



## Микробиологический профиль зоны имплантации в условиях различной механической компрессии чрескожных имплантатов

М.В. Стогов<sup>1</sup>, А.А. Еманов<sup>1</sup>, Н.В. Годовых<sup>1</sup>, Е.Н. Овчинников<sup>1</sup>, Н.В. Тушина<sup>1</sup>,  
В.П. Кузнецов<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России, г. Курган, Россия

<sup>2</sup> ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина» Минобрнауки России, г. Екатеринбург, Россия

**Актуальность.** Инфицирование чрескожных имплантатов у пациентов с ампутациями конечностей является наиболее частым осложнением. **Цель исследования** — оценка микробиологического обсеменения зоны имплантации в зависимости от механической компрессии имплантата в условиях его дополнительной внешней фиксации.

**Материал и методы.** Исследование выполнено на 36 самцах кроликов. Всем животным осуществляли распил большеберцовой кости на границе верхней и средней третей. Затем рассверливали костномозговой канал и устанавливали чрескожный имплантат в культю большеберцовой кости. Сегмент и имплантат фиксировали аппаратом Илизарова. Тридцати животным дополнительно устанавливали компрессионное устройство. Использовали 5 режимов компрессии, соответственно этому было сформировано 6 экспериментальных групп по 6 животных в каждой: группа 1 — без компрессии; группа 2 — компрессия на имплантат силой 0,053 Н/мм<sup>2</sup>; группа 3 — компрессия на имплантат силой 0,105 Н/мм<sup>2</sup>; группа 4 — компрессия на имплантат силой 0,158 Н/мм<sup>2</sup>; группа 5 — компрессия на имплантат силой 0,211 Н/мм<sup>2</sup>; группа 6 — компрессия на имплантат силой 0,263 Н/мм<sup>2</sup>. Удерживающее устройство демонтировали через 6 нед. после имплантации, общий период наблюдения составил 26 нед. Исследовали микрофлору места вхождения имплантата в кожу (интерфейс имплантат/кожа), определяли уровень лейкоцитов в крови и уровень С-реактивного белка в сыворотке крови.

**Результаты.** На 9–10-е сут. после имплантации в месте выхода металлического имплантата у животных разных групп обнаруживались существенные отличия микробного пейзажа. Наибольшее количество штаммов обнаружено у животных групп 1, 5 и 6; наименьшее — в группах 2 и 3. Наиболее часто обнаруживаемые штаммы — *S. saprophyticus* и *Enterococcus* spp. Наибольшее статистически значимое повышение уровня С-реактивного белка в сыворотке крови отмечалось у животных группы 6. Уровень лейкоцитов у животных всех групп статистически значимо не изменялся относительно дооперационных значений. У животных с лучшей остеоинтеграцией (в группах 2 и 3 не было случаев выпадения имплантатов) наблюдалось минимальное число растущих штаммов.

**Заключение.** Микробиологический профиль зоны имплантации в условиях различной механической компрессии чрескожных имплантатов изменяется в зависимости от величины нагрузок. Применение нагрузок в пределах 0,053–0,105 Н/мм<sup>2</sup> лучше сказывается на приживаемости имплантатов и обсемененности зоны имплантации, чем отсутствие компрессии.

**Ключевые слова:** протезирование, остеоинтеграция, имплантат, микробиологическое обсеменение, компрессия, аппарат Илизарова.

Стогов М.В., Еманов А.А., Годовых Н.В., Овчинников Е.Н., Тушина Н.В., Кузнецов В.П. Микробиологический профиль зоны имплантации в условиях различной механической компрессии чрескожных имплантатов. *Травматология и ортопедия России*. <https://doi.org/10.17816/2311-2905-1725>.

Стогов Максим Валерьевич; e-mail: stogo\_off@list.ru

Рукопись получена: 13.01.2022. Рукопись одобрена: 10.03.2022. Статья опубликована онлайн: 30.03.2022.

© Стогов М.В., Еманов А.А., Годовых Н.В., Овчинников Е.Н., Тушина Н.В., Кузнецов В.П., 2022



## Microbiological Profile of the Implantation Zone under Different Mechanical Compression of Percutaneous Implants

Maksim V. Stogov<sup>1</sup>, Andrey A. Emanov<sup>1</sup>, Natalia V. Godovykh<sup>1</sup>, Evgenyi N. Ovchinnikov<sup>1</sup>, Natalia V. Tushina<sup>1</sup>, Viktor P. Kuznetsov<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> National Ilizarov Medical Research Centre for Traumatology and Ortopaedics, Kurgan, Russia

<sup>2</sup> Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin, Ekaterinburg, Russia

**Background.** Infection of percutaneous implants in patients with limb amputation is the most common complication.

**Aim of the study** — evaluation of the microflora in the implantation zone depending on the mechanical compression of the implant in conditions of its additional external fixation.

**Methods.** The study was performed on 36 male rabbits. The tibia of all the rabbits was sawn at the border of the upper and middle parts. The medullary canal was reamed and a percutaneous implant was placed in the tibial stump. The segment and the implant were fixed with an Ilizarov apparatus. An additional compression device was installed in 30 animals. We used 5 compression modes, accordingly, 6 experimental groups were formed, 6 animals in each: group 1 — without compression, group 2 — compression on the implant with force of 0.053 N/mm<sup>2</sup>, group 3 — compression on the implant with force of 0.105 N/mm<sup>2</sup>, group 4 — compression on the implant with force of 0.158 N/mm<sup>2</sup>, group 5 — compression on the implant with force of 0.211 N/mm<sup>2</sup>, group 6 — compression on the implant with force of 0.263 N/mm<sup>2</sup>. The restraint was removed 6 weeks after implantation for a total follow-up of 26 weeks. The microflora of the place where the implant enters the skin (the implant / skin interface) was investigated, the level of blood leukocytes and the level of C-reactive protein in blood serum were determined.

**Results.** On days 9-10 after implantation, significant differences in the microbial landscape were found at the site of the exit of the metal implant in animals of different groups. The largest number of strains was found in animals of groups 1, 5 and 6, the smallest in groups 2 and 3. The most frequently detected strains: *S. saprophyticus* and *Enterococcus* spp. It was found that the greatest statistically significant increase in the level of CRP in the blood serum was observed in animals of group 6. The level of leukocytes in animals of all groups did not change statistically significantly relative to preoperative values. Animals with better osseointegration (groups 2 and 3 — no cases of implant loss) showed a minimal number of growing strains.

**Conclusion.** The microbiological profile of the implantation zone of percutaneous implants changes depending on the amount of mechanical compression. The optimal mode is 0.053-0.105 N/mm<sup>2</sup>.

**Keywords:** prosthetics, osseointegration, implant, microflora, compression, Ilizarov apparatus.

---

**Cite as:** Stogov M.V., Emanov A.A., Godovykh E.N., Ovchinnikov E.N., Tushina N.V., Kuznetsov V.P. [Microbiological Profile of the Implantation Zone under Different Mechanical Compression of Percutaneous Implants]. *Travmatologiya i ortopediya Rossii* [Traumatology and Orthopedics of Russia]. (In Russian). <https://doi.org/10.17816/2311-2905-1725>.

✉ Maksim V. Stogov; e-mail: [stogo\\_off@list.ru](mailto:stogo_off@list.ru)

Submitted: 13.01.2022. Accepted: 10.03.2022. Published Online: 30.03.2022.

© Stogov M.V., Emanov A.A., Godovykh E.N., Ovchinnikov E.N., Tushina N.V., Kuznetsov V.P., 2022

## ВВЕДЕНИЕ

В последнее время широкое клиническое применение у пациентов с ампутациями конечностей находит технология остеоинтеграции, когда интегрируемый в кость чрескожный имплантат обеспечивает прямое механическое соединение между костью и внешним протезом [1]. Опыт клинического применения данной технологии растет [2, 3, 4, 5]. При этом наиболее частыми осложнениями являются нестабильность имплантата и его инфицирование [6, 7, 8].

Комплексное решение этих проблем многими авторами видится в основном в совершенствовании характеристик самого имплантата — прежде всего в модификации поверхности с целью улучшения его биосовместимости и обеспечения антибактериальных характеристик [9, 10, 11, 12]. Определенным решением этих проблем может являться совершенствование самой процедуры имплантации, в частности за счет перехода с двухэтапной технологии, которая к настоящему времени является наиболее признанной [13], на одноэтапную, разработка которой началась недавно [14]. В этом направлении нами разработана технология одноэтапной имплантации с дополнительной фиксацией имплантата аппаратом внешней фиксации и возможностью осуществлять компрессию (патент на полезную модель № 185647, патент на изобретение № 2631631).

**Цель исследования** — оценить микробиологическое обсеменение зоны имплантации в зависимости от механической компрессии имплантата в условиях его дополнительной внешней фиксации.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

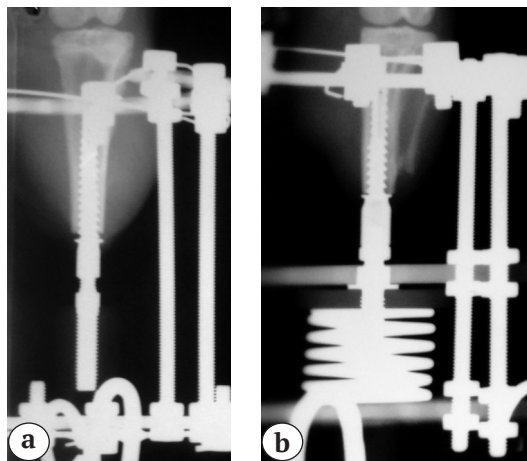
Эксперимент проводили на 36 самцах кроликов породы шиншилла в возрасте от 6 до 11 мес., средний вес  $3,6 \pm 0,4$  кг. Животные поступали из питомника. Микробиологический статус — конвенциональные животные.

Исследование выполнено в соответствии с ГОСТ Р ИСО 10993-1-2011; ГОСТ 33215-2014; ГОСТ 33216-2014.

Всем кроликам в операционной осуществляли распил большеберцовой кости на границе верхней и средней трети с помощью пилы Джигли. После этого рассверливали костномозговой канал до 4,0 или 4,5 мм, вкручивали имплантат (патент РФ № 152558) диаметром 4,5 или 5,0 мм соответственно в культю большеберцовой кости (в зависимости от диаметра костномозгового канала). Мягкие ткани послойно ушивали. В кожном лоскуте производили разрез для выведения наружной части имплантата и формировали культю. Далее монтировали аппарат Илизарова. Для этого проводили спицы под углом  $90^\circ$  через проксимальный

отдел большеберцовой кости и дистальную часть аббатмента, которые были с упорной площадкой. Далее на кость и протез устанавливали компрессионное устройство (патент № 2631631) (30 кроликов). Использовали 5 режимов компрессии.

Всего было сформировано 6 экспериментальных групп по 6 кроликов в каждой: группа 1 — без компрессии; группа 2 — компрессия на имплантат силой  $0,053 \text{ Н/мм}^2$ ; группа 3 — компрессия на имплантат силой  $0,105 \text{ Н/мм}^2$ ; группа 4 — компрессия на имплантат силой  $0,158 \text{ Н/мм}^2$ ; группа 5 — компрессия на имплантат силой  $0,211 \text{ Н/мм}^2$ ;



**Рис. 1.** Рентгенограммы после операции. Имплантат в большеберцовой кости: а — без компрессионного устройства (группа 1); б — с компрессионным устройством

**Fig. 1.** Postoperative X-rays. Tibial implant: a — without compression device (group 1); b — with compression device

группа 6 — компрессия на имплантат силой  $0,263 \text{ Н/мм}^2$ . Перед операцией животные были распределены по группам в случайном порядке.

## Послеоперационное наблюдение и содержание животных

Удерживающее устройство демонтировали через 6 нед. после имплантации. Общий период наблюдения составил 26 нед. В первые трое суток всем животным назначали антибиотики (энроксил  $5 \text{ мг/кг}$ ), дополнительно в первые 5 дней после операции через отверстие в имплантате проводили антисептическую обработку 1% раствором хлоргексидина в объеме 3 мл. Обработку раны проводили 0,05% раствором хлоргексидина в течение 10 дней. Места выхода спиц удерживающего устройства обрабатывали 3% раствором перекиси водорода в течение 10–14 дней.

В ходе исследования животные содержались в специализированном виварии исследовательского центра. Кроликов содержали в клетках по

одному животному. Клетки были оборудованы емкостями для корма и воды. Подстил — опилки хвойных пород деревьев. Влажную уборку клеток осуществляли ежедневно. Корм давали раз в день, питьевую воду — без ограничений. Перед началом эксперимента животные проходили карантин в течение 21 сут.

Плановую эвтаназию животных осуществляли через 26 нед. после имплантации путем введения многократно превышенной дозы барбитуратов. В случае выпадения имплантата животных выводили из эксперимента внепланово, сразу после обнаружения выпадения.

### Оценка результатов

Оценку приживаемости имплантата оценивали по отсутствию его выпадения на конечном сроке наблюдения — 26-я нед. после имплантации. Осуществляли рентгенологический контроль на сроках 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 26 нед. имплантации. После снятия компрессионного устройства ежедневно выполняли клиническую пробу — оценивали подвижность имплантата.

Лабораторные исследования включали бактериологическое исследование места вхождения имплантата в кожу (интерфейс имплантат/кожа), определение лейкоцитов в крови и С-реактивного белка (СРБ) в сыворотке крови на сроках эксперимента.

Пробы для микробиологического исследования отбирались из ран интраоперационно с соблюдением правил асептики и на 9–10-е сут. после установки аппарата из зоны вхождения имплантата в кожу. Отобранные образцы немедленно доставляли в лабораторию. Для выделения аэробных и факультативно-анаэробных бактерий посев производили на следующие питательные среды: питательный агар, содержащий 5% крови; желточно-солевой агар; среда Левина; среда Сабуро. Посевы инкубировали при температуре 37°C в течение 24–48 ч. Для определения степени обсемененности посев делили на секторы. После инкубирования подсчитывали количество колоний каждого типа в секторах, результат выражали через десятичный логарифм величины выросших колоний (КОЕ/мл). Родовую и видовую идентификацию выделенных бактериальных культур проводили традиционным методом на основании изучения их тинкториальных, культуральных и биохимических свойств. Антибиотикочувствительность выделенных штаммов определяли диско-диффузионным методом на среде Мюллера–Хинтона. Выбор тестируемых препаратов был проведен согласно клиническим рекомендациям\*. В набор тестируемых препаратов входили: для грамположительных микроорга-

низмов — цефокситин, гентамицин, клиндамицин, эритромицин, ципрофлоксацин, ванкомицин; для *Enterobacteriaceae* — ампициллин, амоксициллин/клауланат, цефтазидим, цефтриаксон, меропенем, ципрофлоксацин, гентамицин; для неферментирующих грамотрицательных бактерий — цефепим, имипенем, меропенем, ципрофлоксацин, амикацин, гентамицин, цефтазидим.

Лейкоциты определяли на автоматическом гематологическом анализаторе ProCyte Dx (IDEXX Lab., Нидерланды), концентрацию СРБ — на автоматическом биохимическом анализаторе Hitachi/ВМ 902 (F. Hoffmann-La Roche Ltd., Италия), используя наборы реагентов фирмы Vital Diagnostic (Россия).

### Статистический анализ

Результаты количественных признаков представлены в виде медианы, 1–3 квартилей (Me; Q1–Q3). Нормальность выборок определяли с помощью критерия Шапиро–Уилка. Процедуру статистической оценки значимости отличий показателей на сроках эксперимента с дооперационными значениями проводили с использованием W-критерия Вилкоксона. Достоверность межгрупповых различий оценивали с помощью непараметрического критерия Краскела–Уоллиса. Минимальный уровень значимости (*p*) принимали равным 0,05. Статистический анализ проводили с использованием надстройки AtteStat 13.1 к электронным таблицам Excel.

### РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты исследования показали, что в раневых пробах, взятых интраоперационно, обнаружен единичный рост микроорганизмов (табл. 1). У 4 животных групп 1, 4, 5, 6 в пробах были обнаружены единичные клетки бактерий, которые являлись представителями нормальной микрофлоры кожи животных, принадлежащих к двум таксонам: *Staphylococcus epidermidis* (*n* = 2) и *Enterococcus* spp. (*n* = 2). Микробная обсемененность для этих штаммов составляла менее 10<sup>5</sup> КОЕ/мл.

На 9–10-е сут. после имплантации на месте выхода металлического имплантата у животных разных групп обнаруживались существенные отличия микробного пейзажа (табл. 2). Наибольшее количество штаммов обнаружено у животных групп 1, 5 и 6, наименьшее — в группах 2 и 3. Наиболее часто встречаемые штаммы: *S. saprophyticus* и *Enterococcus* spp. При анализе антибиотикограмм бактерий, выделенных из ран экспериментальных животных, установлено преобладание количества устойчивых изолятов грамположительных микро-

\* Клинические рекомендации. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам. Версия 2021 — 01:225.

организмов. У животных группы 6 на 9–10-е сут. после имплантации по сравнению с остальными группами микробный пейзаж был наиболее специфичен. Здесь присутствовали 4 штамма, не обнаруживаемые у животных других групп: *S. warneri*,

*S. haemolyticus*, *Enterobacter* spp., *Acinetobacter* spp. Такая картина говорила о том, что высокие значения компрессии, так же как и ее отсутствие, были ассоциированы с ростом инфицирования зоны выхода имплантата.

Таблица 1

**Видовой состав бактерий, выделенных из ран животных интраоперационно**

Спектр выделенных бактерий	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4	Группа 5	Группа 6
<i>S. epidermidis</i> (+)	–	–	–	<10 <sup>5</sup>	–	<10 <sup>5</sup>
<i>Enterococcus</i> spp. (+)	<10 <sup>5</sup>	–	–	–	<10 <sup>5</sup>	–
Итого						
Кол-во штаммов	1	0	0	1	1	1
Кол-во животных	1	0	0	1	1	1

(+) – грамположительные бактерии.

Таблица 2

**Видовой состав бактерий, выделенных из ран животных на 9–10-е сут. после имплантации**

Спектр выделенных бактерий	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4	Группа 5	Группа 6
<i>S. aureus</i> (+)	4 (10 <sup>5</sup> )*	–	–	–	2 (10 <sup>5</sup> )	1 (10 <sup>6</sup> )
<i>S. saprophyticus</i> (+)	3 (10 <sup>5</sup> )	1(10 <sup>5</sup> )	2(10 <sup>5</sup> )	–	1 (10 <sup>5</sup> )	1 (10 <sup>6</sup> )
<i>S. epidermidis</i> (+)	2** (10 <sup>5</sup> )	–	–	–	2** (10 <sup>5</sup> )	1** (10 <sup>6</sup> )
<i>S. warneri</i> (+)	–	–	–	–	–	4(10 <sup>4</sup> )
<i>S. haemolyticus</i> (+)	–	–	–	–	–	1(10 <sup>6</sup> )
<i>Streptococcus</i> spp. (+)	1 (10 <sup>4</sup> )	–	–	–	1 (10 <sup>4</sup> )	–
<i>Corynebacterium</i> spp. (+)	1 (10 <sup>5</sup> )	–	–	–	1 (10 <sup>5</sup> )	–
<i>Enterococcus</i> spp. (+)	2 (10 <sup>5</sup> )	–	–	2 (10 <sup>4</sup> )	1 (10 <sup>5</sup> )	2 (10 <sup>6</sup> )
<i>Enterobacter</i> spp. (-)	–	–	–	–	–	1 (10 <sup>6</sup> )
<i>E. cloacae</i> (-)	1 (10 <sup>6</sup> )	–	–	1 (10 <sup>5</sup> )	1 (10 <sup>6</sup> )	–
<i>Acinetobacter</i> spp. (-)	–	–	–	–	–	1 (10 <sup>6</sup> )
<i>P. aeruginosa</i> (-)	–	–	–	1 (10 <sup>6</sup> )	–	1 (10 <sup>5</sup> )
<i>Proteus mirabilis</i> (-)	1 (10 <sup>4</sup> )	–	–	–	1 (10 <sup>4</sup> )	–
<i>Citrobacter</i> spp.(-)	1 (10 <sup>6</sup> )	–	–	–	1 (10 <sup>6</sup> )	–
<i>E. coli</i> (-)	1 (10 <sup>7</sup> )	1 (10 <sup>4</sup> )	–	–	1 (10 <sup>7</sup> )	–
Итого						
Кол-во штаммов	10	2	1	3	10	9
Кол-во животных	4	1	2	2	4	5
Выпадение имплантатов	1	0	0	1	2	4
Гнойное воспаление тканей вокруг имплантата	1	0	0	0	1	1

\* – здесь и далее 4 – количество животных, у которых обнаружен штамм; 10<sup>5</sup> – среднее значение бактериальной обсемененности для этого штамма; \*\* – наличие метициллинорезистентных *S. epidermidis* (MRSE) штаммов; (+), (-) – грамположительные и грамотрицательные бактерии соответственно.

Определение антибиотикочувствительности показало, что среди штаммов *Staphylococcus* spp. обнаруживались штаммы, резистентные к действию β-лактамов препаратов. В частности, в нашем исследовании были выявлены метициллинорезистентные *S. epidermidis*, устойчивые к цефокситину, а следовательно, и ко всем антибиотикам, относящимся к группе β-лактамов (группы 1, 5, 6). Выраженной активностью в отношении стафилококков обладали ципрофлокс-

сацин и клиндамицин. Штаммы *Enterococcus* spp. были чувствительны к действию гентамицина и ципрофлоксацина. Ванкомицин-резистентных энтерококков не обнаружено. Максимальную активность в отношении представителей сем. *Enterobacteriaceae* проявляли цефтриаксон и гентамицин. В отношении неферментирующих грамотрицательных бактерий наиболее эффективным препаратом был ципрофлоксацин.

У двух животных группы 5 и четырех животных группы 6 сразу после снятия удерживающего устройства отмечались признаки нестабильности (расшатывание) имплантата, на 3–4-е сут. имплантат выпадал. У одного животного группы 1 и у одного в группе 4 признаки нестабильности зафиксированы через 8–9 дней после снятия удерживающего устройства, выпадение имплантатов в этих случаях наблюдалось на 13–14-е сут. после снятия удерживающего устройства.

Нами был отдельно проанализирован микробиоценоз ран животных после выпадения имплантата (8 случаев по всем группам). Микробный пейзаж проб, взятых у этих животных интраоперационно, был схож с другими экспериментальными группами. После выпадения имплантата в видовом составе присутствовали грамотрицательные микроорганизмы: *P. mirabilis*, *E. cloacae*, *Citrobacter* spp., *E. coli*, микробная обсемененность составила 10<sup>6</sup> КОЕ/мл. Гнойного отделяемого при выпадении имплантата выявлено не было.

Обнаружено, что наибольшее статистически значимое повышение уровня СРБ в сыворотке крови отмечалось у животных группы 6 (табл. 3). Для других групп очевидной зависимости между величиной компрессии с нарастанием СРБ не отмечено. Это наблюдение, вероятно, говорит о том, что развитие системного инфицирования у животных групп 1–5 не происходило, о чем свидетельствовало и то обстоятельство, что уровень лейкоцитов у животных всех групп статистически значимо относительно дооперационных значений не изменялся.

Тем не менее по одному животному из групп 1, 5, 6 на 12–16-е сут. после имплантации демонстрировали острое гнойное воспаление мягких тканей вокруг имплантата. Гнойное воспаление купировали антибиотикотерапией в течение 7–10 дней (цефазолин 0,05 г/кг). Кроме того, у 6 кроликов (2 из группы 1 и по одному в группах 2, 4, 5, 6) было отмечено воспаление мягких тканей вокруг спиц аппарата внешней фиксации, которое купировалось обработкой антисептическими средствами.

Таблица 3

**Динамика С-реактивного белка (мг/л) в сыворотке крови у кроликов на сроках эксперимента, Ме (Q1–Q3)**

Срок, нед.	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4	Группа 5	Группа 6
0	0 (0–2)	0 (0–1)	0 (0–1)	0 (0–4)	0 (0–3)	0 (0–2)
1	15* (9–20)	7* (4–11)	13* (6–22)	20* (17–30)	12* (5–18)	<b>33* (22–38)</b>
2	21* (10–28)	11* (8–22)	10* (4–17)	12* (5–16)	12* (9–14)	<b>36* (23–44)</b>
6	19(9–24)	2 (0–17)	2 (0–3)	18* (9–23)	9* (7–19)	8* (6–10)
20	7* (5–11)	7* (4–15)	10* (6–19)	10* (5–24)	11* (7–14)	8* (7–12)
26	7* (4–10)	11* (7–30)	4* (2–21)	18* (6–27)	8* (7–10)	5* (4–6)

\* — значения, статистически значимо отличающиеся от дооперационных (срок 0) значений при  $p < 0,05$ ; жирным шрифтом выделены статистически значимые различия между группами ( $p < 0,05$ ).

### ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное исследование показало, что рост микробной флоры вокруг чрескожного имплантата в разной степени обнаруживался у животных всех экспериментальных групп. Эти данные вполне согласуются с клиническими наблюдениями, в которых рост микробной флоры вокруг чрескожных имплантатов, несмотря на антимикробные мероприятия, встречается более чем у половины пациентов [8, 15].

Отмеченный нами видовой состав спектра микроорганизмов зоны имплантации свидетельствует о том, что пейзаж формировался за счет роста условно-патогенной микрофлоры, что после оперативного вмешательства отмечается и в клинике [16]. Хотя наблюдаемый рост числа бактерий на коже возле имплантата не эквивалентен клини-

ческому проявлению инфекции (в нашем случае рост обсемененности обнаружен у 18 животных из 30, при этом гнойно-воспалительный процесс развивался у 3 животных), высокая частота микробной колонизации, обеспечивая высокую бактериальную нагрузку, потенциально может провоцировать развитие не только поверхностного инфекционного процесса, но и глубокого инфицирования [17]. Последнему способствует и формирование на поверхности имплантата бактериальных биопленок, которое обеспечивает диссеминацию патогенов в мягкие ткани и кость [18, 19, 20].

В нашем исследовании мы не наблюдали у экспериментальных животных значимых признаков системной реакции, связанных с выходом бактерий в кровь, о чем свидетельствовал относительно невысокий уровень СРБ, существенный рост кото-

рого является маркером наличия бактерий в крови [21]. Все процессы локализовались местно возле зоны контакта, а отсутствие случаев глубокого инфицирования у животных свидетельствовало в пользу того, что сам имплантат не был источником/воротами проникновения микроорганизмов извне. В клинической практике, действительно, развитие глубокой инфекции, включая и остеомиелит, у пациентов с чрескожными имплантатами развивается редко [22, 23].

Сопоставление этих данных позволяет заключить, что наличие или отсутствие компрессии имплантата не связано с развитием глубокого инфицирования. Однако ассоциация механической компрессии имплантата с ростом микробиологического обсеменения на интерфейсе имплантат-кожа очевидна. В частности, из наших результатов следует, что и отсутствие компрессии, и компрессия имплантата в пределах 0,158–0,211 Н/мм<sup>2</sup> сопровождалась значительным ростом обсемененности зоны контакта. Минимальные же из изученных компрессионных нагрузок в пределах 0,053–0,105 Н/мм<sup>2</sup> сопровождалась и минимальной обсемененностью.

Если причины изменений обсемененности зоны имплантации и на поверхности имплантата описаны и находят свое подтверждение в литературных источниках [24], то обнаруженная нами взаимосвязь между величиной компрессии имплантата и обсемененностью интерфейса имплантат-кожа не была описана ранее.

Объяснение этому феномену можно найти в концепции, описанной А.Г. Грстина [25]. Согласно этой концепции, при имплантации в живые ткани на поверхности имплантата происходит конкуренция между бактериями и клетками тканей за адгезию. При этом если первыми поверхность изделия колонизируют остеобласты, то происходит интеграция имплантата, если тканевые клетки не в состоянии вытеснить бактериальные колонии, то это приводит к снижению интеграции имплантата и развитию инфекции. В дальнейшем применимость этой концепции была подтверждена рядом работ. В частности, на экспериментальных моделях было подтверждено, что ранняя остеоинтеграция имплантата в ткань предотвращает прикрепление бактерий и, следовательно, образование биопленок [25, 26, 27, 28]. Дополняет эту концепцию и обнаруженная возможность прямого взаимодействия остеобластов с микробной флорой [29, 30]. Следовательно, процесс адгезии

между остеобластами и микробной флорой носит конкурентный характер, определяющий не только дальнейшую остеоинтеграцию, но и возможность развития инфицирования имплантата.

Данная концепция дает возможность объяснить и наши результаты. Именно у животных с лучшей остеоинтеграцией в группах 2 и 3 не было случаев выпадения имплантатов) наблюдалось минимальное число растущих штаммов на интерфейсе имплантат-кожа. Положительные эффекты компрессии в части стимулирования остеогенеза достаточно подробно описаны в литературе [31, 32, 33]. Опираясь на эти данные, можно предполагать, что минимальная компрессия чрескожных имплантатов в условиях изученной нами экспериментальной модели стимулирует дифференциацию остеобластов, что создает для них конкурентное преимущество в адгезии поверхности имплантатов. Это не только способствует лучшей интеграции изделия, но и предотвращает образование биопленок и существенный рост микробиологического обсеменения в зоне имплантации.

Важно также отметить, что технология имплантации, включающая дополнительную фиксацию имплантата аппаратом внешней фиксации, предполагает и наличие новой нежелательной реакции — воспалительной реакции возле спиц удерживающего устройства. Это наиболее часто встречающаяся реакция при применении аппарата Илизарова, способы ее купирования описаны и не представляют сложностей [34].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, выполненное исследование показало, что микробиологический профиль зоны имплантации в условиях различной механической компрессии чрескожных имплантатов изменяется в зависимости от величины нагрузок. Можно выделить оптимальные режимы механической компрессии чрескожных имплантатов в условиях их дополнительной фиксации. Обнаружение связи между приживаемостью имплантатов и ростом микробиологической обсемененности позволяет обратить внимание на то, что применение нагрузок в пределах 0,053–0,105 Н/мм<sup>2</sup> лучше сказывается на приживаемости имплантатов и обсемененности зоны имплантации, чем отсутствие компрессии. Последнее наблюдение говорит в пользу того, что интеграция чрескожных имплантатов эффективнее в присутствии определенного уровня компрессии.

**ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ****Заявленный вклад авторов**

*Стогов М.В.* — разработка концепции и дизайна исследования; написание текста статьи.

*Еманов А.А.* — разработка концепции и дизайна исследования; сбор, анализ и интерпретация данных.

*Годовых Н.В.* — сбор, анализ и интерпретация данных; редактирование текста.

*Овчинников Е.Н.* — разработка концепции и дизайна исследования; сбор, анализ и интерпретация данных.

*Тушина Н.В.* — сбор, анализ и интерпретация данных; редактирование текста.

*Кузнецов В.П.* — разработка концепции и дизайна исследования.

Все авторы прочли и одобрили финальную версию рукописи статьи. Все авторы согласны нести ответственность за все аспекты работы, чтобы обеспечить надлежащее рассмотрение и решение всех возможных вопросов, связанных с корректностью и надежностью любой части работы.

**Источник финансирования.** Государственное бюджетное финансирование.

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

**Этическая экспертиза.** До начала исследования было получено одобрение локального этического комитета. Исследование проведено при соблюдении принципов гуманного обращения с лабораторными животными в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей и директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях.

**Информированное согласие.** Не требуется.

**ЛИТЕРАТУРА [REFERENCES]**

- Zaid M.B., O'Donnell R.J., Potter B.K., Forsberg J.A. Orthopaedic osseointegration: state of the art. *J Am Acad Orthop Surg.* 2019;27(22):e977-985. doi: 10.5435/JAAOS-D-19-00016.
- Корюков А.А., Губин А.В., Кузнецов В.П., Борзунов Д.Ю., Антипов А.В., Овчинников Е.Н. и др. Возможности улучшения функции и косметики культи пальцев кисти методом оссеоинтеграции. *Гений ортопедии.* 2016;(4):22-28. doi: 10.18019/1028-4427-2016-4-22-28.
- Koriukov A.A., Gubin A.V., Kuznetsov V.P., Borzunov D.Iu., Antipov A.V., Ovchinnikov E.N. et al. [Possibilities of improving the function and esthetic appearance of finger stumps using the method of osseointegration]. *Genij Ortopedii.* 2016;(4):22-28. (In Russian). doi: 10.18019/1028-4427-2016-4-22-28.
- Branemark R., Berlin O., Hagberg K., Bergh P., Gunterberg B., Rydevik B. A novel osseointegrated percutaneous prosthetic system for the treatment of patients with transfemoral amputation: a prospective study of 51 patients. *Bone Joint J.* 2014;96-B(1):106-113. doi: 10.1302/0301-620X.96B1.31905.
- Hoyt B.W., Walsh S.A., Forsberg J.A. Osseointegrated prostheses for the rehabilitation of amputees (OPRA): results and clinical perspective. *Expert Rev Med Devices.* 2020;17(1):17-25. doi: 10.1080/17434440.2020.1704623.
- Reif T.J., Khabyeh-Hasbani N., Jaime K.M., Sheridan G.A., Otterburn D.M., Rozbruch S.R. Early experience with femoral and tibial bone-anchored osseointegration prostheses. *JBJS Open Access.* 2021;6(3):e21.00072. doi: 10.2106/JBJS.OA.21.00072.
- Diaz Balzani L., Ciuffreda M., Vadalà G., Di Pino G., Papalia R., Denaro V. Osseointegration for lower and upper-limb amputation: a systematic review of clinical outcomes and complications. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2020;34(4 Suppl. 3):315-326.
- Hebert J.S., Rehani M., Stiegelmar R. Osseointegration for lower-limb amputation: a systematic review of clinical outcomes. *JBJS Rev.* 2017;5(10):e10. doi: 10.2106/JBJS.RVW.17.00037.
- Ontario Health (Quality). Osseointegrated prosthetic implants for people with lower-limb amputation: a health technology assessment. *Ont Health Technol Assess Ser.* 2019;19(7):1-126. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6939984/>.

**DISCLAIMERS****Author contribution**

*Stogov M.V.* — research concept and design; writing the text of an article.

*Emanov A.A.* — research concept and design; collection, analysis or interpretation of data.

*Godovykh N.V.* — collection, analysis and interpretation of data; editing the text.

*Ovchinnikov E.N.* — research concept and design; collection, analysis and interpretation of data.

*Tushina N.V.* — collection, analysis and interpretation of data; editing the text.

*Kuznetsov V.P.* — research concept and design.

All authors have read and approved the final version of the manuscript of the article. All authors agree to bear responsibility for all aspects of the study to ensure proper consideration and resolution of all possible issues related to the correctness and reliability of any part of the work.

**Funding source.** State budgetary funding.

**Competing interests.** The authors declare that they have no competing interests.

**Ethics approval.** Approval from the local ethics committee was obtained before the start of the study. The study was conducted in compliance with the principles of humane treatment of laboratory animals in accordance with the requirements of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experiments and other Scientific Purposes and Directive 2010/63/EU of the European Parliament and the Council of the European Union of September 22, 2010 on the protection of animals used for scientific purposes.

**Consent for publication.** Not required.



9. Calabrese G., Franco D., Petralia S., Monforte F., Condorelli G.G., Squarzone S. et al. Dual-functional nano-functionalized titanium scaffolds to inhibit bacterial growth and enhance osteointegration. *Nanomaterials (Basel)*. 2021;11(10):2634. doi: 10.3390/nano11102634.
10. Fischer N.G., Chen X., Astleford-Hopper K., He J., Mullikin A.F., Mansky K.C. et al. Antimicrobial and enzyme-responsive multi-peptide surfaces for bone-anchored devices. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2021;125:112108. doi: 10.1016/j.msec.2021.112108.
11. Song Y.W., Paeng K.W., Kim M.J., Cha J.K., Jung U.W., Jung R.E. et al. Secondary stability achieved in dental implants with a calcium-coated sandblasted, large-grit, acid-etched (SLA) surface and a chemically modified SLA surface placed without mechanical engagement: A preclinical study. *Clin Oral Implants Res*. 2021;32(12):1474-1483. doi: 10.1111/clr.13848.
12. Wang X., Ning B., Pei X. Tantalum and its derivatives in orthopedic and dental implants: osteogenesis and antibacterial properties. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2021;208:112055. doi: 10.1016/j.colsurfb.2021.112055.
13. Li Y., Branemark R. Osseointegrated prostheses for rehabilitation following amputation: the pioneering Swedish model. *Unfallchirurg*. 2017;120(4):285-292. doi: 10.1007/s00113-017-0331-4.
14. Thesleff A., Branemark R., Hakansson B., Ortiz-Catalan M. Biomechanical characterisation of bone-anchored implant systems for amputation limb prostheses: a systematic review. *Ann Biomed Eng*. 2018;46(3):377-391. doi: 10.1007/s10439-017-1976-4.
15. Branemark R.P., Hagberg K., Kulbacka-Ortiz K., Berlin O., Rydevik B. Osseointegrated percutaneous prosthetic system for the treatment of patients with transfemoral amputation: a prospective five-year follow-up of patient-reported outcomes and complications. *J Am Acad Orthop Surg*. 2019;27(16):e743-e751. doi: 10.5435/JAAOS-D-17-00621.
16. Meric G., Mageiros L., Pensar J., Laabei M., Yahara K., Pascoe B. et al. Disease-associated genotypes of the commensal skin bacterium *Staphylococcus epidermidis*. *Nature Communications*. 2018;9(1):5034. doi: 10.1038/s41467-018-07368-7.
17. Zaborowska M., Tillander J., Branemark R., Hagberg L., Thomsen P., Trobos M. Biofilm formation and antimicrobial susceptibility of staphylococci and enterococci from osteomyelitis associated with percutaneous orthopaedic implants. *J Biomed Mater Res Part B*. 2017;105(8):2630-2640. doi: 10.1002/jbm.b.33803.
18. Tillander J., Hagberg K., Berlin O., Hagberg L., Branemark R. Osteomyelitis risk in patients with transfemoral amputations treated with osseointegration prostheses. *Clin Orthop Relat Res*. 2017;475(12):3100-3108. doi: 10.1007/s11999-017-5507-2.
19. Egert M., Simmering R., Riedel C.U. The association of the skin microbiota with health, immunity, and disease. *Clin Pharmacol Ther*. 2017;102(1):62-69. doi: 10.1002/cpt.698.
20. Dantas T., Padrao J., da Silva M.R., Pinto P., Madeira S. et al. Bacteria co-culture adhesion on different texturized zirconia surfaces. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2021;123:104786. doi: 10.1016/j.jmbbm.2021.104786.
21. Pääkkönen M., Kallio M.J., Kallio P.E., Peltola H. C-reactive protein versus erythrocyte sedimentation rate, white blood cell count and alkaline phosphatase in diagnosing bacteraemia in bone and joint infections. *J Paediatr Child Health*. 2013;49(3):E189-192. doi: 10.1111/jpc.12122.
22. Гаюк В.Д., Ключин Н.М., Бурнашов С.И. Воспаление мягких тканей вокруг чрескостных элементов и спицевой остеомиелит: литературный обзор. *Гений ортопедии*. 2019;25(3):407-412. doi: 10.18019/1028-4427-2019-25-3-407-412.
- Gayuk V.D., Kliushin N.M., Burnashov S.I. [Pin site soft tissue infection and osteomyelitis: literature review]. *Genij Ortopedii*. 2019;25(3):407-412. (In Russian). doi: 10.18019/1028-4427-2019-25-3-407-412.
23. Overmann A.L., Aparicio C., Richards J.T., Mutreja I., Fischer N.G., Wade S.M. et al. Orthopaedic osseointegration: Implantology and future directions. *J Orthop Res*. 2020;38(7):1445-1454. doi: 10.1002/jor.24576.
24. Lenneras M., Tsikandylakis G., Trobos M., Omar O., Vazirisani F., Palmquist A. et al. The clinical, radiological, microbiological, and molecular profile of the skin-penetration site of transfemoral amputees treated with bone-anchored prostheses. *J Biomed Mater Res A*. 2017;105(2):578-589. doi: 10.1002/jbm.a.35935.
25. Gristina A.G. Biomaterial-centered infection: microbial adhesion versus tissue integration. *Science*. 1987;237(4822):1588-1595. doi: 10.1126/science.3629258.
26. Pilz M., Staats K., Tobudic S., Assadian O., Presterl E., Windhager R. et al. Zirconium nitride coating reduced staphylococcus epidermidis biofilm formation on orthopaedic implant surfaces: an in vitro study. *Clin Orthop Relat Res*. 2019;477(2):461-466. doi: 10.1097/CORR.0000000000000568.
27. Rochford E.T., Subbiahdoss G., Moriarty T.F., Poulsson A.H., van der Mei H.C., Busscher H.J. et al. An in vitro investigation of bacteria-osteoblast competition on oxygen plasma-modified PEEK. *J Biomed Mater Res A*. 2014;102(12):4427-4434. doi: 10.1002/jbm.a.35130.
28. Subbiahdoss G., Kuijjer R., Busscher H., van der Mei H. Mammalian cell growth versus biofilm formation on biomaterial surfaces in an in vitro post-operative contamination model. *Microbiology*. 2010;156(Pt 10):3073-3078. doi: 10.1099/mic.0.040378-0.
29. Campoccia D., Testoni F., Ravaoli S., Cangini I., Maso A., Speziale P. et al. Orthopedic implant infections: incompetence of *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus lugdunensis*, and *Enterococcus faecalis* to invade osteoblasts. *J Biomed Mater Res A*. 2016;104(3):788-801. doi: 10.1002/jbm.a.35564.
30. Stracquadanio S., Musso N., Costantino A., Lazzaro L.M., Stefani S., Bongiorno D. *Staphylococcus aureus* internalization in osteoblast cells: mechanisms, interactions and biochemical processes. What did we learn from experimental models? *Pathogens*. 2021;10(2):239. doi: 10.3390/pathogens10020239.
31. Hinton P.V., Rackard S.M., Kennedy O.D. In vivo osteocyte mechanotransduction: recent developments and future directions. *Curr Osteoporos Rep*. 2018;16(6):746-753. doi: 10.1007/s11914-018-0485-1.
32. Maycas M., Esbrit P., Gortázar A.R. Molecular mechanisms in bone mechanotransduction. *Histol Histopathol*. 2017;32(8):751-760. doi: 10.14670/HH-11-858.
33. Somemura S., Kumai T., Yatabe K., Sasaki C., Fujiya H., Niki H. et al. Physiologic mechanical stress directly induces bone formation by activating glucose transporter 1 (GLUT 1) in osteoblasts, inducing signaling via NAD<sup>+</sup>-dependent deacetylase (Sirtuin 1) and Runt-Related Transcription Factor 2 (Runx2). *Int J Mol Sci*. 2021;22(16):9070. doi: 10.3390/ijms22169070.

34. Солдатов Ю.П., Стогов М.В., Овчинников Е.Н., Губин А.В., Городнова Н.В. Аппарат внешней фиксации конструкции Г.А. Илизарова. Оценка клинической эффективности и безопасности (обзор литературы). *Гений ортопедии*. 2019;25(4):588-599. doi: 10.18019/1028-4427-2019-25-4-588-599.
- Soldatov Yu.P., Stogov M.V., Ovchinnikov E.N., Gubin A.V., Gorodnova N.V. [Evaluation of clinical efficacy and safety of the Ilizarov apparatus for external fixation (literature review)]. *Genij Ortopedii*. 2019;25(4):588-599. (In Russian). doi: 10.18019/1028-4427-2019-25-4-588-599.

---

**Сведения об авторах**

✉ *Стогов Максим Валерьевич* — д-р биол. наук  
Адрес: Россия, 640014, г. Курган, ул. М. Ульяновой, 6  
<https://orcid.org/0000-0001-8516-8571>  
e-mail: [stogo\\_off@list.ru](mailto:stogo_off@list.ru)

*Еманов Андрей Александрович* — канд. вет. наук  
<https://orcid.org/0000-0003-2890-3597>  
e-mail: [a\\_eman@list.ru](mailto:a_eman@list.ru)

*Годовых Наталья Викторовна*  
<https://orcid.org/0000-0001-8512-4165>  
e-mail: [natalia\\_nvn@mail.ru](mailto:natalia_nvn@mail.ru)

*Овчинников Евгений Николаевич* — канд. биол. наук  
<https://orcid.org/0000-0002-5595-1706>  
e-mail: [omu00@list.ru](mailto:omu00@list.ru)

*Тушина Наталья Владимировна* — канд. биол. наук  
<https://orcid.org/0000-0002-1322-608X>  
e-mail: [ntushina76@mail.ru](mailto:ntushina76@mail.ru)

*Кузнецов Виктор Павлович* — д-р техн. наук  
<https://orcid.org/0000-0001-8949-6345>  
e-mail: [wpkuzn@mail.ru](mailto:wpkuzn@mail.ru)

---

**Authors' information**

✉ *Maksim V. Stogov* — Dr. Sci. (Biol.)  
Address: 6, M. Ulyanova str., Kurgan, 640014, Russia  
<https://orcid.org/0000-0001-8516-8571>  
e-mail: [stogo\\_off@list.ru](mailto:stogo_off@list.ru)

*Andrey A. Emanov* — Cand. Sci. (Vet.)  
<https://orcid.org/0000-0003-2890-3597>  
e-mail: [a\\_eman@list.ru](mailto:a_eman@list.ru)

*Natalia V. Goodovykh*  
<https://orcid.org/0000-0001-8512-4165>  
e-mail: [natalia\\_nvn@mail.ru](mailto:natalia_nvn@mail.ru)

*Evgenyi N. Ovchinnikov* — Cand. Sci. (Biol.)  
<https://orcid.org/0000-0002-5595-1706>  
e-mail: [omu00@list.ru](mailto:omu00@list.ru)

*Natalia V. Tushina* — Cand. Sci. (Biol.)  
<https://orcid.org/0000-0002-1322-608X>  
e-mail: [ntushina76@mail.ru](mailto:ntushina76@mail.ru)

*Viktor P. Kuznetsov* — Dr. Sci. (Tech.)  
<https://orcid.org/0000-0001-8949-6345>  
e-mail: [wpkuzn@mail.ru](mailto:wpkuzn@mail.ru)