

- tumors[J]. *Cancer Cell*, 2009, 16(6): 510-520.
- [6] Teesalu T, Sugahara KN, Kotamraju VR, et al. C-end rule peptides mediate neuropilin-1-dependent cell, vascular, and tissue penetration[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(38): 16157-16162.
- [7] Roskoski R. Vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling in tumor progression[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2007, 62(3): 179-213.
- [8] Tran DQ, Shevach EM. Therapeutic potential of FOXP3 (+) regulatory T cells and their interactions with dendritic cells[J]. *Hum Immunol*, 2009, 70(5): 294-299.
- [9] Jubb AM, Strickland LA, Liu SD, et al. Neuropilin-1 expression in cancer and development[J]. *J Pathol*, 2012, 226(1): 50-60.
- [10] Prud'homme GJ, Glinka Y. Neuropilins are multifunctional coreceptors involved in tumor initiation, growth, metastasis and immunity[J]. *Oncotarget*, 2012, 3(9): 921-939.
- [11] Barr MP, Byrne AM, Duffy AM, et al. A peptide corresponding to the neuropilin-1-binding site on VEGF(165) induces apoptosis of neuropilin-1-expressing breast tumour cells[J]. *Br J Cancer*, 2005, 92(2): 328-333.
- [12] Yaqoob U, Cao S, Shergill U, et al. Neuropilin-1 stimulates tumor growth by increasing fibronectin fibril assembly in the tumor microenvironment[J]. *Cancer Res*, 2012, 72(16): 4047-4059.
- [13] Neufeld G, Kessler O, Herzog Y. The interaction of Neuropilin-1 and Neuropilin-2 with tyrosine-kinase receptors
- for VEGF[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2005(515): 81-90.
- [14] Caunt M, Mak J, Liang WC, et al. Blocking neuropilin-2 function inhibits tumor cell metastasis[J]. *Cancer Cell*, 2008, 13(4): 331-342.
- [15] Pan Q, Chanthery Y, Liang WC, et al. Blocking neuropilin-1 function has an additive effect with anti-VEGF to inhibit tumor growth[J]. *Cancer Cell*, 2007, 11(1): 53-67.
- [16] Hong TM, Chen YL, Wu YY, et al. Targeting neuropilin-1 as an antitumor strategy in lung cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(16): 4759-4768.
- [17] Jia H, Cheng L, Tickner M, et al. Neuropilin-1 antagonism in human carcinoma cells inhibits migration and enhances chemosensitivity[J]. *Br J Cancer*, 2010, 102(3): 541-552.
- [18] Jarvis A, Allerston CK, Jia H, et al. Small molecule inhibitors of the neuropilin-1 vascular endothelial growth factor A (VEGF-A) interaction[J]. *J Med Chem*, 2010, 53(5): 2215-2226.
- [19] Alberici L, Roth L, Sugahara KN, et al. De novo design of a tumor-penetrating peptide[J]. *Cancer Res*, 2013, 73(2): 804-812.
- [20] Sugahara KN, Teesalu T, Karmali PP, et al. Coadministration of a tumor-penetrating peptide enhances the efficacy of cancer drugs[J]. *Science*, 2010, 328(5981): 1031-1035.

(收稿日期: 2014-08-21 修回日期: 2014-11-14)

• 综述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.03.048

人工关节假体周围感染的实验室检查

李程旭 综述, 黄伟[△] 审校

(重庆医科大学附属第一医院骨科 400016)

关键词: 人工关节; 假体和植入物; 实验室技术和方法; 假体周围感染进展

中图分类号: R446.9

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2015)03-0414-04

随着医学技术的发展,人工关节置换已成为重建关节功能的主要手段,这使不少关节疼痛及关节功能障碍的患者明显提高了生活质量,与此同时人工关节翻修手术也越来越多。人工关节翻修的原因主要有:无菌性松动、人工关节脱位、假体磨损、假体周围骨折、假体周围感染(prosthetic joint infection, PJI)等。无菌性松动及假体周围感染是人工关节翻修排在第2位的原因,其中PJI是人工关节置换术后最严重的并发症之一。据统计人工髋关节的感染率为0.3%~1.7%^[1],人工膝关节的感染率为0.8%~1.9%^[1],人工肩关节的感染率为0.7%,人工肘关节的感染率为3.0%^[2-3]。虽然PJI发病率较低,但一旦发生将严重影响关节功能,降低患者的生活质量,常需再次手术及长时间的抗菌药物治疗,严重者需行关节融合甚至截肢而导致终生残疾,给患者带来极大的身心及经济压力。近年来对PJI的研究越来越多,在实验室检测方面产生新的认识,出现新的检测方法。下面就PJI定义、致病菌及实验室检

查进行综述。

1 PJI的定义及诊断

PJI的诊断一直是一种挑战,目前无任何一种检查可以做到绝对的准确,诊断无“金标准”可言^[4]。PJI的诊断主要依靠临床表现、实验室检查及影像学检查等综合考虑。骨科界试图通过多种指标的组合定义PJI,由此提出了许多不同的定义^[4]。2011年11月美国骨科感染学会提出了一个新的PJI定义,(1)存在与假体相通的窦道;(2)或受累人工关节的两处假体周围组织或关节液标本中分离出同一病原体;(3)或满足以下6条中的4条:①红细胞沉降率或C-反应蛋白(CRP)水平升高;②滑膜白细胞(WBC)数升高;③滑膜中性粒细胞百分比升高;④受累关节出现化脓表现;⑤假体周围组织或关节液标本中一次培养分离出微生物;⑥400倍放大率下,假体周围组织的病理学分析在5个高倍镜视野下发现大于5个中性粒细胞^[5]。若满足第3种标准不少于4条,PJI可能存在。但是对

于一些低毒性 PJI, 尽管有感染存在, 却不能达到上述标准。

2 PJI 的常见致病菌

PJI 最常见的致病菌是金黄色葡萄球菌和凝血酶阴性葡萄球菌(约占 50%), 其他有链球菌、革兰阴性杆菌、厌氧菌等。近年来一些少见的细菌如假单胞菌、绿脓杆菌、肠杆菌、及变形杆菌等呈逐渐增多的趋势^[6]。真菌感染比较少见, 一旦发生将造成灾难性后果。

3 PJI 的实验室检查

3.1 血清学检查

3.1.1 血常规 WBC 计数 血液 WBC 计数升高曾经作为判定 PJI 的指标之一, 然而在一些低毒性感染时血液 WBC 计数往往正常。Deirmengian 等^[7]的研究指出髌膝关节置换术后 4 d 内 WBC 计数一般都升高, 术后血液 WBC 计数在预测 PJI 的敏感性为 79.2%, 而特异性却只有 46.4%。可见血常规 WBC 计数并非诊断 PJI 的精确指标。

3.1.2 血清 CRP 和血沉 (erythrocyte sedimentation rate, ESR) ESR 及 CRP 是传统的血清学检测指标。ESR 指 RBC 在一定条件下的沉降速率, 主要受 RBC 自身的大小、形状及血浆成分、血流状态等影响。髌关节置换术后 ESR 升高, 到 5~7 d 达峰值, 后缓慢下降, 于术后 3 个月时基本恢复正常或降至术前水平^[8]。CRP 是在炎症、感染、组织损伤等情况下由肝细胞产生的一种急性时相蛋白。有研究指出在髌关节置换术后 CRP 迅速升高, 到 2~3 d 达峰值, 后又迅速下降, 2~3 周后恢复到正常^[8]。如术后 3 周后 CRP 升高提示 PJI 可能。髌关节置换术后血清 CRP 比 ESR 更快达到峰值可能提示它在术后预测 PJI 更加敏感。ESR、CRP 的敏感性及特异性随着所选临界值的变化而变化。Ghanem 等^[9]提出通过受试者工作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 分析来协助确定 ESR、CRP 的临界值, 从而有助于达到最佳的诊断敏感性及特异性平衡。ESR、CRP 作为非特异性炎症指标, 在风湿性疾病、痛风、全身性疾病或近期外科手术等情况时都可能升高, 但由于其具有无创、简便、价廉及较高的灵敏度等优点, 目前是临床工作中常用的 PJI 筛查工具。

3.1.3 血清降钙素原 (procalcitonin, PCT) 和肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) PCT 是近年来受到广泛推崇的诊断细菌感染的生化指标。它是一种糖蛋白, 在生理情况下由甲状腺 C 细胞产生和分泌; 在感染时单核细胞衍生的巨噬细胞可通过招募感染组织内的实质细胞 (如脂肪细胞、肌细胞等) 产生并释放大量的 PCT^[10]。它对全身性感染具有较高的敏感性与特异性, 但 PCT 的产生与炎症反应的范围和程度有关。TNF 是由单核细胞产生并释放的一种细胞因子。1 项对 78 例关节翻修患者的回顾性研究指出, PCT > 0.3 ng/mL 为诊断标准时, 诊断 PJI 的敏感性仅为 33%, 但特异性为 98%; TNF- α > 40 ng/mL 为诊断标准时, 诊断 PJI 的敏感性仅为 43%, 特异性为 94%^[11]。可见 PCT 及 TNF- α 对诊断 PJI 具有特异性高但敏感性低的特点, 敏感性低可能与低毒性细菌感染不足以引起其大量释放有关, 这说明单独的 PCT 及 TNF- α 不是良好的 PJI 检测指标。

3.1.4 IL-6 IL-6 作为一项新的感染指标在临床上越来越受到重视。是机体受刺激后由单核-巨噬细胞、成纤维细胞、内皮细胞等产生的一种多效细胞因子, 它也是一种重要的炎症介质。Di Cesare 等^[12]指出血清 IL-6 于术后 6~12 h 达峰值, 48~72 h 即可迅速下降至术前正常水平。与 ESR 及 CRP 相比, IL-6 术后能更快地上升并能更快地恢复至正常值, 这提示

它可能是一种更好的预测早期感染的指标。Bottner 等^[11]的研究表明以 IL-6 > 12 pg/mL 为诊断标准, 其对 PJI 诊断的敏感性为 95%, 特异性为 87%, 阳性预测值为 74%, 阴性预测值为 98%, 准确性为 89%。单用 IL-6 的诊断价值与 CRP 比较差异不大, 但如将 IL-6 与 CRP 联合应用则对 PJI 具有更高的诊断价值。

3.1.5 病原体抗体检测 由于 PJI 的致病机制复杂, 需要事先确定其中合适的抗原来检测相应的抗体, 这为采用该方法检测 PJI 造成了困难。2011 年一种新的金黄色葡萄球菌 IgM 抗体酶联免疫吸附测定技术被用于诊断 PJI, 在试验中采用 0.35 单位为诊断标准时, 其对金黄色葡萄球菌感染诊断的敏感性 & 特异性分别为 90%、95%, 同时该技术还可用于评价抗菌方案的疗效^[13]。

3.2 关节穿刺关节液检查 关节液标本的获得属于有创操作, 而穿刺会增加关节感染以及感染扩散的风险, 因而只有在通过筛查后高度怀疑 PJI 时才用。

3.2.1 关节液 WBC 计数和分类 前次手术后出现症状的时间会影响 WBC 计数和中性粒细胞比率的临界值^[14]。目前尚无统一的关节液 WBC 计数及分类诊断标准。许多研究中以 WBC 计数大于 1 100~4 000 个/ μ L, 中性粒细胞比率大于 64% 至 80% 为标准^[15-16]。Chanem 等^[15]在对 429 例膝关节翻修病例的研究后指出, 以 WBC 计数大于 1 100 个/ μ L 及中性粒细胞比率大于 64.0% 为诊断标准时, 得出对 PJI 诊断的敏感性为 85.0%, 特异性为 99.2%, 阳性预测值为 98.6%, 阴性预测值为 91.6%。在检测前 2~3 周内使用了抗菌药物会影响到本项检测的结果。在临床工作中膝关节穿刺较容易, 但髌关节穿刺比较困难而常需放射或超声引导, 这些都影响了其应用。

3.2.2 关节液中细胞因子检测

3.2.2.1 滑膜 CRP 检测 滑膜 CRP 新近被认为是一种比血清 CRP 更可靠的诊断 PJI 的标志物, 它能更直接地反应关节内感染状况。1 项对 66 例全膝关节翻修患者的研究显示滑膜 CRP 对 PJI 诊断的敏感性为 70%~84%, 特异性为 97%~100%; 而血清 CRP 的敏感性 & 特异性分别为 76%、93%^[17]。Parvizi 等^[18]对 63 例人工关节翻修患者滑液标本的前瞻性研究中, 通过 ROC 分析得到最佳的诊断敏感性 & 特异性平衡的滑膜 CRP 临界值为 9.5 mg/L, 此时其诊断 PJI 的敏感性 & 特异性分别为 85%、95%, 曲线下面积为 0.92。

3.2.2.2 WBC 酯酶检测 WBC 酯酶是由招募到感染部位的中性粒细胞分泌的一种酶。Parvizi 等^[19]报道将 108 例膝关节翻修患者关节液滴到 WBC 酯酶检测条带上然后观察颜色变化, 颜色变化 (分级为 -, +, ++) 与 WBC 酯酶水平相对应, 将 ++ 定为阳性, 其诊断 PJI 的敏感性为 80.6%, 特异性为 100.0%, 阳性预测值为 100.0%, 阴性预测值为 93.3%。这也提供了一种快速、简便、便宜的 PJI 检测方法。

3.2.2.3 其他细胞因子 1 项新近的研究对比了 PJI 与无菌性松动患者的关节液, 发现 β -防御素 3 (HBD-3) 和抗菌肽 LL-37 显著升高, 通过 ROC 分析, 其曲线下面积分别是 0.745 和 0.875。此外, 显著增加的与感染有关的细胞因子还有 IL-1 β 、IL-4、IL-6、IL-17A、干扰素 (IFN)- γ 和 TNF- α 。Logistic 回归分析表明, 抗菌肽与另一滑液标志物组合能提高诊断 PJI 的准确性。LL-37 和 IL-4 组合, 曲线下面积为 0.916; LL-37 和 IL-6 组合, 曲线下面积为 0.895; HBD-3 和 IL-4 组合, 曲线下面积为 0.972; HBD-3 和 IL-6 组合, 曲线下面积为 0.849^[20]。另一

项研究检测了 74 例患者关节液中 46 种不同的炎症标志物,通过 ROC 及蛋白组学分析,发现了 5 种有潜在诊断价值的蛋白,它们分别是血管内皮生长因子(VEGF)、CRP、 α_2 -微球蛋白、IL-8、IL-6^[21]。Deirmengian 等^[22]分析了 23 个潜在的滑液标志物,发现了 6 种有较高准确性的标志物,它们分别是 IL-1 α 、IL-1 β 、IL-6、IL-17、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、抗白细胞蛋白酶(SKALP)。

3.3 微生物检查

3.3.1 关节液涂片革兰染色 关节液涂片革兰染色诊断 PJI 的敏感性极低,还可能由于染料中细菌污染而造成假阳性,目前认为其对 PJI 的诊断意义不大。1 项对 921 例膝关节翻修手术的研究指出,术中关节液涂片革兰染色对诊断 PJI 的敏感性仅为 27.0%,特异性为 99.9%,阴性预测值为 98.5%,阴性预测值为 79.0%,准确性为 80.0%^[23]。

3.3.2 细菌培养 用作细菌培养的标本包括:外周血、关节液、假体周围组织及假体本身。细菌培养可因近期使用了抗菌药物、培养基不合适、标本送检时间过长、培养条件不合适、细菌量较少等原因出现假阴性结果。也可因采集及送检标本过程中的污染而出现假阳性结果。故在采集标本前应至少停用抗菌药物 2~3 周。在术中应至少采集假体周围 3 个不同部位标本送培养。术中见炎症程度低时,需采集更多样本送检。同时在标本采集及运送过程中应避免污染。浅表伤口或窦道口周围常受周围皮肤微生物污染,同时敏感性也低,故不应直接在该处采集标本。标本接种在培养基上并在不同的培养条件(需氧、5%二氧化碳和厌氧)下进行培养。Hughes 等^[24]前瞻性地对关节翻修术中采集的标本接种于 4 种培养基上进行比较,发现自动 BACTEC 血培养瓶及肉汤增菌培养基的敏感性最高,分别为 87%和 83%,厌氧培养基为 57%,普通平板培养基为 39%,所有 4 种培养方法均有高度的特异性(97%~100%)。细菌培养时间应为 2~7 d,如怀疑为生长缓慢的微生物,则培养时间应延长至 10 d^[25]。细菌培养对 PJI 鉴别的敏感性较低,还因为 PJI 的致病微生物通常通过形成生物膜定植于假体表面,只有少量细菌从生物膜脱离。假体周围组织培养往往不能取到假体表面的微生物。利用一定频率的超声处理取下的假体,可碎裂细菌生物膜,将假体超声降解液进行培养可增加培养的成功率,此法对培养前已使用了抗菌药物的患者尤为重要^[26]。2 种培养方法比较后发现,假体超声降解液培养的敏感性及其特异性分别为 66.7%和 98.0%;假体周围组织培养的敏感性及其特异性分别为 54.5%和 95.1%^[26]。

3.3.3 分子生物学技术

3.3.3.1 聚合酶链反应技术(PCR) PCR 是通过检测细菌特异性核酸颗粒来诊断 PJI,与普通细菌培养相比具有检测迅速且不受近期使用抗菌药物影响的特点。PCR 技术的缺点是假阳性率较高,且无法作药敏试验。近年来一项以 16SrRNA 为 PCR 扩增靶分子的细菌快速分类鉴定技术出现。16SrRNA 基因存在于所有细菌染色体基因中,有高度的保守性。一项前瞻性的研究证明用 16SrRNA 基因的 PCR 技术可明显提高诊断 PJI 的敏感性及其特异性,与细菌培养相比 16SPCR 具有更高的特异性和阳性预测价值,即使对少量样本的检测中出现一个 16SPCR 阳性结果仍高度提示 PJI^[27]。最近有报道用基于 rRNA 的逆转录定量 PCR(RT-qPCR)检测关节液,并与术中培养的结果进行比较,发现 RT-qPCR 检测的特异性和阳性预测值为 100%,敏感性与培养的结果一致。在灭菌 7 d 后,RT-qPCR 检测仍可探测到信号,这可用于检测已使用了抗菌药物

的患者^[28]。

3.3.3.2 荧光原位杂交技术(fluorescence in situ hybridization, FISH) FISH 是根据已知微生物不同分类级别上种群特异的 DNA 序列,以利用荧光标记的特异寡聚核苷酸片段作为探针,与环境基因组中 DNA 中分子杂交,以检测该特异微生物的存在与丰度。该技术可在 1 h 内快速检测血培养中的致病菌^[29]。

3.4 病理组织检查 病理组织检查标本通常采用穿刺组织、骨及假体周围组织。而在术中采取假膜或假体周围组织送快速冰冻切片是最常用的术中检测 PJI 方法,但结果会受到取材部位及病检医师经验的影响,且目前其判断标准尚未统一。有报道将每高倍镜视野下多型核细胞数大于或等于 5 个作为诊断标准,发现其敏感性及其特异性分别为 85%和 87%^[30]。此外也有报道,以每高倍镜视野下多型核细胞数大于或等于 10 个作为诊断标准,其敏感性及其特异性分别为 86%和 85%^[31]。Tsaras 等^[32]的 1 篇 Meta 分析报道指出术中假体周围组织冰冻切片能比较好地明确本身存在感染的病例,但在排除感染方面的准确性较差。该文还指出运用最多的 2 个临界值即每高倍镜视野下大于或等于 5 或 10 个多型核细胞在诊断 PJI 的准确性上差异无统计学意义($P>0.05$)。

4 小 结

目前对 PJI 的诊断没有任何一种检查能够做到绝对的准确无误。近年来,实验室检查在诊断 PJI 方面发展很快,取得了初步成果。在血清及关节液中发现了一些与诊断 PJI 有关的新的标志物;出现了超声裂解处理假体及自动 BACTEC 血培养瓶等培养新方法;以 PCR 和 FISH 为代表的分子生物学技术的快速发展等,这些成果都在为诊断 PJI 提供新的方法和思路。这些新的方法和思路还需要在临床工作中进一步的验证和改进。

参考文献:

- [1] Del Pozo JL, Patel R. Clinical practice. Infection associated with prosthetic joints[J]. N Engl J Med, 2009, 361(8): 787-794.
- [2] Bohsali KI, Wirth M, Rockwood JC. Complications of total shoulder arthroplasty[J]. J Bone Joint Surg Am, 2006, 88(10): 2279-2292.
- [3] Cheung EV, Adams RA, Morrey BF. Reimplantation of a total elbow prosthesis following resection arthroplasty for infection[J]. J Bone Joint Surg Am, 2008, 90(3): 589-594.
- [4] Parvizi J, Jacovides C, Zmistowski B, et al. Definition of periprosthetic joint infection; is there a consensus? [J]. Clin Orthop Relat Res, 2011, 469(11): 3022-3030.
- [5] Hozack WJ, Parvizi J. New definition for periprosthetic joint infection[J]. J Arthroplasty, 2011, 26(8): 1135.
- [6] Hsieh PH, Lee MS, Hsu KY, et al. Gram-negative prosthetic joint infections; risk factors and outcome of treatment[J]. Clin Infect Dis, 2009, 49(7): 1036-1043.
- [7] Deirmengian GK, Zmistowski B, Jacovides C, et al. Leukocytosis is common after total hip and knee arthroplasty [J]. Clin Orthop Relat Res, 2011, 469(11): 3031-3036.
- [8] Almeida Herrero F, López Lozano R, Silvestre Munoz A. Descriptive analysis of C-Reactive values after uncompli-

- cated total hip and knee arthroplasty[J]. *Acta Orthop Mex*, 2008, 22(2): 80-84.
- [9] Ghanem E, Antoci V, Pulido L, et al. The use of receiver operating characteristics analysis in determining erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein levels in diagnosing periprosthetic infection prior to revision total hip arthroplasty[J]. *Int J Infect Dis*, 2009, 13(6): e444-449.
- [10] Linscheid P, Sebock D, Schaer DJ, et al. Expression and secretion of procalcitonin and calcitonin gene-related peptide by adherent monocytes and by macrophage-activated adipocytes[J]. *Crit Care Med*, 2004, 32(8): 1715-1721.
- [11] Bottner F, Wegner A, Winkelmann W, et al. Interleukin-6, procalcitonin and TNF-alpha; markers of peri-prosthetic infection following total joint replacement[J]. *J Bone Joint Surg Br*, 2007, 89(1): 94-99.
- [12] Di Cesare PE, Chang E, Preston CF, et al. Serum interleukin-6 as a marker of periprosthetic infection following total hip and knee arthroplasty[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2005, 87(9): 1921-1927.
- [13] Artini M, Romano C, Manzoli L, et al. Staphylococcal IgM enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of periprosthetic joint infections[J]. *J Clin Microbiol*, 2011, 49(1): 423-425.
- [14] Bedair H, Ting N, Jacovides C, et al. The mark coventry award; diagnosis of early postoperative TKA infection using synovial fluid analysis[J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2011, 469(1): 34-40.
- [15] Chanem E, Parvizi J, Burnett RS, et al. Cell count and differential of aspirated fluid in the diagnosis of infection at the site of total knee arthroplasty[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2008, 90(8): 1637-1643.
- [16] Schinsky MF, Della Valle CJ, Sporer SM, et al. Perioperative testing for joint infection in patients undergoing revision total hip arthroplasty[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2008, 90(9): 1869-1875.
- [17] Parvizi J, Jacovides C, Adeli B, et al. Mark B. Coventry award; synovial c-reactive protein; a prospective evaluation of a molecular marker for periprosthetic knee joint infection[J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2012, 470(1): 54-60.
- [18] Parvizi J, Mckenzie JC, Cashman JP. Diagnosis of periprosthetic joint infection using synovial C-reactive protein[J]. *J Arthroplasty*, 2012, 27(8 Suppl): 12-16.
- [19] Parvizi J, Jacovides C, Antoci V, et al. Diagnosis of periprosthetic joint infection; the utility of a simple yet unappreciated enzyme[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2011, 93(24): 2242-2248.
- [20] Gollwitzer H, Dombrowski Y, Prodingier PM, et al. Antimicrobial peptides and proinflammatory cytokines in periprosthetic joint infection[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2013, 95(7): 644-651.
- [21] Jacovides CL, Parvizi J, Adeli B, et al. Molecular markers for diagnosis of periprosthetic joint infection[J]. *J Arthroplasty*, 2011, 26(6, Supplement): 99-103.
- [22] Deirmengian C, Hallab N, Tarabishy A, et al. Synovial fluid biomarkers for periprosthetic infection[J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2010, 468(8): 2017-2023.
- [23] Morgan PM, Sharkey P, Ghanem E, et al. The value of intraoperative gram stain in revision total knee arthroplasty[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2009, 91(9): 2124-2129.
- [24] Hughes HC, Newnham R, Athanasou N, et al. Microbiological diagnosis of prosthetic joint infections; a prospective evaluation of four bacterial culture media in the routine laboratory[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2011, 17(10): 1528-1530.
- [25] Schäfer P, Fink B, Sandow D, et al. Prolonged bacterial culture to identify late periprosthetic joint infection; a promising strategy[J]. *Clin Infect Dis*, 2008, 47(11): 1403-1409.
- [26] Piper KE, Jacobson MJ, Cofield RH, et al. Microbiologic diagnosis of prosthetic shoulder infection by use of implant sonication[J]. *J Clin Microbiol*, 2009, 47(6): 1878-1884.
- [27] Marin M, Garcia-Lechuz JM, Alonso P, et al. Role of Universal 16S rRNA gene PCR and sequencing in diagnosis of prosthetic joint infection[J]. *J Clin Microbiol*, 2012, 50(3): 583-589.
- [28] Bergin PF, Doppelt JD, Hamilton WG, et al. Detection of periprosthetic infections with use of ribosomal RNA-based polymerase chain reaction[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2010, 92(3): 654-663.
- [29] Morgan M, Marlowe E, Della-Latta P, et al. Multicenter evaluation of a new shortened peptide nucleic acid fluorescence in situ hybridization procedure for species identification of select gram-negative bacilli from blood cultures[J]. *J Clin Microbiol*, 2010, 48(6): 2268-2270.
- [30] Nuñez LV, Buttaro MA, Morandi A, et al. Frozen sections of samples taken intraoperatively for diagnosis of infection in revision hip surgery[J]. *Acta Orthop*, 2007, 78(2): 226-230.
- [31] Wong YC, Lee QJ, Wai YL, et al. Intraoperative frozen section for detecting active infection in failed hip and knee arthroplasties[J]. *J Arthroplasty*, 2005, 20(8): 1015-1020.
- [32] Tsaras G, Maduka-Ezeh A, Inwards CY, et al. Utility of intraoperative frozen section histopathology in the diagnosis of periprosthetic joint infection; a systematic review and meta-analysis[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2012, 94(18): 1700-1711.