

## РОЛЬ НИЗКОВИРУЛЕНТНОЙ ИНФЕКЦИИ В РАЗВИТИИ НЕСТАБИЛЬНОСТИ ЭНДОПРОТЕЗА ТАЗОБЕДРЕННОГО СУСТАВА

Оришак Е.А.<sup>1</sup>, Нилова Л.Ю.<sup>1</sup>, Линник С.А.<sup>1</sup>, Сокурова А.М.<sup>2</sup>, Фадеев Е.М.<sup>1</sup>, Исмаел А.<sup>3</sup>, Степанов А.С.<sup>1</sup>, Коршунов Д.Ю.<sup>4</sup>, Цололо Я.Б.<sup>1</sup>, Усиков В.В.<sup>1</sup>, Лищук А.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Пискаревский пр-т, д. 47, Санкт-Петербург, 195067, Российская Федерация

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, ул. Литовская, д. 2, Санкт-Петербург, 194100, Российская Федерация

<sup>3</sup> Городская поликлиника № 23, Косинова ул., д. 17, Санкт-Петербург, 198079, Российская Федерация

<sup>4</sup> Федеральный центр травматологии, ортопедии и эндопротезирования, Строителей пр-т, д. 29, Смоленск, 214019, Российская Федерация

### Резюме

**Введение.** Нестабильность эндопротеза после артропластики тазобедренного сустава не является редким осложнением и служит показанием для ревизионного эндопротезирования. В случаях, когда при проведении предоперационных пункций не выявляется рост микрофлоры, нестабильность диагностируется как асептическая. Такие пациенты оперируются в условиях чистого отделения, и им проводится одномоментное реэндопротезирование. Вместе с тем, в публикациях последних лет все чаще стали появляться сообщения о том, что при углубленном микробиологическом исследовании удаленных имплантов выявляется рост слабовирулентной микрофлоры, что не позволяет считать нестабильность эндопротеза асептической.

**Цель.** Цель исследования: усовершенствовать диагностику перипротезной инфекции при наличии низковирулентной инфекции и асептической нестабильности тазобедренного и коленного суставов.

**Материалы и методы.** Проведен анализ применяемых методов диагностики перипротезной инфекции у 173 больных, находящихся на лечении в клинике травматологии и ортопедии с нестабильностью компонентов эндопротеза. Всем больным перед выполнением ревизионного эндопротезирования проводилось комплексное клиническое, гематологическое и микробиологическое исследование. В качестве материала для микробиологического исследования отбирали удаленные нестабильные компоненты эндопротеза, подлежащие измененные ткани, материал из бедренного канала и вертлужной впадины, синовиальную жидкость, перипротезную мембрану (при ее наличии), мазки из раны, кусочки костной ткани. Анализ результатов проводили с помощью программного обеспечения используемого прибора для проведения ПЦР в режиме «реального времени» Для статистической обработки полученных результатов использовали программную систему STATISTICA 10. Количественные параметры с помощью непараметрических методов  $\chi^2$ , критерии Фишера, Манна-Уитни.

**Результаты.** Решающее значение для диагностики перипротезной инфекции имеет микробиологическое исследование тканевых биоптатов, взятых во время операции. Положительные результаты оказались у 41 (23,7 %), что в 2 раза значимо ( $p < 0,05$ ) чаще, чем из пункций, взятых до операции. В первой группе положительные результаты были у 24 (20,3 %), а во второй у 17 (30,9 %), что значимо ( $p < 0,05$ ) в 2 раза выше, чем из пункций, взятых до операции реэндопротезирования. У всех пациентов с положительными результатами микробиологических исследований, полученными во время пункции, они оказались аналогичными полученным биоптатам, взятым во время операции реэндопротезирования. При этом, следует отметить, что микробный пейзаж у 31 (65,8 %) из 41 пациента с положительными пункциями совпадал с микробиотой, полученной при пункции сустава у больных с нестабильными эндопротезами. У остальных 14 (34,1 %) пациентов к выявленным во время пункции грамположительной микрофлоры дополнительно высевались ассоциации в виде грамотрицательной в основной представленной низковирулентной микрофлорой.

Оришак Е.А., Нилова Л.Ю., Линник С.А., Сокурова А.М., Фадеев Е.М., Исмаел А., Степанов А.С., Коршунов Д.Ю., Цололо Я.Б., Усиков В.В., Лищук А.А. Роль низковирулентной инфекции в развитии нестабильности эндопротеза тазобедренного сустава // Физическая и реабилитационная медицина. – 2024. – Т. 6. – № 3. – С. 20–34. DOI: 10.26211/2658-4522-2024-6-3-20-34.

Orishak EA, Nilova LY, Linnik SA, Sokurova AM, Fadeev EM, Ismael A, Stepanov AS, Korshunov DY, Tsololo YB, Usikov VV, Lishchuk AA. K voprosu o zashchite personal'nykh dannykh i "tsifrovoy" kul'ture v meditsinskikh organizatsiyakh [Value of staphylococci in incidence of periprosthetic joint infection development]. Fizicheskaya i reabilitacionnaya medicina [Physical and Rehabilitation Medicine]. 2024;6(3):20-34. DOI: 10.26211/2658-4522-2024-6-3-20-34. (In Russian).

Станислав Антонович Линник / Stanislav A. Linnik; e-mail: stanislavlinnik@mail.ru

**Обсуждение.** Бактериологический (культуральный) метод позволяет воочию убедиться в присутствии возбудителя, оценить его количество, определить чувствительность к антимикробным препаратам несколькими разработанными и стандартизированными способами. Фенотипическая резистентность, выявляемая в бактериологическом методе, позволяет отобрать резистентные штаммы для дальнейшего тестирования на присутствие генов резистентности в ПЦР.

**Заключение.** Микробиологическая диагностика имеет решающее значение при выборе тактики лечения и профилактики перипротезной инфекции. Однако, результативность микробиологического исследования недостаточно высока: посев пунктатов до операции и биоптатов, полученных во время ревизионной операции позволяет получить положительный результат лишь в 10-15 % случаях. Но рецидивы или инфекционные осложнения после реэндопротезирования встречаются у больных даже с отрицательными результатами микробиологического исследования.

**Ключевые слова:** эндопротезирование, перипротезная инфекция, коагулазонегативные стафилококки, тазобедренный сустав, нестабильность сустава

## VALUE OF STAPHYLOCOCCI IN INCIDENCE OF PERIPROSTHETIC JOINT INFECTION DEVELOPMENT

Orishak EA<sup>1</sup>, Nilova LY<sup>1</sup>, Linnik SA<sup>1</sup>, Sokurova AM<sup>2</sup>, Fadeev EM<sup>1</sup>, Ismael A<sup>3</sup>, Stepanov AS<sup>1</sup>, Korshunov DY<sup>4</sup>, Tsololo YB<sup>1</sup>, Usikov VV<sup>1</sup>, Lishchuk AA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov, 47 Piskarevskiy Ave, 195067 St. Petersburg, Russian Federation

<sup>2</sup>St. Petersburg State Pediatric Medical University, 2 Litovskaya Street, 194100 St. Petersburg, Russian Federation

<sup>3</sup>City Clinic N 23, 17 Kosinova Street, 198079 St. Petersburg, Russian Federation

<sup>4</sup>Federal Center for Traumatology, Orthopedics and Endoprosthesis, 29 Stroiteley Ave, 214019 Smolensk, Russian Federation

### Abstract

**Introduction.** Instability of the endoprosthesis after hip arthroplasty is not a rare complication and serves as an indication for revision arthroplasty. In cases where the growth of microflora is not detected during preoperative punctures, instability is diagnosed as aseptic. Such patients are operated on in a clean department, and they undergo simultaneous re-endoprosthesis. At the same time, in recent years, reports have increasingly begun to appear that an in-depth microbiological examination of removed implants reveals an increase in slightly virulent microflora, which does not allow us to consider the instability of the endoprosthesis aseptic.

**Aim.** The purpose of the study: to improve the diagnosis of periprosthetic infection in the presence of low-virulent infection and aseptic instability of the hip and knee joints.

**Materials and methods.** The analysis of the applied methods of diagnosis of periprosthetic infection in 173 patients undergoing treatment in the clinic of traumatology and orthopedics with instability of the components of the endoprosthesis was carried out. All patients underwent a comprehensive clinical, hematological and microbiological examination before performing revision arthroplasty. The removed unstable components of the endoprosthesis, the altered tissues to be changed, material from the femoral canal and acetabulum, synovial fluid, periprosthetic membrane (if any), smears from the wound, pieces of bone tissue were selected as material for microbiological examination. The analysis of the results was carried out using the software of the device used for conducting PCR in "real time" mode, the STATISTICA 10 software system was used for statistical processing of the results obtained. Quantitative parameters using nonparametric  $\chi^2$  methods, Fisher criteria, Mann-Whitney criteria.

**Results.** Microbiological examination of tissue biopsies taken during surgery is crucial for the diagnosis of periprosthetic infection. Positive results were found in 41 (23.7 %), which is 2 times more significant ( $p < 0.05$ ) than from the punctures taken before surgery. In the first group, 24 (20.3 %) had positive results, and in the second 17 (30.9 %), which is significantly ( $p < 0.05$ ) 2 times higher than from the punctures taken before the re-endoprosthesis operation. In all patients with positive microbiological examination results obtained during the puncture, they turned out to be similar to the biopsies obtained during the reendoprosthesis operation. At the same time, it should be noted that the microbial landscape in 31 (65.8 %) of 41 patients with positive punctates coincided with the microbiota obtained during joint puncture in patients with unstable endoprostheses. In the remaining 14 (34.1 %) patients, gram-positive microflora associations were additionally seeded in the form of gram-negative associations in the main low-virulent microflora.

**Discussion.** The bacteriological (cultural) method allows you to see firsthand the presence of the pathogen, assess its amount, and determine sensitivity to antimicrobial drugs in several developed and standardized ways. The phenotypic resistance detected in the bacteriological method makes it possible to select resistant strains for further testing for the presence of resistance genes in PCR.

**Conclusion.** Microbiological diagnosis is crucial when choosing tactics for the treatment and prevention of periprosthetic infection. However, the effectiveness of microbiological research is not high enough: seeding of punctures before surgery and biopsies obtained during revision surgery allows you to get a positive result only in 10-15 % of cases. But relapses or infectious complications after re-endoprosthesis are found in patients even with negative results of microbiological examination.

**Keywords:** endoprosthetics, periprosthetic joint infection, coagulase negative staphylococci, *S. epidermidis*, hip replacement, joint instability.

## Введение / Introduction

Артропластика тазобедренного сустава (ТБС) при лечении ортопедических больных является эффективной и востребованной как в зарубежной хирургической практике, так и в отечественной [1]. Вместе с тем с увеличением числа операций эндопротезирования возрастает и число осложнений, наиболее тяжелыми из них является перипротезная инфекция (ППИ), которая достигает 5-10 % [2-5].

Одним из самых частых осложнений в отдаленные после операции сроки является асептическое расшатывание эндопротеза (20-50,3 % случаев), которое приводит к ревизионным тотальным эндопротезированиям (Каминский А.В. с соавт., 2015; Narwin S. et al., 2019; Прохоренко В.М. и соавт., 2016; Cherian J.J. et al., 2015; Kelmer G. et al., 2021).

Нестабильность одного или обоих компонентов эндопротеза (по сведениям регистра ЭП РНИИТО им. Р.Р. Вредена) была преобладающей причиной асептических ревизионных артропластик тазобедренного сустава в 38,1 %, случаев (Шубняков И.И. и соавт., 2019). При этом удельный вес асептического расшатывания эндопротеза ТБС в структуре первичных ревизий достигает 50,3 %, а в структуре ре-ревизий занимает второе место по частоте после инфекционных осложнений и составляет 20,8 % (Шубняков И.И. и соавт., 2019).

Предоперационная дифференциальная диагностика между ППИ и асептической нестабильностью нередко является сложной задачей, особенно при наличии низковирулентных возбудителей и инфекциях, связанных с биопленками (Loppini M. et al., 2021). Нередко, многие случаи предполагаемой асептической нестабильности эндопротеза, могут быть вызваны нераспознанной инфекцией (Renard G. et al., 2020; Hipfl C. et al., 2021).

Зачастую ППИ проявляется нестабильностью оперированного сустава и болевым синдромом без изменений биохимических показателей, клеточных реакций крови, признаков воспаления. В некоторых случаях нестабильность импланта расценивается, как асептическое его расшатывание, что связано с особенностями установки эндопротеза, индивидуальными специфическими реакциями организма на материал имплантата, в том числе и аллергическими. Однако, в ряде наблюдений, при углубленном микробиологическом исследовании, удается верифицировать инфекционную этиологию нестабильности эндопротеза. Таким образом, так называемая «асептическая нестабильность эндопротеза», может быть обусловлена субклинической инфекцией, вызванной низковирулентными возбудителями – представителями микробиоты пациента или персонала [6].

Отсутствие патогномичных клинических признаков и специфических лабораторных показателей приводит к запоздалой диагностике ППИ. Вследствие этого микробиологическое исследование (МБИ) зачастую подключается только на стадии проявления признаков обострения инфекционного процесса, когда микробная составляющая уже не вызывает сомнения. Очевидно, что каждый случай с болевым синдромом после эндопротезирования должен расцениваться как потенциальное инфекционное осложнение до доказательства обратного [7].

Причиной развития ППИ может служить интраоперационное инфицирование – по имеющимся данным, около 2/3 случаев вызваны контаминацией поверхностей эндопротезов. Такие случаи приводят к ранним осложнениям, которые манифестируют в период от нескольких недель до нескольких месяцев после операции. Реже возможно отсроченное возникновение гнойного процесса вследствие имеющегося у пациента очага инфекции в мочевыводящих, верхних и нижних дыхательных путях, инфицированных ранах при диабете, определяющего гематогенное или лимфогенное распространение возбудителя. Такой риск сохраняется пожизненно. [8, 9]

По мнению большинства авторов, «золотым стандартом» МБИ является исследование образцов перипротезных тканей и синовиальной жидкости. Однако ключевым ограничением бактериологического метода является его чувствительность, обычно предполагающая содержание не менее  $10^3$  КОЕ микробных клеток исследуемого материала. Нередко при стандартных бактериологических методиках приходится констатировать отсутствие роста микроорганизмов, что может быть связано как с ничтожным их количеством, так и с антибактериальной терапией до взятия проб.

Для увеличения чувствительности бактериологического метода при исследовании таких материалов предлагалось применение ультразвуковой обработки удаленных ортопедических имплантатов, увеличение времени культивирования посевов, что, по мнению авторов, позволило бы диагностировать ППИ и при субклиническом течении инфекционного процесса [10]. Однако ни один из этих способов не решает проблему трактовки результатов и оценки этиологической значимости находок при экстремально малой микробной нагрузке.

По данным ряда авторов, чаще всего возбудителями инфекционного процесса в ортопедии являются грамположительные бактерии. Как этиологические агенты, *Staphylococcus aureus*

и *Staphylococcus epidermidis* встречаются более чем в 60 % случаев [7, 9]. Значительно реже в качестве возбудителей ППИ описываются грамотрицательные бактерии – от 8 до 17 % случаев [11]. Факторы вирулентности стафилококков, к которым относятся поверхностные белки, способствующие колонизации тканей, полисахаридная капсула, белок А, каротиноиды, экзотоксины и др., наиболее характерны для *S. aureus*.

Наличие клинического эквивалента позволяет авторам утверждать, что значительная часть инфекции вызвана слабовирулентными возбудителями с характерным субклиническим течением инфекционного процесса [12]. В таких случаях представляется оправданным обсуждать этиологическую роль коагулазонегативных стафилококков (КНС), среди которых описаны случаи выделения не только *Staphylococcus epidermidis*, но и штаммов *S. simulans*, *S. hominis*, *S. capitis*, *S. caprae* и *S. lugdunensis*.

Нестабильность эндопротеза после артропластики тазобедренного сустава не является редким осложнением и служит показанием для ревизионного эндопротезирования. Вместе с тем в публикациях последних лет все чаще стали появляться сообщения о том, что при углубленном МБИ удаленных имплантов выявляется рост слабовирулентной микрофлоры, что не позволяет рассматривать нестабильность эндопротеза асептической.

В связи с отсутствием диагностического теста, позволяющего в 100 % случаев диагностировать перипротезную инфекцию, продолжают разрабатываться и совершенствоваться диагностические алгоритмы для выявления данной патологии.

### Цель / Aim

Цель исследования: усовершенствовать диагностику ППИ при наличии низковирулентной инфекции и асептической нестабильности тазобедренного и коленного суставов.

### Материалы и методы / Materials and methods

Нами проведен анализ применяемых методов диагностики ППИ у 173 больных, находящихся на лечении в клинике травматологии и ортопедии с нестабильностью компонентов эндопротеза. Среди них было 61 (35,3 % мужчин) и 112 (64,7 % женщин) в возрасте от 29 до 77 лет (58,7±6,4). Первичное эндопротезирование ТБС и коленного сустава выполнялось по поводу остеоартритов, переломов шейки и асептического некроза головки бедренной кости. Нестабильность компонентов эндопротеза наступила через 1-12 лет (в среднем 5,8) после первичного эндопротезирования.

У всех обследованных нами больных изучен характер заживления послеоперационных ран после первичной артропластики суставов, процесс течения послеоперационного периода характер, периодичность болей области прооперированной конечности до появления нестабильности протеза. При локальном осмотре в области оперированного сустава, учитывалось наличие признаков воспаления (отек, гиперемия, гипертермия), а также функция сустава. В анамнезе у 48 больных с нестабильностью эндопротеза до поступления в клинику наблюдалось повышение температуры тела до 38°, лейкоцитоза, СОЭ, СРБ. На основании данных лабораторных и клинических исследований произведена оценка диагностической значимости результатов скрининга, включая МБИ в дооперационном периоде реэндопротезирования. В зависимости от показаний лабораторных, клинических и МБИ результатов, согласно критериям EBJIS 2021 для прогноза, выбора тактики лечения и диагностических исследований, больные были разделены на 2 группы. Первую группу составили 153 (73,6 %) пациента с прогностически благоприятным исходом, отсутствием повышенных гематологических показателей (лейкоцитоза, СРБ, СОЭ, нейтрофилеза и др.), явлений признаков воспаления в области оперированного сустава, т.е. с прогностически благоприятным течением в послеоперационном периоде при предстоящем оперативном вмешательстве реэндопротезирования. Вторую группу составили прогностически неблагоприятную – 55 (26,4 %) пациентов с наличием повышенных гематологических показателей и явлениями местных признаков воспаления, с неблагоприятным течением послеоперационного периода после первичного эндопротезирования.

Всем больным перед выполнением ревизионного эндопротезирования проводилось комплексное клиническое, гематологическое и микробиологическое исследования согласно алгоритмам международных профессиональных сообществ, таких как общество «Мышечно-скелетной инфекции» MSIS 2018, Европейского общества инфекции костей и суставов EBJIS 2021. Для прогнозирования ППИ были включены результаты клиничко-лабораторных данных. Для этого исследовали СОЭ, СРБ, лейкоцитоз, содержание эритроцитов и полиморфоядерных нейтрофилов в синовиальной жидкости, проводили МБИ пунктатов путем выполнения трехкратной пункции под контролем УЗИ из полости сустава до проведения ревизионного эндопротезирования.

Согласно современным алгоритмам, выделение условно патогенных возбудителей из одного образца биоматериала не подтверждает ППИ



при отсутствии других признаков инфекции, однако выделение низковирулентных микроорганизмов, таких как *S. aureus* даже из одного образца является диагностически значимым. Выделение условно патогенных организмов только из одного образца или даже отсутствие роста возбудителей из интраоперационного биоматериала не исключает диагноз ППИ [9]. Так, в исследовании Инагаки с соавт., 2019 [10], в 80 % случаев подтвержденной ППИ возбудитель был выявлен из 2 образцов биологического материала, в 8,3 % случаев – из одного образца, а в 11,7 % случаев возбудитель вообще не был выявлен. При этом рецидивы ППИ были в 21 % случаев.

Таким образом, МБИ биоматериала, полученного интраоперационно, является диагностически значимым методом при диагностике ППИ, в особенности при выявлении штаммов микроорганизмов одного фенотипа из двух и более образцов интраоперационного биоматериала (1). В связи с этим интраоперационное взятие нескольких образцов для МБИ было осуществлено всем пациентам. На исследование отправлено 661 образец (от 3 до 5 у каждого больного). В качестве исследуемого материала отбирали удаленные нестабильные компоненты эндопротеза (чашка, вкладыш, ножка, головка), подлежащие измененные ткани, материал из бедренного канала и вертлужной впадины, синовиальную жидкость, перипротезную мембрану (при ее наличии), мазки из раны, кусочки костной ткани. Мазки из раны, кусочки костной ткани помещали в транспортную среду Кэри-Блер или в стерильную емкость, а гной и другие жидкости – в стерильные пробирки. Смывы из костномозгового канала и часть жидкого материала засеивали непосредственно в операционной в питательные среды с нейтрализаторами антибиотиков Юнона®LABSTAR («СИНЬКЭ Биолоджиал Текнолоджи Ко., Лтд», Китай). Оставшуюся незасеянную часть в стерильных пробирках, а также прочие образцы, асептично упакованные, незамедлительно транспортировали в лабораторию.

Посев полученных образцов осуществлялся на расширенный набор питательных сред для выделения аэробных, факультативно-анаэробных и облигатно-анаэробных микроорганизмов, а также микромицетов. Кусочки тканей (мышцы) растирали в стерильной ступке со стерильным 0,9 % раствором натрия хлорида, после чего засеивали взвесь с рассевом для получения изолированных колоний. С фрагментов эндопротезов делали смывы стерильной пептонной водой и засеивали по аналогичной схеме.

При посеве использовалась общепринятая полуколичественная методика с рассевом,

не позволяющая доподлинно взвесить исследуемый материал и достоверно рассчитать концентрацию возбудителя. Степень роста оценивалась в виде следующих категорий: «со среды обогащения», «скудный», «умеренный», «обильный», «сливной», что предполагало следующие критерии: при выделении на плотной питательной среде рост до 10 колоний микроорганизмов определенного вида оценивался как скудный; от 10 до 100 колоний – умеренный; более 100 колоний – обильный. При сплошном росте микроорганизмов, не поддающихся подсчету, рост обозначался как сливной. С учетом чувствительности бактериологического метода от  $10^2$  КОЕ материала, ориентировочное количество выделенных бактерий предполагало следующую традиционно применяемую экстраполяцию: 10 КОЕ (колониеобразующих единиц) –  $10^2$  клеток/г, до 100 КОЕ –  $10^3 - 10^4$  клеток/г, более 100 КОЕ –  $10^5 - 10^6$  клеток/г, при невозможности подсчитать изолированные колонии (рост «газоном», «зарост») – более  $10^6$  клеток/г ( $10^7 - 10^8$  клеток/г).

Запасной обогатительный посев производился на тиогликолевый и сахарный бульон с последующим высевом на плотные среды. После смывов фрагменты протезов (чашка, вкладыш, ножка, головка) асептично помещали либо в широкогорлые флаконы с жидкой питательной средой, либо (в зависимости от размера) в специально подготовленные стерильные контейнеры с жидкими средами, обеспечивающие полное погружение элементов протезов. Стандартная методика инкубации обогатительных посевов подразумевала высев на плотные среды через 16-18 часов. В случаях инкубации компонентов протезов пролонгировали культивирование в жидкой питательной среде до 72 часов.

Во время микробиологического исследования при выявлении содержания в «доревизионном» пунктате или в интраоперационном «ревизионном» биоматериале менее  $10^3$  КОЕ в 1 см<sup>3</sup> или при полном их отсутствии проводили исследование всех видов нативного материала методом полимеразной цепной реакции, что, по нашему мнению, позволяет выявить ППИ даже при наличии низковирулентной инфекции.

Идентификация осуществлялась с использованием стандартизированных систем биохимической идентификации для различных групп микроорганизмов, а также методом MALDI TOF масс-спектрометрии.

С учетом того, что культуральное исследование материала, полученного до и во время ревизионного эндопротезирования, не вполне решает проблему трактовки результатов и оценку

этиологической значимости находок при экстремально малой микробной нагрузке и, соответственно, не всегда позволяет установить диагноз ППИ, требуется включение дополнительных микробиологических методов, что, в случае сходимости результатов, полученных разными методами, позволит трактовать находки как значимые. В связи с этим было проведено исследование образцов, полученных во время ревизионного эндопротезирования, в полимеразной цепной реакции (ПЦР). Теоретическая чувствительность ПЦР составляет 1 микробную клетку в исследуемом материале, на практике чувствительность ПЦР составляет  $10^2 - 10^3$  КОЕ.

До проведения посева на питательные среды проводили аликвотирование исследуемого материала путем отбора кусочков тканей и взятия смывов с нативного материала и компонентов протезов с последующим замораживанием при температуре  $-80^{\circ}\text{C}$  для дальнейшего исследования в ПЦР.

Для оценки микробного обсеменения, наличия генов устойчивости к антимикробным препаратам пробы исследуемого нативного материала не только засеивали на питательные среды, но закладывали для хранения в низкотемпературную морозильную камеру с целью дальнейшего проведения ПЦР. Для молекулярно-генетических исследований использовали следующие варианты отбора и хранения проб: 1) отбор тканевого материала в пробирки типа Vacuette с напылением раствора ЭДТА или в одноразовые микропробирки, сертифицированные на отсутствие ДНКаз и РНКаз, содержащие 0,2 мл стерильного физиологического раствора. Такие пробы исследовались незамедлительно; 2) замораживание проб, посев которых предварительно был осуществлен на питательные среды (остатки проб замораживали для дальнейших исследований с использованием молекулярно-генетических методов, в частности, в полимеразной цепной реакции); хранение проб для ПЦР осуществляли в низкотемпературной морозильной камере при температуре  $-80-86^{\circ}\text{C}$ .

Для этого нативный материал исследовали на наличие генов микроорганизмов, включая гены резистентности. Экстракция ДНК из биологического материала проводили в присутствии внутреннего контрольного образца (ВКО), который позволяет контролировать выполнение процедуры исследования для каждого образца. Экстракцию нуклеиновой кислоты осуществляли с использованием комплекта реагентов для выделения ДНК из клинического материала. Затем с полученными пробами ДНК проводили реакцию амплификации с использованием программируемого

амплификатора с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени» CFX96 Touch (Bio-Rad). Анализ результатов проводили с помощью программного обеспечения прибора, используемого для проведения ПЦР с детекцией в режиме «реального времени». Анализировали графики накопления флуоресцентного сигнала по соответствующим каналам, свидетельствующим о накоплении продукта амплификации фрагментов генов соответствующих микроорганизмов и/или ферментов резистентности. Клиническая интерпретация положительных результатов ПЦР расценивалась как значимая составляющая течения воспалительного процесса.

Для выявления механизмов резистентности, характерных для грамотрицательных бактерий, как для представителей порядка Enterobacteriales, так и для представителей нетаксономической группы грамотрицательных неферментирующих бактерий (НГОБ), использовали наборы реагентов «АмплиСенс® MDR MBL-FL», «АмплиСенс® MDR KPC/OXA-48-FL», «АмплиСенс® MDR A.b.-OXA-FL» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора). Фрагменты ДНК генов приобретенных металло- $\beta$ -лактамаз групп VIM, IMP и NDM, ДНК генов приобретенных карбапенемаз групп KPC и OXA-48-подобных выявлены не были. Гены карбапенемаз групп OXA-23-подобных, OXA-58-подобных и OXA-40-подобных, характерных для ацинетобактеров, как и гены карбапенемаз группы OXA-51-подобных, являющихся генами-маркерами *Acinetobacter baumannii*, выявлены не были.

Выявление генов метициллинрезистентных стафилококков в нативном материале осуществляли с использованием набора реагентов для выявления и количественного определения ДНК метициллин-чувствительного и метициллин-резистентного *S.aureus*, метициллин-резистентных коагулазонегативных *Staphylococcus spp.* в биологическом материале методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® MRSA-скрин-титр-FL».

Анализ результатов проводили с помощью программного обеспечения используемого прибора для проведения ПЦР в режиме «реального времени» CFX96 Touch (Bio-Rad). Анализировали как наличие ДНК *S.aureus*, так и ДНК гена *mecA*. В случаях с изучением изолятов стафилококков это позволило выявить 3 группы стафилококков (в перерасчете на количество копий/мл образца):

- ДНК MSSA (метициллин-чувствительный *S.aureus*)
- ДНК MRCoNS (метициллин-резистентные коагулазонегативные *Staphylococcus spp.*) –

при обнаружении гена *mecA* при одновременном отсутствии ДНК *S.aureus*

- ДНК MRSA (метициллин-резистентный *S.aureus*) – при одновременном обнаружении в сопоставимом количестве (по десятичному логарифму расчетной концентрации) ДНК *S.aureus* и *mecA*.

Расчет концентрации проводился по формуле:  $(B/C) \times \text{коэффициент ВКО} \times N = (\text{копий/мл образца})$ , где где А – расчетная концентрация ДНК *S.aureus*, В – расчетная концентрация ДНК гена *mecA*, С – расчетная концентрация ДНК, свидетельствующая о накоплении продукта амплификации ДНК внутреннего контрольного образца (ВКО STI-87),  $N=100/\text{объем экстракции, мкл}$ .

При работе в нативным материалом, если десятичный логарифм расчетной концентрации ДНК *S.aureus* отличался от расчетной концентрации ДНК гена *mecA* более, чем на 0,3, то полученный результат формулировался «ДНК MRSSpp. (MRSA и MRCoNS) (метициллин-резистентные *Staphylococcus spp.*, в том числе метициллин-резистентный *S.aureus* и метициллин-резистентные коагулазонегативные *Staphylococcus spp.*)»; в противном случае, при различии менее, чем на 0,3, выделенный изолят рассматривался как MRSA, а исследуемый материал (компоненты протезов) как содержащий MRSA.

При тестировании образцов, в отношении которых было установлено наличие ДНК *Staphylococcus spp.*, дополнительно было проведено исследование на наличие генов *vanA* и *vanB* с использованием набора реагентов «Ампли-Сенс® MDR VRE-FL». Данный набор предназначен для качественного определения ДНК *Enterococcus spp.* и генов *vanA* и/или *vanB*, детекцию которых проводят для выявления штаммов энтерококков, резистентных к ванкомицину (VRE), однако в отдельных редких случаях гены *vanA* и *vanB* могут выявляться у *Staphylococcus spp.*, что значительно отягощает течение заболевания и ограничивает ресурсы для терапии.

Для статистической обработки полученных результатов использовали программную систему STATISTICA 10. Количественные параметры с помощью непараметрических методов  $\chi^2$ , критерии Фишера, Манна-Уитни. Различия между группами считали статические значимыми при  $p < 0,05$ .

### Результаты / Results

Больные обеих групп были репрезентативны по гендерному составу. Средний возраст составил 57 лет (МКИ 49-70), а во второй – 61 лет (МКИ 48-67) ( $p > 0,05$ ). Медианы уровней лейкоцитоза, СОЭ, СРБ до операции реэндопротезирования между группами 1 и 2 значимо не различались

и составили соответственно,  $7,8 \times 10^9/\text{л}$ ,  $8,1 \times 10^9/\text{л}$  и  $15,8 \text{ мм/ч}$  (МКИ 13-28) и  $19 \text{ мм/ч}$  (МКИ 13-32),  $5,0 \text{ мг/мл}$  (МКИ 1,52-6,7) и  $3,5 \text{ мг/мл}$  (МКИ 1,9-6.1) ( $p > 0,05$ ).

Из 173 больных положительные результаты МБИ, взятых из пунктатов до операции реэндопротезирования были у 20 (11,6 %), из них в первой с благоприятным прогнозом у 6 (4,0 %) и второй у 14 (29,4 %), и были представлены в основном коагулонегативными стафилококками 14 (70,0 %), грамотрицательными у 3 (15,0 %), а микробные ассоциации у 5 (25,0 %) случаев.

Решающее значение для диагностики ППИ, которое является золотым стандартом является МБИ тканевых биоптатов, взятых во время операции. При этом, положительные результаты оказались у 41 (23,7 %), что в 2 раза значимо ( $p < 0,05$ ) чаще, чем из пунктатов, взятых до операции (OR = 2,0, 95 % ДИ 13,4 – 22,3). В первой группе положительные результаты были у 24 (20,3 %), а во второй у 17 (30,9 %), что значимо ( $p < 0,05$ ) в 2 раза выше, чем из пунктатов, взятых до операции реэндопротезирования. У всех пациентов с положительными МБИ, полученными во время пункции, они оказались аналогичными полученным биоптатам, взятым во время операции реэндопротезирования. При этом, следует отметить, что микробный пейзаж у 31 (65,8 %) из 41 пациента с положительными пунктатами совпадал с микробиотой, полученной при пункции сустава у больных с нестабильными эндопротезами.

У остальных 14 (34,1 %) пациентов к выявленному во время пункции грамположительной микрофлоры дополнительно высевались ассоциации в виде грамотрицательной в основной представленной низковирулентной микрофлорой.

Согласно критериям EBJIS 2021 ППИ была подтверждена в 20,3 % случаев первой, а вероятная инфекция почти в 1,5 раза чаще определялась во второй группе больных (30,9 %) ( $p < 0,01$ ).

По мнению большинства авторов, МБИ является диагностически значимым тестом. Однако, ключевым ограничением МБИ является его чувствительность, обычно предполагающая содержание не менее  $10^2$ - $10^3$  КОЕ в 1 мл исследуемого материала. В большинстве случаев, при стандартных бактериологических методах наблюдалось отсутствие роста микроорганизмов, что может быть связано с малым их количеством или антибактериальной терапией до взятия проб. В этих случаях мы провели исследование ПЦР всем 55 больным второй группы с неблагоприятным прогнозом ППИ, а также 118 пациентам первой группы с благоприятным прогнозом развития ППИ. При этом, из 55 пациентов второй группы,



у 21 (43,6 %) выявили ППИ, а из 118 большого первой группы только у 29 (24,6 %), что значимо на 17,1 %.

Исследуемый материал характеризовался слабой бактериальной обсеменённостью – рост преимущественно со среды обогащения – в 57 случаях (39,0 % от общего количества выделенных

штаммов). Однако при этом обращает на себя внимание скудный рост, либо его отсутствие с условно-абиотических объектов (компонентов протезов) и присутствие значительной обсеменённости (от умеренного до сливного роста) в ряде проб биоматериала (суставной жидкости, мазков, фрагментов тканей).

Таблица 1 / Table 1

**Высеваемость из разных видов исследуемого материал при ППИ / Seeding rate from different types of test material in periprosthetic infection**

Степень роста / Growth rate	Вид материала, количество штаммов / Type of material, number of strains				
	суставная жидкость / synovial fluid	мышцы, ткани / muscles, tissues	интраоперационная рана (мазки) / intraoperational wound (smears)	компоненты эндопротеза / components of endoprosthesis	итого / total
со среды обогащения	11	10	8	11	57
скудный	2	-	-	6	8
умеренный	4	3	4	1	12
обильный	9	5	7	3	24
сливной	6	5	1	1	13

В большинстве случаев из биоматериала и компонентов протезов высевались грамположительные кокки. Выделенные с КА и ЖСА грамположительные каталазопозитивные коагулазонегативные кокки были идентифицированы с помощью STAPHYtest 24 или api Staph, коагулазопозитивные с помощью латекс агглютинации. Таким образом, было идентифицировано 101 штаммов стафилококков, что составило 69,2 % от общего числа находок. Штаммы *S. aureus* были определены в 36 образцах (25,1 % случаев от числа находок), *S. epidermidis* – в 68 (46,6 %), *S. haemolyticus* – в 6-и (4,1 %), *Gemella sp.* в одном случае (0,9 %), *Micrococcus luteus* – в одном случае (0,9 %). Одинаковые штаммы, выделенные из разных образцов у одного пациента учитывались как один случай.

Каталазонегативные грамположительные кокки, выросшие на энтерококковом агаре были отнесены к семейству *Enterococcaceae*: 8 выявленных изолятов идентифицированы как *Enterococcus faecalis* и *Enterococcus faecium*, что составило 5,5 % от общего числа выделенных штаммов.

Грамотрицательные оксидазонегативные бактерии – представители энтеробактерий- идентифицировали с помощью ENTEROtest 24 N, при этом в девяти случаях (в 6,2 % от общего числа выявленных штаммов) были определены *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* *Klebsiella pneumoniae*.

Прочие представители, относящиеся к грамотрицательным палочкам, были определены в восьми образцах биоматериала и идентифицированы с помощью NEFERMtest 24 как неферментирующие грамотрицательные бактерии (НГОБ):

*Acinetobacter baumannii*, *Alcaligenes faecalis* (выделено одному изоляту, что составляет 0,9 % от общего числа находок) и *Pseudomonas aeruginosa* (5 штаммов – 3,4 %).

В одном случае (0,9 %) выявлен представитель галофильных вибрионов *Vibrio metschnikovii*, который описан как этиологический агент гнойно септических инфекций и способен к образованию биопленок.

Особенностью при бактериологическом исследовании эндопротезов явилось проведение основного посева на плотные питательные среды путем смыва с крупных фрагментов (тампоном, смоченным пептонной водой), а обогатительного посева путем погружения в емкости со средой накопления. При этом с компонентов удаленных эндопротезов всего было выделено 18 штаммов, из них только со среды обогащения – 11 (что составляет 7,5 % от общего числа выделенных штаммов). Выделенные с данных объектов изоляты были представлены только грамположительными кокками, преимущественно *S. epidermidis* (10 штаммов).

Все выделенные изоляты стафилококков (101 штаммов) тестировались на наличие генов *mesA*, что позволило получить следующие результаты: ген *mesA* был определен у 12 штаммов *S. aureus* (11,8 % от числа выделенных стафилококков), у 62 штаммов КНС (61,4 % от всех изолятов стафилококков), среди них у 58 штаммов *S. epidermidis* (57,4 %) и 4 штамма *S. haemolyticus* (4,0 %). Таким образом, выделенные культуры стафилококков были представлены в следующих группах в соответствии с наличием гена *mesA*:



MRSA (12 штаммов – 11,8 % от числа стафилококков)

MSSA (7 штамма – 6,9 %)

MRCoNS (62 штаммов – 61,4 %)

MScoNS (17 штаммов – 16,8 %)

Гены *vanA* и *vanB* ни у одного изолята стафилококков не выявлены.

Количественная характеристика ДНК метициллин-чувствительного и метициллин-резистентного *S.aureus*, метициллин-резистентных коагулазонегативных *Staphylococcus spp.* в перерасчёте на количество копий/мл образца в случае исследования накопленной чистой культуры не представляла значимого интереса и не могла быть корректно сравнена с таковой при исследовании нативного материала.

Нативный материал (мазки, синовиальную жидкость, взвесь подготовленных для посева тканей, смывы с компонентов протезов – всего 51 образец) также исследовали в ПЦР на наличие ДНК *S.aureus* и гена *mecA*, что позволило получить положительный результат в случаях, когда возбудитель не был обнаружен при проведении бактериологического метода, даже в условиях пролонгированного культивирования обогатительного

посева (табл. 2). Так, были получены дополнительные данные о четырех случаях присутствия ДНК MRCoNS и двух случаях ДНК MRSpp. (MRSA и MRCoNS). Во втором случае были достоверно выявлены и ДНК *S.aureus*, и ДНК гена *mecA*, т.к. различия в количестве их копий были значимыми (отличие от расчетной концентрации ДНК гена *mecA* более, чем на 0,3 является критерием наличия штаммов разных видов стафилококков (у разных пациентов). При работе с нативным материалом, если десятичный логарифм расчетной концентрации ДНК *S.aureus* отличался от расчетной концентрации ДНК гена *mecA* более, чем на 0,3, то полученный результат формулировался «ДНК MRSpp. (MRSA и MRCoNS) (метициллин-резистентные *Staphylococcus spp.*, в том числе метициллин-резистентный *S.aureus* и метициллин-резистентные коагулазонегативные *Staphylococcus spp.*)»

В 10 случаях ДНК *S.aureus* и гена *mecA* не выявлены. Положительные находки были зарегистрированы в 41 случае (80,4 % от числа исследуемых в ПЦР проб), из которых 3 были представлены MSSA, а количество устойчивых штаммов составило 74,5 % (38 проб).

Таблица 2 / Table 2

**Количественное определение ДНК *S.aureus* и гена *mecA* в нативном материале и при изучении изолятов стафилококков при ППИ / Quantification of *S.aureus* DNA and *mecA* gen in native material and in the study of staphylococcal isolates in periprosthetic infection**

Вид биоматериала/количество / Type of biomaterial/quantity		ДНК / DNA MSSA	ДНК / DNA MRCoNS	ДНК / DNA MRSA	ДНК / DNA MRSpp.
суставная жидкость	случаев обнаружения стафилококков	-	7	1	-
	копий/мл образца	-	2,4–9,0×10 <sup>5</sup>	8,8×10 <sup>3</sup> *	-
мышцы, ткани	случаев обнаружения стафилококков	-	7	1 *	-
	копий/мл образца	-	1,0–9,4×10 <sup>4</sup>	1,4×10 <sup>4</sup>	-
интраоперационная рана (мазки)	случаев обнаружения стафилококков	-	7	1 *	-
	копий/мл образца	-	2,5–7,7×10 <sup>3</sup>	3,1×10 <sup>4</sup>	-
компоненты эндопротеза	случаев обнаружения стафилококков	3	9	1	4
	копий/мл образца	1,1–2,7×10 <sup>4</sup>	4,3–7,7×10 <sup>3</sup>	5,8×10 <sup>3</sup> *	1,2–7,7×10 <sup>3</sup>

\*) Различия достоверны / The differences are significant (p<0,05)

Количественный эквивалент в перерасчете на количество копий/мл образца представляется значимой составляющей при разработке и определении критериев этиологической значимости в развитии ППИ маловирулентных микроорганизмов, таких как коагулазонегативные стафилококки. Так, обращает на себя внимание минимальное количество копий (на уровне чувствительности

бактериологического метода) при исследовании компонентов эндопротезов, в то время как при исследовании В ПЦР мышц, тканей, синовиальной жидкости число копий соответствует этиологически значимому количеству микроорганизмов. Данный факт может свидетельствовать о «потере» находок при использовании бактериологического исследования как единственного метода

и при появлении дополнительных положительных находок при параллельном исследовании в ПЦР материала, включая материал с компонентов эндопротезов. Так, удалось обнаружить 15 дополнительных случаев присутствия стафилококков, что составляет 14,8 % «дополнительных находок» от числа найденных ранее в бактериологическом методе изолятов стафилококков (101 штамм).

Из 173 пациентов положительные результаты на наличие микроорганизмов при микробиологическом методе получено только у 41 (20,2 %). При содержании в исследуемом материале  $10^3$  КОЕ в  $1 \text{ см}^3$  или отсутствии роста 55 больным выполнили ПЦР.

При этом методе исследования у 24 (43,6 %) пациентов из 55 пациентов второй группы выявлены ДНК патогенных микроорганизмов, свидетельствующие о наличии перипротезной инфекции и у 29 (24,6 %) из 118 первой группы, свидетельствующие о наличии перипротезной инфекции. Таким образом применение ПЦР исследования позволяет улучшить диагностику ППИ на 7,0 %

Клинический пример 1.

Больной К, 47 л., находился на лечении в клинике травматологии и ортопедии по поводу нестабильности эндопротеза левого тазобедренного сустава. В результате предоперационного исследования в аспирате из области сустава микроорганизмы не получены. Выполнено ревизионное эндопротезирование левого тазобедренного сустава. При микробиологическом исследовании операционного материала (перипротезных тканей, синовиальной жидкости, перипротезной мембраны, модульных компонентов эндопротеза) получен рост микроорганизма *S. aureus* ( $10^2$  КОЕ в  $1 \text{ см}^3$ ). Выполнено исследование биоптата методом ПЦР, выявлены ДНК патогенные микроорганизмы, свидетельствующие о наличии ППИ.

В послеоперационном периоде наблюдалось повышение температура тела до 38 градусов, повышение СОЭ до 25 мм/час и СРБ до 52 мг/л, лейкоцитоз до  $14,7 \times 10^9/\text{л}$ , а через 5 дней появилась гиперемия, отек и открылся свищ с гнойным отделяемым, с развитием ППИ.

Клинический пример 2.

Больная М., 64 г. Поступила в клинику травматологии ортопедии по поводу нестабильности компонентов эндопротеза левого коленного сустава. Перед операцией выполнена пункция сустава, микроорганизмы не получены. Выполнено ревизионное эндопротезирование левого коленного сустава. При микробиологическом исследовании операционного материала (перипротезных тканей, синовиальной жидкости, перипротезной мембраны, модульных компонентов эндопротеза)

получен рост микроорганизма *S. aureus* (менее  $10^3$  КОЕ в  $1 \text{ см}^3$ ). Выполнено исследование методом ПЦР, выявлены ДНК патогенные микроорганизмы, свидетельствующие о наличии ППИ. На 7-ые сутки наблюдалось повышение температуры тела до 38,6, с развитием синдрома воспалительной реакции, лейкоцитоза до  $14,8 \times 10^9/\text{л}$ , СРБ до  $44 \pm 8,7$  мг/л [95 % ДИ 38,4;52,1], СОЭ до 25,6 мм/час.

Через 10 дней открылся свищ с гнойным отделением, нагноение операционной раны, развитие ППИ.

Клинический пример 3.

Больная И., 54 г., находилась на лечении в клинике травматологии и ортопедии по поводу нестабильности эндопротеза правого тазобедренного сустава. В анамнезе до развития нестабильности компонентов эндопротеза неоднократно наблюдались признаки воспаления в области оперированного сустава, которые купировались антибиотикотерапией. При микробиологическом исследовании аспирата из области правого тазобедренного сустава микроорганизмы не получены. Выполнено ревизионное эндопротезирование правого тазобедренного сустава. При МБИ биоптатов (перипротезных тканей, синовиальной жидкости, компонентов эндопротеза) роста микроорганизма не получено. Выполнено исследование биоптатов методом ПЦР, выявлены ДНК патогенные микроорганизмы, свидетельствующие о наличии ППИ.

Через 2 недели после операции у больной наблюдалось повышение температуры тела до 37,7, лихорадка, признаки синдрома системной воспалительной реакции, явления воспаления послеоперационной раны. При пункции послеоперационной раны получен гной и высеян *S. epidermidis* с развитием ППИ.

Таким образом применение комплексных исследований микробиологического и, при наличии менее  $10^3$  КОЕ в  $1 \text{ см}^3$ , применение ПЦР позволяет диагностировать развитие ППИ и, соответственно, выбрать соответствующую тактику лечения больных с нестабильностью компонентов эндопротеза.

### Обсуждение / Discussion

Несмотря на вековую историю использования бактериологического метода, он остается актуальным и достаточно надежным в подавляющем большинстве клинических ситуаций. Бактериологический (культуральный) метод позволяет воочию убедиться в присутствии возбудителя, оценить его количество, определить чувствительность к антимикробным препаратам несколькими разработанными и стандартизированными

способами. Фенотипическая резистентность, выявляемая в бактериологическом методе, позволяет отобрать резистентные штаммы для дальнейшего тестирования на присутствие генов резистентности в ПЦР. Такая связка бактериологического (культурального) и молекулярно-генетического методов является насущной необходимостью современной микробиологической диагностики и позволяет обогатить имеющиеся представления о классической бактериологии. Но даже оставаясь золотым стандартом при валидации многих других современных методов микробиологической диагностики, бактериологический метод имеет ряд ограничений, включая относительно низкую чувствительность метода, требовательность отдельных групп бактерий, и, как следствие, нерепрезентативность получаемого результата, отсутствие уверенности в полноте расшифровки при положительном результате или получение ложноотрицательного результата исследования [13]. Так, в настоящем исследовании в 77,8 % случаев при бактериологическом исследовании биоматериала и смывов с компонентов эндопротеза выдан был ответ – отсутствие бактериального роста. В таких случаях клинические случаи нестабильности прооперированного сустава считаются асептическими. На фоне слабовыраженных показателей воспаления в силу низкой вирулентности преобладающих возбудителей ППИ послеоперационные осложнения расценивают как асептическое расшатывание конструкции, что не приводит к адекватной тактике лечения с обязательной антибиотикотерапией. В то же время одной из причин низкой результативности бактериологического исследования может служить проводимая эмпирическая антибиотикотерапия.

В случае исследования материала, выявление ДНК микроорганизмов при отрицательном результате посева может трактоваться как этиологически значимое, так как решающим фактором при этом является клинический эквивалент, по поводу чего и проводилась ревизия.

Преимуществом предлагаемой комбинации методов является, с одной стороны, возможность оценить значимость находок до операции, с другой стороны, обеспечит более раннюю расшифровку, нежели повторное бактериологическое исследование и определит тактику оперативного лечения у пациентов с нестабильностью компонентов эндопротеза. При последующем исследовании интраоперационного материала введение ПЦР в схему исследования также позволит ускорить этиологическую расшифровку и своевременно применить целенаправленную антибиотикотерапию.

Отдельного внимания заслуживают сложности, связанные с исследованием абиотических объектов – компонентов эндопротеза, удаленных при ревизии. Описан факт формирования перипротезной мембраны после протезирования, но при бактериологических исследованиях обнаружить микробный эквивалент зачастую не удастся, вероятно, в силу неразработанных методик пробоподготовки компонентов эндопротеза с предполагаемой перипротезной мембраны. Среди *S. epidermidis* чаще встречаются сильные биопленкообразователи и метициллинорезистентные штаммы, однако прямой зависимости между этими свойствами не установлено. Выраженная способность к формированию микробных биопленок более характерна для *S. epidermidis*, нежели для *S. aureus*, а также для штаммов, выделенных с ортопедических конструкций и тканевых биоптатов, по сравнению с изолятами из аспиратов, вне зависимости от вида стафилококка [13]. Нахождение этиологического агента в виде биопленок на поверхности имплантата и отсутствие его в суставной жидкости также приводит к отрицательному результату в случае оценки результатов таких проб как отдельных. Таким образом, нередкое назначение исследований синовиальной жидкости как единственного материала, имеющее место при диагностической пункции, приводит к указанному ложноотрицательному результату и неправильной оценке клинической ситуации. При получении спорных результатов, не подтверждающих микробную этиологию расшатывания протеза, по мнению ведущих специалистов, пациентов следует рассматривать априори как «условно-инфицированных», уделяя пристальное внимание микробиологическому исследованию тканевых биоптатов и удаленных конструкций [10].

Микроорганизмы, выявленные при бактериологическом исследовании биоматериала от пациентов с нестабильностью суставов после эндопротезирования или с признаками ППИ, относятся к условно-патогенным представителям нормобиоты. В большинстве случаев, по нашим данным и в исследованиях других авторов, выявлялись грамположительные стафилококки, с преобладанием КНС. Общность однотипных находок, прежде всего КНС, у разных авторов свидетельствует в пользу их значимости. КНС, вследствие своей низкой вирулентности с одновременной способностью к колонизации, вызывают гнойно-септические осложнения при сниженной резистентности организма пациента. Понимание проблематики роли КНС необходимо для использования тактики при ревизиях, профилактических мероприятиях при первичных и повторных оперативных



вмешательствах, учитывая профилактику интраоперационного инфицирования микробиотой пациентов. В данной ситуации трактовка получаемых результатов требует комплексного подхода: одновременного использования молекулярно-генетического метода как при оценке выделения слабовирулентных штаммов, которые дадут оценку вероятной «агрессивности» выделенных штаммов, так и при исследовании нативного материала, что поможет повысить процент этиологической расшифровки. Молекулярно-биологическое исследование повышает ценность бактериологического метода, его значимость и обогащает его информативность и в рамках бактериологического метода, и как самостоятельное исследование. Учитывая высокую частоту выявляемых генов резистентности ПЦР является необходимым дополнением на всех этапах микробиологического исследования материалов от пациентов с ППИ.

Показано, что эмпирическая антибактериальная терапия препаратами широкого спектра (с обязательной активностью в отношении метициллинрезистентных стафилококков) ещё до получения окончательных результатов бактериологического исследования и/или ПЦР интраоперационно отобранных тканей и конструкций, представляется оправданной [15].

С учетом теоретической (1 микробная клетка) и практической ( $10^2$ ) чувствительности метода ПЦР, определяемой способом взятия материала, доступностью микроорганизмов в составе биопленок и т.п. следует отметить, что исследование нативного материала увеличивает результативность и снижает число нерасшифрованного стерильного материала, однако малое количество копий порождает сомнения в корректности забора материала и отсутствии контаминации стафилококками – представителями нормобиоты персонала, частыми контаминантами объектов больничной среды и т.п. Наиболее надежный подтверждающий фактор – это наличие роста с обязательной процедурой обогащения, в том числе полученных интраоперационно компонентов эндопротезов.

### Заключение / Conclusion

Использование бактериологического метода в совокупности молекулярно-биологическим исследованием повышает результативность этиологической диагностики ППИ.

Превалирующим возбудителем ППИ являются стафилококки, преимущественно коагулазонегативные. Коагулазонегативные стафилококки как представители нормобиоты характеризуются низкой вирулентностью, но доказанной выраженной способностью к колонизации абиотических

объектов, а в случае эндопротезирования – к биопленкообразованию на всех компонентах искусственного сустава. Среди коагулазонегативных стафилококков, выделяемых при ППИ, высока частота резистентных штаммов, что необходимо учитывать при назначении эмпирической терапии и выборе тактики лечения.

### Литература

1. Prokopetz JZ, Losina E, Bliss RL, Wright J, et al. Risk factors for revision of primary total hiparthroplasty: a systematic review. *BMC Musculoskelet Disord.* 2012;13:251.
2. Perka C, Haas N. Periprothetische Infektion [Periprosthetic infection]. *Chirurg.* 2011 Mar;82(3):218-26. German. doi: 10.1007/s00104-010-2014-3.
3. Тихилов Р.М., Шубняков И.И., Коваленко А.Н., Черный А.Ж. и др. Данные регистра эндопротезирования тазобедренного сустава РНИИТО им. Р.Р. Вредена за 2007-2012 годы. // *Травматология и ортопедия России.* – 2013. – Т. 19. – № 3. – С. 167-190. DOI: 10.21823/2311-2905-2013--3-167-190.
4. Божкова С.А., Новокшенова А.А., Конев В.А. Современные возможности локальной антибиотикотерапии перипротезной инфекции и остеомиелита // *Травматология и ортопедия России.* – 2015. – Т. 21. – № 3. – С. 92-107.
5. Barrett L, Atkins B. The clinical presentation of prosthetic joint infection. *J Antimicrob Chemother.* 2014;69 Suppl 1:i25-7. DOI: 10.1093/jac/dku250.
6. Исмаел А., Ткаченко А.Н., Хайдаров В.М., Мансуров Д.Ш. и др. Причины развития нестабильности компонентов эндопротеза после артропластики тазобедренного и коленного суставов (научный обзор) // *Физическая и реабилитационная медицина.* – 2022. – Т. 4. – № 3. – С. 73–81.
7. Мурылев В.Ю., Куковенко Г.А., Елизаров П.М., Руккин Я.А. и др. Перипротезная инфекция при эндопротезировании тазобедренного сустава. // *Врач.* – 2018. – Т. 29. – № 3. – С. 17-22.
8. Винклер Т., Трампуш А., Ренц Н. и др. Классификация и алгоритм диагностики перипротезной инфекции тазобедренного сустава // *Травматология и ортопедия России.* – 2016. – Т. 22. – № 1. – С. 33–45.
9. Божкова С.А. Оптимизация антибактериальной терапии у пациентов с перипротезной инфекцией стафилококковой этиологии: автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. – СПб: 2016. – 47 с.
10. Казанцев Д.И., Божкова С.А., Золовкина А.Г., Пелеганчук В.А. и др. Диагностика поздней перипротезной инфекции крупных суставов. Какой диагностический алгоритм выбрать? // *Травматология и ортопедия России.* – 2020. – Т. 26. – № 4. – С. 9-20. DOI: 10.21823/2311-2905-2020-26-4-9-20.
11. Божкова С.А. Современные принципы диагностики и антибактериальной терапии инфекции протезированных суставов // *Травматология и ортопедия России.* – 2011. – Т. 17. – №3. – С. 126–136.

12. Божкова С.А., Краснова М.В., Полякова Е.М., Рукина А.Н. и др. Способность к формированию биопленок у клинических штаммов *S.aureus* и *S.epidermidis* – ведущих возбудителей ортопедической имплант-ассоциированной инфекции. // Клиническая Микробиология и Антимикробная Химиотерапия. – 2014. – Т. 16. – № 2. – С. 149-156.
13. Gómez-García F, Espinoza-Mendoza RL. ¿Qué hay de nuevo para el diagnóstico de infecciones periprotésicas después del Consenso de Filadelfia? [Whats new for the diagnosis of periprosthetic infections after the Philadelphia consensus?]. *Acta Ortop Mex.* 2019;33(2):127-35. In Spanish.
7. Murylev VY, Kukovenko GA, Elizarov PM, Rukin YA, et al. Periproteznaya infektsiya pri endoprotezirovanii tazobedrennogo sustava [Periprosthetic infection during hip replacement]. *Vrach [Doctor]*.2018;29(3):17-22.
8. Winkler T, Trampuz A, Renz N, Perka C, et al. Klassifikatsiya i algoritm diagnostiki periproteznoi infektsii tazobedrennogo sustava [Classification and algorithm for diagnosis and treatment of hip prosthetic joint infection]. *Travmatologiya i ortopediya Rossii [Traumatology and Orthopedics of Russia]*. 2016;22(1):33-45. DOI: 10.21823/2311-2905-2016-0-1-33-45.
9. Bozhkova SA. Optimizatsiya antibakterial'noi terapii u patsientov s periproteznoi infektsiei stafilokokkovoi etiologii [Optimization of antibacterial therapy in patients with periprosthetic infection of staphylococcal etiology]: avtoref. dis. ... d-ra med. nauk [abstract of the dissertation for the degree of doctor of medical sciences]. SPb [St. Petersburg], 2016. 47 p.
10. Kazantsev DI, Bozhkova SA, Zolovkina AG, Peleganchuk VA, et al. [Diagnosis of Late Periprosthetic Joint Infection. Which Diagnostic Algorithm to Choose?]. *Travmatologiya i ortopediya Rossii [Traumatology and Orthopedics of Russia]*. 2020;26(4):9-20. DOI: 10.21823/2311-2905-2020-26-4-9-20.
11. Bozhkova SA. Sovremennye printsipy diagnostiki i antibakterial'noi terapii infektsii protezirovannykh sustavov [Modern principles of diagnostics and antibacterial therapy of prosthetic joint infection (review)]. *Travmatologiya i ortopediya Rossii [Traumatology and Orthopedics of Russia]*. 2011;17(3):126-36. doi: 10.21823/2311-2905-2011-0-3-126-136.
12. Bozhkova SA, Krasnova MV, Polyakova EM, Rukina A, et al. Sposobnost' k formirovaniyu bioplenok u klinicheskikh shtammov *S.aureus* i *S.epidermidis* – vedushchikh vzbuditelei ortopedicheskoi implant-assotsirovannoi infektsii [The ability to form biofilms in clinical strains of *S.aureus* and *S.epidermidis*, the leading pathogens of orthopedic implant-associated infection]. // *Klinicheskaya Mikrobiologiya i Antimikrobnaya Khimioterapiya [Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy]*. 2014;16(2):149-56.
13. Gómez-García F, Espinoza-Mendoza RL. ¿Qué hay de nuevo para el diagnóstico de infecciones periprotésicas después del Consenso de Filadelfia? [Whats new for the diagnosis of periprosthetic infections after the Philadelphia consensus?]. *Acta Ortop Mex.* 2019;33(2):127-35. In Spanish.

## References

1. Prokopetz JZ, Losina E, Bliss RL, Wright J, et al. Risk factors for revision of primary total hiparthroplasty: a systematic review. *BMC Musculoskelet Disord.* 2012;13:251.
2. Perka C, Haas N. Periprotetische Infektion [Periprosthetic infection]. *Chirurg.* 2011 Mar;82(3):218-26. German. DOI: 10.1007/s00104-010-2014-3.
3. Tikhilov RM, Shubnyakov II, Kovalenko AN, Cherniy AZ, et al. Dannye registra endoprotezirovaniya tazobedrennogo sustava RNIITO im. P.P. Vredena za 2007-2012 gody. [Data of hip arthroplasty registry of Vreden Institute for the period 2007-2012 years]. *Travmatologiya i ortopediya Rossii [Traumatology and Orthopedics of Russia]*. 2013;19(3):167-90. DOI: 10.21823/2311-2905-2013--3-167-190.
4. Bozhkova SA, Novokshonova AA, Konev VA. Sovremennye vozmozhnosti lokal'noi antibiotikoterapii periproteznoi infektsii i osteomielita [Current trends in local antibacterial therapy of periprosthetic infection and osteomyelitis]. *Travmatologiya i ortopediya Rossii [Traumatology and Orthopedics of Russia]*. 2015;21(3):92-107. DOI: 10.21823/2311-2905-2015-0-3-92-107.
5. Barrett L, Atkins B. The clinical presentation of prosthetic joint infection. *J Antimicrob Chemother.* 2014;69 Suppl 1:i25-7. DOI: 10.1093/jac/dku250.
6. Ismael A, Tkachenko AN, Khaidarov VM, Mansurov DS, Balgley AG, Totoev ZA. Prichini razvitiya nestabilnosti komponentov endoproteza posle artroplastiki tazobedrennogo i kolennogo sustavov (nauchnii obzor) [Causes of instability of endoprosthesis components after hip and knee arthroplasty (science review)]. *Fizicheskaya i reabilitatsionnaya medicina [Physical and Rehabilitation Medicine]*. 2022;4(3):73-81. DOI: 10.26211/2658-4522-2022-4-3-73-81.

Поступила: 14.05.2024  
Принята в печать: 15.09.2024

## Авторы

Оришак Елена Александровна — кандидат медицинских наук, доцент кафедры медицинской микробиологии, ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Пискаревский пр-т, д. 47, Санкт-Петербург, 195067, Российская Федерация; e-mail: Elena.Orishak@szgmu.ru; <https://orcid.org/0000-0002-4562-4402>.

Нилова Людмила Юрьевна — кандидат медицинских наук, доцент кафедры медицинской микробиологии, ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Пискаревский пр-т, д. 47, Санкт-Петербург, 195067, Российская Федерация; e-mail: lyudmila.nilova@szgmu.ru; <https://orcid.org/0009-0005-8898-9152>.

Линник Станислав Антонович — доктор медицинских наук, профессор кафедры травматологии, ортопедии и военно-полевой хирургии, ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Пискаревский пр-т, д. 47, Санкт-Петербург, 195067, Российская Федерация; e-mail: stanislavlinnik@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-4840-6662>.

Сокурова Алла Михайловна — кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, ул. Литовская, д. 2, Санкт-Петербург, 194100, Российская Федерация; e-mail: amsokurova@gmail.com.

Фадеев Евгений Михайлович — кандидат медицинских наук, доцент кафедры травматологии, ортопедии и ВПХ, ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Пискаревский пр-т, д. 47, Санкт-Петербург, 195067, Российская Федерация.

Исмаел Аббас — врач травматолог-ортопед, ГБУЗ Городская поликлиника № 23, Косинова ул, д. 17, Санкт-Петербург, 198079, Российская Федерация; e-mail: ismael-abbas@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-4652-6588>.

Степанов Александр Сергеевич — аспирант кафедры медицинской микробиологии, ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Пискаревский пр-т, д. 47, Санкт-Петербург, 195067, Российская Федерация; e-mail: aleksandr.stepanov@szgmu.ru.

Коршунов Дмитрий Юрьевич — заведующий отделением травматологии и ортопедии № 1, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный центр травматологии, ортопедии и эндопротезирования», Строителей пр-т, д. 29, Смоленск, 214019, Российская Федерация; e-mail: dmi02041976@yandex.ru; <https://orcid.org/0009-0005-9819-0598>.

Цололо Ярослав Борисович — ассистент кафедры травматологии, ортопедии и военно-полевой хирургии, ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Пискаревский пр-т, д. 47, Санкт-Петербург, 195067, Российская Федерация; e-mail: yaroslav.tsololo@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-7744-0002>.

Усиков Вадим Владимирович — кандидат медицинских наук, доцент кафедры травматологии, ортопедии и ВПХ, ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Пискаревский пр-т, д. 47, Санкт-Петербург, 195067, Российская Федерация.

Лищук Александр Александрович — ординатор по направлению «Травматология и ортопедия», ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Пискаревский пр-т, д. 47, Санкт-Петербург, 195067, Российская Федерация.

## Authors

Orishak Elena Aleksandrovna — PhD in Medical sciences (Cand. Med. Sci.), Associate Professor of the Department of Medical Microbiology, North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov, 47 Piskarevskiy Ave, 195067 St. Petersburg, Russian Federation; e-mail: Elena.Orishak@szgmu.ru; <https://orcid.org/0000-0002-4562-4402>.

Nilova Lyudmila Yurievna — PhD in Medical sciences (Cand. Med. Sci.), Associate Professor of the Department of Medical Microbiology, North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov, 47 Piskarevskiy Ave, 195067 St. Petersburg, Russian Federation; e-mail: lyudmila.nilova@szgmu.ru; <https://orcid.org/0009-0005-8898-9152>.

Linnik Stanislav Antonovich — Grand PhD in Medical sciences (Dr. Med. Sci.), Professor of the Department of Traumatology, Orthopedics and Military Surgery, North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov, 47 Piskarevskiy Ave, 195067 St. Petersburg, Russian Federation; e-mail: stanislavlinnik@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-4840-6662>.

Sokurova Alla Mikhailovna — PhD in Biological sciences (Cand. Bio. Sci.), Associate Professor, Associate Professor of the Department of microbiology, virology and immunology of the St. Petersburg State Pediatric Medical University, 2 Litovskaya Street, 194100 St. Petersburg, Russian Federation; e-mail: amsokurova@gmail.com.



Fadeev Evgeniy Mikhailovich – PhD in Medical Sciences (Cand. Med. Sci.), Associate Professor of the Department of Traumatology, Orthopedics and Military Surgery, North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov, 47 Piskarevskiy Ave, 195067 St. Petersburg, Russian Federation.

Ismael Abbas – orthopedic traumatologist, City Clinic N 23, 17 Kosinova Street, 198079 St. Petersburg, Russian Federation; e-mail: ismael-abbas@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-4652-6588>.

Stepanov Aleksandr Sergeevich – postgraduate student of Department of medical microbiology, North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov, 47 Piskarevskiy Ave, 195067 St. Petersburg, Russian Federation; e-mail: aleksandr.stepanov@szgmu.ru.

Korshunov Dmitry Yurievich – Head of the Department of Traumatology and Orthopedics N 1, Federal Center for Traumatology, Orthopedics and Endoprosthetics, 29 Stroiteley Ave, 214019 Smolensk, Russian Federation; e-mail: dmi02041976@yandex.ru; <https://orcid.org/0009-0005-9819-0598>.

Tsololo Iaroslav Borisovich – assistant at the Department of Traumatology, Orthopedics and Military Surgery, North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov, 47 Piskarevskiy Ave, 195067 St. Petersburg, Russian Federation; e-mail: yaroslav.tsololo@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-7744-0002>.

Usikov Vadim Vladimirovich – PhD in Medical Sciences (Cand. Med. Sci.), Associate Professor of the Department of Traumatology, Orthopedics and Military Surgery, North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov, 47 Piskarevskiy Ave, 195067 St. Petersburg, Russian Federation.

Lishchuk Aleksandr Aleksandrovich – resident in the field of Traumatology and Orthopedics, North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov, 47 Piskarevskiy Ave, 195067 St. Petersburg, Russian Federation.