

На правах рукописи

БОЖКОВА

Светлана Анатольевна

ОПТИМИЗАЦИЯ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ  
У ПАЦИЕНТОВ С ПЕРИПРОТЕЗНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ  
СТАФИЛОКОККОВОЙ ЭТИОЛОГИИ  
(экспериментально-клиническое исследование)

14.01.15 – травматология и ортопедия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени  
доктора медицинских наук

Санкт-Петербург – 2016

Работа выполнена в Федеральном Государственном бюджетном учреждении «Российский ордена Трудового Красного знамени научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии имени Р.Р. Вредена» Минздрава России

**Научный консультант:**

доктор медицинских наук, профессор **Тихилов Рашид Муртузалиевич**

**Официальные оппоненты:**

**Ахтямов Ильдар Фуатович** – д.м.н., профессор ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, кафедра травматологии, ортопедии и хирургии экстремальных состояний, заведующий кафедрой

**Мурылев Валерий Юрьевич** – д.м.н., профессор ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, кафедра травматологии, ортопедии и хирургии катастроф, профессор кафедры

**Серета Андрей Петрович** – д.м.н. ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр спортивной медицины и реабилитации ФМБА России», директор

**Ведущая организация** – ФГБУ «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А.Илизарова» Минздрава России

Защита состоится 27 сентября 2016 года в \_\_\_\_\_ часов на заседании объединенного диссертационного совета Д 999.037.02 в ФГБУ «Российский ордена Трудового Красного знамени научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии имени Р.Р. Вредена» Минздрава России

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «РНИИТО им. Р.Р. Вредена» и на сайте <http://dissovet.rniito.ru/>

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2016 г.

Ученый секретарь Диссертационного совета Д 999.037.02

кандидат медицинских наук



Денисов А. О.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность исследования

Основной и наиболее затратной проблемой с социально значимыми потерями при эндопротезировании суставов является развитие инфекционных осложнений (Тихилов Р.М. с соавт., 2014; Vorrego A.F. et al., 2007). Глубокую инфекцию области хирургического вмешательства называют перипротезной инфекцией (ППИ). Несмотря на относительно невысокую частоту развития ППИ после первичного эндопротезирования (0,3–2,22%), в случае ревизионного характера операции риск развития инфекции возрастает в несколько раз, достигая 5,9–13,6%. (Тихилов Р.М., Шаповалов В.М., 2008; Phillips J.E. et al., 2006; Pulido L. et al., 2008; Puhto A et al., 2012; Lichstein P. et al., 2014), а частота рецидивов при лечении уже существующей ППИ составляет 23,2–31,5% (Lie S.A. et al., 2004).

Актуальность проблемы ППИ определяется тем, что развитие инфекционных осложнений после эндопротезирования (ЭП), как правило, заканчивается хронизацией инфекции (Клюшин Н.М. с соавт. 2015), в редких случаях – амилоидозом почек (Nishimura S. et al., 2014), что в итоге ведет к инвалидизации больного, а в случае генерализации инфекции может привести к сепсису и летальному исходу. Во многом это обусловлено отсутствием специфических диагностических критериев, патогномоничных для ППИ, и недостаточной изученностью чувствительности и специфичности комбинаций лабораторных показателей (Серета А.П. с соавт., 2014). Кроме того, необходимость повышения эффективности лечения ППИ определяется огромными финансовыми затратами на лечение данной категории пациентов. С учетом общей мировой тенденции к увеличению количества выполняемых ЭП, нас ожидает рост абсолютного количества пациентов с ППИ, что неизбежно приведет к постоянному росту затрат на лечение этого серьезного осложнения. В Великобритании на лечение одного пациента с данной патологией тратят \$30–50 тысяч (Matthews P.C. et al., 2009). В США к 2020 г. прогнозируют расходы на борьбу с ППИ до \$1,620 млрд. (Kurtz S. et al., 2008).

В структуре микробных возбудителей ППИ лидирующие позиции занимают *Staphylococcus aureus* и коагулазонегативные стафилококки (КНС), представленные в основном *Staphylococcus epidermidis* (Greig J.M., Wood M.J., 2003; Zimmerli W. et al., 2013). Наиболее проблемными для подбора эффективной антибактериальной терапии (АБТ) и лечения ППИ являются метициллинорезистентные (MR) штаммы стафилококков (Гольник В.Н. с соавт., 2012), частота которых в отделениях ОРИТ некоторых хирургических стационаров достигает 88,9% (Шляпников С.А. с соавт., 2009). Известно, что ведущая роль *S. aureus* и *S. epidermidis* в этиологии ортопедической инфекции во

многим обусловлена их способностью формировать многоуровневые микробные биопленки на поверхности имплантатов (Brady R.A. et al., 2009), что существенно затрудняет диагностику ППИ и значительно снижает эффективность АБТ (Raja A.F. et al., 2011).

Лечение инфекций, ассоциированных с любыми ортопедическими конструкциями, требует высоких локальных концентраций антимикробных препаратов (АМП) в области инфекционного очага. Альтернативой системному введению больших доз антибиотиков является комбинация системной и местной АБТ. Применение импрегнированных антибиотиком, чаще всего гентамицином и/или ванкомицином, цементных спейсеров на основе полиметилметакрилата (ПММА) является «золотым стандартом» в лечении инфекции после ЭП крупных суставов (Мурылев В.Ю. с соавт., 2013; Ахтямов И.Ф. с соавт., 2014; Langlais F., 2003; Corona P.S. et al., 2014). Однако ванкомицин активен только в отношении грамположительных (Гр(+)) возбудителей, а обладающий широким спектром активности гентамицин к настоящему моменту практически утратил свое значение при лечении инфекций, обусловленных MR-стафилококками и грамотрицательными (Гр(-)) бактериями. Высвобождение малого количества антибиотика из спейсера не препятствует формированию на нем микробных биопленок и приводит к селекции резистентных штаммов (Tunney M.M. et al., 2007).

Анализ научной литературы показал, что до настоящего времени во многом не решенной в травматологии и ортопедии остается проблема повышения эффективности антибиотикотерапии стафилококковой ППИ с учетом особенностей патогенеза данного осложнения, в основе которого лежит формирование микробных биопленок. Большинство опубликованных работ носит экспериментальный характер, что обусловлено трудностью подбора пациентов с ППИ в сопоставимые группы из-за влияния на течение инфекционного процесса многочисленных факторов. Практически отсутствуют проспективные прямые сравнительные исследования оценки эффективности различных методов лечения, изучаемые группы пациентов, как правило, малочисленны, и авторы больше уделяют внимание хирургическому лечению, а не особенностям антибактериальной терапии. Таким образом, исследование достижимых путей воздействия на микробные биопленки может способствовать разработке новых подходов к антибактериальной терапии ППИ, созданию системы мер по ее оптимизации, и, как следствие, повышению эффективности лечения, что определило цель и задачи нашего диссертационного исследования.

**Цель исследования:** обосновать и апробировать в клинике систему мер оптимизации лечения пациентов со стафилококковой перипротезной инфекцией области тазобедренного или коленного сустава, основанную на резуль-

татах исследований спектра и антибиотикорезистентности возбудителей, их способности к формированию микробных биопленок и клинико-экономической эффективности различных схем общей и местной антибактериальной терапии.

#### **Задачи исследования:**

1. Определить долю различных представителей *Staphylococcus spp.* в этиологической структуре перипротезной инфекции области тазобедренного и коленного суставов в клинике РНИИТО им. Р.Р. Вредена в 2007–2014 годах и оценить их резистентность к антибиотикам за указанный период.

2. Дать сравнительную характеристику исходов санирующего этапа лечения пациентов с перипротезной инфекцией указанной локализации при участии в ее этиологии только стафилококков или стафилококков в ассоциации с другими возбудителями.

3. Изучить способность клинических штаммов *Staphylococcus spp.* к формированию биопленок с учетом видов патогенных микроорганизмов, источников их выделения и метициллинорезистентности.

4. Оценить в эксперименте *in vitro* активность сывороточных концентраций антимикробных препаратов и их комбинаций в отношении формирующихся и зрелых стафилококковых биопленок.

5. Изучить в эксперименте и апробировать в клинике новые эффективные способы локальной антибактериальной терапии у пациентов с перипротезной инфекцией области тазобедренного или коленного суставов.

6. Разработать и внедрить в клиническую практику обоснованные рекомендации по системной антимикробной терапии при перипротезной инфекции и проанализировать их влияние на антибиотикорезистентность клинических штаммов *Staphylococcus spp.*, уровень потребления антибиотиков и финансовые затраты учреждения на данную группу препаратов.

7. Обосновать систему мер по оптимизации антибактериальной терапии у пациентов со стафилококковой перипротезной инфекцией указанной локализации и оценить клинико-экономическую эффективность ее внедрения в клиническую практику.

#### **Научная новизна диссертационного исследования:**

1. Получены новые сведения о структуре возбудителей перипротезной инфекции и динамике изменений их резистентности к антибактериальным препаратам на протяжении восьмилетнего периода наблюдения.

2. Впервые дана сравнительная оценка способности к формированию биопленок у 394 клинических штаммов стафилококков и показаны более выраженные способности к биопленкообразованию у штаммов *S. epidermidis* по

сравнению с *S. aureus* ( $p < 0,05$ ), а также у штаммов из тканевых биоптатов и удаленных компонентов эндопротезов в сравнении с аспиратами из очагов перипротезной инфекции ( $p < 0,05$ ) вне зависимости от вида стафилококка.

3. Разработан и внедрен в клиническую практику оригинальный «Способ преодоления устойчивости к гентамицину у метициллинорезистентных штаммов стафилококка» (патент РФ на изобретение RU 2553601 C2), обеспечивающий усиление бактерицидного эффекта гентамицина в отношении метициллинорезистентных штаммов стафилококков.

4. Предложено новое «Антимикробное средство для профилактики имплант-ассоциированной инфекции и способ его применения» (патент РФ на изобретение RU 2535156 C1), позволившие предупредить развитие инфекции у экспериментальных животных после установки инфицированных металлоконструкций.

5. Впервые экспериментально доказаны преимущества использования для борьбы с перипротезной инфекцией костного гентамицин-содержащего цемента, дополнительно импрегнированного фосфомицином, в сравнении с его импрегнацией ванкомицином или без дополнительного внесения антибиотика.

6. Научно обоснована и успешно апробирована в клинике оригинальная система мер оптимизации антибактериальной терапии у пациентов с перипротезной инфекцией тазобедренного или коленного суставов, позволяющая контролировать рост резистентности ведущих возбудителей (MRSA) в стационаре и направленная на повышение эффективности лечения профильных больных.

### **Практическая значимость результатов диссертационной работы:**

1. Полученные экспериментальные данные о наиболее высокой антимикробной активности комбинации даптомицина, фосфомицина и моксифлоксацина в отношении изолятов MRSA обосновали возможность рекомендовать эти антибиотики в качестве наиболее предпочтительных для лечения перипротезной инфекции, вызванной метициллинорезистентными штаммами стафилококков.

2. Доказанная эффективность применения  $\beta$ -лактамов для терапии перипротезной инфекции, вызванной метициллиночувствительными штаммами стафилококков, вполне сопоставимая с таковой у ванкомицина, позволила достоверно ( $p < 0,05$ ) снизить финансовые затраты на лечение соответствующей категории пациентов.

3. Выявленное увеличение в 2,5 раза риска развития рецидива после санитизирующей операции по поводу перипротезной инфекции, обусловленной ас-

социациями стафилококков с другими патогенными микроорганизмами, позволило рекомендовать после санитрующей операции до получения результатов бактериологического исследования применение антибактериальной терапии, активной в отношении широкого спектра возбудителей.

4. Локальное применение разработанного антимикробного геля (патент РФ на изобретение RU 2535156 C1) в составе комплексной антибактериальной терапии у пациентов с перипротезной инфекцией в области тазобедренного или коленного сустава обеспечило ее эрадикацию в 87,8%.

5. Использование комплексной антибактериальной терапии при лечении пациентов с перипротезной инфекцией, вызванной микробными ассоциациями, позволило достоверно ( $p < 0,05$ ) повысить эффективность эрадикации инфекции с 47,1% до 77% за счет комбинации системной и локальной антимикробной терапии, синергидного действия рациональных комбинаций системно вводимых антибиотиков и усиления антимикробной активности цементных спейсеров с двумя антибиотиками широкого спектра (гентамицином и фосфомицином).

6. Предложенная система мер оптимизации антибактериальной терапии у пациентов с перипротезной инфекцией стафилококковой этиологии в области тазобедренного или коленного сустава, разработанная на основании собственных экспериментальных и клинических исследований, обеспечила улучшение результатов лечения профильных больных и снижение частоты выделения метициллинорезистентных штаммов возбудителей в стационаре.

#### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Участие в этиологии перипротезной инфекции стафилококков в ассоциации с другими патогенными микроорганизмами достоверно повышает риск ее рецидивирования, что определяет целесообразность применения комбинированной системной и локальной антибактериальной терапии, активной в отношении широкого спектра возбудителей, начинать которую следует сразу после санитрующей операции и корректировать после получения результатов бактериологических исследований.

2. Концентрации антибиотиков, создаваемые в крови при их внутривенном введении, не позволяют эффективно подавлять рост зрелых и формирование новых стафилококковых биопленок при перипротезной инфекции, что определяет необходимость удаления инфицированных имплантатов.

3. Предложенные способы локальной антибактериальной терапии, предполагающие использование разработанной гелевой антимикробной композиции, а также дополнительную импрегнацию фосфомицином гентамицин-содержащих цементных спейсеров, сохраняют антимикробную активность в

инфекционных очагах на протяжении нескольких недель, что обеспечивает повышение эффективности лечения перипротезной инфекции.

4. Системный подход к планированию, назначению и контролю антибактериальной терапии у пациентов с перипротезной инфекцией дает возможность повысить микробиологическую и клиническую эффективность лечения за счет оптимального выбора препаратов, путей их введения и дозировок, контролировать рост резистентности возбудителей и рационально использовать финансовые средства профильных лечебно-профилактических учреждений.

5. Внедрение в клиническую практику предложенной системы мер оптимизации лечения пациентов со стафилококковой перипротезной инфекцией области тазобедренного или коленного сустава позволяет достоверно увеличить вероятность эрадикации инфекции, контролировать распространение метициллинорезистентных штаммов стафилококков в стационаре, а также повысить клинико-экономическую эффективность комплексной АБТ у больных указанного профиля.

#### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Задачи и положения, выносимые на защиту диссертации, соответствуют формуле специальности 14.01.15 – «Травматология и ортопедия». Результаты проведенного исследования соответствуют 1-й, 3-й и 4-й областям исследования в паспорте специальности 14.01.15 – «Травматология и ортопедия».

#### **Личный вклад автора**

Автору принадлежит ведущая роль в выборе направления исследования, проведен критический анализ отечественной и зарубежной литературы с определением проблемных вопросов и путей их решения. Самостоятельно составлены исследовательские протоколы, сформирована компьютерная база собранных материалов, проведена статистическая обработка полученных данных, осуществлена интерпретация основных результатов экспериментальных и клинических исследований, предложены соответствующие алгоритмы, сформулированы выводы и практические рекомендации, написаны все разделы диссертации и ее автореферат. Кроме того, личный вклад автора заключался в планировании антибактериальной терапии и ее послеоперационной коррекции у пациентов с перипротезной инфекцией в области ТБС и КС во всех группах пациентов, включенных в исследование.

#### **Апробация и реализация диссертационной работы**

Основные положения диссертации обсуждены и доложены на научно-практической конференции с международным участием «Вреденовские чте-

ния» (СПб., 2012, 2013, 2015); VII, VIII, IX и X конгрессах с международным участием «Рациональная фармакотерапия и клиническая фармакология» (СПб, 2012, 2013, 2014, 2015); XV международном конгрессе межрегиональной общественной организации «Общество фармакоэкономических исследований» «Справедливость, Качество, Экономичность» (Москва, 2013); XXI и XXIII Европейских конгрессах по клинической микробиологии и инфекционным болезням (ЕССMID, Милан, 2011; Берлин, 2013); 34-м Всемирном ортопедическом конгрессе Международного общества травматологов-ортопедов (SICOT, Хайдерабад, 2013); 32, 33 и 34-й конференциях Европейского общества инфекции костей и составов (EJIS, Прага, 2013; Утрехт, 2014; Эсторил 2015); XV и XVI Международных конгрессах по инфекционным болезням (ICID, Бангкок, 2012; Кейптаун, 2014); XVI Конгрессе Европейской федерации национальных ассоциаций травматологов-ортопедов (EFORT, Прага, 2015); 24-й Конференции Европейской ассоциации по лечению ран (EWMA, Мадрид, 2014); XVII и XVIII Всероссийских научно-практических конференциях по медицинской микробиологии и клинической микологии «Кашкинские чтения» (СПб., 2014 и 2015).

По теме диссертационного исследования опубликовано 46 научных работ, в том числе: глава в руководстве, 18 статей (из них 15 – в рецензируемых научных журналах из перечня ВАК, одна – в зарубежной печати), 26 тезисов докладов и публикаций в материалах различных научных конференций (17 – российских и 9 – зарубежных), получено два патента РФ на изобретения.

Результаты исследований по теме диссертации внедрены в работу клиники ФГБУ «РНИИТО им. Р.Р. Вредена». Практические рекомендации, разработанные в ходе выполнения диссертационной работы, использованы при подготовке главы по диагностике и лечению ППИ в «Руководстве по хирургии тазобедренного сустава». Материалы диссертации используются при обучении на кафедре травматологии и ортопедии ФГБУ «РНИИТО им. Р.Р. Вредена» клинических ординаторов, аспирантов и травматологов-ортопедов, проходящих усовершенствование по программам дополнительного образования.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация представлена на 308 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, характеристики материалов и методов исследования, пяти глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Текст иллюстрирован 73 рисунками и 54 таблицами. Библиографический указатель включает 290 источников, в том числе 48 – отечественных и 242 – иностранных авторов.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Материалы и методы

Основу **клинической части** исследования составили 476 пациентов, проходившие лечение в отделении гнойной хирургии РНИИТО им. Р.Р. Вредена по поводу ППИ области тазобедренного (ТБС) или коленного сустава (КС), обусловленной *S. aureus* и *S. epidermidis*, в период 2008–2015 гг. Критерием включения было выполнение санлирующей операции с сохранением эндопротеза или его удалением и установкой цементного спейсера. Пациенты перенесли эндопротезирование по поводу остеоартроза (70,5%), другими причинами были асептический некроз головки бедренной или большеберцовой кости (12,8%), ревматоидный артрит (11,1%), перелом шейки бедренной кости (5,6%). В **ретроспективную** часть исследования включены пациенты (n=224), пролеченные с 2008 по 2010 г., до внедрения в клиническую практику разработанной системы мер по оптимизации антибактериальной терапии ППИ. Средний возраст составил 55,5 лет (ДИ 95% 52,6–58,5), мужчин было 42,2%, женщин – 57,8%. В 60,2% случаях (n=133) развитие ППИ было диагностировано после первичного ЭП, в 29,8% случаях (n=82) – после ревизионного. В 79,9% случаев (n=179) ППИ была локализована в области ТБС, в 20,1% – КС.

**Проспективно** изучали влияние хирургической тактики ведения пациентов, характера возбудителя, стартовой АБТ и разработанной системы мер по ее оптимизации на клинико-экономическую эффективность лечения 252 пациентов с ППИ стафилококковой этиологии области ТБС и КС, пролеченных в отделении гнойной хирургии в 2011–2015 гг. (рис. 1).

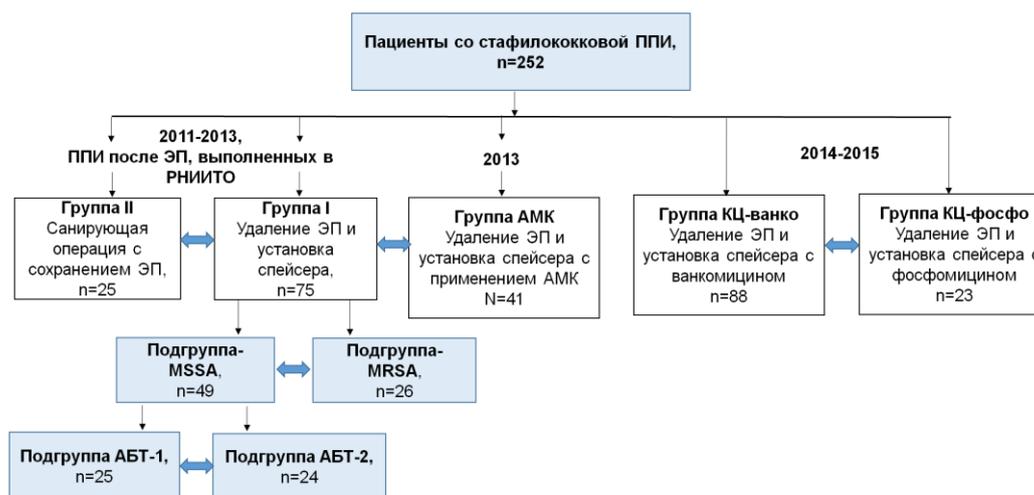


Рис. 1. Схема распределения пациентов в зависимости от группирующего фактора



– группы сравнения; АМК – антимикробная композиция

Клиническая характеристика проспективных групп больных представлена в таблице 1. Группа II значимо ( $p < 0,05$ ) отличалась от группы I большим количеством женщин (88,2 vs 67,6 %) и большим возрастом пациентов (Me 67 vs 57 лет), что обусловлено различиями в патогенезе ППИ у пациентов указанных групп. В соответствии с поставленной задачей для оценки клинико-экономической эффективности saniрующих операций с сохранением и удалением эндопротеза необходимо было провести сравнение между группами пациентов с ранней манифестацией ППИ (до 1 месяца), когда возможно сохранение эндопротеза, и отсроченным развитием ППИ, когда лечение включает удаление эндопротеза и установку антимикробного спейсера. В период формирования указанных групп (2011–2013 гг.) в группу 2 были включены все случаи saniрующих операций с сохранением эндопротеза, выполненных по поводу стафилококковой ППИ I типа, развившейся после ЭП ТСБ или КС, выполненного в условиях клиники института.

Таблица 1

## Клиническая характеристика пациентов в проспективных группах

Характеристики	Группа I n=75	Группа II n=25	Группа АМК n=41	Группа КЦ-ванко n=88	Группа КЦ-фосфо n=23
Возраст, лет, Me (25–75% IQR)	57 (49–66)	67* (54,5–71)	51 (40–65)	59 (52–66)	63 (40–65)
Женщин, %	66,7	88,2*	53,3	50	47,8
ППИ области ТБС, %	68,0	70,6	83,3	100	100
ППИ области КС, %	32,0	29,4	16,7	0	0
РА, СКВ, %	8,0	0,0	8,2	3,2	6,1
Гипертензия, %	66,7	58,8	62,8	70,1	57,6
Риск ССО $\geq 3$ , %	52,0	47,1	48,5	40,2	48,5
ИМТ, кг/м <sup>2</sup> , Me (25–75% IQR)	26,3 (24,5–31,6)	32,7 (31,3–34,1)	26,9 (24,3–28)	28,6 (24,5–31,2)	27,9 (25,3–28,4)
Санирующие операции в анамнезе, %	31,1	11,8	64,7	33,1	34,8
Время существования инфекции, мес., Me (25–75% IQR)	1,3 (0,5–15)	1 (0,5–4)	16 (1–24)	20 (4–78)	44 (4–124)

Примечание: IQR – межквартильный интервал, МВП – мочевыводящие пути, РА – ревматоидный артрит, СКВ – системная красная волчанка, ССО – сердечно-сосудистые осложнения, ИМТ – индекс массы тела, \* –  $p < 0,05$ .

Остальные сопоставляемые группы и подгруппы (см. рис. 1) значимо не различались по половозрастному составу. Эффективность лечения определя-

ли как купирование инфекции, т.е. отсутствие рецидива на момент поступления в клинику РНИИТО им. Р.Р. Вредена для выполнения 2-го этапа лечения (ревизионного ЭП): отсутствие свищевого хода, лабораторных признаков инфекционно-воспалительного процесса (нормальный уровень СОЭ, СРБ, количества лейкоцитов), отрицательные результаты бактериологического исследования аспирата. Учитывали также отсутствие обращения пациента в течение 1 года после выполнения 2-го этапа в клинику с признаками развития ППИ.

Исследование **спектра ведущих возбудителей ППИ** и их АБ-резистентности основано на анализе результатов бактериологического исследования тканевых биоптатов, аспиратов, удаленных ортопедических конструкций от 1706 пациентов, проходивших лечение по поводу ППИ в отделении гнойной хирургии РНИИТО им. Р.Р. Вредена в 2007–2014 гг. В исследование включены данные о чувствительности 2268 штаммов *Staphylococcus* spp. (*S. aureus* – 65,5%, *S. epidermidis* – 25,8% случаев). В связи со значительной долей микробных ассоциаций, в составе которых выделялись стафилококки (27,7%), была дополнительно изучена резистентность штаммов *E. faecalis* (n=36), *E. faecium* (n=15), *P. aeruginosa* (n=40), *A. baumannii* (n=21), *E. cloacae* (n=22), *E. coli* (n=14), *K. pneumoniae* (n=13). Исследование биоматериала проводили в соответствии с «Методическими указаниями по определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам» (МУК 4.2.1890-04. 2004). Чувствительность к АМП определяли диско-диффузионным методом с использованием агара Мюллера – Хинтона (BioMedical, Россия) и дисков с антибиотиками (Oxoid, Великобритания). Минимальные ингибирующие концентрации (МИК) ванкомицина в отношении 193 штаммов MRSA и 96 штаммов MRSE были определены E-тестами (Oxoid, Великобритания). Интерпретацию результатов выполняли в 2007–2010 гг. в соответствии с МУК 4.2.1890-04; с января 2011 г. – с критериями EUCAST, версия 1.3. и 1.5. Эпидемиологический анализ данных проводили с применением программы «Система микробиологического мониторинга «Микроб-2»» (© 1999–2013 МедПроект-3).

**Экспериментальная** часть работы включала *in vitro* и *in vivo* исследования. Основу *in vitro* изучения биопленкообразования (БПО) стафилококков составили результаты экспериментального исследования 394 клинических штаммов (241 – *S. aureus*, и 153 – *S. epidermidis*), выделенных из тканевых биоптатов, аспиратов и удаленных конструкций 321 пациентов с ППИ, проходивших лечение в клинике РНИИТО им. Р.Р. Вредена в 2012 г. Эффективность *in vitro* концентраций антибиотиков, аналогичных создаваемым в

сыворотке крови при системном введении стандартных доз препаратов (далее – сывороточные концентрации), изучали на выборке 25 клинических изолятов MRSA: слабыми биопленкообразователями были 10 штаммов, сильными – 15. Оценивали эффективность ванкомицина, даптомицина, линезолида, рифампицина, фосфомицина, моксифлоксацина, ко-тримоксазола, гентамицина, и их комбинаций с моксифлоксацином. Пленкообразующие свойства штаммов изучали по методу Christensen с соавторами (1985), антимикробное действие на биопленки – по А.Ф. Раја с соавторами (2011) в собственных модификациях. Оценивали среднюю эффективность антибиотика в отношении всех изолятов и среднюю положительную (+) эффективность антибиотика в отношении изолятов, которые затормозили формирование или рост биопленки, а также долю изолятов, в отношении которых проявился положительный эффект антибиотиков (чувствительные штаммы). Для экспериментального обоснования способа преодоления устойчивости к гентамицину у MR-штаммов стафилококка в серии экспериментов *in vitro* был изучен синергизм субклинических концентраций антибиотиков методами «шахматной доски» (Berenbaum M.C., 1978) и кинетических кривых гибели/роста бактерий в отношении референсных штаммов: MSSA ATCC 25923 и ATCC 6538, клинических изолятов: MRSA 8074 и 8785, резистентных к гентамицину.

Оценку *in vitro* длительности антимикробной активности (АМА) образцов костного цемента выполняли на примере DEPUY CMW 1 GENTAMICIN, с добавлением 5 и 10 мас.% ванкомицина (1 и 2 г на 20 г цемента) и 10 и 20 мас.% фосфомицина (2 и 4 г на 20 г цемента). Контролем служили образцы костного цемента без дополнительного антибиотика. Оценку АМА проводили в отношении референсных штаммов *S. aureus* ATCC6538 (MSSA), *S. aureus* ATCC33591 (MRSA), *Klebsiella pneumoniae* ATCC33495 и *Escherichia coli* ATCC25922, меняя ежедневно инкубационный раствор в контейнерах, содержащих образцы цемента, до прекращения АМА или 28 суток. О наличии АМА судили по наличию зоны лизиса бактериальной культуры на твердой питательной среде в области нанесения 10 мкл инкубационного раствора.

Эксперименты *in vivo* проводили на 30 крысах (самцах) породы Wistar, массой 200–250 г и 25 кроликах обоих полов породы Шиншилла массой 3–3,5 кг в виварии ФГБУ «РНИИТО им. Р.Р. Вредена». Оперативные вмешательства проводили под кетаминным наркозом. Эвтаназию животных производили путём передозировки раствора 20% тиопентала натрия. Все манипуляции над животными проводили в соответствии с Хельсинкской декларацией о гуманном обращении с животными.

Для изучения динамики морфологических изменений при развитии имплантат-ассоциированной инфекции (ИАИ), вызванной *S. epidermidis*, и оценки возможности ее купирования путем хирургической санации с установкой антимикробного гентамицин-содержащего спейсера при отсутствии системной АБТ у 30 крыс выполнено моделирование ИАИ. На первом этапе имплантировали спицу Киршнера в костномозговой канал бедренной кости: контрольной группе (n=15) – стерильную, основной (n=15) – инфицированную клиническим штаммом *S. epidermidis* №1341/12 ( $1 \times 10^6$  КОЕ/мл), выделенным от пациента с ППИ. На втором этапе (14-е сутки после операции) животным удаляли имплантат и устанавливали блоковидный цементный гентамицин-содержащий спейсер. В основной группе животных спейсер устанавливали после тщательной санации гнойного очага и обработки послеоперационной раны антисептиком. Оценивали клинические симптомы воспаления операционной раны и оперированной конечности. На 7-е, 14-е и 28-е сутки после второго этапа выполняли динамическую оценку массы тела, окружности оперированного бедра, ректальной температуры животных, клинический анализ крови. После эвтаназии животных забирали тканевые биоптаты для бактериологических и морфологических исследований; удаленные имплантаты – для бактериологического исследования.

Для экспериментального обоснования разработанного способа профилактики разработанной полимерной антибактериальной композицией (АМК) 25 кроликам обоих полов породы Шиншилла массой 3–3,5 кг была выполнена имплантация спицы Киршнера в костномозговой канал бедренной кости. Животным I (основной) группы (n=9) сверлом перфорировали канал через вертел бедренной кости. В полость канала вводили 0,5 мл и орошали рану 1,5 мл микробной взвеси *S. aureus* ATCC 6538 ( $1 \times 10^8$  КОЕ/мл), через 1–2 минуты устанавливали спицу Киршнера, предварительно обработанную разработанной полимерной АМК, 2,0 мл композиции наносили из шприца на мягкие ткани в области раны, после чего рану ушивали и обрабатывали раствором йода. Животным II группы (n=8) за 30 минут до начала операции вводили внутривенно цефтриаксон в дозе 50 мг/кг массы тела, а после инфицирования промывали рану раствором хлоргексидина. Животным III (контрольной) группы (n=8) выполняли операцию, но не проводили профилактику дооперационным введением цефтриаксона или интраоперационным введением АМК. У всех животных в ходе эксперимента оценивали температуру и массу тела, окружность оперированного бедра в динамике на 5-е, 7-е и 14-е сутки, выполняли клинический анализ крови и определяли СРБ до операции и на 7-е и 14-е сутки. Ежедневно оценивали общее состояние животных; отмечали

наличие клинических признаков воспаления. Животных выводили из опыта на 14-е сутки после операции, исследовали микробной обсемененность удаленных спиц, тканевых биоптатов и антимикробную активность мышечной ткани.

Исследование клеточного состава крови экспериментальных животных выполняли на автоматическом гематологическом анализаторе Beckman&Coulter LH 500 (Beckman Coulter Inc., США), уровня СРБ – на биохимическом анализаторе Roche Cobas INTEGRA-800, (Roche Inc., США) в ЦКДЛ РНИИТО им. Р.Р. Вредена. Бактериологические исследования в рамках экспериментов *in vivo* выполняли в научном отделении профилактики и лечения раневой инфекции института. Патоморфологические исследования выполняли в экспериментально-морфологическом отделении института. Препараты окрашивали гематоксилином и эозином. Микроскопию окрашенных гистологических препаратов проводили на световом микроскопе «Axiostar plus» (Carl Zeiss, Германия) с увеличением в 40, 100, 200 и 400 раз. Для фотографирования микропрепаратов использовали микрофотонасадку МФНЭ-1 и цифровую видеокамеру «Baumer optronic» (Carl Zeiss, Германия) с системой ввода изображения «Видеотест» (Россия).

**Фармакоэкономическая часть** исследования основана на проведении ретроспективного описательного **фармакоэпидемиологического исследования**, в котором использована методология определения суточной дозы – Defined Daily Dose (DDD). Величина DDD для каждого конкретного препарата была взята из информации Центра потребления лекарственных средств (ЛС) Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ). Исследование потребления ЛС проводилось в соответствии с АТС/DDD методологией ВОЗ (2011). Анализ проводили с применением частотного, ABC и VEN-анализа. Изучали ежегодную структуру потребляемых антибиотиков и финансовые затраты на них в отделении гнойной хирургии за восемь последовательных лет – с 2007 по 2014 г. на основе отчетов компьютерных программ «1С: Аптека» (1С: Предприятие 7.7) (2007–2012 гг.) и «Ариадна» (2013–2014 гг.), в которых ведется учет закупки и потребления ЛС.

Расчет **фактической «стоимости болезни»** выполняли по формуле:

$C = (COI_1 + COI_2 + COI_3 \dots + COI_n) / N$ , где  $C$  – средний показатель стоимости болезни;  $COI_1, 2, 3 \dots n$  – показатель стоимости у 1-го, 2-го, 3-го, ..., n-го пациента;  $N$  – число пациентов, принятых в расчет. Учитывали прямые медицинские и немедицинские расходы на медикаменты, расходные материалы, препараты крови, оперативное пособие, а также фактические немедицинские затраты на пребывание пациента в стационаре, включая стоимость предоставления палаты.

В ходе анализа **клинико-экономической эффективности** лечения пациентов с ППИ в зависимости от типа оперативного вмешательства, характера возбудителя, стартовой АБТ, применения разработанной системы мер ее оптимизации анализировали финансовые карты пациентов с ППИ (n=252), составивших проспективную группу. Анализ выполняли с помощью метода затратной эффективности «СЕА» (Cost-effectiveness analysis). В нашем исследовании не проводили анализ не прямых затрат, т.к. оценка затрат на оплату больничных листов, стоимость производственных потерь и др., не входила в наши задачи, и данные расходы, понесенные в результате заболевания обществом в целом и пациентом в частности, не входят в затраты здравоохранения. Таким образом, формула для расчета эффективности затрат была:

$CEA = (DC)/Ef$ , где СЕА — соотношение «затраты/эффективность» (выявляет затраты, необходимые на единицу эффективности), DC — прямые затраты (соответствуют «стоимости болезни»), Ef — эффективность лечения (доля больных, у которых достигнуто купирование ППИ).

Полученные результаты экспериментов и данные пациентов регистрировали на персональном компьютере в виде электронных таблиц MS Office Excel, 2007 (Microsoft, США), обрабатывали с использованием системы Statistica for Windows (версия 10). Для визуализации структуры данных и полученных результатов их анализа применяли графические возможности системы MS Office Excel, 2007 (Microsoft, США), Statistica for Windows (версия 10). При неподчинении выборки закону нормального распределения в качестве меры центральной тенденции для таких признаков использовали медиану (Me), в качестве мер рассеяния – нижний (Q1) и верхний (Q3) квартили (25–75% IQR), сопоставление количественных признаков между группами сравнения проводили с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни (Гржибовский А. М., 2008). Когда распределение признаков не отличалось от нормального, данные представляли с помощью среднего арифметического (Mcp) и 95% доверительного интервала (ДИ 95%), различия между группами оценивали с помощью T-критерия Стьюдента. Анализ номинальных переменных для сравнения частоты встречаемости признака проводили с определением Z-критерия (Сергиенко В.И., Бондарева И.Б., 2000). Сопоставление частотных характеристик для оценки влияния факторов на зависимую переменную проводили с помощью непараметрических методов  $\chi^2$ ,  $\chi^2$  с поправкой Йетса, и расчета относительного риска (ОР) с доверительным интервалом (ДИ) 95%. Для проверки гипотез о связях между переменными использовали коэффициент корреляции Спирмена (r-Spearman's), для которого необходимый объем выборки составляет  $n_1 \geq 5$  и  $n_2 \geq 5$  и соответствие распределения

нормальному виду необязательно. Различия показателей между группами принимали за достоверные при  $p < 0,05$ .

### Результаты исследования

#### *Роль стафилококков в этиологии ППИ, профиль их антибактериальной резистентности*

За 8-летний период исследования в видовом спектре возбудителей ППИ ведущие позиции занимали два вида стафилококков (*S. aureus* и *S. epidermidis*) – 49,9%, далее следовали: *Enterococcus faecalis* – 6,4%, неферментирующие Гр(–) бактерии (*Acinetobacter* spp. и *P. aeruginosa*) – 11% и представители семейства энтеробактерий (*E. cloacae*, *K. pneumoniae*, *E. coli*) – 4,1%. Доля Гр(+) патогенов в разные годы составляла 65,8–77,6%, при этом в видовой структуре возбудителей ППИ с участием Гр(+) микроорганизмов доля стафилококков в динамике не изменялась и была: 87,8, 85,6, 81,4, 89,6, 88,1, 82,1, 80,9 и 80,0% за каждый исследуемый год, соответственно. Установлено преобладание в структуре возбудителей стафилококковой ППИ *S. aureus* и *S. epidermidis* (93,3%). Другие виды КНС выделены в 8,7% случаев, в том числе *S. haemolyticus* (1,7%), *S. warneri* (1,4%), *S. hominis* (0,9%).

Среди включенных в исследование штаммов стафилококков *S. epidermidis* характеризовались большим ( $p < 0,05$ ) уровнем резистентности к метициллину (рис. 2) (56,2% vs. 24,9%) в сравнении со *S. aureus*. MR-штаммы выделялись значительно чаще ( $p < 0,01$ ) из биологических материалов, чем с удаленных ортопедических конструкций: 53% и 35,6% соответственно.

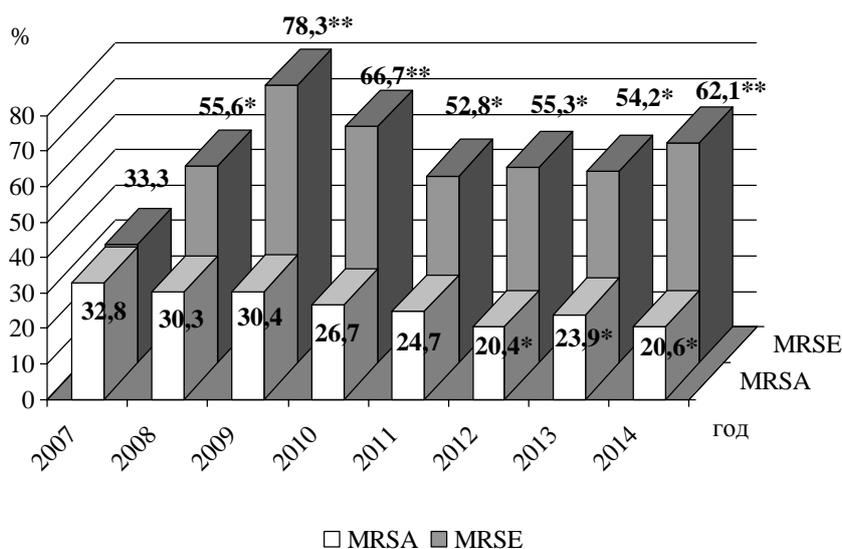


Рис. 2. Частота выделения MR-штаммов *S. aureus* (n=1443) и *S. epidermidis* (n=554), от пациентов с ППИ, за период 2007–2014 гг.

\* –  $p < 0,05$  в сравнении с 2007 г.; \*\* –  $p < 0,01$  в сравнении с 2007 г.

Распространенность MRSA с 2007 по 2009 г. значимо не менялась (32,8%, 30,3% и 30,4% за каждый указанный год соответственно), после чего доля MRSA стала снижаться и с 2012 г. до конца срока наблюдения была достоверно ниже ( $p < 0,05$ ) 2007 г. Доля MRSE за период 2007–2009 гг. выросла ( $p < 0,01$ ) более чем в 2 раза до 78,3%, после чего данный показатель несколько снизился, однако в течение последующего периода наблюдения значимо превышал показатель 2007 года. Анализ антибиотикорезистентности других видов КНС не проводили в связи с малым количеством выделенных штаммов (всего за 8 лет от 16 до 35 штаммов).

За 2007–2009 гг. наиболее активными в отношении стафилококков были ванкомицин и рифампицин. Отмечено также нарастание устойчивости *S. epidermidis* к ципрофлоксацину, гентамицину, эритромицину, по-видимому, сопряженное с ростом метициллинорезистентности. В связи с ассоциированной резистентностью MR-изолятов к антибиотикам других групп, с 2010 г. мониторинг резистентности стафилококков выполняли с учетом их чувствительности к метицилину. В 2009 г. был проведен дополнительный анализ чувствительности 102 штаммов *S. aureus* и 23 – *S. epidermidis* к линезолиду (резистентных штаммов не было), фосфомицину (резистентность 8 и 9,5% соответственно для *S. aureus* и *S. epidermidis*), моксифлоксацину (16,3 и 5%), ко-тримоксазолу (2 и 22,2%) и доксициклину (22,8 и 40,9%).

За период 2010–2014 гг. чувствительность 1523 штаммов стафилококков, к ванкомицину и линезолиду сохранялась на уровне 100%. Показатели резистентности MSSA к большинству антибиотиков составили, за исключением пенициллина, в среднем 3,1% (0,3–8,8%). Штаммы MSSE, по сравнению с MSSA, характеризовались существенно меньшей ( $p < 0,05$ ) устойчивостью к бензилпенициллину (50,5%), в то время, как к другим антибиотикам резистентность MSSE была выше и составила в среднем 14,9% (1,5–35,5%) (табл. 2).

Устойчивость MR-представителей обоих исследуемых видов была высокой к гентамицину и ципрофлоксацину (67–78%), штаммы MRSA были более устойчивы ( $p < 0,05$ ) к моксифлоксацину, а MRSE – к тетрациклину, ко-тримоксазолу, клиндамицину и эритромицину ( $p < 0,05$ ). Высокую активность сохранил фосфомицин, к которому были чувствительны около 90% всех штаммов. Ко-тримоксазол был активен в отношении 77% изолятов MRSA, рифампицин – в отношении 74–75% MR-штаммов стафилококков обоих видов. Независимо от вида стафилококка динамика резистентности к большинству АМП была незначительной. Исключение составили: для MSSA

– клиндамицин, резистентность к которому снизилась к 2014 г. до 1,1% ( $p < 0,05$ ), для MSSE – тетрациклин в отношении которого устойчивость снизилась с 25 до 2,4% ( $p < 0,05$ ) и фосфомицин, резистентность к которому выросла с 0 до 12,2% ( $p < 0,05$ ).

Таблица 2

Резистентность штаммов *S. aureus* и *S. epidermidis* с учетом чувствительности к метициллину 2010–2014, %

Антибиотик	MSSA (n=815)	MSSE (n=216)	MRSA (n=242)	MRSE (n=290)
Бензилпенициллин	76,9*	50,5	100,0	100,0
Тетрациклин	8,8*	19,8	27,2**	41,5
Эритромицин	7,4*	35,5	48,4**	61,3
Ципрофлоксацин	3,5*	16,5	78,2	67,2
Клиндамицин	3,2	5,2	52,9**	38,6
Гентамицин	2,0*	17,6	72,6	68,4
Рифампицин	1,0	2,2	25,4	26,3
Моксифлоксацин	0,9	1,5	50,5**	25,8
Ко-тримоксазол	0,7*	22,2	10,6**	45,9
Фосфомицин	0,3*	14,3	10,2	7,9
Фузидиевая кислота	0,0	0,0	0,0	2,1
Ванкомицин	0,0	0,0	0,0	0,0
Линезолид	0,0	0,0	0,0	0,0

\* –  $p < 0,05$  при сравнении с MSSE

\*\* –  $p < 0,05$  при сравнении с MRSE

Более значительные изменения профиля резистентности выявлены для MR-изолятов. С 2009 по 2014 г. установлено значимое увеличение доли изолятов MRSA, резистентных к ципрофлоксацину с 63,6 до 93,5% ( $p < 0,01$ ), к гентамицину с 56 до 81,3% ( $p < 0,05$ ), моксифлоксацину с 47 до 89,4% ( $p < 0,01$ ), клиндамицину с 38,7 до 61,7% ( $p < 0,05$ ), эритромицину с 36 до 63,8% ( $p < 0,05$ ). В то же время у штаммов MRSE отмечен значительный рост устойчивости к гентамицину с 48 до 82,9% ( $p < 0,01$ ), ко-тримоксазолу с 17,4 до 45,1% ( $p < 0,05$ ) и рифампицину с 8,7 до 24,4% ( $p > 0,05$ ).

У 193 изолятов MRSA и 96 MRSE были определены минимальные ингибирующие концентрации (МИК) ванкомицина. Штаммы MRSA с МИК  $> 2$  мкг/мл выявлены не были, менее 12% штаммов MRSA и 9% MSRE характеризовались МИК ванкомицина 0,5 мкг/мл. При этом доля изолятов с МИК  $\geq 2$  мкг/мл среди MRSA составила 19,2%, среди MRSE – 35,4% ( $p < 0,05$ ). Уровни чувствительности к ванкомицину с МИК  $\leq 1$  мкг/мл демонстрировали только 48,9% штаммов MRSE, при этом у 35,4% изолятов данного вида установлены значения МИК  $\geq 2$  мкг/мл.

За исследуемый период 27,7% изолятов *Staphylococcus* spp. были выделены в ассоциации с другими Гр(+), Гр(-) бактериями и прочими микроорганизмами (анаэробами, грибами). Частота выделения ассоциаций колебалась в различные годы от 16,4 до 36%. При этом к 2014 г. значительно увеличилась доля ассоциаций с тремя и более видами возбудителей ( $p < 0,05$ ), что, по-видимому, связано со значительным изменением структуры исследуемых образцов материалов, направляемых от пациентов с ППИ на бактериологическое исследование. С 2009 г. отмечено значимое увеличение ( $p < 0,01$ ) частоты исследования тканевых биоптатов с 0,2–1% в 2007–2008 гг. до 62,1–66,6% в 2013–2014 гг., а с 2011 г. – существенное снижение ( $p < 0,01$ ) количества исследований раневого отделяемого с 72,2–68,8% в 2007–2008 гг. до 11,2–6,9% в 2012–2014 ( $p < 0,01$ ). Начиная с 2012 г. исследуют также удаленные ортопедические конструкции (цементные спейсеры, компоненты эндопротезов и др.). Кроме того, в 2013 г. была оптимизирована методика культурального посева тканевых биоптатов, при которой в питательную среду биоптаты помещают только после тщательной гомогенизации. Указанные изменения привели к тому, что за период 2013–2014 гг. два и более возбудителя чаще выделяли именно из тканевых биоптатов (47%), а наименьшей (11,6%) была частота выделения ассоциаций из биологических жидкостей: аспиратов и суставной жидкости, в то время как ранее частота выделения ассоциаций из указанных биоматериалов была сопоставимой. Выделенные из тканевых биоптатов в 2013–2014 гг. ассоциации в 36,3% случаев содержали в своем составе три и более возбудителя, что подтверждает предположение, о том, что изменения в количественной структуре микробных ассоциаций обусловлены изменением структуры исследуемых образцов и методологии проведения самих бактериологических исследований.

Все ассоциации стафилококков с другими возбудителями были разделены на группы (рис. 3):

– без участия Гр(-) бактерий – в состав ассоциаций помимо *Staphylococcus* spp. входят другие Гр(+) аэробные микроорганизмы: *Enterococcus* spp., *Streptococcus* spp.;

– с участием Гр(-) бактерий – в состав ассоциаций помимо *Staphylococcus* spp. входят Гр(-) аэробные микроорганизмы: *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp. и представители семейств *Enterobacteriaceae*;

– с участием прочих микроорганизмов – в состав ассоциаций помимо *Staphylococcus* spp. входят анаэробные микроорганизмы, в основном

*Corynebacterium* spp., *Propionibacterium* spp., *Bacteroides* spp., *Peptostreptococcus* spp.

В разные годы в 34,8 – 69,4% случаев стафилококки выделялись вместе с Гр(–) бактериями (рис.3), как правило, с представителями семейства *Enterobacteriaceae* и в ряде случаев – родов *Acinetobacter* и *Pseudomonas*. Полученные результаты определили необходимость изучить чувствительность других видов возбудителей ППИ, входящих в ассоциации со стафилококком, для разработки рекомендаций по рациональной АБТ. Частота выделения штаммов *Enterococcus* spp. при ППИ составила 10,9%, из них 59,1% – штаммы *E. faecalis*, 21,1% – *E. faecium*. Доля Гр(–) бактерий составила 16,4%, в том числе неферментирующие бактерии: *P. aeruginosa* – 3,5% и *A. calcoaceticus/baumannii* complex – 4,4%. Энтеробактерии участвовали в этиологии ППИ области ТБС и КС в малом числе случаев и были представлены *E. cloacae* (3,2%), *K. pneumoniae* (1,7%) и *E. coli*. (1,7%).



Рис. 3. Динамика структуры ассоциаций штаммов *Staphylococcus* spp. с учетом наличия в составе Гр(–) бактерий за 2007–2014 гг.

Все изоляты энтерококков были чувствительны к ванкомицину, линезолиду, тигециклину. Только 26,5% штаммов были резистентны к ампициллину. Высокую активность сохраняли ампициллин/сульбактам и имипенем/циластатин, при этом более 70% штаммов *E. faecalis* (n=36) чувствительны к фторхинолонам, гентамицину. Штаммы *E. faecium* (n=15) отличались более высокой резистентностью к исследуемым антибактериальным препаратам за исключением ванкомицина. Выделенные

штаммы *P. aeruginosa* (n=40) характеризовались высоким уровнем резистентности к амикацину (25,6%), гентамицину (39,5%), пиперациллину (21,1%), цефалоспорином III–IV поколений (17,5–24%), ципрофлоксацину (47,5%), меропенему (51,5%), азтреонаму (45,5%). Наиболее активными в отношении *P. aeruginosa* были тобрамицин (96%), пиперациллин/тазобактам (93,3%), колистин (93,8%), имипенем (89,3%), цефоперазон/сульбактам (87,5%). Высокую активность в отношении выделенных штаммов показал антисептик диоксидин (99,7%), разрешенный для системного применения. Изолированные штаммы *A. baumannii* (n=21) отличались высоким уровнем резистентности к аминогликозидам (40–66,7%), пиперациллину (75%), цефалоспорином III–IV поколений (69,2 – 85,7%), ципрофлоксацину (57,1%). Наиболее активными в отношении *A. baumannii* являлись карбапенемы (12,5–13,3%), колистин (0%), диоксидин (4,7%).

Высокая резистентность изолятов *E. cloacae* (n=22) отмечена к ампициллину (84,2%), приперациллину (50%), доксициклину (33,3%), цефтазидиму (26,1%), амоксициллину/клавуланату (38,4%). Пиперациллин/тазобактам, цефоперазон/сульбактам, цефепим, цефоперазон, ципрофлоксацин, карбапенемы, тобрамицин, диоксидин, колистин сохраняли активность в отношении 81,8–100% штаммов. Выделенные изоляты *E. coli* обладали наибольшей резистентностью к пенициллинам, включая ингибиторзащищенные бета-лактамы антибиотики (46,6–66,7%), цефалоспорином (28,6–66,7%), гентамицину (38,5%), ципрофлоксацину (57,1%), доксициклину (28,6%), тетрациклину (50%) и ко-тримоксазолу (35,2%). Все штаммы *E. coli* были чувствительны к цефоперазон/сульбактаму, карбапенемам, амикацину, тобрамицину, диоксидину и колистину. Выделенные изоляты *K. pneumoniae* обладают наибольшей среди представленных видов энтеробактерий резистентностью, при этом наибольшую активность против них сохраняют пиперациллин/тазобактам (81,8%), карбапенемы (100%), диоксидин (100%) и колистин (100%).

### **Влияние микробных ассоциаций на результаты санитизирующей операции с удалением эндопротеза и установкой спейсера**

Для сравнительной оценки исходов лечения пациентов с ППИ при участии в ее этиологии стафилококков или их ассоциации с другими патогенами ретроспективно изучены истории болезни 224 пациентов, которым выполнены санитизирующие операции с удалением эндопротеза и установкой спейсера. Частота рецидива ППИ в течение года после санации в данной выборке составила 31,2%. В зависимости от этиологии инфекции пациенты были разделены на группы: монобактериальной ППИ (МБ-ППИ) –

пациенты с инфекцией, обусловленной только представителем *Staphylococcus* spp.; полибактериальной ППИ (ПБ-ППИ) – пациенты с инфекцией, обусловленной ассоциацией стафилококка с другими патогенами.

Исследуемые группы значимо не различались по полу, возрасту, причине ЭП, сопутствующей патологии, длительности операции, интраоперационной и дренажной кровопотере. Уровень СРБ в группе ПБ-ППИ был значимо выше ( $p=0,019$ ) и составил 28,7 мг/л (ДИ 95% 19,7–37,7), в сравнении с 21,3 мг/л (ДИ 95% 13,8–28,7) в группе МБ-ППИ. Средняя продолжительность инфекции на момент санирующей операции была больше в группе ПБ-ППИ 13 мес (ДИ 95% 8,1–17,9), чем в группе сравнения – 7,8 мес (ДИ 95% 6,1–9,7). Кроме того, в составе микробных ассоциаций значимо чаще встречались штаммы MRSA ( $p<0,05$ ) и *S. epidermidis* ( $p<0,01$ ), при этом частота выделения MRSE была также выше в группе ПБ-ППИ: 15,7 vs 8,9 ( $p>0,05$ ). Эффективность лечения отмечена у 78,8 и 47,1% больных в группах моно- и полибактериальной ППИ ( $p<0,01$ ) соответственно, а относительный риск (ОР) рецидива при ППИ, обусловленной микробной ассоциацией с участием *Staphylococcus* spp., составил 2,52 (ДИ 95% 1,178–3,787).

Несмотря на то, что исследуемые группы значимо не различались по структуре операций, предшествующих развитию ППИ, для полного исключения влияния данного фактора была проанализирована эффективность лечения в зависимости от наличия микробных ассоциаций в подгруппах пациентов с первичным: МБ-ППИ-1 ( $n=82$ ) и ПБ-ППИ-1 ( $n=51$ ) или ревизионным: МБ-ППИ-2 ( $n=61$ ) и ПБ-ППИ-2 ( $n=30$ ) эндопротезированием, после которого отмечена манифестация инфекции. Установлено, что купирование инфекции было достигнуто в 72,2 и 32,6% случаях ( $p<0,01$ ) в группах поли- и монобактериальной этиологии у пациентов с ППИ после первичного ЭП и, соответственно у 88,5 и 70,4% больных ( $p<0,01$ ) с ППИ после ревизионного ЭП тазобедренного или коленного сустава. Следовательно, участие микробных ассоциаций в этиологии ППИ увеличивает риск развития рецидива после установки цементного спейсера более чем в 3 раза (ОР=3,1; ДИ 95% 1,998–4,816) у пациентов после первичного ЭП и в 2,5 раза (ОР=2,6; ДИ 95% 0,992–6,646) после ревизионного.

Таким образом, со дня оперативного лечения необходимо назначение АБТ, активной в отношении широкого спектра возбудителей, включающего MR-стафилококки (по результатам исследования – ванкомицин, фосфомицин или линезолид) и Gr(–) возбудители (к примеру, цiproфлоксацин, цефоперазон/сульбактам, карбапенемы).

### Экспериментальное исследование микробных биопленок

Выраженной способностью к формированию биопленок (БПО-1) обладали 40,9% из 394 исследованных штаммов. Среди штаммов, выделенных из биоптатов и с удаленных конструкций, в сравнении с изолятами из аспиратов в 1,5 раза чаще ( $p < 0,01$ ) встречались сильные биопленкообразователи (рис. 4). При этом выделенные из аспиратов штаммы обоих видов стафилококков, достоверно чаще ( $p < 0,05$ ) характеризовались слабой способностью к формированию биопленки (БПО-0), в отличие от изолятов из тканевых биоптатов и с ортопедических конструкций. В целом штаммы *S. aureus* реже чем *S. epidermidis* демонстрировали БПО-1 (37,3 vs 46,4%), при этом сильных биопленкообразователей среди штаммов MRSE было достоверно больше ( $p < 0,05$ ) по сравнению с MRSA (47,9 vs 31,1%). Вне зависимости от вида и метициллинорезистентности штаммы стафилококков, выделенные от пациентов, у которых в анамнезе было две и более saniрующих операции, значимо чаще ( $p < 0,05$ ) демонстрировали БПО1 в сравнении с пациентами, у которых было не более одной санации: 28,6 и 3,8%, соответственно.

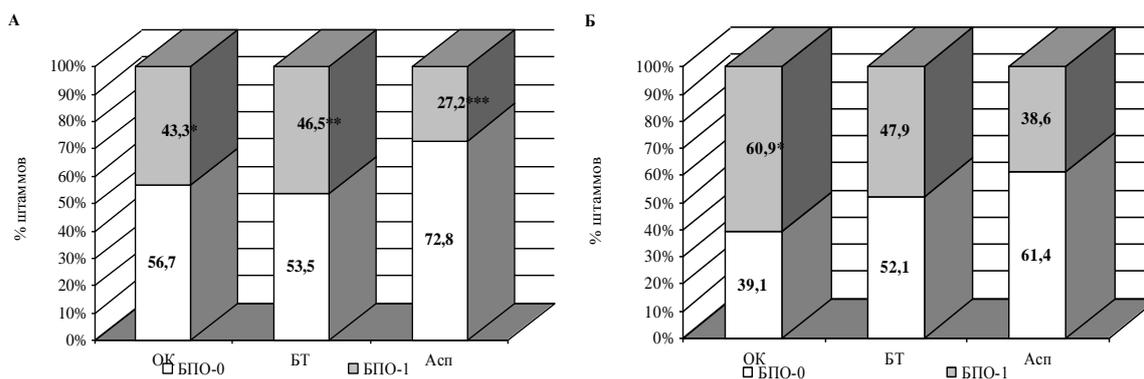


Рис. 4. Распределение по способности к биопленкообразованию (БПО) штаммов *S. aureus* (n=241) (А) и *S. epidermidis* (n=153) (Б) из различных источников выделения:

ОК – удаленные ортопедические конструкции; БТ – биоптаты тканевые; Асп – аспираты

\* –  $p < 0,05$ , по сравнению с долей изолятов с БПО-1 из аспиратов

\*\* –  $p < 0,01$ , по сравнению с долей изолятов с БПО-1 из аспиратов

\*\*\* –  $p < 0,01$ , по сравнению с долей изолятов *S. epidermidis* с БПО-1, выделенных из того же источника

Исследование эффективности сывороточных концентраций АМП с разной степенью активности в отношении MR-штаммов, показало (рис. 5), что ванкомицин, даптомицин, линезолид, рифампицин, фосфомицин и моксифлоксацин более эффективны ( $p < 0,05$ ) в отношении планктонных форм изолятов, в сравнении с бактериями в составе зрелой биопленки. Наименьшая активность в отношении планктонных форм была установлена у котримоксазола. Сессильные формы исследуемых изолятов MRSA в целом бы-

ли более устойчивы к воздействию сывороточных концентраций АБ в сравнении с планктонными формами. Единственным антибиотиком, активность которого в отношении sessильных форм стафилококков была больше, чем планктонных, был гентамицин, который затормозил рост зрелой биопленки у 88% штаммов.

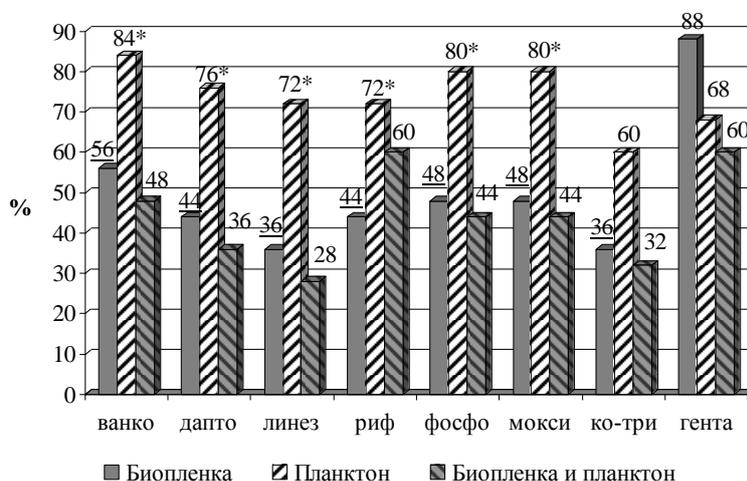


Рис. 5. Доля штаммов в составе биопленки и/или планктонной форме, в отношении которых была установлена активность антибиотиков.

\* – достоверно ( $p < 0,05$ ) отличается от группы сформированной биопленки,  
56 – достоверно ( $p < 0,01$ ) отличается от гентамицина

Наибольшую активность в отношении зрелых биопленок продемонстрировали комбинации моксифлоксацина с даптомицином, фосфомицином или линезолидом, к которым были чувствительны 70,4, 51,9 и 48,1% изолятов MRSA, соответственно. Сочетание ванкомицина с моксифлоксацином затормозило рост sessильных форм только у 37% MRSA штаммов. На эффективность торможения роста зрелой биопленки больше оказывала влияние способность к биопленкообразованию, чем значения МИК ванкомицина. Доля штаммов, чувствительных к комбинации ванкомицина, линезолида, рифампицина, ко-тримоксазола и гентамицина с моксифлоксацином среди сильных биопленкообразователей была ниже (6–33,3%), чем среди слабых (20–70%). Даптомицин и фосфомицин в комбинации с моксифлоксацином продемонстрировали наибольшую эффективность в отношении sessильных форм изолятов с выраженной и слабой способностью к БПО: 60–80% и 40–60%, соответственно, что позволяет рассматривать указанные комбинации в качестве наиболее предпочтительных для системной АБТ при лечении перипротезной инфекции, вызванной MR-штаммами стафилококков.

### *Экспериментальное обоснование способов повышения эффективности локальной антибактериальной терапии*

В соответствии с полученными «методом шахматной доски» результатами тестирования комбинаций гентамицина и диоксицина на штаммах *S. aureus* были рассчитаны коэффициенты FIX (fractional inhibitory index), которые во всех случаях были менее 0,5, что свидетельствует о наличии **синергидного действия** тестируемых препаратов в отношении не только чувствительных, но и резистентных к метициллину штаммов. На основе значений FIC (fractional inhibitory concentrations), также рассчитанных на основе результатов экспериментов, была построена изоболограмма, вогнутый характер которой также свидетельствует в пользу синергидного взаимодействия гентамицина и диоксицина, что позволило предложить «Способ преодоления устойчивости к гентамицину у метициллинорезистентных штаммов стафилококка» (патент на изобретение RU 2 553 601 C2).

Исследование динамики **клинико-морфологических изменений при развитии имплантат-ассоциированной инфекции**, обусловленной *S. epidermidis*, в экспериментальной модели *in vivo* на 30 крысах (самцах) породы Wistar, массой 200–250 г. продемонстрировало, что введение имплантата, инфицированного клиническим изолятом MRSE (выделенным от пациента с ППИ) приводит к выраженным морфологическим изменениям в окружающих тканях. К концу 4-й недели после инфицирования при отсутствии системной АБТ, несмотря на выполненную санацию гнойного очага с удалением инфицированной спицы, промыванием раны хлоргексидином и установкой спейсера с гентамицином, у животных опытной группы развился остеомиелит с рассасыванием кортикальной пластинки и образованием многочисленных костных секвестров. Выраженные клинико-лабораторные признаки инфекционно-воспалительного процесса наблюдались во все сроки исследования, указывая на то, что при отсутствии системной антибактериальной терапии санация гнойного очага с установкой антимикробного спейсера не приводит к купированию инфекционно-воспалительного процесса, вызванного штаммом MRSE.

На основании полученных результатов для локального интраоперационного применения нами была предложена **полимерная антимикробная композиция (АМК)** на основе среднемолекулярного коллидона, содержащая комбинацию гентамицина и диоксицина в дозировках, не превышающих разрешенные к системному применению. В стерильных условиях готовили антимикробное средство, содержащее: гентамицина сульфат – 0,96 г; диоксидин – 1,0 г; коллидон (молекулярной массой 30 000D) – 10,0 г; вода дистиллированная до 100,0 мл. Оценку эффективности предлагаемого способа в экспе-

рименте проводили на 25 кроликах обоих полов породы Шиншилла, которым выполняли имплантацию спицы Киршнера в костномозговой канал бедренной кости. Животным I (основной) группы (n=9) при моделировании ИАИ интраоперационно локально применяли разработанную полимерную гелевую антимикробную композицию (АМК). Во II группе (n=8) за 30 минут до начала операции животным вводили внутривенно цефтриаксон в дозе 50 мг/кг массы тела, а после инфицирования промывали рану раствором хлоргексидина. Животным III (контрольной) группы (n=8) не проводили профилактики цефтриаксоном или орошением раны АМК. В послеоперационном периоде не было установлено существенной разницы в температурной реакции у животных разных групп. У животных контрольной группы отмечено значительное снижение массы тела ( $p < 0,05$ ) к 14-м суткам по сравнению с исходной. У животных I и II групп отек оперируемой конечности, гиперемия и гипертермия в области послеоперационного шва были полностью купированы к 5-м суткам, а у животных контрольной группы сохранялись до конца срока наблюдения, в том числе в 2 случаях к 14-м суткам на фоне инфилтративных изменений сформировались участки абсцедирования. Количество лейкоцитов и уровень СРБ у животных I и II групп к 14-м суткам не отличались от исходного уровня, при этом у животных II группы в конце срока наблюдения сохранялось повышение количества нейтрофилов в 1,5 раза по сравнению с исходным. В контрольной группе проявления инфекционно-воспалительного процесса были более выраженными во все сроки наблюдения.

Содержание бактериальных клеток в 1 г тканей не превышало 0–0,48 в логарифмическом представлении (Lg КОЕ/г), в отличие от аналогичных показателей в группе II (0,19–1,93) и контроле (3,34–4,52). При применении полимерной АМК окружающие рану ткани приобрели и сохранили антимикробные свойства до 14 суток, что подтверждается методом диффузии в агар: зоны задержки роста тест-культуры при исследовании образцов тканей экспериментальных животных составляли от 6 до 30 мм, в отличие от 0 мм при использовании системного введения антибиотика и в контрольной группе. Микробная обсемененность удаленных спиц в основной группе составила 0–2,4 КОЕ/см<sup>2</sup> поверхности, в отличие от 1,2–7,3 КОЕ/см<sup>2</sup> во II группе и 13,9–408,2 КОЕ/см<sup>2</sup> в контрольной.

Таким образом, интраоперационное локальное применение АМК гентамицина и диоксида при ортопедических операциях позволяет предупредить развитие ИАИ в послеоперационном периоде, что проявляется ранней нормализацией клинических и клинико-лабораторных показателей и подтверждается результатами бактериологических исследований. В результате нами пред-

ложено «Антимикробное средство для профилактики имплант-ассоциированной инфекции и способ его применения» (патент на изобретение RU 2535156 C1).

**Антимикробная активность (АМА) образцов импрегнированного антибиотиками костного цемента** в эксперименте *in vitro* была изучена на 5 группах образцов. Наименьшая продолжительность АМА установлена у контрольных образцов гентамицин-содержащего костного цемента без добавления дополнительного антибиотика (рис. 6): 2 суток против MSSA и Гр(–) бактерий (*E. coli* и *K. pneumoniae*), 1 сутки в отношении MRSA.

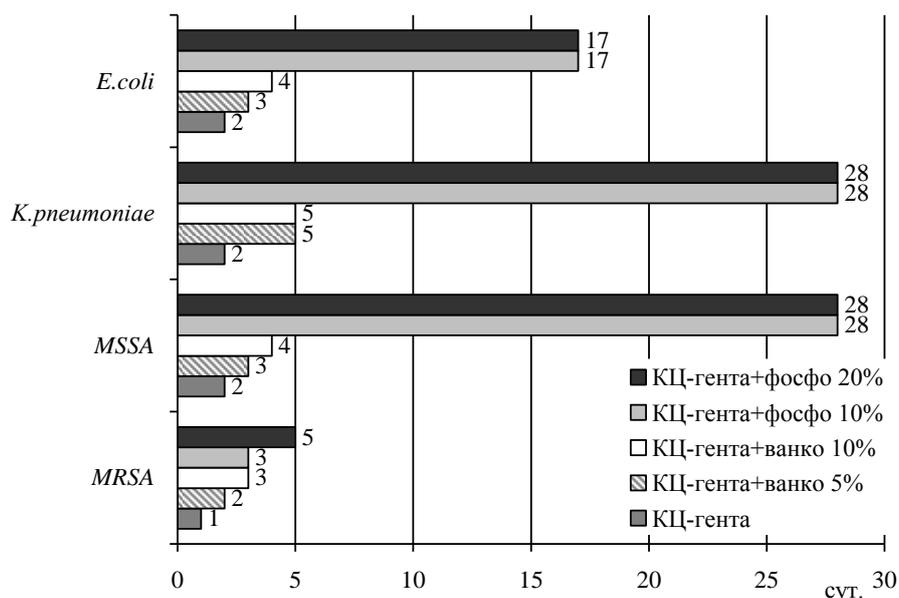


Рис. 6. Продолжительность антимикробного действия образцов гентамицин-содержащего костного цемента (КЦ-гента) с добавлением ванкомицина (ванко) или фосфомицина (фосфо) в различных концентрациях

Образцы, содержащие 5% ванкомицина, подавляли рост MRSA и *E. coli* в течение 2 суток, MSSA и *K. pneumoniae* – 3 и 5 суток, соответственно. Увеличение концентрации ванкомицина в 2 раза (10%) приводило к продлению АМА тестируемых образцов еще на 1 сутки в отношении MRSA, MSSA и *E. coli* и не изменяло продолжительность действия на *K. pneumoniae*. Наибольшая длительность антимикробной активности установлена при тестировании образцов, содержащих 10 и 20% фосфомицина – 28 суток в отношении MSSA и *K. pneumoniae* и 17 суток в отношении *E. coli*. В тоже время в отношении MRSA данные образцы были активны только в течение 3 (10%) и 5 (20%) суток. Таким образом, представляется перспективным применение гентамицин-содержащего костного цемента с добавлением 10% фосфомицина для формирования спейсеров при лечении ППИ.

### ***Обоснование системы мер по оптимизации антибактериальной терапии перипротезной инфекции области тазобедренного и коленного сустава***

Обобщив результаты 8-летнего мониторинга резистентности ведущих возбудителей, можно, во-первых, предложить перечень АМП для этиотропной терапии ППИ (табл. 3). Во-вторых, сделать заключение, что для эмпирической терапии ППИ в клинике травматологии и ортопедии необходимо назначать комбинацию препаратов, обладающую высокой активностью в отношении стафилококков, в том числе устойчивых к метициллину, и Гр(–) возбудителей. Кроме того, еще одним доводом в пользу комбинированной терапии ППИ являются результаты изучения активности концентраций антибиотиков в крови, создаваемых при системном введении стандартных доз, которые демонстрируют, что комбинации препаратов более активно подавляют рост микробных биопленок MRSA. Таким образом, АБТ должна быть комплексной, большедозной, длительной, но при этом безопасной, что можно реализовать, на наш взгляд, сочетанием системного введения препаратов, в максимальных дозах, рекомендованных инструкцией по применению препаратов, и местного (локального), что создаст на определенный срок необходимые концентрации препаратов, при отсутствии системных нежелательных эффектов.

Как представляется на основе полученных данных для достижения купирования инфекционного процесса необходимы:

- радикальная хирургическая обработка и санация очага инфекции с удалением всех инфицированных компонентов, включая костный цемент, при этом объем санации во много зависит от состояния (зрелости) микробных биопленок: сохранение эндопротеза является рациональным только при остро развившейся инфекции не позднее 3–4 недель после первичной операции;
- интраоперационное локальное применение антимикробных средств для эрадикации возбудителей в очаге инфекции;
- комбинированная, большедозная, длительная системная антимикробная терапия, направленная на эрадикацию возбудителей в кровотоке и тканях.

С учетом данных по антибиотикорезистентности возбудителей за 2007–2009 гг. были разработаны и с 2010 г. внедрены в клиническую практику рекомендации по антимикробной терапии ППИ, которые были откорректированы с учетом результатов дальнейших исследований. Полученные в ходе экспериментальных исследований результаты, позволили провести клиническую апробацию разработанных способов локальной АБТ на ограниченном количестве пациентов, о чем будет подробно изложено далее.

Таблица 3

## Рекомендуемая системная антимикробная терапия перипротезной инфекции

Микроорганизм	Стационарный этап (2 нед.)		Амбулаторный этап (не менее 6 нед.)	
	МНН*	Дозировка, кратность <sup>1</sup> и способ введения	МНН	Дозировка, кратность <sup>1</sup> и способ введения
<b>Грамположительные аэробные бактерии</b>				
<b><i>Staphylococcus spp.</i></b> метициллин- чувстви- тельные	цефазолин или цефуроксим или амоксициллин/ клавуланат <sup>2</sup> или ампициллин/сульбактам <sup>2</sup> + рифампицин	2 г х 3 в/в 1,5 г х 4 в/в 1,2 г х 3 в/в 3,0 г х 3–4 в/в 300–450 мг х 2 п/о	левофлоксацин или моксифлоксацин или ко-тримоксазол или доксциклин или ципрофлоксацин + рифампицин	0,5 г х 2 п/о 0,4 г х 1 п/о 0,48–0,96 г х 2–3 п/о 100 мг х 2 п/о 0,5–0,75 г х 2 п/о 300–450 мг х 2 п/о
<b><i>Staphylococcus spp.</i></b> метициллин- рези- стентные	даптомицин или ванкомицин <sup>3</sup> или  фосфомицин или линезолид + рифампицин	6 мг/кг х 1 в/в 15–20 мг/кг х 2 в/в (max – 4 г/сут) 3–5 г х 3 600 мг х 2 в/в 300–450 мг х 2 п/о	левофлоксацин или моксифлоксацин или ко-тримоксазол или доксциклин или ципрофлоксацин + рифампицин	0,5 г х 2 п/о 0,4 г х 1 п/о 0,48–0,96 г х 2–3 п/о 100 мг х 2 п/о 0,5–0,75 г х 2 п/о 300–450 мг х 2 п/о
<b><i>Staphylococcus spp.</i></b> рифампицин- резистентные*	даптомицин или ванкомицин <sup>3</sup> или  линезолид + фосфомицин или ко-тримоксазол <sup>4</sup>	6 мг/кг х 1 в/в 15–20 мг/кг х 2 в/в (max – 4 г/сут) 600 мг х 2 в/в  3–5 г х 3 в/в 0,96 г х 2 в/в	<i>продолженная супрессивная терапия (≥1 года), основанная на антибиотикограмме (например: ко-тримоксазол, доксциклин, моксифлоксацин или др.). Дозировки и способ введения см. выше.</i>	

<b><i>Streptococcus spp.</i></b>	ампициллин <sup>2</sup> или ампициллин/сульбактам <sup>2</sup> или цефтриаксон	2 г х 4 в/в 3 г х 3–4 в/в  2 г х 1 в/в	амоксициллин или левофлоксацин или моксифлоксацин  <i>при тяжелом рецидивирующем течении до 6 мес</i>	1 г х 3 п/о 0,5 г х 2 п/о 0,4 г х 1 п/о
<b><i>Enterococcus spp.</i></b> ампициллин-чувствительные	ампициллин <sup>2</sup> + гентамицин <sup>4</sup> в тяжелых случаях ± фосфомицин	2 г х 4 в/в  3 мг/кг/сут х 1 в/в  4–5 г х 3 в/в	амоксициллин	1 г х 3 п/о
<b><i>Enterococcus spp.</i></b> ампициллин-резистентные*	ванкомицин <sup>3</sup> или  линезолид или даптомицин или + гентамицин <sup>4</sup> (±) фосфомицин	15–20 мг/кг х 2 в/в (max – 4 г/сут) 600 мг х 2 в/в 6 мг/кг х 1 в/в  3 мг/кг/сут х 1 в/в 4–5 г х 3 в/в	линезолид или доксциклин <i>при доказанной чувствительности:</i> левофлоксацин или моксифлоксацин	600 мг х 2 п/о 100 мг х 2 п/о  0,5 г х 2 п/о 0,4 г х 1 п/о
<b><i>Enterococcus spp.</i></b> ванкомицин-резистентные** (VRE)	линезолид + гентамицин <sup>4</sup> + фосфомицин	600 мг х 2 в/в  3 мг/кг/сут х 1 в/в  4–5 г х 3 в/в	линезолид	600 мг х 2 п/о
			<i>Индивидуально при рецидивирующем течении: удаление имплантата или пожизненная супрессивная терапия, например, доксициклином, если микроорганизм чувствителен</i>	

<b>Грамотрицательные аэробные бактерии</b>				
сем. <i>Enterobacteriaceae</i> : <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>E. cloacae</i> и др.	цефтриаксон или ципрофлоксацин	2 г – 4 г х 1 в/в 400 – 600 мг х 2 в/в	ципрофлоксацин	0,75 г х 2 п/о
сем. <i>Enterobacteriaceae</i> : <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>E. cloacae</i> и др. продуценты БЛРС	меропенем или имипенем/циластатин эртапенем или цефоперазон/сульбактам ± амикацин или тобрамицин или гентамицин <sup>4</sup>	1 г х 3 в/в 0,5–1 г х 3–4 в/в 1 г х 1 в/в 2–4 г х 2–3 в/в  15–20 мг/кг х 1 в/в 5 мг/кг/сут х 1 в/в 3–5 мг/кг/сут х 1 в/в	ципрофлоксацин левофлоксацин	0,75 г х 2 п/о 0,5 г х 2 п/о
Неферментирующие бактерии: <i>P. aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter</i> spp.	цефтазидим или ципрофлоксацин меропенем или имипенем/циластатин или цефоперазон/сульбактам или + амикацин или тобрамицин или гентамицин <sup>4</sup> ± Фосфомицин	2 г х 3 в/в 0,6 г х 2 в/в 1 – 2 г х 3 в/в 0,5–1 г х 3–4 в/в 1 г х 3–4 в/в  15–20 мг/кг х 1 в/в 5 мг/кг/сут х 1 в/в 3–5 мг/кг/сут х 1 в/в  4–5 г х 3 в/в	ципрофлоксацин левофлоксацин	0,75 г х 2 п/о 0,5 г х 2 п/о
Фторхинолон – резистентные штаммы**	<i>Индивидуально при рецидивирующем течении удаление имплантата или в зависимости от чувствительности: в/в меропенем, имипенем/циластатин, полимиксин В 2 мг/кг х 2 (макс – 150 мг/сут), фосфомицин, последующая пероральная супрессивная терапия</i>			

<b>Анаэробы</b>				
Гр(+): <i>Propionibacterium</i> spp., <i>Peptostreptococcus</i> spp., <i>Finegoldia magna</i>	бензилпенициллин или цефтриаксон или ампициллин <sup>2</sup> или ампициллин/сульбактам <sup>2</sup> клиндамицин <sup>2</sup> + рифампицин	500 млн ед х 4 в/в 2 г х 1 в/в 2 г х 4 в/в 3 г х 3–4 в/в 600 мг х 3 в/в 300–450 мг х 2 п/о	амоксициклин или левофлоксацин или моксифлоксацин клиндамицин <sup>2</sup> + рифампицин <sup>3</sup>	1 г х 3 п/о 500 мг х 2 п/о 400 мг х 1 п/о 300 мг х 4 п/о 300–450 мг х 2 п/о
Гр(–): <i>Bacteroides</i> spp.	амоксициллин/клавуланат <sup>2</sup> или ампициллин/сульбактам <sup>2</sup>	1,2 г х 3 в/в 3 г х 3–4 в/в	амоксициллин/клавуланат или метронидазол	1,2 г х 3–4 п/о 500 мг х 3
<b>Грибы*</b>				
<i>Candida</i> spp. флуконазол-чувствительные*	флуконазол или каспофунгин	300–450 мг х 1 в/в 50 мг х 1 в/в (1-я доза 70 мг)	флуконазол или вориконазол	450 мг х 1 п/о 200 мг х 2 п/о
<i>Candida</i> spp. флуконазол-резистентные**	индивидуально (вориконазол 200 мг х 2, п/о), удаление имплантата или пожизненная супрессия			
<b>Эмпирическая антимикробная терапия (возбудитель неизвестен)</b>				
Индивидуально, зависит от уровня антибиотикорезистентности в отдельном ЛПУ и факторов риска <sup>5</sup> выделения полирезистентных Гр(–) возбудителей, в нашем случае:				
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ нет факторов риска: ванкомицин + ципрофлоксацин</li> <li>➤ есть факторы риска: ванкомицин + цефоперазон/сульбактам</li> </ul>				

\*\* – трудно поддающиеся эрадикации возбудители; \*\*\* - МНН – международное непатентованное наименование

<sup>1</sup> В течение 2-х недель необходим контроль: количества лейкоцитов крови, уровня С-реактивного белка, уровня креатинина, трансаминаз (АСТ, АЛТ). Коррекция дозы выполняется в зависимости от ренальной функции, начиная со снижения скорости клубочковой фильтрации (СКФ) < 60 мл/мин, или массы тела (< 60 кг или > 100 кг). На амбулаторном этапе необходим контроль: трансаминаз 1 раз в 3–4 недели на фоне приема – рифампицина, доксициклина, ко-тримоксазола, амоксициклина/клавуланата.

<sup>2</sup> Пациентам с анафилактической реакцией I типа (анафилактический шок, отек Квинке) в анамнезе назначают ванкомицин или даптомицин, пациентам с аллергическими реакциями на пенициллин других типов (крапивница) назначают цефазолин, а в случаях анаэробной Gr(+) флоры – клиндамицин. Ампициллин/сульбактам в дозе 1,5 г x 3 в/в эквивалентен амоксициллину/клавуланату в дозе 1,2 г x 3, в/в.

<sup>3</sup> Необходим терапевтический лекарственный мониторинг (ТЛМ) ванкомицина: остаточная концентрация в крови 15–20 мг/мл. Мониторировать уровень ванкомицина необходимо не реже 1 раз в неделю, начиная с 4-го введения препарата. При отсутствии ТЛМ не рекомендуется доза ванкомицина более 1,0 г x 2 р сут.

<sup>4</sup> Гентамицин назначают только в случае доказанной чувствительности к гентамицину (проконсультируйтесь со специалистами по антимикробной химиотерапии). Комбинация с гентамицином для усиления антиэнтерококковой активности показана: при развитии инфекции на фоне нейтропении, при хирургической обработке с сохранением эндопротеза или одноэтапной ревизии, при рецидивирующем течении инфекционного процесса. При комбинации ванкомицина с гентамицином – усиление нефротоксичности, требуется постоянный мониторинг функции почек.

<sup>5</sup> К факторам риска относят предшествующие курсы антибактериальной терапии, хроническое рецидивирующее течение ППИ, выраженный остеомиелит.

Вариант 1 – локальное интраоперационное применение гелеобразных или пастообразных композиций, которые в идеале, при отсутствии токсичности, должны обладать длительной антимикробной активностью, не вымываться из раны в системный кровоток. Применение геле- и пастообразных композиций возможно на любом этапе хирургического лечения, как в случае санации с сохранением эндопротеза, так и его удаления. Нами разработана полимерная антимикробная композиция, которую применяли интраоперационно, орошая ткани области операционной раны с последующим её ушиванием. Данный способ позволяет достичь эрадикации имеющихся в ране патогенов за счет сохранения в тканях антимикробной активности до 2 недель по результатам экспериментов *in vivo*.

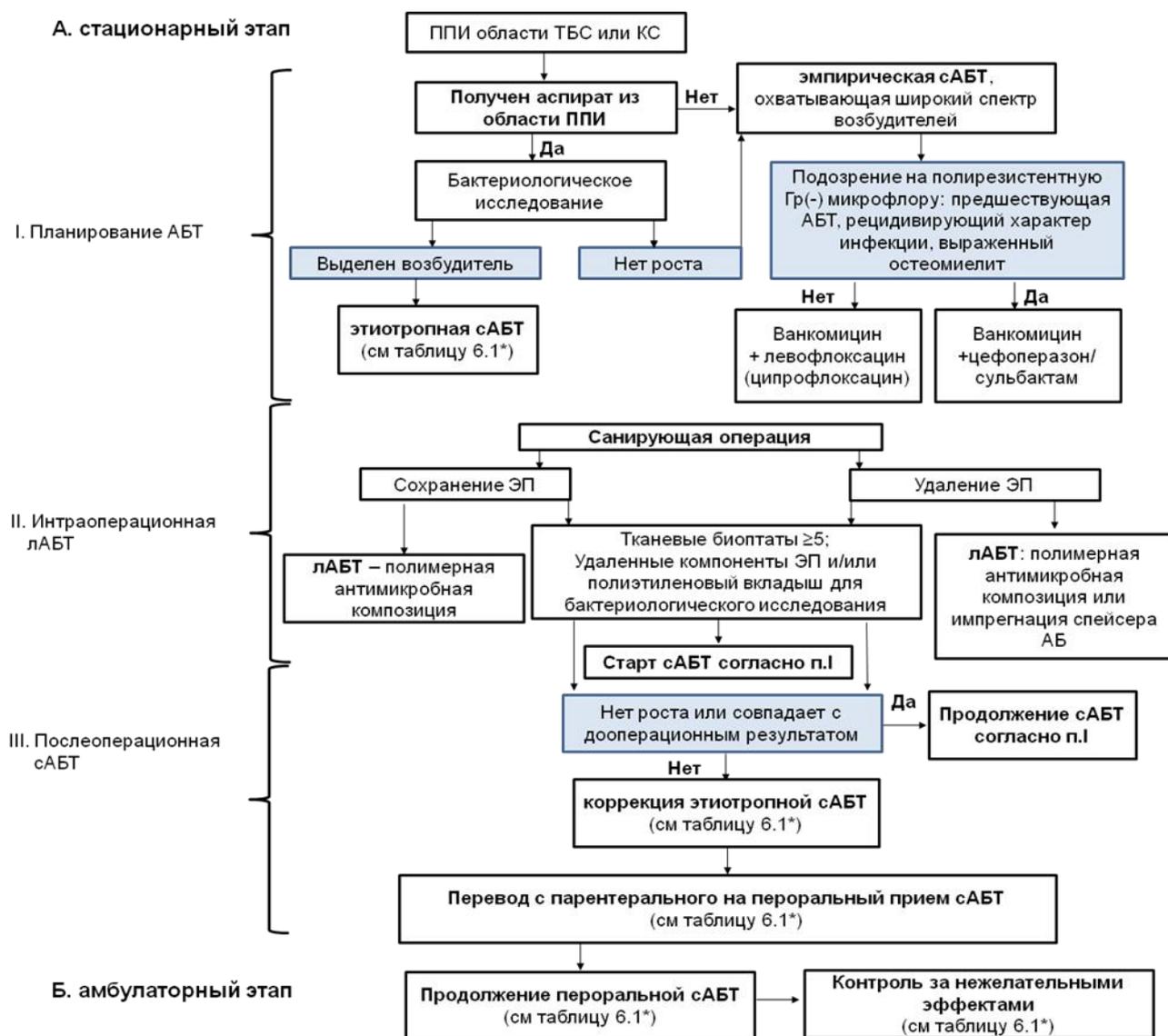
Вариант 2 – установка импрегнированного фосфомицином антимикробного спейсера при выполнении 1-го этапа двухэтапного хирургического лечения ППИ, что позволяет воздействовать на широкий спектр патогенов (включая MR-штаммы, и Гр(-) бактерии) и продлить антимикробный эффект спейсера. При рецидивирующем течении инфекции, предпочтительнее на стадии планирования АБТ выбрать антибиотик для костного цемента в соответствии с результатами бактериологического исследования.

На основе вышесказанного нами предлагается **система мер по повышению эффективности антибактериальной терапии ППИ**, а, следовательно, и лечения в целом (рис. 7), состоящая из следующих этапов: А – стационарный, включающий стадии планирования АБТ и проведения АБТ интра- и послеоперационно; Б – амбулаторный: проведение АБТ и контроль за нежелательными эффектами; В – системного контроля за назначением и потреблением антибиотиков.

Особое внимание должно уделяться предоперационному планированию системной и локальной терапии, а также послеоперационной коррекции системных антибиотиков. В основе планирования и коррекции АБТ лежит бактериологическое исследование тканевых биоптатов и удаленных конструкций, а также профиль резистентности ведущих возбудителей в стационаре. Рациональный выбор препаратов для АБТ должен решать не только тактическую задачу – подобрать наиболее эффективную терапию для данного конкретного пациента, но и стратегическую – сдерживать рост резистентности возбудителей и предупреждать нерациональное расходование финансовых средств ЛПУ.

При выполнении одноэтапной замены эндопротеза или ревизионного ЭП пациентам со спейсером коленного или тазобедренного сустава сохраняется аналогичный алгоритм микробиологического обследования. При этом

выбор препаратов для АБТ основывается на результатах бактериологического исследования аспирата (при одноэтапной замене эндопротеза) или с учетом возбудителей, выделенных при выполнении санирующего этапа. Однако начинать введение антибиотиков необходимо по правилам антимикробной профилактики – за 30–40 минут до выполнения разреза.



**В. Системный контроль за назначением АБТ:** ежегодное мониторингирование в стационаре структуры ведущих возбудителей и их антибиотикорезистентности, фармакоэкономический анализ суммарного потребления антибиотиков и финансовых затрат ЛПУ на АБТ

Рис. 7. Система мер по оптимизации антибактериальной терапии (АБТ) при лечении пациентов с ППИ области ТБС и КС:

сАБТ – системная антимикробная терапия

лАБТ – локальная (местная) антимикробная терапия

\* - название препаратов, дозировки, режим введения, продолжительность курса и способы контроля нежелательных эффектов указаны в табл. 3

### **Результаты фармакоэкономического анализа потребления антибиотиков**

Разработанные и внедренные в клиническую практику в 2010 г. рекомендации по антибактериальной терапии ППИ привели к существенному изменению структуры потребления антибиотиков в отделении гнойной хирургии. При этом увеличение общего потребления антибиотиков было незначительным, а в 2013 и 2014 гг. отмечено значимое ( $p < 0,05$ ) снижение доли затрат на антибиотики (60,6 и 58,8%,) с 2007 г. (73,8%). Общее потребление АМП, а также показатель DDD на одного прооперированного больного за период с 2007 по 2014 г. увеличились, что обусловлено использованием комбинированной терапии ППИ, изменением режима дозирования ванкомицина с переходом расчета дозы на массу тела, а также использованием препаратов, активных в отношении полирезистентных штаммов стафилококков (линезолид, фосфомицин, рифампицин, ко-тримоксазол, моксифлоксацин). Что касается структуры потребления АМП, то наибольшие результаты были достигнуты в сокращении использования цефалоспоринов III-IV поколения и увеличении препаратов с активностью против MR-штаммов стафилококков (рис. 8).

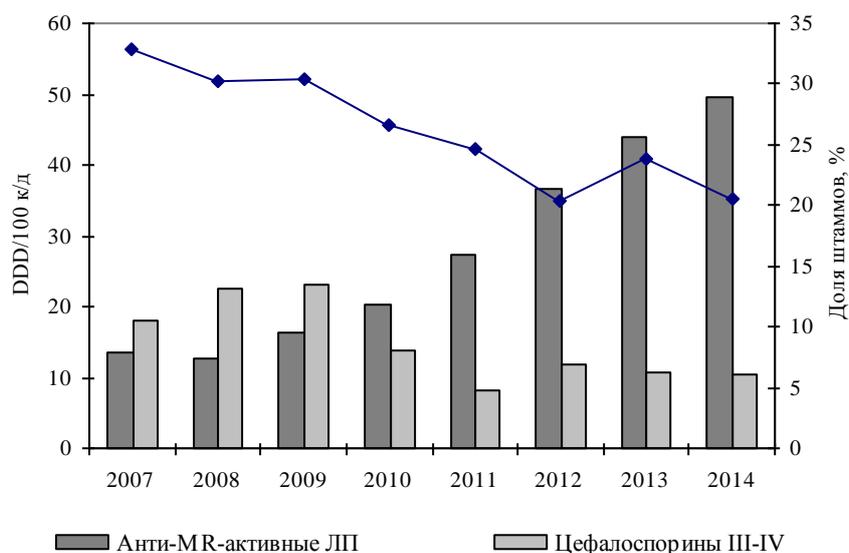


Рис. 8. Взаимосвязь динамики потребления цефалоспоринов III-IV поколения, лекарственных препаратов, активных в отношении MR-штаммов, и частоты выделения MRSA

DDD/100 к/д – коэффициент, отражающий потребление антимикробного препарата на 100 койко-дней

Установлена сильная прямая корреляционная связь между снижением частоты MRSA и снижением потребления цефалоспоринов III-IV поколения в целом ( $r=0,71$ ,  $p < 0,05$ ) и цефтриаксона ( $r=0,74$ ,  $p < 0,05$ ), в частности, а также

обратная сильная достоверная связь с ростом потребления линезолида ( $r = -0,95$ ,  $p < 0,05$ ), ванкомицина ( $r = -0,90$ ,  $p < 0,05$ ), рифампицина ( $r = -0,90$ ,  $p < 0,05$ ) и ко-тримоксазола ( $r = -0,95$ ,  $p < 0,05$ ). Таким образом, достигнута одна из стратегических целей внедрения системы мер по оптимизации АБТ – контроль уровня резистентности *S. aureus* – лидирующего возбудителя ППИ. Таким образом, DDD-анализ отражает все существенные изменения в характере потребления АМП, что позволяет использовать его в рутинной практике для контроля и управления антибактериальной терапией в стационаре.

**Средняя «стоимость болезни»** пациентов с ППИ в отделении гнойной хирургии составила при удалении эндопротеза и установке цементного спейсера (I группа) 139 262,2 руб. (ДИ 95%: 130 452,9–148 071,5) и 110 120,7 руб. (ДИ 95%: 77 265,8–142 975,6) при выполнении санации с сохранением эндопротеза ( $p < 0,01$ ). В I группе были существенно выше фактические затраты на оперативное пособие, антибиотики и другие лекарственные средства и пребывание в ОРИТ ( $p < 0,01$ ). Затраты на прочие медицинские услуги (включающие клинично-диагностические процедуры, перевязки, лабораторное обследование, консультации специалистов и др.) и предоставление койко-дня в палате различались незначительно. В структуре «стоимости болезни» затраты на антибиотики в среднем составили 8%, на прочие лекарственные средства – 5,4% и не зависели от типа санирующей операции. Основные затраты приходились на обеспечение оперативного пособия: 37,7 и 30,7%, и прочие медицинские услуги: 44,3 и 50,7% для I и II групп, соответственно. Развитие рецидива ППИ было установлено в 28 и 17,6% случаев в группе I и II, соответственно ( $p > 0,05$ ). Расчет коэффициента «затраты-эффективность» (СЕА) показал, что санирующая операция с удалением эндопротеза и установкой спейсера требует больших финансовых затрат на единицу эффективности в сравнении с санацией гнойного очага с сохранением эндопротеза (1934,2 vs 1336,4 тыс. руб.). Следовательно, в раннем послеоперационном периоде необходимо своевременно выявлять пациентов с подозрением на острую ППИ и при подтверждении диагноза выполнять санирующую операцию как можно скорее, что позволяет сохранить эндопротез у значительной части пациентов (82,6%).

Анализ финансовых затрат на 1 госпитализацию пациента с ППИ **в зависимости от резистентности штамма-возбудителя к метициллину** показал, что в целом «стоимость болезни» не зависит от характера возбудителя, однако, затраты на антибиотики существенно выше ( $p < 0,05$ ) в MR-группе. Данную тенденцию подтвердил и расчет коэффициента «затраты-эффективность»: с учетом большей частоты рецидивов (34,6 и 24,5% для MR-

и MS-группы, соответственно), лечение ППИ, вызванной MR-штаммами, было более затратным (2131,7 vs 1882,5 тыс. руб.).

В результате оценки клинико-экономической эффективности **двух режимов стартовой терапии ППИ**, вызванной MS-штаммами стафилококков, установлено, что более рациональной схемой была комбинация бета-лактамов с ципрофлоксацином (АБТ-1), в сравнении с назначением ванкомицина и ципрофлоксацина (АБТ-2). Последняя, несмотря на значимое увеличение затрат АМП ( $p < 0,01$ ) и «стоимости болезни» в целом ( $p < 0,05$ ), не приводила к снижению частоты рецидивов: 9,5 и 11% в группах АБТ-1 и АБТ-2, соответственно. Таким образом, необходимо избегать назначения ванкомицина для лечения ППИ, вызванной MS-стафилококками.

Локальное **применение предложенной полимерной АМК**, несмотря на отсутствие существенного влияния на «стоимость болезни», позволило снизить коэффициент СЕА с 1943,2 до 1730,1 тыс. руб. за счет снижения частоты рецидивов инфекции с 28 до 13,3%, для I группы и группы АМК, соответственно. Аналогично, и **применение разработанной системы мер по оптимизации АБТ**, включающей комбинированную системную терапию и применение фосфомицина для импрегнации спейсера достоверно не повлияло на «стоимость болезни», однако снижение частоты рецидивов с 27,3 до 21,7% при использовании ванкомицина и фосфомицина, соответственно, также позволило уменьшить затраты на единицу эффективности с 2363,8 до 2114,6 тыс. руб. В случае лечения пациентов с полимикробной ППИ импрегнация гентамицин-содержащего спейсера фосфомицином позволила купировать инфекцию в 77% наблюдений, ванкомицином – в 67,4%, что в обоих случаях достоверно ( $p < 0,05$ ) превышало эффективность лечения у аналогичной ретроспективной группы пациентов (47,1%).

В целом внедрение в клиническую практику обоснованной системы мер оптимизации АБТ позволило значимо улучшить ( $p < 0,05$ ) результаты лечения пациентов с ППИ за счет снижения частоты рецидивов в 2 раза: с 31,2% в ретроспективной группе ( $n=224$ ) до 15,6% в проспективной группе больных ( $n=252$ ). Таким образом, разработанная система оптимизации АБТ способствует улучшению результатов лечения ППИ за счет более эффективного купирования инфекции, что в наибольшей степени проявляется в случаях участия в этиологии штаммов *Staphylococcus* spp. в ассоциации с другими патогенами и позволяет контролировать рост резистентности ведущих возбудителей.

## Выводы

1. За изученный период в клинике РНИИТО им. Р.Р. Вредена среди ведущих возбудителей перипротезной инфекции области тазобедренного или коленного сустава преобладали *S. aureus* (33,1%) и *S. epidermidis* (16,8%), при этом в 27,7% случаев стафилококки выделялись в составе микробных ассоциаций, включавших в 45% наблюдений грамотрицательные бактерии. Изоляты *S. epidermidis*, по сравнению с *S. aureus* достоверно чаще ( $p < 0,05$ ) обладали резистентностью к метициллину (в среднем за исследуемый период 56,6% и 27,7%). При этом все исследованные штаммы стафилококков были чувствительны к ванкомицину и линезолиду, а фосфомицин, ко-тримоксазол и рифампицин были активны соответственно в отношении 96,1%, 90,7% и 87,5% изолятов.

2. Участие в этиологии перипротезной инфекции тазобедренного и коленного суставов стафилококков в ассоциации с другими возбудителями достоверно ( $p < 0,05$ ) повышает риск развития рецидива в течение года после санирующей операции: в 3 раза у пациентов с манифестацией инфекции после первичного и в 2,6 раза – после ревизионного эндопротезирования, что позволяет достигнуть купирования инфекционного процесса только у 47,1% пациентов.

3. Клинические штаммы *Staphylococcus* spp., выделенные от пациентов с перипротезной инфекцией в области тазобедренного или коленного суставов, обладали выраженной способностью к формированию микробных биопленок в 40,9% случаев. При этом сильные биопленкообразователи встречались в 1,5 раза чаще ( $p < 0,05$ ) среди штаммов MRSE по сравнению с MRSA и вне зависимости от вида стафилококка и метициллинорезистентности в 1,5 раза чаще ( $p < 0,01$ ) среди штаммов, выделенных из биоптатов и с удаленных ортопедических конструкций, чем изолированных из аспириатов.

4. Изоляты MRSA в составе микробных биопленок более устойчивы к воздействию сывороточных концентраций антибиотиков в сравнении с их планктонными формами. При этом наибольшую активность в отношении зрелых биопленок продемонстрировали комбинации моксифлоксацина с даптомицином, фосфомицином или линезолидом, к которым были чувствительны соответственно 70,4%, 51,9% и 48,1% штаммов. Это не гарантирует 100% бактериологической и, соответственно, клинической эффективности при системном введении антибиотиков и обуславливает необходимость применения локальной антибактериальной терапии.

5. Разработанные в экспериментах *in vitro* и *in vivo* новые способы локальной антимикробной терапии продемонстрировали свою клиническую

эффективность. Так, локальное применение в составе комплексного лечения разработанной антимикробной гелевой композиции позволило в 2,3 раза сократить частоту рецидивов у пациентов с длительно текущей ППИ, а применение фосфомицина для импрегнации цементного спейсера также в 2,3 раза снизило ( $p < 0,05$ ) частоту неблагоприятных исходов лечения пациентов с полимикробной ППИ.

6. Внедрение в клиническую практику разработанных рекомендаций по комбинированной большедозной системной антимикробной терапии позволило изменить структуру потребления антибиотиков в отделении гнойной хирургии РНИИТО им. Р.Р. Вредена, взять под контроль распространение полирезистентных штаммов *S. aureus* и значительно уменьшить частоту их выделения с 32 до 20,6% ( $p < 0,05$ ), что привело к статистически значимому снижению ( $p < 0,05$ ) доли финансовых затрат на данную группу препаратов в 2013 и 2014 годах (60,6% и 58,8%) по сравнению с 2007 годом (73,8%). При этом затраты на антибиотики в структуре «стоимости болезни» составили в среднем только 8%, не зависели от типа saniрующей операции и повышались на 48,1% ( $p < 0,01$ ) при лечении пациентов с ППИ, обусловленной метициллино-резистентными стафилококками.

7. Внедрение в клинику обоснованной системы мер оптимизации антибактериальной терапии позволило значительно улучшить ( $p < 0,05$ ) результаты лечения пациентов с рассматриваемой патологией в целом (сокращение рецидивов с 31,2% до 15,6%) и достоверно ( $p < 0,05$ ) повысить эффективность лечебных мероприятий в наиболее сложной группе больных с ППИ, вызванной ассоциациями стафилококков с другими возбудителями. У данной категории пациентов эрадикация инфекции была достигнута в ретроспективной группе только в 47,1% случаев, а при применении оптимизированной системной антибактериальной терапии в сочетании с дополнительной импрегнацией цементных гентамицин-содержащих спейсеров ванкомицином или фосфомицином – соответственно в 67,4% и 77% наблюдений.

### **Практические рекомендации**

1. При отсутствии у пациентов с ППИ области тазобедренного или коленного сустава выраженных признаков активного гнойного процесса и интоксикации антибактериальную терапию целесообразно проводить только в комплексе с хирургическим лечением, а выбор антимикробных препаратов при этом должен быть основан на результатах бактериологического исследования аспиратов, тканевых биоптатов и удаленных ортопедических конструкций.

2. Для проведения эмпирической терапии со дня оперативного лечения при отрицательных результатах посева или в случае острой клинической ситуации до установления этиологии инфекционного процесса антимикробная терапия должна включать препарат, активный в отношении MR-стафилококков (ванкомицин, даптомицин, фосфомицин или линезолид) в сочетании с антибиотиком, обладающим активностью в отношении грамотрицательных возбудителей (ципрофлоксацин, цефоперазон/сульбактам, карбапенемы).

3. Ранняя диагностика перипротезной инфекции и своевременное выполнение saniрующей операции позволяют повысить эффективность лечения и избежать дополнительных финансовых затрат, так средняя «стоимость болезни» для пациентов с ППИ существенно возрастает ( $p < 0,01$ ) в случае удаления эндопротеза и установки цементного спейсера в сравнении с saniрующей операцией и сохранением эндопротеза, а эффективность лечения в указанных случаях составляет 72 и 83,4%, соответственно.

4. При планировании антибактериальной терапии, помимо возбудителя ППИ, следует учитывать: характер течения инфекционного процесса; особенности хирургического лечения применительно к локальной антибактериальной терапии; особенности пациента – возраст, массу тела, функции почек и печени, лекарственную непереносимость в анамнезе, возможности приема препаратов внутрь. Кроме того, на стационарном и амбулаторном этапах лечения необходимо проводить оценку эффективности терапии и риска развития нежелательных реакций: опрос и клинический осмотр пациента, выполнение лабораторного мониторинга (клинический анализ крови, СОЭ, СРБ, креатинин, АЛТ).

5. Системная АБТ при перипротезной инфекции изученных локализаций должна быть этиотропной, большедозной, длительной и безопасной. При этом целесообразно использовать предложенные рекомендации по системной этиотропной антибактериальной терапии ППИ (табл. 3), включающие наиболее предпочтительные комбинации препаратов, пути их введения, дозировки и методы контроля за нежелательными эффектами.

6. При выделении штаммов *Staphylococcus* sp. из дооперационного аспирата в монокультуре рекомендуется назначать АБТ, активную в отношении выделенного штамма стафилококка и ведущих грамотрицательных возбудителей, с последующей ее коррекцией после получения результатов бактериологического исследования тканевых биоптатов и/или удаленных ортопедических конструкций.

7. При лечении пациента с ППИ, обусловленной чувствительными к метициллину штаммами стафилококков, препаратом выбора должен быть бета-лактаменный антибиотик. Назначение ванкомицина в составе комбинированной системной терапии в указанных случаях нецелесообразно.

8. Для повышения эффективности лечения следует применять в составе костного цемента устанавливаемых спейсеров антибиотика широкого спектра действия, включающего MRSA и MRSE, в частности – фосфомицин, что достоверно ( $p < 0,05$ ) повышает эффективность санитрующего этапа у данной категории больных и снижает финансовые затраты ЛПУ на единицу эффективности.

9. Поскольку штаммы *S. aureus* и *S. epidermidis* в значительной доле случаев резистентны к метициллину и, как следствие, обладают не только высокой перекрестной устойчивостью ко всем бета-лактамам, но и ассоциированной устойчивостью к препаратам других групп антибиотиков, целесообразно проведение дифференцированного мониторинга резистентности стафилококков к антибиотикам в зависимости от их чувствительности к метициллину.

10. Считаем целесообразным внедрение в рутинную практику микробиологических лабораторий определения минимальной ингибирующей концентрации (МИК) ванкомицина для штаммов метициллинорезистентных стафилококков. При этом в случаях выделения изолятов с МИК ванкомицина  $> 2$  мкг/мл следует назначать в составе комбинированной терапии альтернативные антимикробные препараты (даптомицин, фосфомицин, линезолид).

11. Для системного контроля потребления антибиотиков и финансовых затрат на данную группу препаратов целесообразно использовать фармакоэкономические методы (ABC-анализ и DDD-методологию, анализ эффективности затрат), которые в совокупности с микробиологическим мониторингом ведущих возбудителей позволяют проводить экспертизу рациональности назначения лекарств, своевременно оптимизировать антибактериальную терапию, принимая соответствующие управленческие решения, а также оценивать эффективность предлагаемых мер и контролировать их исполнение.

#### **Список основных работ, опубликованных по теме диссертации**

1. Божкова С.А., Афиногенов Г.Е., Разоренов В.Л., Петрова Т.М. Мониторинг микробного пейзажа в отделении гнойной хирургии - основа для разработки рациональной антибактериальной терапии // Клинико-лабораторный консилиум. – 2009. – № 3. – С. 50-56.

2. Божкова С.А., Петрова Т.М., Разоренов В.Л. Микробиологический мониторинг как средство выбора рациональной антибактериальной терапии

парапротезной инфекции // Сборник тезисов IX съезда травматологов-ортопедов России. Том 3.– Саратов: Типография ТИСАР, 2010.- С.1090-1091.

3. Божкова С.А., Борисов А.М., Тараненко М.Ю., Петрова Т.М. Применение DDD-анализа для коррекции и контроля потребления антибиотиков при лечении парапротезной инфекции // Сборник научных материалов VI Конгресса «Рациональная фармакотерапия 2011». – СПб, 2011. – С. 3-5.

4. Божкова С.А., Разоренов В.Л., Петрова Т.М. Микробиологический мониторинг – основа рациональной стратегии и тактики антибактериальной терапии инфекции костей и протезированных суставов // Тольяттинский медицинский консилиум. – 2011. – № 3-4. – С. 33-42.

5. Божкова С.А. Современные принципы диагностики и антибактериальной терапии инфекции протезированных суставов (обзор литературы) // Травматология и ортопедия России. – 2011. – № 3 (61). – С. 126-136.

6. Божкова С.А., Тихилов Р.М., Разоренов В.Л., Чуприс В.Г., Петрова Т.М. Микробиологические аспекты антибактериальной терапии парапротезной инфекции, вызванной грамположительными возбудителями // Инфекции в хирургии. – 2011. – № 3(9). – С. 31-36.

7. Божкова С.А., Разоренов В.Л., Борисов А.М. Применение DDD-анализа для коррекции и контроля потребления антибиотиков при лечении парапротезной инфекции // Экология человека. – 2012. – № 4. – С. 52-57.

8. Божкова С.А., Тихилов Р.М., Краснова М.В., Рукина А.Н., Тишина В.В., Полякова Е.М., Торопов С.С. Профиль резистентности возбудителей как основа выбора эффективного антибиотика при стафилококковых инфекциях протезированных суставов // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2013. – № 2(15). – С. 115-123.

9. Божкова С.А., Тихилов Р.М., Краснова М.В., Рукина А.Н. Ортопедическая имплантат-ассоциированная инфекция: ведущие возбудители, локальная резистентность и рекомендации по антибактериальной терапии // Травматология и ортопедия России. – 2013. – № 4 (70). – С. 5-15.

10. Божкова С.А., Краснова М.В., Полякова Е.М., Рукина А.Н., Шабанова В.В. Способность к формированию биопленок у клинических штаммов *S. aureus* и *S. epidermidis* - ведущих возбудителей ортопедической имплантат-ассоциированной инфекции // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2014. – № 2(16). – С. 149-156.

11. Лю Б., Тихилов Р.М., Шубняков И.И., Божкова С.А., Артюх В.А., Денисов А.О. Анализ эффективности санирующих операций при параэндопротезной инфекции // Травматология и ортопедия России. – 2014. – № 2 (72). – С. 22-29.

12. Божкова С.А., Богданова Т.Я., Краснова М.В., Анисимова Л.О., Нетылько Г.И., Рукина А.Н., Лю Б. Экспериментально-клиническое исследование фенотипических особенностей штаммов *S.epidermidis* и их роль в возникновении и развитии имплантат-ассоциированной инфекции после ортопедических операций // Травматология и ортопедия России. – 2014. – № 2 (72). – С. 68-77.

13. Божкова С.А., Краснова М.В., Полякова Е.М., Рукина А.Н., Шабанова В.В. In vitro биопленкообразование клинических штаммов MRSA под воздействием антибиотиков в сыворотках крови. Тезисы докладов XVII конференции «Кашкинские чтения» // Проблемы медицинской микологии. – 2014. – №2 (16). – С. 46.

14. Божкова С.А., Полякова Е.М., Борисов А.М., Рукина А.Н. MRSA при инфекции протезированного сустава: мишень для антибактериальной терапии // Фарматека. – 2015. – № 4. – С. 65-69.

15. Лю Б., Тихилов Р.М., Шубняков И.И., Разоренов В.Л., Денисов А.О., Божкова С.А., Артюх В.А., Клиценко О.А., Тотоев З.А. Эффективность первого этапа двухэтапной ревизии при параэндопротезной инфекции тазобедренного сустава. // Травматология и ортопедия России. –2014. – № 3 (73). – С. 5-14.

16. 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. 92-107.

17. Божкова С.А., Краснова М.В., Рукина А.Н., Шабанова В.В. Проблема выбора препаратов для антимикробной терапии инфекции протезированных суставов // Фарматека. – 2015. – Специальный выпуск – С. 39-45.

18. Краснова М.В., Божкова С.А., Полякова Е.М., Рукина А.Н., Шабанова В.В. Влияние комбинаций антистафилококковых антибиотиков с моксифлоксацином на биопленкообразование у клинических штаммов MRSA in vitro. Тезисы докладов XVIII конференции «Кашкинские чтения» // Проблемы медицинской микологии. – 2015. – №2 (17). – С. 92-93.

19. Божкова С.А. Клинико-экономическая оценка эффективности санлирующей операции у пациентов с перипротезной инфекцией стафилококковой этиологии в зависимости от чувствительности возбудителя к метициллину // Сборник научных материалов X международного научного конгресса «Рациональная фармакотерапия». – СПб.: СПбГЭУ, 2015. – С. 41-43.

20. Кренн Ф., Колбель Б., Винерт С., Димитриадис Ж., Кендоф Д., Герке Т., Хубер М., Фроммельт Л., Тиманн А., Узбек С., Атцродт Ф., Зэгер К., Божкова С.А. Новый алгоритм гистопатологической диагностики перипротезной инфекции с применением шкалы CD15 FOCUS SCORE и компьютерной программы CD15 QUANTIFIER // Травматология и ортопедия России. – 2015. – № 3 (77). – С. 76-85.

21. Винклер Т., Трампуш А., Ренц Н., Перка К., Божкова С.А. Классификация и алгоритм диагностики и лечения перипротезной инфекции тазобедренного сустава // Травматология и ортопедия России. – 2016. – № 1 – С. 33-45.

22. Артюх В.А., Божкова С.А., Кочиш А.Ю., Шнейдер О.В., Разоренов В.Л., Базаров И.С. Диагностика и лечение перипротезной инфекции тазобедренного сустава // Руководство по хирургии тазобедренного сустава под ред. Р.М. Тихилова, И.И. Шубнякова. – СПб.: РНИИТО им. Р.Р.Вредена, 2015. – Том II. – С. 208-257.

23. Bozhkova S., Shneider O., Taranenko M. Resistance of strains S. epidermidis, isolated from patients with knee or hip joint replacement // International Journal of Infectious Diseases. – 2012. – Vol.16, N 1S. – P. e409.

**24. Bozhkova S., Krasnova M., Polyakova E.** Implant-associated infection after major orthopaedic surgery: biofilm production of staphylococci // *International Journal of Infectious Diseases*. – 2014. – Vol. 21, N 1S. – P. 353.

**25. Tikhilov R., Bozhkova S., Denisov A., Labutin D., Shubnyakov I., Razorenov V., Artyukh V., Klitsenko O.** Risk factors and a prognostic model of hip periprosthetic infection recurrence after surgical treatment using articulating and non-articulating spacers // *International Orthopaedics*. Published online 19 Desember 2015/ DOI 10.1007/s00264-015-3072-4.

#### **Патенты на изобретения**

**1.** Пат. 2553601С2 Российская Федерация. Способ преодоления устойчивости к гентамицину у метициллинорезистентных штаммов стафилококков // Божкова С.А., Краснова М.В., Полякова Е.М., Богданова Т.Я.; заявитель и патентообладатель ФГБУ «РНИИТО им. Р.Р. Вредена» Минздрава России. – № 2013145666/15 заявл. 11.10.2013; опубл. 20.06.2015, Бюл. № 17 – С. 1-11.

**2.** Пат. 2535156С1 Российская Федерация. Антимикробное средство для профилактики имплант-ассоциированной инфекции и способ его применения. // Божкова С.А., Тихилов Р.М., Богданова Т.Я., Нетылько Г.И., Конев В.А., Краснова М.В. заявитель и патентообладатель ФГБУ «РНИИТО им. Р.Р. Вредена» Минздрава России. – № 2012145665/15 заявл. 11.10.2013; опубл. 10.12.2014, Бюл. № 34 – С. 1-8.