

ОБРАЗОВАНИЕ БИОПЛЕНОК ШТАММАМИ СТАФИЛОКОККА, ВЫДЕЛЕННЫМИ ИЗ РАЗЛИЧНОГО БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ПРИ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЯХ ТОТАЛЬНОГО ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЯ КОЛЕННОГО СУСТАВА

И. В. Бабушкина — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии, старший научный сотрудник отдела фундаментальных и клинико-экспериментальных исследований, кандидат медицинских наук; **А. С. Бондаренко** — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, заместитель декана лечебного факультета и факультета клинической психологии; **И. А. Мамонова** — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии, младший научный сотрудник отдела фундаментальных и клинико-экспериментальных исследований, кандидат биологических наук; **В. Ю. Ульянов** — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии, заместитель директора по научной и инновационной деятельности, доктор медицинских наук.

BIOFILM FORMATION BY STAPHYLOCOCCUS STRAINS ISOLATED FROM VARIOUS BIOLOGICAL MATERIALS AT INFECTIOUS COMPLICATIONS FOLLOWING TOTAL KNEE REPLACEMENT

I. V. Babushkina — Saratov State Medical University n. a. V. I. Razumovsky, Scientific Research Institute of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery, Senior Research Assistant of Department of Fundamental, Clinical and Experimental Research, PhD; **A. S. Bondarenko** — Saratov State Medical University n. a. V. I. Razumovsky, Vice-Dean of Department of General Medicine and Clinical Psychology; **I. A. Mamonova** — Saratov State Medical University n. a. V. I. Razumovsky, Scientific Research Institute of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery, Junior Research Assistant of Department of Fundamental, Clinical and Experimental Research, PhD; **V. Yu. Ulyanov** — Saratov State Medical University n. a. V. I. Razumovsky, Scientific Research Institute of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery, Deputy Director for Science and Innovations, DSc.

Дата поступления — 24.05.2019 г.

Дата принятия в печать — 13.06.2019 г.

Бабушкина И. В., Бондаренко А. С., Мамонова И. А., Ульянов В. Ю. Образование биопленок штаммами стафилококка, выделенными из различного биологического материала при инфекционных осложнениях тотального эндопротезирования коленного сустава. Саратовский научно-медицинский журнал 2019; 15 (2): 261–266.

Цель: исследовать способность к биопленкообразованию в условиях *in vitro* штаммов *Staphylococcus spp.* — возбудителей имплантат-ассоциированной инфекции у пациентов после эндопротезирования коленного сустава в зависимости от исследуемого биологического материала. **Материал и методы.** Изучена способность к биопленкообразованию в условиях *in vitro* 275 штаммов *Staphylococcus spp.* Формирование биопленок проводили статическим способом в полистироловых 96-луночных планшетах по модифицированному методу G. D. Christensen. **Результаты.** Способность к биопленкообразованию выявлена у 51,2% исследуемых штаммов, причем среди коагулазоположительных стафилококков она была достоверно выше, чем у коагулазонегативных ($p < 0,05$). Штаммы стафилококка, выделенные из соникационной жидкости, полученной после ультразвуковой обработки удаленных компонентов эндопротезов, и из биоптатов мягких тканей, характеризовались высокой способностью к формированию биопленок, достоверно превышающей значения штаммов, выделенных из поверхностных ран и аспирата ($p < 0,05$). Межвидовые различия отмечены только у группы штаммов, выделенных из биоптатов: оптическая плотность экстрактов штаммов *S. epidermidis* достоверно выше, чем у штаммов *S. aureus* ($p < 0,05$). **Заключение.** Способность к биопленкообразованию у штаммов стафилококка, выделенного от пациентов с имплантат-ассоциированной инфекцией, зависит от исследуемого биологического материала, что определяет наиболее информативные методы микробиологического исследования.

Ключевые слова: имплантат-ассоциированная инфекция, биопленки, стафилококк, патогенез.

Babushkina IV, Bondarenko AS, Mamonova IA, Ulyanov VYu. Biofilm formation by Staphylococcus strains isolated from various biological materials at infectious complications following total knee replacement. Saratov Journal of Medical Scientific Research 2019; 15 (2): 261–266.

Objective: to study *Staphylococcus spp.* Strains biofilm forming ability in vitro. These strains are infectious agents for implant-associated infection in patients following total knee replacement depending on the biomaterial under study. **Material and Methods.** Biofilm forming ability in vitro of 275 *Staphylococcus spp.* strains has been studied. Biofilm formation was performed using modified method of G. D. Christensen. **Results.** Biofilm forming ability was discovered in 51.2% of the studied strains, at that it was reliably ($p < 0.05$) higher for coagulase-positive staphylococci compared to coagulase-negative ones. *Staphylococcus* strains isolated from sonication fluid obtained after removed prothesiscom-

ponents ultrasonication and soft tissue bioplates were characterised with high ability for biofilm forming. This ability was reliably ($p < 0.05$) higher than in strains isolated from wounds and aspirate. Interspecies differences were observed in a group of strains isolated from bioplates: optical density of the *S. epidermidis* stains extracts was reliably ($p < 0.05$) higher than that of *S. aureus* strains. **Conclusion.** Biofilm forming ability of *Staphylococcus spp.* strains isolated from patients with implant-associated infection depends on the biomaterial under study thus defining the most informative methods of microbiological study.

Key words: implant-associated infection, biofilms, staphylococcus, pathogenesis.

Введение. Имплантат-ассоциированная инфекция остается актуальной проблемой в травматологии и ортопедии, что связано с постоянным ростом числа эндопротезирований крупных суставов, большими материальными затратами на лечение инфекционных осложнений, высокой инвалидизацией пациентов [1, 2]. По данным регистра эндопротезирования коленного сустава РНИИТО им. Р.Р. Вредена, в 2011–2014 гг. доля ревизионного эндопротезирования коленного сустава на фоне развития глубокой имплантат-ассоциированной инфекции составила более 59% [1].

Длительное время основными возбудителями инфекционных осложнений после эндопротезирования крупных суставов считали коагулазоположительные стафилококки, особенно *S. aureus*, обладающие большим количеством известных факторов патогенности и вирулентности [3–5]. В последнее десятилетие пересмотрены представления о патогенезе имплантат-ассоциированной инфекции, и главная роль отводится способности возбудителя инфекции, как высокопатогенного, так и низкопатогенного, формировать биопленки, что рассматривается как основной фактор вирулентности [4–6]. Отдельное внимание уделяется взаимосвязи способности микроорганизмов к формированию биопленок и их резистентности к метициллину; многими авторами проводится активное изучение штаммов *S. epidermidis*, относящихся к клональному комплексу CC2 и являющихся носителями кассет SCCmec, детерминирующих устойчивость к метициллину и способных активно формировать биопленки [6].

Накопление бактериальной массы в виде биопленки на поверхности имплантатов и дальнейшая диссеминация микроорганизмов приводят к формированию хронического инфекционного процесса и необходимости удаления эндопротеза. Рядом исследователей доказано, что до 90% нозокомиальных инфекций связано с образованием биопленок и L-форм бактерий, устойчивых к антибиотикам, факторам иммунитета, неблагоприятным факторам

внешней среды [4, 6]. В состав биопленок входят бактерии с замедленным метаболизмом, которые при недостатке питательных веществ переходят в некультивируемое состояние, что существенно затрудняет микробиологическую диагностику.

Для раннего выявления инфекционно-воспалительных осложнений после эндопротезирования и дифференциальной диагностики имплантат-ассоциированной инфекции и асептического воспаления необходима обоснованная система микробиологической диагностики, учитывающая патогенетические особенности процесса, что требует пересмотра методологического подхода к микробиологической диагностике, применения информативных методов микробиологической диагностики, способных обнаруживать возбудителя в сессильной форме.

Цель: исследовать способность к биопленкообразованию в условиях *in vitro* штаммов *Staphylococcus spp.* — возбудителей имплантат-ассоциированной инфекции у пациентов после эндопротезирования коленного сустава в зависимости от исследуемого биологического материала.

Материал и методы. Проведен анализ результатов изучения способности к биопленкообразованию клинических штаммов стафилококка, выделенных из различных видов биологического материала, полученного от пациентов с перипротезной инфекцией после тотального эндопротезирования коленного сустава. В исследование включены 156 пациентов, проходивших лечение в НИИТО СГМУ им. В. И. Разумовского в 2016–2018 гг. Исследованию подлежали: отделяемое ран и свищей, аспираты коленного сустава, гомогенизированные биоплаты мягких тканей перипротезной области, удаленные компоненты эндопротезов. Всего выделено 275 штаммов стафилококка (видовой состав и чувствительность к метициллину исследуемых штаммов см. в табл. 1).

Группу сравнения составили референс-штаммы *S. epidermidis* (ATCC 12228) и *S. aureus* (ATCC 25923, MRSA 43300).

Таблица 1

Эпидемиологическая характеристика исследуемых штаммов

Биологический материал	Штаммы <i>Staphylococcus spp.</i> , включенные в исследование				
	<i>S. aureus</i> , n=121		<i>S. epidermidis</i> , n=154		Всего
	MSSA	MRSA	MSSE	MRSE	
Отделяемое ран и свищей	14	16	26	19	75
Аспират	11	18	19	11	59
Биоплаты мягких тканей	12	21	21	20	74
Соникационная жидкость	12	17	19	19	67
Всего	49	72	85	69	275

Примечание: MSSA — метициллинчувствительные штаммы *S. aureus*; MRSA — метициллинрезистентные штаммы *S. aureus*; MSSE — метициллинчувствительные штаммы *S. epidermidis*; MRSE — метициллинрезистентные штаммы *S. epidermidis*.

Ответственный автор — Бабушкина Ирина Владимировна
Тел.: +7 (927) 1010771
E-mail: 10051968@mail.ru

На этапе дооперационной диагностики осуществляли взятие материала из поверхностных ран и свищей с помощью стерильных тампонов Transportswab (Citowab) и пункцию коленного сустава для получения аспирата, что входит в стандартный протокол предоперационного обследования.

Интраоперационно проводили взятие тканевых биоптатов, не менее 3–5 точек для каждого пациента, общим объемом около 1 см³ в стерильные контейнеры. Биоптаты взвешивали, гомогенизировали, готовили разведение биоматериала изотоническим раствором NaCl, мерно высевали на плотные питательные среды.

Для деструкции биопленки при исследовании компонентов удаленных эндопротезов проводили их ультразвуковую обработку с целью получения взвеси сессильных бактериальных клеток для дальнейшего культурального исследования. Бактериологическое исследование фрагментов эндопротеза осуществляли следующим образом: удаленные фрагменты в операционной помещали в стерильный пакет и доставляли в лабораторию. В пакет добавляли 50–100 мл стерильного изотонического раствора, затем помещали в ванну ультразвуковой установки «УЗУМИ-2», заполненную водой. Обработку ультразвуком проводили в течение 10 минут при частоте 37 кГц. Затем соникационную жидкость мерно высевали на жидкие и плотные питательные среды для культурального исследования.

Микробиологическое исследование проводили по стандартным методикам с использованием дифференциально-диагностических и селективных сред. Для идентификации до вида использовали бактериологический анализатор Crystal Autoreader (Becton Dickinson).

Определение чувствительности к антибиотикам проводили диско-диффузионным методом согласно МУК 4.2.1890–04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам» с использованием Mueller-Hinton-Agar (Becton Dickinson) и сенсидисков (Becton Dickinson). Детекцию метициллинорезистентности осуществляли с использованием набора «MeReSa Agar Base, MRSA Alert» (Hi Media).

Биопленки моделировали статическим способом в полистироловых 96-луночных планшетах по методу G. D. Christensen [7]. Суточную агаровую культуру штаммов *Staphylococcus spp.* разводили 0,9%-м раствором NaCl до оптической плотности 0,5 McFarland с помощью денситометра Densi-La-Meter (Pliva-Lachema Diagnostika), затем разбавляли в 20 раз изотоническим раствором. Микробную взвесь в конечной концентрации 5 · 10⁶ КОЕ/мл вносили по 100 мкл в лунки стерильных 96-луночных микропланшетов, добавляли 100 мкл ГРМ-бульона с глюкозой.

Во все серии экспериментов включали референтные штаммы *S. aureus* ATCC 25923 и *S. epidermidis* ATCC 12228 для оценки воспроизводимости результатов. Лунки с жидкой питательной средой без добавления микробной взвеси использовали в качестве отрицательного контроля. Для всех контрольных и опытных лунок соблюдали 4-кратные повторности.

Планшеты закрывали крышками и инкубировали при 37°C в течение 24 часов. В часть лунок добавляли только 200 мкл бульона без добавления бактериальной взвеси. Дальнейшие этапы для контрольных лунок были аналогичными опытными.

Питательную среду с планктонной формой бактерий удаляли, трехкратно промывали лунки 0,9%-м

раствором NaCl. Для окрашивания образовавшейся биопленки в каждую лунку добавляли 100 мкл 0,1%-го водного раствора генцианвиолета на 20 минут при комнатной температуре. Краситель, который не связался с биопленкой, удаляли трехкратной промывкой планшета изотоническим раствором. Затем в каждую лунку вносили по 200 мкл 95%-го этанола для элюации связанного с образовавшейся биопленкой генцианвиолета. Оптическую плотность элюатов, которая отражала интенсивность образования биомассы биопленки, определяли на спектрофотометре Anthos 2020 при длине волны 540 нм.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программы Statistica 10.0. Проверку вариационных рядов на нормальность распределения выполняли по критерию Шапиро — Уилка. При статистическом анализе использовали непараметрические методы исследования с вычислением средней (M), стандартного отклонения средней (\pm SD), медианы (Me), 25-го и 75-го квартилей (Q). Для сравнения четырех выборок (отделяемое ран, аспираты, биоптаты, соникационная жидкость) использовали непараметрический дисперсионный анализ Краскела — Уоллиса. Для сравнения двух независимых выборок использовали тест Колмогорова — Смирнова. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. Проведено эпидемиологическое исследование клинических штаммов в зависимости от источника их выделения. Из отделяемого ран и свищей выделено 75 штаммов *Staphylococcus spp.* (27,3% от общего количества выделенных штаммов); из аспирата — 59 штаммов стафилококка (21,4%), из биоптатов мягких тканей — 74 штамма (26,9%); из соникационной жидкости — 67 штаммов *Staphylococcus spp.* (24,3%). Резистентность к метициллину выявлена у 51,2% всех штаммов, причем среди коагулазоположительных стафилококков она была достоверно ($p < 0,05$) выше (60,5%), чем у коагулазонегативных (44,8%). Данные по видовому составу и метициллинрезистентности штаммов, выделенных из различных видов биологического материала, представлены в табл. 1.

Проводили оценку способности формирования биопленок штаммами стафилококка статическим методом культивирования, который предполагает измерение оптической мутности элюатов генцианвиолета в 96-луночном планшете.

Для референс-штаммов *S. aureus* ATCC 25923 и *S. epidermidis* ATCC 12228 значения оптической плотности экстрактов генцианвиолета составили 0,211 (0,189; 0,234) и 0,189 (0,152; 0,214) соответственно.

Проведено исследование оптической плотности экстрактов генцианвиолета, полученных из клинических штаммов *Staphylococcus spp.*, отличающихся по виду, резистентности к метициллину и источнику выделения; результаты представлены в табл. 2.

Выявлено, что у элюатов из штаммов стафилококка, выделенных из поверхностных ран и свищей, значения оптической плотности экстрактов красителя достоверно ($p < 0,05$) ниже, чем у штаммов, выделенных из биоптатов мягких тканей и из соникационной жидкости, что отражает слабую способность к пленкообразованию данной группы штаммов. У штаммов, выделенных из аспиратов, отмечали самые низкие значения оптической плотности экстрактов, достоверно не отличающиеся от значений референсных штаммов, что также свидетельствует

Оптическая плотность экстрактов генцианвиолета, полученных из клинических штаммов *Staphylococcus spp.* и референс-штаммов

Биологический материал	Оптическая плотность экстрактов генцианвиолета для различных групп <i>Staphylococcus spp.</i>			
	<i>S. aureus</i>		<i>S. epidermidis</i>	
	MSSA, n=49	MRSA, n=72	MSSE, n=85	MRSE, n=69
Отделяемое ран и свищей	0,199 (0,156; 0,318)	0,332 (0,232; 0,398)	0,185 (0,162; 0,298)	0,309 (0,175; 0,432)
Аспират	0,156 (0,085; 0,179)	0,202 (0,178; 0,269)	0,195 (0,155; 0,256)	0,117 (0,092; 0,258)
Биоптаты мягких тканей	0,601 (0,465; 0,723) $P^{3-1}=0,027$ $P^{3-2}=0,002$	0,562 (0,511; 0,624) $P^{3-1}=0,027$ $P^{3-2}<0,001$	0,893 (0,742; 0,950) $P^{3-1}=0,014$ $P^{3-2}<0,001$	1,103 (0,969; 1,331) $P^{3-1}=0,002$ $P^{3-2}<0,001$
Соникационная жидкость	1,016 (0,966; 1,141) $P^{4-1}<0,001$ $P^{4-2}<0,001$	1,267 (1,178; 1,431) $P^{4-1}<0,001$ $P^{4-2}<0,001$ $P^{4-3}<0,001$	1,388 (1,104; 1,616) $P^{4-1}<0,001$ $P^{4-2}<0,001$ $P^{4-3}<0,001$	1,563 (1,056; 1,892) $P^{4-1}<0,001$ $P^{4-2}<0,001$

Примечание: в таблице приведены значения медианы и квартилей (25%; 75%); P^{3-1} — статистические различия между штаммами, выделенными из биоптатов, и штаммами, полученными из отделяемого ран; P^{3-2} — статистические различия между штаммами из биоптатов и штаммами, полученными из аспириатов; P^{4-1} — статистические различия между штаммами из соникационной жидкости и штаммами из отделяемого ран; P^{4-2} — статистические различия между штаммами, полученными из соникационной жидкости, и штаммами из аспириата; P^{4-3} — статистические различия между штаммами из соникационной жидкости и из биоптатов.

о слабой пленкообразующей способности этой группы изолятов (рис. 1, 2).

Штаммы стафилококка, выделенные из биоптатов мягких тканей, характеризовались высокими значениями оптической плотности экстрактов красителя, достоверно ($p<0,05$) превышающими показатели штаммов 1-й группы (отделяемое ран), 2-й группы (аспириаты) и референс-штаммов, что позволяет говорить о склонности данных штаммов формировать биопленки. Максимальные значения оптической плотности экстрактов генцианвиолета, достоверно ($p<0,05$) отличающиеся от 1-й и 2-й групп, отмечены среди штаммов, выделенных из соникационной жидкости (см. рис. 1, 2).

Сравнительный межвидовой анализ способности *S. epidermidis* и *S. aureus* формировать биопленки не выявил статистически достоверных различий способности к пленкообразованию при анализе штаммов, полученных из отделяемого ран, аспириатов, из соникационной жидкости (рис. 3).

Межвидовые различия отмечены только у группы штаммов, выделенных из биоптатов: оптическая плотность экстрактов штаммов *S. epidermidis* была достоверно ($p<0,05$) выше, чем у штаммов *S. aureus* (см. рис. 3).

Обсуждение. Проведено исследование способности штаммов *Staphylococcus spp.*, выделенных у пациентов с имплантат-ассоциированной инфекцией после эндопротезирования коленного сустава, к формированию биопленок в зависимости от вида исследуемого биологического материала, которое выявило достоверные различия способности к пленкообразованию у различных групп стафилококка.

Штаммы, выделенные из соникационной жидкости, полученной после ультразвуковой обработки удаленных компонентов эндопротезов, и из биоптатов мягких тканей, характеризовались высокой способностью к формированию биопленок, достоверно ($p<0,05$) отличающейся от штаммов, выделенных из поверхностных ран и аспириата. По данным неко-

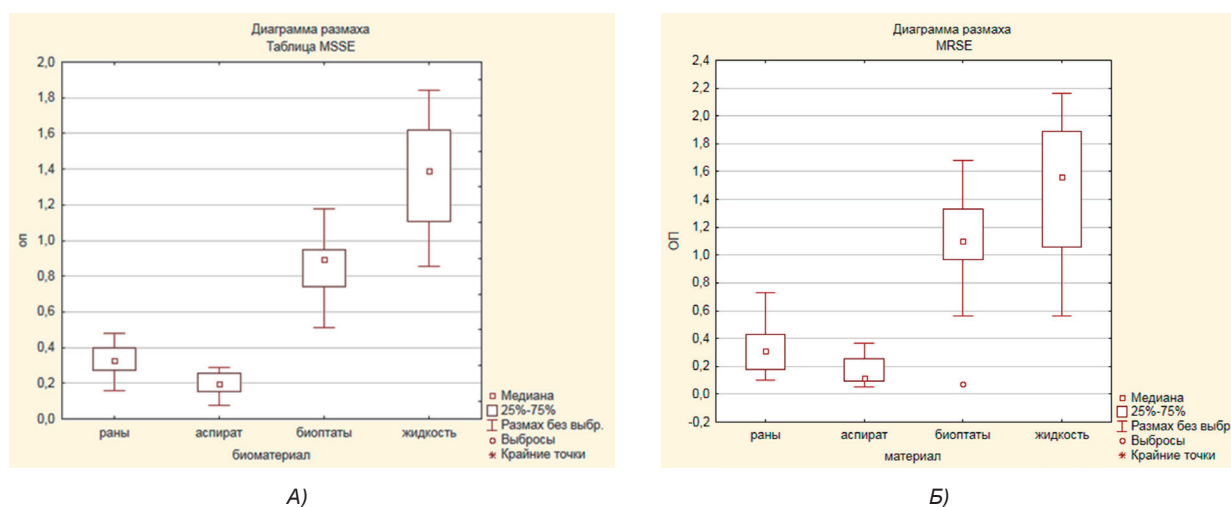


Рис. 1. Статистические различия оптической плотности экстрактов красителей штаммов *S. epidermidis*, выделенных из различного биологического материала: А) MSSA; Б) MRSE

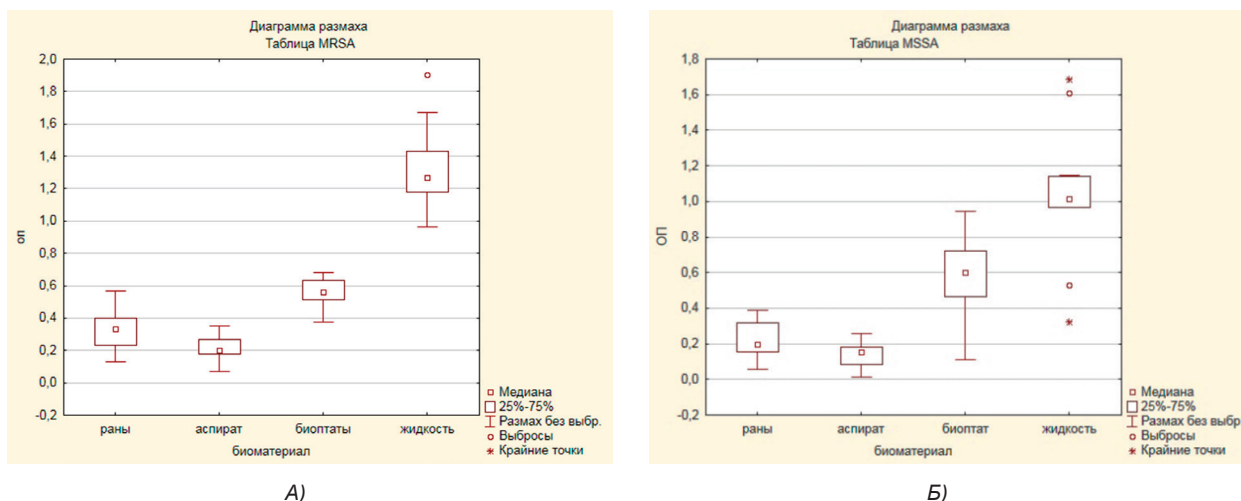


Рис. 2. Статистические различия оптической плотности экстрактов красителей штаммов *S. aureus*, выделенных из различного биологического материала: А) MRSA; Б) MSSA

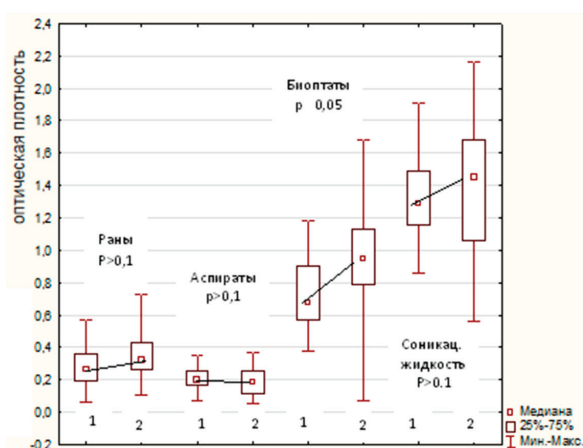


Рис. 3. Межвидовые различия способности *S. aureus* (1) и *S. epidermidis* (2) к пленкообразованию

торых исследователей, более интенсивное био пленкообразование у этих групп штаммов обусловлено неблагоприятными условиями внешней среды, недостатком кислорода, наличием абиогенных поверхностей компонентов эндопротеза. Все это приводит к активации био пленкообразования как защитного механизма, позволяющего микроорганизмам сохранить жизнеспособность. Рядом авторов показано, что существует избирательная адгезия микробов к имплантату: у штаммов *S. epidermidis* она активнее происходит к полимерным частям эндопротеза, у штаммов *S. aureus* — к металлическим [6, 8], однако наши исследования не обнаружили подобной тенденции. Следует учитывать, что и коагулазоположительные, и коагулазоотрицательные виды стафилококка могут активно взаимодействовать с белками организма (фибронектин, фибриноген, коллаген), которые покрывают конструкции эндопротеза немедленно после их имплантации [9], поэтому различия в тропности разных видов стафилококка к различным абиотическим материалам могут отсутствовать.

Штаммы стафилококка, выделенные из поверхностных ран и аспирата, характеризовались достоверно ($p < 0,001$) меньшей способностью в био пленкообразованию, чем штаммы, выделенные из биоптатов мягких тканей и из соникационной

жидкости. Данная закономерность может быть объяснена преобладанием планктонных форм бактерий в минимальном количестве в аспиратах и отделяемом поверхностных ран, с чем связана низкая информативность дооперационной бактериологической диагностики имплантат-ассоциированной инфекции. Биопленка, сформированная на поверхности эндопротеза с прочно фиксированными микроорганизмами, является основным патогенетическим фактором инфекционного процесса и может быть выявлена при исследовании других видов биологического материала — соникационной жидкости и гомогенизированных биоптатов мягких тканей.

Некоторые авторы указывают на более активное био пленкообразование у штаммов эпидермального стафилококка, особенно выделенных из соникационной жидкости и мягких тканей [10], однако достоверные ($p < 0,05$) межвидовые различия между интенсивностью пленкообразования между штаммами *S. aureus* и штаммами *S. epidermidis* выявлены только у штаммов, выделенных из биоптатов. При изучении всех других типов биологического материала видовые различия в способности формировать био пленки не обнаружены.

Заключение. Способность к формированию био пленок выявлена у 51,2% исследуемых штаммов, причем среди коагулазоположительных стафилококков она была достоверно ($p < 0,05$) выше, чем у коагулазоотрицательных.

Штаммы стафилококка, выделенные из соникационной жидкости, полученной после ультразвуковой обработки удаленных компонентов эндопротезов, и из биоптатов мягких тканей, характеризовались высокой способностью к формированию био пленок, достоверно ($p < 0,05$) превышающей значения штаммов, выделенных из поверхностных ран и аспирата.

Межвидовые различия отмечены только у группы штаммов, выделенных из биоптатов: оптическая плотность экстрактов штаммов *S. epidermidis* была достоверно ($p < 0,05$) выше, чем у штаммов *S. aureus*.

Таким образом, способность к био пленкообразованию у штаммов стафилококка, выделенных от пациентов с имплантат-ассоциированной инфекцией, зависит от исследуемого биологического материала, что определяет наиболее информативные методы микробиологического исследования, позволяющие

выявить инфекционные осложнения эндопротезирования крупных суставов и идентифицировать их этиологический фактор.

Конфликт интересов. Работа выполнена в рамках государственного задания НИИТОН ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В. И. Разумовского» Минздрава России «Оптимизация тактики диагностического поиска и лечения скрытой перипротезной инфекции области коленного сустава». Регистрационный номер: АААА-А18-118020290181-3.

Авторский вклад: концепция и дизайн исследования — В. Ю. Ульянов, А. С. Бондаренко; получение и обработка данных, написание статьи — И. В. Бабушкина, И. А. Мамонова; анализ и интерпретация результатов — В. Ю. Ульянов, А. С. Бондаренко, И. В. Бабушкина, И. А. Мамонова; утверждение рукописи для публикации — В. Ю. Ульянов.

References (Литература)

1. Preobrazhenskii PM, Kazemirskii AV, Goncharov MYu. Current views on diagnosing and treatment of patients with periprosthetic infection after the knee arthroplasty. *Orthopedic Genius* 2016; 3: 94–104. Russian (Преображенский П. М., Каземирский А. В., Гончаров М. Ю. Современные взгляды на диагностику и лечение пациентов с перипротезной инфекцией после эндопротезирования коленного сустава. *Гений ортопедии* 2016; 3: 94–104).
2. Tikhilov RM, Shubnyakov II, Kovalenko AN, et al. Data of hip arthroplasty registry of Vreden Institute for the period 2007–2012 years. *Traumatology and Orthopedics of Russia* 2013; 3: 167–90. Russian (Тихилов Р. М., Шубняков И. И., Коваленко А. Н. и др. Данные регистра эндопротезирования тазобедренного сустава РНИИТО им. Р. Р. Вредена за 2007–2012 годы. *Травматология и ортопедия России* 2013; 3: 167–90).
3. Bozhkova SA, Poliakova EM, Borisov AM, Rukina AN. MRSA at prosthesis joint infection: a target for antibacterial therapy. *Pharmateca* 2015; 4: 65–9. Russian (Божкова С. А., Полякова Е. М., Борисов А. М., Рукина А. Н. MRSA при инфекции протезированного сустава: мишень для антибактериальной терапии. *Фарматека* 2015; 4: 65–9).
4. Yarets Yul, Shevchenko NI, Rubanov LN. Dynamics of microbial content of chronic wound adjusted for preoperative

preparation features. *Problems of Health and Ecology* 2012; 32 (2): 108–14. Russian (Ярец Ю. И., Шевченко Н. И., Рубанов Л. Н. Динамика микробного состава хронической раны с учетом особенностей предоперационной подготовки. *Проблемы здоровья и экологии* 2012; 32 (2): 108–14).

5. Oliveira A. Comparison of methods for the detection of biofilm production in coagulase-negative staphylococci. *BMC Research Notes* 2010; 260 (3): 1–8.

6. Ilyina TS, Romanova YuM, Gintsburg AL. Biofilms as a mode of existence of bacteria in external environment and host body: The phenomenon, genetic control, and regulation systems of development. *Russian Journal of Genetics* 2004; 40 (11): 1189–98. Russian (Ильина Т. С. Романова Ю. М., Гинцбург А. Л. Биопленки как способ существования бактерий в окружающей среде и организме хозяина: феномен, генетический контроль и системы регуляции их развития. *Генетика* 2004; 40 (11): 1189–98).

7. Christensen DG, et al. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of Staphylococci to medical devices. *Journal of clinical microbiology* 1985; 22 (6): 996–1006.

8. Afinogenova AG, Darovskaya EN. Microbial biofilms of wounds: status of the issue. *Traumatology and Orthopedics in Russia* 2011; 3 (61): 119–25. Russian (Афиногенова А. Г. Даровская Е. Н. Микробные биопленки ран: состояние вопроса. *Травматология и ортопедия России* 2011; 3 (61): 119–25).

9. Mayansky AN, Chebotar IV. Saphylococcal biofilms: structure, regulation, rejection. *Microbiology* 2011; 1: 101–8. Russian (Маянский А. Н., Чеботарь И. В. Стафилококковые биопленки: структура, регуляция, отторжение. *Микробиология* 2011; 1: 101–8).

10. Smirnova TA, et al. Structural and functional characteristics of bacterial biofilms. *Microbiology* 2010; 79 (4): 413–23. Russian (Смирнова Т. А. и др. Структурно-функциональная характеристика бактериальных биопленок. *Микробиология* 2010; 79 (4): 413–23).

11. Bozhkova SA, Krasnova MV, Polyakova EM, et al. Biofilm formation by clinical isolates of *S. aureus* and *S. epidermidis* in prosthetic joint infection. *Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy* 2014; 2 (16): 149–56. Russian (Божкова С. А., Краснова М. В., Полякова Е. М. и др. Способность к формированию биопленок у клинических штаммов *S. aureus* и *S. epidermidis* — ведущих возбудителей ортопедической имплантат-ассоциированной инфекции. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия* 2014; 2 (16): 149–56).

УДК 612–115.2

Оригинальная статья

ЛАБОРАТОРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ГЕМОСТАЗА У ПАЦИЕНТОВ, НУЖДАЮЩИХСЯ В РЕВИЗИОННОЙ АРТРОПЛАСТИКЕ КОЛЕННОГО СУСТАВА

М. В. Гиркало — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии, старший научный сотрудник отдела инновационных проектов в травматологии и ортопедии, кандидат медицинских наук; **С. Г. Шахмартова** — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии, врач отделения клинической лабораторной диагностики, кандидат медицинских наук; **С. П. Шпиняк** — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии, младший научный сотрудник отдела инновационных проектов в травматологии и ортопедии, кандидат медицинских наук; **А. В. Мандров** — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии, заведующий операционным блоком, врач травматолог-ортопед; **М. Н. Козадаев** — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии, младший научный сотрудник отдела фундаментальных и клинико-экспериментальных исследований, кандидат медицинских наук; **Д. М. Пучиньян** — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии, главный научный сотрудник отдела фундаментальных и клинико-экспериментальных исследований, профессор, доктор медицинских наук.

HEMOSTASIS TEST PARAMETERS IN PATIENTS REQUIRING REVISION KNEE ARTHROPLASTY

M. V. Girkalo — Saratov State Medical University n. a. V. I. Razumovsky, Scientific Research Institute of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery, Senior Research Assistant of Department of Innovative Projects in Traumatology and Orthopedics, PhD; **S. G. Shakhmartova** — Saratov State Medical University n. a. V. I. Razumovsky, Scientific Research Institute of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery, Clinical Laboratory Diagnostics Department, PhD; **S. P. Shpinyak** — Saratov State Medical University n. a. V. I. Razumovsky, Scientific Research Institute of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery, Junior Research Assistant of Department of Innovative Projects in Traumatology and Orthopedics, PhD; **A. V. Mandrov** — Saratov State Medical University n. a.