

ВОЗМОЖНОСТИ ПЦР В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ ДЛЯ ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ ДНК УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРИ ОСТРОЙ, ОТСРОЧЕННОЙ И ХРОНИЧЕСКОЙ ПЕРИПРОТЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ КРУПНЫХ СУСТАВОВ

Лямцева А. К., Костюк С. А., Полуян О. С., Бенько А. Н.

Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь

Актуальность. Перипротезная инфекция (ППИ) суставов является серьезным осложнением после эндопротезирования крупных суставов, требующим повторного хирургического вмешательства, длительной антимикробной терапии. В зависимости от микробной вирулентности возбудителей ППИ может проявиться рано в виде острой инфекции с появлением характерных жалоб и симптомов в течение первых трёх месяцев после имплантации, отсроченной в виде затяжной инфекции – от трёх месяцев до года, либо в виде хронической инфекции – через год и более. Ранняя острая и хроническая инфекция проявляются четкими местными, системными признаками воспаления, вызываются высоковирулентными возбудителями (например, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp.*, *Enterococcus spp.*). Отсроченная инфекция проявляется болью в суставах, ранним расшатыванием, вызывается менее вирулентными микроорганизмами (например, коагулазонегативными *Staphylococcus* или *Cutibacterium acnes*) [1]. Современные потребности ортопедии связаны с внедрением высокочувствительных и высокоспецифичных методов лабораторной диагностики.

Цель исследования – провести анализ видового спектра ДНК условно-патогенных микроорганизмов, участвующих в этиологии перипротезной инфекции после эндопротезирования коленного или тазобедренного сустава с использованием ПЦР в режиме реального времени.

Материалы и методы исследования. В исследование были включены 108 пациентов с признаками ППИ обоего пола, которым за период с 2022 по 2024 гг. в УЗ «Минская областная клиническая больница», было проведено первичное эндопротезирование тазобедренного (n=71, 65,74%, ДИ: 55,99-74,60) или коленного (n=37, 34,26%, ДИ: 25,40-44,01) сустава.

Для проведения молекулярно-генетических исследований у пациентов производили взятие фрагментов синовиальной оболочки. Перед выделением ДНК образцы гомогенизировали с помощью гомогенизатора «TissueLyser II» («Qiagen», Германия) в течение 3 минут с частотой 10/с с последующей экстракцией набором «АртСпин» («АртБиоТех», РБ).

ПЦР исследования по выявлению и количественному определению ДНК условно-патогенных микроорганизмов рода *Staphylococcus spp.*, рода *Streptococcus spp.* и семейства *Enterobacteriaceae* проводили с применением

набора реагента «АмплиПрайм Флороскрин» («АмплиПрайм», РФ). Набор реагентов «АмплиСенс MRSA-скрин-титр-FL» («АмплиСенс», РФ) использовался для выявления и количественного определения ДНК метициллин-чувствительного и метициллин-резистентного *Staphylococcus aureus* и метициллин-резистентных коагулазонегативных *Staphylococcus spp.* Качественное выявление и дифференциальную диагностику семейства *Enterobacteriaceae* (выявление ДНК *Escherichia coli*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.*, *Serratia spp.*, *Enterococcus faecalis/faecium*), а также *Pseudomonas aeruginosa* проводили с использованием набора реагентов «Септоскрин» («Литех», РФ). Амплификацию проводили на термоциклере «Rotor-Gene-6000» («Corbett research», Австралия).

Для описания частоты выявления ДНК условно-патогенных микроорганизмов приводили абсолютные (n) и относительные (%) значения. Доверительные интервалы определяли методом Клоппера-Пирсона (ДИ 95%).

Результаты. Острая форма инфекции встречалась у 15 (13,89%, ДИ: 7,99-21,87) включённых в исследование пациентов, отсроченная – у 50 пациентов (46,30%, ДИ: 36,65-56,15) и хроническая ППИ у 43 пациентов (39,81%, ДИ: 30,52-49,68). Возраст пациентов на момент обследования составил 59 (49/68) лет. Удельный вес мужчин составил 62,04% (ДИ: 52,19-71,20%) (n=67), женщин – 37,96% (ДИ: 28,80-47,81%) (n=41).

Микробный состав по спектру условно-патогенных микроорганизмов в биологическом материале из полости исследуемых суставов был разнообразен, при этом острая форма ППИ крупных суставов характеризовалась преимущественным выявлением ДНК *Staphylococcus spp.* (n=6, 40,00%, ДИ: 16,34-67,71%) с дифференциальным определением *Staphylococcus aureus* (n=5, 83,33%, ДИ: 35,88-99,58%) и коагулазонегативных *Staphylococcus spp.* (n=1, 16,67%, ДИ: 4,20-64,12%); ДНК *Enterococcus faecalis/faecium* с частотой встречаемости 26,67%, ДИ: 7,79-55,10% (n=4) случаев, а также ДНК *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.* (n=3, 20,00%, ДИ: 4,33-48,09%) и *Escherichia coli* (n=2, 13,33%, ДИ: 1,66-40,46%) из семейства *Enterobacteriaceae*. ДНК данных микроорганизмов выявлялась в диагностически значимых концентрациях.

При отсроченной ППИ частота выявления ДНК условно-патогенных микроорганизмов была следующей: *Staphylococcus spp.* – 46,00%, ДИ: 31,81-60,68% (n=23) случаев, в том числе *Staphylococcus aureus* – 30,43%, ДИ: 13,21-52,92% (n=7) случаев, и коагулазонегативных *Staphylococcus spp.* – 34,78%, ДИ: 16,38-57,27% (n=8) случаев; *Streptococcus spp.* – 22,00%, ДИ: 11,53-35,96% (n=11) случаев; *Enterococcus faecalis/faecium* – 4,00%, ДИ: 4,90-13,71% (n=2) случаев; семейство *Enterobacteriaceae* – 4,00%, ДИ: 4,90-13,71% (n=2) случаев, в том числе *Escherichia coli* – 50,00%, ДИ: 1,26-98,74% (n=1) случаев. ДНК данных микроорганизмов выявлялась в диагностически значимых концентрациях.

При изучении видового состава условно-патогенных микроорганизмов у пациентов с хронической ППИ крупных суставов было установлено присутствие ДНК *Staphylococcus spp.* в 41,86%, ДИ: 27,01-57,87% (n=18)

случаев с дифференциальным определением *Staphylococcus aureus* (n=5, 27,78%, ДИ: 9,69-53,48%) и коагулазонегативных *Staphylococcus spp.* (n=7, 38,89%, ДИ: 17,30-64,25%); ДНК *Streptococcus spp.* в 23,26%, ДИ: 11,76-38,63% (n=10) случаев; ДНК *Enterococcus faecalis/faecium* – 4,65%, ДИ: 0,57-15,81% (n=2) случаев; а также ДНК *Enterobacteriaceae* в 6,98%, ДИ: 1,46-19,06% (n=3) случаев. ДНК данных микроорганизмов выявлялась в диагностически значимых концентрациях.

Выводы. ПЦР в режиме реального времени значительно расширяет возможности микробиологической этиологической диагностики возбудителей перипротезной инфекции крупных суставов. В результате проведенного исследования установлено, что грамположительные бактерии доминируют в качестве этиологического фактора острой, отсроченной и хронической ППИ крупных суставов, это подтверждается преимущественным выявлением ДНК *Staphylococcus spp* и ДНК *Streptococcus spp.* Обнаруженные грамотрицательные бактерии в основном включали *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.* и *Escherichia coli*, которые преимущественно встречались при острой ППИ.

Литература.

1. Zimmerli, W. Prosthetic-joint infections / W. Zimmerli, A. Trampuz, P. E. Ochsner // N. Engl. J. Med. – 2004. – Vol. 351. – P. 1645–1654. DOI: 10.1128/CMR.00111-13.