

Применение масс-спектрометрии микробных маркеров в диагностике посттравматических артритов коленных суставов у детей

Е.С.ПРОХОРОВА, Д.Ю.ВЫБОРНОВ

Mass spectrometry of microbial markers in diagnostics of posttraumatic arthritises of knee joints in children

Ye.S.PROKHOROVA, D.Yu.VYBORNOV

Российский государственный медицинский университет им. Н.И.Пирогова

С целью определения маркеров потенциальных возбудителей посттравматических гонарtritов у детей было проведено исследование пунктата коленного сустава и крови из локтевой вены при помощи химического анализа методом газовой хроматографии – масс – спектрометрии в режиме масс-фрагментографии (ГХ-МС-МФ). Это позволило выявить увеличение концентрации бактериальных маркеров преимущественно кишечной микрофлоры в пунктате коленного сустава. Установлено, что травма коленного сустава, являясь стрессорным фактором для организма, предрасполагает к эндогенному инфицированию суставной среды, что приводит к развитию посттравматического артрита сразу после повреждения.

Ключевые слова: коленный сустав, посттравматический артрит, транслокации микрофлоры, микробные маркеры, газовая хроматография – масс-спектрометрия

To identify the markers of possible activators of posttraumatic gonartritises in children a research study of knee joint puncture samples and cubital vien blood samples was performed with the help of gas chromatography–mass spectromerty and mass fragmentography assay (GC-MS-MF). An increase of bacterial markers concentration of mainly gut organisms in knee joint punctates was identified. Thus, a traumatic injury of a knee joint is a stress factor for an organism and contributes to an endogenic infection of a knee joint and development of a posttraumatic arthritis immediately after the injury.

Key words: knee joint, posttraumatic arthritis, bacterial translocation, microbial markers, gas chromatography, mass-spectrometry

Общее количество повреждений коленного сустава (КС), по данным некоторых авторов, составляют от 5 до 25 % всех травм опорно-двигательного аппарата, получаемых детьми [8, 15, 22, 41]. При этом закрытые его повреждения составляют 5,7-7% всех стационарных больных [16, 17, 23].

Разнообразие видов травм КС, особенности клинических проявлений в детском возрасте, требуют тщательного дифференцированного подхода к диагностике и лечению закрытых повреждений КС, особенно, когда речь идет о внутрисуставных повреждениях, в противном случае, возникают осложнения, приводящие к нарушению его функций. [1,4,10,11,12,18,24,25,27,28,29,30,36,40].

Наличие пространственного фактора, образующего определенную отграниченную зону КС в период как повреждения, так и репарации, является одной из принципиальных характеристик внутрисуставного посттравматического воспалительного процесса. Этот фактор предрасполагает к переходу воспалительного процесса в хроническую форму, также как и наличие в полости сустава оторванного костно-хрящевого фрагмента, постоянно ущемляющейся жировой подвески и других, патологически измененных структур, способствуют формированию рецидивирующих и хрониче-

ских посттравматических синовитов [2, 8, 9, 13, 14, 15, 21].

Бактериологическое исследование при синовитах обычно проводят с использованием посева пунктата из КС на питательные среды для выявления роста микроорганизмов с последующей идентификацией в чистой культуре (в аэробных, анаэробных условиях). Основным недостатком этого метода является невысокая частота выделения культуры, т. е. его низкая чувствительность. Даже при использовании последних достижений биотехнологии (высокочувствительных анализаторов гемокультур и многокомпонентных питательных сред) рост культуры можно получить лишь при наличии в исследуемом материале жизнеспособных бактерий. Кроме того, длительные сроки исполнения отдалают начало адекватной терапии.

Применяемый в последние годы способ ДНК-гибридизации обладает высокой чувствительностью, но является узко специфичным и может лишь подтвердить или исключить одну из предполагаемых версий об этиологии инфекции, но не позволяет идентифицировать микроорганизмы при неизвестном возбудителе инфекционного процесса [43,44,48].

Для диагностики аналога синовиальной жидкости (СЖ) – асцитической жидкости, применен метод, основанный на определении содержания коротко-

цепочечных жирных кислот - метаболитов анаэробных микроорганизмов. Его достоинством является высокая точность диагностики инфицированности содержимого анаэробными микроорганизмами, а недостатками – низкая специфичность, невозможность количественной оценки содержания отдельных видов микроорганизмов.

Перспективным выглядит метод газовой хроматографии, в сочетании с масс-спектрометрией, который позволяет получить информацию о наличии в биологическом материале мономерных химических компонентов микробной клетки и ее метаболитов [3, 19, 33]. Выявление широкого спектра возбудителей инфекции осуществляется без предварительного посева исследуемого биологического материала [5, 20, 31]. В частности, в упоминавшейся асцитической жидкости при спонтанном бактериальном перитоните, где была экспериментально подтверждена транслокация в брюшину большого числа микроорганизмов, в том числе специфичных для кишечной микробиоты [7].

Целью настоящей работы явилась попытка выявления этим методом микробных агентов посттравматических артритов у детей посредством параллельного измерения концентрации их маркеров в синовиальной жидкости и крови.

Материалы и методы

За 2008-2009 гг. в отделении травматологии и ортопедии ДГКБ №13 им. Н.Ф.Филатова (г. Москва) было выполнено 167 артроскопий детям с различной патологией КС. Средний возраст пациентов составил 13,5 лет. Травмировался чаще правый КС в равных между собой по частоте поражения группах мальчиков и девочек. Обследование пациентов начиналось с выяснения жалоб и сбора анамнеза.

Было отмечено, что острая травма составила 49%, тогда как при обращении пациентов с хроническими состояниями в 11% случаев установить причину заболевания не удалось. В структуре повреждений выявлено значительное преобладание уличного травматизма и прямого механизма травмы. Клиническая картина при повреждениях различной давности и заболеваниях КС имела значительный полиморфизм. Кроме того, часто различные виды повреждений симулировали друг друга, так что точная клиническая верификация диагноза порой являлась весьма затруднительной. По симптомам проявления посттравматического артрита у больных были выделены следующие группы детей: с гемартрозом – 57, с синовитом – 51, с симптомами артрита и преходящих блоков КС – 59.

Всем детям было проведено комплексное обследование, включавшее в себя общеклиническое, лабораторные и инструментальные (R-графия, МРТ, КТ) методы, завершавшееся артроскопией. На доартроскопическом этапе диагностики данные обследований порой имели значительные расхождения, а проведение артроскопии позволило выявить патологический суб-

страт только у 77,2% пациентов, в то время как у 22,8% пациентов макроскопической причины синовита выявлено не было. Посевы СЖ на среды давали отрицательный результат, а гистологическое исследование биоптатов синовиальной оболочки выявило только общие признаки, характерные для воспалительного процесса (клеточная пролиферация, лимфогистиоцитарная инфильтрация, гиперплазия ворсин синовиальной оболочки). Забор гистологического материала производился из разных областей сустава вне зависимости от локализации травмы, в то время как проявления воспалительного процесса были обнаружены во всех областях.

Детям с различными симптомами проявления посттравматического артрита (n=20, случайная выборка) с целью обнаружения химических компонентов – маркеров потенциальных возбудителей, содержащихся в данном биологическом субстрате, было произведено исследование пунктата КС и крови из локтевой вены при помощи химического анализа методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии в режиме масс-фрагментографии (ГХ-МС-МФ) по стандартной методике.

Маркерами возбудителей являются высшие жирные кислоты, альдегиды и стеролы - продукты распада микробных клеток вследствие их фагоцитоза, собственного автолиза отживших клеток и естественного лизиса микробных клеток ферментами. Универсальность метода ГХ-МС в отношении вида биологической пробы, возможность количественной оценки содержания маркера и экспрессность анализа являются отличительными признаками метода. Методика разработана в расчете на определение широкого круга микробных маркеров (более 200 веществ) а, следовательно, и возбудителей воспалительных процессов и инфекций.

Результаты и их обсуждение

В СЖ больных были обнаружены разветвленные жирные кислоты, гидрокси-кислоты, специфические ненасыщенные и циклопропановые кислоты, жирные альдегиды, характерные для клеточных стенок и мембран микроорганизмов. На рисунке 1 показан участок масс-фрагментограммы СЖ по иону 87, специфичному для большей части жирных кислот. На этом участке визуально можно видеть, что в СЖ (по сравнению с кровью) выше концентрация маркера общей микробной нагрузки – пальмитолеиновой кислоты, маркеров клостридий, родококков, дрожжей кандиды. Пик репера – маргаиновой кислоты – при этом одинаков.

Расчетные данные состава микробиоты биопленки сустава, реконструированные по концентрации микробных маркеров в СЖ, приведены в усредненном виде на рисунке 2, где показано в численном и графическом виде изменение микробной колонизации сустава по сравнению с СЖ пациентов без признаков инфекции. Эти изменения носят регулярный характер

избыточного роста бактерий (инфекции) более чем в 60% случаев, поэтому мы ограничиваемся рассмотрением усредненных данных, не перегружая объем изложения конкретными измерениями 62 маркеров в СЖ и крови 20 детей и расчетными данными реконструкции микробиоты.

Общим признаком большей части пациентов являлось более чем двукратное (до двух порядков в отдельных случаях) превышение концентраций маркеров кишечных анаэробов: клостридий группы *Clostridium ramosum*, лактобацилл, эубактерий (род *Eubacterium*) и пропионобактерий, а также актинобактерий *Nocardia* и дрожжей кандиды. Менее выражено участие в инфекционном процессе других анаэробов: *Actinomyces viscosus*, *Streptococcus mutans*, *S. perfringens*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Prevotella*. Несколько меньше аэробов - стафилококков, стрептококков, энтерококков, руминококков. В смешанной инфекции принимали участие также грамотрицательные микроорганизмы семейства *Enterobacteriaceae* (*E. coli*, *Proteus*, *Klebsiella*) и другие – у них общие маркеры в ранге семейства), бактерии родов *Moraxella/Acinetobacter*, *Fusobacterium/Naemophylus*, *Helicobacter*. Однако их численность была на два порядка ниже, чем у доминирующей группы. Другие грамотрицательные бактерии, такие как представители родов *Stenotrophomonas*, *Neisseria*, *Bacteroides*, *Burkholderia*, не превышали уровня клинической значимости или предела детектирования. Клинически значимый уровень превышали маркеры известных патогенов - *Pseudomonas aeruginosa*, *Alcaligenes*, *Staphylococcus*, *Enterococcus* и другие «рис. 2».

Параллельный с СЖ анализ крови детей из основной группы обследованных (N=14) на микробные маркеры показал во всех случаях, кроме одного, дефицит колонизации организма (что относится в основном к кишечной микробиоте) при регулярном избыточном росте маркеров *Eubacterium lentum* и в большинстве случаев группы *Moraxella/Acinetobacter* и энтерококков. Прямой корреляции изменения концентрации маркеров в крови с маркерами в СЖ не обнаружено. Состав и расчетная численность микроорганизмов были индивидуальны для каждого обследованного и по-разному соотносились в СЖ и крови одного и того же ребенка. В некоторых случаях суммарная концентрация маркеров микроорганизмов в СЖ была меньше, чем в крови, что не дает основания говорить об их источнике в области сустава. Однако при сравнении численности отдельных микроорганизмов можно видеть, что некоторых из них больше в СЖ по абсолютной величине; численность же других было неадекватно выше, чем в крови. На рисунке 3 приведен пример сопоставления относительного количества микроорганизмов (в процентах от суммы) рассчитанных по концентрации микробных маркеров в СЖ и крови. Сопоставление относительного содержания микроорганизмов в суставе и кишечнике (реконструкция

по синовиальной жидкости и крови, соответственно) показало, что в суставе относительно больше клостридий (*Clostridium ramosum*), нокардий и стрептококков, дрожжей кандиды, актинобактерий *Streptomyces* и цитомегаловируса – они являлись главными агентами воспаления сустава (численность 106–108 клеток/мл). Минорную группу (численность 105–106 клеток/мл) составили бактерии, которых обычно выявляют посевом на искусственные среды – *Acinetobacter*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Alcaligenes*, *Staphylococcus* и другие. Это означает, что в зоне СЖ имелся источник маркеров этих бактерий, то есть сустав был ими колонизован.

С другой стороны, в двух пробах концентрация маркеров микроорганизмов оказалась на порядок ниже, чем в крови при отсутствии ассиметрии маркеров. Эти данные были приняты в качестве нормы.

Как показывает предварительный анализ экспериментальных измерений, выявлять агент воспаления при синовитах следует по абсолютному превышению расчетной численности микроорганизмов в суставе (по маркерам в СЖ), по сравнению с фоном микробиологического статуса (по маркерам в крови) и по соответствующим относительным изменениям. Относительные изменения численности отдельных микроорганизмов в суставе – диспропорция в сравнении с их профилем в общем микробиологическом статусе достигает сотен раз для стрептококков, десятки раз для клостридий и нокардий. В несколько раз выше в СЖ, по сравнению с кровью, относительная концентрация маркеров бактерий родов *Moraxella/Acinetobacter*, *Fusobacterium/Naemophylus* и *Clostridium perfringens*. Такие изменения были характерны для большинства обследованных пациентов. У некоторых детей при гонартритах наблюдалось увеличение концентрации до десяти и более раз маркеров *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Eubacterium lentum*, *Campylobacter mucosalis*, хеликобактера, превоцелл, и дрожжей кандиды (рис. 3).

Случаев относительного увеличения численности бактерий семейства *Enterobacteriaceae* (*E. coli*, *Klebsiella* и другие) и золотистого стафилококка не обнаружено. Кратность увеличения численности клостридий группы *Clostridium ramosum* составила два-четыре раза. Это не много, по сравнению с другими потенциальными возбудителями инфекции сустава, но их абсолютная численность в среднем была на порядок выше, чем стрептококков. Такой избыточный рост отдельных микроорганизмов чреват образованием вирулентных штаммов. По той же причине инфекционную угрозу могут представлять также эубактерии, лактобациллы, бифидобактерии и пропионобактерии, поскольку концентрация их маркеров в СЖ при повреждении в несколько раз превышала фоновую (рис. 2).

Следует отметить, что более низкие показатели маркеров (3-5 тыс.) отмечались в остром периоде трав-

мы (до 7 суток) при наличии в полости сустава синовиального выпота. Максимальные показатели (17-20 тыс.) были выявлены в остром периоде травмы при геморрагическом выпоте и в отдаленном периоде при синовитах. Кроме того, большое количество маркеров (17219) обнаружено при небольшой давности процесса, но при наличии постоянного раздражающего фактора в КС (патология тела Гоффа). Также отмечено выраженное нарастание показателей (маркеров микроорганизмов) с течением времени. При сроках с момента травмы больше 20 дней показатели при гемартрозе (17199, 19049) в несколько раз превышали таковые при синовите (4867). Выявлена зависимость уровня маркеров от объема травмы сустава: при 3-х дневной давности заболевания, но обширном повреждении, выявлены большие, чем при 5-ти дневной, показатели.

Т. о., можно отметить, что, чем обширнее повреждение, тем больше показатель масс-спектрометрии, независимо от сроков, прошедших с момента травмы. Наличие постоянного раздражающего синовиальную оболочку фактора (инородное тело, ущемляющаяся жировая подвеска) поддерживает воспалительный процесс в суставе.

Выявлено, что показатели масс-спектрометрии не зависят от количества полученной из сустава жидкости и возраста ребенка.

Полученные в результате исследования данные свидетельствуют о транслокации микроорганизмов в коленный сустав в результате его травмы, подтверждая существующую теорию транслокации микроорганизмов преимущественно кишечной микробиоты при повреждении тканей [3]. Именно микроорганизмов, а не только их клеточных компонентов, по которым ведется исследование СЖ методом масс-спектрометрии микробных маркеров при воспалении. Об этом свидетельствует либо превышение концентрации в ней липидных мономеров – жирных кислот, альдегидов, стероидов – маркеров, специфичных для клеточных стенок микроорганизмов, по сравнению с кровью, либо диспропорция в сторону увеличения отдельных маркеров. И то, и другое может свидетельствовать о наличии источника этих веществ в зоне воспаления, а значит и самих микробов.

Однако в связи с тем, что количество маркеров в СЖ было тем больше, чем массивнее повреждение внутрисуставных структур и чем больше прошло времени с момента травмы, можно говорить скорее о большем поступлении их в сустав и/или концентрации суставной жидкости с течением времени.

Обсуждая пути инфицирования сустава при закрытой травме, в качестве эндогенного источника следует рассматривать, прежде всего, кишечный биоценоз. Инфицирование внутренних органов за счет транслокации бактерий из кишечника или ротовой полости известно давно и признается большинством клиницистов. Считается, что транслокация кишечной микробиоты является основным механизмом эндоген-

ного инфицирования [6]. Это означает, что и в нашем случае при синовите следует ожидать появление в зоне воспаления любых обитателей кишечника – к настоящему времени известно 1800 фенотипов на уровне рода по данным анализа 16S-rРНК [38]. А почему не всех сразу? Это вопрос чувствительности и информативности метода. Метод, примененный в настоящем исследовании, позволил сканировать одновременно 170 маркеров микроорганизмов разного таксономического уровня и их групп. Выявлено превышения уровня детектирования 47 из них, которые в разной комбинации и количественном выражении присутствуют у всех обследованных. Уровень смешанной инфекции и ее состав отражают специфику микробной этиологии синовита отдельных пациентов и дает дополнительную информацию для возможной антибиотикотерапии и других лечебных действий по восстановлению микробиологического статуса больного.

Подтверждение такой массовой транслокации можно найти в литературе. Еще в 1902 г. (Askoli, 1902; цитируется по [6]) обсуждалось понятие транслокации всех представителей условно-патогенной микробиоты кишечника в лимфоузлы, печень, селезенку и другие органы. В настоящее время стало известно, что не только грамотрицательные микроорганизмы или их эндотоксины, но и грамположительные бактерии и грибы могут преодолевать кишечный барьер [42]. И это экспериментально подтверждено в одной из последних масштабных работ по анализу микробиоты суставов при сопоставлении данных культурального и генетического методов. Получено 475 изолятов бактерий (в том числе 176 из КС) культуральным методом, идентификация которых совпала с данными гомологии 16S rРНК. Показано, что колонизация носит полимикробный характер [37]. Считается, что стимулом транслокации является избыточный рост кишечной микробиоты или стресс [6]. В нашем случае стрессом является травма сустава. В современной литературе есть данные по инфекции СЖ отдельными микроорганизмами семейства Enterobacteriaceae, гипотезы об участии анаэробов кишечника и связи артритов с их избыточным ростом [39, 45]. Бактериальные изоляты были получены из синовиальной жидкости при септическом артрите. Выделены ампликоны ДНК различных микроорганизмов, а также их пептидогликан-полисахаридные комплексы [47], в том числе выделены культуры анаэробов [35]. Причем, как показано в работе I. Brook, анаэробы доминируют среди изолятов [34]. От 77 больных из суставов выделено 122 изолята анаэробов при 35 аэробах и факультативных анаэробах. Среди них бактероиды, анаэробные кокки, фузобактерии и клостридии в порядке частоты обнаружения. В настоящей работе в СЖ обнаружены маркеры почти всех кишечных микробов, определяемых по маркерам в крови. Почему они попадают в сустав при воспалении? Причем приблизительно в том списочном составе, в котором они работают в кишечной биопленке. Может, для того, чтобы в очаге

воспаления создать сбалансированную лечебную биопленку и, тем самым, препятствовать одностороннему развитию бактерий в состоянии экспрессии факторов патогенности? Действительно, эксперименты с безмикробными и конвенциональными крысами позволяют сделать такое предположение [38, 46]. Отмечается также, что микробная популяция полости рта выполняет двойное значение: с одной стороны – роль биологического барьера, с другой потенциального резервуара аутоинфекции [26, 32]. Т. о. роль агентов воспаления можно приписать тем микроорганизмам, которые проявляют диспропорциональный кишечнику рост в его очаге – суставе.

Выводы

1. Анализ полученных данных при исследовании СЖ и венозной крови детей с различными симптомами проявления посттравматического артрита КС при помощи метода газовой хроматографии – масс-спектрометрии в режиме масс-фрагментографии, показал наличие транслокации микроорганизмов в КС в результате его травмы. При этом все кишечные микробы приходят в сустав при воспалении приблизительно в той пропорции, в которой они пребывают в кишечной биопленке, которая является основным источником эндогенной микрофлоры и теоретически любой ее микроорганизм может участвовать в реакции воспаления. Предполагается, что это происходит с целью создания в месте воспаления сбалансированной лечебной биопленки, с целью препятствия одностороннему развитию бактерий в состоянии экспрессии факторов патогенности. С другой стороны, относительные из-

менения численности отдельных микроорганизмов в суставе – диспропорция в сравнении с их профилем в общем микрoэкологическом статусе (кишечнике, маркеры в крови) достигает десятков и сотен раз, что позволяет предполагать их в качестве потенциальных агентов воспаления.

2. Нарушение локальной микроциркуляции в КС со снижением его способности к самоочищению при травме, а также выявленное нами наличие маркеров возбудителей инфекционных процессов в первые сутки после повреждения, позволяют говорить о развитии субклинического бактериального процесса в суставе. Т.о., наличие травмы, результаты гистологических исследований с выявлением признаков синовиальной реакции и выявленное в ходе представленного исследования увеличение концентрации бактериальных маркеров в пунктате КС, позволяют нам утверждать, что инфицирование КС (попадание в него микроорганизмов) происходит в первые часы и дни после травмы, т. е. можно говорить о потенциальном воспалении – артрите, что требует комплексного подхода к диагностике и лечению данной патологии у детей.

3. Указанные изменения микробиологического статуса в полости сустава устанавливают факт, что любая травма КС, сопровождающаяся повреждением внутрисуставных структур и кровоизлиянием в полость сустава, характеризуется развитием в первые часы и дни после травмы воспалительной реакции, способной преобразоваться как в развернутый (гнойный) процесс, так и в системную реакцию рецидивирующего посттравматического синовиального артрита (синовита).

Список литературы

1. *Альхаиламун Джабрил Абдель Разак* Оперативное лечение свежих повреждений заднебоковых структур сумочно-связочного аппарата коленного сустава. Автореф. ... дис. канд. мед. наук. Вост. – Сиб. научн. центр СО РАМН. Иркутск, 2006; 23.
2. *Анселл Б.М.* Ревматические болезни у детей, пер. с англ., М. 1983; 80.
3. *Белобородова Н.В., Осипов Г.А.* Гомеостаз малых молекул микробного происхождения и его роль во взаимоотношениях микроорганизмов с хозяином. Вестник РАМН. 1999; 16(7): 25-31.
4. *Богатов В.Б.* Артроскопическая диагностика и лечение внутрисуставных повреждений коленного сустава у детей : Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Самара 2002; 22.
5. *Бойко Н.Б., Осипов Г.А., Белобородова Н.В., Курчавов В.А.* Сравнительное хромато-масс-спектрометрическое исследование состава химических маркеров микроорганизмов в крови и перитонеальном экссудате брюшной полости при гангренозно-перфоративном аппендиците. Инфекция в хирургии 2009; 7: 2: 58.
6. *Бокерия Л.А.* Белобородова Н.В. Инфекция в кардиохирургии. М.: НЦ ССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, 2007; 582.
7. *Винницкая Е.В., Осипов Г.А., Дроздов В.Н., Петраков А.В., Лазебник Л.Б.* Диагностика спонтанного бактериального перитонита при циррозе печени. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2008; 3: 18-24.
8. *Выборнов Д.Ю.* Рентгеноконтрастные внутрисуставные переломы у детей. Актуальные вопросы детской хирургии, ортопедии, травматологии, анестезиологии и реанимации. 1994; 167-168.
9. *Герасименко М.А., Белецкий А.В.* Современные подходы к дифференциальной диагностике и лечению внутрисуставных повреждений коленного сустава у детей. Материалы VIII съезда травматологов-ортопедов Республики Беларусь. Минск 2008; 159-161.
10. *Дорохин А.И.* Комплексное лечение переломов костей у детей, осложненных нарушением консолидации: дис. ... д-ра. мед. наук. М., 2005; 381.
11. *Еид Карам Акрам* Повреждения суставного хряща коленного сустава у детей. Диагностика и лечение с использованием артроскопии: автореф. ... дис. ... канд. мед. наук. М., 2003; 26.
12. *Клеменко И.Г.* Способ диагностики повреждения медиального мениска коленного сустава. Бюл. Вост.-Сиб. научн. центра СО РАМН. 2005; 6: 238-230.

13. *Каррей Х.* Клиническая ревматология. М., 1990.
14. *Зедгендзе Г.А.* Клиническая рентгенодиагностика. М., 1983; 3.
15. *Крестьянин В.М.* Повреждения и заболевания коленного сустава у детей (клиника, диагностика, лечение): дис... док. мед. наук. М., 1999; 350.
16. *Максимович М.М.* Структура инвалидности при артрозах крупных суставов. Повреждения и заболевания позвоночника и суставов. Материалы научно-практ. конф. травматологов-ортопедов. Минск, 1998; 34-35.
17. *Малахов О.А., Андреева Т.М.* Травматизм и ортопедическая заболеваемость детей и подростков в Российской Федерации. Актуальные вопросы детской травматологии и ортопедии. С-Пб., 2002; 3-5.
18. *Меркулов В.Н., Карам Е.А., Соколов О.Г., Ельцин А.Г.* Артроскопическая диагностика и лечение повреждений хряща коленного сустава у детей. Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Пирогова. 2003; 2: 74-79.
19. *Осипов Г.А., Федосова Н.Ф., Лядов К.В.* Количественный *in situ* микробиологический анализ по липидным маркерам в биологических жидкостях с использованием метода газовой хроматографии – масс-спектрометрии. Здоровоохранение и медицинские технологии 2007; 5: 20-23.
20. *Осипов Г.А.* Определение состава и количества микроорганизмов кишечной стенки методом хромато-масс-спектрометрии по клеточным жирным кислотам. В кн. Бондаренко В.М., Грачева Н.М., Мацулевич Т.В. «Дисбактериозы кишечника у взрослых», КМК Scientific Press, Москва 2003; 89-98
21. *Рейнберг С.А.* Рентгенодиагностика заболеваний костей и суставов. М. 1964; 2: 535.
22. *Самойлович Э.Ф.* Повреждения и аномалии развития менисков коленного сустава у детей. Дис... док. мед. наук. М. 1992; 252.
23. *Самойлович Э.Ф., Шаклычев О.К., Серафин Ю.Я.* Хирургическая патология коленного сустава у детей. М. 1993; 18.
24. *Степанченко А.П.* Лучевая диагностика травматических повреждений коленного сустава: дис... канд. мед. наук. М. 2005; 194.
25. *Стужина В.Т.* Проблемы и перспективы совершенствования травматологической помощи детям г. Москвы. Материалы VIII съезда травматологов-ортопедов Республики Беларусь. Минск 2008; 39-40.
26. *Тец В.В., Орехова Л.Ю., Доморад А.В., Яковлева О.М., Щербакова Д.С., Румянцев О.К., Левкович Д.В., Томсон Н.В.* Распространение возбудителей соматических заболеваний в нормальной микрофлоре ротовой полости. Пародонтология 2007; 4: 9-12.
27. *Тимофеев И.В.* Клиника, диагностика и эндоскопические методы лечения острого вывиха надколенника у детей. Автореф. Дис... канд. мед. наук. М. 2004; 18.
28. *Тимофеев И.В., Рассовский С.В.* Роль артроскопии в диагностике острого травматического вывиха надколенника у детей. Детская хирургия 2006; 3: 12-14.
29. *Тищенко М.К., Ахадов Т.А., Петряйкин А.В.* Сравнительная оценка диагностической ценности лучевых методов диагностики повреждений коленного сустава у детей. материалы XXXII научно-практической конференции детских травматологов –ортопедов Московского региона, посвященной памяти Немсадзе Вахтанга Панкратьевича. М. 2009; 116-117.
30. *Ушакова С.А.* Роль артроскопии в диагностике и лечении повреждений и заболеваний суставов. Ортопедия, травматология и протезирование 1978; 10: 74-78.
31. *Хабиб О.Н., Белобородова Н.В., Осипов Г.А.* Детектирование молекулярных маркеров бактерий в ткани клапанов сердца в норме и при патологии с применением метода газовой хроматографии и масс-спектрометрии Журн. Микроб. Эпидем. Иммунол. 2004; 7: 3: 62-68.
32. *Хуснутдинова Л.М.* Микрофлора слизистой оболочки миндалин человека в норме при патологии. Журнал микробиологии эпидемиологии и иммунобиологии 2006; 1: 60-63.
33. *Beloborodova N.V., Osipov G.A.* Small molecules originating from microbes (SMOM) and their role in microbes-host relationship. Microb.Ecol.Heal.Dis., SCUP 2000; 12: 12-21.
34. *Brook I and Frazier E.H.* Anaerobic osteomyelitis and arthritis in a military hospital: a 10-year experience. Am J Med 1993; 94(1): 21-8.
35. *Clarke H.J., Allum R.* Anaerobic septic arthritis due to bacteroides: brief report. J Bone Joint Surg Br, Nov 1988; 70-B: 847 - 848.
36. *Dandy D.J.* Arthroscopy in the treatment of young patients with anterior knee pain. Ortop. Clin. North America. 1986; 17: 221-229.
37. *Fenollar F., Roux V., Stein A., Drancourt M., Raoult D.* Analysis of 525 samples to determine the usefulness of PCR amplification and sequencing of the 16S rRNA gene for diagnosis of bone and joint infections. J. Clin. Microbiol. 2006; 44: 3: 1018-1028.
38. *Hattori M., Taylor T. D.* The Human Intestinal Microbiome: A New Frontier of Human Biology DNA RESEARCH 2009; 16: 1–12.
39. *Hazenberg M.P., Klasen I.S., Kool J., Ruseleer-van Embden J.G., Severijnen A.J.* Are intestinal bacteria involved in the etiology of rheumatoid arthritis? Review article. APMIS 1992; 100(1): 1-9.
40. *Kao S.C., Smith W.L.* Skeletal injuries in the pediatric patient. Radiol. Clin. North Am. 1997; 35: 727-746.
41. *Louw Q.A., Manilall J., Gimmer K.A.* Epidemiology of knee injuries among adolescents: a systematic review. Br. J. Sports. Med. 2008; 42: 1: 2-10.
42. *MacFie J.* Current status of bacterial translocation as a cause of surgical sepsis. British Medical Bulletin, 2004; 71: 1–11.
43. *Paliy O., Kenche H., Abernathy F., Michail S.* High-Throughput Quantitative Analysis of the Human Intestinal Microbiota with a Phylogenetic Microarray. Appl. Environ. Microbiol., June 2009; 75(11): 3572-9.
44. *Song H.G., Lee H.C., Joo Y.H.* Clinical and microbiological characteristics of spontaneous bacterial peritonitis (SPB) in a recent five year period. Taehan Kan Hakhoe Chi 2002; 8: 61-7.
45. *Vahtovuo J., Munukka E., Korkeamaki M., Luukainen R., Toivanen P.* Fecal Microbiota in Early Rheumatoid Arthritis. J Rheumatol, Aug 2008; 35: 1500-1505.
46. *Van den Broek M.F., van Bruggen M.C., Koopman J.P., Hazenberg M.P., van den Berg W.B.* Gut flora induces and maintains resistance against streptococcal cell wall-induced arthritis in F344 rats. Clin Exp Immunol, May 1, 1992; 88(2): 313-7.
47. *Van der Heijden I.M., Wilbrink B., Tchetverikov I., Schrijver I.A., Schouls L.M., Hazenberg M.P., Breedveld*

F.C. Tak P.P. Presence of bacterial DNA and bacterial peptidoglycans in joints of patients with rheumatoid arthritis and other arthritides. *Arthritis Rheum*, March 1, 2000; 43(3): 593-8.

48. *Viera S.M., Silveira T.R., Matte U.* Amplification of bacterial DNA does not distinguish patients with ascitic fluid infection from those colonized by bacteria. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2007; 44(5): 603-7.

Поступила 31.03.2011 г.

Информация об авторах

1. Прохорова Елена Сергеевна – аспирант кафедры детской хирургии Российского государственного медицинского университета им. Н.И.Пирогова; e-mail: dgkb13@gmail.ru.
2. Выборнов Дмитрий Юрьевич – д.м.н., профессор кафедры детской хирургии Российского государственного медицинского университета им. Н.И.Пирогова; e-mail: lena_proxogova@mail.ru