

Парапротезная инфекция: перспективы XXI века.

Павлов Виталий Викторович¹, Самохин Александр
Геннадьевич¹, Быкова Елена Владимировна¹, Козлова Юлия
Николаевна², Таранов Олег Святославович³

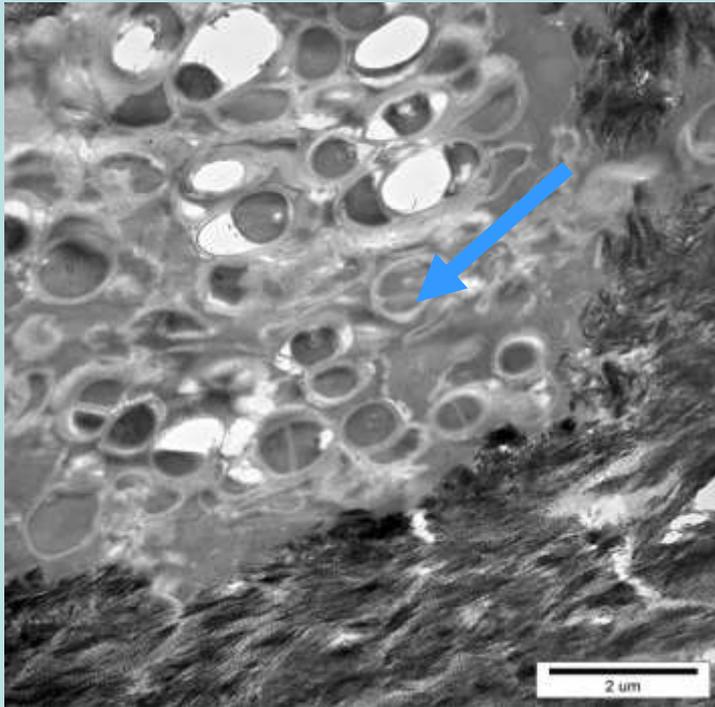
1 - ФГБУ «ННИИТО им. Я. Л. Цивьяна» Минздрава России (г. Новосибирск);

2 - ИХБФМ СО РАН (г. Новосибирск);

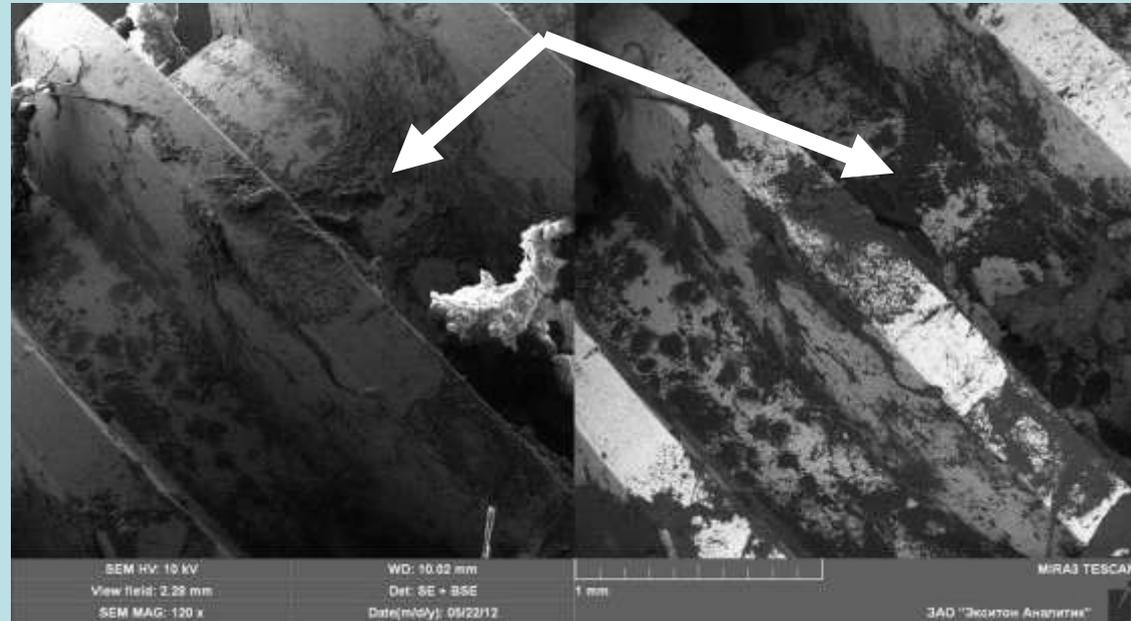
3 – ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (г. Новосибирск)

Новосибирск 2013

Бактериальные биопленки – источник персистирующей инфекции области хирургического вмешательства

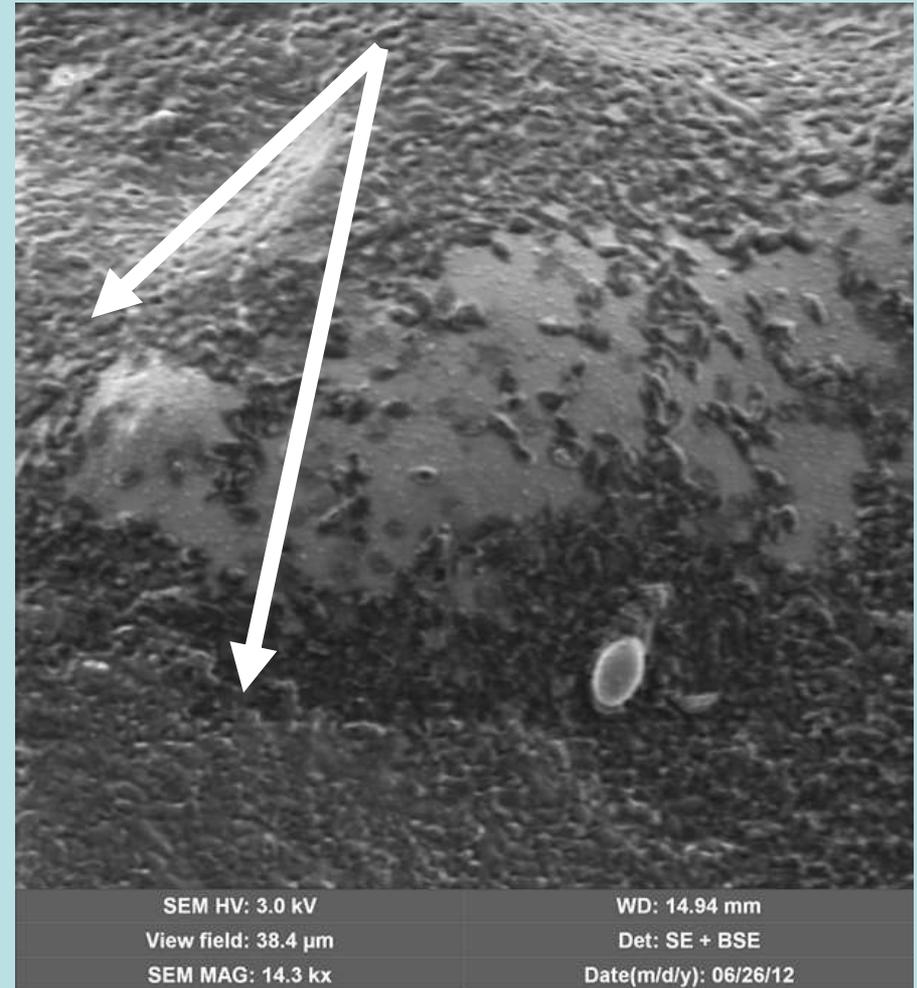
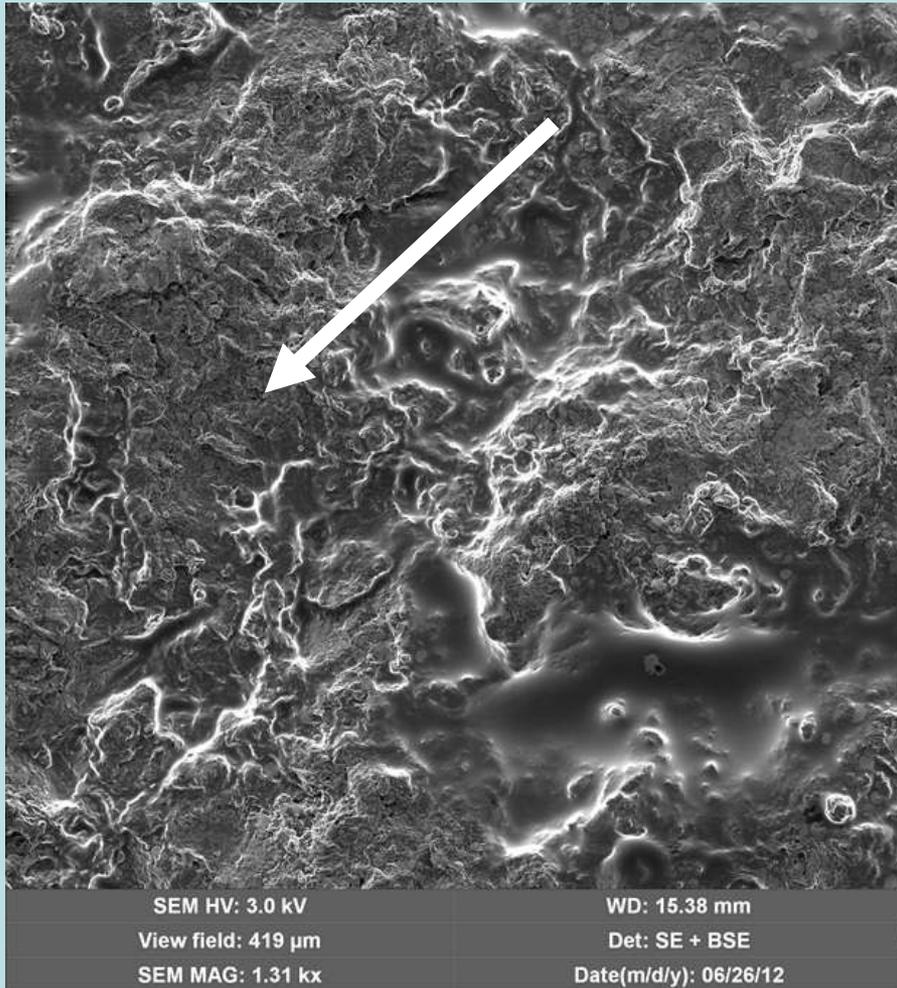


Биопленка, образованная золотистым стафилококком, выделенная с поверхности ортопедического металлоимплантата. Трансмиссионная электронная микроскопия



Биопленка, образованная золотистым стафилококком, на поверхности ортопедического металлоимплантата. Сканирующая электронная микроскопия

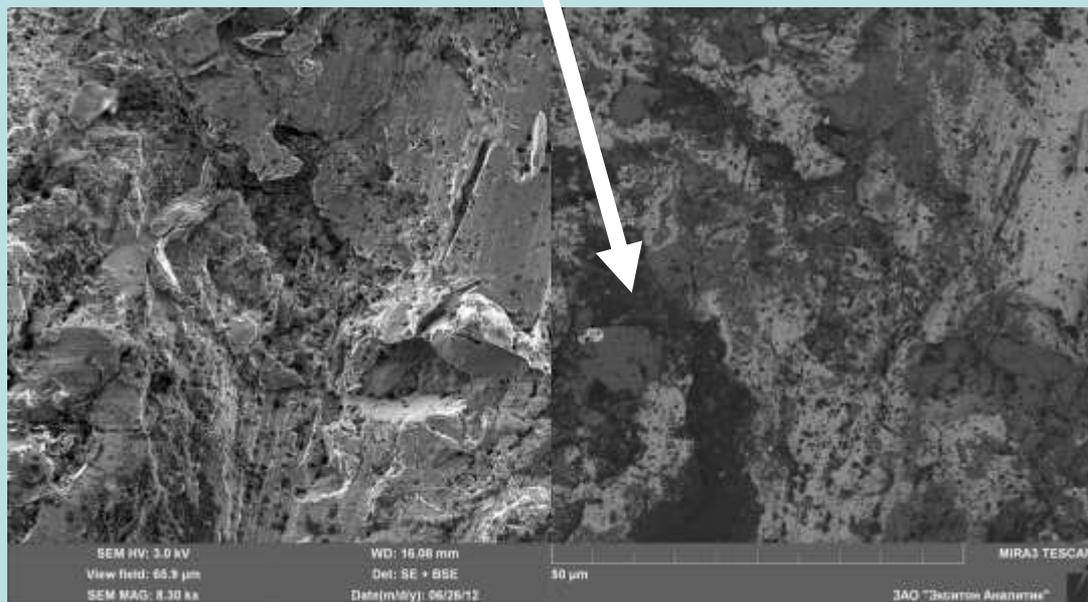
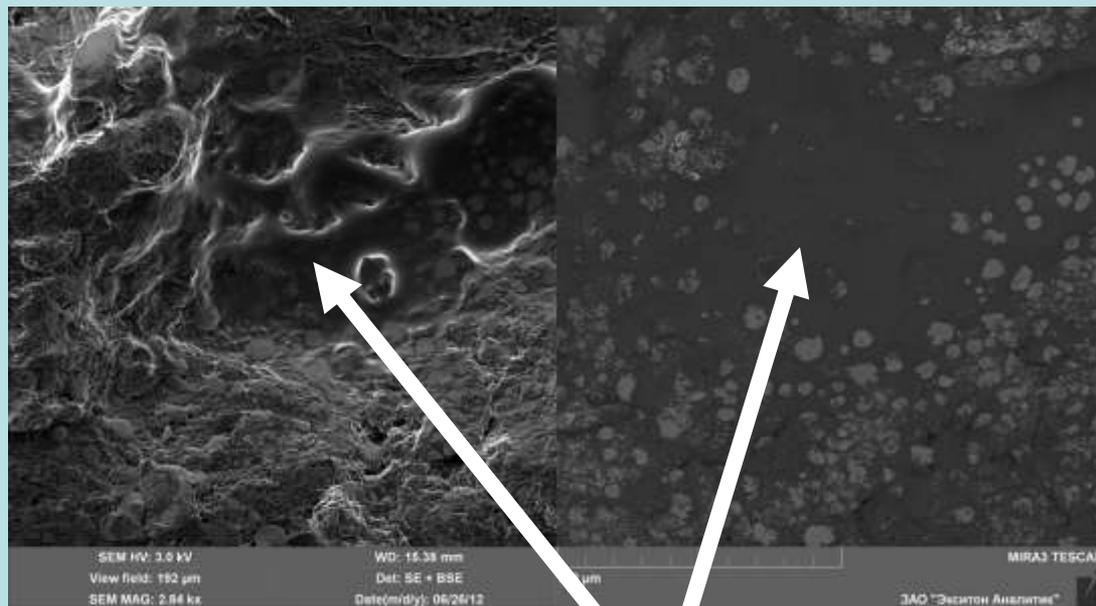
Титановые конструкции также подвержены колонизации



Сплошная колонизация имплантата из титанового сплава (слева) и чистого титана (справа) синегнойной палочкой. Сканирующая электронная микроскопия.

Сплошная колонизация развитых поверхностей имплантируемых конструкций

Сплошная колонизация металлоимплантата (ножка эндопротеза тазобедренного сустава) синегнойной палочкой. Биопленка визуализирована на многочисленных гранях развитой поверхности эндопротеза (слева) и в виде сплошного покрова в детекторе отраженных электронов (справа). Сканирующая электронная микроскопия.



Сплошная колонизация металлоимплантата (ножка эндопротеза тазобедренного сустава) синегнойной палочкой. Биопленка визуализирована в виде гладкой поверхности (слева) и в виде сплошного покрова в детекторе отраженных электронов (справа). Сканирующая электронная микроскопия. 4

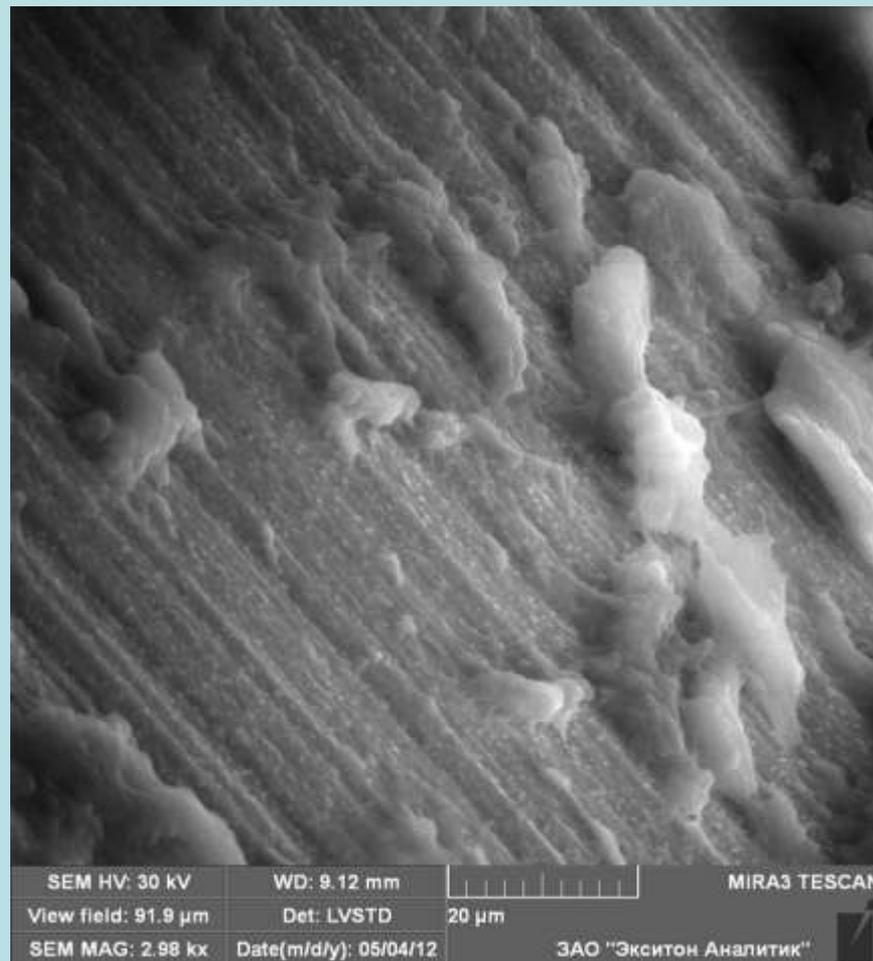
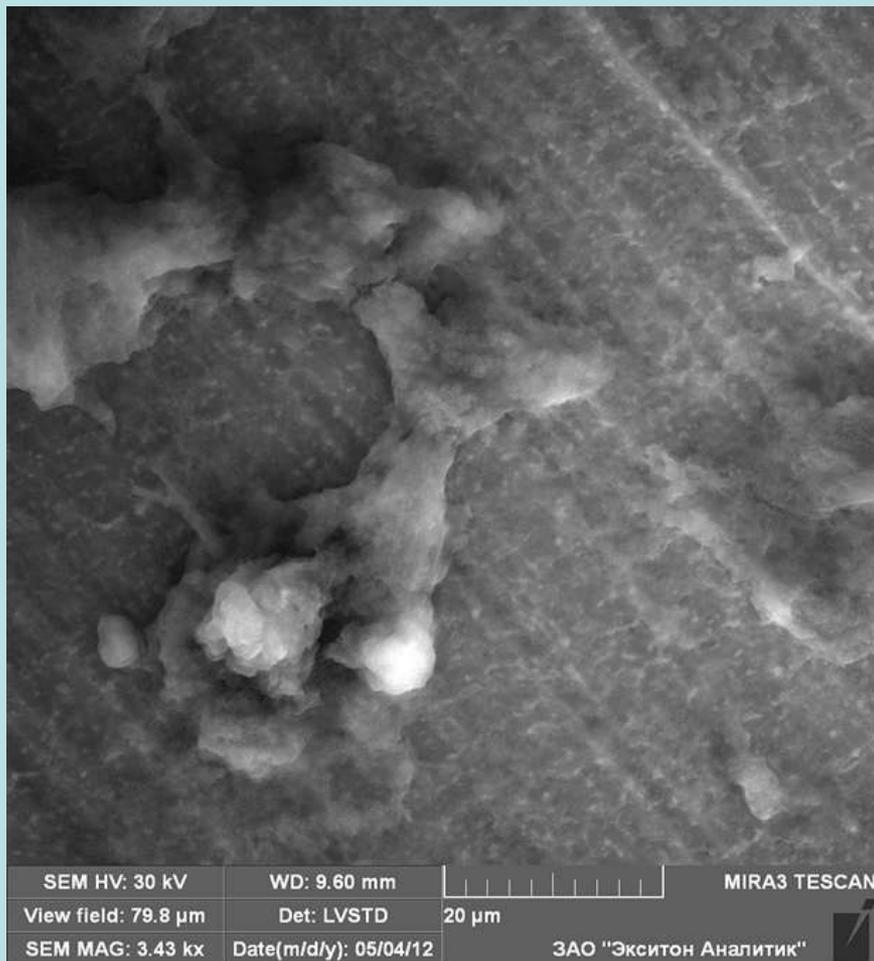
Способы борьбы с биопленками

1. Разрыхление и создание порозности непосредственно самого субстрата биопленки, выполняемое путем физического воздействия (ультразвук), применением комбинированных методов с использованием детергента и специфического либо неспецифического антибактериального агента различной природы, **включая бактериофаги** (Donelli G et al., 2007);
2. Разрушение внеклеточной ДНК бактерий, содержащейся в биопленке (Arciola C.R., 2009);
3. Воздействие на молекулы бактериальной межклеточной адгезии, необходимые для формирования биопленок (Kaplan J.V., 2009; Mack D. et al., 1996);

Способы борьбы с биопленками

4. Влияние на процессы генной регуляции синтеза биопленки (P'ina T.S. et al., 2004, Jefferson K.K., 2004), как объект создания перспективных вакцинопрепаратов и мишеней для таргетной химиотерапии;
5. Естественная регуляция формирования биопленок при помощи синтезируемых и секретируемых бактериями матрикс-деградирующих энзимов.

Колонизация медицинских полимерных имплантатов патогенными микроорганизмами – это реальность!



Биопленка *Ps. aeruginosa* на поверхности полимерного имплантата.
Сканирующая электронная микроскопия.

Действительно ли серебро является панацеей ?

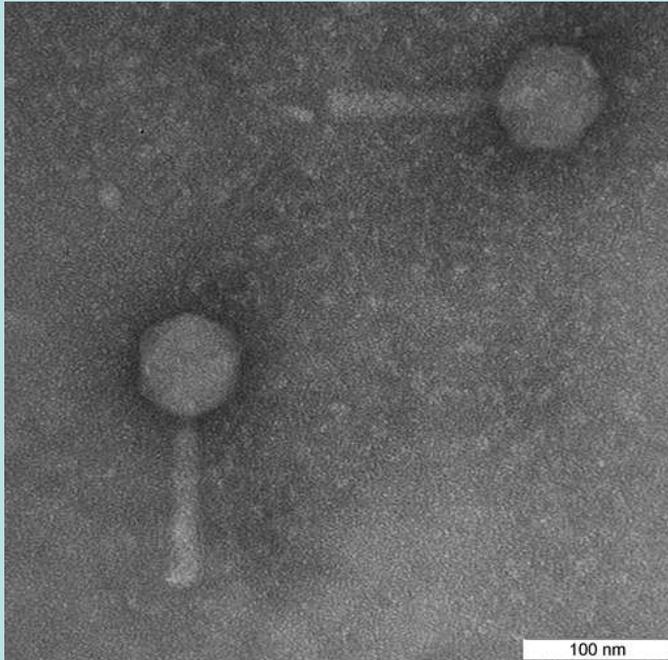
....ряд штаммов *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii* могут обладать доказанной устойчивостью к серебру (Deshpande LM, Chopade BA., 1994; Bridges K et al., 1979).

...ацинетобактерии способны обладать полирезистентной устойчивостью (H. Wisplinghoff et al., 2006).

.....контакт с костной тканью входящего в состав покрытий имплантатов серебра фактически ингибирует процессы остеогенеза (Ahrens H. et al., 2010) и вызывает остеолиз.

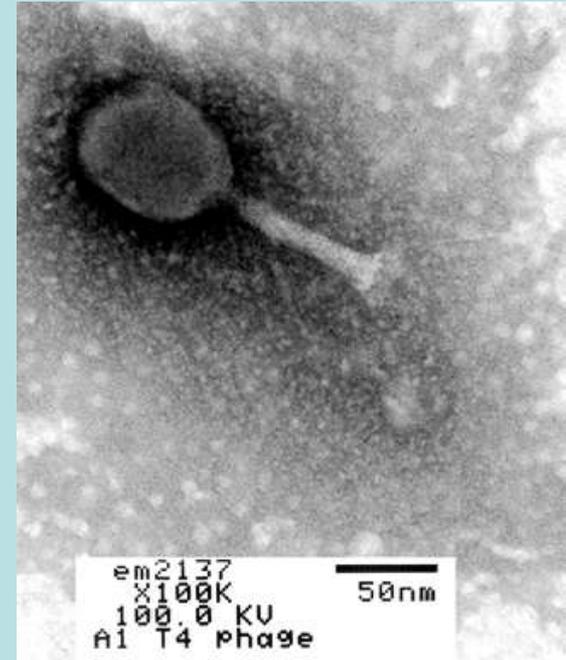
Показана также токсичность ионов серебра с крупным размером частиц – свыше 100 нм (Gorth DJ et al., 2011).

Характеристика бактериофагов



Культивированный нами бактериофаг ph57, активный в отношении *Ps. aeruginosae*

- Наноразмерные объекты (10 - 300 нм);
- Ферментативная активность и связанная с этим способность разрушать гликокаликс бактериальной биопленки;
- Активны в отношении антибиотикорезистентных штаммов бактерий;



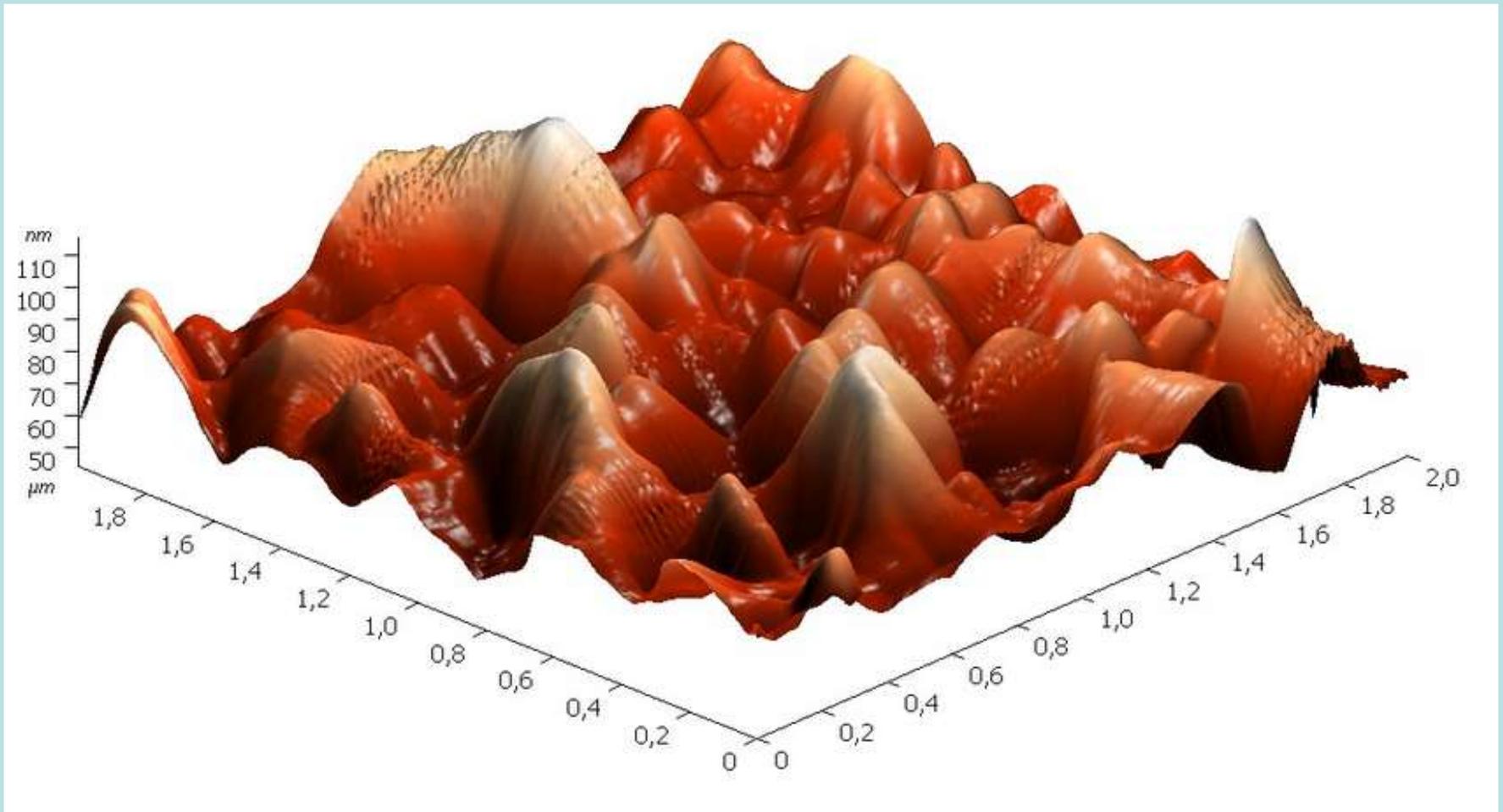
Бактериофаг в момент инфицирования кишечной палочки. Сканирующая электронная микроскопия (из Howard L., 2011).

- Специфичность к инфекционному агенту;
- Нетоксичны для макроорганизма;
- Не вызывают аллергические реакций;
- Не изменяют фармакокинетику других фармпрепаратов.

ПРЕИМУЩЕСТВА БАКТЕРИОФАГОВ ПО СРАВНЕНИЮ С АНТИБИОТИКАМИ

Сравниваемые особенности	Антибиотики	Бактериофаги
Концентрация в инфекционном очаге	Отличается для разных препаратов, зависит от локализации процесса, скорость снижения различна	Постоянно нарастает путем саморазмножения до тех пор, пока есть целевой для фагов микроорганизм, снижается после ликвидации инфекции
Способность проникать в различные ткани	От высокой до крайне низкой для различных препаратов	Крайне высокая
Частота развития вторичной резистентности	От незначительной до очень высокой	Нехарактерно
Профилактическое использование	Малоэффективно, противопоказано	Широко используется
Длительность создания нового препарата	От нескольких лет до десятилетий	От нескольких дней до нескольких месяцев

Полиметилметакрилат, как носитель терапевтических агентов



Атомно-силовая микроскопия фрагмента отвержденного полиметилметакрилата. Хорошо визуализированы многочисленные наноразмерные поры в структуре вещества (полимер), в которых могут быть размещены терапевтические агенты.

Условное моделирование бактериальной инфекции *in vitro*

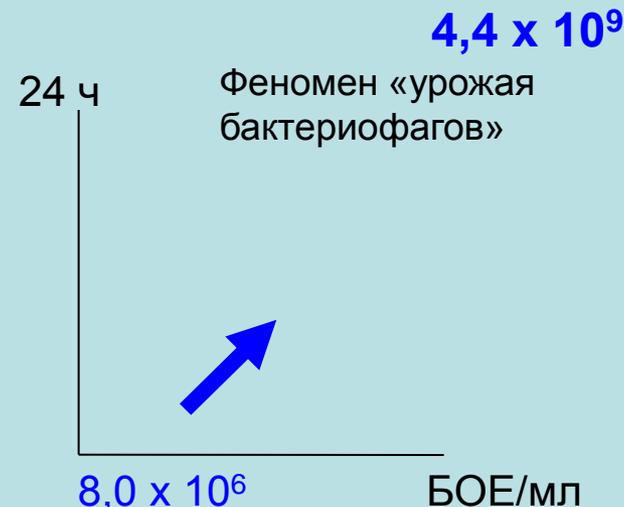
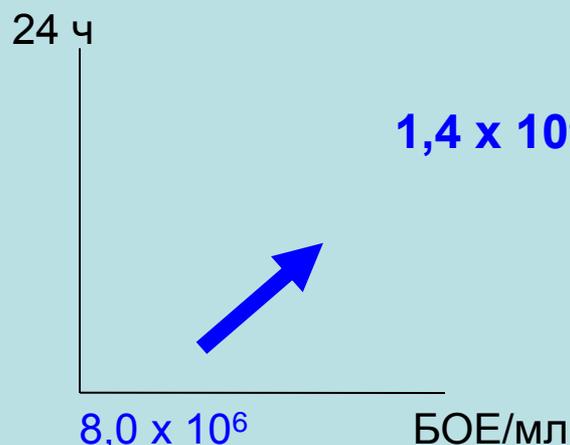
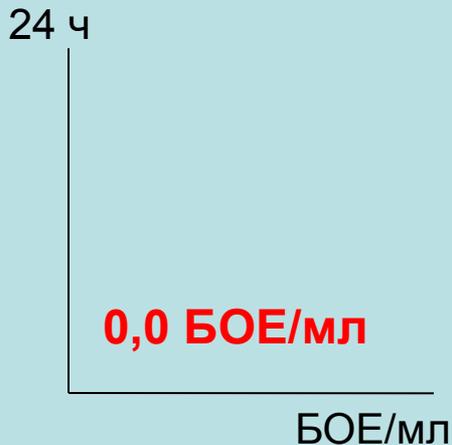
1 2 3



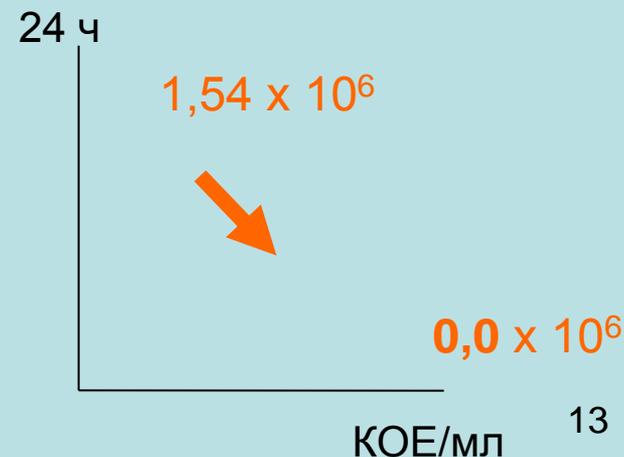
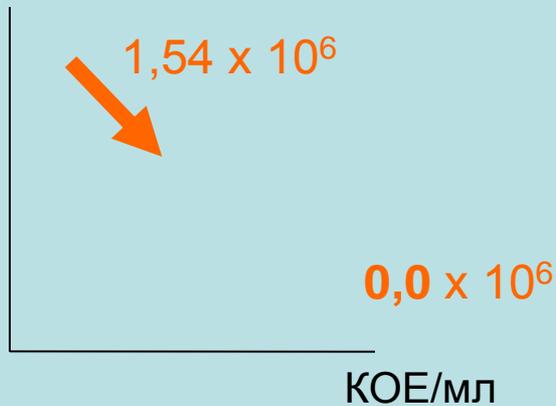
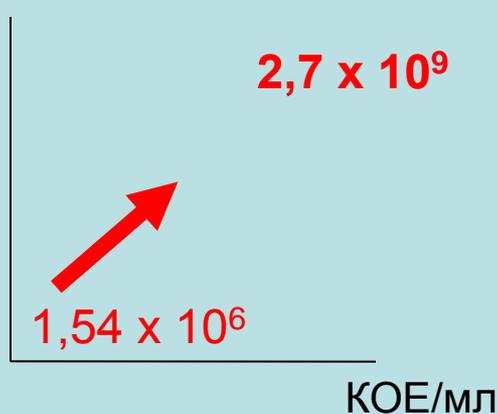
- 1 – исходная культура *Ps. Aeruginosae* без дополнительных компонентов
- 2 – культура *Ps. aeruginosae* с добавлением в раствор подобранного бактериофага pH57
- 3 – Культура *Ps. aeruginosae* с добавлением в раствор отвержденного полиметакрилата, в который импрегнирован бактериофаг pH 57 (патент №2475273)

Изменение концентраций *Ps. aeruginosae* и штамма бактериофага ph57 в течение 24 часов (t=37°C)

Концентрация бактериофага



Концентрация *Ps. aeruginosae*



Перспективы применения общей управляемой гипертермии (ОУГ) при лечении больных с гнойно-септическими состояниями

ОУГ - это вынужденная интенсивная технология

Причина – антибиотикорезистентность.

Из истории: Манфред фон Арденн 1965г..

Институт гипертермии, Дрезден, ФРГ.

Феномены при ОУГ 42,5° – 44,0°С

- Феномен гиперкинетической и гипокинетической фазы гемодинамики,
- Феномен диастолической дистонии,
- Феномен «ЭЭГ – молчания»,
- **Феномен снижения вирулентности микроорганизмов,**
- **Феномен изменения эффекта фармакологических препаратов,**
- Феномен «двойного удара»

И.П. Верещагин,
Новосибирск, 2013 г.

Цитата

«....гипертермия повышает чувствительность клеток к облучению и медицинским препаратам.»

ГИПЕРТЕРМИЯ В СОЧЕТАНИИ С ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИЕЙ И ХИМИОТЕРАПИЕЙ ПРИ ЛЕЧЕНИИ РАКА.

НОВАЯ МНОГООБЕЩАЮЩАЯ ТЕРАПИЯ

С. Малюта, С. Далль Оглио, М. Палацци 2010 г. Университетская больница, Верона, Италия

<http://www.rosoncoweb.ru/library/congress/ru/>

Сочетание общей или локальной гипертермии с антибиотикотерапией

В марте 2010 г. корпорация "Цельсион" (www.celsion.com) сообщила о фазе I/II испытания препарата "ТермоДокс®" (термочувствительный липосомальный доксорубцин) при рецидивном раке молочной железы и раке грудной стенки.

Из доклада на Ежегодном собрании АСКО 2010 г.

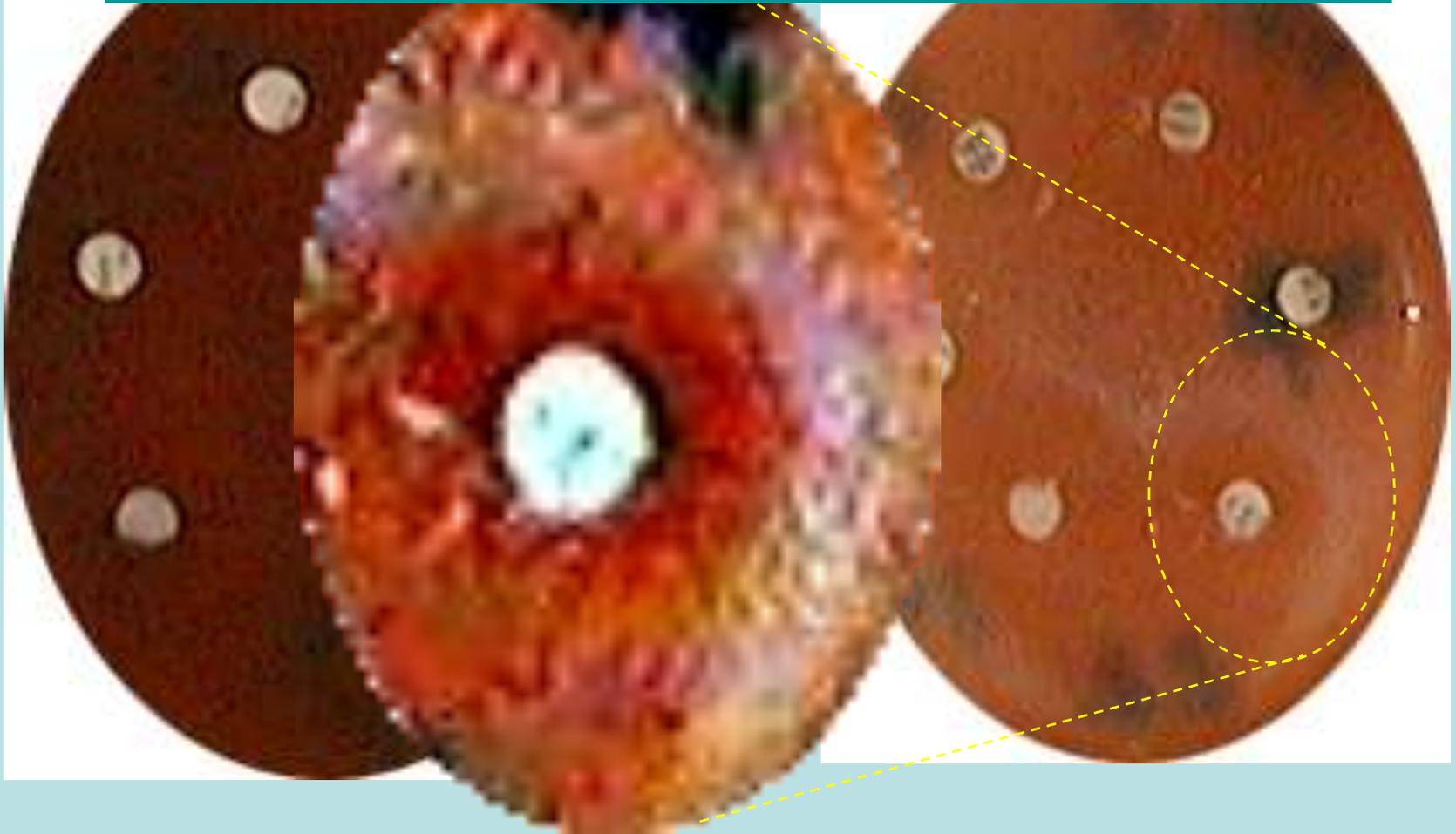
**ГИПЕРТЕРМИЯ В СОЧЕТАНИИ С ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИЕЙ И ХИМИОТЕРАПИЕЙ ПРИ ЛЕЧЕНИИ РАКА.
НОВАЯ МНОГООБЕЩАЮЩАЯ ТЕРАПИЯ**

С. Малюта, С. Далль Оглио, М. Палацци 2010 г. Университетская больница, Верона, Италия
<http://www.rosoncoweb.ru/library/congress/ru/>

Гипотеза

Может ли быть гипертермия
катализатором активности
антибиотиков?

Эксперимент. Штамм *St. aureus* взят у больного с парапротезной инфекцией



t 37°C –
антибиотикорезистентность

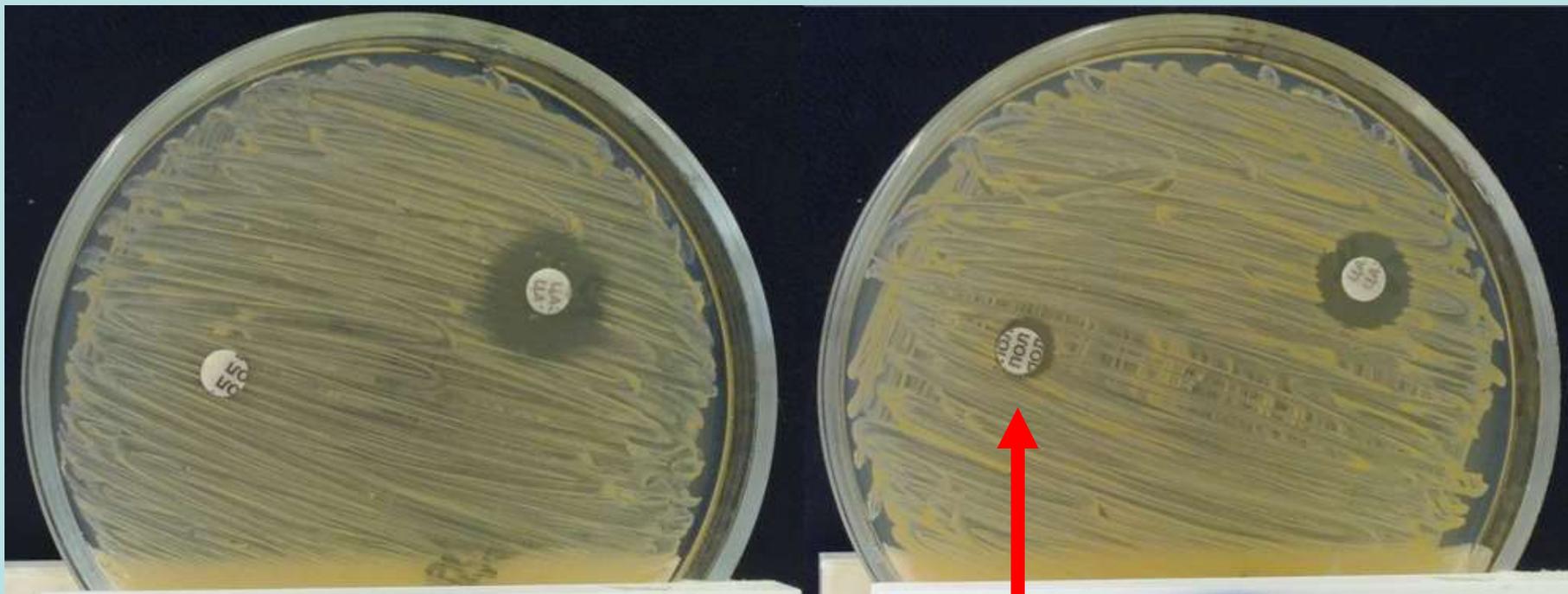
t 42°C – избирательная
антибиотикочувствительность к
Цефазолину

Staphylococcus aureus 33

№п /п	№ ан ти б.	Антибиот ик	37°С		39°С		41°С	
			Зона лизиса (см)		Зона лизиса (см)		Зона лизиса (см)	
1	24	Цефтазид им	14	устойчи вый	16	промежуто чный	13	устойчивы й
2	30	Полимикс ин	0	устойчи вый	9	устойчивый	8	устойчивы й

депонирован в Коллекции экстремофильных микроорганизмов и типовых культур ИХБФМ. Коллекционный № 33.

Эксперимент *in vitro* с культурой *St. aureus* в условиях инкубации при различной температуре



$T=37^{\circ}\text{C}$ –
антибиотикорезистентность к
полимиксину

$T=41^{\circ}\text{C}$ – промежуточная
антибиотикочувствительность к
полимиксину

Pseudomonas aeruginosa *Pseudomonas* *aeruginosa* 38 ATCC 9027

№п/ п	№ ант иб.	Антибиотик	37°C		39°C		41°C	
			Зона лизиса (см)		Зона лизиса (см)		Зона лизиса (см)	
1	22	Цефотаксим	9	устойчивый	10	устойчивый	11	устойчивый
2	24	Цефтазидим	14	устойчивый	15	промежуточный	17	промежуточный
3	10	Амикацин	14	устойчивый	16	промежуточный	13	устойчивый

Депонирован в Коллекции экстремофильных микроорганизмов и типовых культур ИХБФМ. Коллекционный № 38.

Что есть в России?

- **Тайная мудрость человеческого организма Залманов А.**
- **Пути практического использования интенсивного теплолечения. Сувернев А.В., Иванов Г.В., Василевич И.В., Гальченко В.Н. Новосибирск – 2009 г.**
- **«Ксенотемпературы в медицинской практике: от гипотермии к гипертермии» Верещагин И.П., Верещагин Е.И. 2013 г.**
- **Общая управляемая гипертермия высокого уровня. Быкова Е.В, Шевченко В.П. Новосибирск 2005 г**
- **В Санкт Петербурге – проф. Феликс Баллюзек, выпускник ВМА**

Заключение

1. Бактериофаги, импрегнированные в полимерный носитель на основе метакрилата, могут представлять собой эффективный терапевтический комплекс.
2. Применение бактериофагов является эффективным методом для элиминации антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов на поверхности имплантируемых изделий и систем медицинского назначения.
3. «Высокая температура» в эксперименте повышает чувствительность патогенных микроорганизмов к химиотерапевтическим агентам, в том числе для исходно резистентных штаммов, что дает основания ожидать аналогичного эффекта *in vivo*.
4. Гипертермия – перспективный метод лечения имплантат-ассоциированной инфекции.

Благодарю за внимание!

Контакты

Адрес:

г. Новосибирск, ул. Фрунзе, 17

Телефон: +7 (383) 363-31-31

E-mail: niito@niito.ru

pavlovdoc@mail.ru

+ 7 (913) 941 23 10

www.niito.ru

