Martínez JC, Mensa J, Campos F, Pons F. Usefulness of <sup>99m</sup>Tc-ciprofloxacin scintigraphy in the diagnosis of prosthetic joint infections. *Nucl Med Commun* 2011;32:44–51.
17. Pons M, Angles F, Sanchez C, Matamala A, Cuchi E, Salavert M, Forcada P, Ferrer H. Infected total hip arthroplasty. The value of intraoperative histology. *Int Orthop (SICOT)* 1999;23:34–6.
18. Granados U, Fuster D, Soriano A, García S, Bori G, Martinez JC, Mayoral M, Perlaza P, Tomas X, Pons F. Screening joint arthroplastic infection using blood flow scintigraphy prior to Tc-HMPAO labelled leukocyte. *Rev Esp Med Nucl Imagen Mol* 2015; Jan 3. pii: S2253-654X(14)00187-5. doi: 10.1016/j.remn.2014.10.003 [Epub ahead of print].
19. Mason JB, Fehring TK, Odum SM, Griffin WL, Nussman DS. The value of white blood cell counts before revision total knee arthroplasty. *J Arthroplasty* 2003;18:1038–43.
20. Trampuz A, Hanssen AD, Osmon DR, Mandrekar J, Steckelberg JM, Patel R. Synovial fluid leukocyte count and differential for the diagnosis of prosthetic knee infection. *Am J Med* 2004;117:556–62.
21. Squire MW, Valle CJD, Parvizi J. Preoperative diagnosis of periprosthetic joint infection: role of aspiration. *Am J Roentgenol* 2011;196:875–9.

22. Ali F, Wilkinson JM, Cooper JR, Kerry RM, Hamer AJ, Norman P, Stockley I. Accuracy of joint aspiration for the preoperative diagnosis of infection in total hip arthroplasty. *J Arthroplasty* 2006;21:221–6.
23. Tomas X, Bori G, Garcia S, Garcia-Diez AI, Pomes J, Soriano A, Rios J, Almela M, Mensa J, Gallart X, Martinez JC, Riba J. Accuracy of CT-guided joint aspiration in patients with suspected infection status post-total hip arthroplasty. *Skeletal Radiol* 2011;40:57–64.
24. Tigges S, Stiles RG, Meli RJ, Roberson JR. Hip aspiration: a cost-effective and accurate method of evaluating the potentially infected hip prosthesis. *Radiology* 1993;189:485–8.
25. Updegrove GF, Armstrong AD, Kim HMM. Preoperative and intraoperative infection workup in apparently aseptic revision shoulder arthroplasty. *J Shoulder Elbow Surg* 2015;24:491–500.
26. Zywiell MG, Stroh DA, Johnson AJ, Marker DR, Mont MA. Gram stains have limited application in the diagnosis of infected total knee arthroplasty. *Int J Infect Dis* 2011;15:702–5.
27. Levine BR, Evans BG. Use of blood culture vial specimens in intraoperative detection of infection. *Clin Orthop Relat Res* 2001;382:222–31.
28. Font-Vizcarra L, Garcia S, Martínez-Pastor JC, Sierra JM, Soriano A. Blood culture flasks for culturing synovial fluid in prosthetic joint infections. *Clin Orthop Relat Res* 2010;468:2238–43.
29. Costerton JW. Biofilm theory can guide the treatment of device-related orthopaedic infections. *Clin Orthop Relat Res* 2005;437:7–11.

30. Aggarwal VK, Higuera C, Deirmengian G, Parvizi J, Austin MS. Swab cultures are not as effective as tissue cultures for diagnosis of periprosthetic joint infection. *Clin Orthop Relat Res* 2013;471:3196–203.
31. Atkins BL, Athanasou N, Deeks JJ, Crook DW, Simpson H, Peto TE, McLardy-Smith P, Berendt AR. Prospective evaluation of criteria for microbiological diagnosis of prosthetic-joint infection at revision arthroplasty. The OSIRIS Collaborative Study Group. *J Clin Microbiol* 1998;36:2932–9.
32. Bori G, Soriano A, Garcia S, Mallofre C, Riba J, Mensa J. Usefulness of histological analysis for predicting the presence of microorganisms at the time of reimplantation after hip resection arthroplasty for the treatment of infection. *J Bone Joint Surg Am* 2007;89:1232–7.
33. Leone JM, Hanssen AD. Management of infection at the site of a total knee arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am* 2005;87:2335–48.
34. Lindbom L, Werr J. Integrin-dependent neutrophil migration in extravascular tissue. *Semin Immunol* 2002;14:115–21.
35. Morawietz L, Classen R-A, Schroder JH, Dynybil C, Perka C, Skwara A, Neidel J, Gehrke T, Frommelt L, Hansen T, Otto M, Barden B, Aigner T, Stiehl P, Schubert T, Meyer-Scholten C, Konig A. Proposal for a histopathological consensus classification of the periprosthetic interface membrane. *J Clin Pathol* 2006;59:591–7.
36. Athanasou NA, Pandey R, de Steiger R, Crook D, Smith PM. Diagnosis of infection by frozen section during revision arthroplasty. *J Bone Joint Surg Br* 1995;77:28–33.
37. Feldman DS, Lonner JH, Desai P, Zuckerman JD. The role of intraoperative frozen sections in revision total joint arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am* 1995;77:1807–13.

38. Ko PS, Ip D, Chow KP, Cheung F, Lee OB, Lam JJ. The role of intraoperative frozen section in decision making in revision hip and knee arthroplasties in a local community hospital. *J Arthroplasty* 2005;20:189–95.
39. Valle Della CJ, Bogner E, Desai P, Lonner JH, Adler E, Zuckerman JD, Di Cesare PE. Analysis of frozen sections of intraoperative specimens obtained at the time of reoperation after hip or knee resection arthroplasty for the treatment of infection. *J Bone Joint Surg Am* 1999;81:684–9.
40. Bori G, Soriano A, Garcia S, Gallart X, Casanova L, Mallofre C, Almela M, Martínez JA, Riba J, Mensa J. Low sensitivity of histology to predict the presence of microorganisms in suspected aseptic loosening of a joint prosthesis. *Mod Pathol* 2006;19:874–7.
41. Abdul-Karim FW, McGinnis MG, Kraay M, Emancipator SN, Goldberg V. Frozen section biopsy assessment for the presence of polymorphonuclear leukocytes in patients undergoing revision of arthroplasties. *Mod Pathol* 1998;11:427–31.
42. Musso AD, Mohanty K, Spencer-Jones R. Role of frozen section histology in diagnosis of infection during revision arthroplasty. *Postgrad Med J* 2003;79:590–3.
43. Tsaras G, Maduka-Ezeh A, Inwards CY, Mabry T, Erwin PJ, Murad MH, Montori VM, West CP, Osmon DR, Berbari EF. Utility of intraoperative frozen section histopathology in the diagnosis of periprosthetic joint infection: a systematic review and meta-analysis. *J Bone Joint Surg* 2012;94:1700–11.
44. 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;96:442–7.

45. Zhao X, Guo C, Zhao G-S, Lin T, Shi ZL, Yan SG. Ten versus five polymorphonuclear leukocytes as threshold in frozen section tests for periprosthetic infection: a meta-analysis. *J Arthroplasty* 2013;28:913–7.
46. 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. *J Bone Joint Surg Am* 1996;78:1553–8.
47. Mirra JM, Amstutz HC, Matos M, Gold R. The pathology of the joint tissues and its clinical relevance in prosthesis failure. *Clin Orthop Relat Res* 1976;117:221–40.
48. Leone JM, Hanssen AD. Management of infection at the site of a total knee arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am* 2005;87:2335–48.
49. Fehring TK, McAlister JAJ. Frozen histologic section as a guide to sepsis in revision joint arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res* 1994;304:229–37.
50. Kanner WA, Saleh KJ, Frierson HFJ. Reassessment of the usefulness of frozen section analysis for hip and knee joint revisions. *Am J Clin Pathol* 2008;130:363–8.
51. Tohtz SW, Muller M, Morawietz L, Winkler T, Perka C. Validity of frozen sections for analysis of periprosthetic loosening membranes. *Clin Orthop Relat Res* 2010;468:762–8.
52. Banit DM, Kaufer H, Hartford JM. Intraoperative frozen section analysis in revision total joint arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res* 2002;401:230–8.
53. 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;52:118–23.

54. Morawietz L, Tiddens O, Mueller M, Tohtz S, Gansukh T, Schroeder JH, Perka C, Krenn V. Twenty-three neutrophil granulocytes in 10 high-power fields is the best histopathological threshold to differentiate between aseptic and septic endoprosthesis loosening. *Histopathology* 2009;54:847–53.
55. Schinsky MF, Valle Della CJ, Sporer SM, Paprosky WG. Perioperative testing for joint infection in patients undergoing revision total hip arthroplasty. *J Bone Joint Surg* 2008;90:1869–75.
56. Valle Della CJ, Sporer SM, Jacobs JJ, Berger RA, Rosenberg AG, Paprosky WG. Preoperative testing for sepsis before revision total knee arthroplasty. *J Arthroplasty* 2007;22:90–3.
57. Frances Borrego A, Martinez FM, Cebrian Parra JL, Graneda DS, Crespo RG, Lopez-Duran Stern L. Diagnosis of infection in hip and knee revision surgery: intraoperative frozen section analysis. *Int Orthop (SICOT)* 2007;31:33–7.
58. Mirra JM, Marder RA, Amstutz HC. The pathology of failed total joint arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res* 1982;170:175–83.
59. Pace TB, Jeray KJ, Latham JTJ. Synovial tissue examination by frozen section as an indicator of infection in hip and knee arthroplasty in community hospitals. *J Arthroplasty* 1997;12:64–9.
60. Pandey R, Berendt AR, Athanasou NA. Histological and microbiological findings in non-infected and infected revision arthroplasty tissues. The OSIRIS Collaborative Study Group. Oxford Skeletal Infection Research and Intervention Service. *Arch Orthop Trauma Surg* 2000;120:570–4.
61. Wong YC, Lee QJ, Wai YL, Ng WF. Intraoperative frozen section for detecting active infection in failed hip and knee arthroplasties. *J Arthroplasty* 2005;20:1015–20.

62. Bori G, Soriano A, Garcia 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;129:591–5.
63. Nunez LV, Buttaro MA, Morandi A, Pusso R, Piccaluga F. Frozen sections of samples taken intraoperatively for diagnosis of infection in revision hip surgery. *Acta Orthop* 2007;78:226–30.
64. Nilsson-Augustinsson A, Briheim G, Herder A, Ljunghusen O, Wahlstrom O, Ohman L. Inflammatory response in 85 patients with loosened hip prostheses: a prospective study comparing inflammatory markers in patients with aseptic and septic prosthetic loosening. *Acta Orthop* 2007;78:629–39.
65. Muller M, Morawietz L, Hasart O, Strube P, Perka C, Tohtz S. Diagnosis of periprosthetic infection following total hip arthroplasty. Evaluation of the diagnostic values of pre- and intraoperative parameters and the associated strategy to preoperatively select patients with a high probability of joint infection. *J Orthop Surg Res* 2008;3:31.
66. Muller M, Morawietz L, Hasart O, Strube P, Perka C, Tohtz S. Histopathological diagnosis of periprosthetic joint infection following total hip arthroplasty: use of a standardized classification system of the periprosthetic interface membrane. *Orthopade* 2009;38:1087–96.
67. Cho WS, Byun SE, Cho WJ, Yoon YS, Dhurve K. Polymorphonuclear cell count on frozen section is not an absolute index of reimplantation in infected total knee arthroplasty. *J Arthroplasty* 2013;28:1874–7.
68. Arciola CR, Montanaro L, Costerton JW. New trends in diagnosis and control strategies for implant infections. *Int J Artif Organs* 2011;34:727–36.



69. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 1999;284:1318–22.
70. Hill KE, Malic S, McKee R, Rennison T, Harding KG, Williams DW, Thomas DW. An in vitro model of chronic wound biofilms to test wound dressings and assess antimicrobial susceptibilities. *J Antimicrob Chemother* 2010;65:1195–206.
71. Drago L, Romano CL, Mattina R, Signori V, De Vecchi E. Does dithiothreitol improve bacterial detection from infected prostheses? A pilot study. *Clin Orthop Relat Res* 2012;470:2915–25.
72. Zameer F, Gopal S. Evaluation of antibiotic susceptibility in mixed culture biofilms. *Intern J Biotech Biochem* 2010;6:93–9.
73. Osmon DR, Berbari EF, Berendt AR, Lew D, Zimmerli W, Steckelberg JM, Rao N, Hanssen A, Wilson WR. Executive summary: diagnosis and management of prosthetic joint infection: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2013;56:1–10.
74. Trampuz A, Piper KE, Jacobson MJ, Hanssen AD, Unni KK, Osmon DR, Mandrekar JN, Cockerill FR, Steckelberg JM, Greenleaf JF, Patel R. Sonication of removed hip and knee prostheses for diagnosis of infection. *N Engl J Med* 2007;357:654–63.
75. Mehra A, Hemmady MV, Nelson R, Hodgkinson JP. Bacteriology swab in primary total hip arthroplasty: does it have a role? *Int J Clin Pract* 2006;60:665–6.
76. Burnett RSJ, Aggarwal A, Givens SA, McClure JT, Morgan PM, Barrack RL. Prophylactic Antibiotics Do Not Affect Cultures in the Treatment of an Infected TKA: A Prospective Trial. *Clin Orthop Relat Res* 2009;468:127–34.

77. Tetreault MW, Wetters NG, Aggarwal V, Mont M, Parvizi J, Valle Della CJ. The Chitranjan Ranawat Award: should prophylactic antibiotics be withheld before revision surgery to obtain appropriate cultures? *Clin Orthop Relat Res* 2014;472:52-6.
78. Panousis K, Grigoris P, Butcher I, Rana B, Reilly JH, Hamblen DL. Poor predictive value of broad-range PCR for the detection of arthroplasty infection in 92 cases. *Acta Orthop* 2005;76:341-6.
79. Trampuz A, Zimmerli W. Prosthetic joint infections: update in diagnosis and treatment. *Swiss Med Wkly* 2005;135:243-51.
80. Romanò C. Antibiofilm agents and implant-related infections in orthopaedics: where are we? *J Chemother* 2013;25:67-80.
81. Gómez-Barrena E, Esteban J, Medel F, Molina-Manso D, Ortiz-Pérez A, Cordero-Ampuero J, Puértolas JA. Bacterial adherence to separated modular components in joint prosthesis: a clinical study. *J Orthop Res* 2012;30:1634-9.
82. Steinberg JP, Braun BI, Hellinger WC, Kusek L, Bozikis MR, Bush AJ, Dellinger EP, Burke JP, Simmons B, Kritchevsky SB. Timing of antimicrobial prophylaxis and the risk of surgical site infections: results from the Trial to Reduce Antimicrobial Prophylaxis Errors. *Ann Surg* 2009;250:10-6.
83. Stefansdottir A, Robertsson O, W-Dahl A, Kiernan S, Gustafson P, Lidgren L. Inadequate timing of prophylactic antibiotics in orthopedic surgery. We can do better. *Acta Orthop* 2009;80:633-8.
84. Stroh DA, Johnson AJ, Naziri Q, Mont MA. How do frozen and permanent histopathologic diagnoses compare for staged revision after periprosthetic hip infections? *J Arthroplasty* 2012;27:1663-8.

85. Somme D, Ziza JM, Desplaces N, Chicheportiche V, Chazerain P, Leonard P, Lhotellier L, Jaquenod P, Mamoudy P. Contribution of routine joint aspiration to the diagnosis of infection before hip revision surgery. *Joint Bone Spine* 2003;70:489–95.
86. Mukundan C, Rayan F, Kheir E, Macdonald D. Management of late periprosthetic femur fractures: a retrospective cohort of 72 patients. *Int Orthop (SICOT)* 2009;34:485–9.
87. Zuurmond RG, Van Wijhe W, Van Raay JJAM, Bulstra SK. High incidence of complications and poor clinical outcome in the operative treatment of periprosthetic femoral fractures: an analysis of 71 cases. *Injury* 2010;41:629–33.
88. Ko PS, Lam JJ, Tio MK, Lee OB, Ip FK. Distal fixation with Wagner revision stem in treating Vancouver type B2 periprosthetic femur fractures in geriatric patients. *J Arthroplasty* 2003;18:446–52.
89. Holley K, Zelken J, Padgett D, Chimento G, Yun A, Buly R. Periprosthetic fractures of the femur after hip arthroplasty: an analysis of 99 patients. *HSS J* 2007;3:190–7.
90. Lindahl H, Garellick G, Regner H, Herberts P, Malchau H. Three hundred and twenty-one periprosthetic femoral fractures. *J Bone Joint Surg Am* 2006;88:1215–22.

# 8

## **Publicacions**



# Interface membrane is the best sample for histological study to diagnose prosthetic joint infection

Guillem Bori<sup>1</sup>, Ernesto Muñoz-Mahamud<sup>1</sup>, Sebastián García<sup>1</sup>, Carme Mallofre<sup>2</sup>, Xavier Gallart<sup>1</sup>, Jordi Bosch<sup>3</sup>, Ester Garcia<sup>1</sup>, Josep Riba<sup>1</sup>, Josep Mensa<sup>4</sup> and Alex Soriano<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Department of Orthopaedic and Traumatology, Hospital Clínic, University of Barcelona, Barcelona, Spain;

<sup>2</sup>Department of Pathology, Hospital Clínic, University of Barcelona, Barcelona, Spain; <sup>3</sup>Department of Microbiology, Hospital Clínic, University of Barcelona, Barcelona, Spain and <sup>4</sup>Department of Infectious Diseases, Hospital Clínic, University of Barcelona, Barcelona, Spain

**The objective of our study was to study which is the most accurate specimen for histological diagnosis of prosthetic joint infections (pseudocapsule or interface membrane). This is a prospective study including hip revision arthroplasties performed from January 2007 to June 2009. Specimens from pseudocapsule and from interface membrane were obtained from each patient. The histology was considered positive for infection when  $\geq 5$  neutrophils per high-power field ( $\times 40$ ) were found. Definitive diagnosis of infection was considered when  $\geq 2$  cultures were positive for the same microorganism. According to the definition of infection, patients were classified in two groups: (A) patients with aseptic loosening in whom cultures obtained during surgery were negative and (B) patients with prosthetic joint infection. A total of 69 revisions were included in the study; 57 were classified in group A and 12 in group B. In group B, the percentage of positive interface membrane histology was significantly higher than the percentage of positive pseudocapsule histology (83 vs 42%,  $P=0.04$ , Fisher's exact test). The results suggest that periprosthetic interface membrane is the best specimen for the histological diagnosis of prosthetic joint infection.**

*Modern Pathology* (2011) 24, 579–584; doi:10.1038/modpathol.2010.219; published online 3 December 2010

**Keywords:** aseptic loosening; hip replacement; histology; infection; prosthesis; septic loosening

Infection after total joint arthroplasty is a challenging problem.<sup>1</sup> Microorganisms colonizing the implant surface are associated with prosthesis loosening. Cultures and polymorphonuclear leukocytes count from periprosthetic tissue are the gold standard for the diagnosis of prosthetic joint infections.<sup>2</sup> The specificity and sensitivity of histology has never been 100%<sup>3–21</sup> and this may be for different reasons.<sup>5,12,22,23</sup> False-positive results of histology could be because culture and histological specimens are taken from different areas.<sup>5,12,22</sup> False-negative results could be attributed to: (1) low virulent microorganisms like *Staphylococcus epidermidis*<sup>6,7,22,24,25</sup> or *Propionibacterium* spp.<sup>26,27</sup>

that do not stimulate neutrophile infiltration, (2) bacteriological contamination of the specimen obtained for culture<sup>12</sup> or (3) the cut-off point (number of neutrophils per field) to establish the diagnosis of infection.<sup>2,4,5,10,13,28–30</sup> Another possibility for inconsistencies in the histological results could be the type of specimen submitted to the laboratory. The majority of investigators obtain specimens from pseudocapsule, synovial surface, interface membrane and any tissue area suspected of infection.<sup>6–8,12,15,16,22</sup> The objective of our study was to study which is the most accurate specimen for histological diagnosis of prosthetic joint infection.

Correspondence: Dr G Bori, PhD, Department of Orthopedic and Traumatology, Hospital Clínic, University of Barcelona, C/Villar-roel 170 Escalera 12 Piso 4, 08036 Barcelona (Catalunya), Spain. E-mail: gbori@clinic.ub.es

Received 28 April 2010; revised 25 October 2010; accepted 25 October 2010; published online 3 December 2010

## Materials and methods

Prospective study including hip revision arthroplasties performed in our hospital from January 2007 to June 2009.

## Histological Protocol

Specimens from pseudocapsule and interface membrane were obtained for each patient. The pseudocapsule specimens studied were obtained from the part in contact with the neck of the prosthesis. The surface of the pseudocapsule that faces the joint cavity was identified and the sections were taken perpendicular to it. These surfaces were histologically identified in each specimen examined. Interface membranes from the femoral stem and from the acetabular cup were taken. The specimens for paraffin histology sections were formalin-fixed and paraffin-embedded before hematoxylin-eosin staining. The pathologists of our hospital used the Mirras' criteria (adapted by Feldman).<sup>2,13</sup> The histology was considered positive for infection when  $\geq 5$  neutrophils per high-power field ( $\times 40$ ) in at least five separate microscopic fields were found. The study was performed in paraffin sections and not in frozen sections avoiding histological technical bias.

## Microbiology

The specimens for the microbiological study were always taken before the administration of antibiotic prophylaxis. At the time of implant removal, at least five periprosthetic specimens from different sites were submitted to the laboratory for culture. Liquid samples were aspirated from the operative site using a sterile syringe and immediately inoculated into blood culture flasks (Bactec 9400, Becton Dickinson Diagnostic Instruments, Sparks, MD, USA) and incubated for 5 days. Positive flasks were subcultured in aerobic and anaerobic agar media. Swab cultures were obtained by rubbing a sterile swab (Deltalab, invasive sterile eutube collection swab with Stuart transport medium, Rubí, Catalonia, Spain) over the tissue area, bone or fluid suspected of infection. Solid tissue samples from pseudocapsule, periprosthetic membranes or tissue suspected to be infected were immediately placed into a separate sterile universal bottle. Solid tissue and swabs were cultured in aerobic and anaerobic agar media and in thioglycolate broth enriched with vitamin K and hemin and incubated for 10 days. Positive cultures were sent for identification and sensitivity testing.

## Patient Classification

Preoperative diagnosis of aseptic loosening was made when the patient had pain, erythrocyte sedimentation rate  $< 30$  mm/h and a serum concentration of C-reactive protein  $< 1.3$  mg per 100 ml, radiological signs of loosening, Technetium<sup>99m</sup> methylene diphosphonate scintigraphy and the Technetium<sup>99m</sup> hexamethylpropylene-amineoxine-labelled leukocytes scintigraphy were negative for

infection. In these patients revision was performed using one stage exchange.

Preoperative diagnosis of septic loosening was made when the patient had pain in the hip and/or fistula, erythrocyte sedimentation rate  $> 30$  mm/h and serum concentration of C-reactive protein  $> 1.3$  mg per 100 ml, radiological signs of loosening, Technetium<sup>99m</sup> methylene diphosphonate scintigraphy and the Technetium<sup>99m</sup> hexamethylpropylene-amineoxine-labelled leukocytes scintigraphy were positive for infection and when a culture of synovial fluid obtained by joint aspiration was positive. In these patients, revision was performed using a two stage exchange.

Definitive diagnosis of infection was considered when  $\geq 2$  intraoperative cultures were positive for the same microorganism or when there was pus surrounding the prosthesis.<sup>31</sup> Patients with  $\leq 1$  intraoperative positive culture were classified as non-infected.

Patients included in the study were classified in two groups:

*Group A:* patients submitted to hip revision arthroplasty because of a preoperative diagnosis of an aseptic loosening in whom the definitive diagnosis was as non-infected.

*Group B:* patients submitted to hip revision arthroplasty because of a preoperative diagnosis of a septic loosening in whom the definitive diagnosis was confirmed as infection.

Patients who underwent hip revision arthroplasty because of periprosthetic fracture<sup>4,12,15</sup> and patients with a preoperative diagnosis of aseptic loosening and a definitive diagnosis of infection were excluded for the study.<sup>6</sup>

## Statistical Analysis

The specificity (true negatives/false positives + true negatives), sensitivity (true positives/false negatives + true positives), positive predictive value (true positives/true positives + false positives) and negative predictive value (true negatives/true negatives + false negatives) of Mirras' criteria were evaluated. For comparison of proportions, a Fisher's exact test was applied and the differences were considered significant when  $P < 0.05$ .

## Results

During the study period, a total of 69 revisions hip arthroplasties were included; 57 were classified in group A and 12 in group B. The mean age was 65 years (range 45–85 years), 34 were women and 35 were men. The results of interface membrane, pseudocapsule histology and microbiology from group A and B are shown in Table 1.

The sensitivity, specificity, positive and negative predictive value of interface membrane histology were 83, 98, 91 and 96%, respectively (Table 2) and

**Table 1** Patients with preoperative diagnosis of aseptic loosening and definitive diagnosis of non-infected prosthesis (group A) and patients with preoperative diagnosis of septic loosening and definitive diagnosis of infected prosthesis (group B)

Interface membrane histology <sup>a</sup>	Pseudocapsule histology <sup>a</sup>	Culture	NP	Microorganism <sup>b</sup>	Li	So	Sw
<b>Group A</b>							
Negative	Negative	—	55	—	—	—	—
Negative	Positive	—	1	—	—	—	—
Positive	Negative	—	1	—	—	—	—
<b>Group B</b>							
Positive	Positive	+	1	<i>Staphylococcus aureus</i>	1/2	1/2	1/2
Positive	Positive	+	1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2/2	0/2	0/2
Positive	Positive	+	1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2/2	2/2	2/2
Positive	Positive	+	1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> /CNS	2/2	2/2	2/2
Positive	Positive	+	1	CNS	2/2	2/2	2/2
Positive	Negative	+	1	CNS	2/2	1/2	0/2
Positive	Negative	+	1	CNS	1/2	3/3	0/2
Positive	Negative	+	1	<i>Escherichia coli</i>	1/1	1/2	2/2
Positive	Negative	+	1	CNS	1/2	2/4	1/3
Positive	Negative	+	1	CNS	2/2	0/2	0/2
Negative	Negative	+	1	CNS	1/2	1/2	0/2
Negative	Negative	+	1	<i>Staphylococcus aureus</i>	2/2	2/2	0/2

Abbreviations: CNS, coagulase-negative staphylococci; NP, number of patients; Li, liquid samples; So, solid samples; Sw, swab samples.

<sup>a</sup>The result was considered positive for infection if there were more than five PMN per high-power field ( $\times 40$ ) in at least five separate microscopic fields.

<sup>b</sup>Number of positive samples/number of samples taken for culture.

**Table 2** Interface membrane histology and culture results in the 69 patients

Interface membrane histology <sup>a</sup>	Definitive diagnosis (culture) <sup>b</sup>		Total
	Positive	Negative	
Positive	10	1	11
Negative	2	56	58
Total	12	57	

<sup>a</sup>The result was considered positive for infection if there were more than 5 PMN per high-power field ( $\times 40$ ) in at least five separate microscopic fields in paraffin histology sections.

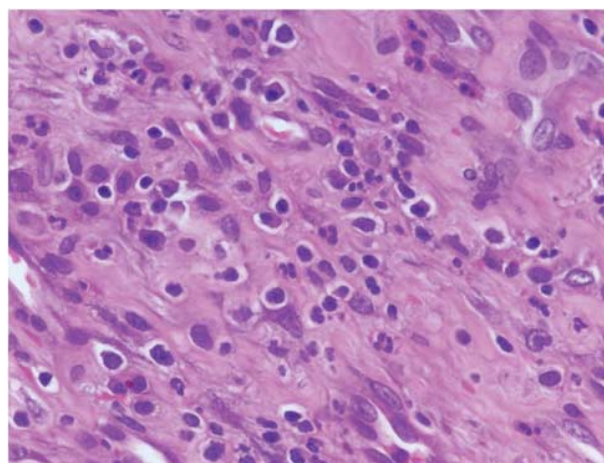
<sup>b</sup>Definitive diagnosis was considered positive for infection when  $\geq 2$  intraoperative cultures were positive for the same microorganism or the presence of pus around the prosthesis.

**Table 3** Pseudocapsule histology and culture results in the 69 patients

Pseudocapsule histology <sup>a</sup>	Definitive diagnosis (culture) <sup>b</sup>		Total
	Positive	Negative	
Positive	5	1	6
Negative	7	56	63
Total	12	57	

<sup>a</sup>The result was considered positive for infection if there were more than 5 PMN per high-power field ( $\times 40$ ) in at least five separate microscopic fields in paraffin histology sections.

<sup>b</sup>Definitive diagnosis was considered positive for infection when  $\geq 2$  intraoperative cultures were positive for the same microorganism or the presence of pus around the prosthesis.



**Figure 1** This photomicrograph is a paraffin section from periprosthetic interface membrane using hematoxylin-eosin in the first-stage arthroplasty. There are more than five neutrophils out of the vessels per high-power field ( $\times 40$ ). It is a positive criteria for infection, using Feldman's criteria.

of pseudocapsule histology were 42, 98, 83 and 83%, respectively (Table 3). In group B, the percentage of positive interface membrane histology (Figure 1) was significantly higher than the percentage of positive pseudocapsule histology (83 vs 42%,  $P = 0.04$ , Fisher's exact test).

The types of specimens used for the histological study in previous articles that evaluate the usefulness of histology in prosthetic loosening are summarized in Table 4.



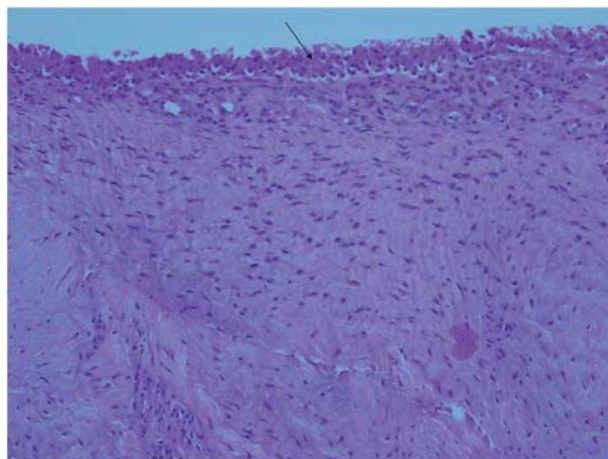
**Table 4** Summary of the main articles and type of specimens used for the histological study

Article	Specimen
Mirra <i>et al</i> <sup>13,14</sup>	Synovial and capsular tissues
Fehring <i>et al</i> <sup>9</sup>	Joint pseudocapsule, interface membrane and any area that appeared suspicious for possible infection <sup>a</sup>
Feldman <i>et al</i> <sup>2</sup>	Joint pseudocapsule and interface membrane
Athanasou <i>et al</i> <sup>4</sup>	Joint pseudocapsule and interface membrane
Lonner <i>et al</i> <sup>12</sup>	Joint pseudocapsule, interface membrane and any area that appeared suspicious for possible infection
Pace <i>et al</i> <sup>17</sup>	Joint pseudocapsule and interface membrane
Abdul-Karim <i>et al</i> <sup>3</sup>	Interface membrane (aseptic suspicion). Interface membrane, synovial tissue and unusually discolored tissue (septic suspicion)
Spanghehl <i>et al</i> <sup>19</sup>	Synovial surface
Pandey <i>et al</i> <sup>28,35</sup>	Joint pseudocapsule and interface membrane
Pons <i>et al</i> <sup>18</sup>	Synovial surface
Della Valle <i>et al</i> <sup>8</sup>	Joint pseudocapsule, granulation tissue and any area that appeared suspicious for possible infection
Banit <i>et al</i> <sup>5</sup>	Joint pseudocapsule and any area that appeared suspicious for possible infection
Musso <i>et al</i> <sup>15</sup>	Joint pseudocapsule, interface membrane and any area that appeared suspicious for possible infection
Ko <i>et al</i> <sup>11</sup>	Joint pseudocapsule, interface membrane and any area that appeared suspicious for possible infection <sup>a</sup>
Wong <i>et al</i> <sup>20</sup>	Synovial surface, joint pseudocapsule and interface membrane
Francés <i>et al</i> <sup>10</sup>	Periprosthetic soft tissue
Bori <i>et al</i> <sup>6,7,22</sup>	Joint pseudocapsule, interface membrane and any area that appeared suspicious for possible infection
Morawietz <i>et al</i> <sup>29,30</sup>	Interface membrane
Núñez <i>et al</i> <sup>16</sup>	Joint pseudocapsule, interface membrane and any area that appeared suspicious for possible infection
Nilsdotter <i>et al</i> <sup>36</sup>	Synovial surface and interface membrane
Della Valle <i>et al</i> <sup>34</sup>	Synovial surface
Kanner <i>et al</i> <sup>21</sup>	Periprosthetic soft tissue
Müller <i>et al</i> <sup>37,38</sup>	Interface membrane
Schinsky <i>et al</i> <sup>33</sup>	Synovial surface
Tohtz <i>et al</i> <sup>32</sup>	Interface membrane

<sup>a</sup>Include synovial proliferation, unusually pigmented tissue and areas of bone erosion.

## Discussion

Histology has been considered one of the gold standards for the diagnosis of prosthetic joint infection,<sup>2,4,18,29</sup> however, a low sensitivity has been observed by several authors.<sup>3,6–9,11,15,21</sup> These inconsistencies could be attributed to the type of patients included in each study,<sup>6–8</sup> the microbiological<sup>19,29,32</sup> or histological criteria applied for the diagnosis of infection<sup>2,4,5,28–30</sup> or the different specimens (interface membrane or pseudocapsule) submitted for the analysis.<sup>4</sup> Reviewing the literature (Table 4), there is a lot of variability in the specimen submitted for histological evaluation. Some investigators did not obtain interface membrane<sup>5,18,33,34</sup> and others did not define the type of specimen analyzed.<sup>10,13,21</sup> It is generally accepted that there is no important differences between tissue specimens.<sup>28,29,35</sup> To our knowledge, this is the first study comparing the results of the histology in two different specimens (interface membrane and pseudocapsule). The interface membrane had a higher sensitivity and predictive values than pseudocapsule. In fact, the proportion of infected patients with positive interface membrane was significantly higher than those with positive pseudocapsule (83 vs 42%,  $P=0.04$ ). Using only pseudocapsule, 7 out of 12 infected patients would not have been correctly diagnosed. Previously, Athanasou *et al*<sup>4</sup> suggested that more florid inflammation was generally found in femoral interface membrane than in joint pseudocapsule,



**Figure 2** This photomicrograph is a paraffin section from pseudocapsule without neutrophil infiltration from the same patient showed in Figure 1. Below the synovial surface (head of black arrow), a dense fibrous tissue with mature collagen fibers and ordered fibroblasts is shown.

however, this information was not quantified. A possible reason for our results could be the presence of fibrosis (Figure 2) in pseudocapsule that makes difficult the neutrophil infiltration<sup>7</sup> and the fact that the major bacterial biofilm is found between implant and bone.

Recently, there are a group of investigators<sup>29,30,32,37,38</sup> that have used only membranes (not

pseudocapsule) and have proposed a histopathological consensus classification for a standardized evaluation of the periprosthetic tissues. Our results support the selection of the interface membrane as a reference tissue for histological classification.

Although frozen section gives surgeons intraoperative information about the diagnosis, our study was performed on paraffin sections to avoid histological technical bias. It has been described that frozen sections have inferior quality than paraffin ones.<sup>10,19,32</sup> For instance, Tohtz *et al*<sup>32</sup> described a 19% of discrepancies (in 14 out of 64 cases) between frozen section and paraffin sections.<sup>32</sup>

The main drawback of our study was the low number of infected patients included. However, this study had enough statistical power to reveal differences between interface membrane and pseudocapsule specimens. Patients who underwent hip revision arthroplasty because of periprosthetic fracture were not included since it is a cause of false-positive histology results.<sup>4,12,15</sup> Patients with a preoperative diagnosis of aseptic loosening and a definitive diagnosis of infection were also not included since in our experience,<sup>6</sup> the sensitivity of the histology (using Mirras' criteria) in this group of patients is low.

In conclusion, our results suggest that the best specimen of periprosthetic soft tissue for histological diagnosis of the infection in a total hip revision arthroplasty is the periprosthetic interface membrane.

## Disclosure/conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

## References

- Bauer TW, Parvizi J, Kobayashi N, *et al*. Diagnosis of periprosthetic infection. *J Bone Joint Surg Am* 2006;88:869–882.
- Feldman DS, Lonner JH, Desai P, *et al*. The role of intraoperative frozen sections in revision total joint arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am* 1995;77:1807–1813.
- Abdul-Karim FW, McGinnis MG, Kraay M, *et al*. Frozen section biopsy assessment for the presence of polymorphonuclear leukocytes in patients undergoing revision of arthroplasties. *Mod Pathol* 1998;11:427–431.
- Athanasou NA, Pandey R, de SR, *et al*. Diagnosis of infection by frozen section during revision arthroplasty. *J Bone Joint Surg Br* 1995;77:28–33.
- Banit DM, Kaufer H, Hartford JM. Intraoperative frozen section analysis in revision total joint arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res* 2002;401:230–238.
- Bori G, Soriano A, Garcia S, *et al*. Low sensitivity of histology to predict the presence of microorganisms in suspected aseptic loosening of a joint prosthesis. *Mod Pathol* 2006;19:874–877.
- Bori G, Soriano A, Garcia S, *et al*. Usefulness of histological analysis for predicting the presence of microorganisms at the time of reimplantation after hip resection arthroplasty for the treatment of infection. *J Bone Joint Surg Am* 2007;89:1232–1237.
- la Valle CJ, Bogner E, Desai P, *et al*. Analysis of frozen sections of intraoperative specimens obtained at the time of reoperation after hip or knee resection arthroplasty for the treatment of infection. *J Bone Joint Surg Am* 1999;81:684–689.
- Fehring TK, McAlister Jr JA. Frozen histologic section as a guide to sepsis in revision joint arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res* 1994;304:229–237.
- Frances BA, Martinez FM, Cebrian Parra JL, *et al*. Diagnosis of infection in hip and knee revision surgery: intraoperative frozen section analysis. *Int Orthop* 2007;31:33–37.
- Ko PS, Ip D, Chow KP, *et al*. The role of intraoperative frozen section in decision making in revision hip and knee arthroplasties in a local community hospital. *J Arthroplasty* 2005;20:189–195.
- Lonner JH, Desai P, Dicesare PE, *et al*. The reliability of analysis of intraoperative frozen sections for identifying active infection during revision hip or knee arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am* 1996;78:1553–1558.
- Mirra JM, Amstutz HC, Matos M, *et al*. The pathology of the joint tissues and its clinical relevance in prosthesis failure. *Clin Orthop Relat Res* 1976;117:221–240.
- Mirra JM, Marder RA, Amstutz HC. The pathology of failed total joint arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res* 1982;170:175–183.
- Musso AD, Mohanty K, Spencer-Jones R. Role of frozen section histology in diagnosis of infection during revision arthroplasty. *Postgrad Med J* 2003;79:590–593.
- Núñez LV, Buttaro MA, Morandi A, *et al*. Frozen sections of samples taken intraoperatively for diagnosis of infection in revision hip surgery. *Acta Orthop* 2007;78:226–230.
- Pace TB, Jeray KJ, Latham Jr JT. Synovial tissue examination by frozen section as an indicator of infection in hip and knee arthroplasty in community hospitals. *J Arthroplasty* 1997;12:64–69.
- Pons M, Angles F, Sanchez C, *et al*. Infected total hip arthroplasty—the value of intraoperative histology. *Int Orthop* 1999;23:34–36.
- Spangehl MJ, Masri BA, O'Connell JX, *et al*. Prospective analysis of preoperative and intraoperative investigations for the diagnosis of infection at the sites of two hundred and two revision total hip arthroplasties. *J Bone Joint Surg Am* 1999;81:672–683.
- Wong YC, Lee QJ, Wai YL, *et al*. Intraoperative frozen section for detecting active infection in failed hip and knee arthroplasties. *J Arthroplasty* 2005;20:1015–1020.
- Kanner WA, Saleh KJ, Frierson Jr HF. Reassessment of the usefulness of frozen section analysis for hip and knee joint revisions. *Am J Clin Pathol* 2008;130:363–368.
- Bori G, Soriano A, Garcia S, *et al*. 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;129:591–595.
- Athanasou NA, Pandey R, de SR, *et al*. The role of intraoperative frozen sections in revision total joint arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am* 1997;79:1433–1434.
- Tunney MM, Patrick S, Curran MD, *et al*. Detection of prosthetic hip infection at revision arthroplasty by immunofluorescence microscopy and PCR amplification of the bacterial 16S rRNA gene. *J Clin Microbiol* 1999;37:3281–3290.

- 25 Savarino L, Baldini N, Tarabusi C, *et al*. Diagnosis of infection after total hip replacement. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2004;70:139–145.
- 26 Zeller V, Ghorbani A, Strady C, *et al*. Propionibacterium acnes: an agent of prosthetic joint infection and colonization. *J Infect* 2007;55:119–124.
- 27 Zappe B, Graf S, Ochsner PE, *et al*. Propionibacterium spp. in prosthetic joint infections: a diagnostic challenge. *Arch Orthop Trauma Surg* 2008;128:1039–1046.
- 28 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;52:118–123.
- 29 Morawietz L, Classen RA, Schroder JH, *et al*. Proposal for a histopathological consensus classification of the periprosthetic interface membrane. *J Clin Pathol* 2006;59:591–597.
- 30 Morawietz L, Tiddens O, Mueller M, *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;54:847–853.
- 31 Leone JM, Hanssen AD. Management of infection at the site of a total knee arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am* 2005;87:2335–2348.
- 32 Tohtz SW, Muller M, Morawietz L, *et al*. Validity of frozen sections for analysis of periprosthetic loosening membranes. *Clin Orthop Relat Res* 2009;468:762–768.
- 33 Schinsky MF, la Valle CJ, Sporer SM, *et al*. Perioperative testing for joint infection in patients undergoing revision total hip arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am* 2008;90:1869–1875.
- 34 la Valle CJ, Sporer SM, Jacobs JJ, *et al*. Preoperative testing for sepsis before revision total knee arthroplasty. *J Arthroplasty* 2007;22:90–93.
- 35 Pandey R, Berendt AR, Athanasou NA. Histological and microbiological findings in non-infected and infected revision arthroplasty tissues. The OSIRIS Collaborative Study Group. Oxford Skeletal Infection Research and Intervention Service. *Arch Orthop Trauma Surg* 2000;120:570–574.
- 36 Nilsson-Augustinsson A, Briheim G, Herder A, *et al*. Inflammatory response in 85 patients with loosened hip prostheses: a prospective study comparing inflammatory markers in patients with aseptic and septic prosthetic loosening. *Acta Orthop* 2007;78:629–639.
- 37 Muller M, Morawietz L, Hasart O, *et al*. Diagnosis of periprosthetic infection following total hip arthroplasty—evaluation of the diagnostic values of pre- and intraoperative parameters and the associated strategy to preoperatively select patients with a high probability of joint infection. *J Orthop Surg* 2008;3:31.
- 38 Muller M, Morawietz L, Hasart O, *et al*. Histopathological diagnosis of periprosthetic joint infection following total hip arthroplasty: use of a standardized classification system of the periprosthetic interface membrane. *Orthopade* 2009;38:1087–1096.

# Comparison of bacterial results from conventional cultures of the periprosthetic membrane and the synovial or pseudocapsule during hip revision arthroplasty

E. Muñoz-Mahamud · A. Soriano · A. Combalia · C. Medrano · J. Bosch · S. García · G. Bori

Received: 27 July 2013 / Published online: 14 January 2014  
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

## Abstract

**Introduction** Bacterial identification is essential to diagnose and treat a revision for prosthetic loosening of an infected hip. The purpose of this study was to determine whether conventional cultures from the periprosthetic membrane are superior to synovial/pseudocapsule samples in the diagnosis of infection in hip revision arthroplasty.

**Materials and methods** We performed a prospective study including all hip revisions from October 2009 to October of 2011. Once the implants were removed and prior to the administration of the antibiotic prophylaxis, six periprosthetic samples from different sites were sent to the laboratory for culturing: two periprosthetic fluid samples, two solid material (synovial/pseudocapsule) samples and two swabs. Once the six samples were taken, antibiotic prophylaxis was administered and just as the implant was removed, two more solid samples of the periprosthetic membrane were obtained.

**Results** Of a total of 86 hip revision surgeries, 22 were considered septic revisions postoperatively, of which 16 resulted in positive cultures. Of these 16 revisions, 14 obtained the same microbiologic diagnostic when considering either the synovial/pseudocapsule culture results or the solid membrane sample.

**Conclusions** We conclude that the membrane sample for a conventional culture is not superior to the synovial/pseudocapsule sample in detecting microorganisms.

**Keywords** Membrane · Hip arthroplasty · Revision · Cultures · Infection

## Introduction

Bacterial identification is essential to diagnose and treat a revision for prosthetic loosening of an infected hip. In chronic prosthetic joint infection, the majority of microorganisms are attached to the implant surface forming biofilms (sessile bacteria), whereas the amount of free floating (planktonic bacteria) in the periprosthetic tissue is small [1–9]. Current guidelines for diagnosis of periprosthetic joint infection consider that it is imperative that tissue for culture be obtained from representative periprosthetic tissue or fluid [10, 11]. Among these samples, it has been described that synovial fluid inoculated into blood culture flasks is the one with the highest sensitivity and specificity [1, 3]. However, these guidelines do not provide objective data regarding which one is the best solid tissue to identify microorganisms. It is accepted that at least three and optimally five or six periprosthetic intraoperative samples from the most suspicious areas of tissue as deemed by the orthopedic surgeon should be obtained for aerobic and anaerobic culture for the optimal diagnosis of PJI. Nonetheless,

---

E. Muñoz-Mahamud (✉) · A. Combalia · C. Medrano · S. García · G. Bori  
Bone and Joint Infectious Diseases Unit, Department of Orthopaedics and Trauma Surgery, Hospital Clinic of Barcelona, University of Barcelona, C/Villarroel 170, 08036 Barcelona, Spain  
e-mail: e.munoz.mahamud@gmail.com

E. Muñoz-Mahamud · A. Soriano · J. Bosch · S. García · G. Bori  
Bone and Joint Infectious Diseases Unit, Hospital Clinic of Barcelona, University of Barcelona, Barcelona, Spain

A. Soriano  
Department of Infectious Diseases, Hospital Clinic of Barcelona, University of Barcelona, Barcelona, Spain

J. Bosch  
Department of Microbiology, Hospital Clinic of Barcelona, University of Barcelona, Barcelona, Spain

to dilucidate which one is that most suspicious tissue still remains unspecific.

On a physiopathological level, it can be assumed that the membrane sample should be superior to the synovial/pseudocapsule sample, since the membrane is the closest tissue to the implant and hence to the biofilm. Moreover, in pathological terms, it has been described that there is more acute inflammatory reaction in the presence of neutrophils in the membrane than in the synovial/pseudocapsule [12]. Therefore, the possibility of finding more microorganisms in the membrane should also be greater.

Our hypothesis is that the membrane might be the best solid tissue so as to identify the presence of microorganisms. The objective of this study was to determine whether conventional cultures from the periprosthetic membrane are superior to synovial/pseudocapsule samples in the diagnosis of infection in hip revision arthroplasty.

## Materials and methods

This was a prospective study that included all the hip revisions that were performed in our hospital from October 2009 to October of 2011.

### Microbiology

When the implants were removed and before antibiotic prophylaxis was administered, six periprosthetic samples from different sites were sent to the laboratory for culturing: two periprosthetic fluid samples, two solid material (synovial/pseudocapsule) samples and two swabs. Once the six samples were taken antibiotic prophylaxis was administered and just as the implant was removed, two more solid samples of the periprosthetic membrane were obtained, one from the cup and one from the stem. If the revision was either of the cup or the stem independently of each other then two membrane samples were taken from the same site.

Synovial fluid was obtained through aspiration with a sterile syringe, immediately inoculated into Bactec9000® (Becton–Dickinson Diagnostic Instruments®, Sparks, Maryland) blood culture flasks (one 8–10 mL aerobic flask and one 8–10 mL anaerobic flask per synovial fluid sample) and then incubated for 5 days. If the system automatically detected microorganism growth, subcultures were done in aerobic and anaerobic agar media. Swab cultures were obtained by swabbing the periprosthetic tissue area, bone and fluids where infection was suspected with a sterile swab (Deltalab®, sterile Eurotube® collection swab with Stuart transport medium, Rubí, Catalonia, Spain). Solid periprosthetic tissue samples were immediately placed into a separate sterile recipient. Solid samples and swabs

were cultivated in both aerobic and anaerobic agar media (Columbia Blood Agar and Schaedler Blood Agar, respectively) as well as in fluid thioglycollate medium, which were all enriched with vitamin K and hemin; all the samples were then incubated for 10 days. Microorganism identification and proper antibiogram were performed in those cultures in which the Bactec9000® automatically detected the presence of microorganisms.

Definitive diagnosis of infection was determined when (1) there was a sinus tract communicating with the prosthesis, and/or (2) a pathogen was isolated by culture from at least two separate samples obtained intraoperatively [10, 11].

Two groups were created out of the six samples according to the solid sample that was taken: periprosthetic membrane group (Group A) and synovial/pseudocapsule group (Group B). In Group A, two fluid samples, two swabs and two periprosthetic membrane samples were taken to identify infection. In Group B two fluid samples, two swabs and two synovial/pseudocapsule samples were taken to identify infection. Therefore, the two fluid samples and the two swabs were the same for both groups. Once these two groups of six samples each were created, they were statistically analyzed so as to dilucidate if there were differences in the results that were obtained according to whether a solid membrane sample was considered (Group A) or a solid synovial/pseudocapsule sample was considered (Group B).

Quantitative results are reported as median and interquartile range (IQR). Qualitative, nominal and ordinal, results are reported as absolute frequencies and percentage (%). Qualitative variables were analyzed by means of Fisher's exact test. Analyses were performed using the SPSS® v. 20.0 statistical package (SPSS, Inc. Chicago, IL, USA). Two-sided  $p \leq 0.05$  was considered statistically significant.

## Results

A total of 86 hip revision surgeries were performed during the period of the study with a preoperative diagnosis of 50 aseptic revisions, 1 one-stage septic revision, 16 primary two-stage septic revisions, 18 secondary two-stage septic revisions and 1 one-stage revision due to a Vancouver type B2 periprosthetic fracture. The series included 32 men and 54 women with a median age of 74.0 (IQR 66–80) years.

Out of the 86 performed revisions, a total of 22 were considered as septic revisions postoperatively, and 16 had positive cultures (Table 1). Out of these 16 revisions, 14 were considered as positive considering both the synovial/pseudocapsule sample or the membrane sample as solid tissue ( $p = 0.484$ ); hence there were no statistically significant differences between group A and

**Table 1** Cultures of the patients diagnosed of septic revision due to positive culture

n	Preoperative diagnosis	Fluid	Swab	Membrane (group A)	Infection <sup>a</sup> (group A)	Microorganism (group A)		
				Capsule (group B)	Infection <sup>a</sup> (group B)	Microorganism (group B)		
1	Aseptic revision	1/2	2/2	2/2	Yes	CNS		
				2/2	Yes	CNS		
2	Aseptic revision	2/2	1/2	2/2	Yes	CNS		
				2/2	Yes	CNS		
3	2nd stage of septic revision	0/2	0/2	0/2	No	–		
				2/2	Yes	<i>S. capitis</i>		
4	1st stage of septic revision	2/2	0/2	1/2	Yes	<i>Streptococcus</i> spp		
				2/2	Yes	CNS		
5	Aseptic revision	2/2	0/2	0/2	Yes	<i>Corynebacterium</i> spp		
				2/2	Yes	<i>Corynebacterium</i> spp		
6	1st stage of septic revision	1/2	2/2	2/2	Yes	<i>S. aureus</i>		
				0/2	Yes	<i>S. aureus</i>		
7	1st stage of septic revision	2/2	2/2	1/2	Yes	<i>S. aureus</i>		
				2/2	Yes	<i>S. aureus</i>		
8	Aseptic revision	0/2	1/2	0/2	No	–		
				1/2	Yes	CNS		
9	1st stage of septic revision	2/2	0/2	0/2	Yes	CNS		
				2/2	Yes	CNS		
10	1st stage of septic revision	2/2	1/2	1/2	Yes	<i>E. coli</i>		
								<i>Klebsiella</i> spp
							Yes	<i>E. coli</i>
								<i>Klebsiella</i> spp
11	1st stage of septic revision	2/2	2/2	1/2	Yes	<i>S. aureus</i>		
				1/2	Yes	<i>S. aureus</i>		
12	1st stage of septic revision	2/2	2/2	0/2	Yes	<i>S. aureus</i>		
				2/2	Yes	<i>S. aureus</i>		
13	Aseptic revision	2/2	1/2	1/2	Yes	CNS		
				1/2	Yes	CNS		
14	1st stage of septic revision	2/2	1/2	2/2	Yes	<i>S. aureus</i>		
				2/2	Yes	<i>S. aureus</i>		
15	1st stage of septic revision	2/2	2/2	2/2	Yes	<i>S. aureus</i>		
				2/2	Yes	<i>S. aureus</i>		
16	1st stage of septic revision	2/2	2/2	0/2	Yes	<i>S. gordonii</i>		
				2/2	Yes	<i>S. gordonii</i>		

CNS coagulase-negative *staphylococci*

<sup>a</sup> Infection was determined when: (1) there was a sinus tract communicating with the prosthesis; and/or (2) a pathogen was isolated by culture from at least two separate samples obtained intraoperatively [8, 9]

group B. There were only two cases of discrepancies between the definitive diagnosis of an aseptic or septic revision according to whether the sample was either from the synovial/pseudocapsule or the membrane: in both cases (cases three and eight), if the solid membrane sample had been considered the revision would not have been diagnosed as infected, whereas if the solid synovial/pseudocapsule sample had been considered the revision would have been diagnosed as septic.

There were five cases (cases 5, 6, 9, 12 and 16) where a discrepancy was found with respect to the solid cultures depending on whether the sample was from the synovial/pseudocapsule or the membrane, but the final diagnosis was the same for both of the solid samples since the other cultures (fluids and swabs) were all positive as well ( $p = 0.083$ ).

There were two cases where discrepancies were found in relation to the microorganism that was identified in the solid



samples: in one case (case four), on the synovial/pseudocapsule grew one coagulase-negative *staphylococci* (CNS) in two of the samples (the same as in one of the fluid samples), but on the membrane grew a *Streptococcus* spp in one sample (the same as in one of the fluid samples); in another case (case ten), whereas on the synovial/pseudocapsule grew one CNS in one sample (the same as in one of the swab samples) and on the membrane grew one *E. coli* and one *Klebsiella* spp in one sample (the same as in two of the fluid samples). This latter case was the only case of polymicrobial infection. The most frequent microorganism was CNS in seven cases, followed by *S. aureus* in six of the cases.

## Discussion

The antibiotic treatment of an infection of a prosthetic loosening of a chronic infected hip is prolonged and determining the implicated etiological microorganism is essential to select the most suitable antimicrobial therapy. In chronic periprosthetic infections the number of free-floating bacteria in the periprosthetic tissues is low since the majority is part of a biofilm [2, 5–9]. As a result, it is a logical procedure for the surgeon to take more than one sample during the revision arthroplasty to identify the microorganism that is causing the infection. There is a general consensus that during a revision arthroplasty for chronic loosening more than one sample must be taken and many authors take up to six different samples [10, 13–15]. However, there is a difference of opinion among the authors as to what type of sample should be taken for conventional cultures. This fact is of paramount importance since the sensitivity of the different periprosthetic samples (fluid, solid or swab) is different [1, 3]. According to the literature, authors use all kinds of different combinations of the type of samples that are used for conventional cultures: solid samples [16, 17], swabs [3, 18–20], solid and fluid [21], solid and swabs [22] or a combination of the three types of samples [13]. Some studies have recently highlighted swabs' low sensitivity [3, 23] and current guidelines [10, 11] do not include them in the criteria to define periprosthetic joint infection. In fact, our results remain in concordance with the published data, as 4 of the 16 cases had false-negative swabs (25 % false-negative rate). Furthermore, in four additional patients, only one out of two swab cultures were positive, whereas 2–4 of the rest of tissue cultures were positive. There are still some authors who emphasize that swabs may have a role and may help in diagnosis, since some patients would not have been diagnosed as infected if swabs had not been performed [3, 18]. Accordingly, one of our patients (case eight) would have been misdiagnosed if swab samples had not been

cultured. Anyway, as current guidelines dictate [10, 11], swabs should not be considered for the diagnosis of prosthetic infection anymore and, therefore, they should be avoided.

According to the literature, the samples with the highest sensitivity seem to be synovial or periprosthetic fluid inoculated into blood culture flasks, when compared with the cultures of solid periprosthetic material or swabs. Levine and Evans [1], in a study involving 24 patients, described a 92 % sensitivity for fluids inoculated into blood culture flasks, 46 % for solid periprosthetic material and 64 % for swabs. Recently, our research group corroborated these results and found an 86 % sensitivity for fluids inoculated into blood culture flasks, 69 % for solid periprosthetic material and 61 % for swabs [3]. However, in the current study the aim was to determine if the periprosthetic membrane as a solid sample for conventional cultures increases the results in conventional cultures in comparison with the solid samples obtained from the synovial or pseudocapsule when diagnosing infection during revision.

In prosthetic joint infections, microorganisms may be present in one of two forms: either suspended floating (planktonic bacteria) or attached to the biomaterial surface (sessile bacteria). Both forms exist simultaneously being not mutually exclusive. Most of microorganisms are found attached rather than suspended and often reside in biofilms [4]. This phenomenon raises a first clinical problem, concerning pathogen identification. Routine culture methods were in fact developed for identifying planktonic bacteria in acute infections. However, in prosthetic joint infections, a majority of bacteria are viable yet not culturable since they are in their sessile state. These microorganisms can be clearly identified only using advanced techniques, whereas traditional sampling and cultural examination do often fail [1–7]. For this reason, one would assume that the membrane sample (the closest tissue to the implant) should be superior to the synovial or pseudocapsule sample, since in a chronic joint prosthesis infection the majority of the microorganisms are found on the surface of the implant forming biofilms.

Moreover, in pathological terms, it has been described that there is more acute inflammatory reaction with presence of neutrophils in the membrane than in the synovial/pseudocapsule [2, 4–9, 12]. Therefore, the possibility of finding more microorganisms in the membrane should also be greater. Despite these facts, our results show that the solid membrane samples did not increase the number of patients diagnosed as infected. Actually, when exclusively considering the solid membrane sample (ignoring the synovial/pseudocapsule samples), there were two patients (cases three and eight) that were not diagnosed as infected.

A possible explanation for the obtained results might be that the quantity of solid synovial/pseudocapsule sample

that was sent to the microbiology laboratory was greater than the solid membrane sample since it is more easily accessible to the surgeon during the intervention. Moreover, as the fluid sample is considered to be the most sensitive [1, 3, 10, 11], it should be kept in mind that the sample that is in contact and immersed in this fluid is the synovial/pseudocapsule, sample and not the membrane sample. At the moment in which we started the study, we were concerned about the fact that when the solid synovial/pseudocapsule samples were being taken the patient had not yet received antibiotic prophylaxis but when the periprosthetic membrane sample was taken the patient had already received antibiotic prophylaxis. Preoperative antibiotics are known to be critical for decreasing the risk of periprosthetic joint infection (PJI) in primary THA and TKA. However, antibiotics often are withheld before revision surgery, as there is concern that even a single dose of prophylactic antibiotics may affect intraoperative cultures. Despite lacking clear evidence regarding the best moment to infuse an antibiotic during arthroplasty surgery yet [24, 25], recent randomized trials suggested that prophylactic antibiotics do not affect cultures [19, 20], and, therefore, the administration of the antibiotics should not pose any bias for the results of the cultures. Thus, it can be concluded that the solid sample taken from the periprosthetic membrane is not superior to the solid sample taken from the synovial/pseudocapsule, when diagnosing a periprosthetic infection.

Last, it is worth mentioning that even with improved sampling procedures the detection of infection by culture may still underestimate the real incidence of infection. As a matter of fact, there are currently multiple approaches to solve this problem including direct diagnostics of the biofilm and biomarkers. The detection of bacteria in sonicates from patients with culture-negative implants indicates that these implants were colonized by bacteria which were not isolated by the microbiological techniques used. This may be because the implants were infected with viable but non-culturable bacteria. The process of 16S ribosomal deoxyribonucleic acid (rDNA) polymerase chain reaction (PCR) and sequencing of biofilm removed from the explanted prosthesis is an important addition to conventional culture methods in prosthetic joint infection, detecting additional pathogens and improving diagnostic sensitivity [26]. It has been described that molecular detection can increase (by one-tenth) the number of patients diagnosed as having an infection [27]. So as to improve both the sensitivity and the specificity of the PCR, innovations such as the PCR-Electrospray ionization mass spectrometry have been described [28]. The detection of bacterial rRNA genes as an indicator of the presence of bacteria is an established technique that has been used for the detection of both environmental and medically important bacteria. In fact, PCR amplification

of bacterial 16S rRNA genes has been used successfully to detect bacteria that cause a variety of acute or subacute medical infections [29]. In infections such as those of prosthetic joints, however, in which the infectious agents are opportunistic, the potential contamination of samples must be addressed. The direct immunological detection of bacteria in clinical samples can be achieved by the use of monoclonal antibodies (MAbs) and polyclonal antiserum prepared against the bacteria implicated in the clinical infection [29]. This technique allows the direct visualization of the bacterial morphology and visual comparison with potential contamination. The role of molecular techniques in the diagnosis of prosthetic joint infection remains unclear and still reveals several limitations, such as poorly formulated gold standard criteria or the difficult interpretation of false-positive results when post-PCR sequencing is not used [30].

Nevertheless, both tissue culture and PCR can identify bacteria but are susceptible to contamination in the surgical field, during sample handling, and in the laboratory setting. Therefore, confidence in treating a patient based solely on these tests is mitigated by the concern for a false-positive result. For this reason, protein profiling as biomarkers for the purpose of prosthetic joint infection seems to hold great promise. Several proteins that have been previously associated with inflammatory conditions and that appear to be useful as clinical indicators for the presence of infection have been identified [31]. If a reliable, effective marker or set of markers for diagnosing prosthetic joint infection can be identified, a quick test for its diagnosis may be on the horizon. It has been demonstrated that inflammatory proteins can be detected in synovial fluid and its concentrations ascertained and these varying concentrations align well with the presence or absence of prosthetic joint infection [31]. Leukocyte esterase reagent strips have been proposed as a useful point-of-care screening test with a 100 % negative predictive value in the setting of revision surgery. It has been reported that even with its subjectivity, these rapid, inexpensive and sensitive strips can quickly rule out infection in cases that show a negative result [32]. Because the synovial fluid white blood cells express specific genes when the etiology for inflammation is bacterial, a more specific measure of the host response to infection could potentially be developed. In fact, proteins such as IL-1B, IL-1 $\alpha$ , IL-6, IL-17, G-CSF, IL-8, VEGF or  $\alpha$ 2 M have shown excellent diagnostic performance [31, 33]. Other new biomarkers such as  $\alpha$ -defensin have shown encouraging results which provide an additional valuable resource in the diagnosis of periprosthetic infection [34].

**Conflict of interest** At the time of publication none of the authors disclosed any potential conflicts of interest. All authors declare that



they have no affiliations that might affect the objective and scientific presentation of this research.

## References

- Levine BR, Evans BG (2001) Use of blood culture vial specimens in intraoperative detection of infection. *Clin Orthop Relat Res* 382:222–231
- Gómez-Barrena E, Esteban J, Medel F, Molina-Manso D, Ortiz-Pérez A, Cordero-Ampuero J, Puértolas JA (2012) Bacterial adherence to separated modular components in joint prosthesis: a clinical study. *J Orthop Res* 30(10):1634–1639
- Font-Vizcarra L, García S, Martínez-Pastor JC, Sierra JM, Soriano A (2010) Blood culture flasks for culturing synovial fluid in prosthetic joint infections. *Clin Orthop Relat Res* 468(8):2238–2243
- Romanò C (2013) Antibiofilm agents and implant-related infections in orthopaedics: where are we? *J Chemother* 25(2):67–80
- Arciola CR, Montanaro L, Costerton JW (2011) New trends in diagnosis and control strategies for implant infections. *Int J Artif Organs* 34:727–736
- Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP (1999) Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 284:1318–1322
- Hill KE, Malic S, McKee R, Rennison T, Harding KG, Williams DW (2010) An in vitro model of chronic wound biofilms to test wound dressings and assess antimicrobial susceptibilities. *J Antimicrob Chemother* 65:1195–1206
- Drago L, Romanò CL, Mattina R, Signori V, De Vecchi E (2012) Does dithiothreitol improve bacterial detection from infected prosthesis? A pilot study. *Clin Orthop Relat Res* 470(10):2915–2925
- Zameer F, Gopal S (2010) Evaluation of antibiotic susceptibility in mixed culture biofilms. *Intern J Biotech Biochem* 6:93–99
- Osmon DR, Berbari EF, Berendt AR, Lew D, Zimmerli W, Steckelberg JM, Rao N, Hanssen A, Wilson WR (2013) Diagnosis and management of prosthetic joint infection: clinical practice guidelines by the infectious diseases society of America. *Clin Infect Dis* 56(1):1–25
- Parvizi J, Zmistowski B, Berbari EF, Bauer TW, Springer BD, Valle Della CJ, Garvin KL, Mont MA, Wongworawat MD, Zalavras CG (2011) New definition for periprosthetic joint infection: from the workgroup of the musculoskeletal infection society. *Clin Orthop Relat Res* 469(11):2992–2994
- Bori G, Muñoz Mahamud E, García S, Mallofre C, Gallart X, Bosch J, García E, Riba J, Mensa J, Soriano A (2011) Interface membrane is the best sample for histological study to diagnose prosthetic joint infection. *Mod Pathol* 24(4):579–584
- Bori G, Soriano A, García S, Mallofre C, Riba J, Mensa J (2007) Usefulness of histological analysis for predicting the presence of microorganisms at the time of reimplantation after hip resection arthroplasty for the treatment of infection. *J Bone Jt Surg Am* 89(6):1232–1237
- Atkins BL, Athanasou N, Deeks JJ, Crook DW, Simpson H, Peto TE, McLardy-Smith P, Berendt AR (1998) Prospective evaluation of criteria for microbiological diagnosis of prosthetic-joint infection at revision arthroplasty. The OSIRIS collaborative study group. *J Clin Microbiol* 36(10):2932–2939
- Trampuz A, Piper KE, Jacobson MJ, Hanssen AD, Unni KK, Osmon DR, Mandrekar JN, Cockerill FR, Steckelberg JM, Greenleaf JF, Patel R (2007) Sonication of removed hip and knee prostheses for diagnosis of infection. *N Engl J Med* 357(7):654–663
- Pandey R, Berendt AR, Athanasou NA (2000) Histological and microbiological findings in non-infected and infected revision arthroplasty tissues. The OSIRIS collaborative study group. Oxford skeletal infection research and intervention service. *Arch Orthop Trauma Surg* 120(10):570–574
- Mason JB, Fehring TK, Odum SM, Griffin WL, Nussman DS (2003) The value of white blood cell counts before revision total knee arthroplasty. *J Arthroplast* 18(8):1038–1043
- Mehra A, Hemmady MV, Nelson R, Hodgkinson JP (2006) Bacteriology swab in primary total hip arthroplasty: does it have a role? *Int J Clin Pract* 60(6):665–666
- Burnett RSJ, Aggarwal A, McClure JT, Morgan PM, Barrack RL (2009) Prophylactic antibiotics do not affect cultures in the treatment of an infected TKA: a prospective trial. *Clin Orthop Relat Res* 468(1):127–134
- Tetreault MW, Wetters NG, Aggarwal V, Mont M, Parvizi J, Valle Della CJ (2013) The Chitranjan Ranawat Award: should prophylactic antibiotics be withheld before revision surgery to obtain appropriate cultures? *Clin Orthop Relat Res* 30. doi:10.1007/s11999-013-3016-5 (Epub ahead of print)
- Panousis K, Grigoris P, Butcher I, Rana B, Reilly JH, Hamblen DL (2005) Poor predictive value of broad-range PCR for the detection of arthroplasty infection in 92 cases. *Acta Orthop* 76(3):341–346
- Spangehl MJ, Masri BA, O'Connell JX, Duncan CP (1999) Prospective analysis of preoperative and intraoperative investigations for the diagnosis of infection at the sites of two hundred and two revision total hip arthroplasties. *J Bone Jt Surg Am* 81(5):672–683
- Trampuz A, Zimmerli W (2005) Prosthetic joint infections: update in diagnosis and treatment. *Swiss Med Wkly* 24:1–10
- Steinberg JP, Braun BI, Hellinger WC, Kusek L, Bozikis MR, Bush AJ, Dellinger EP, Burke JP, Simmons B, Kritchevsky SB (2009) Timing of antimicrobial prophylaxis and the risk of surgical site infections: results from the trial to reduce antimicrobial prophylaxis errors. *Ann Surg* 250(1):10–16
- Stefánsdóttir A, Robertsson O, W-Dahl A, Kiernan S, Gustafson P, Lidgren L (2009) Inadequate timing of prophylactic antibiotics in orthopedic surgery. We can do better. *Acta Orthop* 80(6):633–638
- Suda A, Kommerell M, Geiss HK, Burckhardt I, Zimmermann S, Zeifang F, Lehner B (2013) Prosthetic infection: diagnostic procedures using 16S ribosomal deoxyribonucleic acid polymerase chain reaction. *Int Orthop* 37(12):2515–2521
- Esteban J, Alonso-Rodríguez N, del-Prado G, Ortiz-Pérez A, Molina-Manso D, Cordero-Ampuero J, Sandoval E, Fernández-Roblas R, Gómez-Barrena E (2012) PCR-hybridization after sonication improves diagnosis of implant-related infection. *Acta Orthop* 83:299–304
- Greenwood-Quaintance KE, Uhl JR, Hanssen AD, Sampath R, Mandrekar JN, Patel R (2013) Diagnosis of prosthetic joint infection (PJI) using polymerase chain reaction-electrospray ionization mass spectrometry (PCR-ESI/MS). *J Clin Microbiol*. doi:10.1128/JCM.03217-13
- Tunney MM, Patrick S, Curran MD, Ramage G, Hanna D, Nixon JR, Gorman SP, Davis RI, Anderson N (1999) Detection of prosthetic hip infection at revision arthroplasty by immunofluorescence microscopy and PCR amplification of the bacterial 16S rRNA gene. *J Clin Microbiol* 37(10):3281–3290
- Marin M, Garcia-Lechuz JM, Alonso P, Villanueva M, Alcalá L, Gimeno M, Cercenado E, Sánchez-Somolinos M, Radice C, Bouza E (2012) Role of universal 16S rRNA gene PCR and sequencing in diagnosis of prosthetic joint infection. *J Clin Microbiol* 50(3):583–589
- Jacovides CL, Parvizi J, Adeli B, Jung KA (2011) Molecular markers for diagnosis of periprosthetic joint infection. *J Arthroplast* 26(6):99–103

32. Wetters NG, Berend KR, Lombardi AV, Morris MJ, Tucker TL, Valle Della CJ (2012) Leukocyte esterase reagent strips for the rapid diagnosis of periprosthetic joint infection. *J Arthroplast* 27(8):8–11
33. Deirmengian C, Hallab N, Tarabishy A, Valle Della C, Jacobs JJ, Lonner J, Booth RE Jr (2010) Synovial fluid biomarkers for periprosthetic infection. *Clin Orthop Relat Res* 468(8):2017–2023
34. Ahn JK, Huang B, Bae EK, Park EJ, Hwang JW, Lee J, Koh EM, Cha HS (2013) The role of  $\alpha$ -defensin-1 and related signal transduction mechanisms in the production of IL-6, IL-8 and MMPs in rheumatoid fibroblast-like synoviocytes. *Rheumatol (Oxford)* 52(8):1368–1376





## Usefulness of Histology for Predicting Infection at the Time of Hip Revision for the Treatment of Vancouver B2 Periprosthetic Fractures

Ernesto Muñoz-Mahamud, MD <sup>a,b</sup>, Guillem Bori, MD, PhD <sup>a,b</sup>, Sebastián García, MD, PhD <sup>a,b</sup>, José Ramírez, MD, PhD <sup>c</sup>, Josep Riba, MD, PhD <sup>a</sup>, Alejandro Soriano, MD, PhD <sup>b,d</sup>

<sup>a</sup> Department of Orthopaedic Surgery and Traumatology, Hospital Clínic of Barcelona, University of Barcelona, Barcelona, Spain

<sup>b</sup> Bone and Joint Infectious Diseases Unit, Hospital Clínic of Barcelona, University of Barcelona, Barcelona, Spain

<sup>c</sup> Department of Pathology, Hospital Clínic of Barcelona, University of Barcelona, Barcelona, Spain

<sup>d</sup> Department of Infectious Diseases, Hospital Clínic of Barcelona, University of Barcelona, Barcelona, Spain

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 27 July 2012

Accepted 18 December 2012

#### Keywords:

periprosthetic fractures

hip

arthroplasty

histology

cultures

infection

### ABSTRACT

When facing a Vancouver B2 periprosthetic fracture, the most recommended treatment is the prosthesis replacement. Current tests do not provide enough reliability to identify whether the fracture has been produced on a septic or an aseptic loosened prosthesis. Our aim was to evaluate the usefulness of the histology for the diagnosis of infection in these cases. A total of 11 hip revision procedures were performed (mean age: 78.1 years, 8 women and 3 men). Sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of the histology were 100%, 55.5%, 33.3% and 100% respectively. Of the six patients presenting with a positive histology, four of them had negative cultures (66.6% of false positives). Our results suggest that periprosthetic fractures are a cause of false-positive histology results for the diagnosis of infection during revision of a hip prosthesis for the treatment of Vancouver B2 periprosthetic fractures.

© 2013 Elsevier Inc. All rights reserved.

To establish the correct diagnosis of prosthetic joint infection (PJI) is challenging, especially when a periprosthetic fracture is associated [1]. A periprosthetic fracture can result as a consequence of a high-energy traumatism on a non-loosened prosthesis or either a low-energy traumatism on a prosthesis that is already loosened. When the patient presents with a Vancouver B2 periprosthetic fracture, the most recommended treatment is the prosthesis replacement [2]. If the replacement is performed on a prosthesis septically loosened, the risk of prosthetic infection is high. When facing a loosened prosthesis, the most used tests in order to differentiate between aseptic and septic etiology are the clinical data [3], laboratory tests [C-reactive protein (CRP), erythrocyte sedimentation rate (ESR), interleukin-6] [4,5], bone scintigraphy in combination with labeled leukocyte scintigraphy [6] and preoperative cultures from samples obtained by computerized tomography or ultrasonography guided aspiration of the joint [7,8]. However, these tests do not provide enough sensibility and specificity to identify whether the fracture has been produced on a septic or an aseptic loosened prosthesis. This means that the final diagnosis is provided

by the cultures and/or the neutrophil count of the periprosthetic tissues obtained during the revision surgery. Despite having been suggested that periprosthetic fractures might be a cause of false positive of the histology for the diagnosis of PJI [9–14], no series have been reported this fact in the literature. The aim of our study was to evaluate the usefulness of the histology for the diagnosis of infection during a hip prosthesis replacement for the treatment of a Vancouver B2 periprosthetic fracture.

### Material and Methods

From January 2007 to July 2011, all patients admitted at our hospital presenting with a Vancouver B2 periprosthetic hip fracture treated with hip prosthesis replacement were prospectively registered in a database and retrospectively reviewed. Vancouver B1 and C periprosthetic hip fractures were not included since the most recommended treatment is the synthesis of the fracture without revision of the prosthesis [2]. Vancouver B3 periprosthetic fractures require removal of the prosthesis [2], however no such fracture was admitted in our hospital during the study period. All patients were operated on in the same hospital. In all patients the prosthesis was replaced and the fracture was treated using a plate and a deep-frozen cortical strut allograft. Samples for microbiology were always taken before the administration of antibiotics and samples for histology were taken after the implant removal from the femoral

The Conflict of Interest statement associated with this article can be found at <http://dx.doi.org/10.1016/j.arth.2012.12.016>.

Reprint requests: Ernesto Muñoz-Mahamud, MD, Department of Orthopaedic Surgery and Traumatology, Bone and Joint Infectious Diseases Unit, Hospital Clínic of Barcelona, University of Barcelona, C/Villarroel 170, Barcelona 08036, Spain.

stem. The standard antibiotic prophylaxis regimen consisted of ceftazidime and vancomycin. The patients made the follow-up in the same hospital.

#### Protocol of Histology

The samples for the histological study were obtained from the periprosthetic membrane from the femoral stem. The samples were formalin fixed and paraffin embedded; 4- $\mu$ m sections were cut and stained with hematoxylin–eosin.

The Department of Pathology of our hospital uses the Mirra's criteria (adapted by Feldman) [3,15], which means that the histology is considered positive for infection when  $\geq 5$  neutrophils per high-power field (400 $\times$ ) were found in at least five separate microscopic fields.

#### Microbiology

The samples for the microbiological study were always taken before the administration of antibiotic prophylaxis. At the time of prosthesis removal, at least six periprosthetic samples from different sites were submitted to the laboratory for culture. Liquid samples that were aspirated from the operative site with use of sterile syringe were immediately inoculated into Batec 9000 Blood Culture Systems (Becton Dickinson Diagnostic Instruments, Sparks, Maryland) and were incubated for 5 days. Positive flasks were subcultured in aerobic and anaerobic agar media. Swab samples were obtained by passing a sterile swab (Delta-lab invasive sterile eurotube collection swab with Stuart transport medium; Rubí, Catalonia, Spain) over the area of tissue, bone, or fluid that was suspected of being infected. Solid periprosthetic tissue samples were immediately placed into a separate sterile universal bottle. Solid tissue samples and swab samples were cultured in both aerobic and anaerobic agar media and in thioglycolate broth enriched with vitamin K and hemin and were incubated for 10 days. Positive cultures were sent for organism identification and sensitivity testing. Patients with positive culture received a minimum of 6 weeks of antibiotics based on known sensitivities of the infecting organism.

#### Statistical Analysis

The specificity (true negatives/[false positives + true negatives]), sensitivity (true positives/[false negatives + true positives]), positive predictive value (true positives/[true positives + false positives]), and negative predictive value (true negatives/[true negatives + false negatives]) regarding the Mirra's criteria (adapted by Feldman) were evaluated, with growth of the same microorganism on at least two cultures of deep samples of periprosthetic tissue being used and/or presence of pus surrounding the prosthesis as gold standard for defining infection [16].

#### Source of Funding

At the time of publication none of the authors disclosed any potential conflicts of interest. All authors declare that they have no affiliations that might affect the objective and scientific presentation of this research. All authors have full control of all primary data and they agree to allow the journal to review their data if requested.

#### Results

A total of 11 hip revision procedures for the treatment of a Vancouver B2 periprosthetic fracture were performed during the study period. The mean age was 78.1 years (range: 45–90), including eight women and three men. The results of both the cultures and the histology of the samples are shown in Table 1.

**Table 1**  
Results of the Cultures and the Histological Analysis of the Samples Obtained from the 11 Cases.

n	Age	Gender	Histology	Cultures	Microorganism	Follow-Up
1	80	F	+	+	CNS	Good
2	79	F	+	–	Negative	Good
3	89	F	–	–	Negative	Good
4	86	F	–	–	Negative	SI
5	78	M	+	–	Negative	Good
6	45	M	+	+	CNS + <i>S. viridans</i>	Good
7	88	F	–	–	Negative	Exitus
8	80	F	+	–	Negative	Dislocation
9	63	M	–	–	Negative	Good
10	81	F	+	–	Negative	Good
11	90	F	–	–	Negative	Good

F: female, M: male, CNS: coagulase-negative *staphylococci*, SI: superficial infection.

Sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of the histology were 100%, 55.5%, 33.3% and 100% respectively (Table 2). Of the six patients presenting with a positive histology, four of them had negative cultures (66.6% of false positives).

Patients with positive histology and negative cultures received antibiotic prophylaxis with vancomycin and ceftazidime until culture results were obtained. Those patients with both histology and cultures positive received either antibiotic prophylaxis with vancomycin and ceftazidime and then antibiotic treatment according to the antibiogram results for at least 6 weeks. Of the 11 patients, 8 had no complication and 3 had different complications. Patient 4 presented a superficial infection of the surgical wound, which was treated with oral antibiotics, with a good evolution. Patient 7 died 20 days after surgery due to respiratory problems not related to the surgery. Patient 8 presented a hip prosthesis dislocation 1 week after the surgery and a cup revision was performed. Cultures obtained during revision were negative again.

#### Discussion

The usefulness of the histology for the diagnosis of periprosthetic infection has been previously described by some authors [3,17–20]. However, low sensitivity has been reported as well [14,21–26]. This discrepancy might be due to the different criteria used to diagnose the infection (microbiological [17,27,28] and histological criteria [3,9,13,17,19,29]) or the type of patients included in the study (patients who are revised due to an aseptic loosening [25], to a septic loosening [30] or during the second stage of a two-stage revision for a septic loosening [23,24]).

A revision of the literature shows that several authors [9–14] consider periprosthetic fractures as a potential cause of false-positive histological results for the diagnosis of infection, however, no series supporting this theory have been published yet. To the best of our knowledge, this is the first study that specifically addressed the usefulness of histology of the periprosthetic membrane for the diagnosis of infection in patients presenting with a Vancouver B2 periprosthetic fracture. In 6 of 11 cases with positive histology, only 2 had positive cultures and 4 had negative cultures (66.6%). Four

**Table 2**  
Histological results of the periprosthetic tissue and culture analysis of the 11 patients.

Histology <sup>a</sup>	Definitive diagnosis (culture) <sup>b</sup>		Total
	Positive	Negative	
Positive	2	4	6
Negative	0	5	5
Total	2	9	11

<sup>a</sup> The histology is considered positive for infection when  $\geq 5$  neutrophils per high-power field (400 $\times$ ) were found in at least five separate microscopic fields [3,15].

<sup>b</sup> Diagnosis of infection was determined by the growth of the same microorganism on at least two cultures of deep samples of periprosthetic tissue being used and/or presence of pus surrounding the prosthesis as gold standard for defining infection [16].

patients with positive histology and negative cultures did not receive additional treatment and the outcome was good, suggesting that they were true false-positive results.

Neutrophils are intravascular cells, which can be found in the soft tissues either when they are attracted by chemotaxis during the inflammation or when the blood vessels are injured and then the neutrophils extravasate [31]. Thus, a possible explanation for the results obtained from our series might be the infiltration of neutrophils into the periprosthetic membrane, proceeding from the inflammation secondary to the fracture and from the blood vessels that result injured during the fracture.

Currently, there are no preoperative or perioperative tests providing a 100% reliability in order to elucidate if a periprosthetic fracture that needs to be operated is infected or not. The symptoms and physical exploration prior to the fracture are too subjective [3], CRP and scintigraphy are altered by the fracture and cultures obtained through aspiration guided by ultrasound or computerized tomography cause a delay for surgery and their specificity and sensitivity are not high enough [32]. There are authors [33–35] that describe a series of periprosthetic fractures Vancouver B2 and B3 treated with replacement of the prosthesis with a rate of infection up to 33%. For instance, Holley et al. [36] described an infection rate of 10% (2/20) in Vancouver B2 periprosthetic fractures and an infection rate of 33% (3/9) in Vancouver B3 periprosthetic fractures. Mukundan et al. [33] described an infection rate of 17% (3/17) in periprosthetic fractures Vancouver B3 or Ko et al. [21] described a rate of infection of 14% (2/14) in Vancouver B2 periprosthetic fractures. These infection rates are higher than the ones described after an aseptic replacement. These findings might be explained due to infection already present at the moment of the fracture. Therefore the identification and treatment of the infection at the moment of the periprosthetic fracture is of paramount importance for the outcome and prognosis of the replacement. It has been reported that those periprosthetic fractures classified as Vancouver B1 and that are treated by open reduction and osteosynthesis present a worse survival than those classified as Vancouver B2 and treated by revision of the prosthesis, with the infection being as one of the main reasons for this different survival rates [2]. Thus, when facing a Vancouver B2 periprosthetic fracture, we advise to perform a revision of the prosthesis and to take at least six samples for culture, then starting a broad-spectrum intravenous antimicrobial regimen and to maintain the coverage until obtaining definitive microbiological results. The definitive oral antibiotic treatment then should be selected according to the antibiogram, but if the cultures are negative then the antimicrobial regimen can be stopped.

This study has several inherent limitations. The most important drawback of this study is the low number of cases included, which is justified by the fact that we present a unicentric study addressing a low prevalent pathology. In fact, previous data regarding this issue is lacking, which poses a drawback that may affect the extent to which the findings can be generalized beyond the specific cases studied. However, because of its prospective nature, biases have been reduced to the maximum, not only from the microbiological point of view by obtaining at least six samples for cultures but also from the histopathological one by the use of the paraffin technique for the analysis of membrane samples. Frozen sections provide valuable information for the diagnosis of the infection during the surgical procedure, but we decided to use the paraffin technique since it has been reported to have a higher reliability in comparison [27,28,37]. For instance, Tohtz et al. [27] described a 19% discrepancy (14 of 64 cases) comparing the frozen sections and the paraffin. Lastly, we decided to analyze periprosthetic membrane samples instead of the pseudocapsule, as the membrane has been described to be the best sample for the histopathological study [38].

Another drawback of this study might be related to the fact that in our hospital we do not routinely use the synovial fluid analysis for diagnosing periprosthetic joint infection. The use of the synovial fluid

white blood cell count with the analysis of neutrophil percentage has recently demonstrated to be a rapid test for differentiating periprosthetic joint infection from aseptic total knee arthroplasty and total hip arthroplasty failure [28,39–44]. Therefore, this new test could be useful to differentiate septic from aseptic Vancouver B2 periprosthetic hip fractures. Notwithstanding, there are some considerations that need to be highlighted. Firstly, preoperative aspiration of the hip needs fluoroscopic, tomographic or ultrasonographic guidance because of its deepness from the skin and its proximity to neurovascular structures, and because of the low probability of blindly access to the joint space [39]. In addition, the possibility of “dry tap” aspiration in hip arthroplasties can be around 23% according to the reported series [45]. If a dry joint is washed with saline to perform cultures, then the white blood cell count and neutrophil percentage cannot be used. Lastly, it should be taken into account that the number of periprosthetic hip fractures included in the previously studies was low [28]. In fact, Schinsky et al. [44] included only 14 periprosthetic fractures out of 204 revisions, Della Valle et al. [43] included only 2 periprosthetic fractures out of 94 revisions and Cipriano et al. [42] included 32 periprosthetic fractures out of 448 revisions. Therefore, specific studies are needed to demonstrate that the cutoff of white blood cell and neutrophil percentage in the synovial fluid of periprosthetic hip fractures is the same as the one described for general hip revisions.

In conclusion, our results suggest that periprosthetic fractures are a cause of false-positive histology results for the diagnosis of infection during revision of a hip prosthesis for the treatment of B2 Vancouver periprosthetic fracture when conventional cultures are used for diagnosis of infection.

## References

- Bauer TW, Parvizi J, Kobayashi N, et al. Diagnosis of periprosthetic infection. *J Bone Joint Surg Am* 2006;88:869.
- Lindahl H, Garellick G, Regnér H, et al. Three hundred and twenty-one periprosthetic femoral fractures. *J Bone Joint Surg Am* 2006;88:1215.
- Feldman DS, Lonner JH, Desai P, et al. The role of intraoperative frozen sections in revision total joint arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am* 1995;77:1807.
- Bottner F, Wegner A, Winkelmann W, et al. Interleukin-6, procalcitonin and TNF- $\alpha$ : markers of peri-prosthetic infection following total joint replacement. *J Bone Joint Surg Br* 2007;89:94.
- Spanghel MJ, Masterson E, Masri BA, et al. The role of intraoperative gram stain in the diagnosis of infection during revision total hip arthroplasty. *J Arthroplasty* 1999;14:952.
- Núñez LV, Buttaro MA, Morandi A, et al. Frozen sections of samples taken intraoperatively for diagnosis of infection in revision hip surgery. *Acta Orthop* 2007;78:226.
- Tomas X, Bori G, Garcia S, et al. Accuracy of CT-guided joint aspiration in patients with suspected infection status post-total hip arthroplasty. *Skeletal Radiol* 2011;40:57.
- Chevillotte CJ, Ali MH, Trousdale RT, et al. Inflammatory laboratory markers in periprosthetic hip fractures. *J Arthroplasty* 2009;24:722.
- 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;52:118.
- Pace TB, Jeray KJ, Latham JT. Synovial tissue examination by frozen section as an indicator of infection in hip and knee arthroplasty in community hospitals. *J Arthroplasty* 1997;12:64.
- Fehring TK, McAlister JA. Frozen histologic section as a guide to sepsis in revision joint arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res* 1994;229.
- Lonner JH, Desai P, Dicesare PE, et al. The reliability of analysis of intraoperative frozen sections for identifying active infection during revision hip or knee arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am* 1996;78:1553.
- Banit DM, Kaufer H, Hartford JM. Intraoperative frozen section analysis in revision total joint arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res* 2002;230.
- Musso AD, Mohanty K, Spencer-Jones R. Role of frozen section histology in diagnosis of infection during revision arthroplasty. *Postgrad Med J* 2003;79:590.
- Mirra JM, Amstutz HC, Matos M, et al. The pathology of the joint tissues and its clinical relevance in prosthesis failure. *Clin Orthop Relat Res* 1976:221.
- Leone JM, Hanssen AD. Management of infection at the site of a total knee arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am* 2005;87:2335.
- Morawietz L, Classen R, Schröder JH, et al. Proposal for a histopathological consensus classification of the periprosthetic interface membrane. *J Clin Pathol* 2006;59:591.
- Pons M, Anglés F, Sánchez C, et al. Infected total hip arthroplasty—the value of intraoperative histology. *Int Orthop* 1999;23:34.
- Athanasou NA, Pandey R, de Steiger R, et al. Diagnosis of infection by frozen section during revision arthroplasty. *J Bone Joint Surg Br* 1995;77:28.



20. Stroh DA, Johnson AJ, Naziri Q, et al. How do frozen and permanent histopathologic diagnoses compare for staged revision after periprosthetic hip infections? *J Arthroplasty* 2012;27:1663.
21. Ko PS, Ip D, Chow KP, et al. The role of intraoperative frozen section in decision making in revision hip and knee arthroplasties in a local community hospital. *J Arthroplasty* 2005;20:189.
22. Kanner WA, Saleh KJ, Frierson HFJ. Reassessment of the usefulness of frozen section analysis for hip and knee joint revisions. *Am J Clin Pathol* 2008;130:363.
23. Della Valle CJ, Bogner E, Desai P, et al. Analysis of frozen sections of intraoperative specimens obtained at the time of reoperation after hip or knee resection arthroplasty for the treatment of infection. *J Bone Joint Surg Am* 1999;81:684.
24. Bori G, Soriano A, García S, et al. Usefulness of histological analysis for predicting the presence of microorganisms at the time of reimplantation after hip resection arthroplasty for the treatment of infection. *J Bone Joint Surg Am* 2007;89:1232.
25. Bori G, Soriano A, García S, et al. Low sensitivity of histology to predict the presence of microorganisms in suspected aseptic loosening of a joint prosthesis. *Mod Pathol* 2006;19:874.
26. Abdul-Karim FW, McGinnis MG, Kraay M, et al. Frozen section biopsy assessment for the presence of polymorphonuclear leukocytes in patients undergoing revision of arthroplasties. *Mod Pathol* 1998;11:427.
27. Tohtz SW, Müller M, Morawietz L, et al. Validity of frozen sections for analysis of periprosthetic loosening membranes. *Clin Orthop Relat Res* 2010;468:762.
28. Spangehl MJ, Masri BA, O'Connell JX, et al. Prospective analysis of preoperative and intraoperative investigations for the diagnosis of infection at the sites of two hundred and two revision total hip arthroplasties. *J Bone Joint Surg Am* 1999;81:672.
29. Morawietz L, Tiddens O, Mueller M, 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;54:847.
30. Bori G, Soriano A, García S, et al. 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;129:591.
31. Lindbom L, Werr J. Integrin-dependent neutrophil migration in extravascular tissue. *Semin Immunol* 2002;14:115.
32. Somme D, Ziza J, Desplaces N, et al. Contribution of routine joint aspiration to the diagnosis of infection before hip revision surgery. *Joint Bone Spine* 2003;70:489.
33. Mukundan C, Rayan F, Kheir E, et al. Management of late periprosthetic femur fractures: a retrospective cohort of 72 patients. *Int Orthop* 2010;34:485.
34. Zuurmond RG, van Wijhe W, van Raay JJAM, et al. High incidence of complications and poor clinical outcome in the operative treatment of periprosthetic femoral fractures: an analysis of 71 cases. *Injury* 2010;41:629.
35. Ko PS, Lam JJ, Tio MK, et al. Distal fixation with Wagner revision stem in treating Vancouver type B2 periprosthetic femur fractures in geriatric patients. *J Arthroplasty* 2003;18:446.
36. Holley K, Zelken J, Padgett D, et al. Periprosthetic fractures of the femur after hip arthroplasty: an analysis of 99 patients. *HSS J* 2007;3:190.
37. Francés Borrego A, Martínez FM, Cebrian Parra JL, et al. Diagnosis of infection in hip and knee revision surgery: intraoperative frozen section analysis. *Int Orthop* 2007;31:33.
38. Bori G, Muñoz-Mahamud E, García S, et al. Interface membrane is the best sample for histological study to diagnose prosthetic joint infection. *Mod Pathol* 2011;24:579.
39. Squire MW, Della Valle CJ, Parvizi J. Preoperative diagnosis of periprosthetic joint infection: role of aspiration. *AJR Am J Roentgenol* 2011;196:875.
40. Mason JB, Fehring TK, Odum SM, et al. The value of white blood cell counts before revision total knee arthroplasty. *J Arthroplasty* 2009;18:1038.
41. Trampuz A, Hanssen AD, Osmon DR, et al. Synovial fluid leukocyte count and differential for the diagnosis of prosthetic knee infection. *Am J Med* 2004;117:556.
42. Cipriano CA, Brown NM, Michael AM, et al. Serum and synovial fluid analysis for diagnosing chronic periprosthetic infection in patients with inflammatory arthritis. *J Bone Joint Surg Am* 2012;94:594.
43. Della Valle CJ, Sporer SM, Jacobs JJ, et al. Preoperative testing for sepsis before revision total knee arthroplasty. *J Arthroplasty* 2007;22:90.
44. Schinsky MF, Della Valle CJ, Sporer SM, et al. Perioperative testing for joint infection in patients undergoing revision total hip arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am* 2008;90:1869.
45. Ali F, Wilkinson JM, Cooper JR, et al. Accuracy of joint aspiration for the preoperative diagnosis of infection in total hip arthroplasty. *J Arthroplasty* 2006;21:221.

