

Гений ортопедии. 2022. Т. 28, № 6. С. 788-793.  
Genij Ortopedii. 2022. Vol. 28, no. 6. P. 788-793.

## Научная статья

УДК: 616.71-018.46-002.2:615.331:615.015.8

<https://doi.org/10.18019/1028-4427-2022-28-6-788-793>



**Анализ качественного и количественного состава ассоциаций микроорганизмов, выделенных из гнойного очага, у пациентов с хроническим остеомиелитом за трехлетний период**

Ирина Владимировна Шипицына<sup>1✉</sup>, Елена Владимировна Осипова<sup>2</sup>

Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени академика Г.А. Илизарова, Курган, Россия

<sup>1</sup> IVSchimik@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2012-3115>

<sup>2</sup> E-V-Osipova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2408-4352>

## Аннотация

**Введение.** Проведение ежегодного микробиологического мониторинга ведущих возбудителей остеомиелита и их антибиотикочувствительности необходимо для выявления препаратов, утративших свою эффективность. В то же время, увеличение количества микробных ассоциаций требует иных подходов к антибактериальной терапии. Вследствие чего возникает необходимость анализа состава ассоциаций и выявления приоритетного патогена для исключения наименее эффективных препаратов и оптимизации лечения. **Цель.** Провести анализ качественного и количественного состава ассоциаций микроорганизмов, выделенных из остеомиелитического очага у пациентов с хроническим остеомиелитом за трехлетний период. **Материалы и методы.** Объект исследования – штаммы грамотрицательных и грамположительных бактерий, выделенные при первичных посевах в составе ассоциаций бактерий из ран и свищей пациентов, находившихся на лечении в отделениях гнойного центра НМИЦ ТО имени академика Г.А. Илизарова за период с 2018 по 2020 г. Идентификацию бактерий проводили, используя бактериологический анализатор. **Результаты и обсуждение.** У пациентов с хроническим остеомиелитом при посеве содержимого гнойного очага чаще всего высевались двухкомпонентные ассоциации бактерий: *P. aeruginosa* + *S. aureus*; *Enterobacteriaceae* + *S. aureus*, *S. aureus* + CoNS. Лидирующими патогенами, встречающимися в микс-культурах, были штаммы *S. aureus* и *P. aeruginosa*. По сравнению с 2018 годом, в 2020 году увеличилось число высевок *S. aureus* + *Enterococcus* sp., в то же время количество ассоциаций *P. aeruginosa* + *Enterococcus* sp. сократилось в 2 раза. В течение трехлетнего периода среди выделенных микс-культур увеличивались доли трех- и четырехкомпонентных ассоциаций бактерий, спектр сочетаний микроорганизмов в которых был разнообразным. В трехкомпонентных ассоциациях чаще всего встречались бактерии рода *Enterobacteriaceae* и *S. aureus*. Четырехкомпонентные ассоциации были представлены микс-культурами грамположительных и грамотрицательных бактерий, преимущественно НФГОБ и *S. aureus*. **Заключение.** Увеличение частоты выделения микробных ассоциаций показывает необходимость проведения ежегодного анализа изменения их качественного и количественного состава для выявления спектра ведущей микрофлоры остеомиелитического очага и коррекции антибактериальной терапии.

**Ключевые слова:** хронический остеомиелит, ассоциации бактерий, биопленка, антибиотики, резистентность

**Для цитирования:** Шипицына И.В., Осипова Е.В. Анализ качественного и количественного состава ассоциаций микроорганизмов, выделенных из гнойного очага, у пациентов с хроническим остеомиелитом за трехлетний период // Гений ортопедии. 2022. Т. 28, № 6. С. 788-793. DOI: 10.18019/1028-4427-2022-28-6-788-793. EDN DWFHGD.

## Original article

**Analysis of the qualitative and quantitative community composition of bacteria isolated from the purulent focus in patients with chronic osteomyelitis over a three year period**

Irina V. Shipitsyna<sup>1✉</sup>, Elena V. Osipova<sup>2</sup>

Ilizarov National Medical Research Centre for Traumatology and Orthopedics, Kurgan, Russian Federation

<sup>1</sup> IVSchimik@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2012-3115>

<sup>2</sup> E-V-Osipova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2408-4352>

## Abstract

**Introduction** Annual microbiological monitoring of the leading causative agents of osteomyelitis and their antibiotic sensitivity is essential for identifying drugs that have lost the effectiveness. An increase in microbial associations requires different approaches to antibiotic therapy. Analysis of the composition of associations with a priority pathogen to be identified to avoid administration of ineffective drugs and optimize treatment. **The purpose** was to monitor qualitative and quantitative community composition of microorganisms isolated from the osteomyelitic focus in patients with chronic osteomyelitis over a three-year period. **Material and methods** The object of the study were strains of gram-negative and gram-positive bacteria isolated during primary inoculation as part of associations of bacteria from wounds and fistulas of patients who were treated in the clinic of infection osteology at the Kurgan Ilizarov Centre between 2018 and 2020. Standard bacteriological methods were used to isolate pure cultures. Bacteria were identified using bacteriological analyzer. **Results and discussion** Two-component microbial associations isolated in patients with chronic osteomyelitis included *P. aeruginosa* + *S. aureus*, *Enterobacteriaceae* + *S. aureus*, *S. aureus* + CoNS. The strains of *S. aureus* and *P. aeruginosa* were most common pathogens identified in mixed cultures. Inoculations of *S. aureus* + *Enterococcus* sp. increased and *P. aeruginosa* + *Enterococcus* sp. associations showed a two-fold decrease in 2020 compared to 2018. Three- and four-component associations of bacteria increased with the spectrum of combinations being diverse among the isolated mix cultures over a three-year period. Bacteria of the *Enterobacteriaceae* and *S. aureus* family were most common in three-component associations. Four-component associations were represented by mix cultures of gram-positive and gram-negative bacteria including NFGOB and *S. aureus*. **Conclusion** An increased frequency of isolated microbial associations necessitates an annual analysis of changes in the qualitative and quantitative composition to identify the spectrum of the most common microflora of the osteomyelitic focus and correct antibiotic therapy.

**Keywords:** chronic osteomyelitis, bacterial associations, biofilm, antibiotics, resistance

**For citation:** Shipitsyna I.V., Osipova E.V. Analysis of the qualitative and quantitative community composition of bacteria isolated from the purulent focus in patients with chronic osteomyelitis over a three year period. *Genij Ortopedii*, 2022, vol. 28, no. 6, pp. 788-793. DOI: 10.18019/1028-4427-2022-28-6-788-793.

## ВВЕДЕНИЕ

В микробиологической структуре гнойного очага при хроническом остеомиелите стафилококки и грамотрицательные условно-патогенные микроорганизмы занимают лидирующие позиции [1-6]. В последние

годы наблюдается повышение удельного веса ассоциаций возбудителей, в составе которых, как правило, преобладают грамположительные кокки и грамотрицательные аэробные палочки [5-8]. При хроническом остеомиелите бактериальные ассоциации чаще всего встречаются у пациентов с длительными сроками сращения переломов и замещения дефектов [8]. Межмикробные взаимодействия в ассоциациях оказывают существенное влияние на формы и течение остеомиелита [6, 7, 9]. Имеются данные о множественной лекарственной устойчивости микробов-ассоциантов, которая может быть связана как с выработкой адаптивных ферментов, разрушающих антибактериальный препарат, так и со способностью микроорганизмов существовать в составе биопленки [10-17].

Проведение ежегодного микробиологического мониторинга ведущих возбудителей остеомиелита и их антибиотикочувствительности необходимо для выявления препаратов, утративших свою эффективность. В то же время, увеличение количества микробных ассоциаций требует других подходов к антибактериальной терапии. Вследствие чего возникает необходимость исследования состава ассоциаций и выявления приоритетного патогена для исключения наименее эффективных препаратов и оптимизации лечения.

**Цель работы:** провести анализ качественного и количественного состава ассоциаций микроорганизмов, выделенных из остеомиелитического очага у пациентов с хроническим остеомиелитом за трехлетний период.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования – штаммы грамотрицательных и грамположительных бактерий, выделенные при первичных посевах в составе ассоциаций бактерий из ран и свищей пациентов, находившихся на лечении в отделениях гнойного центра ФГБУ «НМИЦ ТО» имени академика Г.А. Илизарова, за период с 2018 по 2020 г.

Выделение чистых культур проводили стандартными методами. Идентификацию бактерий проводили на грамотрицательных NBC 44 и грамположительных панелях PBC44 (WalkAway-40 Plus, «Siemens»).

Цифровые данные обрабатывались с помощью компьютерной программы AtteStat, версия 13.0.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ

При бактериологических посевах содержимого гнойного очага в 2018 году в составе ассоциаций выделен 821 штамм, что составило 35,0 % от общего количества клинических изолятов; в 2019 году – 580 (22,9 %); в 2020 году – 559 (36,6 %). Микс-культуры были представлены двух-, трех- и четырехкомпонентными микробными ассоциациями. Наибольший удельный вес приходился на двухкомпонентные ассоциации (78,0-82,8 %), на долю трех- и четырехкомпонентных, соответственно, 15,8-19,2 % и 0,4-2,8 % (рис. 1).

Среди клинических изолятов в двухкомпонентных

ассоциациях преобладали штаммы *S. aureus* (табл. 1). В 2018 году лидером по частоте встречаемости были ассоциации золотистого стафилококка и синегнойной палочки, число которых к 2020 году сократилось в 1,6 раза. Наибольший процент в 2020 году приходился на долю ассоциаций *S. aureus* + *Enterococcus sp.* (18,5 %), по сравнению с 2018 годом уменьшилось количество ассоциаций *S. aureus* + коагулазонегативные стафилококки (CoNS). Число микс-культур *S. aureus* + *Enterobacteriaceae* в течение трехлетнего периода наблюдения изменялось от 8,4 до 12,9 %.

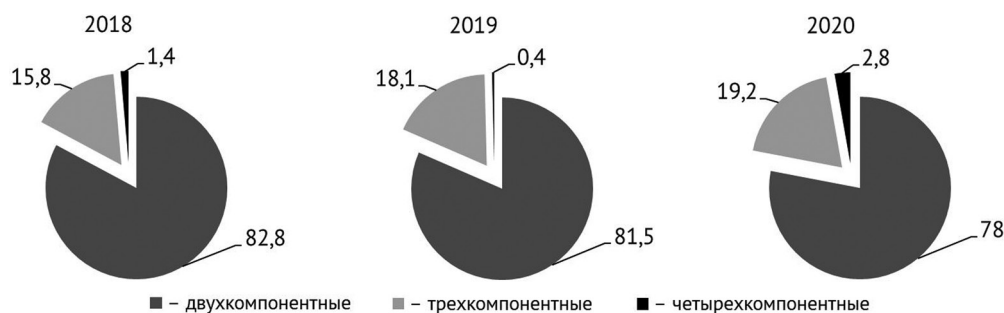


Рис. 1. Соотношение ассоциаций бактерий, выделенных за период с 2018 по 2020 г. (%)

Таблица 1

Качественный и количественный состав двухкомпонентных ассоциаций *S. aureus* с грамположительными и грамотрицательными микроорганизмами

| <i>S. aureus</i> +                             | Количественный состав                     |             |             |
|------------------------------------------------|-------------------------------------------|-------------|-------------|
|                                                | 2018 год                                  | 2019 год    | 2020 год    |
|                                                | количество (доля микс-культур от ОЧДА, %) |             |             |
| Общее число двухкомпонентных ассоциаций (ОЧДА) | 308                                       | 216         | 195         |
| CoNS                                           | 34 (11 %)                                 | 30 (13,9 %) | 16 (8,2 %)  |
| <i>Enterococcus sp.</i>                        | 25 (8,1 %)                                | 21 (9,7 %)  | 36 (18,5 %) |
| <i>Streptococcus sp.</i>                       | 12 (3,8 %)                                | 10 (4,6 %)  | 18 (9,2 %)  |
| <i>Corynebacterium sp.</i>                     | 1 (0,3 %)                                 | –           | –           |
| <i>Acinetobacter sp.</i>                       | 4 (1,3 %)                                 | 9 (4,2 %)   | 3 (1,5 %)   |
| <i>P. aeruginosa</i>                           | 46 (14,9 %)                               | 29 (13,4 %) | 18 (9,2 %)  |
| <i>Enterobacteriaceae</i>                      | 26 (8,4 %)                                | 28 (12,9 %) | 21 (10,8 %) |

На втором месте по частоте встречаемости были ассоциации, образованные неферментирующими грамотрицательными бактериями (НФГОБ) (табл. 2). В 2018 году отмечен высокий процент выделения микс-культур НФГОБ с *S. aureus*, из них 92 % приходилось на ассоциации *P. aeruginosa* с *S. aureus*. Следующими по частоте выделения следовали микс-культуры *P. aeruginosa* в ассоциации с энтеробактериями и энтерококками.

На третьем месте по частоте выделения из патологического материала остеомиелитического очага – ассоциации бактерий рода *Enterobacteriaceae* со *Staphylococcus sp.* или НФГОБ (табл. 3). В 2020 году количество микс-культур *Enterobacteriaceae* + *Enterobacteriaceae* увеличилось на 5,1 % по сравнению с 2018 годом.

Штаммы *S. epidermidis* чаще всего высевались в ассоциации с *S. aureus*. (табл. 4). За трехлетний период снизилось количество *P. aeruginosa* + *S. epidermidis* в 2,2 раза. Процент выделения микс-культур эпидермального стафилококка с грамположительными или грамотрицательными бактериями изменялся незначительно.

Трехкомпонентные ассоциации были представлены бактериями рода *Staphylococcus sp.* в сочетании с *Enterobacteriaceae* и НФГОБ (табл. 5). В течение трехлетнего периода отмечено увеличение числа ассоциаций *P. aeruginosa* + *Enterobacteriaceae* + *E. faecalis*; *Enterobacteriaceae* + *Enterobacteriaceae* + *Staphylococcus sp.*

Таблица 2

Качественный и количественный состав двухкомпонентных ассоциаций НФГОБ с грамположительными и грамотрицательными микроорганизмами

| НФГОБ +                                        | Количественный состав                     |                    |                    |
|------------------------------------------------|-------------------------------------------|--------------------|--------------------|
|                                                | 2018 год                                  | 2019 год           | 2020 год           |
|                                                | количество (доля микс-культур от ОЧДА, %) |                    |                    |
| Общее число двухкомпонентных ассоциаций (ОЧДА) | 308                                       | 216                | 195                |
| <i>S. aureus</i>                               | <b>50 (16,2 %)</b>                        | <b>38 (17,6 %)</b> | <b>21 (10,8 %)</b> |
| <i>CoNS</i>                                    | 22 (7,1 %)                                | 7 (3,2 %)          | 8 (4,1 %)          |
| <i>Enterococcus sp.</i>                        | 27 (8,8 %)                                | 7 (3,2 %)          | 8 (4,1 %)          |
| <i>Streptococcus sp.</i>                       | –                                         | 2 (0,9 %)          | –                  |
| <i>Enterobacteriaceae</i>                      | <b>30 (9,7 %)</b>                         | <b>18 (8,3 %)</b>  | <b>18 (9,2 %)</b>  |
| НФГОБ                                          | 1 (0,3 %)                                 | –                  | 1 (0,5 %)          |
| <i>Corynebacterium sp.</i>                     | –                                         | –                  | 1 (0,5 %)          |

Таблица 3

Качественный и количественный состав двухкомпонентных ассоциаций *Enterobacteriaceae* с грамположительными и грамотрицательными микроорганизмами

| <i>Enterobacteriaceae</i> +                    | Количественный состав                     |                    |                    |
|------------------------------------------------|-------------------------------------------|--------------------|--------------------|
|                                                | 2018 год                                  | 2019 год           | 2020 год           |
|                                                | количество (доля микс-культур от ОЧДА, %) |                    |                    |
| Общее число двухкомпонентных ассоциаций (ОЧДА) | 308                                       | 216                | 195                |
| <i>Staphylococcus sp.</i>                      | <b>41 (13,3 %)</b>                        | <b>35 (16,2 %)</b> | <b>28 (14,4 %)</b> |
| <i>Enterococcus sp.</i>                        | <b>20 (6,5 %)</b>                         | <b>25 (11,6 %)</b> | <b>16 (8,2 %)</b>  |
| <i>Streptococcus sp.</i>                       | 6 (1,9 %)                                 | 1 (0,5 %)          | –                  |
| <i>Corynebacterium sp.</i>                     | 2 (0,6 %)                                 | 2 (0,9 %)          | 1 (0,5 %)          |
| НФГОБ                                          | <b>30 (9,7 %)</b>                         | <b>18 (8,3 %)</b>  | <b>18 (9,2 %)</b>  |
| <i>Enterobacteriaceae</i>                      | <b>11 (3,6 %)</b>                         | <b>6 (2,8 %)</b>   | <b>17 (8,7 %)</b>  |

Таблица 4

Качественный и количественный состав двухкомпонентных ассоциаций *CoNS* с грамположительными и грамотрицательными микроорганизмами

| <i>CoNS</i> +                                  | Количественный состав                     |                   |                   |
|------------------------------------------------|-------------------------------------------|-------------------|-------------------|
|                                                | 2018 год                                  | 2019 год          | 2020 год          |
|                                                | количество (доля микс-культур от ОЧДА, %) |                   |                   |
| Общее число двухкомпонентных ассоциаций (ОЧДА) | 308                                       | 216               | 195               |
| <i>S. aureus</i>                               | <b>34 (11,0 %)</b>                        | <b>30 (9,7 %)</b> | <b>16 (8,2 %)</b> |
| <i>CoNS</i>                                    | 9 (2,9 %)                                 | 6 (2,8 %)         | 3 (1,5 %)         |
| <i>Enterococcus sp.</i>                        | 10 (3,2 %)                                | 4 (1,9 %)         | 5 (2,7 %)         |
| <i>Corynebacterium sp.</i>                     | 1 (0,2 %)                                 | –                 | 1 (0,5 %)         |
| <i>Streptococcus sp.</i>                       | <b>6 (1,8 %)</b>                          | <b>4 (1,9 %)</b>  | <b>3 (1,5 %)</b>  |
| <i>Acinetobacter sp.</i>                       | 8 (2,6 %)                                 | 3 (1,4 %)         | 4 (2,1 %)         |
| <i>P. aeruginosa</i>                           | 14 (4,5 %)                                | 4 (1,9 %)         | 4 (2,1 %)         |
| <i>Enterobacteriaceae</i>                      | 15 (4,9 %)                                | 7 (3,2 %)         | 7 (3,7 %)         |

Таблица 5

Качественный состав трехкомпонентных ассоциаций

| Ассоциации                                                                         | Количество |           |           |
|------------------------------------------------------------------------------------|------------|-----------|-----------|
|                                                                                    | 2018 г.    | 2019 г.   | 2020 г.   |
| <i>S. aureus</i> + CoNS + <i>P. aeruginosa</i>                                     | 1          | 1         | –         |
| <i>Staphylococcus</i> sp. + <i>P. aeruginosa</i> + <i>Enterococcus</i> sp.,        | 5          | 7         | 4         |
| CoNS + CoNS + <i>P. aeruginosa</i>                                                 | 1          | –         | –         |
| <i>Staphylococcus</i> sp. + <i>P. aeruginosa</i> + <i>Streptococcus</i> sp.        | 1          | –         | –         |
| <i>P. aeruginosa</i> + <i>E. faecalis</i> + <i>Streptococcus</i> sp.               | –          | –         | 1         |
| <i>Staphylococcus</i> sp. + <i>P. aeruginosa</i> + <i>Enterobacteriaceae</i>       | 9          | 6         | 3         |
| <i>P. aeruginosa</i> + <i>Enterobacteriaceae</i> + <i>E. faecalis</i>              | 3          | 6         | 11        |
| <i>P. aeruginosa</i> + <i>Enterobacteriaceae</i> + <i>Enterobacteriaceae</i>       | 2          | 2         | –         |
| <i>P. aeruginosa</i> + <i>Acinetobacter</i> sp. + <i>Enterobacteriaceae</i>        | 2          | 1         | –         |
| <i>Staphylococcus</i> sp. + <i>P. aeruginosa</i> + <i>A. baumannii</i>             | 1          | 1         | 3         |
| <i>Staphylococcus</i> sp. + <i>Acinetobacter</i> sp. + <i>Enterococcus</i> sp.     | 3          | –         | 1         |
| <i>Staphylococcus</i> sp. + <i>Acinetobacter</i> sp. + <i>Streptococcus</i> sp.    | –          | 1         | –         |
| <i>Staphylococcus</i> sp. + <i>Acinetobacter</i> sp. + <i>Enterobacteriaceae</i>   | 3          | 4         | 1         |
| <i>Acinetobacter</i> sp. + <i>Enterobacteriaceae</i> + <i>Enterococcus</i> sp.     | 5          | 2         | –         |
| <i>Acinetobacter</i> sp. + <i>Enterobacteriaceae</i> + <i>Enterobacteriaceae</i>   | 1          | 1         | –         |
| <i>S. aureus</i> + CoNS + <i>Enterobacteriaceae</i>                                | 2          | 2         | 2         |
| <i>Enterobacteriaceae</i> + <i>Enterobacteriaceae</i> + <i>Enterobacteriaceae</i>  | 1          | 1         | –         |
| <i>Staphylococcus</i> sp. + <i>Streptococcus</i> sp. + <i>Enterobacteriaceae</i>   | 2          | 1         | 3         |
| <i>Staphylococcus</i> sp. + <i>Enterococcus</i> sp. + <i>Enterobacteriaceae</i>    | 3          | 3         | 5         |
| <i>Enterobacteriaceae</i> + <i>Enterobacteriaceae</i> + <i>Enterococcus</i> sp.    | 3          | 4         | 3         |
| <i>Staphylococcus</i> sp. + <i>Enterobacteriaceae</i> + <i>Enterobacteriaceae</i>  | 6          | 2         | 9         |
| CoNS + CoNS + <i>Enterobacteriaceae</i>                                            | –          | –         | 1         |
| <i>Staphylococcus</i> sp. + <i>Enterobacteriaceae</i> + <i>Corynebacterium</i> sp. | 1          | –         | –         |
| <i>S. aureus</i> + CoNS + <i>Streptococcus</i> sp.                                 | 1          | 2         | 1         |
| <i>S. aureus</i> + CoNS + CoNS                                                     | 1          | –         | –         |
| CoNS + CoNS + <i>Enterococcus</i> sp.                                              | 2          | –         | –         |
| CoNS + CoNS + <i>Streptococcus</i> sp.                                             | –          | 1         | –         |
| <b>Всего:</b>                                                                      | <b>59</b>  | <b>48</b> | <b>48</b> |

Общее количество четырехкомпонентных ассоциаций в период наблюдения был незначительным. Во всех ассоциациях присутствовали бактерии рода *Staphylococcus* (табл. 6). Среди других микроорганиз-

мов в составе таких ассоциаций чаще всего встречались НФГОБ с преобладанием штаммов *P. aeruginosa* и бактерий рода *Enterobacteriaceae*: *K. pneumoniae*, *E. coli*.

Таблица 6

Качественный состав четырехкомпонентных ассоциаций

| Ассоциации                                                                                     | Количество |          |          |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|----------|----------|
|                                                                                                | 2018 г.    | 2019 г.  | 2020 г.  |
| <i>S. aureus</i> + <i>P. aeruginosa</i> + <i>K. pneumoniae</i> + <i>P. mirabilis</i>           | –          | –        | 1        |
| <i>S. aureus</i> + <i>P. aeruginosa</i> + <i>K. pneumoniae</i> + <i>E. faecalis</i>            | –          | –        | 1        |
| <i>S. salivarius</i> + <i>P. aeruginosa</i> + <i>B. cepacia</i> + <i>A. baumannii</i>          | –          | –        | 1        |
| <i>S. aureus</i> + <i>P. aeruginosa</i> + <i>M. morganii</i> + <i>S. mitis</i>                 | 1          | –        | –        |
| <i>S. aureus</i> + <i>P. aeruginosa</i> + <i>A. baumannii</i> + <i>E. faecalis</i>             | 1          | 1        | –        |
| <i>S. aureus</i> + <i>S. epidermidis</i> + <i>P. aeruginosa</i> + <i>P. mirabilis</i>          | 1          | –        | –        |
| <i>S. saprophyticus</i> + <i>P. aeruginosa</i> + <i>K. pneumoniae</i> + <i>E. coli</i>         | 1          | –        | –        |
| <i>S. epidermidis</i> + <i>K. pneumoniae</i> + <i>P. mirabilis</i> + <i>E. faecalis</i>        | 1          | –        | –        |
| <i>S. aureus</i> + <i>P. mirabilis</i> + <i>Streptococcus</i> sp.                              | –          | –        | 1        |
| <i>S. aureus</i> + <i>S. epidermidis</i> + <i>P. mirabilis</i> + <i>E. coli</i>                | –          | –        | 1        |
| <i>S. epidermidis</i> + <i>A. baumannii</i> + <i>E. coli</i> + <i>Streptococcus</i> sp. β-зем. | –          | –        | 1        |
| <i>S. aureus</i> + <i>E. coli</i> + <i>Enterobacter</i> sp. + <i>Citrobacter</i> sp.           | 2          | –        | –        |
| <b>Всего:</b>                                                                                  | <b>7</b>   | <b>1</b> | <b>6</b> |

Таким образом, по результатам ретроспективного анализа ведущих ассоциаций микроорганизмов у пациентов с хроническим остеомиелитом при посеве содержимого гнойного очага чаще всего высевались двухкомпонентные ассоциации бактерий: *P. aeruginosa* + *S. aureus*; *Enterobacteriaceae* + *S. aureus*, *S. aureus* + CoNS. Лидирующими патогенами, встречающимися в микс-культурах, были штаммы *S. aureus* и *P. aeruginosa*. По сравнению с 2018 годом, в 2020 году увеличилось число высевок *S. aureus* + *Enterococcus* sp., в то же время количество ассоциаций *P. aeruginosa* + *Enterococcus* sp. сократилось в 2 раза.

В течение трехлетнего периода среди выделенных микс-культур увеличивались доли трех- и четырехкомпонентных ассоциаций бактерий, спектр сочетаний микроорганизмов в которых был разнообразным. В трехкомпонентных ассоциациях чаще всего встречались бактерии рода *Enterobacteriaceae* и *S. aureus*. Четырехкомпонентные ассоциации были представлены микс-культурами грамположительных и грамотрицательных бактерий, преимущественно НФГОБ и *S. aureus*.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Цель нашего исследования состояла в том, чтобы охарактеризовать качественный и количественный состав ассоциаций микроорганизмов, выделенных из остеомиелитического очага, и сравнить полученные результаты с данными других отечественных и зарубежных авторов. При хроническом остеомиелите основными возбудителями заболевания являются бактерии рода *Staphylococcus*, которые выделяют из гнойного очага как в монокультуре, так и в ассоциациях с

грамотрицательными бактериями [1, 6, 8, 16, 18]. По данным литературы, на долю ассоциаций приходится 25-30 % [1, 6, 9, 10, 18]. Известно, что микробные взаимоотношения в ассоциациях переменны, и в зависимости от их характера один микроорганизм может усиливать действие детерминант вирулентности другого возбудителя [10, 16, 18]. Многие авторы отмечают более тяжелое клиническое течение полимикробных инфекций [7, 9-10].

Полученные нами результаты сопоставимы с данными литературы. Как в данном, так и в предыдущих наших исследованиях [6, 18], показано, что лидирующими патогенами, встречающимися в ассоциациях, были штаммы *S. aureus* и *P. aeruginosa*, а доля микс-культур в разные годы составляла от 22,9 до 36,6 %. При микробиологическом анализе содержимого гнойного очага чаще всего высевали двухкомпонентные ассоциации бактерий. По сравнению с работами Р.П. Тереховой с соавт. (2016), мы наблюдали увеличение долей трех- и четырехкомпонентных ассоциаций бактерий, спектр сочетаний микроорганизмов в которых был разнообразным. Согласно полученным ранее нами данным, в ассоциациях между бактериями могут быть различные взаимоотношения: антагонистические, синергические либо нейтральные, оказывающие влияние на степень выраженности патогенных свойств микроорганизмов [18]. Так, по данным литературы, вирулентность бактерий рода *Enterobacter* значительно повышается в составе ассоциации с бактериями рода *Citrobacter* [16]. Штаммы *Proteus sp.* и *P. aeruginosa* в составе микробных ассоциаций обладают выраженной протеолитической активностью [16, 18]. Бактерии *Enterococcus sp.* могут инициировать воспалительную реакцию при синергичных взаимодействиях с другими микроорганизмами, в дальнейшем не влияя на течение процесса [20]. Благодаря межвидовым взаимоотношениям может изменяться интенсивность роста микроорганизмов, патогенность и восприимчивость к антибиотикам [19-23]. Проведенные ранее нами исследования

показали, что в составе ассоциаций может изменяться чувствительность микроорганизмов к антибактериальным препаратам [24].

Все чаще встречаются данные о сниженной активности в отношении стафилококков бета-лактамов антибиотиков, макролидов, аминогликозидов и линкозамидов [13, 24, 25]. Что касается грамотрицательной микрофлоры, то она зачастую является устойчивой не менее чем к 8-10 различным антимикробным препаратам [24, 26]. Так, например, штаммы *Pseudomonas aeruginosa* могут быть одновременно нечувствительными к цефалоспорином, имипенему и меропенему, пиперациллину/тазобактаму, фторхинолонам и аминогликозидам [26-28]. С каждым годом растет число устойчивых к антибактериальным препаратам микробов – ассоциантов [28-31]. На сегодняшний день одной из причин резистентности бактерий является биопленка – трехмерная биологическая структура, противостоящая внешним и внутренним факторам защиты [13, 14, 29]. Внутри биопленки могут присутствовать популяции бактерий, обладающих разными защитными свойствами. Так, например, в составе биопленки некоторые штаммы могут продуцировать  $\beta$ -лактамазы, что приводит к защите остальных бактерий [29-30]. В биопленку, образованную штаммами *K. pneumoniae*, плохо проникает ампициллин, в сообщества *Enterococcus faecalis* – ампициллин, ко-тримаксозол и ванкомицин [30-34]. Эффективность стандартной антибиотикотерапии в лечении подобных биопленочных инфекций будет сомнительной.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Увеличение частоты выделения микробных ассоциаций показывает необходимость проведения ежегодного анализа изменения их качественного и коли-

чественного состава для выявления спектра ведущей микрофлоры остеомиелитического очага и коррекции антибактериальной терапии.

#### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Возбудители остеомиелита длинных костей и их резистентность / Р.П. Терехова, В.А. Митиш, Ю.С. Пасхалова, Г.Е. Складан, С.А. Прудникова, Л.А. Блатун // Раны и раневые инфекции. 2016. Т. 3, № 2. С. 24-30.
2. Bacterial osteomyelitis: microbiological, clinical, therapeutic, and evolutive characteristics of 344 episodes / E. García del Pozo, J. Collazos, J.A. Cartón, D. Campo, V. Asensi // Rev. Esp. Quimioter. 2018. Vol. 31, No 3. P. 217-225.
3. Миронов С.П., Цискашвили А.В., Горбатюк Д.С. Хронический посттравматический остеомиелит как проблема современной травматологии и ортопедии (обзор литературы) // Гений ортопедии. 2019. Т. 25, № 4. С. 610-621.
4. Анализ результатов бактериологического исследования ран пациентов с имплант-ассоциированной инфекцией позвоночника / Н.М. Ключин, С.В. Люлин, И.В. Шипицына, Е.Я. Кочнев // Гений ортопедии. 2019. Т. 25, № 3. С. 355-359.
5. Микробиологическая характеристика возбудителей в гнойных ранах / Н.Я. Полевикова, С.В. Краснопеева, Е.В. Жданова, Т.В. Головач, С.В. Бредюк // Здоровье. Медицинская экология. Наука. 2009. № 3. С. 77-79.
6. Мониторинг ведущих возбудителей остеомиелита и их антибиотикорезистентности / И.В. Шипицына, Е.В. Осипова, О.А. Асташова, Д.С. Леончук // Клиническая лабораторная диагностика. 2020. Т. 65, № 9. С. 562-566.
7. Неблагоприятные тенденции в этиологии ортопедической инфекции: результаты 6-летнего мониторинга структуры и резистентности ведущих возбудителей / С.А. Божкова, А.Р. Касимова, Р.М. Тихилов, Е.М. Полякова, А.Н. Рукина, В.В. Шабанова, В.Н. Ливенцов // Травматология и ортопедия России. 2018. Т. 24, № 4. С. 20-31.
8. Леонова С.Н., Рехов А.В., Камека А.Л. Бактериологическое исследование раневого отделяемого у пациентов с локальной и распространенной формой хронического остеомиелита // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2016. Т. 1, № 4. С. 91-94.
9. Миллер Г.Г. Биологическое значение ассоциаций микроорганизмов // Вестник РАМН. 2000. № 1. С. 45-51.
10. Роль микробных ассоциаций в развитии имплантат-ассоциированной инфекции после первичного эндопротезирования коленного сустава / И.В. Бабушкина, А.С. Бондаренко, И.А. Мамонова, С.П. Шпинак, В.Ю. Ульянов // Саратовский научно-медицинский журнал. 2018. Т. 14, № 3. С. 492-497.
11. Микробные биопленки в хирургии: механизмы образования, лекарственная устойчивость, пути решения проблемы / Ю.С. Винник О.В. Перьянова Е.В. Онзуль, О.В. Теплякова // Новости хирургии. 2010. Т. 18, № 6. С. 115-125.
12. Недашковская В.В., Дронова М.Л., Врынчану Н.А. Биопленки и их роль в инфекционных заболеваниях // Украинский научно-медицинский молодежный журнал. 2016. № 4 (98). С. 10-19.
13. Резистентность к антибиотикам госпитальных изолятов золотистого стафилококка, образующих биопленку / В.К. Окулич А.А. Кабанова, С.А. Сенькович, Ф.В. Плотноков // Здоровоохранение. 2015. № 7. С. 11-16.
14. Kabanova A.A. Biofilm formation of the bacteria causing odontogenic infections // In the World of Scientific Discoveries. 2014. No 10. P. 107-121. DOI: 10.12731/wsd-2014-10-8.
15. Особенности клинического течения раневого процесса в зависимости от способности возбудителя формировать биопленку / В.И. Петухов, В.К. Окулич, Ф.В. Плотноков, С.А. Сенькович // Вестник ВГМУ. 2013. Т. 12, № 4. С. 100-105.

16. Дахер З.Р. Анализ ассоциаций микроорганизмов при остеомиелите трубчатых костей // Интегративные тенденции в медицине и образовании. 2016. № 4. С. 30-31.
17. Nadell C.D., Drescher K., Foster K.R. Spatial structure, cooperation and competition in biofilms // Nat. Rev. Microbiol. 2016. Vol. 14, No 9. P. 589-600. DOI: 10.1038/nrmicro.2016.84.
18. Шипицына И.В., Осипова Е.В. Видовой состав ассоциаций и взаимоотношения микроорганизмов, выделенных из остеомиелитического очага // Новости хирургии. 2021. Т. 29, № 2. С. 183-190.
19. Характеристика межмикробных взаимодействий грамположительной и грамотрицательной ассоциативной микробиоты на примере ассоциации *Pseudomonas aeruginosa* с *Bifidobacterium bifidum* и *Staphylococcus aureus* / В.В. Леонов, Л.В. Леонова, Т.Н. Соколова, Т.Х. Тимохина, А.А. Марков, Я.И. Паромова // Медицинская наука и образование Урала. 2016. Т. 17, № 2. С. 91-94.
20. Zimmerli W., Trampuz A., Ochsner P.E. Prosthetic-joint infections // N. Engl. J. Med. 2004. Vol. 351, No 16. P. 1645-1654. DOI: 10.1056/NEJMra040181.
21. Андреева С.В., Хайдаршина Н.Э., Нохрин Д.Ю. Использование статистических методов в анализе динамики видовой структуры микробных сообществ при ожоговой травме // Лабораторная служба. 2019. Т. 8, № 1. С. 65-72. DOI: 10.17116/labs2019801165.
22. Межвидовое взаимодействие бактерий и образование смешанной (полимикробной) биопленки / А.Н. Маянский, И.В. Чеботарь, Н.И. Евтеева, Е.И. Руднева // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2012. № 1. С. 93-101.
23. Резистентность основных возбудителей инфекции в отделении гнойной остеологии / Н.А. Гординская, Е.В. Сабирова, Н.В. Абрамова, Е.В. Дударева, В.Н. Митрофанов // Вопросы травматологии и ортопедии. 2012. № 1(2). С. 14-17.
24. Бурнашов С.И., Шипицына И.В., Осипова Е.В. Микрофлора операционных ран и свищей у пациентов с хроническим остеомиелитом большеберцовой кости до реконструктивного лечения, при рецидиве инфекции // Клиническая лабораторная диагностика. 2019. Т. 64, № 10. С. 627-631.
25. Otto M. Coagulase-negative Staphylococci as reservoirs of genes facilitating MRSA infection: Staphylococcal commensal species such as *Staphylococcus epidermidis* are being recognized as important sources of genes promoting MRSA colonization and virulence // Bioessays. 2013. Vol. 35, No 1. P. 4-11. DOI: 10.1002/bies.201200112.
26. *Pseudomonas aeruginosa* biofilm infections: Community structure, antimicrobial tolerance and immune response / M. Rybtke, L.D. Hultqvist, M. Givskov, T. Tolker-Nielsen // J. Mol. Biol. 2015. Vol. 427, No 23. P. 3628-3645. DOI: 10.1016/j.jmb.2015.08.016.
27. Чеботарь И.В., Бочарова Ю.А., Маянский Н.А. Механизмы резистентности *Pseudomonas aeruginosa* к антибиотикам и их регуляция // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2017. Т. 19, № 4. С. 308-319.
28. Азнабаева Л.М., Усвятцов Б.Я., Бухарин О.В. Модификация антибиотикорезистентности в условиях микробного симбиоза // Антибиотики и химиотерапия. 2010. Т. 55, № 5-6. С. 14-17.
29. Рыбальченко О.В., Бондаренко В.М., Орлова О.Г. Ультроструктура микробных биопленок при межклеточных взаимоотношениях бактерий в сообществах // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2014. № 4. С. 87-92.
30. Супотницкий М.В. Механизмы развития резистентности к антибиотикам у бактерий // Биопрепараты. 2011. № 2. С. 4-13.
31. Влияние антибактериальных веществ на рост биопленки клинических изолятов / М.А. Сухина, И.А. Калашникова, В.Н. Кашников, А.В. Веселов, В.И. Михалевская, А.Ю. Пиядина // Колопроктология. 2018. № 2. С. 78-84.
32. Biofilms: an extra hurdle for effective antimicrobial therapy / P. Cos, K. Toté, T. Horemans, L. Maes // Curr. Pharm. Des. 2010. Vol. 16, No 20. P. 2279-2295. DOI: 10.2174/138161210791792868.
33. Биопленки возбудителей уроинфекций и использование фторхинолонов / В.В. Тец, Н.К. Артеменко, Н.В. Заславская, Г.В. Тец // Consilium Medicum. 2008. Т. 10, № 4. С. 110-114.
34. Госпитальная микрофлора и биопленки / Н.И. Габриэлян, Е.М. Горская, Н.И. Романова, О.М. Цирульникова // Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2012. Т. 14, № 3. С. 83-91.

Статья поступила в редакцию 27.04.2022; одобрена после рецензирования 12.08.2022; принята к публикации 19.10.2022.

The article was submitted 27.04.2022; approved after reviewing 12.08.2022; accepted for publication 19.10.2022.

#### Информация об авторах:

1. Ирина Владимировна Шипицына – кандидат биологических наук, IVSchimik@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2012-3115>;
2. Елена Владимировна Осипова – кандидат биологических наук, E-V-Osipova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2408-4352>.

#### Information about the authors:

1. Irina V. Shipitsyna – Candidate of Biological Sciences, IVSchimik@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2012-3115>;
2. Elena V. Osipova – Candidate of Biological Sciences, E-V-Osipova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2408-4352>.