

ИМПЛАНТАТ-АССОЦИИРОВАННЫЕ ИНФЕКЦИИ, СВЯЗАННЫЕ С ПРОБЛЕМОЙ БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЯ

Бузолева Л.С.^{1,3}, Пузь А.В.², Синебрюхов С.Л.², Гнеденков С.В.², Ким А.В.³,
Еськова А.И.¹, Пономарева А.Л.¹

¹ ФГБУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова» СО РАМН, Владивосток;

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт химии Дальневосточного отделения Российской академии наук», Владивосток;

³ Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, e-mail: buzoleva@mail.ru

В обзоре представлены материалы, касающиеся проблем имплантат-ассоциированных инфекций, возникающих в результате возникновения микробных биопленок на поверхностях имплантатов. Показан спектр различных материалов и их покрытий, используемых в имплантационной хирургии, с учетом их совместимости с биологическими тканями и степени совместимости с продуктами возможного износа и определены наиболее перспективные из них. Приведен перечень основных видов имплантатов, заражение которых может привести к имплант-ассоциированным инфекциям. Обсуждена проблема возникновения инфекционных заболеваний в постоперационный период имплантации и приведены известные на сегодняшний день возбудители этих инфекций, лидирующими из которых являются *Staphylococcus aureus* и *S. epidermidis*. Выделены четыре стадии процесса биопленкообразования у бактерий на поверхности имплантатов. В связи с тем что в имплантационной хирургии применяются все новые и новые материалы, необходимы исследования в направлении изучения биопленкообразующих свойств как известных патогенных и условно-патогенных бактерий, так и тех, которые могут являться потенциально опасными в этом отношении, в частности возбудителей, вызывающих генерализованные инфекции.

Ключевые слова: имплантаты, инфекции, микроорганизмы, биопленки.

THE IMPLANT – RELATED INFECTIONS, ASSOCIATED WITH THE PROBLEM OF BIOFILM FORMATION

Buzoleva L.S.^{1,3}, Puz A.V.², Sinebryukhov S.L.², Gnedekov S.V.², Kim A.V.³,
Eskova A.I.¹, Ponomareva A.L.¹

¹ FGBU Research Institute of Epidemiology and Microbiology. n. G.P. Somov SB RAMS, Vladivostok;

² Federal State Institute of Chemistry, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok;

³ Far Eastern Federal University, Vladivostok, e-mail: buzoleva@mail.ru

The review presents the materials related with problems Implant - associated infections arising as a result of microbial biofilms formation on implant surfaces. Showed the spectrum of different materials and coatings used in implant surgery, given their compatibility with biological tissues and the degree of compatibility and possible wear products and determined the most promising ones. We presented a list of the main types of implants, which can lead to the implant-associated infections. We discussed the problem of emergence of infectious diseases after implantation and given currently known pathogens of these infections, the leading of which are *Staphylococcus aureus* and *S. epidermidis*. Obtained four stages of biofilm formation process in bacteria on the surface of the implant. Due to the fact that the implant surgery are used more and more new materials, research is needed in the direction of studying properties bacterial formation as the known pathogenic and opportunistic bacteria, as well as those that can be potentially dangerous in this respect, in particular pathogens that cause generalized infection.

Keywords: implants, infections, microorganisms, biofilms.

Первое десятилетие нового, XXI века было объявлено ВОЗ Всемирной декадой костей и суставов. Это обусловлено постоянным увеличением числа больных среди населения ведущих стран мира, у которых регистрируются заболевания и травматические повреждения костно-суставного аппарата. В связи с увеличением случаев травматизма, количества

посттравматических и постоперационных осложнений увеличилась и потребность в пластическом материале для замещения различных дефектов [20].

В европейских странах число инфекций, вызванных заражением имплантационного устройства, превышает 100 тыс. случаев в год. В США и Западной Европе каждый год фиксируется до 500 тыс. случаев катетер-ассоциированных инфекций (Бережанский, Жевнерев, 2006) [3]. В целом около 5% имплантируемых фиксирующих устройств заражаются. Частота инфицирования после внутренней фиксации закрытых переломов низкая и составляет 0,5-2%, в то время как инфицирование вследствие фиксации открытых переломов может превышать 30% [32].

С конца прошлого столетия в медицине в многочисленных исследованиях стали появляться сообщения о способности бактерий образовывать пленчатые макроструктуры на поверхностях различных медицинских имплантатов и катетеров. Микроорганизмы, которые образовывали такие структуры, отличались повышенной выживаемостью [4; 21; 26].

Образование биопленок при этом ведет к возникновению тяжелых имплантат-ассоциированных инфекционных осложнений, сепсисов. Это серьезная проблема в медицинской практике, поскольку в хирургических и реанимационных отделениях клиник широко используются различные инвазивные материалы [10].

Накопление микроорганизмов на поверхности имплантатов в виде биопленок и их дальнейшее распространение по организму может служить причиной развития хронического воспаления, имплантат-ассоциированной инфекции, что в свою очередь приводит к необходимости удаления зараженного устройства. С медицинской и экономической точки зрения их постоянная замена является неэффективной и вызывает трудности [30].

Первое свидетельство причастности биопленкообразования на поверхности имплантатов к инфекционным заболеваниям представлено в 1982 году при электронно-микроскопическом исследовании кардиостимуляторов у пациентов с рецидивирующей инфекцией, вызванной *Staphylococcus aureus* [26]. В своих исследованиях J.W. Costerton с сотрудниками (1999) первыми выявили взаимосвязь между развитием биопленок и хронических инфекций. В последующие десятилетия подтвердили неоспоримое участие биопленок в развитии патологических процессов в инфицированных тканях. Более того, было признано, что использование различных медицинских устройств, имплантируемых в организм человека, благоприятствует развитию инфекций [30].

К настоящему времени доказано, что 72-91% случаев нозокомиальной инфекции ассоциированы с использованием катетеров, имплантов, стентов и т.д., что сопровождается контаминацией поверхности вирулентной флорой с образованием биопленок и L-форм

бактерий, которые практически не чувствительны к проводимой антибактериальной терапии [18].

Основные виды имплантатов, заражение которых может привести к имплантат-ассоциированным инфекциям - центральные венозные катетеры, сердечные клапаны, искусственные желудочки сердца, коронарные стенты, имплантируемые нейростимуляторы, желудочковые шунты, суставные протезы, устройства для фиксации переломов, грудные имплантаты, контактные линзы, зубные имплантаты, кохлеарные имплантаты.

Большие ортопедические операции, как правило, связаны с установкой металлоконструкций. Установка постоянного имплантата приводит к возникновению пожизненного риска развития инфекции, которая может привести к хроническому постимплантационному остеомиелиту и инвалидизации больного, а в самых тяжелых случаях при генерализации процесса с развитием синдрома системной воспалительной реакции или сепсиса – к летальному исходу [2].

Биопленка может быть охарактеризована как структурированное скопление микроорганизмов одного или нескольких видов, заключенное в выделенный ими экзополимерный матрикс и прикрепленное к абиотическим или биотическим поверхностям. Матрикс биопленки состоит из экзополисахаридов, белков, тейхоевых кислот, липидов, внеклеточной ДНК [6; 19].

Микроорганизмы в таких конгломератах отмечают высокой устойчивостью к агрессивным факторам окружающей среды: УФ-облучение, изменение pH среды, высыхание, воздействие антибиотиков [6]. Возможно, антибиотикорезистентность связана с тем, что в составе биопленок имеются покоящиеся клетки с низким метаболическим уровнем и фенотипически устойчивые варианты бактерий, называемые «персистеры». Бактерии, испытывая недостаток питательных веществ, могут переходить в некультивируемое состояние, а медленно растущие клетки обладают низкой чувствительностью ко многим антибактериальным веществам [7]. Они также могут находиться в виде свободноплавающего скопления клеток со свойствами, которые характерны биопленкам, ассоциированным с поверхностью [22].

Биопленкообразование на имплантатах можно разделить на 4 стадии: клеточная адгезия, обратимая стадия, созревание и дисперсия биопленки [24].

Бактериальная адгезия определяется физико-химическими свойствами прикрепляющихся клеток, субстрата и окружающей среды. Большая часть факторов среды, такие как её состав, гидродинамические условия, температура, время контакта, концентрация бактерий или присутствие антибиотиков и дезинфектантов, могут влиять на бактериальную адгезию. К факторам, которые могут влиять на адгезию бактерий к твердой поверхности,

можно также отнести химический состав материала, поверхностный заряд, гидрофобность и свободную энергию поверхности, а также шероховатость поверхности [13].

На втором этапе бактериальные клетки начинают пролиферировать и слипаться друг с другом, что приводит к образованию микроколоний. Затем эти организованные структуры погружаются в собственно продуцированный внеклеточный матрикс. Таким образом, биопленки постепенно колонизируют поверхность инвазивного устройства [23].

На стадии созревания микроколонии разрастаются и сливаются, образуя макроколонию. Также формируются специфические структуры биопленки: каналы, полости, поры и выросты. Благодаря данным формированиям осуществляется движение питательных веществ, удаляются метаболические отходы [6]. В основном на данном этапе регуляция осуществляется при помощи системы Quorum sensing [27].

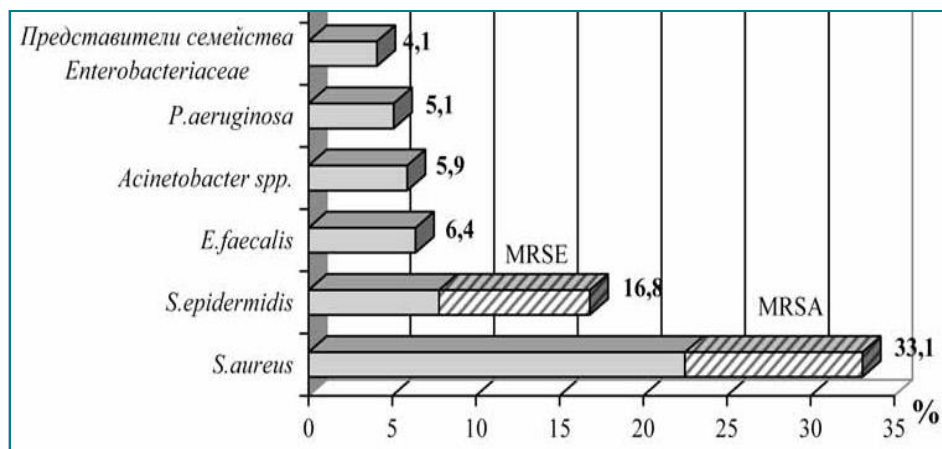
В определенный момент времени биопленка достигает критической массы, возникает динамическое равновесие, при этом от наружных слоев биопленки начинают открепляться клетки, способные покидать биопленку и колонизировать другие поверхности, чтобы повторить цикл. Благодаря этому патогенные бактерии захватывают новые места обитания, приводя к распространению инфекции. Открепление планктонных клеток может происходить как под действием внешних сил (давление жидкости, механическое воздействие), так и из-за внутренних (энзиматическая деградация протеазами, альгинатлиазами и др.) [6; 17].

Считается, что вода является главным компонентом матрикса биопленки, на долю которого приходится до 97%. Тогда как содержание бактерий составляет 10–50% от общего объема биопленки. Количество внеклеточных полимерных веществ колеблется в пределах 50–90% от общего количества органического углерода в биопленках. Кроме полисахаридов, белков, нуклеиновых кислот или фосфолипидов в матриксе биопленок также могут быть обнаружены другие неклеточные материалы, такие как кристаллы минеральных соединений или компоненты крови, присутствие которых зависит от окружающей среды, в которой развивалось это сообщество.

Имплантат-ассоциированные инфекции случаются из-за инфицирования во время операции или сразу после нее благодаря микробному распространению по кровотоку из отдаленного очага инфекции либо из-за прямого или лимфогенного распространения из инфекционного очага или проникающей травмы [28].

Анализ литературных данных позволил выявить микроорганизмы, которые чаще всего образуют биопленки на имплантатах. Почти все виды являются представителями нормальной микрофлоры организма человека. Так, ведущие позиции занимают два вида стафилококков *Staphylococcus aureus* и *S. epidermidis* – 49,9%, в том числе и метициллинрезистентные штаммы (MRSE), далее следуют *Enterococcus faecalis* – 6,4% представители

неферментирующих грамотрицательных бактерий (*Acinetobacter spp.* и *P. aeruginosa*) – 11% и представители семейства энтеробактерий (*E. cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*) – 4,1% (рисунок) [2].



Ведущие виды микроорганизмов, образующих биопленки на имплантатах

Источник [2, с. 7]

Эти и другие биопленкопродуцирующие микроорганизмы проникают в организм в процессе имплантации или еще до операции колонизируют поверхности имплантата. Заражение имплантационных поверхностей может приводить к развитию септического шока, некроза тканей вследствие хронического воспаления вокруг имплантата и дальнейшему распространению инфекции внутри организма. Оксиданты, вырабатываемые иммунными клетками для борьбы с биопленками, не способны проникнуть сквозь экзополимерный матрикс; это приводит к накоплению этих веществ и повреждению собственных клеток [29].

Из-за высокой устойчивости к антибиотикам возникающие хронические инфекции трудно поддаются лечению и подвергают пациента риску рецидива. В течение биопленочной инфекции планктонные формы бактерий могут отделяться от биопленки и распространяться локально вокруг источника заражения или по кровотоку по всему организму. В большинстве случаев удаление зараженного устройства или хирургическое удаление пораженной ткани является единственным эффективным способом борьбы с биопленочными инфекциями [1].

Лечение хронических инфекций в настоящее время уже не может основываться на планктонной концепции микробиологии. Представление о биопленках изменяет подходы к диагностике и лечению инфекционных поражений в самых различных областях медицины. Этому способствует разработка соответствующих методов молекулярной диагностики, а также стратегий лечения, воздействующих на механизмы формирования и функционирования бактериальных сообществ в виде биопленок [25].

Таким образом, на сегодняшний день имплантат-ассоциированные инфекции, чаще всего вызванные образованием микробных биопленок на поверхности имплантатов,

являются актуальными. Для борьбы с ними необходимо учитывать материалы, из которых изготовлены имплантаты, а также исследовать особенности образования биопленок всех известных возбудителей с целью их разрушения. Кроме того, необходимо обратить внимание на возбудителей сапрозоонозов, способных вызывать генерализованные инфекции и практически не исследованных в отношении взаимодействия с имплантатами.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (№ 14-33-00009) и Правительства РФ (Федерального агентства научных организаций).

Список литературы

1. Афиногентова А.Г., Даровская Е.Н. Микробные биопленки ран: состояние вопроса // Травматология и ортопедия России. — 2011. — № 3 (61). — С. 119-125.
2. Божкова С.А., Тихилов Р.М., Краснова М.В. Ортопедическая имплантат-ассоциированная инфекция: ведущие возбудители, локальная резистентность и рекомендации по антибактериальной терапии [Электронный ресурс] // Травматология и ортопедия России. — 2013. - № 4. – Режим доступа: http://journal.rniito.org/journal/2013_4/5-15.pdf (дата обращения: 10.06.2015).
3. Бережанский Б.В., Жевнерев А.А. Катетер-ассоциированные инфекции кровотока // Клин. микробиол. Антимикроб. химиотер. – 2006. - № 2. – С. 130-145.
4. Винник Ю.С., Серова Е.В., Андреев Р.И. Особенности формирования микробных биоплёнок на различных субстратах. Возможность изучения биоплёнок на желчных конкрементах // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 5.; URL: www.science-education.ru/111-10371 (дата обращения: 15.06.2015).
5. Вильямс Д.Ф. Имплантаты в хирургии / Д.Ф. Вильямс, Р. Роуф. – М. : Медицина, 1978. – 552 с.
6. Голуб А.В. Бактериальные биопленки – новая цель терапии? // Клиническая микробиологическая антимикробная химиотерапия. – 2012. - № 1. – С. 23-29.
7. Глушанова Н.А., Блинов А.И., Алексеева Н.Б. Бактериальные биопленки в инфекционной патологии человека [Электронный ресурс] // Медицина в Кузбассе. – 2015. - № 2. – Режим доступа: <http://cyberleninka.ru/article/n/bakterialnye-bioplenki-v-infektsionnoy-patologii-cheloveka> (дата обращения: 10.06.2016).
8. Гнеденков С.В., Синебрюхов С.Л., Хрисанфова О.А., Егоркин В.С., Машталяр Д.В., Сидорова М.В., Гнеденков А.С., Волкова Е.Ф. Свойства покрытий, сформированных на магниевом сплаве МА8 методом плазменного электролитического оксидирования // Вестник ДВО РАН. - 2010. - № 5. - С. 35-46.

9. Гнеденков С.В., Шаркеев Ю.П., Синебрюхов С.Л., Хрисанфова О.А., Легостаева Е.В., Завидная А.Г., Пузь А.В., Хлусов И.А. Функциональные покрытия для имплантационных материалов // Тихоокеанский медицинский журнал. - 2012. - № 1. - С. 12-19.
10. Лямин А.В., Боткин Е.А., Жестков А.В. Проблемы в медицине, связанные с бактериальными плёнками // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2012. – Т. 14, № 4. – С. 268-275.
11. Манцуров А.А., Гороховский А.В., Бурмистров И.Н., Третьяченко Е.В. Строение и свойства биосовместимых поверхностных слоев, полученных при химической обработке титановых имплантов // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 11–2. – С. 311-315.
12. Попков А.В. Биосовместимые имплантаты в травматологии и ортопедии // Гений ортопедии. – 2014. - № 3. – С. 94-99.
13. Серегина Н.В. Обзор биофизических особенностей микробной адгезии // Вестник новых медицинских технологий. – 2008. – XV (3). - С. 7-9.
14. Хлусов И.А., Карлов А.В., Суходоло И.В. Генез костной ткани на поверхности имплантатов для остеосинтеза [Электронный ресурс] // Гений ортопедии. – 2003. - № 3. – Режим доступа: <http://cyberleninka.ru/article/n/genez-kostnoy-tkani-na-poverhnosti-implantatov-dlya-osteosinteza> (дата обращения: 01.06.2016).
15. Цыганков А.И. Состояние и развитие современных технологий обработки поверхности дентальных имплантатов [Электронный ресурс] // Вестник Пензенского государственного университета. – 2013. - № 2. – Режим доступа: <http://cyberleninka.ru/article/n/sostoyanie-i-razvitie-sovremennyh-tehnologiy-obrabotki-poverhnosti-dentalnyh-implantatov> (дата обращения: 01.06.2016).
16. Черный В.Н. Перспективы применения биodeградирующих сплавов на основе магния в остеосинтезе // Запорожский медицинский журнал. – 2013. - № 6 (81). – С. 76-79.
17. Шипицына И.В., Осипова Е.В. Биопленкообразующая способность выделенных из ран больных хроническим остеомиелитом штаммов *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa* и их ассоциаций, полученных *in vitro* // Успехи современного естествознания. – 2014. – № 11-3. – С. 18-21.
18. Шкодкин С.В., Жернакова Н.И., Идашкин Ю.Б. Некоторые аспекты нозокомиальной инфекции // Научные ведомости Белгородского государственного университета. – 2013. - № 4 (147). – С. 5-11.
19. Arciola C.R. Biofilm formation in *Staphylococcus* implant infections. A review of molecular mechanisms and implications for biofilm-resistant materials // *Biomaterials*. – 2012. – Vol. 33 (26). - P. 5967–5982.
20. Brendamari R., Romero A. Biomaterials for orthopedics [Электронный ресурс] //

Applications of Engineering Mechanics in Medicine. – 2004. – Режим доступа: <http://jimboenk.heck.in/files/materi-biomaterial-2.pdf> (дата обращения: 10.06.2015).

21. Christensen G.D., Simpson W.A., Younger J.J. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices // *J. Clin. Microbiology*. – 1985. - Vol. 22 (6). – P. 996-1006.

22. Costerton J.W., Stewart P.S. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections // *Science*. - 1999. - Vol. 284 – P. 1318–1322.

23. Dunne M.W. Bacterial Adhesion: Seen Any Good Biofilms Lately? // *Clinical microbiology reviews*. – 2002. - Vol. 12. - P. 155–166.

24. Gbejuade H.O., Lovering A.M., Webb J.C. The role of microbial biofilms in prosthetic joint infections // *Acta Orthop*. – 2015. - Vol. 86 (2). – P. 147–158.

25. Lebeaux D., Ghigo J.-M., Beloin C. Biofilm-Related Infections: Bridging the gap between clinical management and fundamental aspects of recalcitrance toward antibiotics // *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. – 2014. - Vol. 78. - № 3. - P. 510–543.

26. Marrie T.J., Nelligan J., Costerton J.W. A scanning and transmission electron microscopic study of an infected endocardial pacemaker lead // *Circulation*. - 1982. - Vol. 66. – P. 1339–1341.

27. Miller M.B., Bassler B.L. Quorum sensing in bacteria // *Annu. Rev. Microbiol.* – 2001. - Vol. 55 (1). - P. 165-199.

28. Henk J.B. Biomaterial-Associated Infection: Locating the Finish Line in the Race for the Surface // *Science Translational Medicine*. – 2012. – № 1. 4. - P. 1–10.

29. Rodney M.D. Biofilms: Microbial life on surfaces // *Emerging Infectious Diseases*. – 2002. - Vol. 8. - № 9. – P. 881-890.

30. Reid G. Biofilms in infectious disease and on medical devices // *Int J Antimicrob Agents*. – 1999. – Vol. 11 (3-4). – P. 223-226.

31. Ribeiro M. Infection of orthopedic implants with emphasis on bacterial adhesion process and techniques used in studying bacterial-material interactions // *Biomater*. – 2012. - Vol. 2(4). – P. 176–194.

32. Trampuz A., Widmer A.F. Infections associated with orthopedic implants // *Curr. Opin. Infect. Dis*. – 2006. – Vol. 19, № 4. – P. 349-356.