**АННОТАЦИЯ**

диссертационной работы на соискание степени доктора философии

|  |
| --- |
| Тема: «Разработка и экспериментально-морфологическое обоснование импрегнации антибиотиком костного аллографта заготовленного по Марбургской системе на модели остеомиелита» |
| Специальность: 6D110100 «Медицина»Исполнитель: докторант Кошанова Амина АмантайкызыНаучный руководитель: д.м.н., зав.кафедрой хирургических болезней Тулеубаев Б.Е.Научный консультант: д.м.н., профессор кафедры патологии Тусупбекова М.М.Зарубежный научный консультант: к.м.н., научный сотрудник научно-исследовательского центра Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова Минобороны России, г. Санкт-Петербург Воробьев К.А.   2022 г. |

**Актуальность.**

 Актуальность проблемы лечения хронического остеомиелита определяется значительной распространенностью заболевания среди всех возрастных групп предопределяющиеся неуклонным ростом травматизма, тяжестью и длительностью течения патологического процесса, активностью внедрения хирургических методов лечения, а также трудностями профилактики и терапии данной патологии (Божкова С.А., Новокшонова А.А., Конев В.А. Современные возможности локальной антибиотикотерапии перипротезной инфекции и остеомиелита (обзор литературы)// Травматология и ортопедия России, 2015; 3(77): С. 93-103; Деркачев В.С., Алексеев С.А., Бордаков В.Н., Елин И.А., Деркачев Д.В. К вопросу о комплексном лечении хронического посттравматического остеомиелита // Травматология және ортопедия. – 3-4 (33-34)/2015.– С.43-44; Дьячкова Г.В., Клюшин Н.М., Мигалкин Н.С., Ларионова Т.А., Леончук Д.С., Дьячков К.А., Бегимбетова Н.Б. Рентгено-гистологические параллели стадий хронического остеомиелита// Вестник Российской военно-медицинской академии, 2017; 4 (60): С. 17 – 22). Несмотря на широкое применение малоинвазивных методов лечения и активную хирургическую тактику хронический остеомиелит остается нерешенной проблемой в мире. Установлено что, после лечения хронического остеомиелита все еще отмечаются высокие показатели неудовлетворительных исходов и инвалидизации, достигающей 50-90% (Дьячкова Г.В., Клюшин Н.М., Мигалкин Н.С., Ларионова Т.А., Леончук Д.С., Дьячков К.А., Бегимбетова Н.Б. Рентгено-гистологические параллели стадий хронического остеомиелита// Вестник Российской военно-медицинской академии, 2017; 4 (60): С. 17 – 22). Адекватным лечением хронического остеомиелита является: ликвидация инфекции, путем санации и создания высоких концентраций антибиотика в очаге поражения, одномоментное заполнение дефекта костной ткани. Традиционными методами лечения остеомиелита является системная антибиотикотерапия и хирургическая санация очага инфекций. После любой некросеквестрэктомии в кости остаются дефекты, которые самостоятельно не регенерируют и постоянно поддерживают воспаление (Lewis CS, Supronowicz PR, Zhukauskas RM, Gill E, Cobb RR. Local antibiotic delivery with demineralized bone matrix. Cell Tissue Bank. 2012 Mar;13(1):119-27. doi: 10.1007/s10561-010-9236-y. Epub 2011 Jan 1; Shah M., Rukesh R.P., Randhirsinh V.S., Shailendra H.G. Estimation of drug absorption in antibiotic soaked bone grafts. Indian J Orthop. 2016 Nov-Dec; 50(6): 669–676.doi: 10.4103/0019-5413.193486). Пространство, возникающее вследствие хирургической обработки необходимо заполнить, чтобы предотвратить перенос и рецидив инфекции. Основу патогенетических механизмов хронического остеомиелита составляет комплекс ишемических, инфекционно-воспалительных и репаративных изменений в кости и окружающих мягких тканях. Структурно-функциональные изменения определяются особенностями возбудителей инфекционного процесса, характером и выраженностью воспалительных и репаративных процессов в зоне поражения. Гистологическое исследование является «золотым стандартом» по отношению к любым визуализационным методикам в комплексе к лучевым и микробиологическим методам. Патоморфологические изменения при остеомиелите в настоящее время изучены достаточно хорошо, показаны отличия между острым и хроническим типами воспалительного процесса в кости (Uskoković V, Desai TA. In vitro analysis of nanoparticulate hydroxyapatite/chitosan composites as potential drug delivery platforms for the sustained release of antibiotics in the treatment of osteomyelitis. J Pharm Sci. 2014 Feb;103(2):567-79. doi: 10.1002/jps.23824. Epub 2013 Dec 30). Пропитанные антибиотиком различные наполнители могут выступать в качестве местной противоинфекционной системы высвобождения лекарства, которые не только заполняют образовавшийся дефект в кости после хирургической обработки раны, но также обеспечивают высокие концентрации антибиотиков в очаге, без увеличения уровня антибиотика в сыворотке крови. В настоящее время в травматологии и ортопедии имеется значительное число как биодеградируемых, так и не разлагаемых материалов, участвующих в механизмах репаративного процесса костной ткани. Не разлагаемые материалы требуют повторных оперативных вмешательств, что снижает их область применения. Отрицательными сторонами применения костных аутотрансплантатов является травматичность при заготовке, ограниченные ресурсы донорских зон, опасность переломов и хронических болевых синдромов в месте забора донорского материала (Божкова С.А., Новокшонова А.А., Конев В.А. Современные возможности локальной антибиотикотерапии перипротезной инфекции и остеомиелита (обзор литературы)// Травматология и ортопедия России, 2015; 3(77): С. 93-103). Особой популярностью на сегодняшний день пользуются костные аутотрансплантаты, которые близки по своему строению. Однако при их заготовке отрицательными моментами являются сложность их получения, необходимость наличия специальной базы производства, где они будут проходить обработку, стерилизацию, обезжиривание, обесклеточивание. Существующие синтетические биодеградируемые материалы дорогие по своей стоимости, не производятся и не зарегистрированы на территории Республики Казахстан.

Учитывая вышеизложенное назрела необходимость в поиске путей по созданию костного аллографта импрегнированного антибиотиком собственного производства. Решение данной задачи благоприятно скажется на лечении данной категории больных, а так же отразится на экономической составляющей данной проблемы.

**Рабочая гипотеза** – разработка костного аллографта импрегнированного антимикробным препаратом и заготовленного по Марбургской системе с испытанием на модели хронического остеомиелита позволит доказать его способность к эффективному транспорту антибиотика с подавлением основных штаммов в остеомиелитическом очаге.

**Цель исследования** - разработать костный аллографт импрегнированный антибиотиком, заготовленный по Марбургской системе с изучением его эффективности на модели хронического остеомиелита с оценкой клинико-морфологических особенностей репаративного процесса костной ткани в эксперименте.

**Задачи исследования**.

1. Разработать методику импрегнации антибиотиком костного аллографта, заготовленного по Марбургской системе.
2. Создать модель хронического остеомиелита на кроликах для отработки, предлагаемой методика импрегнации антибиотиком костного аллографта.
3. Дать гистологическую характеристику костной ткани с применением костного аллографта импрегнированного антибиотиком по предложенной методике «Импрегнации антибиотиком костного аллографта» и по стандартной (обычной) технологии.
4. Оценить антибактериальную эффективность костного аллографта импрегнированного антибиотиком по разработанной технологии на основной штамм остеомиелита *S. aureus*.

**Научная новизна**

- Впервые проведена гистологическая характеристика репаративного процесса костной ткани с применением костного аллографта импрегнированного антибиотиком, заготовленного по Марбургской системе.

- Впервые дана антибактериальная оценка эффективности применения костного аллографта заготовленного по Марбургской системе импрегнированного антибиотиком по разработанной технологии на основной штамм остеомиелита.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

- предложенная методика импрегнации антибиотиком костного аллографта, заготовленного по Марбургской системе позволяет равномерно импрегнировать растворами лекарственных веществ спонгиозную ткань костного аллографта на всю его толщу;

- созданная модель хронического остеомиелита на кроликах позволяет неоднократно воспроизводить модель хронического остеомиелита в разные периоды его развития с одинаковым конечным результатом;

- создан «Алгоритм морфологической оценки остеомиелита в модели на животных», который позволяет провести макроскопическую и гистологическую оценку активности остеомиелита, а также оценить перестройку репаративного процесса костной ткани и сравнить эффективность хирургического лечения на разных этапах на основании полученных данных;

- оценка антибактериальной терапии показала положительный эффект применения костного аллографта импрегнированного антибиотиком по оригинальной методике в отношении *S. aureus* в остеомиелитическом очаге.

**Практическая значимость**

Проведенные в диссертационной работе исследования расширяют имеющиеся представления о применении заменителей костной ткани для пластики обширных костных дефектов при хроническом остеомиелите с использованием представленного нового биодеградируемого костного аллографта импрегнированного антибиотиком по оригинальной технологии, что подтверждается результатами клинико-морфологических исследований.

Накопленная научная база обосновывает потенциальную возможность применения костного аллографта импрегнированного антибиотиком по оригинальной технологии в клинической практике, которая может быть использована в качестве альтернативного материала для заполнения дефектов костной ткани при хроническом остеомиелите и имеет морфологическое обоснование этапов репаративного процесса.

Полученный нами продукт позволит после проведения клинических исследований покрыть потребность в биологическом имплантате с направленным антибактериальным действием для лечения больных с хроническим остеомиелитом.

 **Связь диссертации с другими научно-исследовательскими работами**

Диссертационная работа выполнена в рамках грантового финансирования МОН РК №AP05133674 «Разработка и применение импрегнированного антибиотиком аллографта, заготовленного по Марбургской системе костного банка для лечения остеомиелита».

**Личный вклад автора**

Диссертантом совместно с научным руководителем и научным коллективом разработано устройство для перфорирования костных аллографтов с целью их дальнейшей импрегнации антибиотиком. Самостоятельно реализовано экспериментальное исследование на 144 лабораторных животных по изучению структурных изменений зоны дефекта и эффективности заполнения костным аллографтом по оригинальной технологии импрегнированного антибиотиком с проведением гистологического исследования, оценке адгезивных свойств аллографта. Автором проведено моделирование дефекта бедренной кости у экспериментальных животных с последующим забор материала для гистологического исследования, выведением животных из эксперимента. Все операции на животных выполнялись автором лично в коллективе с коллегами. Полученный материал систематизирован, документирован и оформлен в виде диссертационной работы лично соискателем.

**Апробация работы**

Основные положения диссертации доложены и обсуждены:

- на международном зарубежном конгрессе «26th EORS Annual Meeting» (г. Galway, Ireland, 2018 г.);

- на The III International scientific and educational conference “The Internationalization of continuing medical education. Prospection”, Aktobe, Kazakhstan, 2019 г.;

- на международном зарубежном конгрессе «20th EFORT Congress» (Португалия) 2019 г.;

- на «Российская наука в современном мире» XXVII Международная научно-практическая конференция. Сборник статей. Часть 1. - Москва: Научно-издательский центр «Актуальность.РФ», 2020;

- на the European Congress of Trauma and Emergency Surgery. - Oslo, Norway, 2020,

- на 28th EORS Annual Meeting. - Izmir, Turkey, 2020;

- на 1st Virtual EFORT Congress, 2020;

- на расширенном заседании кафедры хирургических дисциплин и кафедры патологии НАО «Медицинский университет Караганды»;

- на областном обществе травматологов и ортопедов.

**Публикации**

По материалам диссертации опубликовано 18 научных работ, из них:

- 3 в научных изданиях, рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки МОН РК;

- 3 публикации в международных научных изданиях, входящих на момент публикации статей в информационную базу Scopus

 - Получен патент на полезную модель; 2 свидетельства о внесении сведений в государственный реестр прав на объекты, охраняемые авторским правом.

**Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 85 страницах компьютерного набора текстового редактора Microsoft Word, состоит из введения, 3 разделов основной части, заключения и списка использованных источников. Диссертация иллюстрирована 6 таблицами и 49 рисунками. Список литературы включает 211 источников на русском и английском языках.

**Материалы и методы исследования.**

Исследование по теме диссертационной работы проводились в период с 2018 по 2021 годы на кафедре хирургических болезней, виварии, кафедре микробиологии, патологоанатомической лаборатории клиники медицинского университета НАО «МУК».

В ходе экспериментальной работы изучали клинические, гистологические и микробиологические изменения при лечении хронического остеомиелита с применением костного аллографта заготовленного по Марбургской системе костного банка, импрегнированного антибиотиком.

Исследование в целом проводилось на 144 беспородных кроликах обоего пола сопоставимого возраста и веса.

Дизайн исследования:

Формирование модели хронического остеомиелита

2 группа – 18 кроликов (в дефект костной ткани введен ватный шарик, предварительно замоченный в растворе со SA с последующим закрытием дефекта пломбировочным материалом «Prime-Dent»)

1 группа – 18 кроликов (в дефект костной ткани введено 0,2 мл штамма *Staphylococcus aureus* (SA))

3 группа – 18 кроликов (в дефект костной ткани добавлен склерозирующий препарат (Этоксисклерол), затем ватный шарик предварительно смоченный в растворе SA)

4 группа – 18 кроликов (в дефект костной ткани введен ватный шарик, предварительно замоченный в SA без дополнительного пломбирования отверстия)

5 группа – 18 кроликов (в дефект костной ткани введен склерозирующий препарат (Этоксисклерол), заполняли его ватным шариком, предварительно смоченным в SA, отверстие закрывали пломбировочным препаратом «Prime-Dent»)

14 сутки

(n - 6)

28 сутки

(n - 6)

42 сутки

(n - 6)

Гистологическое исследование

Микробиологическое исследование

14 сутки

(n - 6)

7 сутки

(n - 6)

Рисунок 1 – Дизайн исследования по формированию модели хронического остеомиелита

Исследование среди кроликов с моделью остеомиелита

1 группа – 18 кроликов (биодеградируемый препарат «PerOssal» импрегнированный антибиотиком)

3 группа – 18 кроликов (перфорированный костный аллографт импрегнированный антибиотиком)

2 группа – 18 кроликов (цельный костный аллографт импрегнированный антибиотиком)

14 сутки

(n - 6)

28 сутки

(n - 6)

42 сутки

(n - 6)

Гистологическое исследование

Микробиологическое исследование

7 сутки

(n - 6)

14 сутки

(n - 6)

Рисунок 2 – Дизайн исследования среди кроликов с моделью остеомиелита

Применявшийся в исследовании костный аллографт заготавливался из утильных головок бедренных костей от живых доноров после эндопротезирования тазобедренных суставов. У всех пациентов было получено нотариально заверенное согласие на изъятие донорского, утильного материала. Получено разрешение комитета по Биоэтике (№4 от 25.09.2017 г.) для проведения исследования. Отбор образцов проводился на клинической базе НАО МУК в травматологическом центре «Многопрофильной больницы имени профессора Х.Ж. Макажанова». Критерии включения головки бедренной кости в исследование:

- диаметр головки бедренной кости от 40 мм до 54 мм;

- отсутствие в анамнезе пациента - донора таких заболеваний как: Гепатит В или С, ВИЧ;

Критериями исключения головок бедренной кости из исследования были:

- наличие кистозных образований в головке бедренной кости

- наличие выраженного остеопороза головки бедренной кости

- наличие асептического некроза.

Весь отобранный материал рандомно был разделен на 2 группы в зависимости от способа применения. В эксперимент включены перфорированные и не перфорированные головки бедренных костей согласно описанным критериям. Перфорация проводилась по разработанной методике при помощи оригинального устройства для перфорации. Устройство имеет сквозные отверстия, фиксирующие направление сверла, что исключает «эффект колуна» с опасностью расклинивания и растрескивания кости. Наличие заданной толщины стенки в ориентированных отверстиях устройства в 10 мм позволяет избежать мельчайших отклонений сверла при формировании каналов. Головка бедренной кости прочно фиксируется в устройстве, что предотвращает смещение и пересечение каналов. Применение в устройстве фиксации трансплантата позволяет пренебречь неровностью поверхности кости. Наличие направительных отверстий устройства обеспечивает равномерность в распределении каналов, их параллельность, сохранение заданного расстояния, а также недопущение пересечения каналов, проведенных с двух сторон, что положительно сказывается на прочности аллографта и на невозможности формирования полости, на месте которой при новообразовании костной ткани может образоваться пустотный дефект. Перфорированный костный аллографт в отличие от цельного позволяет равномерно пропитать костную ткань на всю его толщину, что было предварительно исследовано *in vitro.* После заготовки и перфорации все костные аллографты были помещены в специальные контейнеры с последующей термической обработкой в аппарате «Lobator sd-2» (по Марбургской системе) (рис. 4) при температуре в среднем от 82,50 до 1400 в центре головки бедренной кости в течении 94 мин. После термической обработки костные аллографты замачивались в антибиотике. В качестве антибактериального препарата для импрегнации был выбран гентамицин, который отвечал требованиям термостабильности и подтвердил свои характеристики на предварительных этапах исследования *in vitro* коллективом авторов. Импрегнация антибиотиком костных аллографтов в обоих группах проводилась методом замачивания их в 4% растворе гентамицина на 90 минут при комнатной температуре.

В качестве инфекционного возбудителя всем животным применяли *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300), как наиболее часто выявляемого представителя раневой флоры у пациентов с хроническим остеомиелитом. Инокулят подготовлен из третьего пассажа тест культуры *Staphylococcus aureus* на соевый бульон (триптон-соевый бульон) и соевый агар с казеиновым переваром (триптон-соевый агар). Плотность взвеси доводилась до 5\*109 КОЕ /мл. В качестве разбавителя использован забуферный физиологический раствор с добавлением 15% желатина с целью повышения вязкости. Подобная форма инокулята обеспечивала стабильность содержания бактерий в экспериментальном очаге на достаточно длительный период. Среду хранили при температуре 25°С в стериль­ном герметичном контейнере. Предварительно пригодность штамма *Staphylococcus aureus* оценена путем определения минимальной подавляющей концентрации (МПК) с гентамицином (Протокол № 14 от 10.04. 2018 – МПК=0,5 мкг/мл) методом разведения. Чашки инкубировались при температуре 37° С в течение 24 часов. Через 24 часа штамм *Staphylococcus aureus* был использован для формирования хронического остеомиелита.

Эксперимент по созданию модели хронического остеомиелита проводился на 90 беспородных кроликах. Средний возраст кроликов в начале эксперимента составлял 2±0,56 месяца, а средний индивидуальный вес был 2,4±0,49 кг. Все кролики были разделены случайным образом на 5 групп. Эксперимент проводился в условиях вивария НАО «Медицинского университета Караганды» в соответствии с международными этическими нормами, одобрен этическим комитетом университета (протокол № 4 (13) от 25.09.2017 г.). Кроликов содержали в помещении с контролируемой температурой (16-21°С) и относительной влажностью (45-65%). Они были размещены в специальных клетках, по 2-3 кролика в клетке, одного возраста и одинакового веса. Животных всех групп содержали в одинаковых условиях. Они получали сбалансированный рацион, состоящий из комбикорма, овса, разнотравного лугового сена, моркови и яблок.

В ходе моделирования осуществляли ежедневное клиническое наблюдение за экспериментальными животными. Проводилось взвешивание, термометрия животных в течении всего экспериментального периода.

Микробиологическое исследование некротизированных участков мягких тканей проводили на 7 и 14 сутки эксперимента с целью определения микробного агента.

Рентгенографическое исследование с целью оценки состояния костной ткани осуществляли трёхкратно: на 14, 28 и 42 сутки от начала экспериментального моделирования.

Гистологическое исследование поражённых остеомиелитом костей и костной ткани проводили на 14, 28 и 42 сутки экспериментального моделирования после эвтаназии кроликов путем передозироваки наркозного препарата.

Хирургические процедуры:

Хирургическое вмешательство проводилось под общим обезболиванием (ксилазин 7 мг/кг + кетамин 35 мг/кг в\м). Кролика фиксировали к столу в боковом положении. После удаления шерсти, область нижней трети диафиза левой бедренной кости, конечность обрабатывали растворами антисептиков трехкратно. Доступ осуществляли по передней поверхности дистальной метаэпифизарной области левой бедренной кости, продольным разрезом с послойным рассечением кожи, подкожной клетчатки, фасции длиной 3,0 см. Острыми крючками разводили края раны. Распатором скелетировали бедренную кость на площади 2,0 х 1,0 см. Дрелью диаметром 2,0 мм во всех группах были сформированы дефекты надкостницы, кортикального слоя и губчатого вещества. В зависимости от способа моделирования остеомиелита все кролики случайным образом были разделены на 5 групп. В I группе после проведения перфорации, в сформированный дефект костной ткани было введено 0,2 мл штамма *Staphylococcus aureus* (SA). Во II группе в сформированный дефект костной ткани был введен ватный шарик, предварительно замоченный в растворе со SA с последующим закрытием дефекта пломбировочным материалом «Prime-Dent». В III группе в сформированный дефект костной ткани добавляли склерозирующий препарат (Этоксисклерол), затем ватный шарик предварительно смоченный в растворе SA. В IV группе в сформированный дефект костной ткани вводили ватный шарик, предварительно замоченный в SA без дополнительного пломбирования отверстия. В V группе в сформированный дефект костной ткани вводили склерозирующий препарат (Этоксисклерол), заполняли его ватным шариком, предварительно смоченным в SA, отверстие закрывали пломбировочным препаратом «Prime-Dent». После проведенных опреативных манипуляции раны во всех группах послойно ушивали, а затем обрабатывали растворами антисептиков. Продолжительность развития модели составила 1,5 месяца. В послеоперационном периоде все кролики в течении 3 дней получали обезболивающее кеторол 0,1 мл на кг массы тела. Наличие хронического остеомиелита оценивалось с помощью клинического, микробиологического, рентгенологического и гистологического методов.

На основании сравнения нескольких моделей инфицирования кроликов штаммом *St.aureus* был выбран и смоделирован хронический остеомиелит, на котором отрабатывался оперативный метод лечения. Экспериментальные животные рандомизированно были разделены на 3 группы в зависимости от метода заполнения костного дефекта. В каждой группе было по 18 кроликов. Под общей анестезией (35 мг/кг кетамина + 7 мг/кг ксилазина, в/м) после 4-х кратной обработки операционного поля раствором бетадина, в проекции послеоперационного шва произведено иссечение рубцов, секвестров, нежизнеспособных тканей. Иссечение проводилось в пределах здоровых тканей. Рана обильно промыта растворами антисептиков (перекись водорода, хлоргексидин). В I группе – дефект заполнялся биодеградируемым препаратом «Perossal» импрегнированным антибиотиком. Перед применением Perоssal согласно инструкции, погружали в раствор антибиотика на 10 минут. Рекомендуемую дозу антибиотика рассчитывали из рассчета 6 гранул на одну терапевтическую дозу антибиотика. Во II группе – дефект заполнялся цельным костным аллографтом заготовленном по Марбурской системе, импрегнированный антибиотиком по описанной ранее методике. В IІІ группе – дефект заполнялся перфорированным костным аллографтом заготовленным по оригинальной методике и замоченным в растворе антибиотика по описанной ранее методике. После заполнения дефекта произведено послойное ушивание послеоперационной раны. Оценка клинического состояния кроликов после лечения проводилась методом измерения температуры, веса, общей двигательной активности животных и по степени заживления раны. С этой целью проводился ежедневный осмотр животных, взвешивание и измерение температуры тела. Определение заживления ран у прооперированных кроликов проводилось по наличию признаков воспаления, отделяемого гноя из раны, краевых некрозов, состоятельности швов. Заживление раны считали удовлетворительным у кроликов без признаков воспаления, отсутствие краевых некрозов при полной состоятельности швов. Заживление раны расценивали неудовлетворительным при возникновении краевых некрозов несостоятельности швов, наличии отделяемого. Проводилась визуальная оценка выраженности воспалительного процесса в области послеоперационной раны и мягких тканей, которая оценивалась в баллах: 0 баллов - воспаление отсутствует, 1 балл - инфильтрация мягких тканей в проекции послеоперационной раны, 2 балла - нагноение послеоперационной раны.

С целью проведения микробиологической оценки проводился забор материала на 7 и 14 сутки после операции. В стерильный контейнер помещалось раневое отделяемое и близлежащие ткани непосредственно из очага проведенного лечения. Сразу после забора весь материал доставлялся на кафедру биомедицины, где проводился посев на питательную среду. Чашки инкубировались при температуре 37° С. Оценка результатов проводилась измерением зоны роста линейкой с точностью до 0,1 мм микроорганизмов от края точки посева через 24 часа. После прекращения жизнедеятельности экспериментального животного, путём передозировки наркозного препарата проводили забор гистологического материала на 14, 28 и 42 сутки. Репрезентативным фрагментом был образец костной ткани продольного сечения центральной части кости в области сформированного дефекта, ограниченного дистальным и проксимальным краем с захватом визуально нормальной костной ткани на участке не менее 10 мм. Морфометрическая оценка проводилось на площади 1 см2 в месте оперативного вмешательства (сформированный дефект). При микроскопическом осмотре оценивалось наличие и/или длительность острого, хронического воспаления, степень регенерации/дисрегенерации, реакция костной пластинки на проведенные манипуляции. Острым воспалением считается наличие некроза ткани (вне аллографта) и гранулоцитарных клеток в месте повреждения. Гистологические данные были описаны, в соответствии с характером морфологической картины. Заживление во всех группах оценивалось по 5-балльной шкале, которая также включала в себя оценки закрытие дефекта костной ткани, лизис и перестройку аллографта.

Обработка полученных результатов статистическими методами проводилась программой STATISTICA v8.0. (StatSoft) с расчетом среднего значения, стандартного отклонения. Для независимых групп проверка статистических гипотез для количественных показателей проводилась с помощью непараметрических критериев Манна – Уитни (при сравнении 2-х групп) и Краскела-Уоллиса (для множественных сравнений). Статистически значимыми считались результаты при р <0,05.

**ВЫВОДЫ:**

1. Разработанная оригинальная методика импрегнации антибиотиком перфорированного костного аллографта, заготовленного по Марбургской системе, позволяет пропитывать антибиотиком все слои костной ткани.

2. Созданная модель хронического остеомиелита в эксперименте позволяет воспроизвести хронический остеомиелит, преимуществом которого является отсутствие острого течения, стабильное состояние лабораторных животных, развитие хронического гнойного процесса.

3. Применение перфорированного костного аллографта импрегнированного антибиотиком показывает уменьшение лейкоцитов в 2 раза на 42 сутки по сравнению с применением цельного костного аллографта с антибиотиком, что говорит об уменьшении воспалительного процесса. При этом отмечен активный репаративный процесс костной ткани в очаге поражения, на что указывает активное новообразование костной ткани в 9 раз больше на 14 сутки, и в 2 раза больше на 42 сутки, чем при применении цельного костного аллографта с антибиотиком. Перфорированный костный аллографт импрегнированный антибиотиком по образованию новообразованной костной ткани в очаге поражения преобладает над биодеградируемым препаратом «PerOssal» в 1,2 раза.

4. Микробиологическая оценка показала, что в группе с применением перфорированного костного аллографта КОЕ через 2 недели по сравнению с группой, где применялся биодеградируемый препарат «PerOssal» уменьшились в 0,1 раз (р>0,05), а через 4 недели КОЕ уменьшились в 34 раз (р<0,05).