

· 临床论著 ·

多中心创伤后慢性骨髓炎的细菌谱特点及药敏分析



乔林 夏志林 刘健 张光武 刘复州 辛艺 张树明 黄雷

100088 北京,火箭军总医院骨科(乔林、刘复州、辛艺、张树明);100000 武警北京市总队第二医院骨科(夏志林);100035 北京积水潭医院创伤骨科(刘健、黄雷);100043 北京大学首钢医院骨科(张光武)

通信作者:黄雷,Email:huangleijst@126.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-7600.2016.09.007

【摘要】 目的 分析多中心创伤后慢性骨髓炎患者的菌谱概况及其敏感抗生素,为临床治疗提供确切依据。**方法** 回顾性研究 2012 年 1 月至 2015 年 9 月火箭军总医院骨科、武警北京市总队第二医院骨科、北京积水潭医院创伤骨科、北京大学首钢医院骨科收治的 330 例创伤后慢性骨髓炎患者资料,对可疑骨感染组织行微生物培养及药敏检测结果分为革兰阴性细菌及革兰阳性细菌分别统计。**结果** 共培养出病原菌 29 种 334 株,其中革兰阴性细菌 19 种 145 株(43.41%),革兰阳性细菌 10 种 189 株(56.59%)。革兰阴性细菌感染率最高的 2 种细菌分别是铜绿假单胞菌(39 株,占 26.90%)和大肠埃希菌(26 株,占 17.93%),该组耐药率最低为美洛培南;革兰阳性细菌感染率最高的 2 种细菌分别是金黄色葡萄球菌(110 株,占 58.20%)和表皮葡萄球菌(45 株,占 23.80%),该组耐药率最低为万古霉素。**结论** 铜绿假单胞菌及金黄色葡萄球菌仍是慢性骨髓炎的最主要致病菌,而革兰阴性细菌种类较革兰阳性细菌多。药敏试验是指导临床治疗的重要依据。

【关键词】 感染; 骨折; 骨髓炎; 耐药性

Bacterial spectrum characteristics and antibiotic resistance patterns of posttraumatic chronic osteomyelitis: a multi-center retrospective study Qiao lin, Xia Zhilin, Liu Jian, Zhang Guangwu, Liu Fuzhou, Xin Yi, Zhang Shuming, Huang Lei

Department of Orthopaedics, Rocket Army General Hospital, Beijing 100088, China (Qiao L, Liu FZ, Xin Y, Zhang SM); Department of Orthopaedics, The Second Hospital of Beijing People's Armed Police Forces, Beijing 100000, China (Xia ZL); Department of Orthopaedics Trauma, Beijing Jisuitan Hospital, Beijing 100035, China (Liu J, Huang L); Department of Orthopaedics, Peking University Shougang Hospital, Beijing 100043, China (Zhang GW)

Corresponding author: Huang Lei, Email: huangleijst@126.com

【Abstract】 Objective To characterize the bacterial spectrum and antibiotic resistance of posttraumatic chronic osteomyelitis in 4 medical institutions. **Methods** The clinical data of the patients who had been admitted into the 4 hospitals for posttraumatic chronic osteomyelitis from January 2012 to September 2015 were retrospectively analyzed. The tissue of visible or suspicious bone infection had been subjected to bacterial culture and drug sensitive test in surgery. The tissue specimens were divided into a G⁻ group and a G⁺ group.

Results A total of 29 species of 334 strains of pathogenic bacteria were isolated. Of them, 19 species of 145 strains were Gram-negative bacteria while 10 species of 189 strains Gram-positive ones. The most common bacterial pathogens isolated in G⁻ group were *Pseudomonas aeruginosa* (39 strains; 26.90%) and *Escherichia coli* (26 strains; 17.93%), the most effective antibiotic for both of which was Meropenem. The most common bacterium *Staphylococcus aureus* (110 strains) was found in 58.20% of the patients in G⁺ group, followed by *Staphylococcus epidermidis* (45 strains; 23.80%). A high percentage of G⁺ bacteria were susceptible to vancomycin. **Conclusions** *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* were the most common bacterial pathogens isolated from the patients with posttraumatic chronic osteomyelitis in this setting. There were more species of Gram-negative bacteria than those of Gram-positive ones. A drug sensitive test was very essential to rational administration of antibiotics.

【Key words】 Infection; Fractures, bone; Osteomyelitis; Antibiotic resistance

创伤后骨髓炎是一种对骨骼系统极具损伤的骨科常见疾病^[1-2], 创伤后骨折端及其周围组织易形成细菌感染, 在其发展至慢性阶段时病灶内及其周围血供系统受损, 生物膜 (bacterial biofilm, BBF) 形成, 并有大量骨质流失^[3-4], 这就导致全身应用抗生素对感染骨组织内各微小病灶的灭菌及抑菌效力下降甚至无效, 形成慢性细菌性骨髓炎。在发达国家, 急性难治性感染性疾病是造成骨髓炎的首要病因, 在择期闭合创伤手术中, 发病率为 1% ~ 5%, 而在开放性骨折患者中, 由于创伤程度及骨折类型不同, 有研究^[5-6]报道其发病率为 5% ~ 10%, 但另一些机构^[7]报道在长骨干骨折的患者中骨感染的几率甚至可以达到 4% ~ 64%, 且经再次手术或长期治疗后仍有 23% 的患者治疗效果欠佳。目前临床上有多种办法提高慢性细菌性骨髓炎的局部药物浓度, 提高抗感染的效率^[8], 其治疗基础仍是确定感染部位的致病菌及抗生素的合理选择。本研究通过回顾性研究 2012 年 1 月至 2015 年 9 月火箭军总医院骨科、武警北京市总队第二医院骨科、北京积水潭医院创伤骨科、北京大学首钢医院骨科收治的创伤后慢性骨髓炎患者资料, 对可疑骨感染组织行微生物培养及药敏检测结果进行分析, 以便获得目前关于骨髓炎的菌谱概况及其敏感抗生素谱, 为临床治疗提供确切依据。

资料与方法

一、病例纳入和排除标准

病例纳入标准参照国际通用标准执行^[9], 首先在满足以下条件的病灶中所选取的标本为可疑感染标本: ①超过 3 个月的骨组织感染病史; ②既往该部位多次手术 (包括内、外固定及病灶清除术); ③影像学表现为病变部位骨质破坏, 或骨溶解与病理成骨同时出现, 死骨形成^[10]。其次需满足: ①可疑感染骨组织病灶与外界相通; ②术中切除可疑感染骨组织病理检查结果确诊骨组织存在感染; ③于术中所取的可疑感染标本 (包括死骨 1 处、骨髓腔远近端各 1 处, 髓腔内脓液 1 处以及死骨周围软组织 1 处, 共 5 处标本) 要求超过 3 处培养发现感染菌, 且同一感染菌在同一取材部位发现 3 次以上的患者。病例排除标准: ①术前 1 周内使用过抗生素; ②留取标本不足 5 处; ③未培养出感染菌; ④病原菌被检出次数未达 3 次或以上。

二、一般资料

采用整群随机抽样方法选择北京市 4 所医院 (火箭军总医院骨科、武警北京市总队第二医院骨科、北京积水潭医院创伤骨科、北京大学首钢医院骨科) 2012 年 1 月至 2015 年 9 月复合上述纳入标准的 357

例创伤后慢性骨髓炎患者, 排除 27 例 (术前 1 周内使用过抗生素 13 例, 留取标本不足 5 处 7 例, 未培养出感染菌 4 例, 病原菌被检出次数未达 3 次 3 例), 共纳入 330 例, 其中男 279 例, 女 51 例; 年龄 9 ~ 78 岁。4 家医院纳入的患者一般资料见表 1。

本研究已获得上述 4 所医院伦理委员会的批准, 并获得患者知情同意书。

三、确定致病菌的方法

术前停用抗生素至少 1 周。留取标本方法: 术前使用亚甲蓝注入骨髓炎病灶中染色, 明确感染范围; 术中常规消毒铺巾, 结合术前查体及病灶部位 CT、MRI 及亚甲蓝染色情况及术中所见情况确定清除病灶范围, 彻底清除病灶, 使用无菌独立止血钳留取 5 份不同位置的标本 (死骨 1 处、骨髓腔远近端各 1 处、髓腔内脓液 1 处、死骨周围软组织 1 处), 将其装入培养瓶中标注时间及取样部位, 1 h 内送检。

四、细菌培养及药敏试验方法

4 所医院检验科按常规方法进行检验, 检验师严格按照《全国临床检验操作规程》操作, 将送检的标本先进行肉汤增菌, 再接种至血琼脂和中国蓝琼脂初步分纯细菌, 应用 VITEK2 全自动药物敏感鉴定系统 (梅里埃公司, 法国) 进行细菌培养及药物敏感试验。根据美国临床实验室标准化协会 (CLSI) 制定的药敏试验法规标准判定结果, 细菌培养结果中选取至少 3 份有相同的细菌确定为致病菌。将细菌培养结果和药物敏感试验分为革兰阴性细菌和革兰阳性细菌分别统计。

五、统计学处理

采用 SPSS 16.0 统计学软件, 革兰阴性细菌和革兰阳性细菌的细菌分布在慢性骨髓炎患者中构成比的比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

结 果

一、病原菌检出率

共培养出病原菌 29 种 334 株, 其中革兰阴性细菌 19 种 145 株 (43.41%), 革兰阳性细菌 10 种 189 株 (56.59%)。检出 2 种细菌混合感染的有 4 例 (1.20%)。

革兰阴性细菌中铜绿假单胞菌检出率最高, 共 39 株 (26.90%), 其次是大肠埃希菌 26 株 (占 17.93%)、阴沟肠杆菌 26 株 (17.93%)、肺炎克雷伯菌肺炎亚种 10 株 (6.91%)、鲍曼不动杆菌 9 株 (6.22%)、粘质沙雷菌 8 株 (5.53%)、奇异变形杆菌 5 株 (3.45%), 布氏柠檬酸杆菌、弗氏柠檬酸杆菌、类白喉杆菌各 3 株

(各占 2.08%),产酸克雷伯菌、摩根摩根菌摩根亚种、伤口埃希菌各 2 株(各占 1.29%),而产气克雷伯氏菌、普通变形杆菌、斯氏普罗威登斯菌、维罗纳气单胞菌及施氏假单胞菌各 1 株(各占 0.69%)。

革兰阳性细菌中检出率最高的是金黄色葡萄球菌属病菌,共 110 株(58.20%),这其中含耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA) 36 株(19.05%),其次是表皮葡萄球菌 45 株(23.80%)、粪肠球菌 15 株(7.94%)、人型葡萄球菌 5 株(2.65%)、枯草杆菌 4 株(2.12%)、溶血型链球菌 3 株(1.59%)、沃氏葡萄球菌 2 株(1.06%),该组菌株数检出最少的是头状葡萄球菌和模仿葡萄球菌,各 1 株(各占 0.53%)。

革兰阴性细菌及革兰阳性细菌在慢性骨髓炎患者中的细菌分布差异无统计学意义($P > 0.05$)。

二、对抗菌药物的敏感率

检出原菌中革兰阴性细菌对常用抗生素药物敏感性最高的是美洛培南类,最低的是氨苄西林类(表 2、图 1)。铜绿假单胞菌对阿米卡星、哌拉西林类药物的耐药率均为 12.82%,第四代头孢类药物中的头孢吡肟出现耐药性的情况相对其他头孢类最少,而第 2 代头孢类药物的抗菌效果明显变差,甚至出现 100% 耐药,比如头孢呋辛。大肠埃希菌对碳青霉烯类的抗生素如亚胺培南及美洛培南均表现出明显的敏感性,其耐药率均为 0。其他两种检出率较高的革兰阴性细菌也表现出类似的耐药性(表 2、图 1)。

革兰阳性细菌普遍对青霉素 G 耐药,红霉素的抗

菌效力也较差,4 种常见革兰阳性细菌对红霉素的耐药率在 68.18% ~ 100%。相反,万古霉素的耐药率最低,未见耐药菌株出现,其次是呋喃妥因,仅部分粪肠球菌对其耐药,约 13.33%(表 3、图 2)。

讨 论

慢性创伤性骨髓炎的治疗过程漫长,病情复杂并时有反复,有些患者常合并 2 种,甚至多种细菌导致多重感染^[11-12],治疗难度不断增大。目前外科治疗手段主要以对感染病灶清除后使用皮瓣覆盖缺损面^[13],或是确定骨创伤后骨组织的可疑感染尽快确定病原菌类型,所以抗菌谱对此类疾病的治疗有着至关重要的意义。我们共收集来自于不同骨髓炎治疗中心的共 330 例患者,其中 4 例合并 2 种病原菌的复杂的难治性骨髓炎。上述复杂病例我们在统计对抗生素敏感性时也发现其耐药的几率相对较高。

本研究共培养出 334 例菌株,在革兰阴性细菌中铜绿假单胞菌检出率最高,在该组中占 26.90%,在全部检出菌中占 11.70%,也是检出率仅次于葡萄球菌属的常见致病菌之一。同组中大肠埃希菌及阴沟肠杆菌检出率紧随其后,均为 17.93%,而肺炎克雷伯肺炎亚种菌的感染率也达到了 6.91%。不过有研究^[14]报道肠杆菌在四肢骨髓炎组织培养的革兰阴性细菌株中是主要的致病菌,但也指出,革兰阴性细菌检出率前几位的仍是铜绿假单胞菌、大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌以及鲍曼不动杆菌。本研究中鲍曼不动杆菌的检

表 1 4 家医院纳入患者的一般情况

项目	火箭军总医院	武警北京市总队第二医院	北京积水潭医院	北京大学首钢医院
例数(例)	82	111	105	32
性别(例)				
男	68	90	85	27
女	14	21	20	5
年龄(岁)	42(12 ~ 68)	40(12 ~ 75)	38(9 ~ 78)	39(14 ~ 70)
致伤原因(例)				
外伤性	51	69	67	19
医源性	31	39	36	13
其他原因*	-	3	2	-
感染的损伤类型(例)				
开放伤	47	63	52	18
闭合伤	35	48	53	14
感染部位(例)				
肱骨、尺桡骨及肩肘腕关节	1	10	7	1
股骨、胫腓骨及膝、踝关节	74	99	85	27
骨盆及髋关节	7	1	13	3
锁骨	-	1	-	1

注: * 此处因北京积水潭医院及武警北京市总队第二医院的临床统计资料中未明确原因,故列在其他原因中

表 2 检出病原菌中革兰阴性细菌的药敏结果

药物名称	铜绿假单胞菌(<i>n</i> = 39)		大肠埃希菌(<i>n</i> = 26)		阴沟肠杆菌(<i>n</i> = 26)		肺炎克雷伯菌肺炎亚种(<i>n</i> = 10)	
	耐药株	耐药率(%)	耐药株	耐药率(%)	耐药株	耐药率(%)	耐药株	耐药率(%)
阿米卡星	5	12. 82	7	26. 92	1	3. 85	3	30. 00
氨苄西林	39	100. 00	23	88. 46	23	88. 46	10	100. 00
氨苄西林/舒巴坦	39	100. 00	23	88. 46	23	88. 46	10	100. 00
氨曲南	2	5. 13	17	65. 38	23	88. 46	5	50. 00
头孢吡肟	2	5. 13	12	46. 15	0	0	4	40. 00
头孢他啶	0	0	13	50. 00	8	30. 77	1	10. 00
头孢曲松	39	100. 00	20	77. 00	19	73. 07	10	100. 00
头孢呋辛	39	100. 00	23	88. 46	26	100. 00	10	100. 00
环丙沙星	1	2. 56	12	75. 00	5	19. 23	3	30. 00
头孢噻肟	39	100. 00	13	50. 00	26	100. 00	3	30. 00
头孢唑啉	39	100. 00	12	75. 00	26	100. 00	10	100. 00
呋喃妥因	39	100. 00	3	11. 54	19	73. 07	8	80. 00
庆大霉素	4	10. 26	18	69. 23	5	19. 23	10	100. 00
亚胺培南	3	7. 69	0	0	0	0	0	0
左氧氟沙星	2	5. 13	12	75. 00	3	11. 54	4	40. 00
美洛培南	1	2. 56	0	0	0	0	0	0
哌拉西林	5	12. 82	12	75. 00	19	73. 07	10	100. 00
哌拉西林/他唑巴坦	5	12. 82	3	11. 54	3	11. 54	3	30. 00
复方新诺明	39	100. 00	22	84. 61	7	26. 92	7	70. 00
妥布霉素	1	2. 56	22	84. 61	7	26. 92	10	100. 00

表 3 检出病原菌中革兰阳性细菌的药敏结果

药物名称	金黄色葡萄球菌(<i>n</i> = 74)		MRSA(<i>n</i> = 36)		表皮葡萄球菌(<i>n</i> = 45)		粪肠球菌(D 群)(<i>n</i> = 15)	
	耐药株	耐药率(%)	耐药株	耐药率(%)	耐药株	耐药率(%)	耐药株	耐药率(%)
环丙沙星 B 组	32	42. 86	26	71. 43	15	33. 33	6	40. 00
克林霉素	58	78. 57	32	88. 89	21	46. 67	-	-
红霉素	50	68. 18	34	94. 44	30	66. 67	15	100. 00
呋喃妥因	0	0	0	0	0	0	2	13. 33
庆大霉素	25	33. 42	31	86. 11	10	22. 22	10	66. 67
左氧氟沙星	0	0	32	88. 89	15	33. 33	6	40. 00
利奈唑烷	0	0	0	0	0	0	2	13. 33
莫西沙星	0	0	32	88. 89	5	11. 11	-	-
苯唑西林	0	0	36	100. 00	45	100. 00	-	-
青霉 G	74	100. 00	36	100. 00	45	100. 00	4	26. 67
利福平	3	3. 25	31	86. 11	5	11. 11	-	-
四环素	17	22. 73	32	88. 89	5	11. 11	12	80. 00
替加环素	0	0	4	11. 11	0	0	0	0
复方新诺明	29	39. 27	0	0	26	57. 78	-	-
喹努普汀/达福普汀	0	0	4	13. 89	0	0	12	80. 00
万古霉素	0	0	0	0	0	0	0	0

注:MRSA 为耐甲氧西林金黄色葡萄球菌,- 为相关资料缺失

出率在革兰阴性细菌组中位于第 5 位。在革兰阳性细菌菌组中金黄色葡萄球菌检出率最高(包括 MRSA)(占 58. 20%),同时也是本研究中检出率最高的致病菌,占菌株总数 32. 93%(110/334),检出率居于其次的是表皮葡萄球菌,之后是粪肠球菌及人型葡萄球菌,分别占该组检出菌的 7. 94% 和 2. 65%,可见葡萄

球菌感染仍是造成骨髓炎的最主要原因。当然革兰阴性细菌中的铜绿假单胞菌、肠杆菌及肺炎克雷伯菌在骨感染病例的微生物培养中仍存在增长趋势,但在本研究中革兰阴性细菌和革兰阳性细菌在慢性骨髓炎患者中的分布差异无统计学意义($P > 0. 05$)。上述研究结果与国内外的报道一致^[15-16]。当然,创伤后所形

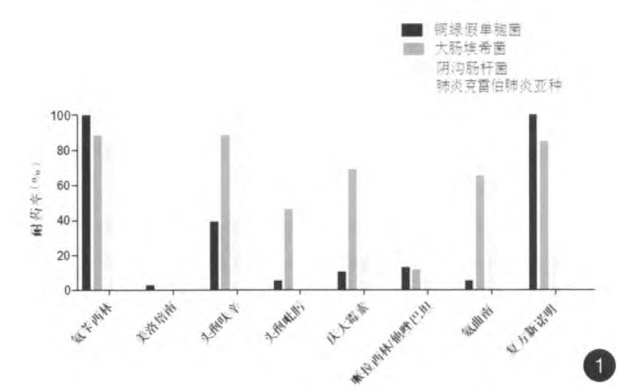


图 1 检出病原菌中革兰阴性细菌的药敏结果

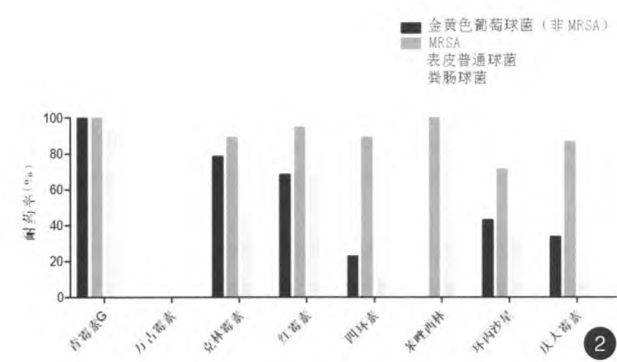


图 2 检出病原菌中革兰阳性细菌的药敏结果, 粪肠球菌对苯唑西林及克林霉素的耐药相关资料缺乏, MRSA 为耐甲氧西林金黄色葡萄球菌

成慢性骨髓炎病灶中除上述致病菌外, 有时会合并或单独感染, 如结核分枝杆菌、真菌等^[17-18], 培养条件及药敏谱也会与本研究中所绝大所属细菌有所不同。

上述常见致病菌对抗生素的耐药性差异主要与其参与形成骨感染局部 BBF 的形成有关^[4], BBF 的主要成分是胞外多糖、磷壁酸、蛋白质以及胞外 DNA, 其主要在骨科内置物表面形成, 并使感染迁延不愈, BBF 在坏死的骨组织及骨科内置物表面形成网格样矩阵结构, 帮助致病菌定殖并抵抗抗生素及消毒液作用, 能够大大增强细菌的活力及对抗生素的抵抗力, 导致抗菌治疗效果不佳, 感染病灶反复发作, 严重影响患者的生活质量并消耗大量医疗资源^[19-20], 且给临床相关对策的制定制造了很大困难。当然创伤后局部瘢痕形成、血供差以及抗生素滥用造成多重耐药菌的出现, 也是骨髓炎难治的原因。部分患者正是由于初次创伤后为预防感染而滥用抗生素造成细菌耐药性增强, 进而形成慢性骨感染病灶。本研究中检出率占首位的金黄色葡萄球菌在先前的研究中^[12]就发现与其宿主体内形成 BBF 密切相关, 其通过受配体结合的形式在骨科内置物的表面与各种细胞外蛋白, 比如纤维蛋白原和纤维连接蛋白等连接, 进而在局部定殖, 大量繁殖的金黄色葡萄球菌又通过不断分泌多糖及蛋

白使 BBF 逐渐致密, 抵御抗生素对其的杀灭及抑制。也有研究^[22]发现金黄色葡萄球菌还可以通过在 BBF 内不断分泌相关可溶性因子, 打破成骨或破骨的代谢平衡, 激活破骨细胞活动, 加强骨溶解进而对定殖区域周围的骨质产生进一步的破坏。在革兰阴性细菌中包括铜绿假单胞菌、大肠埃希菌等病原体在体内的致病作用也与其参与产生 BBF 进而破坏骨质有密切关系。在深部组织感染中, 铜绿假单胞菌的检出率呈逐年增加趋势, 且通过形成 BBF 进而影响中性粒细胞在内的炎性细胞的正常功能, 并加速感染部位的局部损伤^[23]。

而抗生素中的万古霉素与美洛培南也在相关实验^[24-25]中证实, 能够对多重耐药的革兰阴性细菌及革兰阳性细菌的生物膜形成产生破坏或抑制作用, 可见 BBF 的形成是致病菌产生耐药的原因以及抗生素产生作用的关键。

综上所述, 细菌培养和药敏实验对抗菌药物的合理选择具有重要的指导意义, 并且抗菌药物的使用是指针对致病微生物选择合适的抗菌药, 使用正确的剂量、合适的给予途径、给药间隔、恰当的疗程达到消灭病原菌及控制感染为目的。本研究通过对多中心的有关创伤后慢性骨髓炎的致病菌谱及其抗生素敏感性分析, 证实目前临床对于革兰阴性细菌为主的骨感染, 使用美洛培南效果最佳, 而病灶中主要致病菌为革兰阳性细菌时, 使用万古霉素则会取得满意的抗菌效果, 这与有关文献^[26]报道的结论是一致的。当然, 随着时间推移, 临床致病菌感染的菌谱及其对抗生素的敏感性仍在不断变化, 需定期进行大样本的统计调查, 使相关抗菌治疗更加科学、合理。

参 考 文 献

[1] Uckay I, Jugun K, Gamulin A, et al. Chronic osteomyelitis [J]. Curr Infect Dis Rep. 2012, 14(5): 566-575. DOI: 10.1007/s11908-012-0286-0.

[2] Lew DP, Waldvogel FA. Osteomyelitis [J]. Lancet, 2004, 364(9431): 369-379.

[3] Tsourvakas S. Local antibiotic therapy in the treatment of bone and soft tissue infections [M]. Intech Open Access Publisher, 2012.

[4] Bjarnsholt T. The role of bacterial biofilms in chronic infections [J]. APMIS, 2013, (136): 1-51. DOI: 10.1111/apm.12099.

[5] Walter G, Kemmerer M, Kappler C, et al. Treatment algorithms for chronic osteomyelitis [J]. Dtsch Arztebl Int, 2012, 109(14): 257-64. DOI: 10.3238/arztebl.2012.0257.

[6] Cook GE, Markel DC, Ren W, et al. Infection in orthopaedics [J]. J Orthop Trauma, 2015, 29(Suppl 12): S19-23. DOI: 10.1097/BOT.0000000000000461.

[7] Penn-Barwell JG, Bennett PM, Fries CA, et al. Severe open tibial fractures in combat trauma: management and preliminary outcomes

- [J]. Bone Joint J, 2013, 95(1): 101-105. DOI: 10.1302/0301-620X.95B1.30580.
- [8] Sanders J, Mauffrey C. Long bone osteomyelitis in adults: fundamental concepts and current techniques [J]. Orthopedics, 2013, 36(5): 368-375.
- [9] Conterno LO, Turchi MD. Antibiotics for treating chronic osteomyelitis in adults [J]. Cochrane Database Syst Rev, 2013, (9): CD004439. DOI: 10.1002/14651858.CD004439.
- [10] 张岩, 朱彦丞, 张子韬, 等. 影像学检查在慢性骨髓炎诊断中的研究进展 [J]. 中华创伤骨科杂志, 2016, 18(1): 89-92. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-7600.2016.01.018.
- Zhang Y, Zhu YC, Zhang ZT, et al. Progress in imaging research on the diagnosis of chronic osteomyelitis [J]. Chin J Orthop Trauma, 2016, 18(1): 89-92. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-7600.2016.01.018.
- [11] Canale ST, Beaty JH. Campbell's operative orthopaedics [M]. 12 ed. Canada: elsevier mosby, 2013: 731-733.
- [12] 王平山, 徐斌, 刘立峰, 等. 71 例慢性骨髓炎的菌群特点及治疗效果 [J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(18): 3863-3865.
- Wang PS, Xu B, Liu LF, et al. Flora characteristics and treatment effects of 71 cases of chronic osteomyelitis [J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2011, 21(18): 3863-3865.
- [13] 任义军, 严立, 胡锐, 等. 吻合血管的骨瓣移植治疗 Cierny-Mader III、IV 型胫骨骨髓炎 [J]. 中华创伤骨科杂志, 2015, 17(6): 477-480. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-7600.2015.06.005.
- Ren YJ, Yan L, Hu R, et al. Vascularized bone graft for tibial osteomyelitis of Cierny-Mader type III or IV [J]. Chin J Orthop Trauma, 2015, 17(6): 477-480. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-7600.2015.06.005.
- [14] Carvalho VC, Oliveira PR, Dal-Paz K, et al. Gram-negative osteomyelitis: clinical and microbiological profile [J]. Braz J Infect Dis, 2012, 16(1): 63-67. DOI: 10.1016/S1413-8670(12)70276-3.
- [15] Kremers HM, Nwojo ME, Ransom JE, et al. Trends in the epidemiology of osteomyelitis: a population-based study, 1969 to 2009 [J]. J Bone Joint Surg Am, 2015, 97(10): 837-845. DOI: 10.2106/JBJS.N.01350.
- [16] 张清华, 刘家帮, 阙金富, 等. 骨髓炎患者治疗过程中细菌谱及耐药性变化分析 [J]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2015, 9(19): 3645-3649. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2015.19.034.
- Zhang QH, Liu JB, Kan JF, et al. The analysis of Treatment of bacterial spectrum and drug resistance in patients with osteomyelitis [J]. Chinese Journal of Clinicians: Electronic Edition, 2015, 9(19): 3645-3649. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2015.19.034.
- [17] Bariteau JT, Waryasz GR, McDonnell M, et al. Fungal osteomyelitis and septic arthritis [J]. J Am Acad Orthop Surg, 2014, 22(6): 390-401. DOI: 10.5435/JAAOS-22-06-390.
- [18] Kempen DH, van Dijk M, Hoepelman AI, et al. Extensive thoracolumbosacral vertebral osteomyelitis after Lemierre syndrome [J]. Eur Spine J, 2015, 24(4): 502-507. DOI: 10.1007/s00586-014-3576-4.
- [19] Taylor PK, Yeung AT, Hancock RE. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: towards the development of novel anti-biofilm therapies [J]. J Biotechnol, 2014, 191: 121-130. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2014.09.003.
- [20] 唐辉, 徐永清. 细菌生物膜与慢性骨髓炎 [J]. 中国修复重建外科杂志, 2010, 24(1): 108-111.
- Tang H, Xu YQ. Bacterial biofilms and chronic osteomyelitis [J]. Chinese Journal of Reparative and Reconstructive Surgery, 2010, 24(1): 108-111.
- [21] Arciola CR, Campoccia D, Speziale P, et al. Biofilm formation in *Staphylococcus* implant infections. A review of molecular mechanisms and implications for biofilm-resistant materials [J]. Biomaterials, 2012, 33(26): 5967-5982. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2012.05.031.
- [22] Beck-Broichsitter BE, Smeets R, Heiland M. Current concepts in pathogenesis of acute and chronic osteomyelitis [J]. Curr Opin Infect Dis, 2015, 28(3): 240-245. DOI: 10.1097/QCO.0000000000000155.
- [23] Rybke M, Hultqvist LD, Givskov M, et al. *Pseudomonas aeruginosa* biofilm infections: community structure, antimicrobial tolerance and immune response [J]. J Mol Biol, 2015, 427(23): 3628-3645. DOI: 10.1016/j.jmb.2015.08.016.
- [24] Rose WE, Poppens PT. Impact of biofilm on the *in vitro* activity of vancomycin alone and in combination with tigecycline and rifampicin against *Staphylococcus aureus* [J]. J Antimicrob Chemother, 2009, 63(3): 485-488. DOI: 10.1093/jac/dkn513.
- [25] Hassan A, Usman J, Kaleem F, et al. Evaluation of different detection methods of biofilm formation in the clinical isolates [J]. Braz J Infect Dis, 2011, 15(4): 305-311. DOI: 10.1590/S1413-86702011000400002.
- [26] Humm G, Noor S, Bridgeman P, et al. Adjuvant treatment of chronic osteomyelitis of the tibia following exogenous trauma using OSTEOSSET (®) -T: a review of 21 patients in a regional trauma centre [J]. Strategies Trauma Limb Reconstr, 2014, 9(3): 157-161. DOI: 10.1007/s11751-014-0206-y.

(收稿日期:2016-03-07)

(本文编辑:张宁)