

Российские рекомендации по клинической микробиологии

Микробиологическая диагностика биоматериалов при имплантат-ассоциированных инфекциях

Документ 7/25

Год утверждения: 2025

Разработчики рекомендаций:

Ассоциация специалистов и организаций лабораторной службы
«Федерация лабораторной медицины» (Ассоциация «ФЛМ»);

Межрегиональная ассоциация общественных объединений
«Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и
антимикробной химиотерапии» (МАКМАХ)

Оглавление

Список сокращений.....	3
1. Введение.....	4
2. Общая часть.....	5
2.1 Классификация и этиология.....	5
2.2 Перипротезные инфекции.....	5
2.4 Перелом-ассоциированные инфекции.....	6
3. Ключевые моменты микробиологической диагностики.....	6
4. Преаналитический этап исследования.....	7
4.1 Биоматериалы, исследуемые на дооперационном этапе.....	7
4.2 Биоматериалы, исследуемые на интраоперационном этапе.....	8
4.3 Хранение и транспортировка образцов.....	8
5. Аналитический этап исследования.....	12
5.1 Подготовка и посев образцов.....	12
5.1.1 Аспират.....	12
5.1.2 Биоптат.....	12
5.1.3 Эксплантированный имплантат.....	13
5.3 Инкубация посевов.....	14
5.4 Идентификация микроорганизмов.....	18
5.5 Определение чувствительности к антимикробным препаратам.....	19
6. Постаналитический этап.....	19
6.1 Результат микробиологического исследования.....	19
6.1.1 Интерпретация результата.....	19
6.1.2 Формулировка результата.....	21
6.1.3 Сроки выдачи результата.....	21
6.2 Проведение цитологического и гистологического исследования.....	21
6.2.2 Интерпретация результата цитологического исследования.....	22
6.3 Проведение гистологического исследования.....	22
6.3.1 Интерпретация результата гистологического исследования.....	22
7. Список литературы.....	23
Приложение.....	31

Список сокращений

БП	Агар Байрд-Паркера
ЖСА	Желточно-солевой агар
ИАИ	Имплантат-ассоциированная инфекция
КА	Кровяной агар
КОЕ	Колониеобразующие единицы
МКБ-10	Международная классификация болезней десятого пересмотра
МСА	Маннит-солевой агар
ПАИ	Перелом-ассоциированные инфекции
ПЯН	Палочко-ядерные нейтрофилы
СОП	Стандартная операционная процедура
ППИ	Перипротезные инфекции
CLED	лактозо-цистиновый агар
EUCAST	Европейский комитет по определению чувствительности к антимикробным препаратам

Список сокращений микроорганизмов

<i>C. acnes</i>	<i>Cutibacterium acnes</i>
<i>H. influenzae</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>
<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>K. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>M. tuberculosis</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
<i>P.aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>

1. Введение

Имплантат-ассоциированная инфекция (ИАИ) – инфекции в области установки ортопедического имплантата, риск развития которой сохраняется в течение всего срока его существования в организме пациента [1].

В настоящее время эндопротезирование суставов у пациентов, страдающих от деформирующего остеоартроза, признано наиболее эффективным методом лечения, позволяющим устранить болевой синдром и улучшить физическую функцию [2,3,4]. Широкое распространение эндопротезирования крупных суставов, наряду с очевидным улучшением качества жизни пациентов, сопровождается ростом числа инфекционных осложнений [5]. Частота развития перипротезной инфекции после первичного эндопротезирования крупных суставов составляет 0,3–2,2% [1,6], в случаях повторных (ревизионных) операций риск развития перипротезной инфекции возрастает в несколько раз, достигая 5,9–13,6%, а частота рецидивов при лечении составляет 23,2–31,5% [1].

Реальный уровень перипротезной инфекции может быть существенно выше, поскольку значительная их часть обусловлена низковирулентными возбудителями – представителями нормальной микробиоты человека. Такие инфекции могут проявляться только нестабильностью эндопротеза или изолированным болевым синдромом и расцениваться как асептические случаи.

Использование имплантатов является неотъемлемой частью в хирургии различных патологий позвоночника. Частота развития инфекций после инструментальных фиксаций позвоночника варьирует от 0,7 до 20,0% [8,9,10].

Остеосинтез – один из основных методов при лечении нестабильных переломов длинных трубчатых костей, а также, часто, единственно возможный при внутрисуставных переломах с нарушением целостности суставной поверхности. Частота инфекционных осложнений после остеосинтеза переломов варьирует от 1,8% до 27,0% в зависимости от локализации и типа перелома [1].

Данный раздел Руководства описывает микробиологическое исследование биоматериалов при имплантат-ассоциированных инфекциях от момента взятия проб до выдачи результатов с интерпретацией полученных данных.

Для настоящего раздела руководства доказательная база и микробная таксономия на момент выпуска являются максимально полными. Любые упущения будут рассмотрены и изменения внесены при следующей актуализации документа. Данный раздел руководства может быть заменен или дополнен новыми сведениями, дополнительными методами микробиологической диагностики только пересмотром данного раздела или законодательным документом.

2. Общая часть

2.1 Классификация и этиология

К группе имплантат – ассоциированных инфекций в ортопедии относятся перипротезные инфекции суставов (ППИ), имплантат-ассоциированные инфекции позвоночника (ИАИ) и перелом-ассоциированные инфекции (ПАИ).

В соответствии с Международной классификацией болезней десятого пересмотра (МКБ 10) выделяют следующие формы осложнений, связанных с внутренними ортопедическими протезными устройствами, имплантатами и трансплантатами (Т84), обусловленная инфекционным компонентом:

- Инфекция и воспалительная реакция, обусловленные эндопротезированием Т84.5;
- Инфекция и воспалительная реакция, обусловленные внутренним фиксирующим устройством (любой локализации) Т84.6;
- Инфекция и воспалительная реакция, обусловленные другими внутренними ортопедическими протезными устройствами, имплантатами и трансплантатами Т84.7.

В этиологической структуре ортопедических имплант-ассоциированных инфекций преобладают стафилококки [11]. Двум видам стафилококков – *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) и *Staphylococcus epidermidis* (*S.epidermidis*) в этиологии отводится ведущая роль, во многом обусловленная их способностью быстро формировать многоуровневые микробные биопленки на поверхности искусственных имплантатов [11].

2.2 Перипротезные инфекции

Перипротезные инфекции суставов могут быть вызваны различными микроорганизмами. Наиболее часто регистрируют коагулазонегативные стафилококки (30-43%), *S.aureus* (12-23%), стрептококки (9-10%), грамотрицательные бактерии (3-6%), энтерококки (3-7%), анаэробные микроорганизмы (2-4%). Нередко инфекция может быть вызвана полимикробной микрофлорой. Описаны случаи перипротезных инфекций, вызванных редкими возбудителями: грибами, микобактериями, листериями и т.д. [12-19]. Микробный пейзаж возбудителей может отличаться в зависимости от локализации ППИ. Так, отдельные исследования показали увеличение распространенности ППИ стрептококковой этиологии и случаев отрицательных результатов культурального исследования при перипротезной инфекции в области коленного сустава, в то время как в области тазобедренного сустава могут быть более распространены ППИ стафилококковой, энтерококковой этиологии и вызванные синегнойной палочкой [20]. *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*) (до 2016г. - *Propionibacterium acnes*) являются причиной 31-

70% всех перипротезных инфекций плечевого сустава. Этот микроорганизм вызывает гораздо больше перипротезных инфекций плечевого сустава, чем других локализаций (вероятно, из-за близости к подмышечной области) [21 -24].

2.3 Имплант-ассоциированные инфекции позвоночника

Основные возбудители имплантат-ассоциированных инфекций позвоночника: *S. aureus*, коагулазонегативные стафилококки (в основном *S. epidermidis*), *C. acnes*. ИАИ, вызванные грамотрицательной микрофлорой, в основном являются причиной гематогенного распространения инфекции либо связаны с оперативными вмешательствами в нижнем поясничном отделе позвоночника, крестцово-подвздошной области. Причиной «поздних» ИАИ позвоночника чаще бывают коагулазонегативные стафилококки и *C. acnes* [9, 25-28].

2.4 Перелом-ассоциированные инфекции

Перелом-ассоциированная инфекция (ПАИ) – острый или хронический инфекционный процесс в области перелома костей, элементов остеосинтезирующего устройства (пластина, стержень, аппарат внешней фиксации и т.д.) и окружающих тканей [1].

Структура возбудителей, вызывающих ПАИ, многогранна. У пациентов с ПАИ после закрытых переломов обычно выделяются возбудители в монокультуре, после открытых переломов часто обнаруживается полимикробная флора. Наиболее частая причина инфекции – *S.aureus*, коагулазонегативные стафилококки, стрептококки и грамотрицательная микрофлора. Также, но значительно реже, ПАИ могут вызывать анаэробные бактерии, энтерококки и прочие микроорганизмы [29-35].

3. Ключевые моменты микробиологической диагностики

1. Большинство инфекций опорно-двигательного аппарата вызывают микроорганизмы в составе биопленок. Это затрудняет диагностику ИАИ и снижает эффективность антибактериальной терапии [11,36-41];

2. Диагностическая чувствительность микробиологического исследования аспирата из полости протезированного сустава по данным многочисленных исследований (43,5–100%), специфичность (81,2–100%) [1, 42, 43];

3. Рекомендуется приостановка антибактериальной терапии как минимум за 14 дней до отбора аспирационной жидкости (и интраоперационных образцов), что повышает вероятность выделения возбудителей [7];

4. Применение ультразвуковой обработки удаленных ортопедических имплантатов и увеличение времени культивирования посевов повышает чувствительность

микробиологической диагностики, в том числе у пациентов, получавших антибактериальные препараты в течение 14 дней до операции [1,7,20, 42, 44 - 49];

5. Не рекомендуется проводить рутинные исследования и посев на специальные среды для выделения микобактерий и грибов, так как данные возбудители встречаются достаточно редко. Специальный посев на данные возбудители должен проводиться у пациентов с высоким риском атипичных инфекций, включая иммунокомпрометированных, с атипичными инфекциями в анамнезе, проживающих в эндемичных для этих инфекций районах, а также в случае ИАИ с отрицательным результатом культурального исследования [12,20,26,50];

6. Методы амплификации нуклеиновых кислот (МАНК) для идентификации бактерий (в том числе *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*), микромицетов, паразитов и вирусов из клинических образцов являются высокоспецифичными и чувствительными. Они позволяют быстро идентифицировать медленно растущие или некультивируемые микроорганизмы [1,20,51];

7. Кроме микробиологического, важное значение в диагностике ИАИ имеет цитологическое исследование аспирата (для определения общего количества лейкоцитов и их дифференцированного подсчета) и гистологическое исследование [1,20,42];

8. Также для диагностики ППИ рекомендуется определение в аспирационной жидкости одного или нескольких биомаркеров: лейкоцитарной эстеразы, интерлейкина-6, D-лактата и С-реактивного белка, альфа-дефензина [1,20, 29].

4. Преаналитический этап исследования

4.1 Биоматериалы, исследуемые на дооперационном этапе

Основными биологическими материалами, исследуемыми при ППИ и ПАИ на дооперационном этапе, являются **аспирационная жидкость и биопсийный материал**. Возможности этиологической дооперационной диагностики при ИАИ позвоночника ограничены. Глубокие инфекции позвоночника требуют проведения чрескожной аспирации или биопсии из инфицированной области под контролем КТ или рентгеноскопии [9,51].

Не рекомендуется исследовать отделяемое из свищевого хода при ИАИ, полученного методом сбора биоматериала на тампон (тупфер). Результаты таких исследований не соответствуют результатам посевов из глубоких участков. При таком способе взятия образца часто выявляется микробиота кожных покровов и результаты могут быть неправильно интерпретированы [1,20,42,52,53].

Бактериологическое исследование крови на аэробные и анаэробные микроорганизмы у пациента с ППИ и ПАИ рекомендуется при наличии лихорадки, остром появлении симптомов инфекции, тяжелом состоянии пациента и в случае, если имеется подозрение на сопутствующую инфекцию кровотока и при острых имплантат-ассоциированных спондилитах. [1,51,54].

4.2 Биоматериалы, исследуемые на интраоперационном этапе

На интраоперационном этапе исследуют **биоптаты** и **эксплантированные импланты**. Интраоперационная биопсия может быть выполнена при ревизионном оперативном вмешательстве у пациентов с воспалительными заболеваниями в области установки имплантата, а также при обнаружении визуальных признаков инфекции при первичных вмешательствах.

Тканевые биоптаты для микробиологического исследования отбираются в количестве не менее 3 и не более 5 образцов размером 0,5x0,5x0,5 см³ из различных участков области операционного вмешательства. Исследуются грануляционные ткани и мембраны (ткань, которая формируется в месте соединения кость – цемент, кость – эндопротез) и ткани любых областей, с изменениями, подозрительными на инфицирование. Каждый экземпляр должен быть отобран отдельным стерильным инструментом и помещен в отдельный стерильный контейнер [29, 52,55,56].

Все эксплантированные эндопротезы, имплантаты и остеосинтезирующие конструкции должны быть направлены на микробиологическое исследование в специальных стерильных герметичных пластиковых контейнерах, соответствующих размеру удаленного имплантата или специальных стерильных пластиковых пакетах. Каждый образец помещается в контейнер или пакет отдельным стерильным инструментом с соблюдением асептической техники. Исследование имплантатов проводится в дополнение к микробиологическому исследованию нескольких тканевых биопсийных образцов, не заменяя их.

4.3 Хранение и транспортировка образцов

Аспираты, собранные в стерильный контейнер или в шприц, биоптаты, эксплантированные импланты должны доставляться в лабораторию при температуре 18-22°C в максимально короткие сроки, не позднее 2 часов после получения материала. Аспираты, кровь, засеянные в аэробные и анаэробные флаконы анализатора для микробиологического исследования стерильных в норме биологических жидкостей, необходимо доставлять в лабораторию немедленно. При невозможности доставки сразу после заполнения флаконов, допускается их хранение при комнатной температуре. Нельзя

допускать высыхания и контаминации тканевых образцов. Имплантаты, в случае увеличения времени доставки, (например, доставка в централизованную лабораторию), должны быть погружены полностью в физиологический раствор, либо в раствор Рингера, для сохранения жизнеспособности как аэробных, так и анаэробных микроорганизмов.

Правила взятия биоматериала, транспортные системы, время хранения и условия транспортировки, в соответствии с предполагаемым методом диагностики, приведены в таблице 1.

Таблица 1

Микробиологическая диагностика имплант-ассоциированных инфекций

Этиологический агент	Диагностические методы	Оптимальный биоматериал	Транспортные системы, условия, время хранения и транспортировки образца	Техника сбора проб
<p><i>Staphylococcus</i> spp. <i>Streptococcus</i> spp. <i>Enterococcus</i> spp. <i>Enterobacterales</i> <i>Pseudomonas</i> spp. <i>H. influenzae</i></p> <p>Дрожжевые грибы Плесневые грибы</p>	<p>Микроскопическое исследование (окраска по Граму)¹</p> <p>Культуральное исследование (в аэробных условиях)</p>	<p>Аспират</p> <p>Оптимальный объём 1-20 мл</p>	<p>Стерильный контейнер с плотно закручивающейся крышкой</p> <p>Обычная атмосфера 18-22°C ≤ 2 ч</p> <p>Шприц без иглы, закрытый стерильной резиновой пробкой</p> <p>обычная атмосфера 18-22 оС ≤ 2 ч</p>	<p>1. Проводят дезинфекцию поверхности 70%-м этиловым спиртом, затем 1-2%-м раствором йода или другим дезинфектантом, разрешенным к применению для этих целей в установленном порядке; удаляют остатки раствора йода стерильной салфеткой, смоченной 70%-м этиловым спиртом.</p> <p>2. Аспирируют с помощью шприца жидкость из полости сустава, желательнее под контролем УЗИ.</p> <p>3. Переносят материал в стерильный контейнер для немедленной доставки в лабораторию или во флаконы для автоматического анализатора.</p> <p>4. Альтернативный вариант – оставляют материал для доставки в лабораторию в шприце, иглу удаляют, шприц закрывают стерильной резиновой пробкой.</p>
<p><i>C. acnes</i> Другие анаэробные бактерии</p>	<p>Культуральное исследование (в анаэробных условиях)</p>	<p>Объем возможно больший, но не больше чем указано в инструкции производителя.</p>	<p>Флаконы для автоматического микробиологического анализатора для исследования стерильных биологических жидкостей⁴</p> <p>обычная атмосфера +18 - +22 °С</p>	
<p><i>Chlamydia trachomatis</i>, <i>Neisseria gonorrhoeae</i>, <i>Borrelia burgdorferi</i>, <i>M. tuberculosis</i></p>	<p>Молекулярно-биологическое исследование (ПЦР)^{2,3}</p>	<p>Оптимальный объём 0,5-5 мл</p>		

		Биоптат	Стерильный контейнер с плотно завинчивающейся крышкой обычная атмосфера +18 - +22 °С ≤2 часа	<ol style="list-style-type: none"> 1. Образцы ткани получают из различных участков оперативного вмешательства в количестве не менее 3 и не более 5 образцов размером 0,5x 0,5x0,5 см³ 2. Биоптат, по возможности, должен быть получен из места соединения кости и цемента либо кости и эндопротеза [12]. 3. Каждый образец отдельным стерильным инструментом помещают в отдельный контейнер и доставляют в лабораторию.
		Удалённые импланты и эндопротезы	Стерильный контейнер с плотно завинчивающейся крышкой или герметично закрывающийся стерильный пакет обычная атмосфера +18 - +22 °С ≤2 часа	<ol style="list-style-type: none"> 1. Каждый образец помещают в контейнер или пакет отдельным стерильным инструментом с соблюдением асептической техники и доставляют в лабораторию. 2. В случае увеличения времени доставки, (например, доставка в централизованную лабораторию), импланты должны быть погружены не менее, чем на 90% поверхности в раствор 0,9% NaCl, либо в раствор Рингера.

Примечания:

1. Микроскопия препаратов, окрашенных по Граму, целесообразна только при острой перипротезной инфекции, хотя отрицательный результат не должен исключать инфекционный процесс. При хронических инфекциях чувствительность окраски по Граму составляет менее 10% [20,29,52,72]
2. Для молекулярно-биологического исследования (ПЦР) пригодны только образцы аспиратов, собранные в стерильный контейнер
3. ПЦР-исследование может проводиться для выявления специфических микроорганизмов у пациентов, получающих antimicrobные препараты, а также при подозрении на ИАИ, вызванную труднокультивируемыми возбудителями [1,20,51].
4. Посев аспирационной жидкости во флаконы для исследования стерильных в норме биологических жидкостей при использовании автоматического микробиологического анализатора повышает чувствительность бактериологического исследования[44,67-71].

5. Аналитический этап исследования

Доставленные в лабораторию пробы биоматериалов должны быть приняты в работу немедленно.

5.1 Подготовка и посев образцов

5.1.1 Аспират

Образцы аспирационной жидкости, доставленные в стерильном пластиковом контейнере, пробирке или в шприце высевают на плотные питательные среды: 5% кровяной (колумбийский) агар (КА), для *Haemophilus influenzae* (*H.influenzae*) и других прихотливых микроорганизмов - шоколадный агар, для анаэробных микроорганизмов агар Шедлера [29]. На плотные питательные среды материал наносится стерильной пипеткой (дозатором), либо из шприца в количестве 0,1 мл. Посев производится несекторным методом с помощью шпателя (см. документ «Методы посева»). Параллельно с прямым посевом на плотные питательные среды рекомендуется проводить посев на среду обогащения. Оптимальной жидкой средой для культивирования аэробных и анаэробных микроорганизмов при ИАИ, в том числе и *S. acnes*, является тиогликолевая среда [20]. В тиогликолевую среду засеивается 0,5-1 мл аспирационной жидкости.

По возможности, от 0,5-5 мл (но не более количества, рекомендованного инструкцией к флаконам) аспирата засеивают в аэробные и анаэробные флаконы анализатора для автоматического культивирования биологических жидкостей [20,29,52, 57,58,59]. В случае роста во флаконах производится микроскопия окрашенных по методу Грама препаратов и высев на питательные среды в зависимости от результатов микроскопии (см. документ «Методы окраски»).

5.1.2 Биоптат

Проводится гомогенизация биоптатов в жидкой питательной среде, с последующим посевом гомогенизатов на плотные питательные среды и среды обогащения [20, 52, 60, 61]. Существуют ручные (разрушение тканей стерильными инструментами, растирание стерильными керамическими пестиками в стерильной ступке, встряхивание с помощью стерильных стеклянных бус) и автоматизированные методы гомогенизации тканей [52,61-64]. Для уменьшения риска контаминации образцов, гомогенизацию рекомендуется проводить в тех же контейнерах, в которые образцы были помещены в операционной и доставлены в лабораторию [52]. Гомогенизацию проводят с добавлением стерильного раствора Рингера или физиологического раствора в количестве 1-3 мл. Стеклянные бусы, раствор Рингера или физиологический раствор могут быть предварительно помещены в контейнеры в лаборатории перед отправкой в операционные.

Гомогенизацию со стеклянными бусами можно проводить на орбитальном шейкере в закрытом держателе встряхиванием при 250 оборотах в минуту в течение 10 минут или на вихревом смесителе (вортексе) перемешиванием в течение 15 секунд (40Hz) [52]. При гомогенизации любым способом необходимо соблюдать требования, снижающие вероятность контаминации образцов (соблюдать асептическую технику, гомогенизация каждого образца должна проводиться отдельными стерильными инструментами в отдельной стерильной посуде). **Гомогенизированные образцы** засевают по 2 капли (либо дозированно 0,1 мл) на плотные питательные среды: 5%-ный кровяной (колумбийский) агар, шоколадный агар, агар Шедлера [17,52,64]. Посев производится несекторным методом с помощью шпателя (см. документ «Методы посева»). В тиогликолиевую среду засевают 0,5-1 мл гомогенизированных образцов тканей [17]. Для повышения чувствительности микробиологического исследования 0,5-1 мл гомогенизированных образцов тканей (либо жидкости, в которой производилось разбивание образцов) засевают во флаконы автоматического микробиологического анализатора для культивирования биологических жидкостей [65,66]. В случае роста во флаконах производится микроскопия окрашенных по методу Грама препаратов и высев на питательные среды в зависимости от результатов микроскопии.

5.1.3 Эксплантированный имплантат

В лаборатории контейнер или пластиковый пакет с имплантатом извлекается из упаковочного пакета. В контейнер (пакет) с соблюдением асептической техники добавляется стерильный раствор Рингера или 0,9% физиологический раствор. Объем добавляемой жидкости зависит от размера контейнера и образца (от 50 до 400 мл), при этом имплантат должен быть покрыт раствором не менее чем на 90%. Контейнер (пакет) тщательно встряхивается вручную или с помощью вортекса в течение 30 секунд. Затем контейнер (пакет) с имплантатом помещают в заполненную водой ультразвуковую ванну и подвергают ультразвуковой обработке при 40 ± 2 кГц и мощности $0,22 \pm 0,04$ Вт/см² в течение 1-5 минут. Контейнер (пакет) вновь встряхивается вручную или с помощью вортекса 30 секунд. Полученную **сонакационную жидкость** засевают стерильной пипеткой по 0,1- 0,5 мл на плотные питательные среды: 5% КА или колумбийский агар, шоколадный агар или агар Шедлера. Используется несекторный метод посева шпателем для получения роста изолированных колоний и дальнейшего пересчета в колониобразующие единицы (КОЕ) на мл жидкости. В тиогликолевую среду засеваются 0,5- 1 мл соникационной жидкости.

От 1 до 5 мл (в зависимости от типа флакона, но не более объема, указанного в инструкции к флаконам) соникационной жидкости рекомендуется засеять в аэробные и анаэробные флаконы автоматического микробиологического анализатора для культивирования биологических жидкостей [44,67-71]. В случае роста во флаконах производится микроскопия окрашенных по методу Грама препаратов и высев на питательные среды в зависимости от результатов микроскопии.

При посеве всех биоматериалов для диагностики ИАИ могут использоваться дополнительные питательные среды:

- МакКонки агар/агар Эндо/ лактозо-цистиновый агар(CLED)/хромогенный агар для уропатогенов;
- маннит-солевой (МСА)/желточно-солевой (ЖСА)/агар Байрд-Паркера (БП)/хромогенный агар для стафилококков;
- агар Сабуро с добавками и без добавок, хромогенный агар для грибов.

5.2 Микроскопическое исследование

Образцы аспирационной жидкости могут быть окрашены по методу Грама (см. документ «Методы окраски»). Но результаты микроскопии не должны быть определяющими для постановки диагноза ИАИ, поскольку метод имеет очень низкую чувствительность и отрицательные результаты окраски не исключают инфекцию [20,29,52,72]. Образцы тканевых биоптатов окрашивать не рекомендуется.

5.3 Инкубация посевов

1. Все посеы на плотных средах и среде обогащения просматриваются ежедневно в течение 5 суток. При наличии признаков роста в среде обогащения производится высев на плотные питательные среды;
2. Через 5 суток проводится высев из сред обогащения даже при отсутствии видимого роста. При отсутствии роста в течение 5 суток рекомендуется продлить инкубацию всех сред до 14 суток, особенно при подозрении на ИАИ, причиной которой могут быть медленно растущие микроорганизмы [7,20,29,52,71,73-75];
3. Флаконы, загруженные в автоматический микробиологический анализатор, инкубируются в течение 14 суток.

Рекомендованные питательные среды, условия и сроки их культивирования представлены в таблице 2.

Таблица 2

Питательные среды и условия культивирования для целевых микроорганизмов

Клиническая информация	Биоматериал	Основные питательные среды	Условия инкубации			Просмотр посевов	Целевой микроорганизм/ микроорганизмы
			Температура °С	Атмосфера	Время		
Все клинические состояния	Аспират Гомогенизированный биоптат Соникационная жидкость	5% кровяной (КА)/ колумбийский агар	35 - 37	5-10% CO ₂ или аэробная	5 суток ¹	Ежедневно	<i>Staphylococcus</i> spp. <i>Streptococcus</i> spp. <i>Enterococcus</i> spp. <i>Enterobacterales</i> <i>Pseudomonas</i> spp. Дрожжевые и плесневые грибы
		Шоколадный агар ² /Шедлер-агар					
		Тиогликолевая среда	35-37	Аэробная	14 суток Высев на 5 сутки и при наличии роста	Ежедневно	Аэробы и анаэробы

	5% кровяной/ колумбийский агар/ Шедлер-агар	35 – 37	Анаэробная	5 суток ¹	>48 ч Ежедневно	<i>C. acnes</i> <i>Actinomyces</i> spp. другие анаэробы
	Аэробный и анаэробный флаконы для микробиоло- гического анализатора При появлении сигнала о росте высевы: Из аэробного флакона:	35 – 37 35 - 37	Аэробная Анаэробная	14 суток	Ежедневно в автоматиче- ском режиме	Любые
	5% кровяной агар/ колумбийский Шоколадный агар Из анаэробного: Шедлер агар	35-37	Аэробная	6 - 48 часов	Ежедневно	Аэробы
	5% Кровяной/ колумбийский		Анаэробная	От 24- до 96 часов	Ежедневно	Анаэробы

Клинические детали/ условия	Образцы	Дополнительные среды	Условия инкубации			Оценка	Целевой микроорганизм
			Температура ^о С	Атмосфера	Время		
Все клинические состояния		Среды для стафилококков МСА, ЖСА, БП/ Хромогенный агар	35-37	Аэробная	18-48ч	Ежедневно	<i>Staphylococcus</i> spp.
		МакКонки агар/ Эндо агар/ CLED-агар/ Хромогенный агар для уропатогенов	35-37	Аэробная	18-24ч	Ежедневно	<i>Enterobacterales</i> <i>Pseudomonas</i> spp.
Подозрение на грибковую инфекцию	Все образцы	Агар Сабуро/Хромогенный агар для грибов	35-37 в течение 48 часов затем 20-28	Аэробная	5 суток ¹	Ежедневно	Дрожжевые и Плесневые грибы
<p>1. Период инкубации всех сред может быть продлен до 14 суток при наличии показаний, а именно: в случаях подозрений на ИАИ, вызванные медленно растущими микроорганизмами, при отсутствии роста в дооперационных посевах при наличии клинической картины ИАИ, в случае если пациент получает антимикробные препараты. [7,20 ,52,71,73-75].</p> <p>2. Можно использовать с диском бацитрацина 10 ЕД</p>							

5.4 Идентификация микроорганизмов

При диагностике ИАИ следует обращать внимание на вариант «**малых колоний**».

Микроорганизмы, выделенные из биопленки, могут образовывать колонии меньшего размера или атипичного вида. Инфекции, вызванные такими вариантами бактерий, трудно поддаются лечению и имеют склонность к рецидивированию. Варианты «малых колоний» известны для различных бактерий, включая стафилококки, сальмонеллы, *Escherichia coli* (*E.coli*) и *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*). Наиболее изучены варианты малых колоний *S.aureus*. Они играют наиболее важную роль при возникновении остеомиелита и ИАИ, и развиваются в результате длительного непрерывного воздействия аминогликозидов, например, после имплантации пропитанных гентамицином гранул при лечении остеомиелитов.

В связи с этим, посевы на плотных питательных средах должны быть исследованы при увеличении на наличие «малых вариантов» колоний. Следует быть внимательными, чтобы отличить мелкие фрагменты ткани на питательных средах от «малых колоний» [29,52]. Для того чтобы увидеть такие варианты колоний при обычном увеличении, требуется более длительное культивирование посевов. Повторяющееся субкультивирование таких возбудителей в средах обогащения часто приводят к тому, что эти варианты возвращаются к своим первоначальным фенотипическим признакам.

Идентификация микроорганизмов выполняется с использованием биохимических, иммунологических (включая серологические), молекулярно-биологических и физико-химических (включая масс-спектрометрические) технологий [17].

Необходимый минимальный уровень идентификации микроорганизмов при ИАИ представлен в таблице 3.

Таблица 3

Необходимый минимальный уровень идентификации микроорганизмов при ИАИ

Анаэробы	До вида
<i>Actinomycetes</i>	До рода (<i>Actinomyces</i> spp.) желательно до вида
<i>S.acnes</i>	До вида
Бета-гемолитические стрептококки	До группы по Лансфилд желательно до вида
Прочие стрептококки	До вида
Энтерококки	До вида
<i>Enterobacterales</i>	До вида
Дрожжевые и плесневые грибы	До вида
<i>Haemophilus</i> spp.	До вида

<i>Pseudomonas</i> spp.	До вида
<i>S. aureus</i>	До вида
Стафилококки	До вида
Должны быть идентифицированы до вида все выделенные микроорганизмы из всех образцов. Идентификация до видового уровня необходима для определения идентичности выделенных микроорганизмов, что важно для постановки диагноза ИАИ.	

5.5 Определение чувствительности к антимикробным препаратам

Определение чувствительности к антимикробным препаратам изолятов бактерий и грибов необходимо проводить по актуальной версии российских рекомендаций «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» и/или актуальной версии документов Европейского комитета по определению чувствительности к антимикробным препаратам (EUCAST).

Необходимо тестирование чувствительности микроорганизмов к широкому спектру антимикробных препаратов, так как при лечении ИАИ требуется антибактериальная терапия на стационарном этапе как препаратами для системного введения, так и термостабильными препаратами, сохраняющими активность при высоких температурах при полимеризации костного цемента в спейсере (у пациентов с ППИ, для создания высоких локальных концентраций), а так же длительная терапия пероральными антибактериальными препаратами на амбулаторном этапе.

Из-за тенденции выявления резистентности к антимикробным препаратам анаэробных возбудителей, в каждом случае выделения анаэробов необходимо определение чувствительности [76,77].

Также рекомендуется определять чувствительность к антимикотикам дрожжевых и мицелиарных грибов.

6. Постаналитический этап

6.1 Результат микробиологического исследования

6.1.1 Интерпретация результата

Решение об этиологической значимости выделенных микроорганизмов необходимо принимать на основании анализа результатов посевов всех образцов. Для определения идентичности изолятов из нескольких образцов необходима идентификация до видового уровня и/или расширенная антибиограмма. Важно выполнить тестирование чувствительности для всех микроорганизмов, выделенных из нескольких образцов. Имплантаты могут быть инфицированы несколькими штаммами микроорганизмов с разной чувствительностью. Поскольку микроорганизмы, вызывающие хроническую ИАИ

часто относятся к сапрофитной микрофлоре кожи, интерпретация результатов одного образца затруднена. Ни один микроорганизм не должен считаться контаминацией до тех пор, пока не будут получены окончательные результаты исследования всех образцов.

Примечание: Лаборатории должны сохранять все образцы всех изолятов в течение не менее 2 недель [52].

Даже при тщательном отборе проб и продленном времени инкубации могут наблюдаться отрицательные результаты микробиологического исследования образцов у пациентов с подозрением на ИАИ, при положительном гистологическом диагнозе инфекции. Это может быть обусловлено ошибками при отборе проб (неравномерное распределение микроорганизмов в различных участках), очень небольшим количеством микроорганизмов, невозможностью выделить возбудителей из биопленки, некультивируемыми микроорганизмами или ложноположительными результатами гистологии. В подобных ситуациях на помощь могут прийти молекулярно-генетические исследования [52].

Критерии микробиологической диагностики ИАИ:

- Рост *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*), *E. coli*, *Streptococcus* spp. и других высоковирулентных микроорганизмов в **одном из образцов биоматериала** (аспират, тканевой биоптат, удаленный имплантат) – является диагностическим критерием ИАИ [1, 32,42,50,52,75,78 -80];
- Выделение низковирулентных представителей нормальной микрофлоры кожных покровов (например *S. epidermidis*, *C. acnes*), из **двух и более образцов** (тканевых биоптатов и имплантатов или из дооперационного аспирата и одного интраоперационного тканевого биоптата или удаленного имплантата) с идентичным фенотипом подтверждают наличие ИАИ;
- Выделение низковирулентного возбудителя из одного образца биоматериала или удаленной конструкции при подтверждении ИАИ, следует оценивать в комплексе с другими результатами обследования [1,20,32,42,50,52,78-80];
- У пациентов с подозрением на ИАИ позвоночника и ПАИ, получающих антимикробную терапию, выделение любых микроорганизмов из одного образца рекомендуется расценивать как **значимый** для постановки диагноза[32,50];
- Рост микроорганизмов в соникационной жидкости в количестве ≥ 50 КОЕ/мл – является диагностическим критерием ИАИ [32,42,50];
- Количество микроорганизмов < 50 КОЕ/мл в соникационной жидкости считается значимым при следующих состояниях:

1. у пациентов, получающих антибактериальную терапию;
2. при выделении анаэробов при перипротезной инфекции;
3. при выделении *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, стрептококков и прочих вирулентных микроорганизмов) при ИАИ позвоночника;
4. при обнаружении *S.aureus* и анаэробов при перелом – ассоциированной инфекции [32,42,50].

6.1.2 Формулировка результата

При отнесении выделенных микроорганизмов к этиологически значимым по критериям, указным выше, в заключении необходимо указать их вид, количество и чувствительность к антимикробным препаратам, а также стандарт, по которому проводилось определение чувствительности

6.1.3 Сроки выдачи результата

Предварительные результаты. Клинически значимая информация о росте микроорганизмов и виде возбудителя должна быть сообщена в максимально короткие сроки от момента ее получения средствами, принятыми в лаборатории.

Информация об отсутствии роста микроорганизмов выдается через 5 суток.

Окончательные результаты. Заключение об отсутствии роста выдается через 14 суток.

6.2 Проведение цитологического и гистологического исследования

Важное значение в диагностике ИАИ имеет цитологическое исследование аспирационной жидкости и гистологическое исследование интраоперационных образцов тканей.

6.2.1 Проведение цитологического исследования

Рекомендуется определять общее количество лейкоцитов и проводить их дифференцированный подсчет.

Подсчет общего количества лейкоцитов может быть проведен в счетной камере или слайд - планшете (в соответствии с инструкцией производителя). Наличие сгустка в аспирате аннулирует возможность подсчета. В значительно окрашенные кровью образцы необходимо добавить лизирующий раствор (для растворения эритроцитов), например, 0,3% раствор NaCl за 5 минут до заполнения камеры или планшета.

Дифференциальный подсчет клеток проводится после приготовления мазка и фиксации способом, указанным в инструкции к набору для окрашивания. Окрашивание может быть проведено любыми красителями, которые используются для цитологической диагностики, подходящим для определения морфологии лейкоцитов, наилучшие результаты получаются при использовании различных модификаций метода

Романовского (см. документ «Методы окраски»). В отчете указывается количество клеток в микролитре, либо $\times 10^6$ в литре. При дифференциальном подсчете указывается удельный вес всех видов лейкоцитов (нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов и клеток мезотелия (синовиоцитов) [52,85]. Также можно проводить подсчет лейкоцитов и дифференциальный подсчет клеток на гематологических анализаторах с модулем исследования биологических жидкостей, после обработки синовиальной жидкости раствором фермента гиалуронидазы [86-88].

6.2.2 Интерпретация результата цитологического исследования

Пороговое значение для количества лейкоцитов >3000 клеток/мкл (по данным разных авторов от 1700 клеток/мкл до 5000 клеток/мкл), доля палочко-ядерных нейтрофилов (ПЯН) $> 70\%$ является значимым критерием для установки диагноза ППИ (диапазон 65-80%). Необходимо помнить, что у пациентов с перипротезными переломами и в первые 6 недель после эндопротезирования сустава, а также у пациентов с ревматоидным артритом, перипротезным переломом или при наличии пары трения металл-металл цитологическое исследование синовиальной жидкости может давать ложноположительные результаты [1,81].

6.3 Проведение гистологического исследования

Гистологическое исследование интраоперационных образцов тканей, в частности перипротезной мембраны, не зависит от условий культивирования и свойств бактерий-возбудителей, таким образом, оно отлично дополняет микробиологическую диагностику. Наличие картины острого воспаления при срочном гистопатологическом исследовании замороженных образцов перипротезных тканей, с высокой вероятностью свидетельствует о наличии ППИ.

6.3.1 Интерпретация результата гистологического исследования

В настоящее время разработаны гистологические критерии для подтверждения инфекционного процесса в тканях. Так, согласно **критерию Фельдмана**, выявление более 5 нейтрофилов не менее чем в 5 полях зрения при микроскопическом увеличении $\times 400$, свидетельствует о наличии ИАИ [1, 20,52,82,83]. Надежным методом является анализ перипротезных мембран согласно консенсусной классификации по **Кренну и Моравицу**. Перипротезная мембрана инфекционного (II) или смешанного типа (III) по Кренну и Моравицу является диагностическим критерием перипротезной инфекции [7,84].

7. Список литературы

1. Божкова С.А., Тихилов Р.М., Артюх В.А. Ермаков А. М., Касимова А. Р. Коюшков А. Н. Клинические рекомендации. Инфекции, ассоциированные с ортопедическими имплантатами, 2024.
2. Матвеев Р. П., Брагина С. В. Остеоартроз коленного сустава: проблемы и социальная значимость // Экология человека. 2012. № 9. С. 53–62.
3. Трубин А. Р. Современный подход к оценке клинико - функционального состояния и социально-психологического статуса пациентов при хирургическом лечении травм и заболеваний тазобедренного сустава // Здоровье семьи – 21 век. 2012. № 1. С. 18.
4. Keurentjes J. C., Van Tol F. R., Fiocco M., Schoones J. W., Nelissen R. G. Minimal clinically important differences in health-related quality of life after total hip or knee replacement: A systematic review // Bone Joint Res. 2012. Vol. 1, N 5. P. 71–77
5. Ошкуков С.А. Хирургическое лечение перипротезной инфекции тазобедренного и коленного сустава. Автореферат Диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. Москва 2017.с.8
6. Kurtz SM, Lau E, Watson H, Schmier JK, Parvizi Economic burden of periprosthetic joint infection in the United States J Arthroplasty J Arthroplasty. 2012 Sep;27(8 Suppl):61-5.e1. doi: 10.1016/j.arth.2012.02.022. Epub 2012 May 2.PMID: 22554729
7. Винклер Т., Трампуш А., Ренц Н., Перка К., Божкова С.А. Классификация и алгоритм диагностики и лечения перипротезной инфекции тазобедренного сустава. Травматология и ортопедия России. 2016; (1):33-45.
8. Долотин Д.Н., Михайловский М.В., Суздалов В.А. Гнойные осложнения при использовании металлоимплантатов в хирургии позвоночника: обзор литературы. Хирургия позвоночника. 2015. Т. 12. № 2. С. 33-39.
9. Jad Chahoud, Zeina Kanafani, Souha S. Kanj Surgical Site Infections Following Spine Surgery: Eliminating the Controversies in the Diagnosis. Front Med (Lausanne). 2014; 1: 7. Published online 2014 Mar 24. doi: 10.3389/fmed.2014.00007.
10. Бывальцев В.А., Степанов И.А., Борисов В.Э. с соавторами. Инфекции в области хирургического вмешательства в спинальной хирургии. Казанский медицинский журнал, 2017. Т. 98. № 5. С. 796-803.
11. Божкова С. А. и соавт. Способность к формированию биопленок у клинических штаммов *S. aureus* и *S. epidermidis*. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия 2014, Том 16, № 2 с.149 -156

12. Ochsner P.E., Borens O., Bodler P.M. Infections of the musculoskeletal system. Published by Swiss orthopaedics and the Swiss Society for Infectious Diseases expert group "Infections of musculoskeletal system". 2014: p. 21
13. Tai DBG et al., Microbiology of hip and knee periprosthetic joint infections: a database study, *Clinical Microbiology and Infection*, <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2021.06.00>
- 14.. Кимайкина О.В., Золовкина А.Г., Батрак Ю.М. Анализ этиологической структуры и антибиотикорезистентности возбудителей перипротезной инфекции крупных суставов. // *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. - Том 21. - Приложение 1. 2019. с.33-34.
15. Кимайкина О.В., Найданов В.Ф., Бурков Д.В., Баженов П.А., Супрун Е.А., Золовкина А.Г., Васильева Н.В., Тараскина А.Е., Выборнова И.В., Богомолова Т.С., Григоричева Л.Г. Грибковые инфекции суставов. Случаи из практики. // *Проблемы медицинской микологии*. – 2018. - Т.20. - №4. – С.34-38.
16. Кимайкина О.В., Золовкина А.Г. Опыт микробиологической диагностики перипротезной инфекции вызванной *Listeria monocytogenes*. // *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. – Том 21. - Приложение 1. - 2019. - с.34
17. H. Rieber, A. Frontzek, S. Heinrich et al. Microbiological diagnosis of polymicrobial periprosthetic joint infection revealed superiority of investigated tissue samples compared to sonicate fluid generated from the implant surface. *International Journal of Infectious Diseases* 106 (2021) 302–307
18. Paziuk T, Levicoff E, Tan T, Good R Periprosthetic Joint Infection with *Listeria monocytogenes*: A Case Report *JBJS Case Connect*. Apr-Jun 2020; 10(2):e1900489.doi: 18.3010.2106/JBJS.CC.19.00489
19. Francis Muchaamba, Athmanya K. Eshwar, Ueli von Ah, Marc J. A. Stevens¹ and Taurai Tasara Evolution of *Listeria monocytogenes* During a Persistent Human Prosthetic Hip Joint Infection *Front. Microbiol.*, 28 July 2020 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01726>
20. Материалы Второй международной согласительной конференции по скелетно-мышечной инфекции / пер. с англ. ; под общ. ред. Р.М. Тихилова, С.А. Божковой, И.И. Шубнякова. – СПб.: РНИИТО им. Р.Р. Вредена, 2019. – 314 с.
21. Bernd Fink, Florian Sevelde, "Periprosthetic Joint Infection of Shoulder Arthroplasties: Diagnostic and Treatment Options", *BioMed Research International*, vol. 2017, Article ID 4582756, 10 pages, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/4582756>
22. J. A. Singh, J. W. Sperling, C. Schleck, W. S. Harmsen, and R. H. Cofield, "Periprosthetic infections after total shoulder arthroplasty: A 33-year perspective," *Journal of Shoulder and Elbow Surgery*, vol. 21, no. 11, pp. 1534–1541, 2012. View at: [Publisher Site](#) | [Google Scholar](#)

23. P. Pottinger, S. Butler-Wu, M. B. Neradilek et al., "Prognostic factors for bacterial cultures positive for *Propionibacterium acnes* and other organisms in a large series of revision shoulder arthroplasties performed for stiffness, pain, or loosening," *The Journal of Bone & Joint Surgery*, vol. 94, no. 22, pp. 2075–2083, 2012. View at: [Publisher Site Google Scholar](#)
24. Renz N. et al. Shoulder periprosthetic joint infection caused by *Propionibacterium acnes*. A retrospective cohort study. *Magazine: Upper Extremity > Issue 2/2016*
25. L. R. Vialle et. al, *AOSpine Masters Series, Volume 10: Spinal Infections* (ISBN 978-1-62623-455-05), copyright © 2018 Thieme Medical Publishers. All rights reserved. Usage subject to terms and conditions of license.
26. Charles Peltier, Vendevre Tanguy, Rigoard Philippe at all. Infection after spinal surgery. A prospective case-series including 2706 patients. *EBJIS 2017 36 Annual Meeting of the European Bone and Joint Infection Society 7-9 September 2017 Nantes France Abstracts Book*. P. 121.
27. Uçkay, A. Dinh, L. Vauthey et al. Spondylodiscitis due to *Propionibacterium acnes*: report of twenty-nine cases and a review of the literature *Clin Microbiol Infect* 2010. № 16. P. 353-358.
28. О.В. Кимайкина О.В., Григоричева Л. Г. Кравчуков И.В., В.В. Платунов В.В., Кривошеин А.В., Золовкина А.Г. Особенности микробиологической диагностики при первичных и ревизионных оперативных вмешательствах на позвоночнике 2018. № 4 (55). С. 37-42. DOI: 10.21145/2499-9954-2018-4-37-42.
29. Ochsner P.E., Borens O., Bodler P.M. Infections of the musculoskeletal system. Published by Swiss orthopaedics and the Swiss Society for Infectious Diseases expert group "Infections of musculoskeletal system". 2014: p. 21
30. Christian Fang et al. Infection after fracture osteosynthesis – Part I: Pathogenesis, diagnosis and classification *Journal of Orthopaedic Surgery* 25(1) 1–13 y 2017 Reprints and permissions: sagepub.co.uk/journalsPermissions.nav DOI: 10.1177/2309499017692712 journals.sagepub.com/home/osj
31. M. Depypere et al. Pathogenesis and management of fracture-related infection / *Clinical Microbiology and Infection* 26 (2020) 572e578573
32. N. Renz, A. Trampuz Карманный справочник (русская версия) диагностики и лечения имплантассоциированной инфекции на фоне металлостеосинтеза. Версия 3: Ноябрь 2018. Создан на основе *Pocket Guide to Diagnosis and Treatment of implant-associated infections after fracture fixation* (PII) PRO-IMPLANT Foundation
33. Rightmire E., Zurakowski D., Vrahas M. Acute infections after fracture repair: Management with hardware in place // *Clin. Orthop. Relat. Rs.* Springer New York, 2008. KP417 73 T. 466, № 2. С. 466–472.

34. Parkkinen M. и др. Risk factors for deep infection following plate fixation of proximal tibial fractures // *J. Bone Jt. Surg. - Am. Vol.* Lippincott Williams and Wilkins, 2016. Т. 98, № 15. С. 1292–1297
35. Bonneville P. Operative treatment of early infection after internal fixation of limb fractures (exclusive of severe open fractures) // *Orthopaedics and Traumatology: Surgery and Research.* Elsevier Masson SAS, 2017. Т. 103, № 1. С. S67–S73
36. Zimmerli W., Sendi P. Orthopaedic biofilm infections // *APMIS.* 2017. Т. 125, № 4.
37. Zimmerli W., Trampuz A., Biomaterials-associated infection: a perspective from the clinic. In: *Biomaterials Associated Infection: Immunological Aspects and Antimicrobial Strategies;* Moriarty T.F., Zaat S.A.J., Busscher H. eds.; Springer: NY, Heidelberg Dordrecht: London, ed. 2013; pp. 3-24.
38. Orthopedics and biofilm – what do we know? A review. Aristides B. Zoubos, Spyridon P. Galanakos, Panayotis N. Soucacos *Med Sci Monit.* 2012;18(6): RA89–RA96. Published online 2012 Jun .doi:10.12659/MSM.882893 PMID: PMC3560733
39. Рёмлинг У., Бальсалобре К. Инфекции, вызванные биоплёнками, их устойчивость к терапии и инновационные стратегии лечения. *J Intern Med.* 2012 Dec;272(6):541-61. doi: 10.1111/joim.12004. Epub 2012 Oct 29. PMID: 23025745.
40. Yusuf H. Mirza, Rosamond Tansey, Mohamed Sukeik, Mohammed Shaath, and Fares Sami Haddad | Biofilm and the Role of Antibiotics in the Treatment of Periprosthetic Hip and Knee Joint Infections *The Open Orthopaedics Journal* • 30 Nov 2016 • REVIEW ARTICLE • DOI: 10.2174/1874325001610010636
41. Zimmerli W. Infection and musculoskeletal conditions: Prosthetic-joint-associated infections. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2006; 20:1045-63.
42. N.Renz, A.Trampuz Карманный справочник (русская версия) создан на основании Pocket Guide to Diagnosis & Treatment of Periprosthetic Joint Infection (PJI) PRO-IMPLANT Foundation (Berlin, Germany), последняя версия доступна: www.proimplant-foundation.org.
43. О.В.Кимайкина, Ю.М.Батрак, В.Н. Гольник с соавторами. Ретроспективный анализ выявления возбудителей перипротезной инфекции в дооперационных и интраоперационных образцах. *Лабораторная служба.* 2018. Т. 7. № 3-2. С. 111
44. Trampuz A, Piper KE, Jacobson MJ, Hanssen AD, Unni KK, Osmon DR et al. Sonication of removed hip and knee prostheses for diagnosis of infection. *NEnglJMed* 2007;357:654-63.
45. Piper KE, Jacobson MJ, Cofield RH, Sperling JW, Sanchez-Sotelo J, Osmon DR et al. Microbiologic diagnosis of prosthetic shoulder infection by use of implant sonication. *J Clin Microbiol* 2009;47:1878-84

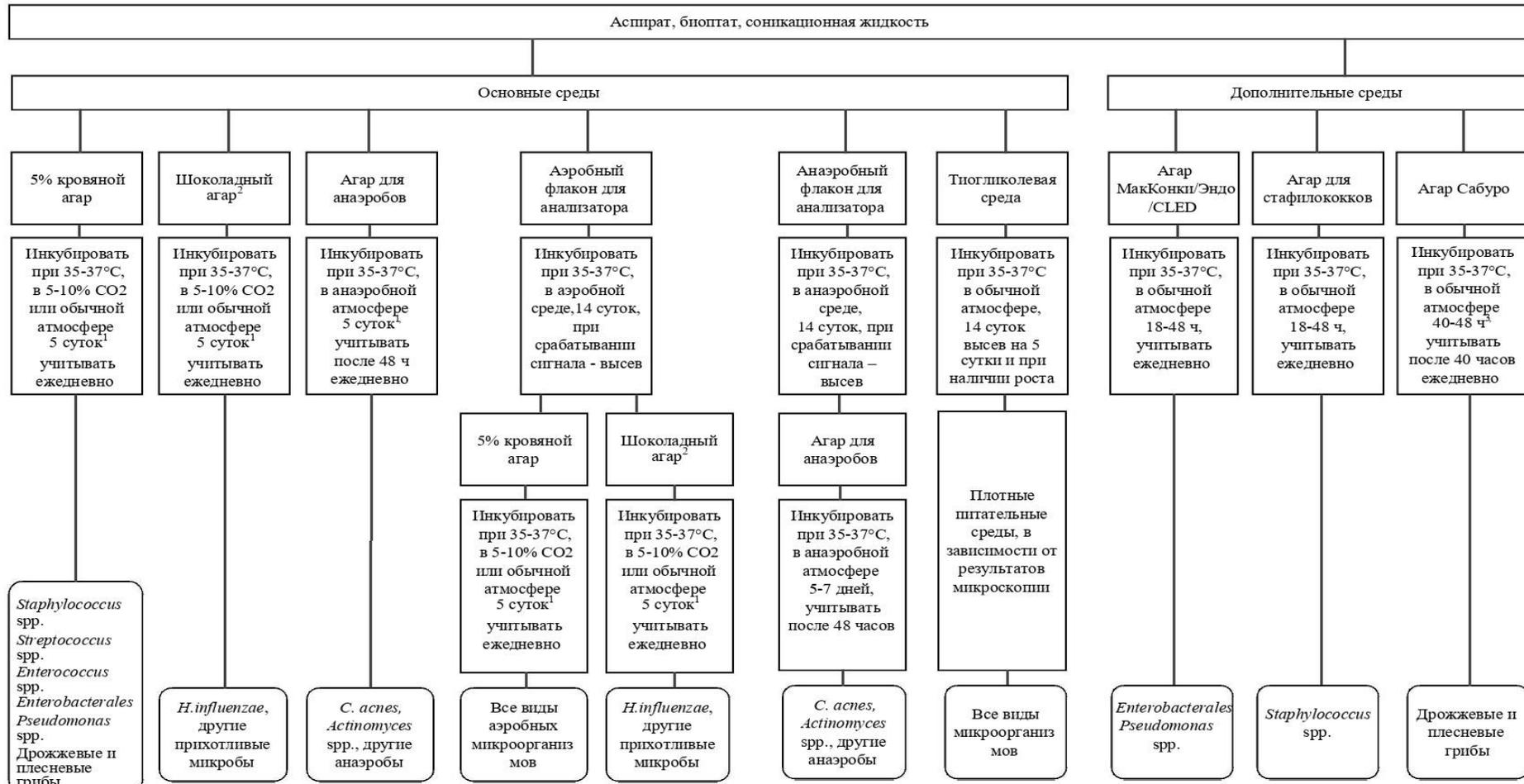
46. Portillo ME, Salvado M, Trampuz A, Siverio A, Alier A, Sorli L et al. Improved diagnosis of orthopedic implant-associated infection by inoculation of sonication fluid into blood culture bottles. *Journal of clinical microbiology* 2015; 53:1622-7.
47. Bayard C. Carlson, MD1, Jeremy T. et al. Implant Sonication versus Tissue Culture for the Diagnosis of Spinal Implant Infection. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2020 May 01; 45(9): E525–E532. doi:10.1097/BRS.00000000000003311
48. P. Bellova, V. Knop-Hammad, M. Konigshausen et al. Sonication in the diagnosis of fracture-related infections (FRI) — a retrospective study on 230 retrieved implants. *J Orthop Surg Res* 16, 310 (2021). <https://doi.org/10.1186/s13018-021-02460-z>
49. Sorli L, Puig L, Torres-Claramunt R, Gonzalez A, Alier A, Knobel H et al. The relationship between microbiology results in the second of a two-stage exchange procedure using cement spacers and the outcome after revision total joint replacement for infection: the use of sonication to aid bacteriological analysis. *JBone Joint SurgBr* 2012; 94:249-53.
50. N. Renz, S. Feihl, P. Vajkoczy, A. Trampuz Pocket Guide to Diagnosis & Treatment of Spinal Infections. Version 3: March 2020 The Pocket Guide follows international recommendations. The latest version of the Pocket Guide is available at: www.pro-implant.org.
51. Воспалительные поражения позвоночника. Клинические рекомендации, 2024
52. UK Standards for Microbiology Investigations. Investigation of orthopaedic implant associated infections. Issued by the Standards Unit Microbiology Services, PHE Bacteriology | B44| Issue number: 2.1 Issue date: 18 August 21
53. Тихилов Р.М., Божкова С.А., Артюх В.А. Перипротезная инфекция в области крупных суставов конечностей // Ортопедия. Клинические рекомендации / под ред. акад. РАН Миронова С.П. Москва, 2018. С. 719–746.
54. Гуца А.О., Семенов М.С., Полтарако А.А. и др. Клинические рекомендации по диагностике и лечению воспалительных заболеваний позвоночника и спинного мозга. 2015.С. 34.
55. Baron E.J., Miller J.M., Weinstein M.P., et al. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2013 Recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM). *ClinInfectDis* 2013; 57:e22-e121.
56. Alfonso del Arco, María Luisa Bertrand The Diagnosis of Periprosthetic Infection *Open Orthop J*.2013; 7: 178–183. Published online 2013 Jun 14. doi:10.2174/1874325001307010178 PMID: PMC3722546

57. R.Trebse, S.Roskar Evaluation and interpretation of prosthetic joint infection diagnostic investigations February 2021 International Orthopaedics 45(7S) DOI:10.1007/s00264-021-04958-x
58. D. Cohen, A. Natshe Synovial fluid culture: agar plates vs. blood culture bottles for microbiologic Clin Rheumatol. 2020 Jan; 39(1):275-279. doi: 10.1007/s10067-019-04740-w. Epub 2019 Sep 6. PMID: 31489513.
59. О.В. Кимайкина, С.Б.Карбышева с соавторами Клиническая лабораторная диагностика. 2015. Т. 60. № 9 Опыт использования микробиологического анализатора Versa Trek в диагностике парапротезной инфекции суставов.
60. M. Askar et al. Comparison of different human tissue processing methods for maximization of bacterial recovery. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases (2019) 38:149–155 <https://doi.org/10.1007/s10096-018-3406-4>
61. W.David, Ph.D Pre-processing tissue specimens with a tissue homogenizer: clinical and microbiological evaluation Burden Guide to the Homogenization of Biological Samples. Random Primers, Issue No. 7, Sept. 2008, Page 1-14
62. A.-L. Roux, V. SivadonMM -Tardy, T. Bauer et al. Diagnosis of prosthetic joint infection by beadmill processing of a periprosthetic specimen Clinical microbiology and infection Volume 17, Issue 3 Page 447-450, March 01, 2011 DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03359.x>
63. E. Yusuf, M. Pronket al. Pre-processing tissue specimens with a tissue homogenizer: clinical and microbiological evaluation BMC Microbiologyvolume 21, Article number:202(2021)Cite this article <https://doi.org/10.1186/s12866-021-02271-6>
64. Sanabria, A., Røkeberg, M.E.O., Johannessen, M. et al. Culturing periprosthetic tissue in BacT/Alert® Virtuo blood culture system leads to improved and faster detection of prosthetic joint infections. BMC Infect Dis **19**,607 (2019). <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4206-x>
65. Minassian AM, Newnham R, Kalimeris E, Bejon P, Atkins BL, Bowler IC. Use of an automated blood culture system (BD BACTEC) for diagnosis of prosthetic joint infections: easy and fast. BMCInfectDis 2014;14:233.
- 66.Trisha N. Peel, Brenda L. Dylla Improved Diagnosis of Prosthetic Joint Infection by Culturing Periprosthetic Tissue Specimens in Blood Culture Bottles ASM Journals mBio Vol. 7, No. 1 March 2016mBio7(1):e01776-15 DOI:10.1128/mBio.01776-15
67. Hao Shen, Jin Tang et al. Sonication of Explanted Prosthesis Combined with Incubation in BD Bactec Bottles for Pathogen-Based Diagnosis of Prosthetic Joint Infection J Clin Microbiol.2015 Mar;53(3): 777–781.Prepublished online 2014 Dec 17. Published online 2015 Feb 19.doi:10.1128/JCM.02863-14PMCID:PMC4390663

68. Bellova, P., Knop-Hammad, V., Königshausen, M. et al. Sonication of retrieved implants improves sensitivity in the diagnosis of periprosthetic joint infection. *BMC Musculoskeletal Disord* **20**, 623 (2019). <https://doi.org/10.1186/s12891-019-3006-1>
69. Taiana Cunha Ribeiro et al. The impact of sonication cultures when the diagnosis of prosthetic joint infection is inconclusive. *Plos One* Published: July 13, 2021 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0252322>
70. S. Karbysheva et al. Comparison of sonication with chemical biofilm dislodgement methods using chelating and reducing agents: Implications for the microbiological diagnosis of implant associated infection April 2020 *PLoS ONE* **15**(4):e0231389 DOI:10.1371/journal.pone.0231389
71. N. Renz, S. Mudrovic, C. Perka, A. Trampuz Orthopedic implant-associated infections caused by *Cutibacterium* spp. – A remaining diagnostic challenge. *Plos One* Published: August 20, 2018 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202639>
72. С.Б. Карбышева, А.Г. Золовкина, А.А. Дорохова Эффективность использования окраски синовиальной жидкости по Граму в диагностике бактериальных артритов и инфекций протезированных суставов. *Проблемы медицинской микологии*. 2019. Т. 21. С. 79
73. M. E. Portillo, S. Corvec, O. Borens, A. Trampuz *Propionibacterium acnes*: An Underestimated Pathogen in Implant-Associated Infections *BioMed Research International* Volume 2013 Article ID 804391 | <https://doi.org/10.1155/2013/804391>
74. W. Zimmerli Bone and Joint Infections: From Microbiology to Diagnostics and Treatment. 2021, p. 349
75. Drago L. и др. The World Association against Infection in Orthopaedics and Trauma (WAIOT) procedures for Microbiological Sampling and Processing for Periprosthetic Joint Infections (PJIs) and other // *J. Clin. Med.* 2019. Т. 8, № 933. С. 1–16.
76. Christine J. Hasteya, Halsey Boyda, Audrey N. Schuetz et al. Changes in the antibiotic susceptibility of anaerobic bacteria from 2007–2009 to 2010–2012 based on the CLSI methodology HHS Public Access Author manuscript *Anaerobe*. Author manuscript; available in PMC 2019 May 17 Published in final edited form as: *Anaerobe*. 2016 December ; 42: 27–30. doi:10.1016/j.anaerobe.2016.07.003
77. C.E. Nord Antimicrobial Resistance Among Anaerobes -The European Experience. *International Journal of Infectious Diseases* Volume 12, Supplement 1, E39, December 01, 2008 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2008.05.147>
78. Metsemakers W.J. и др. Fracture-related infection: A consensus on definition from an international expert group // *Injury*. Elsevier Ltd, 2018. Т. 49, № 3. С. 505–510.

79. Osmon D.R., Berbari E.F., Berendt A.R., Lew D., Zimmerli W., Steckelberg J.M., Rao N., Hanssen A., Wilson W.R. Executive summary: Diagnosis and management of prosthetic joint infection: Clinical practice guidelines by the infectious diseases society of america. *Clin. Infect. Dis.* 2012;56:e1–e25. doi:10.1093/cid/cis803.
80. Bémer P., Léger J., Tandé D., Plouzeau C., Valentin A.S., Jolivet-Gougeon A., Lemarié C., Kempf M., Héry-Arnaud G., Bret L., et al. How many samples and how many culture media to diagnose a prosthetic joint infection: A clinical and microbiological prospective multicenter study. *J. Clin. Microbiol.* 2016;54:385–391. doi:10.1128/JCM.02497-15.
81. M. McNally, R. Sousa, M. Wouthuyzen Bakker, A. F. Chen, A. Soriano, H. C. Vogely, M. Clauss, C. A. Higuera, R. Trebše The EBJIS definition of periprosthetic joint infection *Bone Joint J* 2021;103-B(1):18–25
82. Athanasou NA, Pandey R, de Steiger R, Crook D, Smith PM. Diagnosis of infection by frozen section during revision arthroplasty. *J Bone Joint Surg Br* 1995; 77:28-33.
83. Tsaras G, Maduka-Ezeh A, Inwards CY, Mabry T, Erwin PJ, Murad MH et al. Utility of intraoperative frozen section histopathology in the diagnosis of periprosthetic joint infection: a systematic review and meta-analysis. *J Bone Joint Surg Am* 2012; 94:1700-11.
84. Veit Krenn Giorgio Perino *Histological Diagnosis of Implant-Associated Pathologies Clinical Management of Joint Arthroplasty* ISBN 978-3-662-54203-3 ISBN 978-3-662-54204-0 (eBook) DOI 10.1007/978-3-662-54204-0 © Springer-Verlag GmbH Germany 2017
85. В.В. Долгов, И.П. Шабалова, И.И. Миронова Выпотные жидкости. Лабораторное исследование, 2006г.
86. Гузюкина С. А., Москаленко А. А., Овсянкин А. В. Патент RU 2815255 С1 Способ подсчета клеточного состава синовиальной жидкости на автоматических анализаторах с модулем биологических жидкостей после обработки гиалуронидазой 2024-03-12
87. Воеводская Л.Ю., Тихонский Н.Д., Золовкина А.Г., Коваленко Е.И., Струцкая О.С., Кимайкина О.В., Торюкова Т.В., Калина Е.В., Буйнова Н.В. Анализ использования данных популяции лейкоцитов (CPD) синовиальной жидкости в диагностике перипротезной инфекции. В книге: Материалы научно-практических конференций в рамках 10-го российского конгресса лабораторной медицины 2024 г. Сборник тезисов. Москва, 2024. С. 65-66.]
88. Сугиути Х., Андо Ю., Манабе М., Накамура Э., Мидзуга Х., Нагата С., Окабэ Х. Измерение общего и дифференциального количества лейкоцитов в синовиальной жидкости с помощью автоматического гематологического анализатора. *J Lab Clin Med.* 2005 Jul;146(1):36-42. doi: 10.1016/j.lab.2005.04.004. PMID: 16025090.

Блок-схема исследования материалов при имплантат-ассоциированных инфекциях



1. Период инкубации всех сред может быть продлен до 14 суток при наличии показаний, а именно: в случаях подозрений на ИАИ, вызванные медленно растущими микроорганизмами, при отсутствии роста в дооперационных посевах при наличии клинической картины ИАИ, в случае если пациент получает antimicrobные препараты.
2. Можно использовать с диском бацитрапина 10 ЕД