

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра

Е.Л. Богдан

«» _____ 2025 г.

Регистрационный № 053-1125

**АЛГОРИТМ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ
ИНФЕКЦИИ, ОБУСЛОВЛЕННОЙ ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЕМ,
И ОСЛОЖНЕНИЕМ МЕХАНИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ
ПОСЛЕ ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЯ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: учреждение образования
«Белорусский государственный медицинский университет»

АВТОРЫ: д-р мед. наук, профессор Костюк С.А., канд. мед. наук, доцент
Бенько А.Н., член-корр. НАН Беларуси, д-р мед. наук, профессор
Герасименко М.А., канд. биол. наук, доц. Полуян О.С., Лямцева А.К.,
канд. биол. наук, доц. Руденкова Т.В.

Минск, 2025

В настоящей инструкции по применению (далее – инструкция) изложен алгоритм дифференциальной диагностики инфекции, развивающейся после эндопротезирования коленного или тазобедренного сустава (перипротезной инфекции), и осложнением механического происхождения (асептическая нестабильность эндопротеза) после эндопротезирования, который может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на диагностику осложнений и инфекций, связанных с эндопротезированием.

Инструкция предназначена для врачей клинической лабораторной диагностики, врачей-травматологов-ортопедов, врачей-хирургов, иных врачей специалистов организации здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь пациентам после эндопротезирования в стационарных и (или) амбулаторных условиях, и (или) в условиях отделения дневного пребывания.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ МЕТОДА

T84 Осложнения, связанные с внутренними ортопедическими протезными устройствами, имплантатами и трансплантатами.

T84.0 Осложнение механического происхождения, связанное с внутренним суставным протезом.

T84.5 Инфекция и воспалительная реакция, обусловленные эндопротезированием.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ МЕТОДА

Отсутствуют.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМЫХ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ, РАСХОДНЫХ МАТЕРИАЛОВ И ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

– Набор для аспирации из коленного или тазобедренного сустава.

- Набор пробирок с транспортной средой для бактериологического выявления анаэробов.
- Набор инструментария для артроскопической синовиальной биопсии и трепан-биопсии.
 - Артроскопическая стойка.
 - Набор артроскопического инструментария.
 - Пробирки типа эппендорф объемом 1,5 мл.
 - Холодильник, поддерживающий температуру $(4\pm 2)^{\circ}\text{C}$.
 - Микроскоп биологический.
 - Камера Горяева.
 - Краситель по Романовскому-Гимзе.
 - 0,9% раствор хлорида натрия (NaCl).
 - 3–5% уксусная кислота.
 - Флаконы с 1-% формалином.
 - Тест-система для определения уровня D-лактата.
 - Набор реагентов для определения концентрации глюкозы.
 - Термостат, поддерживающий температуру $(37\pm 1)^{\circ}\text{C}$.
 - Микропланшетный фотометр (спектрофотометр).
 - Питательные среды.
 - Типовая ПЦР-лаборатория.
 - Транспортный раствор для стабилизации ДНК.
 - Гомогенизатор.
 - Автоматические дозаторы переменного объема (от 2 до 20 мкл, от 20 до 200 мкл, от 100 до 1000 мкл).
 - Высокоскоростная центрифуга.
 - Мини центрифуга-вортекс.
 - Термошейкер.

- Деионизированная вода.
- Протеиназа К.
- Фосфатно-солевой буфер.
- 75% этиловый спирт.
- Лизоцим.
- Этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА).
- Наборы реагентов для выделения ДНК из биологического материала.
- ПЦР наборы для выявления ДНК условно-патогенных микроорганизмов.
- Амплификатор.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДА

Схематическое изображение алгоритма дифференциальной диагностики инфекции, обусловленной эндопротезированием, и осложнением механического происхождения, связанного с эндопротезом, представлено в приложении 1 к настоящей инструкции.

Алгоритм дифференциальной диагностики инфекции, обусловленной эндопротезированием и осложнением механического повреждения после эндопротезирования включает следующие этапы:

Этап 1. Получение биологического материала.

В качестве биологического материала используют синовиальную жидкость, синовиальную оболочку, венозную кровь.

1.1. Пункция сустава (трехкратная) под УЗИ или ЭОП навигацией выполняется из полости коленного или тазобедренного суставов с аспирацией из трех разных доступов, через микродоступы 2-4 мм глазным скальпелем. Трепан-биопсия перипротезных тканей эндопротезированного тазобедренного сустава производится из двух

доступов. Первый доступ - через разрез 1-2 см на 3-4 см выше большого вертела в положении приведения и внутренней ротации бедра, направление трепана - параллельно оси бедренной кости. Получение синовиальной оболочки производится антероградно, веерообразно под ЭОП-навигацией на границе бедренная кость – ножка эндопротеза. Второй доступ - переднего малоинвазивный доступ 2-3см в области тазового компонента (чашки эндопротеза).

В области компонентов эндопротеза коленного сустава трепан-биопсия производится из микродоступов 1-2см, под ЭОП-навигацией, на границе феморальный компонент/цемент/кость и тиббиальный компонент/цемент/кость медиально и латерально полыми фрезами диаметром 4, 5, 6мм или биопсийным трепаном.

1.2. Артроскопическая синовиальная биопсия выполняется с помощью биопсийных кусачек или ронжона через стандартные артроскопические порты. Осуществляется забор синовиальной оболочки и перипротезных тканей. Вторым этапом под артроскопической и ЭОП навигацией выполняется трепан-биопсия на границе цемент – кость в области бедренного и большеберцового компонентов эндопротеза коленного сустава. Полученный патогистологический материал помещается в стерильные контейнеры. Синовиальную жидкость вносят в пробирку типа эппендорф объемом 1,5 мл, фрагменты синовиальной оболочки (ткани) – в пробирку типа эппендорф объемом 1,5 мл содержащую 200 мкл транспортной среды. В случае невозможности проведения немедленного анализа, пробирки замораживают и оставляют для хранения при температуре -18°C до 14 дней. Не допускается повторное замораживание биологического материала перед лабораторным исследованием.

1.3. Венозная кровь забирается венепункцией, натошак, в

пробирку с фторидом натрия и антикоагулянтом с целью последующего определения содержания глюкозы.

Этап 2. Микроскопическое исследование синовиальной жидкости.

Микроскопическое исследование проводится с подсчётом общего количества лейкоцитов (камера Горяева) и дифференциальной микроскопии окрашенного мазка (окраска по Романовскому-Гимзе). Синовиальная жидкость предварительно центрифугируется при 250 g в течение 10 минут. Для подсчёта клеток в камере Горяева производится разведение жидкости 0,9% NaCl с добавлением уксусной кислоты для лизиса эритроцитов.

Расчёт концентрации лейкоцитов в 1 мкл производится по формуле: Концентрация (клеток/мкл) = (Общее количество клеток / Количество подсчитанных квадратов) × Коэффициент разведения × 10.

Для подсчёта процентного соотношения клеток (синовиоцитограммы) осадок переносится на предметное стекло и готовится тонкий мазок, высушивается и окрашивается по Романовскому-Гимзе. Подсчитывается 100 клеток в мазке и рассчитывается процентное содержание нейтрофилов.

Этап 3. Патогистологическое исследование.

Патогистологическое исследование биопсийного материала проводится в соответствии с инструкцией «О порядке проведения патологоанатомического исследования», утвержденной Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь 07.05.2021 №46.

Этап 4. Биохимическое исследование.

4.1. Определение содержания глюкозы в сыворотке крови проводится общепринятыми методами с использованием,

зарегистрированных в Республике Беларусь тест-систем на микропланшетном фотометре (используя светофильтр 505 и 570 нм). Образцы центрифугируются при 1500 g в течение 10 минут для получения сыворотки крови.

4.2. Определение концентрации D-лактата в синовиальной жидкости проводится с использованием, зарегистрированных в Республике Беларусь тест-систем на микропланшетном фотометре (используя светофильтр 505 и 570 нм). Оптимальный пороговый уровень D-лактата, позволяющий дифференцировать инфекционную природу воспаления, обусловленную эндопротезированием от осложнения механического происхождения после эндопротезирования, составляет 1,2 ммоль/л.

4.3. Определение концентрации глюкозы в синовиальной жидкости и в сыворотке крови проводится с использованием, зарегистрированных в Республике Беларусь тест-систем на микропланшетном фотометре (используя светофильтр 505 и 570 нм). Оптимальный пороговый уровень глюкозы, позволяющий дифференцировать инфекцию, обусловленную эндопротезированием, от осложнения механического происхождения после эндопротезирования, составляет менее 2,7 ммоль/л. При инфекции, обусловленной эндопротезированием, – уровень глюкозы в синовиальной жидкости снижается, при осложнении механического происхождения после эндопротезирования – уровень глюкозы в синовиальной жидкости сопоставим с уровнем в сыворотке крови.

Этап 5. Бактериологическое исследование.

Материалом для исследования служит синовиальная жидкость и/или синовиальная ткань. Выполняется посев на плотные питательные среды, инкубация 24-48 часа при температуре 35-37°C при 5% CO₂ с

дальнейшей идентификацией колоний возбудителей.

Бактериологическое исследование материала от пациентов проводится в соответствии с Инструкцией по применению Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 19.03.2010 №075-0210 «Микробиологические методы исследования биологического материала».

Этап 6. ПЦР в режиме реального времени.

При использовании молекулярно-биологического метода, основанного на полимеразной цепной реакции (ПЦР), в ходе диагностики перипротезной инфекции суставов, биологическим материалом служат – синовиальная жидкость, фрагменты синовиальной оболочки.

6.1. Синовиальную жидкость в объеме 500 мкл центрифугируют при 2500 g в течение 10 минут, полученный осадок ресуспендируют в 100 мкл деионизированной воды.

6.2. К полученной смеси добавляют 10 мкл протеиназы К в концентрации 1 мкг/мкл, тщательно перемешивают на мини центрифуге-вортексе при 180 g в течение 10-20 с и полученную смесь инкубируют при температуре 37°C в течение 10 минут.

6.3. Проводят серию отмывок: с использованием фосфатно-солевого буфера, 75% этилового спирта в объеме по 500 мкл при 2500 g в течение 10 минут с последующим удалением надосадочной жидкости.

6.4. К полученному таким образом осадку добавляют 5 мкл лизоцима для разрушения клеточной стенки бактерий в концентрации 0,32 мкг/мкл и 5 мкл 5% ЭДТА, тщательно перемешивают на мини центрифуге-вортексе при 180 g в течение 10-20 с,

6.5. Смесь инкубируют при температуре 37°C в течение 20 минут. Подготовленные указанным способом образцы используют для

последующей экстракции ДНК коммерческим набором реагентов.

6.6. Для выделения ДНК из фрагментов синовиальной оболочки применяют предварительную гомогенизацию в течение 3 минут (частота 10/с) с участием гомогенизатора с последующей экстракцией коммерческим набором реагентов в соответствии с прилагаемой инструкцией. Выделенные образцы ДНК хранят при -18°C .

6.7. Для качественного и количественного выявления ДНК условно-патогенных возбудителей семейства *Enterobacteriaceae*, родов *Staphylococcus*, *Streptococcus*; определение генетических маркеров антибиотикорезистентности микроорганизмов используют зарегистрированные в Республике Беларусь диагностические ПЦР-наборы. Интерпретация результатов анализа должны выполняться строго в соответствии с инструкцией изготовителя набора реагентов.

6.8. Видовую дифференциацию методом ПЦР в режиме реального времени осуществляют в соответствии с Инструкцией по применению Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 27.04.2018 № 034-0418 «Метод выявления условно-патогенных микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae*, родов *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Pseudomonas* и их повидовая идентификация».

Этап 7. Принятие управленческого решения

Диагноз «Инфекция, обусловленная эндопротезированием» устанавливается на основании наличия у пациента одного или нескольких показателей:

– в синовиальной жидкости количество лейкоцитов более 2000 клеток/мкл, относительное содержание нейтрофилов (%) выше 70%;

– в синовиальной жидкости уровень D-лактата более 1,2 моль/л;

– в синовиальной жидкости уровень глюкозы менее 2,7 ммоль/л и отношение уровня глюкозы в синовиальной жидкости к ее уровню в сыворотке крови составляет менее 50%;

– выраженная воспалительная инфильтрация (в инфильтрате преобладают нейтрофилы), обнаружение микроорганизмов по результатам патогистологического исследования;

– положительный результат бактериологического метода (наличие роста микроорганизмов на питательных средах) и/или положительный результат ПЦР (выявлении специфического фрагмента ДНК возбудителя).

Диагноз «Осложнение механического происхождения, связанное с внутренним суставным протезом» устанавливается на основании наличия у пациента следующих показателей:

– в синовиальной жидкости количество лейкоцитов менее 2000 клеток/мкл, относительное содержание нейтрофилов (%) меньше 70%;

– в синовиальной жидкости уровень D-лактата менее 1,2 ммоль/л;

– в синовиальной жидкости уровень глюкозы более 2,7 ммоль/л и отношение уровня глюкозы в синовиальной жидкости к ее уровню в сыворотке крови составляет 50% и более;

– реакция на инородное тело (в воспалительном инфильтрате преобладают макрофаги), образование фиброзной капсулы вокруг эндопротеза по результатам патогистологического исследования;

– отрицательный результат бактериологического метода (отсутствие роста микроорганизмов на питательных средах) и/или отрицательный результат ПЦР (отсутствие специфического фрагмента

ДНК возбудителя).

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ

1. Ошибки, связанные с нарушением правил забора, транспортировки, хранения биологического материала и выполнения лабораторных исследований. Для предупреждения ошибок этой группы необходимо тщательно соблюдать правила работы с биологическим материалом и инструкции по проведению лабораторных исследований.

2. Ошибки при выполнении собственно лабораторных исследований, связанные с несоблюдением протоколов исследований, использованием реагентов, утративших активность, загрязнением исследуемых образцов продуктами реакций и др. Для предупреждения таких ошибок необходимо соблюдать протоколы исследований, контролировать годность реагентов, использовать контрольные материалы и образцы.

3. Ошибки, связанные с неправильной интерпретацией полученных результатов. Для предупреждения ошибок в интерпретации результатов лабораторных исследований необходимо обучение и повышение квалификации специалистов.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1
к инструкции по применению
«Алгоритм
дифференциальной
диагностики инфекции
обусловленной
эндопротезированием и
осложнением механического
происхождения»

**Алгоритм дифференциальной диагностики инфекции,
обусловленной эндопротезированием и осложнением механического
происхождения**

