

Оригинальные исследования / Original research



© БОЖКОВА С.А., КОНЕВ В.А., ГОРДИНА Е.М., НЕТЫЛЬКО Г.И., АНИСИМОВА Л.О., АХМЕДОВ Б.Г., ЛЕГОНЬКОВА О.А., ОГАННИСЯН А.С.

УДК: 616.71-018.46-002:616-092.4

DOI: 10.20333/25000136-2023-3-34-42

Оригинальные полимерные гели как средство предупреждения имплантат-ассоциированного остеомиелита в эксперименте

С.А. Божкова¹, В.А. Конев¹, Е.М. Гордина¹, Г.И. Нетылько¹, Л.О. Анисимова¹, Б.Г. Ахмедов², О.А. Легонькова², А.С. Оганнисян²

¹ Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена, Санкт-Петербург 195427, Российская Федерация

² Национальный медицинский исследовательский центр хирургии имени А.В. Вишневского, Москва 117997, Российская Федерация

Цель исследования. Оценить *in vitro* антимикробную активность трех вариантов экспериментальных гелей, а также изучить их эффективность в отношении предупреждения развития имплантат-ассоциированного остеомиелита в эксперименте на крысах.

Материал и методы. В работе исследовали образцы трех вариантов антибактериальных гелей на основе среднелекулярного поливинилпирролидона (ПВП), содержащие антибактериальные препараты. Эксперимент *in vitro*. На первом этапе была изучена чувствительность типового штамма *S.aureus* ATCC 29213 к действующему веществу образцов геля. Эксперимент *in vivo*. Исследование проводили в условиях вивария ФГБУ «НМИЦ ТО им. Р.Р. Вредена» на 23 половозрелых самках белых беспородных крыс. Всем животным имплантировали спицы в проксимальный отдел бедренной кости в различных группах. Животным контрольной группы (n=5) инфицированную спицу гелем не обрабатывали. В опытных группах 1, 2 и 3 (в каждой n=9) спицу обрабатывали исследуемым антимикробным гелем. Эвтаназию животных выполняли на 21-е сутки после операции, в этот срок выполняли микробиологическое и дальнейшее морфологическое исследование.

Результаты. Наличие антибактериальной активности в отношении типового штамма *S.aureus* ATCC 29213 регистрировали у всех трех образцов геля. Применение гелей 1 и 3 позволило достичь эрадикации стафилококков в двух случаях из трех. Наиболее выраженный антибактериальный эффект установлен при использовании геля 2. Морфологические исследования продемонстрировали гистологическую картину острого остеомиелита у животных контрольной группы (секвестры и сегментоядерные нейтрофилы в скоплениях фибрина 17,9±9,4 в п/3), Среднее количество нейтрофилов в группах 1, 2 и 3 было сопоставимо между ними, однако, значительно меньше (p<0,001), чем в контрольной: соответственно 3,4±2,7, 3,7±4,3 и 3,0±1,6 клеток в поле зрения.

Заключение. Применение всех трех вариантов экспериментальных гелей, не выявило существенных различий в их антибактериальной активности. Локальная антибактериальная терапия была эффективной и позволила предупредить развитие острого остеомиелита при имплантации инфицированной металлоконструкции у всех экспериментальных животных, однако, в единичных наблюдениях были визуализированы зоны с нейтрофильной инфильтрацией тканей, окружающих костномозговой канал. Проведенное исследование показало, что разработка полимерных антибактериальных гелей является перспективным направлением исследований для разработки средств профилактики и лечения имплантат-ассоциированной инфекции в ортопедии и травматологии.

Ключевые слова: остеомиелит, поливинилпирролидон, эксперимент, антимикробная активность, инфекция, травматология.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Божкова СА, Конев ВА, Гордина ЕМ, Нетылько ГИ, Анисимова ЛО, Ахмедов БГ, Легонькова ОА, Оганнисян АС. Оригинальные полимерные гели как средство предупреждения имплантат-ассоциированного остеомиелита в эксперименте. *Сибирское медицинское обозрение*. 2023;(3):34-42. DOI: 10.20333/25000136-2023-3-34-42

Original polymer gels as a means of preventing implant-associated osteomyelitis in an experiment

S.A. Bozhkova¹, V.A. Konev¹, E.M. Gordina¹, G.I. Netyl'ko¹, L.O. Anisimova¹, A.B. Ahmedov², O.A. Legon'kova², A.S. Ogannisyan²

¹Vreden National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics, St. Petersburg 195427, Russian Federation

²National Medical Research Center of Surgery named A.V. Vishnevsky, Moscow 117997 Russian Federation

The aim of the research. To evaluate antimicrobial activity of three variants of gels *in vitro*, as well as to study their efficacy in relation to prevention of implant-associated osteomyelitis in an experiment on rats.

Material and methods. The work involved studying three variants of antibacterial gels based on medium molecular weight polyvinylpyrrolidone (PVP) containing antibacterial products. The experiment was carried out *in vitro*. At the first stage, the sensitivity of type strain *S.aureus* ATCC 29213 to the active substance of gel specimens was investigated. The research was performed in the vivarium of FSBI «R.R. Vreden NMRC» on 23 sexually mature female white

outbred rats. All animals were implanted with wires into the proximal part of the femur in different groups. For the control animals (n=5), the infected wire was not treated with gel. In experimental groups I, II and III (n=9 for each), the wire was treated with the studied antimicrobial gel. Euthanasia of the animals was performed on day 21 after the procedure; the microbiological and further morphological study was performed within this period of time.

Results. The presence of antibacterial activity in relation of the type strain *S.aureus* ATCC 29213 was registered in all three specimens of the gel. Application of gels 1 and 3 made it possible to achieve eradication of *Staphylococcus* in two thirds of the cases. The most pronounced antibacterial effect was found while using gel 2. Morphological studies demonstrated a histological picture of acute osteomyelitis in control animals (sequesters and segmented neutrophils in fibrin accumulations 17.9±9.4 per field). Average quantity of neutrophils in groups I, II and III was comparable but significantly lower ($p<0.001$) than in the control group: 3.4±2.7, 3.7±4.3 and 3.0±1.6 cells per field.

Conclusion. The use of all the three variants of experimental gels did not reveal substantial differences in their antibacterial activity. Local antibacterial therapy was effective and made it possible to prevent development of acute osteomyelitis after implantation of an infected metal construction in all experimental animals. However, in occasional observations, areas with neutrophilic infiltration in tissue around the bone marrow cavity were visualised. The study has shown that development of polymeric antibacterial gels is a promising field for research in development of preventive means and for treatment of implant-associated infection in orthopaedics and traumatology.

Key words: osteomyelitis, polyvinylpyrrolidone, experiment, antimicrobial activity, infection, traumatology.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

Citation: Bozhkova SA, Konev VA, Gordina EM, Netyl'ko GI, Anisimova LO, Ahmedov AB, Legonkova OA, Ogannisyan AS. Original polymer gels as a means of preventing implant-associated osteomyelitis in an experiment. *Siberian Medical Review*. 2023; (3):34-42. DOI: 10.20333/25000136-2023-3-34-42

Введение

Высокая социально-экономическая значимость лечения инфекции, ассоциированной с ортопедическими имплантатами, определяется высокой инвалидизацией профильных пациентов, в том числе и трудоспособного возраста, и большими финансовыми затратами на их лечение. Согласно данным за 40-летний период, заболеваемость остеомиелитом увеличилась с 11,4 до 24,4 (из них посттравматический – до 9,7) случаев на 100 тыс. населения. У детей и лиц среднего возраста показатели оставались стабильными, а у лиц старше 60 лет выявлен рост в более чем 3 раза, коррелирующий с увеличением диабет-ассоциированного остеомиелита. При этом доля лиц трудоспособного возраста среди мужчин, подверженных заболеванию, составляет 60% [1]. И если после плановых ортопедических операций инфекционные осложнения отмечаются в 0,5-2 % случаев, то частота развития посттравматического остеомиелита после открытого перелома составляет от 2% до 25% случаев в зависимости от тяжести перелома [2,3]. По данным отечественных авторов, хронический остеомиелит составляет 7-12% в структуре заболеваний, относящихся к гнойно-хирургической инфекции, и до 6% среди патологии опорно-двигательного аппарата [4]. Отсрочка выполнения остеосинтеза при закрытых переломах приводит к увеличению частоты развития инфицированных гематом, некрозов, поверхностных и глубоких нагноений до 8 % [5,6]. Современная концепция антимикробной терапии ортопедической инфекции и предупреждения её рецидивов подразумевает создание локальных депо антибактериальных препаратов. В то же время, высокая актуальность разработки средств для локальной антимикробной терапии в травматологии и ортопедии продиктована недостаточной концентрацией антибиотиков в очаге остеомиелита и перипротезной инфекции при системном введении препаратов и, как следствие, низкой эффективностью лечения данных осложнений [7]. Разработка средств и спо-

собов, повышающих эффективность лечения инфекционных осложнений и профилактики их рецидивов, включает следующие направления [8]:

- 1) пассивная обработка/модификация поверхности имплантата без использования какого-либо фармакологически активного вещества;
- 2) активная обработка/модификация поверхности фармакологически активными бактерицидными агентами (например, покрытия, содержащие серебро или йод);
- 3) использование локальных средств во время операции непосредственно перед установкой имплантата.

Локальными носителями лекарственных препаратов могут являться биodeградируемые полимерные матрицы в любом исполнении – гели, губки, пленки. Несмотря на достаточно широкий выбор полимерных материалов и форм их применения, с точки зрения лечения и профилактики рецидивов ортопедической инфекции, предпочтительным является использование гелей, которыми можно покрывать поверхности ортопедических имплантатов любой формы.

Цель исследования

Оценить *in vitro* антимикробную активность трех вариантов экспериментальных гелей, а также изучить их эффективность в отношении предупреждения развития имплантат-ассоциированного остеомиелита в эксперименте на крысах.

Материал и методы

В исследовании изучили образцы трех вариантов антибактериальных гелей на основе среднемолекулярного поливинилпирролидона (ПВП), содержащих антибактериальные препараты (1,2 масс.% гентамицина и 5 масс.% фосфомицина). Экспериментальные образцы получали по разным технологиям: образец 1 – термической обработкой ПВП с последующим введением антибиотиков и обработкой ионизирующим излучением 15 кГр; образцы 2 и 3 – путем обработки ионизирующим излучением (30 кГр) водного раствора ПВП и лекарственных средств. Образец 2 содержал 30% ПВП, образец 3 – 15% ПВП.

Эксперимент *in vitro*. На первом этапе была изучена чувствительность типового штамма *S.aureus* ATCC 29213 к действующему веществу образцов геля диффузионным методом ("колодцев"). В агаре Мюллера-Хинтона на чашках Петри формировали лунки с помощью стерильных полых металлических цилиндров высотой 10 мм и диаметром 5 мм. Затем ватным тампоном засеивали *S.aureus* и в соответствующую лунку вносили 300 мкл тестируемого геля (на 1 чашку - 3 образца). Чашки инкубировали при температуре 37°C в течение 18 часов и проводили визуальную оценку антибактериального действия образцов гелей по наличию зоны задержки роста вокруг лунок. По результатам было определено, что штамм, используемый для инфицирования спиц, чувствителен к антибиотикам в составе всех трех образцов гелей.

Эксперимент *in vivo*. Исследование проводили в условиях вивария ФГБУ «НМИЦ ТО им. Р.Р. Вредена» на 23 половозрелых самках белых беспородных крыс, весом 180-220 гр, полученных из сертифицированного питомника АН "Рапполово". Работа с животными проводилась в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных целей, и требованиями «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» [9]. Все процедуры с животными были рассмотрены и утверждены Институтским этическим комитетом по использованию животных на предмет соответствия этическим принципам. Условия содержания животных соответствовали стандартам, указанным в руководстве The Guide for Care and Use of Laboratory Animals [10]. Животные были здоровы, имели ветеринарный сертификат качества и состояния здоровья, находились в идентичных условиях кормления и содержания. Крыс содержали в клетках габаритами 30 x 40 x 20 см по 3 особи в условиях искусственного освещения (по 12 часов темного и светлого времени), принудительной 12-кратной в час вентиляции, при температуре 18-26°C и относительной влажности 30-70%.

Для инфицирования стерильных стальных спиц (длина 15 мм, диаметр 1 мм) готовили бактериальную суспензию *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 в физиологическом растворе с оптической плотностью 0,5 по шкале McF (соответствует $1 \cdot 10^8$ КОЕ/мл). Полученную взвесь разводили в 1000 раз, так, чтобы итоговая микробная концентрация составила $1 \cdot 10^5$ КОЕ/мл. Спицы погружали в 3 мл готовой суспензии и оставляли на 18 часов при 37°C.

Всем экспериментальным животным в условиях операционной было выполнено хирургическое вмешательство. Под общим наркозом (кетамин) в положении животного на животе на операционном столе, с фиксацией конечностей, после трехкратной обработки кожи раствором антисептиков (йод, спирт), линейным разрезом кожи выполнен доступ к зоне проксимального отдела бедренной кости. Остро и тупо произведен доступ к большому вертелу правой бедренной кости. При помощи стоматологического бора формировали канал,

сообщающийся с костно-мозговым каналом. Животным контрольной группы ($n=5$) инфицированную спицу обрабатывали физиологическим раствором и имплантировали в сформированный канал. В опытных группах 1, 2 и 3 (в каждой $n=9$) спицу обрабатывали исследуемым антимикробным гелем, соответственно образцами 1, 2 и 3, после чего также имплантировали в костный канал лабораторному животному. Рану промывали раствором хлоргексидина, после чего ушивали, затем повторно обрабатывали растворами антисептиков (йод, спирт). Системную антибактериальную терапию проводили всем лабораторным животным в первые 3-е суток путем внутримышечного введения раствора цефтриаксона 0,03 г. Эвтаназию животных выполняли на 21-е сутки после операции, забирали блоки тканей с установленными имплантатами по 3 блока из каждой группы для микробиологического исследования спиц, по 6 блоков из каждой опытной группы и 2 блока из контрольной группы для морфологических исследований.

Микробиологические исследования. Спицы хирургическим путем извлекали из блока тканей и вносили в пробирки с универсальной питательной средой (LB-бульон), среда без спиц служила отрицательным контролем. Пробирки помещали в термостат на 18 часов при 37°C. При отсутствии признаков роста в отрицательном контроле визуально оценивали наличие признаков роста бактерий в остальных пробирках. Из пробирок с признаками роста выполняли посев на универсальные и селективные питательные среды для ориентировочного определения родовой или видовой принадлежности: Байрд-Паркер агар, агар UriSelect, Среда Эндо, Колумбийский агар. На плотные питательные среды наносили по 10 мкл проросшего бульона и петлей штрихами распределяли по поверхности агара. Чашки инкубировали при 37°C. Через 24-48 часов оценивали наличие роста бактерий и культуральные свойства выросших колоний. В случае сохранения *S. aureus* на спицах через 48 часов инкубации регистрировали рост на агаре Байрд-Паркера в виде крупных, блестящих, выпуклых колоний, окруженных опалесцирующим кольцом. Данный признак свидетельствовал о выживании *S. aureus* на спицах в течение 21 суток. Последующую видовую идентификацию выполняли методом MALDI-TOF-MS с использованием системы FlexControl и программного обеспечения MBT Compass 4.1. (Bruker Daltonics, Германия), Score $\geq 2,0$.

Морфологические исследования. Для гистологического исследования экспериментальный материал фиксировали в 10% формалине (рН 7,4), декальцинировали в 25% растворе соли органической кислоты «Трилон Б», обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации с использованием установки проводки материала Microm STR-120 (Micron Technology, США) и заливали в парафин, применяя заливочную станцию Leica (Германия). Срезы толщиной 5-7 мкм получали с помощью санного микротомы Leica (Германия). Окраску проводили гематоксилином и эозином согласно

протоколам производителей (Био-Витрум, Россия) с использованием автоматического линейного стейнера Raffaello Advanced (DIAPATH, S.p.A., Италия). Микроскопическое исследование и фотодокументирование проводили с помощью светового-цифрового микроскопа «EVOS XL® CORE» с увеличением x4, x10, x20 и x40, что соответствует стандартному увеличению x40, x100, x200, x400. При описании микропрепаратов оценивали наличие активного воспаления путем количественного подсчета сегментоядерных нейтрофилов. Визуализацию, получение оптического изображения и гистоморфометрический анализ микрообъектов проводили в ручном режиме. В каждом срезе измерения производили в 8 полях зрения при увеличении x400.

Статистический анализ выполняли в программе «Prism Graphpad», рассчитывали среднее значение и стандартное отклонение количества лейкоцитов в микропрепаратах исследуемых групп. Полученные значения оценивали методом однофакторного дисперсионного анализа ANOVA.

Работа выполнена в рамках Государственного задания № 056-00123-21-00 от 23.12.2020 года.

Результаты и обсуждение

Наличие антибактериальной активности в отношении типового штамма *S. aureus* ATCC 29213 регистрировали у всех трех образцов геля, вне зависимости от технологии изготовления и состава. В чашках Петри полностью отсутствовали признаки роста стафилококков (рис. 1); различий в активности образцов тестируемых гелей не было установлено.

Микробиологическое исследование удаленных спиц показало (табл.), что в контрольной группе все исследованные спицы были, помимо *S. aureus*, инфицированы представителями энтеробактерий (*Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae*). Применение гелей 1 и 3 позволило достичь эрадикации стафилококков в двух случаях из трех. При этом в одном наблюдении из группы 1 был получен рост *S. aureus* и *E. coli*, в то время как в наблюдении из группы 3 со спицы был выделен только *S. aureus*. Наиболее выраженный антибактериальный эффект установлен при использовании геля 2.

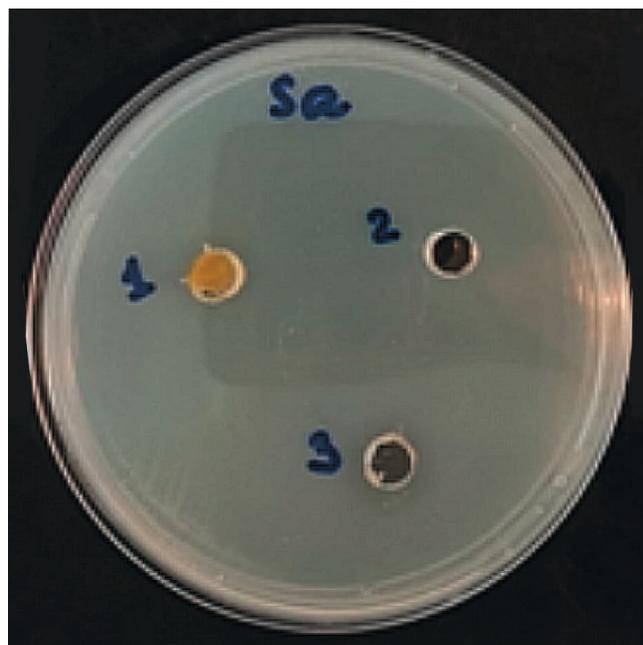


Рисунок 1. Фотографии чашки Петри, засеянных *Staphylococcus aureus*, через 20 часов после внесения в лунки образцов экспериментального геля (1, 2, 3).

*Примечание: Sa – *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

Figure 1. Photos of Petri dishes seeded with *Staphylococcus aureus*, 20 hours after the introduction of experimental gel samples into the wells (1, 2, 3).

*Note: Sa - *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

Гистологически у животных контрольной группы определяли морфологическую картину острого остеомиелита: костные секвестры и сегментоядерные нейтрофилы в скоплениях фибрина ($17,9 \pm 9,4$ в п/3) (рис. 2 А,В). Среднее количество нейтрофилов в группах 1, 2 и 3 было сопоставимо, однако, значительно меньше ($p < 0,001$), чем в контрольной: соответственно $3,4 \pm 2,7$, $3,7 \pm 4,3$ и $3,0 \pm 1,6$ клеток в поле зрения, что свидетельствует о выраженном снижении инфекционно-воспалительных проявлений при обработке имплантируемой инфицированной спицы экспериментальными гелями.

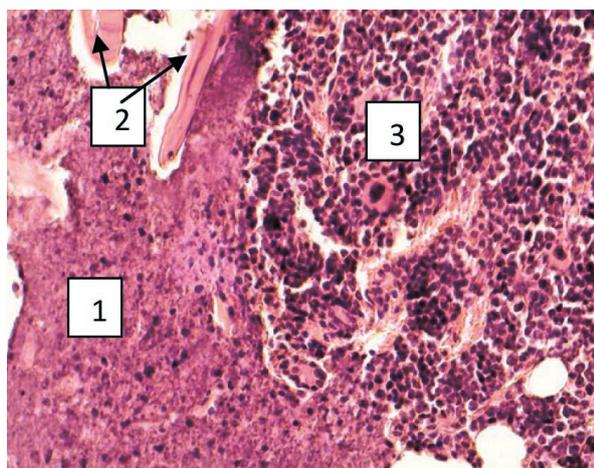
Таблица

Результаты бактериологического исследования инфицированных спиц на 21 сутки после имплантации

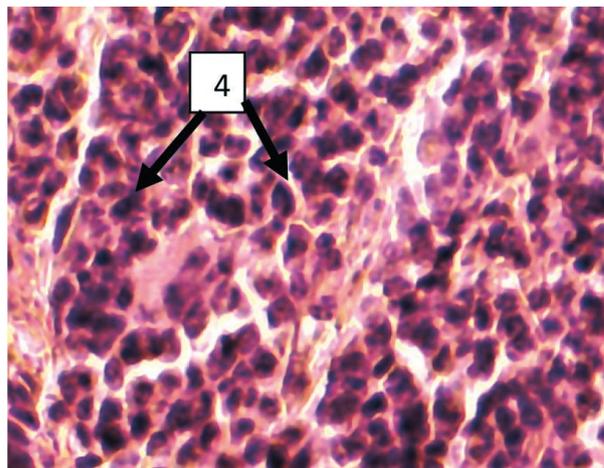
Table

Results of bacteriological examination of infected wires on 21 days after implantation

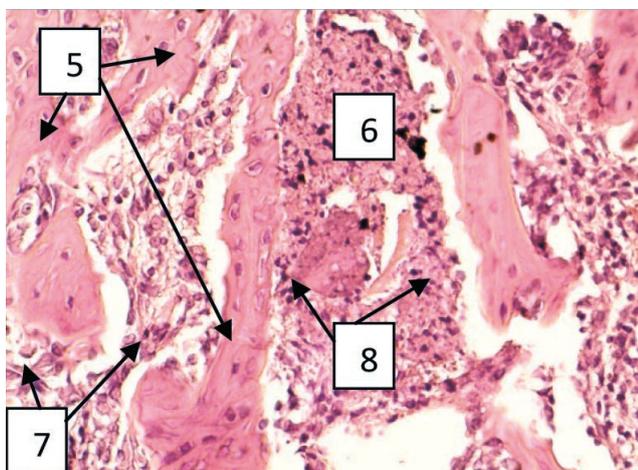
Спицы	Гель 1	Гель 2	Гель 3	Контроль (физ.раствор)
1	Нет роста	Нет роста	<i>S. aureus</i> <i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i> <i>E. coli</i> <i>K. pneumoniae</i>
2	Нет роста	Нет роста	Нет роста	<i>S. aureus</i> <i>E. coli</i> <i>K. pneumoniae</i>
3	<i>S. aureus</i>	Нет роста	Нет роста	<i>S. aureus</i> <i>E. coli</i> <i>K. pneumoniae</i>



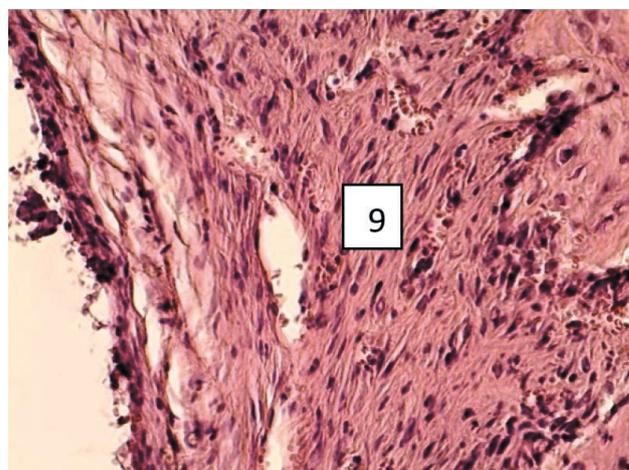
A



B



E

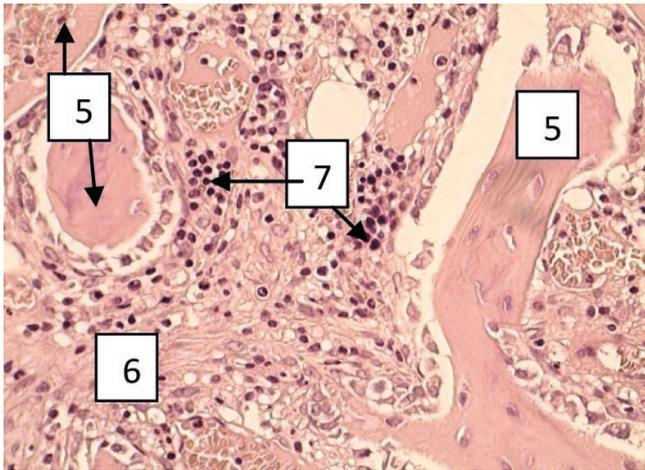


F

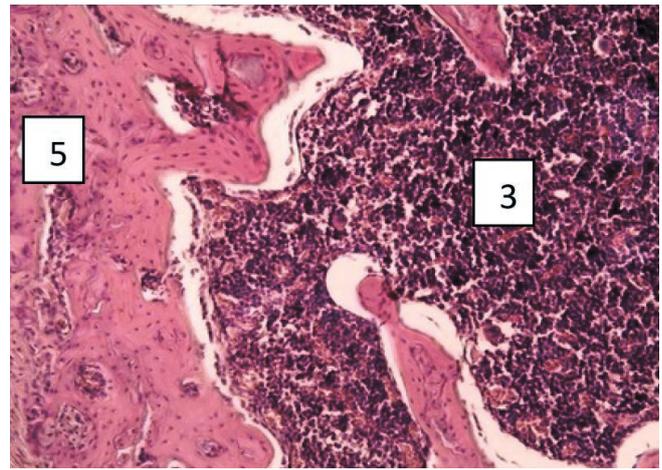
Рисунок 2. микропрепараты зоны установки инфицированной спицы в различных группах. Окр. гематоксилин и эозин. Ув. x 200 - А, G, F, G; Ув. x 400 - В, С, Е, Н.

Контрольная группа: А - признаки острого остеомиелита (1, 2, 3); В - выраженная нейтрофильная инфильтрация (4); Группа 1: С - Признаки остеогенеза (5, 6, 7); D - область восстановления дефекта (3, 5); Группа 2: Е - клеточно-волокнистая ткань с молодыми костными балочками (5, 6, 7, 8); F - стенка дефекта (9); Группа 3: G - центральная зона дефекта (5, 8, 10); H - явления активного остеогенеза в толще стенки (3, 5, 11);

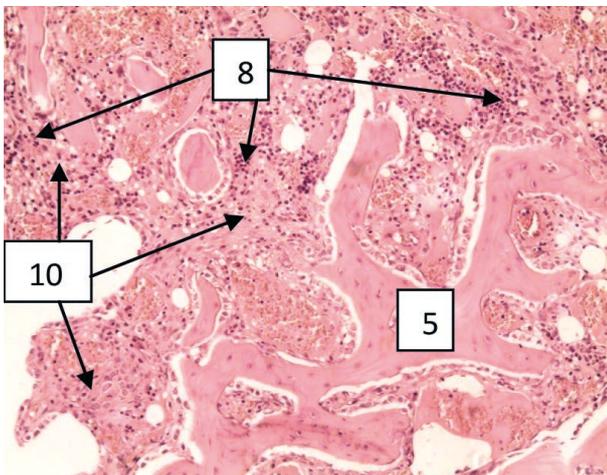
- 1-фибрин с лейкоцитарной инфильтрацией
- 2 - костный секвестр
- 3 - красный костный мозг
- 4- скопления нейтрофилов
- 5- молодая костная балка
- 6- волокнистая ткань
- 7- мононуклеарная инфильтрация
- 8- лейкоциты
- 9- пролиферация фибробластов
- 10- богато васкуляризованная соединительная ткань
- 11- остеобласты



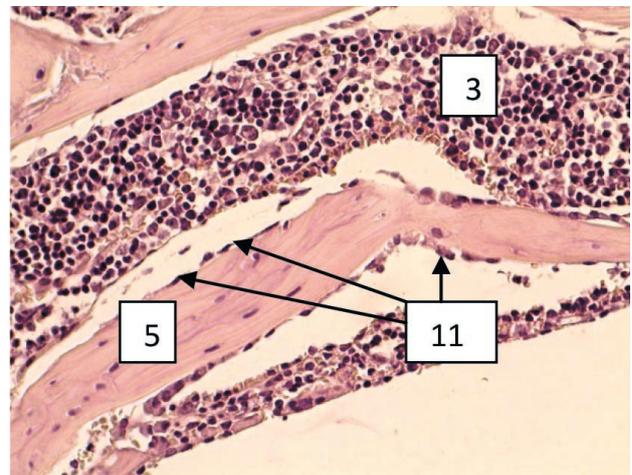
C



D



G



H

Figure 2. Micro-preparations of the infected wire installation zone in various groups. Coloring hematoxylin and eosin. Mag. x 200 - A, G, F, G; mag. x 400 - B, C, E, H.

Control group: A - signs of acute osteomyelitis (1, 2, 3); B - pronounced neutrophil infiltration (4); Group 1: C - Signs of osteogenesis (5, 6, 7); D - area of defect repair (3, 5); Group 2: E - cellular fibrous tissue with young bone beams (5, 6, 7, 8); F - the defect wall (9); Group 3: G - the central zone of the defect (5, 8, 10); H - the phenomena of active osteogenesis in the wall thickness (3, 5, 11);

- 1- fibrin with leukocyte infiltration
- 2- bone sequester
- 3- red bone marrow
- 4- clusters of neutrophils
- 5- young bone beam
- 6- fibrous fabric
- 7- mononuclear infiltration
- 8- leukocytes
- 9- fibroblast proliferation
- 10- richly vascularised connective tissue
- 11- osteoblasts

У животных группы 1 в те же сроки в месте оперативного вмешательства среди клеточно-волоконистой ткани располагались незрелые костные балочки с явлениями продолжающегося остеогенеза. Между ними в волокнистой ткани отмечалось небольшое количество мононуклеаров с единичными нейтрофилами ($3,6 \pm 0,5$ в поле зрения) (рис. 2В), что на этом сроке соответствовало динамике реактивного воспалительного процесса. Периферия дефекта была представлена молодой костной тканью, с кроветворным костным мозгом без воспалительной инфильтрации (рис. 2D). После удаления спицы у всех животных оставался дефект. Стенка его была образована плотной волокнистой соединительной тканью, местами с островками костной и остаточной мононуклеарной инфильтрацией, в одном случае – с наличием единичных нейтрофилов и новообразованными костными балочками (рис. 3).

У животных группы 2 стенка дефекта во всех наблюдениях была представлена волокнистой и молодой костной тканью. Выражены явления остеогенеза: незрелые костные балочки с крупными сочными остеобластами, на их поверхности располагаются остеобласты, между ними – мелкие очажки мононуклеарной инфильтрации, в одном случае – с единичными лейкоцитами ($8,75 \pm 4,03$ в поле зрения). У некоторых животных стенка дефекта была частично образована плотной волокнистой тканью с пролиферацией фибробластов и явлениями фиброобразования. Воспалительной инфильтрации не было выявлено (рис. 2 Е, F).

После использования геля 3 зона дефекта была представлена балочками молодой костной ткани, между которыми визуализировались обширные поля волокнистой, богато васкуляризированной ткани с признаками умеренной воспалительной инфильтрации и активного остеогенеза (рис. 2 G). В зоне имплантации спицы имелась тонкая соединительнотканная стенка с единичными костными балками и скоплениями единичных нейтрофилов ($5,3 \pm 1,5$) (рис. 2, H).

Применение в области хирургического вмешательства водных растворов лекарственных веществ, в том числе антибактериальных, не является рациональным в связи с их быстрым попаданием в кровоток. Среднемолекулярный поливинилпирролидон (ПВП), как полимерное соединение, может служить носителем лекарственных веществ. Так, зарегистрированное для промывания гнойных ран лекарственное средство «По-виаргол» (Технолог, Россия) представляет собой высокодисперсные наночастицы серебра, стабилизированные ПВП (№ рег. удостовер.: ЛСР- 008192/08 от 16.10.2008г.). Кроме того, комплекс повидон-йод широко используется в практическом здравоохранении, являясь эффективным антисептическим средством, которое используют самостоятельно и в составе различных лекарственных форм (№ рег. удостовер.: П N015048/04 от 27.12.2010). При использовании ПВП как адьюванта существенно повышается биодоступность лекарственных средств, кроме того, за счет способности ПВП к комплексообразованию достигается пролонгация эффекта действующего вещества. Лучевая и/или термическая обработка

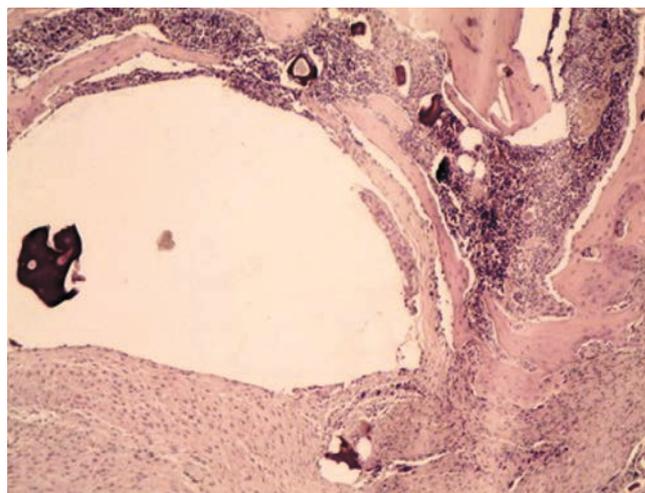


Рисунок 3. Группа 1. Зона дефекта после удаления спицы. Стенка образована плотной волокнистой тканью (внизу дефекта), тонкая костная пластинка (справа и вверху), вверху – область воспалительная инфильтрация стенки. Окраска гематоксилином и эозином, ув. x 40.

Figure 3. Group 1. Defect zone after removal of the wire. The wall is formed by dense fibrous tissue (at the bottom of the defect), thin bone plate (on the right and above), at the top is the area of inflammatory infiltration of the wall. Col. with haematoxylin and eosin, mag. x 40.

комбинации гентамицина и фосфомицина приводит к сшивке молекул лекарственных препаратов с ПВП, и, тем самым, снижает скорость выведения активных веществ [11]. Применение композиций лекарственных препаратов, в нашем случае антибиотиков, с ПВП может рассматриваться как метод продленной локальной профилактики рецидивов в составе комплексного лечения пациентов с ортопедической инфекцией.

Локальное применение различных средств с антибактериальной активностью обусловлено современными представлениями о патогенезе имплантат-ассоциированной инфекции. На поверхности каждого имплантированного биоматериала происходит так называемая «гонка за поверхностью», в которой участвуют белки внеклеточного матрикса (ВКМ), клетки-хозяева (фибробласты, остеобласты, эндотелиальные клетки) и бактерии [12]. Состав и структурная организация ВКМ влияют на адгезию, миграцию, пролиферацию и дифференцировку не только клеток-хозяев, но и колонизирующих бактерий. Таким образом, если клетки-хозяева, такие как фибробласты, достигают поверхности биоматериала и устанавливают надежные связи, бактерии сталкиваются с живой, интегрированной клеточной поверхностью. Такие интегрированные жизнеспособные клеточные слои с функциональными защитными механизмами хозяина могут противостоять прикреплению бактерий и колонизации. При этом бактериальные связи *S. aureus* с рецептором хозяина формируются опосредованно через рекрутирование белков внеклеточной матрицы [13]. В свою очередь, вовлечение бактериями эукариотических рецепторов, таких как интегрины, часто запускает процесс интер-

нализации, который ведет к формированию внутриклеточного депо бактериальных клеток, делая их недоступными для иммунной системы и антибиотиков [14]. Таким образом, предупреждение прикрепления к поверхности имплантата бактериальных клеток до момента адгезии на них эукариотических клеток будет препятствовать развитию инфекционного процесса. Данный тезис с успехом реализован группой исследователей, которые разработали гель на основе гиалуроновой кислоты, создающий антиадгезионный антимикробный барьер на поверхности имплантата [15].

Ранее нами было показано, что, несмотря на некоторые различия в физико-химических свойствах тестируемых гелей на основе полимера поливинилпирролидона (ПВП), изготовленных по различным технологиям, не установлено каких-либо критических местных и системных патологических реакций. Это позволило сделать заключение об интактности тестируемых соединений к окружающим тканям и отсутствии системной токсичности [16]. Отсутствие каких-либо патологических реакций тканей, окружающих имплантированные и обработанные тестируемыми гелями спицы, было подтверждено и в данном эксперименте. Заранее было определено, что антибактериальный компонент всех трех образцов гелей высокоактивен в отношении типового штамма золотистого стафилококка. В эксперименте на животных тестируемые гели использовали однократно, нанося их на поверхность уже инфицированной спицы для предупреждения развития имплантат-ассоциированного остеомиелита. Полученные результаты свидетельствуют, что в контрольной группе, несмотря на 3-х дневное системное введение антибиотика, активного в отношении инфекта, у всех животных на 21-е сутки эксперимента была яркая картина острого остеомиелита с выраженной нейтрофильной инфильтрацией без каких-либо признаков остеообразования. При этом во всех опытных группах не было выявлено признаков остеомиелита и в большинстве наблюдений гистологическая картина свидетельствовала об активном остеогенезе при отсутствии воспалительной инфильтрации. Последняя была выявлена в нескольких полях зрения в группе 3 в составе волокнистой, богато васкуляризированной ткани. Также отдельные очаги нейтрофильной инфильтрации выявлены в одном из 5-ти наблюдений в группе 1 и в одном из 5-и – в группе 2. Кроме того, в группе 2 с использованием геля с концентрацией ПВП 30% и дозой ионизирующего излучения 30 кГр, не было получено роста *S.aureus* с удаленных спиц, что может свидетельствовать о его большей эффективности, однако, это требует дальнейших исследований на большем количестве наблюдений. Однако среднее количество нейтрофилов в 8-ми полях зрения при большом увеличении во всех опытных группах было менее 4, что по критериям диагностики перипротезной инфекции EBJIS свидетельствует об отсутствии инфекционного процесса [17].

Заключение

Таким образом, применение всех трех вариантов экспериментальных гелей, полученных разными способами, не выявило существенных различий в их

антибактериальной активности и реакциях тканей, окружающих область хирургического вмешательства. Локальная антибактериальная терапия была эффективной и позволила предупредить развитие острого остеомиелита при имплантации инфицированной металлоконструкции у всех экспериментальных животных, однако в единичных наблюдениях были визуализированы зоны с нейтрофильной инфильтрацией тканей, окружающих костномозговой канал. Проведенное исследование показало, что разработка полимерных антибактериальных гелей является перспективным направлением исследований для разработки средств профилактики и лечения имплантат-ассоциированной инфекции в ортопедии и травматологии.

Литература / References

1. Masters EA, Ricciardi BF, Bentley K, Moriarty TF, Schwarz EM, Muthukrishnan G. Skeletal infections: microbial pathogenesis, immunity and clinical management. *Nature Reviews. Microbiology*. 2022; 20(7):385-400. DOI: 10.1038/s41579-022-00686-0
2. Arias C, Tamayo Betancur MC, Pinzón MA, Cardona Arango D, Capataz Taffur CA, Correa Prada E. Differences in the Clinical Outcome of Osteomyelitis by Treating Specialty. *Orthopedics or Infectology*. 2015;10(12):e0144736. DOI: 1371/journal.pone.0144736
3. Simpfendorfer CS. Radiologic Approach to Musculoskeletal Infections. *Infectious Disease Clinics of North America*. 2017;31(2):299-324. DOI: 10.1016/j.idc.2017.01.004
4. Римашевский ДВ, Ахтямов ИФ, Федулчев ПН, Устатов К.А., Васильев А., Молдакулов ЖМ, Зиновьев МП, Микулич ЕВ. Патогенетические особенности лечения хронического остеомиелита (обзор литературы). *Гений ортопедии*. 2021;27(5): 628-635. [Rimashevskiy DV, Akhtyamov IF, Fedulichev PN, Zaalán Wessam, Ustazov KA, Basith Abdul, Moldakulov JM, Zinoviev MP. Pathogenetic features of chronic osteomyelitis treatment (literature review). *Genij Ortopedii*. 2021;27(5):628-635. DOI: 10.18019/1028-4427-2021-27-5-628-635. (In Russian)]
5. Alcantara JE J, Aguiar RA, Sampaio JGL NETO, Azi ML, Sadigursky D, Alencar DE. Factors associated with the development of early infection after surgical treatment of fractures. *Acta Ortopedica Brasileira*. 2018;26(1):22-26. DOI: 1590/1413-785220182601173883
6. Сакович НВ, Андреев АА, Микулич ЕВ, Остроушко АП, Звягин ВГ. Современные аспекты этиологии, диагностики и лечения остеомиелита. *Вестник экспериментальной и клинической хирургии*. 2018;11(1):70-79. [Sakovich NV, Andreev AA, Mikulich EV, Ostroushko AP, Zvyagin VG. Modern aspects of the etiology, diagnosis and treatment of osteomyelitis. *Bulletin of Experimental and Clinical Surgery*. 2018;11(1):70-79. (In Russian)]
7. Божкова СА, Новокшонова АА, Конев ВА. Современные возможности локальной антибиотикотерапии перипротезной инфекции и остеомиелита (обзор литературы). *Травматология и ортопедия России*. 2015; (3):92-107. [Bozhkova SA, Novokshonova AA, Konev VA. Modern possibilities of local antibiotic therapy for periprosthetic infection and osteomyelitis (literature review). *Traumatology and Orthopedics of Russia*. 2015; (3):92-107. (In Russian)]
8. Гордина ЕМ, Божкова СА. Бактериальные биопленки в ортопедии: проблема и возможные перспективы профилактики. *Российский Медицинский Журнал*.

2021;(8):29-32. [Gordina EM., Bozhkova SA. Bacterial biofilms in orthopedics: the problem and possible prospects for prevention. *Russian Medical Journal*. 2021;(8):29-32. (In Russian)]

9. Патент РФ на изобретение № 2746709/19.04.2021. Бюль.№11. Легоноква ОА, Божкова СА, Терехова РП, Ахмедов БА, Оганнисян АС, Гордина ЕМ, Винокурова ТИ, Чилилов АМ. Способ получения антимикробного геля. Ссылка активна на 23.09.2022. [Patent RU № 2746709/April 19, 2021. № 11. Legonkova OA, Bozhkova SA, Terekhova RP, Akhmedov BA, Oganisyan AS, Gordina EM, Vinokurova TI, Chililov AM. A method for obtaining an antimicrobial gel. Accessed September 23, 2022. (In Russian)]. <http://www.findpatent.ru/patent/274/2746709>

10. Легоноква ОА, Васильев ВГ, Божкова СА, Терехова РП, Оганнисян АС, Григорьев ММ, Винокурова ТИ, Чилилов АМ, Ахмедов БГ. Свойства поливинилпирролидоновых гелей после стерилизующих воздействий. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2019;11(1): 19-24. [Legonkova OA, Vasiliev VG, Bozhkova SA, Terekhova RP, Oganisyan AS, Grigoriev MM, Vinokurova TI, Chililov AM, Akhmedov BG. Properties of polyvinylpyrrolidone gels after sterilizing effects. *Questions of biological, medical and pharmaceutical chemistry*. 2019;11(1): 19-24. (In Russian)]

11. Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. Accessed September 23, 2022. <https://www.eumonitor.eu/9353000/1/j9vvik7m1c3gyxp/vitgbgh631ys>.

12. Washington DC. National Research Council. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals: The National Academies Press; 1996. P.246.

13. Duygu Sütekin S, Güven O. Application of radiation for the synthesis of poly(n-vinyl pyrrolidone) nanogels with controlled sizes from aqueous solutions. *Applied Radiation and Isotopes*. 2019; 145:161-169. DOI: 10.1016/j.apradiso.2018.12.028

14. Rodríguez-Merchán EC, Davidson DJ, Liddle AD. Recent Strategies to Combat Infections from Biofilm-Forming Bacteria on Orthopaedic Implants. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(19):10243. DOI: 10.3390/ijms221910243

15. Shivaee A, Sadeghi Kalani B, Talebi M, Darban-Sarokhalil D. Does biofilm formation have different pathways in *Staphylococcus aureus*? *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2019;22(10):1147-1152. DOI: 10.22038/ijbms.2019.34888.8281

16. Lamret F, Colin M, Mongaret C, Gangloff SC, Reffuveille F. Antibiotic Tolerance of *Staphylococcus aureus* Biofilm in Periprosthetic Joint Infections and Antibiofilm Strategies. *Antibiotics (Basel)*. 2020;9(9):547. DOI:10.3390/antibiotics9090547.

17. Romanò CL, De Vecchi E, Bortolin M, Morelli I, Drago L. Hyaluronic Acid and Its Composites as a Local Antimicrobial/Anti-adhesive Barrier. *Journal Bone Joint* 2017;2(1):63-72. DOI:10.7150/jbji.17705

18. Оганнисян АС, Стаффорд ВВ, Легоноква ОА, Ахмедов БГ, Божкова СА. Гистологические исследования ответной реакции организма животных на применение антимикробного геля локального воздействия. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии* 2021;24 (10):36-41. [Oganisyan AS, Stafford VV, Legonkova OA, Ahmedov BG, Bozhkova SA.. Histological studies of the response of the animal organism to the use of

local antimicrobial gel. *Questions of biological, medical and pharmaceutical chemistry*. 2021;24(10):36-41. (In Russian)]. DOI: 10.29296/25877313-2021-10-00

19. McNally M, Sousa R, Wouthuyzen-Bakker M, Chen AF, Soriano A, Vogely HC, Clauss M, Higuera CA, Trebše R. The EBJIS definition of periprosthetic joint infection. *Bone Joint Journal*. 2021;103-B(1):18-25. DOI:1302/0301-620X.103B1.BJJ-2020-1381.R1

Сведения об авторах

Божкова Светлана Анатольевна, д.м.н., заведующая научным отделением профилактики и лечения раневой инфекции и отделением клинической фармакологии, профессор кафедры травматологии и ортопедии НМИЦ ТО им. Р.Р. Вредена; адрес: Российская Федерация, 195427, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Байкова, д. 8; тел.: +79219198714; e-mail: clinpharm-rniito@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2083-2424>

Конеv Владимир Александрович, к.м.н., научный сотрудник отделения профилактики и лечения раневой инфекции; врач травматолог - ортопед отделения №1 НМИЦТО им. Р.Р. Вредена; адрес: Российская Федерация, 195427, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Байкова, д. 8; тел.: +78126709518; e-mail: vladimirkonev24@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8728-6491>

Гордина Екатерина Михайловна, к.м.н., старший научный сотрудник отделения профилактики и лечения раневой инфекции НМИЦ ТО им. Р.Р. Вредена; адрес: Российская Федерация, 195427, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Байкова, д. 8; тел.: +79643392508; e-mail: emgordina@win.rniito.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2326-7413>

Нетьялко Георгий Иванович, д.м.н., ведущий научный сотрудник научного отделения профилактики и лечения раневой инфекции НМИЦ ТО им. Р.Р. Вредена. адрес: Российская Федерация, 195427, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Байкова, д. 8; тел.: +78126709518; e-mail: doctornetylko@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5074-6204>

Анисимова Лариса Осиповна, к.м.н., научный сотрудник научного отделения профилактики и лечения раневой инфекции НМИЦ ТО им. Р.Р. Вредена; адрес: Российская Федерация, 195427, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Байкова, д. 8; тел.: +78126709518; e-mail: anisanat@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0119-1155>.

Ахмедов Багавдин Гаджиевич, д.м.н., отделением ортопедии и артрологии НМИЦ хирургии им. А.В. Вишнеvского; адрес: Российская Федерация, 117997, г. Москва, ул. Большая Серпуховская ул., 27; тел.: +74992369080; e-mail: Drbagavdin@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9041-9539>

Легоноква Ольга Александровна, д.т.н., заведующая отделом перевязочных, шовных и полимерных материалов в хирургии НМИЦ хирургии им. А.В. Вишнеvского; адрес: Российская Федерация, 117997, г. Москва, ул. Большая Серпуховская ул., 27; тел.: +74992366035; e-mail: oalegonkovarb@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0236-740X>

Оганнисян Арпине Сиракановна, научный сотрудник отдела перевязочных, шовных и полимерных материалов в хирургии НМИЦ хирургии им. А.В. Вишнеvского; адрес: Российская Федерация, 117997, г. Москва, ул. Большая Серпуховская ул., 27; тел.: +74992366561; e-mail: arpi.arpine@mail.com

Author information

Svetlana A. Bozhkova, Dr.Med.Sci, Head of the Scientific Department of Wound Infection Treatment and Prevention and the Department of Clinical Pharmacology, Professor of Vreden National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics; Address: 8, Akademika Baykova street, St. Petersburg, Russian Federation 195427; Phone: +79219198714; e-mail: clinpharm-rniito@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2083-2424>

Vladimir A. Konev, Cand. Med. Sci., researcher of the Department of Prevention and Treatment of Wound Infection; traumatologist-orthopedist of the Department No. 1 of Vreden National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics; Address: 8, Akademika Baykova street, St. Petersburg, Russian Federation 195427; Phone: +78126709518; e-mail: vladimirkonev24@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8728-6491>

Ekatерина M. Gordina, Cand.Med.Sci., senior researcher of the division of wound infection treatment and prevention Vreden National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics. Address: 8, Akademika Baykova street, St. Petersburg, Russian Federation 195427; Phone: +79643392508; e-mail: emgordina@win.rniito.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2326-7413>

Georgij I. Netylko, Dr.Med.Sci, leading researcher of the Scientific Department of Prevention and Treatment of Wound Infection of Vreden National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics; Address: 8, Akademika Baykova street, St. Petersburg, Russian Federation 195427; Phone: +78126709518; e-mail: doctornetylko@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5074-6204>

Larisa O. Anisimova, Cand.Med.Sci., researcher at the Scientific Department of Prevention and Treatment of Wound Infection of Vreden National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics. Address: 8, Akademika Baykova street, St. Petersburg, Russian Federation 195427; Phone: +78126709518; e-mail: anisanat@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0119-1155>.

Bagavdin A. Ahmedov, Dr.Med.Sci, Head of the Department of Orthopedics and Arthrology A.V. Vishnevsky National Medical Surgery Research Center; Address: 27, Bolshaya Serpuhovskaya street, Moscow, Russian Federation 117997; Phone:+74992369080; e-mail: Drbagavdin@mail.ru <https://orcid.org/0000-0002-9041-9539>

O'l'ga A. Legonkova, Dr. Tech.Sci, Head of the Department of Dressings, Sutures and Polymer Materials in Surgery of Dressings, sutures and polymeric Materials in surgery A.V. Vishnevsky National Medical Surgery Research Center; Address: 27, Bolshaya Serpuhovskaya street, Moscow, Russian Federation 117997; Phone: +74992366035; e-mail: oalegonkovarb@mail.ru <https://orcid.org/0000-0002-0236-740X>

Arpine S. Oganisyan, researcher of the Department of Dressings, sutures and polymeric Materials in surgery A.V. Vishnevsky National Medical Surgery Research Center; Address: 27, Bolshaya Serpuhovskaya street, Moscow, Russian Federation 117997; Phone: +74992366561; e-mail: arpi.arpine@mail.com

Дата поступления: 18.04.2022
Дата рецензирования: 27.04.2023
Принято к публикации: 25.05.2023

Received 18 April 2022
Revision Received 27 April 2023
Accepted 25 May 2023